



DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA

**TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES DE
ALFACE DE HÍBRIDOS RECÍPROCOS E GERAÇÕES
SEGREGANTES**

**LAVRAS-MG
2022**

DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA

**TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES DE ALFACE DE HÍBRIDOS
RECÍPROCOS E GERAÇÕES SEGREGANTES**

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.

Profa. Dra. Luciane Vilela Resende
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

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

De Oliveira, Daniele Fátima.

Tolerância à terminibição em sementes de alface de híbridos
recíprocos e gerações segregantes / Daniele Fátima de Oliveira. -
2022.

50 p. : il.

Orientador(a): Luciane Vilela Resende.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2022.
Bibliografia.

1. Melhoramento genético. 2. Temperatura. 3. Efeito materno.
I. Resende, Luciane Vilela. II. Título.

DANIELE FÁTIMA DE OLIVEIRA

**TOLERÂNCIA À TERMOINIBIÇÃO EM SEMENTES DE ALFACE DE HÍBRIDOS
RECÍPROCOS E GERAÇÕES SEGREGANTES**

**TOLERANCE TO THERMOINHIBITION IN LETTUCE SEEDS OF RECIPROCAL
HYBRIDS AND SEGREGANT GENERATIONS**

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 25 de agosto de 2022.

Dra. Luciane Vilela Resende	UFLA
Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira	UFLA
Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes	UFU
Dr. Hugo César Rodrigues Moreira Catão	UFU
Dr. Antônio Flávio Arruda Ferreira	FACEM

Profa. Dra. Luciane Vilela Resende
Orientadora

**LAVRAS-MG
2022**

*Dedico este trabalho à minha filha Heloísa, minha
maior fonte de motivação, inspiração e alegria.
Você é a obra mais importante da minha vida!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida e pela dádiva de chegar à conclusão de mais um importante ciclo.

À Universidade Federal de Lavras, pela estrutura, pelos profissionais e pela oportunidade de me qualificar em um centro de excelência de renome nacional e mundial.

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/Fitotecnia e aos seus coordenadores, pela oportunidade de cursar o doutorado e pelo apoio na realização deste trabalho.

Ao Departamento de Agricultura, seus professores e funcionários, que tanto contribuíram com meus estudos e trabalhos nestes anos de convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão das bolsas de estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Ao Professor Dr. Luiz Antônio Augusto Gomes, pelos anos de orientação e amizade, pela generosidade e disposição em compartilhar seu conhecimento, pelo constante empenho em ajudar e por ser um exemplo de profissional que nos motiva sempre a melhorar.

À Professora Dra. Luciane Vilela Resende, pelos anos de parceria, acompanhamento e amizade. Pelo conhecimento compartilhado e por aceitar a missão de me conduzir na finalização deste processo tão importante para mim.

A todos os professores que contribuíram para o meu processo de formação, representados pela Professora Dra. Heloísa Oliveira dos Santos, Professor Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira e Professor Dr. Hugo César Rodrigues Moreira Catão, com os quais tive o prazer de conviver e aprender desde a graduação.

À secretaria de Pós-Graduação na pessoa da Marli dos Santos Tulio, que ao longo desses anos nos auxiliou com muita dedicação, competência, amizade e paciência.

Aos amigos e colegas de Pós-Graduação Dra. Sylmara Silva e Dr. Pedro Yuri Cavaşin, pela amizade e companheirismo, pela disponibilidade em ajudar na condução dos trabalhos, pelas madrugadas trabalhando nos experimentos, as horas nos laboratórios realizando as análises e pelos momentos de descontração.

Aos amigos e colegas do grupo de melhoramento de hortaliças, Breno, Joana, Gabriel, Giuliana, Natália, Inês, André e Vitor, pela ajuda mútua e a agradável convivência.

Aos técnicos do Setor de Olericultura, Stefany, Luiz e Josemar e à equipe do CDTT – UFLA, em especial ao Vicente e ao Sebastião (Ná), pela valiosa ajuda com os experimentos.

A todos os demais colegas da UFLA e do programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, que tantas vezes se dispuseram a ajudar nos trabalhos, nas disciplinas e na vida.

À equipe do Laboratório de Tecnologia de Sementes e Matologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), representados pelo professor Dr. Marco Antônio Camillo de Carvalho e pelo professor Dr. Oscar Mitsuo Yamashita. Em especial, agradeço à doutoranda Samiele Camargo de Oliveira Domingues, em nome de todos os demais alunos do laboratório.

Aos colegas de UNEMAT e amigos, professor Dr. Antônio Flávio Arruda Ferreira, professor Dr. Tiago de Lisboa Parente, professor Dr. Guilherme Ferreira Ferbonink e professora Dra. Sheila Caioni, pelo companheirismo, amizade e pela disponibilidade em contribuir com a minha formação acadêmica e profissional.

À minha família e aos meus amigos, pelo apoio e incentivo que me permitiram perseverar, mesmo nos momentos difíceis, para concluir esta etapa.

À minha filha Heloísa de Oliveira Caione e ao meu esposo Gustavo Caione, pela paciência e compreensão nos momentos de ausência, pelo amor e pelo apoio imprescindível para a concretização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

A alface é uma das mais importantes hortaliças folhosas, sendo plantada e consumida o ano todo, em todas as regiões do Brasil. Atender a essa demanda constante torna-se um desafio, pois a ocorrência de temperaturas elevadas é um fator limitante para a germinação de sementes de alface e temperaturas acima dos 30 °C são comuns em diversas regiões do país. Sementes de alface submetidas a elevadas temperaturas durante a embebição sofrem um fenômeno chamado de termoinibição, que consiste na inibição temporária da germinação, sendo reversível quando a temperatura é restabelecida a níveis ótimos. Existem cultivares de alface consideradas tolerantes à termoinibição, como a cultivar Everglades, porém, estes materiais não possuem características que se adequem aos padrões comerciais brasileiros. O objetivo deste trabalho foi confirmar a ocorrência de efeito materno em sementes de alface para a característica de tolerância à termoinibição, determinar os parâmetros envolvidos no controle genético desta característica, bem como a expressão enzimática relacionada a essa característica, em sementes de genótipos de alface oriundos dos cruzamentos entre as cultivares Everglades e Luísa. Para isso, foram feitos cruzamentos recíprocos entre as cultivares Everglades e Luísa, obtendo-se os híbridos recíprocos F₁ e, a partir de autofecundações, as respectivas gerações F₂ e F₃. O cruzamento entre as cultivares Everglades e Verônica também foi realizado como testemunha e obtidos os híbridos recíprocos F₁ e as gerações F₂ e F₃ de apenas um dos híbridos. As sementes desses 11 genótipos foram submetidas a testes de germinação nas temperaturas de 20 e 35 °C, cujos resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais e de protrusão radicular. Os resultados obtidos foram submetidos à análise de gerações por meio do software GENES, e estimados os parâmetros genéticos e fenotípicos. Foram avaliadas também, as atividades das enzimas catalase, ascorbato peroxidase e endo-β-mananase nas sementes de cada um dos genótipos. Conclui-se que existe efeito materno para a característica de tolerância à germinação em temperaturas elevadas em sementes de alface, e que a cultivar Luísa pode ser considerada moderadamente tolerante à termoinibição. Conclui-se também, que a enzima catalase pode ser utilizada como um marcador para a seleção de genótipos de alface tolerantes à termoinibição. Por fim, conclui-se que os efeitos aditivos são mais fortemente expressos para a característica de tolerância à termoinibição em sementes de alface, assim como a herdabilidade no sentido amplo é relativamente alta, permitindo predizer o sucesso com a seleção de genótipos tolerantes à termoinibição.

Palavras-chave: Melhoramento genético. Temperatura. Efeito materno.

ABSTRACT

Lettuce is one of the most important leafy vegetables, being planted and consumed throughout the year, in all regions of Brazil. Meeting this constant demand becomes a challenge, as the occurrence of high temperatures is a limiting factor for the germination of lettuce seeds and temperatures above 30°C are common in several regions of the country. Lettuce seeds subjected to high temperatures during imbibition suffer a phenomenon called thermoinhibition, which consists of the temporary inhibition of germination, being reversible when the temperature is restored to optimal levels. There are lettuce cultivars considered tolerant to thermoinhibition, such as the Everglades cultivar, however, these materials do not have characteristics that suit Brazilian commercial standards. The objective of this work was to confirm the occurrence of maternal effect in lettuce seeds for the thermoinhibition tolerance trait, to determine the parameters involved in the genetic control of this trait, as well as the enzymatic expression related to this trait, in seeds of lettuce genotypes from crosses between Everglades and Luísa cultivars. For this purpose, reciprocal crosses were made between Everglades and Luísa cultivars, obtaining F1 reciprocal hybrids and, from self-pollination, the respective F2 and F3 generations. The cross between the Everglades and Verônica cultivars was also carried out as a control and the F1 reciprocal hybrids and the F2 and F3 generations of only one of the hybrids were obtained. The seeds of these 11 genotypes were submitted to germination tests at temperatures of 20 and 35°C, whose results were expressed as percentage of normal seedlings and root protrusion. The results obtained were subjected to generational analysis using the GENES software and estimated the genetic and phenotypic parameters. The activity of the catalase, ascorbate peroxidase and endo- β -mannanase enzymes in the seeds of each genotype was also evaluated. It is concluded that there is a maternal effect for the characteristic of tolerance to germination at elevated temperatures in lettuce seeds and that the cultivar Luísa can be considered moderately tolerant to thermoinhibition. It is also concluded that the enzyme catalase can be used as a marker for the selection of lettuce genotypes tolerant to thermoinhibition. Finally, it is concluded that the additive effects are more strongly expressed for the trait of tolerance to thermoinhibition in lettuce seeds, as well as the heritability in the broad sense is relatively high, allowing to predict the success with the selection of genotypes tolerant to thermoinhibition.

Keywords: Plant breeding. Temperature. Maternal effect.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Percentual de germinação das sementes dos genótipos de alface no teste de germinação a 20 °C.30
- Figura 2 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e protrusão radicular (PR) das sementes dos genótipos de alface no teste de germinação a 35 °C..... 31
- Figura 3 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e protrusão radicular (PR) dos parentais Everglades e Luísa, da geração F₁ e das gerações F₁ e F₂ verdadeiras no teste de germinação a 35 °C.....32
- Figura 4 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e protrusão radicular (PR) dos parentais Verônica e Everglades, da geração F₁ e das gerações F₁ e F₂ verdadeiras no teste de germinação a 35 °C.....33
- Figura 5 - Quantificação da enzima catalase (mmol ASA/gMF/min) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃. 34
- Figura 6 - Quantificação da enzima ascorbato peroxidase (mmol H₂O₂ min⁻¹ g⁻¹ MF) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃. 35
- Figura 7 - Quantificação da enzima endo-β-mananase (picomol*min⁻¹*g⁻¹) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃.37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Fórmulas utilizadas para a estimativa dos parâmetros genéticos.....	28
Tabela 2 – Valores médios para as características de plântula normais (PN) e de protrusão radicular (PR) em sementes de genótipos de alface no teste de germinação à temperatura de 35 °C.....	39
Tabela 3 – Estimativas dos parâmetros genéticos para as características de plântula normais (PN) e protrusão radicular (PR) no teste de germinação à temperatura de 35 °C...	40

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Características da espécie (<i>Lactuca sativa</i> L.).....	15
2.2	Termoinibição em sementes de alface	16
2.3	Enzimas relacionadas à germinação.....	17
2.3.1	Catalase	18
2.3.2	Ascorbato peroxidase	18
2.3.3	Endo- β -mananase	19
2.4	Parâmetros genéticos	20
3	MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1	Obtenção das sementes	22
3.2	Teste de germinação	24
3.3	Análises enzimáticas.....	25
3.3.1	Catalase (CAT)	25
3.3.2	Ascorbato peroxidase (APX)	26
3.3.3	Endo- β -mananase	26
3.4	Estimativa dos parâmetros genéticos	27
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
4.1	Testes de germinação	29
4.2	Análises enzimáticas.....	33
4.3	Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos	38
5	CONCLUSÃO	43
	REFERÊNCIAS	44

1 INTRODUÇÃO

Considerada a mais importante das hortaliças folhosas, a alface (*Lactuca sativa* L.) destaca-se tanto no mercado brasileiro quanto no mercado mundial. Na culinária, é bastante apreciada devido ao seu sabor suave e suas características nutricionais, atuando como fonte de fibras, vitaminas e minerais. Majoritariamente, é consumida *in natura* na forma de salada, podendo ser utilizada também como ingrediente em sanduíches e pratos frios. O consumo desta hortaliça aumenta substancialmente nas épocas mais quentes do ano, onde há preferência por alimentos leves, de fácil digestão e que proporcionam frescor (COSTA; SILVA; RIBEIRO, 2016; ROSSETTI *et al.*, 2020).

Devido à grande aceitação deste produto pelo mercado consumidor e sua elevada demanda, a alface é produzida de forma constante ao longo do ano em todas as regiões do Brasil. Entretanto, essa produção é bastante sujeita à sazonalidade, tendo em vista as diferentes condições climáticas encontradas ao longo do território brasileiro (NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012; NUNES *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019). Temperaturas acima dos 30 °C ocorrem com frequência na maioria das regiões do país, sendo um fator limitante para o crescimento e desenvolvimento de plantas e, particularmente, para a germinação das sementes (ALMEIDA *et al.*, 2019).

