



RAMON IVO SOARES AVELAR

**AVALIAÇÃO CARIOTÍPICA, FENOLÓGICA, ANATÔMICA
E NUTRICIONAL DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-
ÁRVORE (*Lactuca* aff. *canadensis* L. - Asteraceae)**

**LAVRAS - MG
2021**

RAMON IVO SOARES AVELAR

**AVALIAÇÃO CARIOTÍPICA, FENOLÓGICA, ANATÔMICA E NUTRICIONAL DE
MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L. -
Asteraceae)**

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

Prof.^a Dra. Luciane Vilela Resende
Orientadora

Prof.^a Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho
Coorientadora

Prof.^a Dra. Kátia Ferreira Marques de Resende
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

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

Avelar, Ramon Ivo Soares.

Avaliação cariotípica, fenológica, anatômica e nutricional de
morfortipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis* L. -
Asteraceae) / Ramon Ivo Soares Avelar. - 2021.

116 p. : il.

Orientador(a): Luciane Vilela Resende.

Coorientador(a): Elisângela Elena Nunes Carvalho, Kátia
Ferreira Marques de Resende.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.
Bibliografia.

1. Hortaliça não convencional. 2. Número cromossômico. 3.
Valor nutricional. I. Resende, Luciane Vilela. II. Carvalho,
Elisângela Elena Nunes. III. Resende, Kátia Ferreira Marques de.
IV. Título.

RAMON IVO SOARES AVELAR

AVALIAÇÃO CARIOTÍPICA, FENOLÓGICA, ANATÔMICA E NUTRICIONAL DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L. - Asteraceae)

KARYOTYPICAL, PHENOLOGICAL, ANATOMICAL AND NUTRITIONAL EVALUATION OF ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE MORPHOTYPES (*Lactuca aff. canadensis* L. - Asteraceae)

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 26 de fevereiro de 2021.

Prof.^a Dra. Rita de Cássia Mirela Resende Nassur IF SERTÃO - PE

Prof. Dr. Manuel Losada Gavilanes UFLA

Prof. Dr. Cleiton Lourenço de Oliveira UFLA

Prof.^a Dra. Vânia Helena Techio UFLA

Prof.^a Dra. Luciane Vilela Resende
Orientadora

Prof.^a Dra. Elisângela Elena Nunes Carvalho
Coorientadora

Prof.^a Dra. Kátia Ferreira Marques de Resende
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2021**

*À minha mãe Sílvia pelo incentivo aos estudos e por ser o meu maior
exemplo de persistência e superação.*

*Ao meu pai João Xavier pelo apoio em todas as minhas decisões.
À minha irmã Jéssica Celi pelo carinho e por sempre acreditar em meu
potencial.*

*À minha esposa Izabella pelo companheirismo e superação durante todo
este longo período de estudos.*

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente e sempre, agradeço a Deus, por me conceder mais uma oportunidade e por todas as graças alcançadas durante este ciclo.

Aos meus pais, João Xavier e Sílvia de Fátima, que nunca mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos.

À minha irmã Jéssica Celi e a meu cunhado Ícaro Ramos, por sempre valorizarem os meus trabalhos e estudos.

À minha esposa Izabella Motta, por realizar um dos meus sonhos, de construir uma família e por todos esses anos juntos, de lutas, de companheirismo, de vitórias, alegrias, frustrações, distância e, sobretudo, pelo amor.

Ao meu filho João Benício, por transformar os meus dias em momentos especiais e únicos, jamais esperados.

A todos os meus familiares que conviveram durante esses longos anos à distância, desde a minha graduação, em especial, às minhas tias e tios.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), pela experiência única em conviver com pessoas de diversos países, o que permitiu conhecer culturas diferentes; pela convivência harmoniosa e pela estrutura oferecida para auxiliar nos estudos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsas, que foram fundamentais para a minha formação e permanência nos estudos. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Ao Programa de Pós-graduação em Agronomia/ Fitotecnia e todos os seus membros e colaboradores, pela oportunidade, em especial, à secretária Marli que sempre nos atendeu com o máximo de atenção e respeito.

À minha orientadora Luciane Vilela Resende, com quem tive uma relação excepcional. Aberta a desafios e de um coração que sempre tem espaço para mais um.

Aos professores da UFLA, sobretudo, os mais experientes. Tive o prazer em cursar disciplinas, assistir a palestras e dividir laboratórios com pessoas especiais e ilustres. Em especial, às minhas coorientadoras Profa. Elisângela Elena Nunes Carvalho e Kátia Ferreira Marques de Resende. Sinto muito orgulho em ter sido orientado por MULHERES de valores,

de fé, pessoas humanas e de caráter inigualável. Aos professores Wilson Magela Gonçalves e Manuel Losada Gavilanes, que foram grandes entusiastas dos nossos trabalhos.

Aos meus colegas e amigos, Raiy Magalhães Ferraz, Douglas Correa de Souza, Ana Luísa Rodrigues de Araújo, Marcelo Henrique Avelar Mendes, João Barcelos Xavier, Luís Felipe Lima e Silva, Krisnanda Kelly Castro de Souza, Tiago César Ribeiro Ferreira, Paula Aparecida Costa, Thiago Sampaio Guerra, e a todos os orientados da profa. Luciane, que, de alguma forma, contribuíram para a realização do projeto.

Aos orientados da prof. Elisângela, em especial, à Ana Beatriz Silva Araújo.

Aos funcionários da UFLA, de todos os setores, com quem fiz grandes amizades. Em especial, aos técnicos de laboratório e de campo do Setor de Olericultura: Luiz Gonzaga do Carmo (Luizinho), Josemar Silva e Stéfany Martins da Silva Lino, que sempre nos auxiliaram nos experimentos.

À academia Barde Fitness, em nome da pessoa de Cláudio (Barde), onde pude reestabelecer a minha saúde física e mental, em especial, à minha personal trainer Jéssica Liria.

Aos meus amigos e amigas da Romaria da Fé, com os quais tive a oportunidade de caminhar em oração de Lavras-MG a Aparecida-SP no ano de 2019. À Avelar Foods, que foi fundamental para custear as minhas despesas no período pós-bolsista.

A todos que sempre torceram e apostaram nas minhas escolhas.

Muito obrigado!

RESUMO

Lactuca aff. *canadensis* é uma hortaliça não convencional da família Asteraceae. A espécie foi introduzida no Brasil, onde é popularmente conhecida como almeirão-de- árvore. O almeirão-de-árvore exibe grande variabilidade morfológica, especialmente relacionada às folhas e não há registros sobre os seus caracteres agrônômicos, anatômicos e citogenéticos, tampouco para fins de identificação taxonômica. Apresenta divergências em sua denominação científica, sendo identificado como *Cichorium intybus* L., *Lactuca canadensis* L. e *Lactuca indica* L.. Neste trabalho, foi referenciada como *Lactuca* aff. *canadensis* L (aff = a fim de). Dessa forma, para ampliar o conhecimento científico, de características essenciais aos usos na alimentação e de cultivo, objetivou-se, com o trabalho, elaborar a caracterização citogenética, anatômica e nutricional, bem como avaliar o ciclo fenológico de diferentes morfotipos de almeirão-de-árvore (*L.* aff. *canadensis* L.). Os morfotipos de almeirão-de-árvore (verde, roxo liso de folha estreita, roxo repicado e roxo liso de folha larga) foram obtidos junto à coleção de germoplasma da Universidade Federal de Lavras. No primeiro estudo, foram realizadas análises citogenéticas para a diferenciação dos morfotipos de almeirão-de-árvore: determinação do nº cromossômico e quantificação do DNA por citometria de fluxo e observados os caracteres anatômicos com a determinação do tipo de estômatos, dimensões e densidade estomática. No segundo estudo, foram caracterizados os estádios fenológicos e avaliados o comportamento dos parâmetros produtivos, seguido da caracterização nutricional, composição fitoquímica e potencial antioxidante. Os morfotipos de almeirão-de-árvore possuem semelhanças no desenvolvimento, principalmente, no crescimento vegetativo. Algumas diferenças foram detectadas quanto à altura de plantas e ao período reprodutivo. Apresentaram grande potencial produtivo, com produção superior a outras hortaliças folhosas como a alface, de estádios de desenvolvimento semelhante. A fenologia também permite adotar o mesmo manejo e sistema de produção. Mostraram-se plantas de elevado conteúdo nutricional, com destaque para o teor de compostos fenólicos, vitamina C, além de outros constituintes, como proteínas, macro e micronutrientes, em especial, para o teor de Ca, Mg, K e Mn. Todos os genótipos avaliados apresentaram $2n = 18$ cromossomos, com predominância de cromossomos submetacêntricos, relativamente simétricos. Não foram observadas variações significativas ao conteúdo de DNA dos quatro morfotipos, em média, 5,88 pg, valores discrepantes dos encontrados na literatura para as espécies sugeridas ao almeirão-de-árvore. Na análise anatômica, as folhas dos morfotipos de almeirão-de-árvore foram classificadas como hipoanfiestomáticas. Em geral, apresentaram semelhanças entre os morfotipos repicados (verde e roxo) e entre os tipos roxos lisos (folha estreita e folha larga) para o número e tamanho de estômatos. Os resultados obtidos contribuirão para a taxonomia, no programa de melhoramento genético, recomendações de usos na alimentação, no desenvolvimento de tecnologias para a produção comercial e de sementes, além de gerar informações para o conhecimento científico.

Palavras-chave: Hortaliça Não Convencional. Número Cromossômico. Citometria De Fluxo. Valor Nutricional.

ABSTRACT

Lactuca aff. *canadensis* is an unconventional vegetable from the Asteraceae family. The species was introduced in Brazil, where it is popularly known as almeirão-de-árvore. The almeirão-de-árvore exhibits great morphological variability, especially related to the leaves and there are no records on its agronomic, anatomical and cytogenetic characters, neither for taxonomic identification purposes. It presents divergences in its scientific name, being identified as *Cichorium intybus* L., *Lactuca canadensis* L. and *Lactuca indica* L.. In this work it was referred to as *Lactuca* aff. *canadensis* L (aff = in order to). Thus, in order to expand scientific knowledge, of essential characteristics for use in food and cultivation, the aim of the work was to elaborate the cytogenetic, anatomical and nutritional characterization, as well as to evaluate the phenological cycle of different almeirão-de-árvore morphotypes. The morphotypes of almeirão-de-árvore (green, smooth purple with narrow leaf, peaked purple and smooth purple with broad leaf) were obtained from the germplasm collection of the Federal University of Lavras. In the first study, the phenological stages were characterized and the behavior of the productive parameters was evaluated, followed by nutritional characterization, phytochemical composition and antioxidant potential. In the second study, cytogenetic analyzes were carried out to differentiate almeirão-de-árvore morphotypes: determination of the chromosomal number and DNA quantification by flow cytometry and observing the anatomical characters with the determination of stoma type, dimensions and stomatal density. Tree morphotypes have similarities in development, especially in vegetative growth. Some differences were detected in terms of plant height and reproductive period. They presented great productive potential, with production superior to other leafy vegetables such as lettuce, of similar development stages. Phenology also makes it possible to adopt the same management and production system. Plants with high nutritional content were shown, with emphasis on the content of phenolic compounds, vitamin C, in addition to other constituents, such as proteins, macro and micronutrients, especially for the content of Ca, Mg, K and Mn. All genotypes evaluated showed $2n = 18$ chromosomes, with a predominance of relatively symmetrical submacentric chromosomes. No significant variations were observed for the DNA content of the four morphotypes, on average 5.88 pg, values that differ from those found in the literature for the species suggested for the almeirão-de-árvore. In the anatomical analysis, the leaves of the almeirão-de-árvore morphotypes tree were classified as hypoamphistomatic. In general, they showed similarities between lobed morphotypes (green and purple) and between smooth purple types (narrow leaf and wide leaf) for the number and size of stomata. The results obtained will contribute to the taxonomy, in the genetic improvement program, recommendations for uses in food, in technology for commercial and seed production, in addition to generating information for scientific knowledge.

Keywords: Unconventional Vegetables. Chromosome Number. Flow Cytometry. Nutritional Value.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1.1 - Plantas de almeirão-de-árvore verde (A), almeirão-de-árvore roxo liso de folha estreita (B), almeirão-de-árvore roxo repicado (C) e almeirão-de-árvore roxo liso de folha larga (D).....45
- Figura 1.2 - Núcleos interfásicos de células em metáfase do tipo reticulado de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*): A) almeirão-de-árvore verde; B) almeirão-de-árvore roxo liso folha estreita; C) almeirão-de-árvore roxo repicado; D) almeirão-de-árvore roxo liso folha larga; Metáfases mitóticas com $2n = 18$ cromossomos (E, F, G, H).....48
- Figura 1.3 - Cariograma de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore: A) Almeirão-de-árvore verde; B) Almeirão roxo liso folha estreita; C) Almeirão-de-árvore roxo repicado; D) Almeirão roxo liso folha larga..... 49

ARTIGO 3

- Figura 3.1 - Morfotipos de almeirão-de-árvore: A) verde; B) roxo liso folha estreita; C) roxo repicado; D) roxo liso folha larga..... 75
- Figura 3.2 - Regiões de coleta de amostras de tecido foliar de almeirão-de-árvore dos morfotipos: A) verde; B) roxo liso folha estreita; C) roxo repicado; D) roxo liso folha larga..... 76
- Figura 3.3 - Eletro-micrografia de varredura evidenciando estômatos na face abaxial - A, C, E, G e adaxial - B, D, F, H dos almeirões-de-árvore: verde A-B, roxo liso folha estreita C-D, roxo repicado E-F, roxo liso folha larga G-H.....80
- Figura 3.4 - Eletro-micrografia de varredura evidenciando estômatos na face abaxial - A, C, E, G e adaxial - B, D, F, H dos almeirões-de-árvore: verde A-B, roxo liso folha estreita C-D, roxo repicado E-F, roxo liso folha larga G-H.....81
- Figura 3.5 - Eletro-micrografia de varredura mostrando tricomas na face adaxial da lâmina foliar dos almeirões-de-árvore: A) verde (10 μ m), B) roxo liso folha estreita (10 μ m), C) roxo repicado (20 μ m), D) roxo liso folha larga μ m)..... 82

ARTIGO 4

- Figura 4.1 - Morfotipos de almeirão-de-árvore analisados e suas denominações: a) almeirão verde; b) almeirão roxo liso; c) almeirão roxo repicado..... 90

Figura 4.2 - Plantas de almeirão-de-árvore nas diferentes épocas de colheita: a) 1ª colheita; b) 2ª colheita; c) 3ª colheita.....	92
Figura 4.3 - Regiões em que foram realizadas as colheitas, conforme o desenvolvimento da planta.....	93
Figura 4.4 – Biplot dos componentes principais, dos parâmetros analisados em almeirão-de-árvore nas diferentes épocas de colheita.....	109

ANEXO A

Figura A.1 - Declaração de depósito de vouchers (exemplares-testemunho) de <i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> no Herbário ESAL e no Herbário PAMG.....	116
---	-----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1.1 - Identificação das plantas dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (<i>Lactuca canadensis</i>), depositadas nos herbários da Universidade Federal de Lavras (ESAL/UFLA) e da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (PAMG/EPAMIG).....	45
Tabela 1.2 - Medidas e relações de braços dos pares cromossômicos, classificação da posição centromérica, índices de assimetria centromérica (AC), assimetria intra e intercromossômica (A1 e A2) e fórmula cariotípica de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.....	50
Tabela 1.3 - Conteúdo de DNA nuclear, volume nuclear interfásico (VNI) e comprimento total do lote haploide (CTLH) de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.....	52

ARTIGO 2

Tabela 2.1 - Estádios fenológicos de morfotipos de almeirão-de-árvore (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L.).....	66
Tabela 2.2 - Interação morfotipo x colheita e ano para as variáveis de produção: altura, diâmetro do caule e número de folhas comerciais de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.....	68
Tabela 2.3 - Interação colheita x ano para as variáveis de produção: produção total e comercial, massa seca e número de folhas comerciais de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.....	68

ARTIGO 3

- Tabela 3.1 - Densidade estomática (Nº de estômatos mm⁻²) e medidas do diâmetro polar estomático (DPE) e diâmetro equatorial estomático (DEE) da epiderme foliar de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.....77
- Tabela 3.2 - Densidade estomática (Nº de estômatos mm⁻²) e medidas do diâmetro polar estomático (DPE) e diâmetro equatorial estomático (DEE) nas faces abaxial (AB) e adaxial (AD) da epiderme foliar de almeirão-de-árvore.....78

ARTIGO 4

- Tabela 4.1 - Produção, firmeza, teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, SS/AT (*ratio*), de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.....98
- Tabela 4.2 - Análise de cor de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.....100
- Tabela 4.3 - Conteúdo de DNA nuclear, volume nuclear interfásico (VNI) e comprimento total do lote haploide (CTLH) de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.....101
- Tabela 4.4 - Teor de macro e micronutrientes, na matéria seca de morfotipos de almeirão-de-árvore, em diferentes épocas de colheita.....103
- Tabela 4.5 - Compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas, vitamina C, atividade antioxidante (DPPH) de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.....105

SUMÁRIO

PRIMEIRA PARTE

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1	Diversidade genética: exploração e desuso.....	17
2.2	Hortaliças não convencionais: conceito e histórico.....	18
2.3	Almeirão-de-árvore (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L.).....	20
2.4	Taxonomia e origem de <i>Lactuca canadensis</i> L.....	20
2.5	A citogenética e a citometria de fluxo como ferramentas para auxiliar a taxonomia vegetal e caracterização da biodiversidade.....	22
2.6	Aspectos citogenéticos de espécies do gênero <i>Lactuca</i> L.....	24
2.7	Caracterização de espécies por anatomia foliar.....	25
2.8	Hortaliças não convencionais na alimentação.....	26
2.9	Substâncias bioativas: compostos fitoquímicos e propriedades antioxidantes dos alimentos.....	27
2.10	Estresse oxidativo e antioxidantes.....	29
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	31
	REFERÊNCIAS.....	32

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

	ARTIGO 1 - CARIÓTIPO E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR DE QUATRO MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L.).....	41
1	INTRODUÇÃO.....	43
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	44
2.1	Material botânico.....	46
2.2	Análise citogenética.....	47
2.3	Quantificação do conteúdo de DNA nuclear.....	47
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	54
4	CONCLUSÃO.....	56
	REFERÊNCIAS.....	56
	ARTIGO 2 -FENOLOGIA E PRODUÇÃO DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L.) EM DIFERENTES ÉPOCAS DE	

	PLANTIO E COLHEITA).....	60
1	INTRODUÇÃO.....	62
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	63
2.1	Local e condições experimentais.....	63
2.2	Delineamento experimental.....	64
2.3	Variáveis analisadas.....	64
2.3.1	Ciclo fenológico (BBCH-code).....	64
2.3.2	Produção.....	65
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
4	CONCLUSÃO.....	69
	REFERÊNCIAS.....	70
ARTIGO 3 -CARACTERIZAÇÃO, DIMENSÕES E DENSIDADE ESTOMÁTICA DE QUATRO MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L.).....		
		71
1	INTRODUÇÃO.....	73
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	74
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	77
4	CONCLUSÃO.....	83
	REFERÊNCIAS.....	84
ARTIGO 4 -CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (<i>Lactuca</i> aff. <i>canadensis</i> L. - Asteraceae).....		
		87
1	INTRODUÇÃO.....	89
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	90
2.1	Local e condições experimentais.....	90
2.2	Delineamento experimental.....	91
2.3	Variáveis analisadas.....	93
2.3.1	Amostragem e quantificação da produção.....	93
2.3.2	Análises físico-químicas.....	94
2.3.2.1	Clorofila e cor.....	94
2.3.2.2	Firmeza.....	95
2.3.2.3	Acidez e sólidos solúveis.....	95
2.3.3	Antioxidantes.....	95
2.3.3.1	Vitamina C.....	95

2.3.3.2	Atividade antioxidante (DPPH).....	95
2.3.3.3	Compostos fenólicos totais.....	95
2.3.3.4	Antocianinas monoméricas.....	95
2.3.4	Composição centesimal.....	96
2.3.5	Minerais.....	97
2.4	Análise estatística.....	97
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	97
4	CONCLUSÃO.....	110
	REFERÊNCIAS.....	111
	ANEXO A - Declaração de depósito de vouchers (exemplares-testemunho) de <i>Lactuca aff. canadensis</i> no Herbário ESAL e no Herbário PAMG.....	116

1 INTRODUÇÃO

O almeirão-de-árvore é também conhecido, popularmente, como almeirão-roxo, radite-cote, orelha-de-coelho (Kinupp e Lorenzi, 2014), almeirão-selvagem ou almeirão-domato, língua-de-sogra, almeirão-japonês, radice ou radite-argentino e diversas outras denominações populares.

Ocorre de forma subespontânea nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, cultivado de Norte a Sul do país, em hortas domésticas e podem ser encontrado em feiras e supermercados na região serrana do Rio de Janeiro e Sul de Minas Gerais (Kinupp e Lorenzi, 2014).

É considerado uma hortaliça folhosa não convencional consumida na forma *in natura*, em saladas ou refogados (Brasil, 2010a), ou como planta medicinal com efeito antiinflamatório e antibacteriano (Michalska, Szneler e Kisiel, 2013). As plantas exibem boa aparência visual e também são utilizadas como ornamentais. Os genótipos, em geral, são multiplicados e mantidos por produtores locais, a partir de plantas que ocorrem espontaneamente, sem uma identificação taxonômica segura.

Essa espécie pertence à família Asteraceae, e tem sido identificada, como *Cichorium intybus* L. (Brasil, 2010b; Pedrosa *et al.*, 2012), *Lactuca canadensis* L. (Kinupp e Lorenzi, 2014; Monge *et al.*, 2016; Santos, Silva e Fonseca, 2016) e *Lactuca indica* L. (Monge *et al.*, 2016; Ranieri, 2018). As espécies *L. canadensis* e *L. indica* foram coletadas e identificadas pela primeira vez no país, nas regiões Sul e Sudeste por Monge *et al.* (2016). A procedência da espécie que ocorre no Brasil é desconhecida. A literatura relata a distribuição de *L. canadensis*, de origem Norte americana, em regiões temperadas e tropicais da Europa, América, África e Ásia, ocupando diferentes habitats (Lebeda *et al.*, 2001; Doležalová *et al.*, 2002).