A alface é uma espécie originária de clima ameno (SOUZA *et al.*, 2019) e a temperatura ideal para a germinação de suas sementes situa-se próximo aos 20 °C (BRASIL, 2009). Em condições de temperaturas elevadas, acima dos 30 °C, a maioria das cultivares não germina (ALMEIDA *et al.*, 2019), o que pode ser atribuído a dois fatores distintos, a termodormência e a termoinibição. A termodormência é considerada uma condição permanente, mediante a qual, as sementes, uma vez expostas a elevadas temperaturas, não germinam, mesmo se submetidas à condição de temperatura ideal para a germinação. A germinação só poderá ser restabelecida, se as sementes forem submetidas a um tratamento para superação de dormência. Já a termoinibição é uma condição temporária, mediante a qual as sementes deixam de germinar quando expostas a temperaturas elevadas, porém, sua capacidade de germinar é imediatamente restabelecida se a temperatura for reduzida para níveis adequados (HUO; BRADFORD, 2015; HUO *et al.*, 2016).

A temperatura exerce influência não apenas sobre o processo germinativo, mas também durante o processo de produção da semente, de forma que, sementes produzidas em ambiente com temperaturas elevadas, tendem a aumentar seu limite máximo de tolerância para a germinação, a despeito do genótipo em questão ser ou não considerado termotolerante

(NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012). Todavia, esse aumento da tolerância promovido pela temperatura no ambiente de produção não é suficiente para sanar as perdas em germinação. Além disso, a produtividade da cultura pode também ser comprometida em temperaturas elevadas, pois temperaturas acima dos 30 °C estimulam a entrada precoce das plantas no ciclo reprodutivo, marcado pela emissão prematura da haste floral, o que afeta negativamente a produção comercial de folhas (CRODA *et al.*, 2008; SOUZA *et al.*, 2019).

Cabe destacar que a termotolerância em alface é um termo genérico, que pode se referir à reação da planta quanto à tolerância a diferentes condições de temperatura, para diferentes características. Como exemplo, pode-se citar a tolerância ao florescimento precoce, a tolerância ao armazenamento em temperaturas elevadas (termodormência) e a tolerância à germinação em temperaturas elevadas (termoinibição).

Estudos relacionados à tolerância à termoinibição em sementes de alface mostram que há variabilidade para esta característica, sendo alguns genótipos termotolerantes identificados por diferentes pesquisadores, tais como 'Florida Buttercrisp' (s15k0106/ PI 667844), com maior porcentagem de germinação a 35 °C (WEI *et al.*, 2020); o acesso primitivo *Lactuca sativa* L. PI251246, capaz de germinar a 33 °C (YOONG *et al.*, 2016), a cultivar Everglades, cuja germinação é superior a 70% a 35 °C (CATÃO *et al.*, 2014; CATÃO *et al.*, 2016) e o acesso *Lactuca serriola* UC96US23, capaz de germinar em torno de 37 °C (ARGYRIS *et al.*, 2011). A cultivar Luiza, alface comercial de folhas lisas, se mostrou também superior a diferentes cultivares quanto à tolerância à germinação em temperaturas elevadas, sendo considerada moderadamente tolerante à termoinibição (VILLELA *et al.*, 2010; CATÃO *et al.*, 2014; CATÃO *et al.*, 2018; CATÃO *et al.*, 2022) com germinação inferior à da cultivar Everglades, porém, superior a outros genótipos comerciais.

A ocorrência da variabilidade genética para a tolerância à termoinibição entre genótipos de alface está associada à atividade de enzimas em suas sementes, tais como a catalase, ascorbato peroxidase e superóxido dismutase, por participarem dos mecanismos de defesa contra o estresse oxidativo em vegetais, e a endo- β -mananase, sendo esta relatada como a mais importante no processo germinativo por estar relacionada à hidrólise de mananos, os quais representam os principais componentes do tecido endospermático (NASCIMENTO; CANTLIFFE; HUBER, 2004; CATÃO *et al.*, 2014; OMEZZINE; LADHARI; HAOUALA, 2014; CATÃO *et al.*, 2016; ALMEIDA *et al.*, 2019).

A identificação de genótipos termotolerantes para germinação em temperaturas elevadas, ou tolerantes à termoinibição, é uma estratégia primordial em programas de melhoramento, visando ao desenvolvimento de genótipos que conciliem características

agronômicas desejáveis e boa adaptabilidade e estabilidade para a germinação e o cultivo em regiões tropicais. Contudo, a obtenção de genótipos comerciais de alface que possuam tais características, ainda é relativamente dificultada pela limitação de conhecimento acerca dos parâmetros genéticos e fenotípicos relacionados à característica de tolerância à termoinibição, bem como aos processos enzimáticos ligados à germinação nesta condição (ARGYRIS *et al.*, 2011).

Perante o exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar os parâmetros envolvidos no controle genético da característica de tolerância à termoinibição em alface, bem como a expressão enzimática relacionada a essa característica, em sementes de genótipos de alface oriundos dos cruzamentos entre as cultivares Everglades e Luiza.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Características da espécie (*Lactuca sativa* L.)

Pertencente à família *Asteraceae*, uma das mais abundantes e diversificadas famílias botânicas, a alface (*Lactuca sativa* L.) é uma planta de porte herbáceo e de ciclo anual, oriunda de regiões de clima temperado próximo ao mar mediterrâneo (FILGUEIRA, 2000; SILVA *et al.*, 2020). Em contraponto, a ocorrência de dias longos e temperaturas elevadas estimulam na alface o início precoce do ciclo reprodutivo, afetam negativamente a germinação das sementes e, conseqüentemente, diminuem a produtividade da cultura (CRODA *et al.*, 2008; BUFALO *et al.*, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2019).

As sementes de alface são do tipo cipsela (OLIVEIRA *et al.*, 2011), um fruto seco recoberto por um tegumento pouco espesso que pode ter coloração branca ou preta. O tamanho e o peso das sementes são bastante reduzidos, podendo variar em média de 3,16 mm a 3,64 mm de comprimento por 1,13 mm a 1,25 mm de largura, com peso médio de mil sementes de 0,931 gramas (NASCIMENTO *et al.*, 2012; ROSSETTI *et al.*, 2020).

O processo germinativo das sementes de alface tem início aproximadamente dois dias após a sementeira. A germinação é considerada do tipo epígea e ocorre por meio do alongamento do hipocótilo e formação da alça hipocotiledonar que se desdobra verticalmente, fazendo com que os cotilédones sejam expostos (ROSSETTI *et al.*, 2020).

Temperaturas entre 20 °C e 25 °C são consideradas ideais para a germinação de sementes de alface de acordo com os padrões estabelecidos pelas Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Sendo que a maioria das cultivares comerciais disponíveis apresenta termosensibilidade, não germinando acima de 28 °C (YOONG *et al.*, 2016).

Diversos estudos relataram que a ocorrência de temperaturas elevadas é um fator limitante para a germinação de sementes de alface (NUNES *et al.*, 2019; SOUZA *et al.*, 2019; ROSSETTI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020), o que parece estar relacionado à dureza do endosperma, impedindo a retomada do crescimento do eixo embrionário e, por conseguinte, a protrusão radicular (KOZAREWA *et al.*, 2006; NASCIMENTO; CRODA; LOPES, 2012). Logo, para que ocorra a germinação, é necessário o enfraquecimento do tecido endospermático, fenômeno esse promovido pela ação de enzimas como a endo- β -mananase (NASCIMENTO; CANTLIFFE; HUBER, 2004). Resultados obtidos em estudos realizados por Catão *et al.* (2014) evidenciaram que através do perfil enzimático de proteínas resistentes ao calor é possível identificar genótipos de alface termotolerantes.

2.2 Termoinibição em sementes de alface

Devido às características climáticas da região mediterrânea, as sementes de alface encontram maior possibilidade de se perpetuarem quando germinam e se desenvolvem durante o outono chuvoso ou no início da primavera. Embora essa região apresente um verão quente e predominantemente seco, precipitações podem ocorrer ocasionalmente levando as sementes a germinarem sob condições desfavoráveis. Como forma de garantir que a germinação ocorra em condições propícias à sobrevivência da espécie, as sementes de alface desenvolveram um mecanismo que suprime a germinação mediante a ocorrência de temperaturas elevadas, denominado termoinibição (HUO *et al.*, 2016).

A termoinibição é considerada um problema comum que impacta a produção de alface, uma vez que o retardo ou a suspensão da germinação podem levar a uma menor emergência de plântulas e a um menor estande (LAFTA; MOU, 2013). As sementes de alface podem apresentar termoinibição quando a embebição acontece sob temperaturas elevadas, sendo esta uma resposta provocada por tal condição de estresse abiótico. Entretanto, a termoinibição é um fenômeno temporário que pode ser revertido com a diminuição da temperatura, permitindo que as sementes germinem normalmente (HUO; BRADFORD, 2015; HUO *et al.*, 2016).

A regulação da termoinibição em sementes de alface está relacionada com a expressão de genes que controlam o metabolismo e o balanço de hormônios vegetais, principalmente do ácido abscísico (ABA), da giberelina (GA) e do etileno (HUO; BRADFORD, 2015; NUNES *et al.*, 2019), sendo o ABA, apontado como o principal inibidor da germinação, sobretudo nos primeiros estádios de desenvolvimento (TAIZ *et al.*, 2017). Já a presença da GA e do etileno estão relacionadas ao favorecimento da germinação. Estudos realizados por Argyris *et al.* (2008), com diferentes genótipos de alface, demonstraram que a expressão de genes relacionados à biossíntese de GA e etileno foram mais fortemente expressos nos genótipos termotolerantes quando houve germinação em temperaturas elevadas, ao passo que genes relacionados à biossíntese do ABA, foram mais fortemente expressos em genótipos termossensíveis quando a germinação não ocorreu, estando estes submetidos às mesmas condições de temperatura.

Acredita-se que a característica de tolerância à termoinibição em sementes de alface apresente efeito materno. Pode-se definir efeito materno como a interferência causal do genótipo ou fenótipo do genitor feminino na expressão do fenótipo de sua descendência (WOLF; WADE, 2009). O que no caso da tolerância à termoinibição, se deve à constituição genética dos tecidos da semente, sendo o tegumento de constituição genética exclusivamente

materno (BERGER; GRINI; SCHNITTGER, 2006) e o endosperma triploide ($3n$), onde dois terços ($2n$) são de origem materna (ORSI; TANKSLEY, 2009). Desta forma, a predominância do genótipo materno nos tecidos da semente faz com que o fenótipo da prole oriunda de um cruzamento se assemelhe ao fenótipo do parental feminino no que se refere às características do tegumento e do endosperma (WOLF; WADE, 2009). Em consequência disso, para se fazer o estudo da característica de tolerância à germinação em temperaturas elevadas, é necessário considerar que a geração F_1 apresentará média de germinação similar à do parental feminino, a geração F_2 apresentará média de germinação similar à da geração F_1 , a geração F_3 apresentará média de germinação similar à da geração F_2 , e assim por diante, devendo então a geração F_2 ser considerada como o 'F₁ verdadeiro' e a geração F_3 como o 'F₂ verdadeiro'.

2.3 Enzimas relacionadas à germinação

Os processos metabólicos dos vegetais podem ser influenciados por fatores ambientais, tais como salinidade, radiação solar, ação de patógenos, presença de agroquímicos, disponibilidade hídrica e temperatura, ocasionando o estresse oxidativo em plantas. As reações metabólicas decorrentes do estresse alteram processos como a fotossíntese e a respiração celular, promovendo a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) (CAVERZAN CASASSOLA; BRAMMER, 2016; XIE *et al.*, 2019).

Espécies reativas de oxigênio são moléculas que mediam a sinalização intracelular de respostas fisiológicas e biológicas (RECZEK; CHANDEL, 2015). Quando produzidas em elevadas quantidades, podem levar à morte celular por peroxidação de lipídeos da membrana, levando à produção de radicais livres que podem ser tóxicos para a semente, por oxidação de proteínas, por danos às moléculas de ácidos nucleicos e por inibição enzimática. Entretanto, quando produzidas em níveis baixos, atuam como moléculas sinalizadoras para a ativação dos mecanismos de defesa das plantas contra os efeitos do estresse (MITTLER, 2017).

A maquinaria celular de defesa antioxidante nos vegetais inclui componentes enzimáticos e não enzimáticos, podendo operar em diferentes compartimentos celulares, como os peroxissomos, cloroplastos e na membrana plasmática. Dentre os antioxidantes enzimáticos pode-se destacar as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e ascorbato peroxidase (APX), e dentre os componentes não enzimáticos como ácido ascórbico, carotenoides, flavonoides e tocoferóis (SHARMA *et al.*, 2012; PANDEY *et al.*, 2017).

A ocorrência de temperaturas elevadas é um fator ambiental desfavorável para espécies de clima temperado como a alface, interferindo na capacidade germinativa das sementes. Para

que haja a protrusão radicular e a retomada do crescimento do eixo hipocótilo-radícula, é necessário que ocorra o amolecimento do tecido endospermático, o que se dá por meio da ação de diversas enzimas antioxidantes, como a catalase (CAT), ascorbato peroxidase (APX) e superóxido dismutase (SOD) (PANDEY *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2019; ROSSETTI *et al.*, 2020).

2.3.1 Catalase

O termo ‘catalase’ foi descrito pela primeira vez por Loew (1900), que concluiu que uma atividade enzimática distinta das peroxidases ou oxidases estava presente nos extratos de folhas de tabaco. Como muitos estudos subsequentes, as conclusões de Loew foram baseadas no que ficou conhecido como ‘teste da catalase’, no qual a evolução de O_2 a partir de H_2O_2 pode ser prontamente observada em certos tecidos biológicos ou extratos de tecidos. Esta propriedade evidencia a diferença básica entre as duas principais vias para o metabolismo do H_2O_2 nas células.

A remoção de H_2O_2 por peroxidases requer uma pequena molécula redutora (ou proteínas como citocromo c ou tioredoxina) para atuar como um cofator de regeneração e não leva à evolução de O_2 porque a água é o produto. Em contraste, catalases ‘verdadeiras’ (monofuncionais), catalisam principalmente uma reação de dismutação na qual uma primeira molécula oxidante de H_2O_2 é transformada em água e uma segunda H_2O_2 redutora é então convertida em O_2 (MHAMDI; NOCTOR; BAKER, 2012).

Dessa forma, devido suas propriedades cinéticas, a catalase mantém o H_2O_2 em níveis baixos e, portanto, é considerada como uma das principais enzimas antioxidantes com papel fundamental nas plantas em condições de estresse (NANDI *et al.*, 2019).

2.3.2 Ascorbato peroxidase

A ascorbato peroxidase é a enzima chave no sistema de eliminação de compostos tóxicos para as células, participando como antioxidante que combate esses radicais livres, onde convertem esses compostos danosos em produtos menos tóxicos na célula. Esse é o primeiro passo do ciclo AsA-glutationa (GSH) que usa AsA como seu doador de elétrons específico para reduzir H_2O_2 em água (KUO; CAI; LEE, 2020). Seu papel na manutenção do equilíbrio redox foi observado tanto no ciclo de vida normal das plantas quanto durante várias condições de estresse abiótico (PANDEY *et al.*, 2017).

A ascorbato peroxidase está presente em várias organelas subcelulares e é relatada como um regulador eficiente de radicais livres, pois contribui ao máximo para a desintoxicação do peróxido de hidrogênio, atuando, principalmente, na sequência de eventos bioquímicos, após a ação da superóxido dismutase converter o excesso de O^{2-} em H_2O_2 , onde este último é removido pela ascorbato peroxidase (SCANDALIOS, 2005; PANDEY *et al.*, 2017).

A ascorbato peroxidase catalisa a reação em que duas moléculas de ascorbato são oxidadas para reduzir uma molécula de H_2O_2 a água e está envolvida na detoxificação do H_2O_2 tanto dentro da célula quanto no apoplasto (ZHENG; VAN HUYSTEE, 1992).

2.3.3 Endo- β -mananase

As sementes de alface possuem o embrião totalmente envolvido pelo endosperma, que é constituído por uma camada de duas a quatro células. O endosperma atua como uma barreira física à emissão da radícula, podendo retardar ou prevenir a germinação das sementes, especialmente sob condições desfavoráveis como altas temperaturas (REGO *et al.*, 2011). Dessa forma, para que ocorra a emissão da radícula, é necessário o amolecimento do endosperma, e, como a parede celular do endosperma das sementes de alface é constituída principalmente por galactomananos (HALMER; BEWLEY; THORPE, 1975) a enzima endo- β -mananase desempenha importante papel neste mecanismo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2010, CATÃO *et al.*, 2014).

A produção da enzima endo- β -mananase ocorre durante o processo germinativo ou na deterioração da semente, estando envolvida no processo de degradação da parede celular do endosperma e seu consequente amolecimento, e na mobilização de reservas da semente para nutrição do embrião. Contudo, pouco se sabe sobre o papel que essa enzima desempenha no mecanismo de germinação e sua regulação (CARVALHO, 2017).

Nascimento, Cantliffe e Huber (2004), avaliando a expressão enzimática e atividade do etileno em sementes de alface de duas cultivares, Everglades (termotolerante) e Dark Green Boston (termosensível), concluíram que o etileno pode diminuir a inibição da germinação de sementes de alface em temperaturas elevadas, pois a presença desse hormônio vegetal está correlacionada ao aumento da atividade da enzima endo- β -mananase. Esse efeito se deve ao fato de a endo- β -mananase estar envolvida no processo de degradação dos galactomananos, constituintes principais do endosperma.

Em sementes de café, Ferreira *et al.* (2018) concluíram que a enzima endo- β -mananase é eficiente no estudo dos efeitos do processamento e secagem, podendo ser avaliados em

sementes inteiras, endospermas ou embriões. Nesse mesmo sentido, Catão *et al.* (2018), avaliando o perfil enzimático de sementes de alface armazenadas por diferentes períodos (30, 60, 90 e 120 dias) e temperaturas (15, 25 e 35 °C), concluíram que a expressão da enzima endo- β -mananase sofre influência do tempo e das condições de armazenamento, sendo reduzida em períodos mais longos e sob temperaturas elevadas. Demonstra-se assim, que a enzima endo- β -mananase pode ser utilizada como um indicador da qualidade fisiológica das sementes e como um marcador para a identificação de genótipos termotolerantes (CATÃO *et al.*, 2014).

2.4 Parâmetros genéticos

A utilização de ferramentas que possibilitam estimar os parâmetros genéticos das populações é de suma importância para os programas de melhoramento, pois permite compreender o controle genético de determinada característica, explorar a sua variabilidade e determinar o potencial de uma população para a seleção. Essas informações auxiliam o melhorista no processo de tomada de decisão, assegurando a adoção de estratégias de melhoramento mais adequadas, que garantam a obtenção de ganhos genéticos com os ciclos seletivos (RAMALHO *et al.*, 2012; PATRÍCIO *et al.*, 2019).

O fenótipo é o que diferencia entre si os indivíduos de uma população, sendo determinado pelo genótipo e podendo sofrer variações decorrentes da influência ambiental. Dessa forma, a variância fenotípica corresponde ao somatório entre a variância genotípica e a variância ambiental. O conhecimento da variância fenotípica é essencial, pois pode ser dividida em porções herdáveis e não-herdáveis, além de estar sujeita a ocorrência da interação genótipo por ambiente. Entretanto, o foco nos programas de melhoramento deve estar no conhecimento da variância genética, a qual contempla as características que serão transmitidas à descendência, a despeito da influência ambiental a que estejam submetidas (ALVES, 2020).

Outro parâmetro de importância a ser estudado é a herdabilidade, que diz respeito a hereditariedade de uma dada característica, determinando quanto do fenótipo será expresso na descendência (MONTEIRO, 2018). A herdabilidade no sentido amplo pode ser interpretada como a proporção da variância genotípica que está contida na variância fenotípica (SOUZA, 2006). Por sua vez, a herdabilidade no sentido restrito se refere à proporção entre a variância genética aditiva e a variância fenotípica (RAMALHO *et al.*, 2012). A associação entre alta herdabilidade e efeitos aditivos pressupõe a obtenção de ganhos com a seleção de genótipos superiores (ALVES, 2020).

A estimativa do grau médio de dominância pode ser um parâmetro utilizado para analisar o efeito genético dos genes envolvidos no controle de determinada característica. O grau médio de dominância permite determinar qual tipo de interação ocorre entre alelos de um mesmo gene, dominância completa, ausência de dominância, dominância parcial e sobredominância, sendo esse valor obtido por meio da posição relativa do heterozigoto em relação às médias dos homozigotos (RAMALHO *et al.*, 2012; ALVES, 2020).

Conhecer o número de genes envolvidos no controle de um dado caráter é importante para que se possa determinar o tipo de herança, que pode ser de natureza monogênica, oligogênica ou poligênica. Ao determinar o número de genes é possível estabelecer o tamanho ideal da população a ser trabalhada para a obtenção de um genótipo desejado, de forma tal que, quanto maior for o número de genes envolvidos no controle da característica, mais ciclos de seleção serão necessários (BALDISSERA *et al.*, 2014; ALVES, 2020).

A compreensão da genética e das interações gênicas relacionadas à expressão de determinados caracteres é fundamental para a sua adequada exploração. Esse conhecimento das bases genéticas envolvidas fomenta o desenvolvimento de programas de melhoramento que aliem em uma mesma cultivar diversos caracteres de interesse (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Neste sentido, Oliveira *et al.* (2021) estudaram o controle genético da tolerância à termoinibição em sementes de alface oriundas do cruzamento entre as cultivares contrastantes Everglades e Verônica, concluindo que o controle genético desta característica é atribuído a um, ou poucos genes, sendo os efeitos aditivos predominantes, permitindo antever o sucesso com a seleção. Essa constatação é de grande valia no caso da tolerância à termoinibição, pois os genótipos descritos na literatura como potenciais fontes de alelos para tal característica, a exemplo da cultivar Everglades, não apresentam caracteres agrônômicos que atendam aos padrões comerciais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das sementes

O experimento foi realizado em ambiente protegido, em uma estufa situada nas dependências do Departamento de Agricultura da Escola de Ciências Agrárias de Lavras (DAG/ESAL) da Universidade Federal de Lavras-MG.

Para a obtenção dos materiais utilizados neste estudo, sementes das cultivares Everglades (tolerante à termoinibição), Luísa (moderadamente tolerante à termoinibição) e Verônica (suscetível à termoinibição) foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido de 128 células preenchidas com substrato comercial Carolina®, utilizando três sementes por célula. À medida em que as plântulas emergiam, realizava-se o desbaste, deixando apenas uma plântula por célula. As mudas foram conduzidas em casa de vegetação com controle da temperatura feita por meio de um termostato, o qual foi ajustado para acionar o sistema de arrefecimento quando a temperatura ambiente atingisse os 30 °C, sendo esta, a temperatura máxima. A irrigação se deu em dois turnos, matutino e vespertino, realizada de forma manual, conforme a necessidade.

Aos 30 dias após a semeadura, as mudas foram transplantadas para vasos de polietileno rígido de 10 litros, preenchidos com uma mistura de terra, substrato comercial e areia na proporção de 2:1:1, respectivamente. Os vasos foram colocados sobre bancadas de alvenaria de 1 metro de altura, na mesma casa de vegetação onde foram produzidas as mudas e mantidos sob as mesmas condições de temperatura, sendo 10 vasos de cada cultivar, perfazendo um total de 30 vasos. As plantas foram tutoradas verticalmente utilizando como apoio estacas de bambu e amarrios feitos com fitilho plástico. A irrigação foi feita manualmente duas vezes ao dia, no período matutino e vespertino, conforme a necessidade do substrato. O controle de pragas que ocorriam esporadicamente, como a lagarta falsa-medideira (*Pseudoplusia includens*), foi feito por meio de catação manual e eliminação das lagartas. Já o controle de doenças ocasionais, como o oídio (*Oidium* spp.), foi feito por meio da aplicação de calda bordalesa.

Ao observar a emissão das primeiras hastes florais, o que ocorreu de forma concomitante para ambas as cultivares, foi feito o acompanhamento diário até a constatação da ocorrência de antese floral. A partir da antese, foram realizados diariamente os cruzamentos recíprocos Everglades (♀) x Luísa (♂), Luísa (♀) x Everglades (♂), Everglades (♀) x Verônica (♂) e Verônica (♀) x Everglades (♂) feitos por meio de hibridações manuais, durante todo o período em que as plantas emitiam novos botões florais.

As hibridações manuais foram realizadas de acordo com a técnica de emasculação e despolinização por jato d'água proposta por Nagai (1980). O processo de emasculação foi realizado diariamente antes do nascer do sol, iniciando às 4:00h com a seleção prévia dos botões florais cuja antese ocorreria naquele dia, seguida da emasculação e despolinização, finalizando por volta de 05:30h. Os botões selecionados foram identificados por um pedaço de lã de cor específica para cada cruzamento, amarrado ao seu pecíolo e, posteriormente, foi feito o corte com lâmina acima da delimitação do cálice, a fim de remover os estames. Para evitar a ocorrência de autofecundação, os botões emasculados foram lavados com um jato de água deionizada, aplicado delicadamente com auxílio de uma pisseta. A coleta das flores dos parentais masculinos ocorreu após às 8:00h, quando observada a sua completa antese e também a exposição dos estigmas bífidos nos botões emasculados. A polinização foi feita por meio do leve esfregaço das flores abertas dos parentais masculinos, com os botões florais emasculados dos parentais femininos.

A colheita das sementes foi feita de forma gradativa, à medida que os botões florais polinizados entravam em processo de dessecação, sendo feita antes da deiscência natural das cipselas. Aos 15 dias após as últimas hibridações, a irrigação foi suspensa para facilitar o processo de colheita. As sementes colhidas de cada cruzamento, correspondentes aos híbridos recíprocos F_1 (‘Everglades’ x ‘Luísa’), F_1 (‘Luísa’ x ‘Everglades’), F_1 (‘Everglades’ x ‘Verônica’) e F_1 (‘Verônica’ x ‘Everglades’) foram limpas manualmente e de forma delicada, com o auxílio de uma peneira, a fim de evitar perdas. Em seguida foram secas e armazenadas em sacos de papel identificados, conforme cada cruzamento.

As sementes das gerações F_2 e F_3 dos cruzamentos ‘Everglades’ x ‘Luísa’ e ‘Verônica’ x ‘Everglades’, foram obtidas por meio de autofecundação de plantas F_1 e F_2 , respectivamente. As condições, os materiais e o local utilizados para a produção, tanto das mudas, quanto das plantas F_1 e F_2 , utilizadas para a autofecundação, foram os mesmos descritos anteriormente para a produção dos híbridos F_1 .