No entanto Feráková (1977), considerando a origem das espécies selvagens de *Lactuca* L., dividiu-as em três grupos, com base no número gamético de cromossomos. Essa divisão permanece sendo utilizada por autores em trabalhos mais recentes (Lebeda *et al.*, 2001; Doležalová *et al.*, 2002; Lebeda *et al.*, 2009; Bennett e Leitch, 2011; El-Esawi e Sammour, 2014). O primeiro grupo, relativamente pequeno, contém espécies com $n = 8$ cromossomos e é considerado mais primitivo e inclui espécies perenes da Europa e do Himalaia. O segundo grupo compreende a maioria das espécies europeias e mediterrâneas, bem como espécies do Oriente Médio, África e Índia com $n = 9$ cromossomos. O terceiro grupo inclui espécies norte-americanas distribuídas do Canadá à Flórida e, entre elas, está a *L. canadensis*. São caracterizadas por $n = 17$ cromossomos, de origem anfídiploide e isoladas geográfica e

geneticamente.

O almeirão-de-árvore exibe grande variabilidade morfológica, especialmente relacionada às folhas e não há registros sobre os seus caracteres anatômicos, tampouco para fins de identificação taxonômica. De maneira geral, as folhas são lanceoladas e apresentam variações na cor, tipo de margem e nervuras, as quais podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. A cor roxa pode predominar na maior parte da folha nos almeirões de nervura arroxeadas (Kinupp e Lorenzi, 2014).

Essa ampla variabilidade morfológica deixa dúvidas, no tocante às questões taxonômicas: são diferentes morfotipos ou espécies diferentes?. Neste trabalho, será referenciada como *Lactuca* aff. *canadensis* L. (aff = a fim de).

A família Asteraceae tem taxonomia extremamente complexa pela plasticidade fenotípica como característica dessas espécies. Desta forma, estudos citogenéticos podem ser utilizados no entendimento das relações filogenéticas. As análises cariotípicas são úteis para comparar espécies ou examinar a variação entre indivíduos da mesma espécie (Stebbins, 1971). O conhecimento da quantidade de DNA nuclear e do número de cromossomos de cada espécie é fundamental e é considerado o passo inicial de um programa de melhoramento (Guerra, 2008), principalmente, para espécies que apresentam grande variabilidade genética e cujos mecanismos evolutivos são pouco estudados (Silva *et al.*, 2017).

É possível também identificar essas diferenças pelo método de comparação anatômica, como a disposição dos estômatos nas superfícies das folhas e a presença e o tipo de tricomas (Robinson, 2009). A caracterização anatômica evita a identificação equivocada das espécies e até mesmo a falsificação de matéria-prima, para a elaboração de fitoterápicos, por meio do controle de qualidade (Ming, 1994). A obtenção desses dados contribui para o conhecimento da espécie e, conseqüentemente, para a segurança em sua utilização (Carpano, Castro e Spegazzini, 2009; Gomes *et al.*, 2009).

O consumo das hortaliças não convencionais ainda é incipiente, sobretudo, pelo desconhecimento dos valores nutricionais dessas espécies e a presença em nichos de mercado mais específicos. Para todas elas, há carência de conhecimentos citogenéticos, fenológicos, época ideal de cultivo e colheita, visando à manutenção das propriedades funcionais e nutricionais e falta de tecnologias de produção. O conceito de qualidade de hortaliças envolve vários atributos, como a aparência visual (frescor, cor, defeitos e deterioração), textura (firmeza, resistência e integridade do tecido), sabor e aroma, valor nutricional (carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas, minerais e água) e segurança do alimento (Kyriacou e Rouphael, 2018).

Estudos preliminares, avaliando a qualidade nutricional de hortaliças não convencionais, destacaram o almeirão-de-árvore com valores consideráveis de proteínas e de minerais como Ca, Zn, B e Mn, dentre as espécies avaliadas por Silva *et al.* (2018). Entretanto, poucas são as informações encontradas na literatura sobre as propriedades nutricionais entre os diferentes morfotipos existentes.

Dessa forma, para ampliar o conhecimento científico de características essenciais, para usos na alimentação e de cultivo, são necessários estudos mais aprofundados. Neste sentido, objetivou-se com o trabalho elaborar a caracterização fenológica, produtiva, nutricional, citogenética e anatômica de diferentes morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.) a fim de identificar possíveis diferenças que possam auxiliar na determinação da correta nomenclatura científica da espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diversidade genética: exploração e desuso

A flora brasileira é considerada a mais rica do mundo (Forzza *et al.*, 2012). Atualmente, já foram descritas no país mais de 46 mil espécies de plantas, das quais pouco mais de 19 mil são endêmicas (Zappi *et al.*, 2015; Filardi *et al.*, 2018).

Apesar dessa ampla diversidade genética, ao longo de toda a sua trajetória, o ser humano já utilizou mais de mil espécies de plantas como alimento (Fao, 2018). Em fins da década de 1960, Mangelsdorf já afirmava que o homem havia utilizado três mil espécies de plantas para a sua alimentação. Desse conjunto, aproximadamente 300 teriam mostrado alguma importância econômica, mas apenas 150 haviam alcançado projeção comercial (Prescott-Allen e Prescott-Allen, 1990). Atualmente, pesquisas vêm demonstrando o potencial econômico de várias plantas para diversas finalidades. Uma grande parte delas caiu em desuso ou apresentaram sua exploração em pequenos nichos de mercado.

Apenas 15 espécies representam 90% da alimentação mundial e correspondem a 80% de toda a fonte de energia ingerida pelo ser humano. São elas: arroz (*Oriza sativa* L. – Poaceae), trigo (*Triticum sativum* L. – Poaceae), milho (*Zea mays* L. – Poaceae), soja (*Glycine max* (L) Merrill - Fabaceae), sorgo (*Sorghum* spp. – Poaceae), cevada (*Hordeum vulgare* L. Poaceae), cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum* L. – Poaceae), beterraba (*Beta vulgaris* L. – Beta), feijão (*Phaseolus vulgaris* L. – Fabaceae), amendoim (*Arachis hypogaea* L. – Fabaceae), batata (*Solanum tuberosum* L. – Solanaceae), batata-doce (*Ipomoea batatas*

(L.) Lam. – Convolvulaceae), mandioca (*Manihot esculenta* L. – Euphorbiaceae), coco (*Cocos nucifera* L. – Arecaceae) e banana (*Musa* spp. – Musaceae). Somente o arroz, a batata, o milho e o trigo representam 60% desse total e formam a base da alimentação humana. Apenas duas espécies brasileiras, o amendoim e a mandioca, estão entre as 15 consideradas mais importantes em âmbito mundial (Paterniani, 2001; Fao, 2008; Reifschneider *et al.*, 2015).

A reduzida base de espécies que utilizamos para a alimentação torna-se uma preocupação com a vulnerabilidade genética das espécies e a dependência de cultivos extensivos para suprir a demanda de alimentos cada vez mais crescente (Garcia, 1995).

2.2 Hortaliças não convencionais: conceito e histórico

A conceituação de hortaliças não convencionais, termo mais empregado no ambiente acadêmico, são aquelas de distribuição limitada, presentes em regiões ou localidades específicas e que influenciam diretamente na alimentação e cultura de populações tradicionais (Brasil, 2010a; b).

Também são conhecidas como hortaliças tradicionais, subutilizadas, negligenciadas. Alguns autores divergem sobre os termos empregados e atribuem particularidades a cada um. Eyzaguirre, Padulosi e Hodgkin (1998) definiram culturas subutilizadas aquelas que já foram amplamente utilizadas e caíram em desuso por não serem competitivas com outras culturas agrícolas, por fatores agronômicos, genéticos, econômicos, sociais e culturais. Também definem culturas negligenciadas aquelas que são cultivadas por agricultores familiares, principalmente em seus centros de origem ou de diversidade, onde exercem papéis importantes para a subsistência das comunidades locais.

As populações tradicionais abrangem grupos que têm convivência e sobrevivência ligadas ao campo, que contribuem diretamente na fixação dessas famílias no meio rural. Diferenciam-se de outras comunidades por possuir seus próprios costumes e tradições, ou ainda pela organização própria de suas instituições sociais, econômicas, culturais e políticas, conservadas independente do valor legal. Exemplos de populações tradicionais são os geraiseiros, veredeiros, caatingueiros, pescadores, entre outros (Brasil, 2010b; a).

Os cultivos locais formam a base alimentar para centenas de milhões de pessoas e apresentam potencial de nutrição para um número incontável de outras. Muitas dessas espécies são de importância crucial para as comunidades locais, e a exploração deste potencial é vital para o alcance da segurança alimentar (Vieira, Camillo e Coradin, 2018).

Diferente das hortaliças convencionais (batata, tomate, repolho, alface e outras), as hortaliças não convencionais não estão organizadas em uma cadeia produtiva e não possuem interesse comercial de empresas de sementes, fertilizantes e defensivos, do setor agrícola em geral (Brasil, 2010b).

As hortaliças não convencionais estão inseridas no conceito de PANC's (plantas alimentícias não convencionais) e subdivididas em hortaliças frutos, hortaliças flores, hortaliças tuberosas e hortaliças folhosas. Essas hortaliças são relatadas pelo conhecimento popular como ricas em compostos nutricionais.

Cultivadas, em geral, por agricultores familiares, as hortaliças não convencionais perderam ainda mais espaço para as culturas de maior apelo comercial, como as hortaliças melhoradas geneticamente. Outro fator a ser considerado é a desvalorização por serem encontradas de forma espontânea, em quintais, calçadas, beiras de estradas e até mesmo como plantas invasoras de áreas cultivadas.

Não há uma relação fixa sobre quais espécies são consideradas hortaliças não convencionais. À medida que vão se conhecendo os costumes de cada região, no interior das cidades, uma nova espécie é acrescentada ao grupo (Brasil, 2010a).

Da mesma forma que as espécies são incluídas ao grupo de não convencionais, outras podem ser excluídas. Podem vir a se enquadrar como hortaliças convencionais, à medida que vão sendo conhecidas e difundidas, bem como ao aumento do consumo e aprimoramento das técnicas de cultivo.

As hortaliças não convencionais apreciadas no Brasil são nativas e algumas foram introduzidas por colonizadores europeus, especialmente portugueses, ou por escravos africanos (Brasil, 2010a). Algumas dessas espécies podem ter distribuição global, mas tendem a ocupar locais específicos (Eyzaguirre, Padulosi e Hodgkin, 1998), em geral, são comercializadas em feiras livres regionais. O intercâmbio de sementes, bem como de materiais propagativos, possibilita encontrar espécies em regiões de características distintas.

A maioria delas possui grande variabilidade genética pelo processo de manutenção local das variedades. Entretanto as perdas de materiais genéticos e a erosão genética estão associadas ao êxodo rural, já que são mantidas, tradicionalmente, por pequenos agricultores e cultivadas para consumo familiar (Melo e Vilela, 2007). As migrações das populações também contribuem para a diversificação cultural e a procura por alimentos de tradição familiar. Por isso, têm grande importância os bancos de germoplasma, para manutenção e recuperação das espécies.

2.3 Almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.)

O almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.) é uma hortaliça folhosa, da família Asteraceae, nativa da América do Norte. No Brasil também é conhecida como almeirão-domato ou almeirão-selvagem. Possui ampla distribuição e diversidade, mantida por produtores e simpatizantes. São encontradas em feiras locais, como na região serrana do Rio de Janeiro (Kinupp e Lorenzi, 2014), Sul de Minas Gerais e no interior de São Paulo.