Visando a posterior realização dos teste de germinação e de expressão enzimática, sementes dos parentais Everglades e Luísa, dos híbridos F_1 dos cruzamentos recíprocos ‘Everglades’ x ‘Luísa’ e ‘Luísa’ x ‘Everglades’ e das gerações F_2 e F_3 do cruzamento ‘Everglades’ x ‘Luísa’, foram obtidas na mesma época, a fim de garantir maior confiabilidade e coerência dos resultados, uma vez que as características de tolerância à termoinibição podem variar de acordo com o tempo de armazenamento das sementes. O mesmo foi feito para o parental Verônica, seus respectivos híbridos F_1 e as gerações F_2 e F_3 do cruzamento ‘Verônica’ x ‘Everglades’, entretanto, estes genótipos não foram submetidos ao teste de expressão

enzimática, pois foram utilizados apenas como testemunha termosensível no teste de germinação.

Todos os cruzamentos descritos nesse trabalho seguem o mesmo padrão de nomenclatura, com o nome do genitor feminino à esquerda, seguido da letra “x” que indica o cruzamento, e o nome do genitor masculino à direita conforme o modelo a seguir: ‘Genitor feminino’ x ‘Genitor masculino’.

3.2 Teste de germinação

Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Tecnologia de Sementes e Matologia da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), localizado no município de Alta Floresta-MT.

Os genótipos avaliados foram os parentais Everglades, Luisa e Verônica, as gerações F₁, F₂ e F₃ do cruzamento ‘Everglades’ x ‘Luísa’, o híbrido F₁ do cruzamento ‘Luísa’ x ‘Everglades’, os híbridos F₁ dos cruzamentos recíprocos ‘Everglades’ x ‘Verônica’ e ‘Verônica’ x ‘Everglades’ e as gerações F₂ e F₃ do cruzamento ‘Verônica’ x ‘Everglades’, totalizando 11 genótipos, onde cada genótipo configura um tratamento.

Foram realizados dois testes de germinação distintos, de acordo com a metodologia proposta pelas regras para análise de sementes (BRASIL, 2009), ambos feitos em estufa B.O.D., com controle de umidade e temperatura, sob um fotoperíodo de 12 horas de luz. A montagem dos testes foi feita em caixas acrílicas transparentes do tipo gerbox, preenchidas com papel mata-borrão umedecido com 2,5 vezes seu peso em água destilada. Sempre que necessário, o papel mata-borrão era umedecido novamente, para evitar que as sementes ficassem secas. Foram utilizadas 50 sementes por cada caixa gerbox, a qual correspondia a uma parcela.

No primeiro teste utilizou-se a temperatura de 20 °C, a fim de verificar o percentual de germinação de cada genótipo sob as condições ideais para a germinação de sementes de alface. A primeira e a segunda contagem de germinação foram realizadas no 4° e 7° dias respectivamente.

O segundo teste foi feito utilizando a temperatura de 35 °C, a fim de identificar a ocorrência de tolerância à termoinibição, para germinação sob temperaturas elevadas entre os genótipos testados. A primeira e segunda contagem de germinação foram realizadas no 4° e 7° dias respectivamente. Neste teste, posteriormente à última contagem, a temperatura foi reduzida para 20 °C e as caixas gerbox foram mantidas na estufa B.O.D. por mais 7 dias, a fim de

verificar se as sementes remanescentes estavam mortas, duras ou haviam sofrido termoinibição, devido à elevada temperatura (DA SILVA *et al.*, 2017; OLIVEIRA *et al.*, 2021).

Para o teste à temperatura de 20 °C, os resultados foram expressos em percentual de plântulas normais. Já para o teste à temperatura de 35 °C, foram quantificados o percentual de plântulas normais (PN) e também o percentual de protrusão radicular (PR).

O delineamento experimental utilizado para ambos os testes foi inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, totalizando 44 parcelas em cada teste. Cada parcela consistia em uma caixa gerbox com 50 sementes, totalizando 200 sementes por tratamento.

Os dados obtidos para ambas as variáveis foram submetidos à análise de variância pelo teste F, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o software estatístico GENES versão 1990.2019.51 (CRUZ, 2013).

3.3 Análises enzimáticas

As análises enzimáticas foram realizadas no Laboratório de Análise de Sementes da Universidade Federal de Lavras (LAS-UFLA), localizado nas dependências do DAG/ESAL/UFLA.

Foram extraídas e quantificadas as enzimas catalase, ascorbato peroxidase e endo- β -mananase das sementes das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos oriundos do cruzamento entre essas cultivares e de suas respectivas gerações F₂ e F₃, totalizando oito genótipos.

3.3.1 Catalase (CAT)

A extração do ensaio da enzima catalase foi preparada macerando 200 mg de sementes em nitrogênio (N₂) líquido com 50% de polivinilpolipirrolidona (PVPP). Após isso, o material foi homogeneizado em 1.500 μ L da solução tampão de extração de fosfato de potássio 400mM (pH 7.8), contendo EDTA 10mM, ácido ascórbico 200mM e água. O homogenato foi centrifugado por 10 min a 4 °C a 13.000 \times g e o sobrenadante foi coletado.

A incubação da catalase foi feita de acordo com Havir e Mchale (1987). A solução tampão contendo fosfato de potássio 200mM (pH 7.0) e água foi incubada em banho-maria a 30 °C e em seguida pipetada em microplacas. O (H₂O₂) peróxido de hidrogênio (250mM) foi adicionado na hora da leitura, realizada a 240 nm de 15 em 15 segundos durante 3 min.

A atividade enzimática da CAT em U mL⁻¹ é dada pela seguinte expressão adaptada de Aebi (1984), usando o valor de 39,4mM⁻¹ cm⁻¹ como coeficiente de absorvidade molar do H₂O₂:

$$\text{Atividade CAT} = (\Delta\text{Abs}/\Delta t) \times (V_t/39,4 \times V) \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mL}^{-1} = \text{U mL}^{-1}\text{)} \quad (1)$$

Em que:

$\Delta\text{Abs}/\Delta t$ é o declive da reta obtida no espectrofotômetro, durante um intervalo de tempo de 2 min;

V é o volume de extrato (mL); V_t é o volume total na cubeta (mL).

3.3.2 Ascorbato peroxidase (APX)

A preparação das amostras foi realizada entre 0 e 4 °C. Os extratos foram obtidos por maceração de 200 mg de sementes em 2 mL de solução tampão Tris-HCl (100 mM) a pH 7,5, contendo ditioneitol (1,5 mM), EDTA (1 mM), Triton X-100 (0,1 % p/v), cisteína (5 mM), fluoreto de fenilmetilsulfonilo (PMS, 0,1 mM) e PVP insolúvel (2 % w/w). Os extratos foram centrifugados a 12.000 x g, durante 20 min a 4 °C.

A atividade enzimática é dada pela leitura da absorbância a 340 nm, durante 2 min, usando um meio reacional constituído por 114 mM NaCl, 1,5 mM de GSH, 0,3 mM de NADPH, 0,01 U de GR e 0,25 mM de H₂O₂ em solução tampão tris HCl (50 mM, pH 7,9). A atividade enzimática da APX em U mL⁻¹ é dada pela seguinte expressão, usando o valor de 6,2 mM⁻¹ cm⁻¹ como coeficiente de absorvidade molar do NADPH:

$$\text{Atividade APX} = (\Delta\text{Abs}/\Delta t) \times (V_t/6,2 \times V) \text{ (}\mu\text{mol min}^{-1} \text{ mL}^{-1} = \text{U mL}^{-1}\text{)} \quad (2)$$

Em que:

$\Delta\text{Abs}/\Delta t$ é o declive da reta obtida no espectrofotômetro, durante um intervalo de tempo de 2 min;

V é o volume de extrato (mL); V_t é o volume total na cubeta (mL).

3.3.3 Endo-β-mananase

Para a extração da enzima endo-β-mananase foram moídas sementes intactas de cada tratamento em moinho refrigerado. De cada tratamento foram pesados 200 mg para adição de 600 µl de tampão de extração (0,1M HEPES/ 0,5 M NaCl e ácido ascórbico (5 mg de ácido

ascórbico por ml de tampão), pH 8,0). Na etapa seguinte as amostras foram centrifugadas por 30 minutos a 10000 g e 20 µl do sobrenadante aplicados em gel contendo 6 ml de locust bean gum, 24 ml de tampão pH 5,0 (1 M Ácido Cítrico/ 0,4 M de Na₂HPO₄2H₂O). As alíquotas foram aplicadas em furos de 2 mm feitos no gel, com o auxílio de um furador. O gel ficou incubado por 21h e a atividade da enzima endo-β-mananase foi calculada de acordo com Downie, Hilhorst e Bewley (1994).

3.4 Estimativa dos parâmetros genéticos

Utilizando-se os dados obtidos no teste de germinação à temperatura de 35 °C para as variáveis PN e PR, realizou-se as análises de variância por meio do teste de gerações, ao nível de 5% de significância, com o software GENES versão 1990.2019.51 (CRUZ, 2013). Foram estimadas as médias dos parentais e das gerações F₁ e F₂ verdadeiras; as variâncias fenotípica, genética e ambiental; a herdabilidade no sentido amplo ao nível das médias da geração F₂; o grau médio de dominância; os ganhos de seleção considerando a seleção de 20% dos indivíduos da geração F₂; e as médias dos efeitos aditivos e dos desvios de dominância. As estimativas citadas foram calculadas de acordo com as fórmulas descritas na Tabela 1.

Tabela 1 - Fórmulas utilizadas para a estimativa dos parâmetros genéticos.

Parâmetro genético	Fórmula
Média do Genitor 1 - \bar{P}_1	$\bar{P}_1 = \frac{\sum P_1}{n}$
Média do Genitor 2 - \bar{P}_2	$\bar{P}_2 = \frac{\sum P_2}{n}$
Média da geração F ₁ - \bar{F}_1	$\bar{F}_1 = \frac{\sum F_1}{n}$
Média da geração F ₂ - \bar{F}_2	$\bar{F}_2 = \frac{\sum F_2}{n}$
Variância fenotípica - $\sigma_{f(F_2)}^2$	$\sigma_{f(F_2)}^2 = \sigma_{F_2}^2 = \frac{\sum (F_2 - \bar{F}_2)^2}{n - 1}$
Variância genotípica - $\sigma_{g(F_2)}^2$	$\sigma_{g(F_2)}^2 = \sigma_{f(F_2)}^2 - \sigma_{m(F_2)}^2$
Variância ambiental - $\sigma_{m(F_2)}^2$	$\sigma_{m(F_2)}^2 = \frac{V_{P_1} + V_{P_2} + 2V_{F_1}}{4}$
Herdabilidade no sentido amplo - h_a^2	$h_a^2 = \frac{\sigma_{g(F_2)}^2}{\sigma_{f(F_2)}^2} = \frac{\sigma_{g(F_2)}^2}{\sigma_{g(F_2)}^2 + \sigma_{m(F_2)}^2}$
Grau médio de dominância baseado em médias - k_m	$K_m = \frac{2\bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{\bar{P}_1 + \bar{P}_2}$
Ganho por seleção - ΔG (%)	$\Delta G (\%) = \frac{\Delta G}{\bar{x}_0}$
Medida dos efeitos aditivos - [a]	$\hat{a} = \bar{P}_{F_2} - 1/2 \bar{P}_1 + 1/2 \bar{P}_2$
Medida dos desvios de dominância - [d]	$\hat{d} = \bar{F}_1 - 1/2 \bar{P}_1 + 1/2 \bar{P}_2$

Fonte: Da autora (2022).

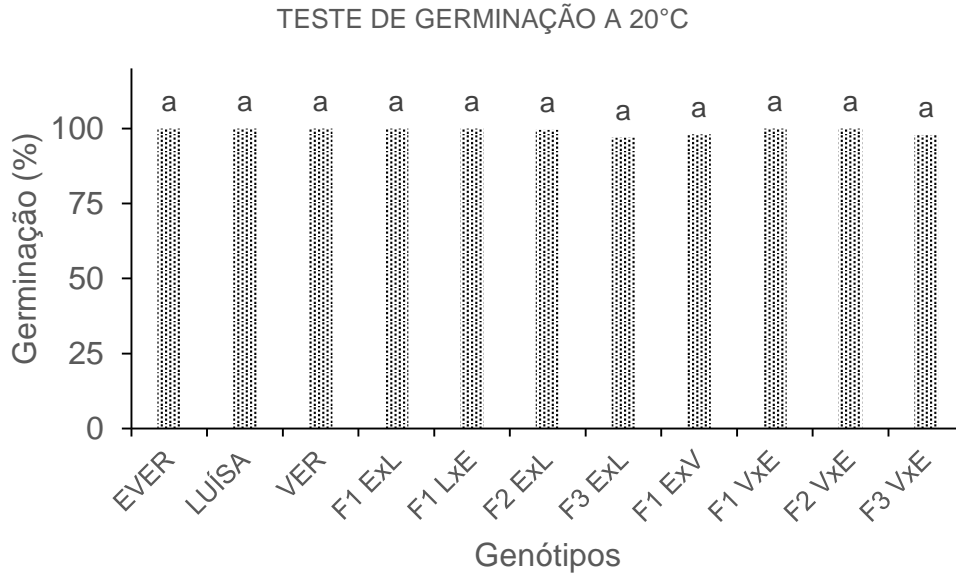
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Testes de germinação

Os testes de germinação foram feitos em duas temperaturas, 20 e 35 °C e, para ambos os casos, foram avaliadas a germinação do ponto de vista agrônomo, expressa pela porcentagem de plântulas normais (PN), e a germinação do ponto de vista fisiológico, expressa pela porcentagem de sementes nas quais houve protrusão radicular (PR). Plântulas normais são aquelas que possuem todas as estruturas básicas bem desenvolvidas, sem deformidades e sem presença de patógenos, sendo capazes de se desenvolver e formar plantas normais (BRASIL, 2009). Já a protrusão radicular é a emissão da radícula após o rompimento do tegumento, que ocorre posteriormente à embebição no processo germinativo (NONOGAKI, 2006; ALBUQUERQUE *et al.*, 2009).

O teste de germinação à temperatura de 20 °C, considerada como temperatura ideal para a germinação de sementes de alface, não mostrou diferenças significativas entre as médias dos diferentes genótipos. Também não houve diferença entre os percentuais de PN e PR, uma vez que todas as sementes que protruíram radícula e formaram plântulas normais posteriormente, sendo assim, os resultados desse teste foram expressos em um único gráfico (FIGURA 1). Todos os materiais obtiveram média de germinação acima de 97%, sendo que a maioria dos genótipos atingiu 100% de germinação. Este resultado demonstra a qualidade das sementes que compunham o material experimental, as quais se encontravam viáveis e com elevado vigor.

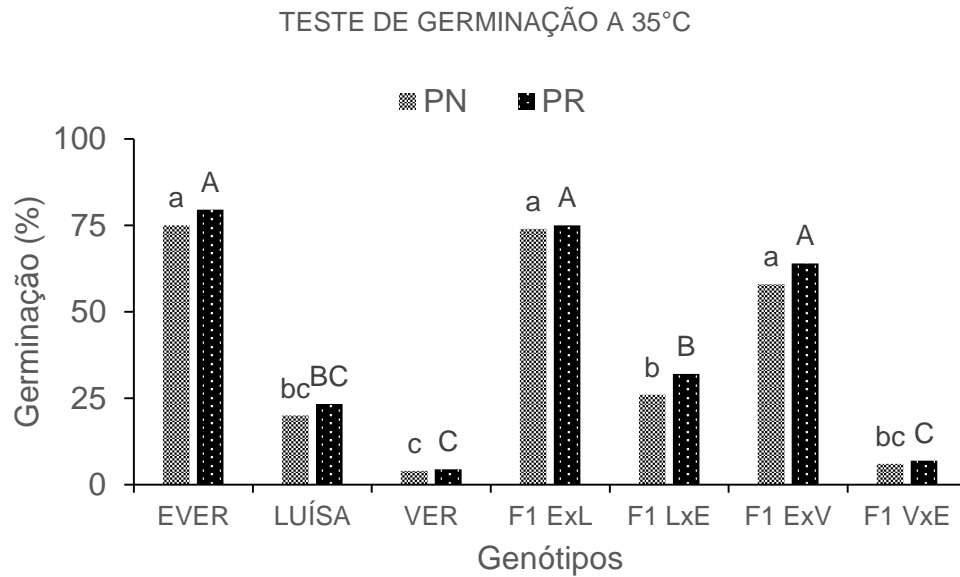
Figura 1 - Percentual de germinação das sementes dos genótipos de alface no teste de germinação a 20 °C.



CV (%)= 2,7; F=1,1 NS. NS= não significativo pelo teste F a 5% de probabilidade.
Fonte: Da autora (2022).

Por outro lado, quando foi realizado o teste de germinação à temperatura de 35 °C, foram observadas diferenças significativas entre as médias de germinação das sementes dos genótipos analisados. A cultivar Everglades apresentou média de PN de 75%, confirmando sua maior tolerância para germinação em temperaturas elevadas, quando comparada com as cultivares Luísa e Verônica (FIGURA 2). A cultivar Luísa, por sua vez, apresentou média de germinação de 20%, tendo um desempenho inferior ao da cultivar Everglades, porém, bastante superior à cultivar Verônica, cuja germinação foi de 4%. Desempenho similar foi observado para a variável PR, para a qual a cultivar Everglades apresentou média de 80%, a cultivar Luísa de 24% e a cultivar Verônica de 5%. É possível inferir que a cultivar Luísa apresenta uma relativa tolerância à germinação em temperaturas elevadas, uma vez que a maioria das cultivares comerciais não germina sob tais condições. Este resultado corrobora outros trabalhos nos quais a cultivar Luísa é reportada como sendo moderadamente tolerante à termoinibição (VILLELA *et al.*, 2010; CATÃO *et al.*, 2014; CATÃO *et al.*, 2018; CATÃO *et al.*, 2022). Assim, essa hipótese é reforçada, ao se comparar o desempenho das sementes da cultivar Luísa com as sementes da cultivar comercial Verônica, utilizada como testemunha sensível à termoinibição.

Figura 2 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e prostrusão radicular (PR) das sementes dos genótipos de alface no teste de germinação a 35 °C.



PN: CV (%)= 23,4; F= 48,1**. PR: CV (%)= 21,5; F= 51,1**. **= significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Da autora (2022).

Considerando os genótipos referentes às gerações oriundas dos cruzamentos, observa-se que as sementes da geração F₁, de cada um dos cruzamentos recíprocos (‘Everglades’ x ‘Luísa’) e (‘Luísa’ x ‘Everglades’), apresentaram médias de PN de 74 e 26% e médias de PR 75 e 32%, respectivamente, à temperatura de 35 °C (FIGURA 2). Estes resultados diferentes na germinação das sementes F₁ dos cruzamentos recíprocos podem ser explicados pela ocorrência de efeito materno. No caso da semente, o endosperma triploide herdado é constituído de duas partes maternas (ORSI; TANKSLEY, 2009), sendo os resultados dos cruzamentos recíprocos diferentes entre si, de conformidade com os genes maternos envolvidos (NASCIMENTO *et al.*, 2016). Os resultados observados neste trabalho mostram uma superioridade na germinação das sementes híbridas F₁ cujo genitor feminino foi a cultivar ‘Everglades’, em relação aqueles cujo genitor feminino foi a cultivar Luísa. Este resultado corrobora os obtidos por Cavasin (2019), ao estudar e verificar a ocorrência de efeito materno em sementes de alface, a partir do cruzamento entre as cultivares ‘Everglades’ e ‘Verônica’.

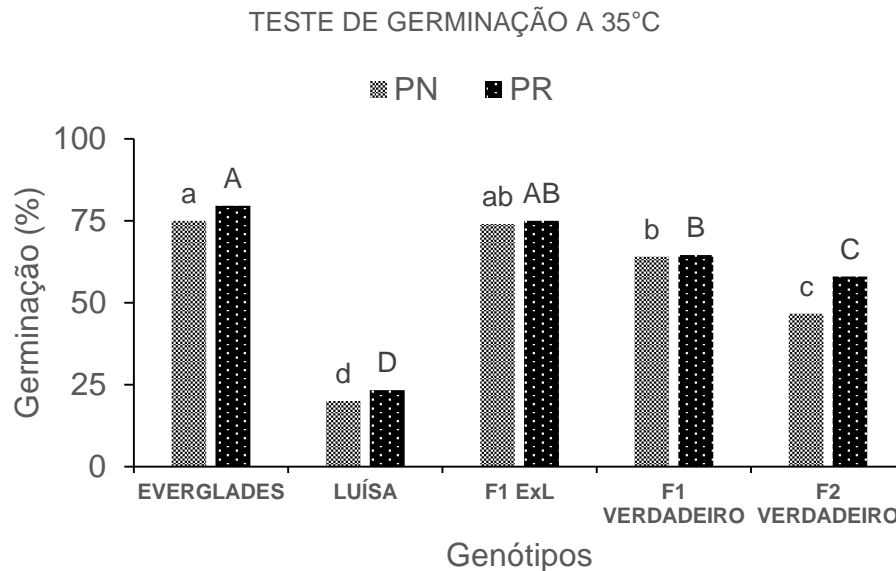
O mesmo efeito pode ser observado nas gerações F₁ dos cruzamentos recíprocos entre as cultivares ‘Everglades’ e ‘Verônica’. Neste caso, porém, tem-se um valor significativamente mais baixo ao considerar as sementes cujo genitor feminino foi a cultivar Verônica. Os valores das médias de PN foram 58 e 6%, respectivamente, para sementes dos híbridos recíprocos (‘Everglades’ x ‘Verônica’) e (‘Verônica’ x ‘Everglades’) (FIGURA 2). Já para a variável PR, as médias desses híbridos foram de 64 e 7%, respectivamente. A cultivar Verônica obteve média

de 4% para PN e 5% para PR, consideravelmente inferior, o que se reflete no desempenho da F₁, para o cruzamento em que a mesma foi utilizada como parental feminino, apresentando comportamento similar ao materno e, assim, confirmando a ocorrência de efeito materno para tolerância à terminação em sementes de alface.

Observou-se ainda, analisando cada genótipo individualmente, que as médias de PR foram maiores que as médias de PN em todos os casos, mostrando que nem todas as sementes que apresentaram protrusão radicular formaram plântulas normais. Essa variação, embora pareça ocorrer de forma proporcional, indica que essas duas variáveis podem ser influenciadas por fatores distintos ou influenciadas pelos mesmos fatores, porém, em níveis diferentes, ainda que ambas sejam etapas componentes de um mesmo processo.

A partir da geração F₁ verdadeira não se observa mais o efeito materno, tanto para o cruzamento ‘Everglades’ x ‘Luísa’ (FIGURA 3), quanto para o cruzamento ‘Verônica’ x ‘Everglades’ (FIGURA 4).

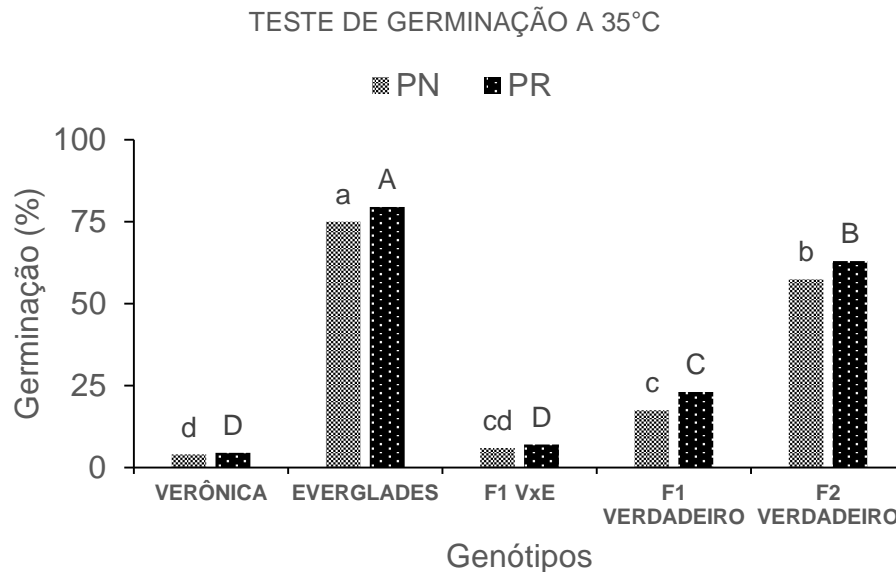
Figura 3 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e protrusão radicular (PR) dos parentais Everglades e Luísa, da geração F₁ e das gerações F₁ e F₂ verdadeiras no teste de germinação a 35 °C.



PN: CV (%)= 15,7; F= 31,2**. PR: CV (%)= 15,8; F= 22,3**. **= significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Da autora (2022).

Figura 4 - Percentual de germinação expresso em plântulas normais (PN) e prostrusão radicular (PR) dos parentais Verônica e Everglades, da geração F₁ e das gerações F₁ e F₂ verdadeiras no teste de germinação a 35 °C.



PN: CV (%)= 15,5; F= 139,2**. PR: CV (%)= 14,1; F= 154,6**. **= significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Da autora (2022).

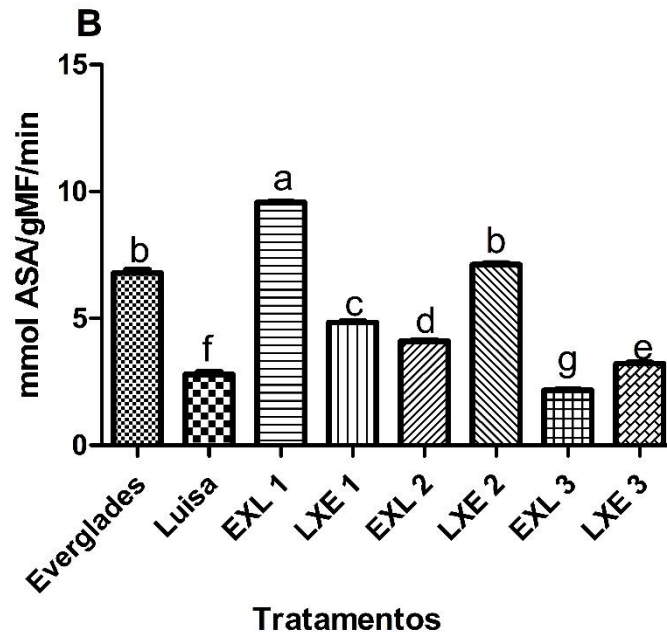
Considerando-se os resultados obtidos, verifica-se que em estudos de controle genético e em trabalhos de melhoramento que visem a tolerância à termoinibição em sementes de alface, torna-se necessário proceder uma autofecundação a mais, a partir da obtenção das sementes híbridas oriundas dos cruzamentos, para que se elimine o efeito materno. Dessa forma, é possível, tanto se proceder a estudos baseados na expressão do caráter, como também realizar seleções a partir das gerações segregantes, sem que se incorra ao erro de, eventualmente, confundir efeito materno com efeitos de dominância.