Existem variedades com folhas verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. As folhas são lanceoladas e possuem sabor levemente amargo (Brasil, 2010a; Kinupp e Lorenzi, 2014).

Pode ser cultivado o ano todo, em regiões de clima ameno, e de março a outubro em regiões de clima mais quente. Adapta-se a vários tipos de solo com adequado nível de matéria orgânica. O cultivo pode ser via direta por sementes e, também, com a produção de mudas (Brasil, 2010a). As recomendações de plantio, em geral, são baseadas no cultivo de hortaliças convencionais mais estudadas, da mesma família, como alface, acelga, almeirão, entre outras (Brasil, 2010b).

Apesar da crescente comercialização de almeirão-de-árvore, em algumas regiões do Brasil, não existem cultivares disponíveis no mercado. Os materiais genéticos, em geral, são multiplicados e mantidos por produtores locais a partir de plantas espontâneas (Brasil, 2010b; Kinupp e Lorenzi, 2014).

Estudos preliminares, avaliando a qualidade nutricional de hortaliças não convencionais presentes na coleção de germoplasma da UFLA, destacaram o almeirão-de-árvore com teores de proteínas e de minerais, como Ca, Zn, B e Mn superiores às demais hortaliças avaliadas (Silva *et al.*, 2018).

2.4 Taxonomia e origem de *Lactuca canadensis* L.

A família Asteraceae possui mais de 23.000 espécies, compreendidas em aproximadamente 1.600 gêneros. No Brasil, estima-se que ocorram mais de 3.000 espécies dessa família compreendidas em 180 gêneros. Até o ano de 2015 haviam sido catalogadas 2.013 espécies, das quais 1.317 são endêmicas (Do Brasil, 2020).

Lactuca L. é o gênero mais amplamente distribuído na tribo Cichorieae. Há registros de mais de 154 espécies de acordo com o List (2013). Dependendo da circunscrição adotada, esse número é reduzido para 50-70 espécies (Kilian, Gemeinholzer e Lack, 2009). Possuem

como centro de origem a África, Ásia, Europa e América do Norte (Kilian, Gemeinholzer e Lack, 2009) e como centro de diversidade, a Ásia (51 espécies), seguida da África (43) e Europa (17) (Lebeda *et al.*, 2004). No entanto, em outros países, as espécies foram introduzidas, por sua importância econômica ou, naturalmente, como plantas daninhas.

Até o momento, apenas seis espécies introduzidas de *Lactuca* foram registradas na América do Sul: *Lactuca sativa*, *Lactuca saligna* L., *Lactuca serriola* L. e *Lactuca virosa* L. (Cabrera, 1971; 1974; Ariza Espinar e Urtubey, 1998; Hurrell e Deluchi, 2013) e mais recente *Lactuca canadensis* L. e *Lactuca indica* L. (Monge *et al.*, 2016).

No Brasil, são encontradas apenas três espécies não endêmicas, *L. canadensis*, *L. indica* e *L. serriola* (Monge *et al.*, 2016; Do Brasil, 2020). Numerosas classificações contraditórias do gênero foram propostas, mas nenhuma delas foi baseada em um tratamento mundial. A primeira análise filogenética de *Lactuca* L. e gêneros relacionados foi realizada usando um marcador molecular (ITS-1). O gênero mostrou-se monofilético e os autores identificaram três *pools* genéticos em *Lactuca*, denominados *pool* genético primário de *Lactuca sativa* e *Lactuca saligna*, *pool* genético secundário de *Lactuca serriola* e *Lactuca tatarica* e *pool* genético terciário *Lactuca viminea*. Mais recentemente, uma análise filogenética molecular densamente amostrada ajudou a esclarecer as relações entre as espécies asiáticas de *Lactuca* (Wang, Peng e Kilian, 2013).

O almeirão-de-árvore é uma espécie da família Asteraceae, ainda pouco estudado no Brasil e apresenta divergências em sua denominação científica, sendo identificado como: *Cichorium intybus* L. (Brasil, 2010b; Pedrosa *et al.*, 2012), *Lactuca canadensis* L. (Kinupp e Lorenzi, 2014; Monge *et al.*, 2016; Santos, Silva e Fonseca, 2016) e *Lactuca indica* L. (Monge *et al.*, 2016; Ranieri, 2018).

Existem relatos de ocorrência de *Lactuca canadensis* L. e *Lactuca indica* L. nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, em especial nos estados de Paraná e São Paulo, as quais foram coletadas e identificadas por Monge *et al.* (2016).

Algumas variações relacionadas à espécie são: *Lactuca canadensis* var. *integrifolia* (Bigelow) Torr. & A. Gray, *Lactuca canadensis* var. *latifolia* Kuntze, *Lactuca canadensis* var. *longifolia* (Michx.) Farw., *Lactuca canadensis* var. *obovata* Wiegand, *Lactuca canadensis* var. *typica* Wiegand, *Lactuca sagittifolia* Elliott, *Lactuca steelei* Britton (Do Brasil, 2020).

Existem relatos de ocorrência de *Lactuca canadensis* L. nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, em especial, nos estados de Paraná e São Paulo (Monge *et al.*, 2016).

Algumas variações relacionadas à espécie são: *Lactuca canadensis* var. *integrifolia* (Bigelow) Torr. & A. Gray, *Lactuca canadensis* var. *latifolia* Kuntze, *Lactuca canadensis* var.

longifolia (Michx.) Farw., *Lactuca canadensis* var. obovata Wiegand, *Lactuca canadensis* var. typica Wiegand, *Lactuca sagittifolia* Elliott, *Lactuca steelei* Britton (Do Brasil, 2020).

O almeirão-de-árvore exibe ampla variabilidade morfológica, especialmente relacionada à folha. De maneira geral, as folhas são lanceoladas e possuem variações na coloração, tipo de margem e nervuras, que podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. Às vezes, a cor roxa predomina na maior parte da folha nos almeirões-de-árvore de nervura arroxeadada (Kinupp e Lorenzi, 2014).

A família Asteraceae tem taxonomia extremamente complexa pela plasticidade fenotípica como característica dessas espécies. O conhecimento da quantidade de DNA nuclear e do número de cromossomos de cada espécie é fundamental e é considerado o passo inicial de um programa de melhoramento, principalmente, para espécies que apresentam grande variabilidade genética e cujos mecanismos evolutivos são pouco estudados (Silva *et al.*, 2017).

Além disso, os parentes selvagens de culturas agrícolas constituem uma ampla base genética que pode contribuir para o melhoramento genético dessas espécies (Lebeda *et al.*, 2007).

2.5 A citogenética e a citometria de fluxo como ferramentas para auxiliar a taxonomia vegetal e caracterização da biodiversidade

Os estudos citogenéticos vêm sendo aplicados na taxonomia vegetal desde o início do século XX, para entender as relações de parentesco e dos mecanismos de evolução das espécies (Guerra, 1990), em trabalhos que envolvem caracterização taxonômica e estudos de evolução e filogenia (Stuessy, Crawford e Marticorena, 1990).

A citotaxonomia clássica caracteriza-se pelo estudo do número e tamanho dos cromossomos metafásicos mitóticos e o seu comportamento na meiose (Stebbins, 1971). O caráter citogenético mais amplamente utilizado na citotaxonomia é o número cromossômico, seguindo-se o detalhamento cariotípico mediante o uso de técnicas simples até outras mais refinadas, como diversos tipos de bandeamento cromossômico e, mais recentemente, associadas com técnicas moleculares (Sumner e Sumner, 2002).

A montagem do cariótipo permite a detecção de variações como número cromossômico, tamanho e morfologia cromossômica, e simetria cariotípica (Chester *et al.*, 2010). O cariótipo é, portanto, o maior grau de organização do genoma nuclear, em nível estrutural e funcional, constante e de caráter específico. A constância cariotípica é

considerada um pré-requisito para a correta segregação cromossômica de uma espécie. As variações, entretanto podem conferir mudanças evolutivas (Weiss-Schneeweiss e Schneeweiss, 2013).

A variação do número cromossômico é um dos parâmetros de observação amplamente utilizado em vegetais. Assim como sua morfologia, presença de constrições secundárias e padrões de distribuição da heterocromatina auxiliam na identificação e distinção de plantas morfologicamente similares (Guerra, 2000). Essa variação, quando detectada, é consequência de dois processos de evolução cariotípica: alterações estruturais que modificam a morfologia e/ou ocasionam pequenas variações numéricas (1-2 pares) e a poliploidia, que duplica ou multiplica todo o conjunto cromossômico (Stebbins, 1971).

Algumas espécies possuem problemas taxonômicos como o cariótipo estável e necessitam de outras técnicas para revelarem a sua variação. O uso de técnicas citogenéticas mais refinadas fornecem mais respostas ao estudo cromossômico dos vegetais (Guerra, 1990). Entre essas técnicas estão o bandeamento-C e coloração com fluorocromos CMA₃ e DAPI para identificação de regiões heterocromáticas (Summer, 1990) e a FISH (*fluorescente in situ hybridization*) que possibilita a observação de regiões específicas, partir de sondas que hibridizam sequências de DNA complementares ao longo dos cromossomos (Guerra, 2004).

A hibridação *in situ* também pode utilizar o genoma inteiro de uma espécie, como sonda marcada, denominada como GISH (*genomic in situ hybridization*). Essa técnica é especialmente útil na identificação de ancestrais de espécies originadas por hibridação e poliploidia (Sumner, 2003).

A citometria de fluxo, usando DNA microssatélites ou sondas específicas de genes é outra abordagem para aumentar nosso conhecimento sobre estrutura, função e evolução dos cromossomos. Também tem aplicações importantes na biologia das plantas, especialmente no estudo da evolução do genoma e no melhoramento genético, com a estimativa do tamanho do genoma e do nível de ploidia (Dolezel, 1997).

A análise do conteúdo de DNA nuclear foi a primeira utilização da citometria de fluxo, em plantas por Heller (1973) e continua sendo a principal, além da determinação do nível de ploidia. Outras técnicas já haviam sido aplicadas, para estimar o conteúdo de DNA em plantas, como a densitometria de Feulgen e a reassociação cinética. A citometria de fluxo, por ser mais conveniente, rápida e confiável em relação às demais, tornou-se, portanto a análise mais utilizada para essa finalidade (Doležel, Greilhuber e Suda, 2007).

A citometria de fluxo geralmente monitora a absorvância e a dispersão da luz, fluorescência e sondas, dependendo da natureza e da preparação da amostra. A técnica baseia-

se na intensidade de fluorescência relativa de núcleos ou células em suspensão, corados com um fluorocromo específico. Os dados obtidos são apresentados na forma de histogramas e densidade relativa, representando o conteúdo relativo de DNA, a partir da comparação a um padrão de referência, cujo genoma seja tamanho conhecido (Doležel e Bartoš, 2005).

Outros parâmetros da célula podem ser medidos, usando a citometria de fluxo, como tamanho e forma da célula, granularidade do citoplasma, pH interno, receptores de superfície, viabilidade e outros (Rieseberg *et al.*, 2001).

2.6 Aspectos citogenéticos de espécies do gênero *Lactuca* L.

O gênero *Lactuca* possui espécies com $n = 5, 8, 9$ e 17 cromossomos. As espécies que ocorrem na América do Norte pertencem a três grupos distintos: dois nativos e um não nativo. Os dois grupos nativos diferem em relação ao número cromossômico. O grupo maior (*L. canadensis*) inclui alotetraploides com $2n = 4x = 34$ cromossomos e espécies diploides com $2n = 2x = 18$ cromossomos e $2n = 2x = 16$ cromossomos (Jones *et al.*, 2018).

São conhecidas sete espécies de alotetraploide de ocorrência na América do Norte: *Lactuca biennis*, *Lactuca canadensis*, *Lactuca floridana*, *Lactuca hirsuta*, *Lactuca ludoviciana* e *Lactuca brachyrrhyncha* e uma espécie perene endêmica de Açores, Portugal (*Lactuca watsoniana* Trel).

O segundo grupo nativo da América do Norte é representado por *Lactuca tatarica* supsp. *Pulchella*, com $2n = 18$ cromossomos.

O terceiro grupo é representado por alfaces selvagens (não nativo) *Lactuca saligna* L., *Lactuca serriola* L. e *Lactuca virosa* L. (Kilian *et al.*, 2017), espécies introduzidas na América do Norte com distribuição nativa na Europa-Mediterrânea (Lebeda *et al.*, 2019), que participaram do melhoramento genético da alface (*Lactuca sativa* L.).

Entre as alfaces selvagens, na América do Norte (Lebeda *et al.*, 2012) são conhecidas *L. indica* L., *L. saligna* L., *L. serriola* L., *L. virosa* L., com o mesmo número cromossômico da alface (*L. sativa* L.), $2n = 18$ e *L. biennis* (Moench) Fernald, *L. canadensis* L. e *L. floridana* (L.) Gaertn. com $2n = 34$.

Para *L. canadensis* L., de origem Norte Americana, alguns autores relataram a ocorrência do número cromossômico $n = 17$ e conteúdo de DNA nuclear (2C) com variações de 17,55 a 18,41 pg (Babcock, Jr e Jenkins, 1937; Nessler, 1976; Lebeda e Astley, 1999; Doležalová *et al.*, 2002).

É provável que o grupo alotetraploide, com similaridades de *Lactuca canadensis*,

tenha se originado por hibridação de *Lactuca plumieri* (ou seu ancestral) e algumas espécies agora extintas ($x = 9$), possivelmente, uma espécie ancestral do grupo *Lactuca tatarica* e *Lactuca quercina* L. ($x = 9$) ou mesmo *Lactuca indica* L. (também $x = 9$). Tal hibridação é ainda suportada por similaridades morfológicas de membros do agrupamento de *L. canadensis* com as espécies do grupo de *L. plumieri* (Jones *et al.*, 2018). O número $2n = 34$ cromossomos descrito para as espécies desse grupo pode ser explicado por meio da redução dispoloide de $2n = 18$ e subsequente autoploidização (Kilian, Gemeinholzer e Lack, 2009).

2.7 Caracterização de espécies por anatomia foliar

A identificação de espécies, gêneros e famílias foi por muito tempo e ainda é realizada por análise de caracteres morfológicos (Li *et al.*, 2016). A plasticidade fenotípica observada, em várias espécies, com variações foliares em forma e tamanho resultaram em identificações incorretas e denominações de sinônimos (Pereira *et al.*, 2018). Contudo, é possível identificar essas diferenças pelo método de comparação anatômica, que busca a obtenção de dados que possam contribuir para o conhecimento da espécie e, conseqüentemente, para a segurança em sua utilização (Carpano, Castro e Spegazzini, 2009; Gomes *et al.*, 2009).

A caracterização anatômica evita a identificação equivocada das espécies e até mesmo a falsificação de matéria-prima para a elaboração de fitoterápicos, por meio do controle de qualidade (Ming, 1994).

Alguns fatores devem ser levados em consideração para realizar as análises anatômicas. A anatomia da folha é diretamente afetada pelo ambiente, e o *status* da água na planta é um dos fatores mais importantes para o crescimento foliar. Outros fatores, como a condição de radiação ou intensidade de luz, temperatura do ar, velocidade do vento e a nutrição mineral, também, podem alterar a anatomia foliar (Bondada e Syvertsen, 2003; Zambrosi *et al.*, 2017). Além disso, as diferenças de altura e a posição do dossel afetam a anatomia da folha e podem alterar a sua fisiologia (Yoshimura, 2011; Gebauer *et al.*, 2015).

Folhas do terço superior estão sujeitas à maior disponibilidade de luz e menor sistema hidráulico, condutividade e disponibilidade de nutrientes e, portanto, as folhas serão mais espessadas, com maior proporção de mesofilo e deposição de cera epicuticular, entre outras especificidades (Pires *et al.*, 2015).

A disposição dos estômatos nas superfícies das folhas é um bom caráter taxonômico, verificado pela sua constância. Essa característica é pouco influenciada pelo ambiente, resultante de uma combinação dos fatores genéticos e ambientais (Kim, 1987).

A presença e o tipo de tricomas também são importantes para a sistemática da família Asteraceae (Robinson, 2009). A ampla distribuição das espécies dessa família, nos mais distintos habitats, é atribuída à diversidade de estruturas secretoras, como os tricomas, à facilidade de dispersão e à plasticidade fenotípica (Funk *et al.*, 2005).

2.8 Hortaliças não convencionais na alimentação

O consumo das hortaliças não convencionais ainda é incipiente, principalmente, pelo desconhecimento dos valores nutricionais das espécies e dificuldade de encontrá-las no mercado. São consideradas plantas de alto valor biológico que podem contribuir para a segurança alimentar. Entretanto, há uma carência de estudos dessa natureza.

Além da funcionalidade antioxidante como as hortaliças e frutas, em geral, outras atividades se destacam nas espécies desse grupo, tais como: compostos bioativos (fitoquímicos), óleos essenciais, fibras, vitaminas e minerais (Van Velzen *et al.*, 2008). Podem ser consumidos, na forma *in natura* e, também, utilizados, após o processamento, na fabricação de subprodutos, em substituição a ingredientes convencionais.

Os almeirões-de-árvore são consumidos na forma de hortaliça fresca, em saladas ou refogados (Brasil, 2010b), mas pouco se conhece sobre suas propriedades, para uma recomendação de usos na alimentação e medicinais. O almeirão-roxo é conhecido popularmente por suas propriedades, tais como: laxante fraco, diurético, cicatrizante, para afecções do fígado, vesícula e rins.

Entre os poucos estudos sobre a composição fitoquímica em *Lactuca canadensis*, Michalska, Szneler e Kisiel (2013) relataram a presença de diferentes lactonas sesquiterpênicas em sua composição, que também podem funcionar como bons marcadores quimioteômicos. Esses compostos são conhecidos por apresentarem capacidade anti-inflamatória, antibacteriana, ajudando a prevenir algumas doenças.

Estudos preliminares, avaliando a qualidade nutricional de hortaliças não convencionais da coleção ativa de germoplasma da UFLA, destacaram o almeirão-de-árvore verde com valores consideráveis de proteínas e de minerais como Ca, Zn, B e Mn (Silva *et al.*, 2018).

Algumas espécies podem apresentar compostos antinutricionais tais como: taninos, nitratos, oxalatos de cálcio, inibidores de proteínas, entre outros (De Jesus Benevides *et al.*, 2011), o que deve ser considerado para inclusão na alimentação.

2.9 Substâncias bioativas: compostos fitoquímicos e propriedades antioxidantes dos alimentos

O histórico da agricultura é marcado pela descoberta e conhecimento das espécies, para conferir atributos e finalidades a cada uma delas. Todavia, apenas 10% das espécies vegetais catalogadas têm sido sistematicamente estudadas, em termos de compostos bioativos, sobretudo, de suas propriedades medicinais e nutracêuticas. Considerando que existam mais de 200 mil espécies silvestres (Diamond, Kirkham e Amso, 2002), certamente ainda existem inúmeras com alto valor nutritivo para serem domesticadas e utilizadas na alimentação humana e animal.

Muitos fitonutrientes têm apresentado diversas propriedades benéficas à saúde. Os antioxidantes são substâncias presentes em alguns alimentos, capazes de inibir os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo, reduzindo a concentração de radicais livres (Brenna e Pagliarini, 2001; Pieniz *et al.*, 2009).

A eficiência da ação antioxidante dos compostos bioativos depende da estrutura química e da sua concentração no alimento. Entre os antioxidantes não enzimáticos estão a vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferol), provitaminas (carotenoides) e compostos polifenólicos (flavonoides) (Magalhães *et al.*, 2006; Pieniz *et al.*, 2009).

Além de atuarem na captura de radicais livres, podem estar envolvidos em outros mecanismos fisiológicos que estimulam a atividade das enzimas antioxidantes ou como sinalizadores celulares que ativam e/ou inibem a expressão de algumas enzimas relacionadas com o processo cancerígeno (Shahidi, Alasalvar e Liyana-Pathirana, 2007).

Os compostos fenólicos são fitoquímicos presentes em diversos alimentos. Na maioria dos vegetais, constituem os antioxidantes mais abundantes (Kim, Jeong e Lee, 2003; Everette *et al.*, 2010). Estão relacionados ao valor nutricional e à qualidade nutricional, conferindo-lhes atributos como cor, textura, amargor e adstringência (Everette *et al.*, 2010).

Em razão da alta capacidade antioxidante dos compostos fenólicos, desempenham um papel importante como doador de hidrogênio ou elétrons e, também, por causa dos seus radicais estáveis, que atuam nos processos oxidativos no organismo humano, impedindo a oxidação de várias substâncias presentes nos alimentos, como ácidos graxos e óleos (Cuvelier, Richard e Berset, 1992; Maillard *et al.*, 1996; Imeh e Khokhar, 2002).

O estresse oxidativo está relacionado a diversas patologias crônico-degenerativas, como o diabetes, o câncer e processos inflamatórios. Pesquisas têm demonstrado que os compostos fenólicos, além da ação antioxidante, possuem capacidade anti-inflamatória,

antialergênica, antiplaquetária (anticarcinogênica e antimutagênica) e atuam na prevenção de doenças cardiovasculares e neurológicas (Harborne e Williams, 2000; Míean e Mohamed, 2001; Hein, 2002; Imeh e Khokhar, 2002; Sánchez-Moreno, 2002; Shahidi, Alasalvar e Liyana-Pathirana, 2007).

Nos alimentos, os compostos fenólicos atuam na manutenção da vitamina C e no combate à formação de radicais livres (Míean e Mohamed, 2001). Entretanto, quando em concentração muito elevada ou em composição inadequada, esses compostos podem conferir características indesejáveis, como o escurecimento enzimático de frutas e a interação com proteínas, carboidratos e minerais (Imeh e Khokhar, 2002).

Vários fatores no sistema de produção influenciam no teor de compostos fenólicos e demais fitoquímicos dessas hortaliças, tais como tecnologias de produção, condições edafoclimáticas, época de cultivo e colheita, caracteres genéticos da variedade da espécie cultivada e outros (Kähkönen *et al.*, 1999; Kaur e Kapoor, 2001; Koleva *et al.*, 2002; Kim, Jeong e Lee, 2003; Melo *et al.*, 2006; Da Costa *et al.*, 2008; Arbos *et al.*, 2010), que contribuem para as discrepâncias de valores encontradas nos trabalhos. Arbos *et al.* (2010) verificaram diferenças de 19 a 28%, nos teores de compostos fenólicos, em hortaliças orgânicas (rúcula, almeirão e alface), comparadas às do sistema convencional.