4.2 Análises enzimáticas

Os valores obtidos por meio das análises enzimáticas das sementes de alface foram submetidos à análise de variância e foram encontradas diferenças significativas entre as médias dos genótipos para todas as enzimas estudadas. Os materiais analisados foram as cultivares Everglades e Luísa, os híbridos F₁ recíprocos ‘Everglades’ x ‘Luísa’ (EXL 1) e ‘Luísa’ x ‘Everglades’ (LXE 1) e as respectivas gerações F₂ (EXL 2; LXE 2) e F₃ (EXL 3; LXE 3) de cada cruzamento, totalizando 8 genótipos.

Para a enzima catalase verificou-se maior atividade nas sementes do híbrido EXL 1, cujo genitor feminino é a cultivar Everglades, seguido pelo genitor Everglades e pelo genótipo LXE 2, os quais não apresentaram diferença significativa entre si (FIGURA 5).

Figura 5 - Quantificação da enzima catalase (mmol ASA/gMF/min) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃.



Letras distintas indicam que há diferença estatística de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2022).

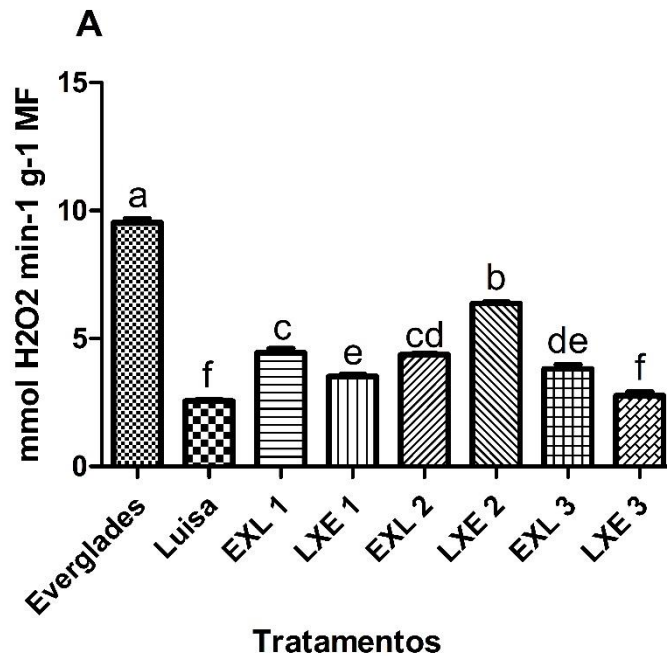
O genitor Luísa apresentou baixa atividade desta enzima, com média superior apenas à média do genótipo EXL 3. Comparando-se os parentais, observa-se que a atividade desta enzima foi maior nas sementes da cultivar Everglades do que nas sementes da cultivar Luísa, o que permite inferir que a tolerância à germinação em temperaturas elevadas está relacionada à maior atividade da catalase, uma vez que a magnitude da atividade enzimática é maior nas sementes do genitor considerado termotolerante.

Observou-se uma variação entre o comportamento dos híbridos recíprocos e das suas respectivas gerações F₂ e F₃ em relação à atividade da catalase (FIGURA 5). O híbrido F₁ cujo genitor feminino é a cultivar Everglades tem maior expressão da catalase, por sua vez, o híbrido F₁ cujo genitor feminino é a cultivar Luísa e tem menor expressão dessa enzima, demonstrando que há relação entre a alta atividade da catalase e a ocorrência da tolerância à termoinibição em sementes de alface. Já para as gerações F₂ e F₃, observou-se menor atividade nos genótipos que

têm a cultivar Everglades como genitor materno, indicando que este pode não ser um bom marcador para seleção de genótipos tolerantes à termoinibição nestas gerações.

Para a enzima ascorbato peroxidase observou-se maior atividade nas sementes da cultivar Everglades, seguida do genótipo LXE 2, os quais diferiram significativamente entre si e ambas diferindo dos demais genótipos (FIGURA 6). A cultivar Luísa e o genótipo LXE 3 não diferiram significativamente entre si e apresentaram nível de atividade enzimática inferior a todos os demais genótipos, que por sua vez, oscilaram entre valores intermediários.

Figura 6 - Quantificação da enzima ascorbato peroxidase ($\text{mmol H}_2\text{O}_2 \text{ min}^{-1} \text{ g}^{-1} \text{ MF}$) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃.



Letras distintas indicam que há diferença estatística de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2022).

Comparando-se os parentais, observa-se que a cultivar Everglades apresenta maior atividade do que a cultivar Luísa. O mesmo pode ser observado entre os híbridos F₁ recíprocos, onde o híbrido EXL1, que tem a cultivar Everglades como genitor feminino, apresenta maior média de atividade enzimática. Para a geração F₂, o genótipo EXL2 obteve média inferior ao seu recíproco. Por sua vez, o inverso ocorreu com a geração F₃, onde o genótipo EXL3 apresentou média superior ao seu recíproco. Esses resultados indicam que, assim como a catalase, a enzima ascorbato peroxidase pode ser um marcador para a seleção de cultivares

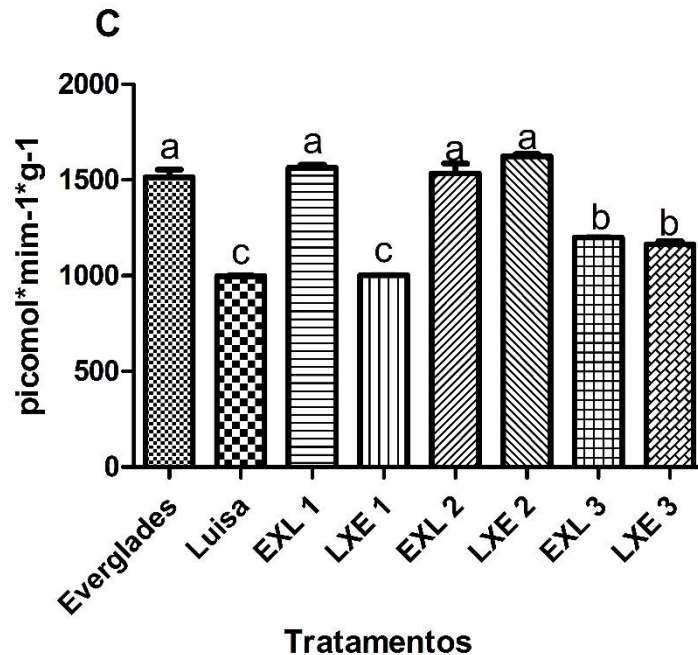
homozigotas, mas não seria eficiente para a seleção de genótipos tolerantes à terminibição nas gerações F₂ e F₃.

A variação na atividade das enzimas catalase e ascorbato peroxidase nas sementes dos genótipos oriundos do cruzamento estudado, pode estar relacionada ao tecido onde a enzima é produzida e/ou utilizada, pois para fazer a sua extração e quantificação, são maceradas sementes inteiras, sem que haja separação das partes específicas onde ocorre a atividade enzimática. Sementes de linhagens de alface tolerantes à terminibição, devido ao alto nível de homozigose, provavelmente apresentarão maior atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo em seus tecidos de forma geral, quando comparadas a sementes de híbridos F₁ e das gerações F₂ e F₃ oriundas de cruzamentos entre parentais contrastantes para essa característica, que devido à heterozigose, podem apresentar maior variação da atividade enzimática em seus tecidos.

Para a enzima endo- β -mananase foram obtidos níveis mais altos de atividade de forma geral, sendo as maiores médias da cultivar Everglades e dos genótipos EXL 1, EXL 2 e LXE 2 (FIGURA 7). Observa-se na comparação entre os parentais, que a cultivar Everglades apresenta atividade enzimática superior a cultivar Luísa, demonstrando a relação entre esta enzima e a tolerância à germinação em temperaturas elevadas.

O mesmo comportamento pode ser observado entre os híbridos F₁ recíprocos, onde o híbrido que tem a cultivar Everglades como genitor feminino apresenta média superior à do híbrido que tem a cultivar Luísa como genitor feminino, indicando a ocorrência de efeito materno (FIGURA 7). Embora a cultivar Everglades apresente maior atividade dessa enzima, em estudos realizados por Catão *et al.* (2014) sobre a atividade da enzima endo- β -mananase em sementes de cultivares de alface, observou-se que a cultivar Luísa também apresenta níveis significativos de atividade enzimática, concluindo que essa cultivar pode ser considerada como moderadamente tolerante.

Figura 7 - Quantificação da enzima endo- β -mananase (picomol*min⁻¹*g⁻¹) em sementes de alface das cultivares Everglades e Luísa, dos híbridos F₁ recíprocos e das respectivas gerações F₂ e F₃.



Letras distintas indicam que há diferença estatística de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Da autora (2022).

Para as gerações F₂ e F₃, não houve diferença significativa entre as médias dos cruzamentos recíprocos, entretanto, todos os genótipos alcançaram médias superiores às da cultivar Luísa, indicando a ocorrência de uma interação alélica no sentido de aumentar a atividade da enzima endo- β -mananase. É possível constatar ainda, por meio desses resultados, que a partir da geração F₂ não se observa mais o efeito materno.

Em estudos realizados por Cavasin (2022) acerca da expressão de genes relacionados à degradação de galactomananos, foram identificados quatro genes, BM3, BM10, BM11 e BM14, relacionados à expressão da endo- β -mananase. Os materiais testados foram as cultivares Everglades e Verônica, os híbridos F₁ recíprocos desse cruzamento e as respectivas gerações F₂, os quais obtiveram diferentes níveis de expressão dos genes citados, sendo o gene BM3 o mais expresso na cultivar Everglades. Foi observada ainda, segundo o autor, a ocorrência de efeito materno para a expressão dos genes BM3, BM10 e BM11, corroborando os resultados obtidos nesse estudo.

A expressão de genes relacionados à expressão da endo- β -mananase foi avaliada em estudos realizados por Marraccini *et al.* (2001), nos quais foram identificados dois genes que codificam a enzima endo- β -mananase, (*ManA* e *ManB*). Segundo os autores, o padrão de

expressão desses dois genes é similar, entretanto, o gene *ManA* é mais expresso no endosperma e no embrião de sementes de café durante a germinação. Da Silva *et al.* (2004), estudando a regulação da germinação em sementes de café, encontraram quatro isoformas distintas da enzima endo- β -1,4-mananase, dentre as quais, três atuam diretamente no endosperma cap, que é a porção localizada na região da micrópila, e duas sofrem inibição pelo ABA, indicando que essas isoformas desempenham diferentes papéis na germinação de sementes.

Santos *et al.* (2012), avaliando a expressão gênica da enzima endo- β -mananase em sementes de café, observaram que ocorrem variações nos picos de transcrição tanto em relação ao estágio de desenvolvimento do fruto, quanto à parte da semente analisada, havendo picos no estágio verde no endosperma e em sementes inteiras e um pico no estágio ‘passa’ no embrião. Nesse mesmo sentido, Ferreira *et al.* (2018) relataram que a enzima endo- β -mananase pode ser utilizada para o estudo dos efeitos do processamento em sementes de café, podendo, para tal, serem utilizadas sementes inteiras, endospermas ou os embriões.

Com base nos resultados das pesquisas citadas anteriormente (MARRACCINI *et al.*, 2001; DA SILVA *et al.*, 2004; SANTOS *et al.*, 2012; FERREIRA *et al.*, 2018; CAVASIN, 2022) e nos resultados obtidos nesta pesquisa, supõe-se que a variação na expressão enzimática entre os tecidos do tegumento, endosperma e embrião, poderia ocorrer também em sementes de alface das gerações F₁, F₂ e F₃ oriundas de cruzamentos entre pais contrastantes.

4.3 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos

Para a estimativa dos parâmetros genéticos e fenotípicos relacionados à característica de tolerância à germinação em sementes de alface em temperaturas elevadas, foram avaliadas sementes dos genitores Everglades e Luísa, assim como da geração F₂, oriunda de uma autofecundação das sementes híbridas, para eliminar o efeito materno, aqui então denominada sementes F₁ (‘Everglades’ x ‘Luísa’) e da geração F₃ oriunda de mais uma autofecundação, aqui denominada sementes F₂ (‘Everglades’ x ‘Luísa’). Assim, a geração F₂ passa a corresponder ao ‘F₁ verdadeiro’ e a geração F₃ ao ‘F₂ verdadeiro’. As variáveis avaliadas foram a germinação do ponto de vista agrônomico, expressa pela porcentagem de plântulas normais (PN) e a germinação do ponto de vista fisiológico, expressa pela porcentagem de sementes nas quais houve protrusão radicular (PR), ambos os parâmetros analisados à temperatura de 35 °C.

Supõe-se que a expressão das variáveis PN e PR, embora sejam decorrentes da mesma cadeia de eventos, podem diferir entre as gerações, pois a capacidade dos genótipos tolerantes à termoinibição de promover o amolecimento do endosperma para germinar em temperaturas

elevadas, poderia também favorecer a ocorrência da protrusão radicular, mas não necessariamente favoreceria a formação de plântulas normais, visto que este processo envolve o desenvolvimento de outras estruturas componentes do eixo embrionário e não apenas o tecido endospermático. Ademais, a ocorrência de protrusão radicular por si só, em ambiente com temperatura elevada, ainda que não resulte posteriormente na formação de plântulas normais, indica algum nível de tolerância à terminibição, uma vez que genótipos sensíveis a esse efeito sequer iniciam o processo germinativo sob tais condições.

Considerando as médias obtidas para PN e PR, em relação às sementes dos genótipos de alface, verifica-se maior tolerância à terminibição da cultivar Everglades, cuja média foi de 75% para PN e 80% para PR (TABELA 2), superando em mais de três vezes os valores da cultivar Luísa, que foram respectivamente de 20% e 24%. Valores contrastantes entre genitores são de grande importância quando se pretende fazer estudos sobre controle genético, requisito necessário para a obtenção de dados consistentes para as estimativas de parâmetros genéticos (BALDISSERA *et al.*, 2014).

Estes resultados também corroboram outros trabalhos, confirmando a maior tolerância da cultivar Everglades, bem como demonstrando uma relativa superioridade da cultivar Luísa em relação aos genótipos sensíveis à terminibição, tais como a cultivar Verônica, dentre outras (VILLELA *et al.*, 2010; CATÃO *et al.*, 2014; CATÃO *et al.*, 2018; CATÃO *et al.*, 2022).

Tabela 2 - Valores médios para as características de plântula normais (PN) e de protrusão radicular (PR) em sementes de genótipos de alface no teste de germinação à temperatura de 35 °C.

Genótipo	PN (%)	PR (%)
Everglades - \bar{P}_1	75,00	80,00
Luísa - \bar{P}_2	20,00	24,00
Média dos genitores	48,00	52,00
F ₁ ('Everglades' x 'Luísa') - \bar{F}_1	64,00	65,00
F ₂ ('Everglades' x 'Luísa') - \bar{F}_2	47,00	58,00

Fonte: Da autora (2022).

Em relação aos parâmetros genéticos e fenotípicos avaliados em sementes de alface dos genitores 'Everglades' e 'Luísa' e das gerações F₁ ('Everglades' x 'Luísa') e F₂ ('Everglades' x 'Luísa'), verifica-se que 66% da variância fenotípica (σ_f^2) para a característica de PN, que foi de 103,16 (TABELA 3), foi devido à variância genotípica (σ_g^2), que foi da ordem de 68,04.

Em relação a característica de PR observou-se valores semelhantes, sendo a variância fenotípica (σ_f^2) da ordem de 130,67, enquanto a variância genotípica (σ_g^2) foi de 87,92. Neste

caso, a variância genotípica representa 67% da fenotípica. Estes resultados indicam que a tolerância à germinação em temperaturas elevadas é mais influenciada pelo genótipo dos indivíduos do que pelas condições ambientais. Esse é um resultado de interesse em programas de melhoramento, pois indica que em um processo de melhoramento, a chance de ganhos com a seleção tende a ser maior, pois grande parte das diferenças entre os indivíduos (mais de 65%), para as duas características é devido aos genótipos dos mesmos.

Nesse mesmo sentido, Oliveira *et al.* (2021), estudando o controle genético da tolerância à germinação de sementes de alface sob temperaturas elevadas, observaram que as médias de germinação à temperatura de 35 °C das sementes de 26 progênies segregantes F_{2:3}, oriundas do cruzamento entre as cultivares contrastantes Everglades e Verônica, variaram de 9 a 96%, indicando que a maior parte da variabilidade fenotípica encontrada é decorrente do genótipo dessas progênies.

Com relação a heterose, foi observado valor positivo de 16,50 para PN e 13,13 para PR. A heterose é uma estratégia muito importante utilizada quando se deseja obter híbridos. Esse não é o caso da alface, não havendo interesse imediato, já que o processo de melhoramento desta espécie é sempre conduzido visando a obtenção de linhagens superiores, mediante seleção e autofecundação, linhagens estas que constituirão as novas cultivares.

Tabela 3 - Estimativas dos parâmetros genéticos para as características de plântula normais (PN) e protrusão radicular (PR) no teste de germinação à temperatura de 35 °C.

Parâmetro genético	PN	PR
Média do Genitor 1 - \bar{P}_1	75,00	79,50
Média do Genitor 2 - \bar{P}_2	20,00	23,25
Média da geração F ₁ - \bar{F}_1	64,00	64,50
Média da geração F ₂ - \bar{F}_2	46,60	58,00
Variância fenotípica - $\sigma_{f(F_2)}^2$	103,16	130,67
Variância genotípica - $\sigma_{g(F_2)}^2$	68,00	87,92
Variância ambiental - $\sigma_{m(F_2)}^2$	35,11	42,75
Heterose	16,50	13,13
Herdabilidade no sentido amplo - h_a^2	65,96%	67,28%
Grau médio de dominância baseado em médias - k_m	0,60	0,47
Ganho por seleção - ΔG (%)	14,72%	13,92%
Medida dos efeitos aditivos - [a]	27,50	28,12
Medida dos desvios de dominância - [d]	16,50	13,12

Fonte: Da autora (2022).

A estimativa de herdabilidade, no sentido amplo, foi da ordem de 65,96% para PN e 67,28% para PR (TABELA 2), valores considerados como altos de acordo com a classificação proposta por Stansfield (1974) apud Baldissera *et al.* (2014), onde os valores de herdabilidade são classificados como altos quando maiores que 0,5; como médios quando estão entre 0,2 e 0,5 e; baixos quando menores que 0,2. Esse resultado corrobora o resultado obtido por Oliveira *et al.* (2021), que demonstrou que a herdabilidade para a característica de tolerância à germinação em temperaturas altas no cruzamento dos genótipos contrastantes ‘Everglades’ e ‘Verônica’ foi relativamente alta. Uma herdabilidade alta ocorre quando a maior parte da variação fenotípica observada em uma determinada população é decorrente da variação genotípica, sendo pouco influenciada pelo ambiente (RAGHEB, 2015). A herdabilidade alta indica maior chance de sucesso no processo de seleção e maiores ganhos com o melhoramento.

O grau médio de dominância (GMD) observado foi de 0,60 para PN e de 0,47 para PR (TABELA 2), indicando a ocorrência de dominância parcial para essas características, no sentido de aumentar a germinação em temperaturas elevadas. A determinação do efeito genético a partir da estimativa do grau médio de dominância foi baseada na escala proposta por Stuber, Edwards e Wendel (1987) apud Pereira, Leal e Pereira (2000), onde o valor de GMD igual a 0 ou inferior a 0,20 é considerado como efeito aditivo, valores de 0,21 a 0,80 como dominância parcial, valor de 0,81 a 1,20 como dominância completa, e valores acima de 1,20 como sobredominância. Entretanto, os efeitos de dominância apresentam pouca relevância para o melhoramento de autógamias como a alface, pois não são herdáveis e dificilmente são detectados durante o processo de seleção (BALDISSERA *et al.*, 2014).

As médias dos desvios de dominância apresentaram menores magnitudes, sendo de 16,50 para PN e 13,12 para PR, em relação às médias dos efeitos aditivos que foram de 27,50 e 28,12, respectivamente, demonstrando que há predominância dos efeitos aditivos. Os efeitos aditivos são de interesse para programas de melhoramento genético, pois podem ser herdados, permitindo a fixação dos genes de interesse e permitindo antever os ganhos com a seleção. Cabe salientar ainda, que a associação dos efeitos aditivos com uma alta herdabilidade viabiliza a seleção de genótipos superiores (ALVES, 2020).

Foi estimado também, para ambas as variáveis, o ganho por seleção a partir da geração F₂, sendo este de 14,72% para PN e 13,92% para PR, na seleção para os maiores valores. A média predita para o primeiro ciclo após a seleção foi de 53,46% para PN e de 66,07% para PR. Estes resultados, associados à ocorrência de efeitos aditivos e herdabilidade relativamente alta, indicam a possibilidade de sucesso na seleção de genótipos de alface de folhas lisas, com maior

tolerância à germinação em temperaturas elevadas, com vistas ao desenvolvimento de uma cultivar de folha lisa como a cultivar Luísa, com esta característica.

5 CONCLUSÃO

Existe efeito materno para a característica de tolerância à termoinibição em sementes de híbridos F₁ de alface.

A cultivar Luísa pode ser considerada moderadamente tolerante à termoinibição.

A enzima catalase pode ser utilizada como um marcador para a seleção de genótipos de alface tolerantes à termoinibição.

Os efeitos aditivos são mais significativos do que os efeitos não aditivos para a característica de tolerância à termoinibição em sementes de alface, o que, associado à herdabilidade no sentido amplo, relativamente alta, permitem predizer a possibilidade de sucesso com a seleção para esta característica.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase *in vitro*. In: **Methods Enzymol.**, [S.l.], v. 105, p. 121-126, 1984.
- ALBUQUERQUE, K.A.D.; ALVIM, P.O.; SILVA, P.A.; VEIGA, A.D. Physiological and biochemical quality of lettuce seeds coated with micronutrients, amino acids and growth regulators. **Bioscience Journal**, [S.l.], v. 26, n. 6, p. 843-848, 2010.
- ALBUQUERQUE, K.S.; GUIMARÃES, R.M.; ALMEIDA, I.F.D.; CLEMENTE, A.D.C.S. Alterações fisiológicas e bioquímicas durante embebição de sementes de sucupira-preta (*Bowdichia virgilioides* Kunth.). **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v. 31, n. 1, p. 12-19, 2009.
- ALMEIDA, F.A.; SILVA-MANN, R.; DOS SANTOS, H.O.; PEREIRA, R.W.; BLANK, A. F. Germination temperatures affect the physiological quality of seeds of lettuce cultivars. **Bioscience Journal**, [S.l.], v. 35, n. 4, 14 jun. 2019.
- ALVES, V.A.C. **Análise genética do teor de flavonoides totais e atividade antioxidante em alface**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2020. 76 p.
- ARGYRIS, J.; DAHAL, P.; HAYASHI, E.; STILL, D.W.; BRADFORD, K.J. Genetic variation for lettuce seed thermoinhibition is associated with temperature-sensitive expression of abscisic acid, gibberellin, and ethylene biosynthesis, metabolism, and response genes. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 148, n. 2, p. 926-947, 2008.
- ARGYRIS, J.; TRUCO, M.J.; OCHOA, O.; MCHALE, L.; DAHAL, P.; VAN DEYNZE, A.; BRADFORD, K.J. A gene encoding an abscisic acid biosynthetic enzyme (LsNCED4) collocates with the high temperature germination locus Htg6. 1 in lettuce (*Lactuca* sp.). **Theoretical and Applied Genetics**, [S.l.], v. 122, n. 1, p. 95-108, 2011.
- BALDISSERA, J.N.C.; VALENTINI, G.; COAN, M.M.D.; GUIDOLIN, A.F.; COIMBRA, J. L.M. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamias. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, [S.l.], v. 13, n. 2, p. 181-189, 2014.
- BERGER, F.; GRINI, P.E.; SCHNITTGER, A. Endosperm: an integrator of seed growth and development. **Current Opinion in Plant Biology**, [S.l.], v. 9, p. 664-670, 2006.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regra para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.
- BUFALO, T; AMARO, A.C.E.; ARAUJO, H.S.; CORSATO, J.M.; ONO, E.O.; FERREIRA, G.; RODRIGUES, J.D. Períodos de estratificação na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L.) sob diferentes condições de luz e temperatura. **Semina: Ciências Agrárias**, [S.l.], v. 33, n. 3, p. 931-940, 2012.
- CARVALHO, M.H. de. **Aspectos fisiológicos e moleculares de sementes de *Coffea arabica* submetidas à secagem**. 2017. 74 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2017.

- CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; AZEVEDO, A.M.; SIQUIEROLI, A.C.S.; MACIEL, G.M.; FREITAS, P.G. Florescimento precoce, dissimilaridade genética e agrupamento de cultivares de alface com sementes tolerantes à termoinibição. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 40, p. 39-47, 2022.
- CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; GUIMARÃES, R.M.; FONSECA, P.H.F.; CAIXETA, F.; GALVÃO, A.G. Physiological and biochemical changes in lettuce seeds during storage at different temperatures. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], n. 36, p.118-125, 2018.
- CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; GUIMARÃES, R.M.; FONSECA, P.H.F.; CAIXETA, F.; MARODIN, J.C. Physiological and isozyme alterations in lettuce seeds under different conditions and storage periods. **Journal of Seed Science**, [S.l.], v. 38, n. 4, p. 305–313, 2016.
- CATÃO, H.C.R.M.; GOMES, L.A.A.; DOS SANTOS, H.O.; GUIMARÃES, R.M.; FONSECA, P.H.F.; CAIXETA, F. Aspectos fisiológicos e bioquímicos da germinação de sementes de alface em diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.l.], v. 49, n. 4, p. 316-322, 2014.
- CAVASIN, P.Y. **Efeito materno para a característica de tolerância à termoinibição em sementes de alface** (*Lactuca sativa*). 2019. 39 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2019.
- CAVASIN, P.Y. **Endo- β -Mananase e α -galactosidase e suas relações com a tolerância à termoinibição em sementes de alface**. 2022. 49 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2022.
- CAVERZAN, A.; CASASSOLA, A.; BRAMMER, S.P. Reactive oxygen species and antioxidant enzymes involved in plant tolerance to stress. **Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives**, [S.l.], v. 17, p. 463-480, 2016.
- COSTA, E.M.; SILVA, H.F.; RIBEIRO, P.R.A. Matéria orgânica do solo e o seu papel na manutenção e produtividade dos sistemas agrícolas. **Enciclopédia Biosfera**, [S.l.], v. 9, n. 17, p. 1842-1860, 2016.
- CRODA, M.D.; NASCIMENTO, W.M.; FREITAS, R.A.; MEDEIROS, K. A. Produção de sementes de alface nas condições do Distrito Federal e sua capacidade germinativa sob temperaturas elevadas. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 48., 2008, Maringá. **Resumos**[...]. Maringá: ABH, 2008. 1 CD-ROM.
- CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, [S.l.], v. 35, n. 3, p.271-276, 2013.
- DA SILVA, T.A.; BALDINI, L.F.G.; FERREIRA, G.; NAKAGAWA, J.; DA SILVA, E.A. A. Thermoinhibition in parsley seeds. **Bioscience Journal**, [S.l.], v. 33, n. 6, 2017.
- DA SILVA, E.A. *et al.* Abscisic acid controls embryo growth potential and endosperm cap weakening during coffee (*Coffea arabica* cv. Rubi) seed germination. **Planta**, [S.l.], v. 220, n. 2, p. 251-261, 2004.