A peculiaridade metodológica relacionada ao solvente extrator e aos fenólicos usados como padrão, para a quantificação dos compostos fenólicos, também, pode contribuir para as diferenças observadas nas pesquisas (Soares *et al.*, 2008). Além disso, alguns marcadores químicos são específicos a certas partes anatômicas da planta ou ao sistema de cultivo, diferindo o seu perfil metabólico (Nascimento *et al.*, 2020).

Estudos fitoquímicos de *Lactuca floridana*, a única espécie nativa da América do Norte examinada anteriormente, sustentaram a hipótese de um relacionamento de algumas espécies de *Lactuca* da América do Norte e do Velho Mundo. A lactona sesquiterpênica lactucina e seus quatro derivados conhecidos como constituintes comuns das espécies de *Lactuca*, originárias da Europa e da Ásia, foram isolados dessa planta (Bohlmann *et al.*, 1981). O estudo demonstrou um perfil inesperado de lactona sesquiterpênica em *Lactuca canadensis*. Portanto, são necessárias novas investigações fitoquímicas, usando modernas técnicas moleculares para esclarecer as relações taxonômicas das espécies norte-americanas de *Lactuca* L. e do Velho Mundo. Do ponto de vista quimiotaxonômico, vale ressaltar que a química da lactona do sesquiterpeno de *L. canadensis*, uma espécie nativa da América do Norte, difere acentuadamente de outras espécies de *Lactuca* investigadas até o momento. De especial interesse é a falta da guaianolida lactucina e seus derivados, comumente encontrados

em espécies de *Lactuca*.

2.10 Estresse oxidativo e antioxidantes

O sistema imunológico possui mecanismos de defesa por intermédio dos sistemas bioquímicos, que utilizam antioxidantes, como defesa e proteção. A ação antioxidante funciona, por meio de uma complexa rede entre vitaminas C e E, carotenoides, enzimas antioxidantes dependentes de zinco, cobre, selênio, magnésio e outros fitonutrientes que, juntos, exercem reações integradas de renovação e regeneração contra radicais livres produzidos pelo estresse oxidativo (Ross, 1991).

O estresse oxidativo ocorre, quando há um desequilíbrio entre a criação de espécies reativas de oxigênio (ROS) e sua remoção. As ROS são fundamentais para o organismo. Estão envolvidas em vários processos fisiológicos de sinalização e regulação, como oxidações mediadas pelo citocromo P450, regulação do tônus muscular e eliminação de microorganismos, quando em concentrações baixas ou moderadas. A produção constante desses radicais livres é contrabalanceada com uma produção equivalente de mecanismos antioxidantes, que visa neutralizar os efeitos deletérios (Bast, Haenen e Doelman, 1991; Fridovich, 1999).

O desequilíbrio pode estar associado à produção excessiva de ROS, ou à deficiência nas defesas antioxidantes da célula, levando a uma série de danos aos sistemas biológicos do organismo (Machlin e Bendich, 1987). A formação das ROS ocorre, durante processos oxidativos biológicos, a partir de compostos endógenos. Podem também ser oriundos do metabolismo de alguns compostos exógenos, como, por exemplo, a fosforilação oxidativa, na geração de energia para o organismo pelo ATP na mitocôndria, gerando, assim, diferentes radicais livres (Bast, Haenen e Doelman, 1991).

Entretanto as ROS podem desencadear uma série de processos crônicos inflamatórios e degenerativos. Existem evidências de que possam estar envolvidas em mais de 50 doenças como a catarata, enfisema, artrite, hipertensão, aterosclerose, Parkinson, diabetes, pneumonia, asma, isquemia, câncer e envelhecimento precoce (Bast, Haenen e Doelman, 1991; Ames, Shigenaga e Hagen, 1993; Barbosa *et al.*, 2010; Pinho *et al.*, 2010; Silva, Cerchiaro e Honório, 2011).

O sistema endógeno de defesa antioxidante protege as células dos danos causados pelos radicais livres no organismo humano. O processo de remoção envolve enzimas (superóxido dismutase, catalase e glutatona peroxidase), compostos de baixo peso molecular

(ácido úrico e coenzima Q10) e proteínas tiol, como a albumina (Cerqueira, Medeiros e Augusto, 2007; Liu *et al.*, 2007).

Estima-se que 70% das doenças crônicas possam ser evitadas por níveis adequados de antioxidantes e quelantes de radicais livres (Fries *et al.*, 1993). Essa condição pode ser obtida com um maior consumo de vegetais, leguminosas, frutos ao evitar o uso do tabaco e a exposição excessiva a poluentes ambientais e xenobióticos (Lachance, Nakat e Jeong, 2001).

3 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Não foi verificada variação cromossômica numérica e no conteúdo de DNA entre os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore. A identificação dos tipos morfológicos de almeirão-de-árvore não converge à classificação morfológica e os estudos cariológicos apresentados.

A partir dos caracteres morfoanatômicos avaliados, pode-se indicar uma semelhança entre os almeirões-de-árvore verde e roxo repicado que apresentam folhas com margem lobada e entre o roxo liso de folha estreita e o roxo liso de folha larga de margem indivisa. Entretanto as outras características avaliadas foram semelhantes entre os morfotipos de almeirão-de-árvore, que permitem diferenciá-las de outras espécies. Além disso, a densidade estomática e o tamanho dos estômatos são característicos para cada formato de folha entre os morfotipos avaliados

Os almeirões-de-árvore apresentaram grande potencial produtivo, com melhores resultados em épocas mais frias, de fácil condução. A fenologia dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore é bem semelhante, com algumas diferenças no porte e período reprodutivo, o que permite adotar o mesmo manejo e sistema de produção.

Os almeirões-de-árvore mostraram-se plantas de elevado conteúdo nutricional, com destaque para o teor de compostos fenólicos e vitamina C, que, em geral, é baixo em hortaliças folhosas comumente utilizadas, além de outros constituintes, como proteínas, macro e micronutrientes, em especial, para os teores de Ca, Mg, K e Mn. De maneira geral, os almeirões-de-árvore apresentaram melhor qualidade nutricional, nas duas primeiras colheitas, sobretudo na segunda colheita, que resultou em maiores valores para o teor de vitamina C.

Logo, para se definir com segurança sobre a taxonomia dos morfotipos, serão necessários estudos mais avançados, como técnicas de bandeamento cromossômico associadas à citogenética convencional. Marcadores moleculares e citotaxonômicos também poderão ser empregados, para auxiliar na identificação da espécie, além de serem úteis na diferenciação de espécies comumente confundidas pela similaridade morfológica. São necessários mais estudos, para determinar os melhores sistemas de condução e manejo, nos diferentes ambientes de cultivo, para explorar o máximo da cultura, especialmente, em estudos voltados para a biodisponibilidade e determinação de outras propriedades.

REFERÊNCIAS

- AMES, B. N.; SHIGENAGA, M. K.; HAGEN, T. M. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, n. 17, p. 7915-7922, 1993. ISSN 0027-8424.
- ARBOS, K. A. et al. Antioxidant activity and phenolic content in organic and conventional vegetables. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010. ISSN 01012061 (ISSN).
- ARIZA ESPINAR, L.; URTUBEY, E. Lactuceae. **Flora Fanerogámica Argentina**, v. 61, p. 3-30, 1998.
- BABCOCK, E. B.; JR, G. L. S.; JENKINS, J. A. Chromosomes and Phylogeny in Some Genera of the Crepidinae. **CYTOLOGIA**, v. FujiiJubilai, n. 1, p. 188-210, 1937.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010. ISSN 1415-5273.
- BAST, A.; HAENEN, G. R.; DOELMAN, C. J. Oxidants and antioxidants: state of the art. **The American journal of medicine**, v. 91, n. 3, p. S2-S13, 1991. ISSN 0002-9343.
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. **Annals of Botany**, v. 107, n. 3, p. 467-590, 2011. ISSN 0305-7364.
- BOHLMANN, F. et al. Eriolanolides, eudesmanolides and a rearranged sesquiterpene from Eriophyllum species. **Phytochemistry**, v. 20, n. 9, p. 2239-2244, 1981. ISSN 0031-9422.
- BONDADA, B. R.; SYVERTSEN, J. P. Leaf chlorophyll, net gas exchange and chloroplast ultrastructure in citrus leaves of different nitrogen status. **Tree Physiology**, v. 23, n. 8, p. 553-559, 2003. ISSN 1758-4469.
- BRASIL. **Hortalças não-convencionais:(tradicionais)**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 52 p. 2010a.
- BRASIL. **Manual de hortalças não-convencionais**: Mapa/ACS Brasília: 92 p. 2010b.
- BRENNA, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate Analysis of Antioxidant Power and Polyphenolic Composition in Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4841-4844, 2001/10/01 2001. ISSN 0021-8561.
- CABRERA, A. L. Lactuca. In: CORREIA, M. N. (Ed.). **Flora Patagonica**. Buenos Aires: INTA, v.8, 1971. cap. Part 7, p.416-418.
- CABRERA, A. L. Lactuca. In: BURKART, A. (Ed.). **Flora ilustrada de Entre Rios**. Buenos Aires, v.6, 1974. cap. Part 6, p.528-531.
- CARPANO, S. M.; CASTRO, M. T.; SPEGAZZINI, E. D. Caracterización morfoanatómica comparativa entre Aloe vera (L.) Burm. F., Aloe arborescens Mill., Aloe saponaria Haw. y

Aloe ciliaris Haw.(Aloeaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 269-275, 2009. ISSN 0102-695X.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G. D.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v. 30, p. 441-449, 2007. ISSN 0100-4042.

CHESTER, M. et al. Review of the Application of Modern Cytogenetic Methods (FISH/GISH) to the Study of Reticulation (Polyploidy/Hybridisation). **Genes**, v. 1, p. 166-92, 09/01 2010.

CUVELIER, M.-E.; RICHARD, H.; BERSET, C. Comparison of the antioxidative activity of some acid-phenols: structure-activity relationship. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 56, n. 2, p. 324-325, 1992. ISSN 0916-8451.

DA COSTA, D. M. A. et al. Conteúdo de N, P, K⁺, Ca²⁺ e Mg²⁺ no amaranto (*Amaranthus* spp) sob estresse salino e cobertura morta. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 2, p. 209-216, 2008. ISSN 1806-6690.

DE JESUS BENEVIDES, C. M. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e nutricional**, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011. ISSN 2316-297X.

DIAMOND, A.; KIRKHAM, N.; AMSO, D. Conditions under which young children can hold two rules in mind and inhibit a prepotent response. **Developmental psychology**, v. 38, p. 352-62, 06/01 2002.

DO BRASIL, F. em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115> (acesso em 10/05/2021), 2020.

DOLEŽALOVÁ, I. et al. Variation in chromosome numbers and nuclear DNA contents in genetic resources of *Lactuca* L. species (Asteraceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, n. 4, p. 383-395, 2002. ISSN 09259864 (ISSN).

DOLEŽEL, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of applied Genetics**, v. 3, n. 38, p. 285-302, 1997. ISSN 1234-1983.

DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. **Annals of botany**, v. 95, p. 99-110, 02/01 2005.

DOLEŽEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry. **Nature Protocols**, v. 2, n. 9, p. 2233-2244, 2007/09/01 2007. ISSN 1750-2799.

EL-ESAWI, M. A.; SAMMOUR, R. Karyological and phylogenetic studies in the genus *Lactuca* L. (Asteraceae). **Cytologia**, v. 79, n. 2, p. 269-275, 2014. ISSN 00114545 (ISSN).

EVERETTE, J. D. et al. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 14, p. 8139-8144, 2010. ISSN 0021-8561.

EYZAGUIRRE, P.; PADULOSI, S.; HODGKIN, T. IPGRI's strategy for neglected and underutilized species and the human dimension of agrobiodiversity. Priority-setting for underutilized and neglected plant species of the Mediterranean region (Paludosi S, ed.). Report of the IPGRI Conference, 1998. p.9-11.

FAO. Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Corporate document repository. Crop prospects and food situation., 2018. Disponível em: < <http://www.fao.org/giews/reports/crop-prospects/en/> >. Acesso em: 22/04/19.

FAO, F. Food and agriculture organisation of the United Nations. **Retrieved on**, v. 15, 2008.

FERÁKOVÁ, V. **The genus Lactuca L. in Europe**. [Bratislava]: Univerzita Komenského, 1977. 122 p.

FILARDI, F. L. R. et al. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, p. 1513-1527, 2018. ISSN 2175-7860.

FORZZA, R. C. et al. New Brazilian floristic list highlights conservation challenges. **BioScience**, v. 62, n. 1, p. 39-45, 2012. ISSN 1525-3244.

FRIDOVICH, I. Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 893, n. 1, p. 13-18, 1999. ISSN 0077-8923.

FRIES, J. F. et al. Health Project Consortium: Reducing health care costs by reducing the need and demand for medical services. **New England Journal of Medicine**, v. 329, p. 5-9, 1993.

FUNK, V. A. et al. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. **Biol. Skr.** **55: 343-373**, 2005.

GARCIA, E. S. Biodiversidade, biotecnologia e saúde. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 11, p. 495-500, 1995. ISSN 0102-311X.

GEBAUER, R. et al. Within-canopy variation in needle morphology and anatomy of vascular tissues in a sparse Scots pine forest. **Trees**, v. 29, n. 5, p. 1447-1457, 2015/10/01 2015. ISSN 1432-2285.

GOMES, S. M. et al. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 1, p. 224-238, 2009. ISSN 0102-3306.

GUERRA, M. A situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e, em particular, no Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 2, p. 75-86, 1990. ISSN 0102-3306.

GUERRA, M. Chromosome number variation and evolution in monocots. **Monocots: systematics and evolution**. **CSIRO, Melbourne**, p. 127-136, 2000.

GUERRA, M. FISH (Fluorescent In Situ Hybridization). **Conceitos e Aplicações na Citogenética**. Ed. **SBG**, p. 133-144, 2004.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: Concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008. ISSN 14248581 (ISSN).

HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. A. Advances in flavonoid research since 1992. **Phytochemistry**, v. 55, n. 6, p. 481-504, 2000. ISSN 0031-9422.

HEIN, D. W. Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 506, p. 65-77, 2002. ISSN 0027-5107.

HELLER, F. O. DNS-Bestimmung an Keimwurzeln von *Vicia faba* L. mit Hilfe der Impulscytophotometrie. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 86, n. 5-9, p. 437-441, 1973. ISSN 0365-9631.

HURRELL, J. A.; DELUCHI, G. *Lactuca*. In: HURRELL, J. A. (Ed.). **Flora Rio Platense**. Buenos Aires: Sociedad Argentina de Botánica, v.7a, 2013. cap. Part 2, p.106-112.

IMEH, U.; KHOKHAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6301-6306, 2002. ISSN 0021-8561.

JONES, K. E. et al. Northern Hemisphere disjunctions in *Lactuca* (Cichorieae, Asteraceae): Independent Eurasia to North America migrations and allopolyploidization. **Willdenowia**, v. 48, n. 2, p. 259-284, 2018. ISSN 05119618 (ISSN).

KÄHKÖNEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999. ISSN 0021-8561.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001. ISSN 0950-5423.

KILIAN, N.; GEMEINHOLZER, B.; LACK, H. W. Tribe Cichorieae. In: FUNK, V. A. E. A. (Ed.). **Systematics, evolution, and biogeography of the Compositae**. Vienna: Int. Assoc. Plant Taxon., 2009. p.343-383.

KILIAN, N. et al. Sub-Paratethyan origin and Middle to Late Miocene principal diversification of the Lactucinae (Compositae: Cichorieae) inferred from molecular phylogenetics, divergence-dating and biogeographic analysis. **Taxon**, v. 66, n. 3, p. 675-703, 2017. ISSN 0040-0262.

KIM, D.-O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003/06/01/ 2003. ISSN 0308-8146.

KIM, I. Comparative anatomy of some parents and hybrids of the Hawaiian Madiinae (Asteraceae). **American journal of botany**, v. 74, n. 8, p. 1224-1238, 1987. ISSN 0002-9122.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. J. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014. ISBN 8586714461.

KOLEVA, I. I. et al. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002. ISSN 0958-0344.

KOOPMAN, W. J. M. et al. Phylogenetic relationships among *Lactuca* (Asteraceae) species and related genera based on ITS-1 DNA sequences. **American Journal of Botany**, v. 85, n. 11, p. 1517-1530, 1998. ISSN 00029122 (ISSN).

KYRIACOU, M. C.; ROUPHAEL, Y. Towards a new definition of quality for fresh fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 463-469, 2018. ISSN 0304-4238.

LACHANCE, P. A.; NAKAT, Z.; JEONG, W.-S. Antioxidants: an integrative approach. **Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)**, v. 17, n. 10, p. 835-838, 2001. ISSN 0899-9007.

LEBEDA, A.; ASTLEY, D. World genetic resources of *Lactuca* spp., their taxonomy and biodiversity. Eucarpia Leafy Vegetables' 99, Olomouc (Czech Republic), 8-11 Jun 1999, 1999, Palacky University.

LEBEDA, A. et al. Geographical distribution of wild *Lactuca* species (Asteraceae, Lactuceae). **Botanical Review**, v. 70, n. 3, p. 328-356, 2004. ISSN 00068101 (ISSN).

LEBEDA, A. et al. Acquisition and ecological characterization of *Lactuca serriola* L. germplasm collected in the Czech Republic, Germany, the Netherlands and United Kingdom. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 3, p. 555-562, 2007. ISSN 1573-5109.

LEBEDA, A. et al. Biodiversity and ecogeography of wild *Lactuca* spp. in some European countries. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, n. 2, p. 153-164, 2001. ISSN 09259864 (ISSN).

LEBEDA, A. et al. An insight into the genetic polymorphism among European populations of *Lactuca serriola* assessed by AFLP. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 5, p. 597-608, 2009. ISSN 03051978 (ISSN).

LEBEDA, A. et al. Genetic polymorphism in *Lactuca aculeata* populations and occurrence of natural putative hybrids between *L. aculeata* and *L. serriola*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 42, p. 113-123, 2012. ISSN 03051978 (ISSN).

LEBEDA, A. et al. Research Gaps and Challenges in the Conservation and Use of North American Wild Lettuce Germplasm. **Crop Science**, v. 59, n. 6, p. 2337-2356, 2019.

LI, B. J. et al. First report of *Alternaria alternata* causing leaf spot on *Solanum muricatum* in Gansu Province, China. **Plant Disease**, v. 100, n. 1, p. 224, 2016. ISSN 01912917 (ISSN).

LIST, P. **Version 1.1. Published on the internet** 2013.

LIU, Q. et al. Prevention and Treatment of Alzheimer Disease and Aging: Antioxidants. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 171-180, // 2007.

MACHLIN, L. J.; BENDICH, A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients 1. **The FASEB journal**, v. 1, n. 6, p. 441-445, 1987. ISSN 0892-6638.

MAGALHÃES, L. M. et al. Automatic Method for the Determination of Folin–Ciocalteu Reducing Capacity in Food Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5241-5246, 2006/07/01 2006. ISSN 0021-8561.

MAILLARD, M.-N. et al. Antioxidant activity of barley and malt: relationship with phenolic content. **LWT-Food science and Technology**, v. 29, n. 3, p. 238-244, 1996. ISSN 0023-6438.

MELO, E. D. A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 639-644, 2006. ISSN 0101-2061.

MELO, P.; VILELA, N. **Importância da cadeia produtiva brasileira de hortaliças. 13ª Reunião Ordinária da Câmara Setorial da Cadeia Produtiva de Hortaliças: Brasília** 2007.

MICHALSKA, K.; SZNELER, E.; KISIEL, W. Sesquiterpene lactones from *Lactuca canadensis* and their chemotaxonomic significance. **Phytochemistry**, v. 90, p. 90-94, 2013. ISSN 00319422 (ISSN).

MIEAN, K. H.; MOHAMED, S. Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 6, p. 3106-3112, 2001. ISSN 0021-8561.

MING, L. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 3-9, 1994.

MONGE, M. et al. Two new records of *Lactuca* L.(Cichorieae, Asteraceae) in South America. **Revista Brasileira de Biociencias**, v. 14, n. 2, 2016. ISSN 1980-4849.

NASCIMENTO, L. E. S. et al. Phytochemical profile of different anatomical parts of jambu (*Acmella oleracea* (L.) R.K. Jansen): A comparison between hydroponic and conventional cultivation using PCA and cluster analysis. **Food Chemistry**, v. 332, p. 127393, 2020/12/01/2020. ISSN 0308-8146.

NESSLER, C. L. A systematic survey of the tribe Cichorieae in Virginia. **Castanea**, p. 226-248, 1976. ISSN 0008-7475.

PATERNIANI, E. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estudos Avançados**, v. 15, p. 303-326, 2001. ISSN 0103-4014.

PEDROSA, M. et al. Hortaliças não convencionais. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)-Centro-oeste**, 2012.

PEREIRA, J. T. S. et al. Influence of solar orientation in vertical systems using vermicompost and fertirrigation. **IRRIGA**, v. 1, n. 1SpecialEdition30yearsPGIRRIGA, p. 42-54, 2018. ISSN 14137895 (ISSN).

PIENIZ, S. et al. In vitro assessment of the antioxidant potential of fruits and vegetables. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 552-559, 2009. ISSN 1413-7054.

PINHO, R. A. D. et al. Doença arterial coronariana, exercício físico e estresse oxidativo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, p. 549-555, 2010. ISSN 0066-782X.

PIRES, M. F. et al. MICROMORFOMETRIA FOLIAR DE *Schinus molle* L. (ANARCADIACEAE) EM DIFERENTES ALTURAS NA COPA. **CERNE**, v. 21, p. 17-25, 2015. ISSN 0104-7760.

PRESCOTT-ALLEN, R.; PRESCOTT-ALLEN, C. How Many Plants Feed the World? **Conservation Biology**, v. 4, n. 4, p. 365-374, 1990. ISSN 0888-8892.

RANIERI, G. R. **Guia prático de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) para escolas**. São Paulo: Instituto Kairós 2018.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. et al. **Uma pitada de biodiversidade na mesa dos brasileiros**. Francisco Reifschneider, Luciano Nass, Gilmar Henz, 2015. ISBN 8591745302.

RIESEBERG, M. et al. Flow cytometry in biotechnology. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 56, n. 3, p. 350-360, 2001. ISSN 1432-0614.