DOWNIE, B.; HILHORST, H.W.M.; BEWLEY, J.D. A new assay for quantifying endo- β -mannanase activity using Congo Red dye. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 36, p. 829-835, 1994.

FERREIRA, V.F.; RICARDONI, M.A.; ROSA, S.D.V.F.; FIGUEIREDO, M.A.; COELHO, S.V.B.; FANTAZZINI, T.B. Endo- β -mannanase enzyme activity in the structures of *Coffea arabica* L. seeds under different types of processing and drying. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.48, n.12, e20170839, 2018.

FILGUEIRA, F.A.R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa: UFV, 2000.

HALMER, P.; BEWLEY, J.D.; THORPE, T.A. Enzyme to break down lettuce endosperm cell wall during gibberellin-and-light-induced germination. **Nature**, [S.l.], v. 258, n. 5537, p. 716-718, 1975.

HAVIR, E.A.; MCHALE, N.A. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. **Plant Physiology**, [S.l.], v. 84, n. 2, p. 450-455, 1987.

HUO, H.; BRADFORD, K.J. Molecular and hormonal regulation of thermoinhibition of seed germination. *In: Advances in Plant Dormancy*. Springer, Cham, 2015. p. 3-33.

HUO, H.; HENRY, I.M.; COPPOOLSE, E.R.; VERHOEF-POST, M.; SCHUT, J.W.; DE ROOIJ, H.; BRADFORD, K.J. Rapid identification of lettuce seed germination mutants by bulked segregant analysis and whole genome sequencing. **The Plant Journal**, [S.l.], v. 88, n. 3, p. 345-360, 2016.

KOZAREWA, I.; CANTLIFFE, D.J.; NAGATA, R.T.; STOFFELLA, P.J. High maturation temperature of lettuce seeds during development increased ethylene production and germination at elevated temperatures. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, [S.l.], v. 131, n. 4, p. 564-570, 2006.

KUO, E.Y.H.; CAI, M.S.; LEE, T.M. Ascorbate peroxidase 4 plays a role in the tolerance of *Chlamydomonas reinhardtii* to photo-oxidative stress. **Scientific Reports**, [S.l.], v.10, n.13287, 2020.

LAFTA, A.; MOU, B. Evaluation of lettuce genotypes for seed thermotolerance. **HortScience**, [S.l.], v. 48, n. 6, p. 708-714, 2013.

LOEW, O. A new enzyme of general occurrence in organisms. **Science**, [S.l.], v. 11, n. 279, p. 701-702, 1900.

MARRACCINI, P. *et al.* Update on coffee biochemical compounds, protein and gene expression during bean maturation and in other tissues. *In: COLLOQUE SCIENTIFIQUE INTERNATIONAL SUR LE CAFÉ*, 2001, 19ème., Trieste, Italy. **Anais [...]**, Trieste, Italy: Association Scientifique Internationale du Café (ASIC), 14-18 maio 2001. p. 1-12.

MHAMDI, A.; NOCTOR, G.; BAKER, A. Plant catalases: Peroxisomal redox guardians. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S.l.], v. 525, n. 2, p. 181-194, 2012.

MITTLER, R. ROS are good. **Trends in Plant Science**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 11-19, 2017.

MONTEIRO, F.F. **Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos da qualidade de sementes de soja**. 2018. 54 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

NAGAI, H. Obtenção de novos cultivares de alface (*Lactuca sativa* L.) resistente ao mosaico e ao calor: Brasil-303 e 311. **Revista de Olericultura**, Campinas, v. 18, p. 14-21, 1980.

NANDI, A.; YAN, L.J.; JANA, C.K.; DAS, N. Role of Catalase in Oxidative Stress - And Age-Associated Degenerative Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [S.l.], v. 2019, n. 9613090, 2019.

NASCIMENTO, W.M.; ANDRADE, K.P.; FREITAS, R.A.; SILVA, G.O.; BOITEUX, L.S. Effects of temperature on tomato seed germination: Phenotypic variability and heterosis. **Horticultura Brasileira**, [S.l.], v. 34, n. 2, p. 216–222, 2016.

NASCIMENTO, W.M.; CANTLIFFE, D.J.; HUBER, D.J. Ethylene evolution and endo- β -mannanase activity during lettuce seed germination at high temperature. **Scientia Agricola**, [S.l.] v. 61, p. 156-163, 2004.

NASCIMENTO, W.M.; CRODA, M.D.; LOPES, A.C. Amaral. Produção de sementes, qualidade fisiológica e identificação de genótipos de alface termotolerantes. **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v. 34, p. 510-517, 2012.

NONOGAKI, H. Seed germination: the biochemical and molecular mechanisms. **Breeding Science**, [S.l.], v. 56, n. 1, p. 93-105, 2006.

NUNES, L.R.; PINHEIRO, P.R.; PINHEIRO, C.L.; SILVA, W.M.; CABRAL, F.A.; DUTRA, A.S. Giberellic acid in the expansion of the thermal range of lettuce seeds. **Journal of Agricultural**, Toronto, v. 11, n. 2, p. 369-375, 2019.

OLIVEIRA, A.H.G.D.; MACIEL, G.M.; SIQUIEROLI, A.C.S.; JACINTO, A.C.P.; SILVEIRA, A.J.D.; SILVA, E.C.D. Estimativas de parâmetros genéticos para pigmentos e caracteres agrônômicos em alface verde versus roxa. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v. 43, 2019.

OLIVEIRA, A.K.M.; RIBEIRO, J.W.F.; MATIAS, R.; GUSMÃO, D.D.H.; PEREIRA, K.C. L. Potencial alelopático de folhas frescas de bacupari (*Rheedia brasiliensis* (Mart.) Planch. & Triana) na germinação de alface. **Revista Brasileira de Biociências**, [S.l.], v. 9, n. 4, p. 550, 2011.

OLIVEIRA, D.F.; CAVASIN, P.Y.; SILVA, S.; OLIVEIRA, N.S.; OLIVEIRA, C.L.D.; GOMES, L.A.A. Genetic control of thermoinhibition tolerance in lettuce seeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S.l.], v. 56, 2021.

OMEZZINE, F.; LADHARI, A.; HAOUALA, R. Physiological and biochemical mechanisms of allelochemicals in aqueous extracts of diploid and mixoploid *Trigonella foenum-graecum* L. **South African Journal of Botany**, [S.l.], v. 93, p. 167-178, 2014.

ORSI, C.H.; TANKSLEY, S.D. Natural variation in an ABC transporter gene associated with seed size evolution in tomato species. **PLoS Genetics**, [S.l.], v. 5, n. 1, p. e1000347, 2009.

PANDEY, S.; FARTYAL, D.; AGARWAL, A.; SHUKLA, T.; JAMES, D.; KAUL, T.; NEGI, Y. K.; ARORA, S.; REDDY, M. K. Abiotic stress tolerance in plants: myriad roles of ascorbate peroxidase. **Frontiers in Plant Science**, [S.l.], v. 8, n. 581, 2017.

PATRICIO, D.I.; CARPENTIERI-PIPOLO, V.; KIIHL, T.A.M. PediTree: ferramenta de visualização de dados de pedigree para pesquisa e melhoramento de cevada. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CEVADA, 32., 2019, Passo Fundo. **Anais [...]**. Brasília, DF: Embrapa, 2019.

PEREIRA, N.E.; LEAL, N.R.; PEREIRA, M.G. Controle genético da concentração de 2-Tridecanona e de 2-Undecanona em cruzamentos interespecíficos de tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v. 59, n. 2, p. 165-172, 2000.

RAGHEB, E.I.M. Mass Selection and Individual Plant Selection as Two Breeding Methods 577 for Improving Lettuce (*Lactuca sativa* L.). **Alexandria Journal of Agricultural Sciences**, [S.l.], v. 578, n. 3, p. 213-220, 2015.

RECZEK, C.R.; CHANDEL, N.S. ROS-Dependent signal transduction. **Current Opinion in Cell Biology**, [S.l.], v. 33, p. 8–13, abr. 2015.

REGO, S.S.; FERREIRA, M.M.; NOGUEIRA, A.C.; GROSSI, F.; SOUSA, R.K.; BRONDANI, G.E.; ARAUJO, M.A.; SILVA, A.L.L. Estresse Hídrico e Salino na Germinação de Sementes de *Anadenanthera colubrina* (Velloso) Brenan. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, [S.l.], v. 2, n. 4, p. 37-42, 2011.

ROSSETTI, C.; MADRUGA, N.P.; ÁVILA, N.C. de; PIRES, A.; ALMEIDA, A. da S.; SILVA, J.B. da; KERCHNER, E.C.; TUNES, L.V.M de. Caracterização morfológica de sementes de alface (*Lactuca Sativa* L.). **Brazilian Journal of Development**, [S.l.], v. 6, n. 6, p. 40119-40126, 2020.

SANTOS, F.C.; ROSA, S.D.V.F.; PINHO, E.V.R.V. **Expressão gênica da endo-beta-mananase em diferentes estádios de desenvolvimento de sementes de café**. 2012. Disponível em: http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/4498/351_38-CBPC-2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 13 jun. 2022.

SCANDALIOS, J.G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [S.l.], v. 38, n. 7, p. 995–1014, 2005.

SHARMA, P.; JHA, A.B.; DUBEY, R.S.; PESSARAKLI, M. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. **Journal of Botany**, [S.l.], [S.v.], [S.n.], 2012.

SILVA, T.B. da; VILAR, F.C.R.; COSTA, M.G.O.; ALMEIDA NETO, M.A. de; PEREIRA, M. de C. **Tecnologia de sementes e mudas no semiárido nordestino**. 1. ed. Guarujá, SP: Científica, 2020.

SOUZA, J.T.A.; COSTA, C.A.D.; BRANDÃO JUNIOR, D.D.S.; MENEZES, J.B.D.C.; NASCIMENTO, W.M.; CARDOSO, W.J. Yield and quality of seeds of lettuce genotypes produced under organic management. **Journal of Seed Science**, [S.l.], v. 41, p. 352-358, 2019.

SOUZA, J.L.; DA SILVA, S.A.; SILVA-MANN, R.; GONÇALVES, G.B.; GOMES, L.A. A. de; CARVALHO FILHO, J.L.S. Genótipos de alface folha lisa para a região Agreste de Sergipe. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, [S.l.], v. 14, n. 5, p. 629-634, 2019.

SOUZA, M.C.M.S. **Variabilidade genética e caracterização agrônômica de progênies de alface tolerantes ao calor**. 2006. 54 p. Dissertação (Mestrado em Melhoramento Genético de plantas) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2006.

STANSFIELD, W.D. **Genética**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1974. 958 p.

STUBER, C.W.; EDWARDS, M.D.; WENDEL, J.F. Molecular marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. II. Factors influencing yield and its component traits. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 639- 648, 1987.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2017.

VILLELA, R.P.; DE SOUZA, R.J.; GUIMARÃES, R.M.; NASCIMENTO, W.M.; GOMES, L.A.A.; CARVALHO, B.O.; BUENO, A.C.R. Produção e desempenho de sementes de cultivares de alface em duas épocas de plantio. **Revista Brasileira de Sementes**, [S.l.], v. 32, n. 1, p.158-169, 2010.

XIE, X.; HE, Z.; CHEN, N.; TANG, Z.; WANG, Q.; CAI, Y. The roles of environmental factors in regulation of oxidative stress in plant. **BioMed Research International**, [S.l.], v. 2019.

WEI, S.; YANG, X.; HUO, G.; GE, G.; LIU, H.; LUO, L.; LONG, P. Distinct metabolome changes during seed germination of lettuce (*Lactuca sativa* L.) in response to thermal stress as revealed by untargeted metabolomics analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.l.], v. 21, n. 4, p. 1481, 2020.

WOLF, J.B.; WADE, M.J. What are maternal effects (and what are they not)? *Philosophical Transactions of the Royal Society B*. **Biological Sciences**, [S.l.], v. 364, n. 1520, p. 1107-1115, 2009.

YOONG, F.Y.; O'BRIEN, L.K.; TRUCO, M.J.; HUO, H.; SIDEMAN, R.; HAYES, R.; MICHELMORE, R.W.; BRADFORD, K.J. Genetic variation for thermotolerance in lettuce seed germination is associated with temperature-sensitive regulation of Ethylene Response Factor 1 (ERF1). **Plant Physiology**, [S.l.], v. 170, n. 1, p. 472-488, 2016.

ZHENG, X.; VAN HUYSTEE, R.B. Anionic peroxidase catalysed ascorbic acid and IAA oxidation in the presence of hydrogen peroxide: a defence system against peroxidative stress in peanut plant. **Phytochemistry**, [S.l.], v. 31, n. 6, p. 1895-1898, 1992.