ROBINSON, H. An introduction to micro-characters of Compositae. **Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae. Vienna (Austria): IAPT**, p. 89-100, 2009.

ROSS, D. Antioxidant defence systems and oxydative stress. **Membrane Lipid Oxidation 2**, p. 151-170, 1991.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Actividad antioxidante. **Alimentaria**, n. 329, p. 29-40, 2002. ISSN 0300-5755.

SANTOS, I. C.; SILVA, A. F.; FONSECA, M. C. M. Almeirão-de-árvore, dente-de-leão, peixinho e serralha: plantas exóticas comestíveis. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 295, p. 67-74, 2016. ISSN 0100-3364.

SHAHIDI, F.; ALASALVAR, C.; LIYANA-PATHIRANA, C. M. Antioxidant Phytochemicals in Hazelnut Kernel (*Corylus avellana* L.) and Hazelnut Byproducts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 4, p. 1212-1220, 2007/02/01 2007. ISSN 0021-8561.

SILVA, D. D. C.; CERCHIARO, G.; HONÓRIO, K. M. Relações patofisiológicas entre estresse oxidativo e arteriosclerose. **Química Nova**, v. 34, n. 2, p. 300-305, 2011. ISSN 0100-4042.

SILVA, L. F. L. et al. Unconventional vegetables collected in Brazil: chromosome number and description of nuclear DNA content. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, 2017. ISSN 1984-7033.

SILVA, L. F. L. E. et al. Nutritional evaluation of non-conventional vegetables in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p. 1775-1787, 2018. ISSN 00013765 (ISSN).

SOARES, M. et al. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niágara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 59-64, 2008. ISSN 0100-2945.

STEBBINS, G. L. Chromosomal evolution in higher plants. **Chromosomal evolution in higher plants.**, 1971.

STUESSY, T. F.; CRAWFORD, D. J.; MARTICORENA, C. Patterns of phylogeny in the endemic vascular flora of the Juan Fernandez Islands, Chile. **Systematic Botany**, p. 338-346, 1990. ISSN 0363-6445.

SUMMER, A. **Chromosome banding**. Springer, 1990. ISBN 0044452799.

SUMNER, A. Chromosomes organization and function. by Blackwell Science Ltd. a **Blackwell Publishing company. United Kingdom**, v. 1, p. 143-153, 2003.

SUMNER, A.; SUMNER, A. **Chromosomes**. Wiley Online Library, 2002. ISBN 0632054077.

VAN VELZEN, E. J. et al. Multilevel data analysis of a crossover designed human nutritional intervention study. **Journal of proteome research**, v. 7, n. 10, p. 4483-4491, 2008. ISSN 1535-3893.

VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Livro científico (ALICE)**, 2018. ISSN 8577383091.

WANG, Z.-H.; PENG, H.; KILIAN, N. Molecular phylogeny of the Lactuca alliance (Cichorieae subtribe Lactucinae, Asteraceae) with focus on their Chinese centre of diversity detects potential events of reticulation and chloroplast capture. **PLoS One**, v. 8, n. 12, p. e82692, 2013. ISSN 1932-6203.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; SCHNEEWEISS, G. Karyotype Diversity and Evolutionary Trends in Angiosperms. In: (Ed.), v.2, 2013. p.209-230. ISBN 978-3-7091-1159-8.

YOSHIMURA, K. Hydraulic function contributes to the variation in shoot morphology within the crown in *Quercus crispula*. **Tree physiology**, v. 31, n. 7, p. 774-781, 2011. ISSN 1758-4469.

ZAMBROSI, F. C. et al. Anatomical and ultrastructural damage to citrus leaves from phosphite spray depends on phosphorus supply to roots. **Plant and soil**, v. 418, n. 1, p. 557-569, 2017. ISSN 1573-5036.

ZAPPI, D. C. et al. Epilogue. **Rodriguésia**, v. 66, p. 4-5, 2015. ISSN 2175-7860.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1

CARIÓTIPO E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR DE QUATRO MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L.)

RESUMO

O almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.) é uma hortaliça folhosa não convencional da família Asteraceae, de ocorrência subespontânea nas regiões Sul e Sudeste do Brasil. Não existem cultivares disponíveis comercialmente. Os genótipos, em geral, são multiplicados e mantidos por produtores locais a partir de plantas que surgem espontaneamente nas formas: verde, roxo liso de folha estreita, roxo repicado e roxo liso de folha larga. Além disso, outro fator que dificulta a sua difusão é a classificação botânica de forma controversa. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho construir o cariótipo e determinar a quantidade de DNA nuclear com o intuito de auxiliar na discriminação dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis*). Todos os genótipos avaliados apresentaram $2n = 18$ cromossomos, com predominância de cromossomos submetacêntricos. Os cariótipos dos quatro morfotipos, portanto foram classificados como 3A, o que define cromossomos relativamente simétricos. Não foram observadas variações significativas, para o conteúdo de DNA dos quatro morfotipos, em média, 5,88 pg. A identificação morfológica dos morfotipos de almeirão-de-árvore não foi confirmada com os estudos cariológicos apresentados. Uma análise mais aprofundada do complemento cromossômico da espécie pode contribuir para se entender melhor a sua história evolutiva.

Palavras-chave: Número Cromossômico. Citometria de Fluxo. Taxonomia. Análise Citogenética.

ABSTRACT

The almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis* L.) is an unconventional leafy vegetable of the Asteraceae family, occurring sub-spontaneously in the South and Southeast regions of Brazil. There are no commercially available cultivars. The genotypes, in general, are multiplied and maintained by local producers from plants that appear spontaneously in the forms: green, smooth purple with narrow leaf, lobed purple and smooth purple with broad leaf. In addition, another factor that hinders its diffusion is the controversial botanical classification. In view of the above, the objective of this work was to construct the karyotype and determine the amount of nuclear DNA in order to assist in the discrimination of the four morphotypes of almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*). All genotypes evaluated showed $2n = 18$ chromosomes, with a predominance of submacentric chromosomes. The karyotypes of the four morphotypes, therefore, were classified as 3A, which defines relatively symmetrical chromosomes. No significant variations were observed for the DNA content of the four morphotypes, on average 5.88 pg. The morphological identification of the almeirão-de-árvore morphotypes was not confirmed with the presented karyological studies. A more in-depth analysis of the species chromosomal complement may contribute to better understand its evolutionary history.

Keywords: Chromosome Number. Flow Cytometry. Taxonomy. Cytogenetic Analysis.

1 INTRODUÇÃO

A hortaliça folhosa não convencional, popularmente conhecida no Brasil como almeirão-de-árvore, almeirão-roxo, radite-cote, orelha-de-coelho e alface-de-árvore (Kinupp e Lorenzi, 2014), pertence à família Asteraceae, e tem sido identificada como *Cichorium intybus* L. (Brasil, 2010b; Pedrosa *et al.*, 2012), *Lactuca canadensis* L. (Kinupp e Lorenzi, 2014; Santos, Silva e Fonseca, 2016) e *Lactuca indica* L. (Monge *et al.*, 2016; Ranieri, 2018). As espécies *L. canadensis* e *L. indica* foram coletadas e identificadas por Monge *et al.* (2016) nas regiões Sul e Sudeste do país (Kinupp e Lorenzi, 2014).

A procedência da espécie que ocorre no Brasil é desconhecida. A literatura relata a distribuição de *L. canadensis*, de origem Norte americana, em regiões temperadas e tropicais da Europa, América, África e Ásia, ocupando diferentes habitats (Lebeda *et al.*, 2001; Doležalová *et al.*, 2002).

O almeirão-de-árvore tem sido cultivado, em hortas domésticas, em quase todo o país e comercializado, em feiras e supermercados, nas regiões serranas do Rio de Janeiro e Sul de Minas Gerais (Brasil, 2010a; Kinupp e Lorenzi, 2014). Os genótipos, em geral, são multiplicados e mantidos por produtores locais, a partir de plantas que ocorrem espontaneamente (Kinupp e Lorenzi, 2014), sem uma identificação taxonômica segura.

Foi observada na espécie, uma ampla variabilidade morfológica, especialmente relacionada às folhas. De maneira geral, as folhas são lanceoladas e apresentam variações na cor, tipo de margem e nervuras. Elas podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. A cor roxa pode predominar na maior parte da folha nos almeirões de nervura arroxeadas (Kinupp e Lorenzi, 2014).

Essa ampla variabilidade morfológica deixa dúvidas no tocante às questões taxonômicas: são diferentes morfotipos ou espécies diferentes. Neste artigo será referenciada como *Lactuca* aff. *canadensis* L (aff = a fim de).

Considerando a origem das espécies selvagens de *Lactuca*, Feráková (1977), dividiu em tres grupos, com base no número básico de cromossomos. Essa divisão permanece sendo utilizadas por autores em trabalhos mais recentes (Lebeda *et al.*, 2001; Doležalová *et al.*, 2002; Lebeda *et al.*, 2009; Bennett e Leitch, 2011; El-Esawi e Sammour, 2014). O primeiro grupo, relativamente pequeno, contém espécies com $n = 8$ e é considerado mais primitivo e inclui espécies perenes da Europa e do Himalaia. O segundo grupo compreende a maioria das espécies europeias e mediterrâneas, bem como espécies da Oriente Médio, África e Índia com $n = 9$. O terceiro grupo inclui espécies norte-americanas distribuídas do Canadá à Flórida, são

caracterizadas por $n = 17$ e isoladas geográfica e geneticamente.

A família Asteraceae tem taxonomia extremamente complexa pela plasticidade fenotípica como característica dessas espécies. Desta forma, estudos citogenéticos podem ser utilizados no entendimento das relações filogenéticas. As análises cariotípicas são úteis para comparar espécies ou examinar a variação entre indivíduos da mesma espécie (Stebbins, 1971). O conhecimento da quantidade de DNA nuclear e do número de cromossomos de cada espécie é fundamental e é considerado o passo inicial de um programa de melhoramento (Guerra, 2008), sobretudo para espécies que apresentam grande variabilidade genética e cujos mecanismos evolutivos são pouco estudados (Silva *et al.*, 2017).

Análises cariotípicas e a determinação da quantidade de DNA têm sido usadas para elucidar as relações filogenéticas no gênero *Lactuca* (Tomb *et al.*, 1978; Haque e Godward, 1988; Koopman, 2000; Doležalová *et al.*, 2002; Doležel e Bartoš, 2005; Lebeda *et al.*, 2009; El-Esawi e Sammour, 2014).

Estudos citogenéticos relataram *C. intybus* com $2n = 18$ cromossomos (Rick, 1953; Kiers *et al.*, 2000; Hauser, Jørgensen e Toneatto, 2012), *L. canadensis* com $2n = 34$ cromossomos e conteúdo de DNA nuclear de 17,96 pg (Tomb *et al.*, 1978; Doležalová *et al.*, 2002) e *L. indica* com $2n = 18$ cromossomos (Chung *et al.*, 2016) O comprimento total do lote haploide de cromossomos encontrado em *L. indica* 60,03 μm , o comprimento total dos braços longos dos grupos cromossômicos de 40,33 μm e o volume de DNA nuclear de 113,05 μm^3 (Wang *et al.*, 2005). Seguindo listas de descritores publicadas, para espécies selvagens de *Lactuca*, Doležalová *et al.* (2003) e (Doležalová *et al.*, 2002) encontraram em *L. serriola* o conteúdo de DNA com variação de 5,77 a 5,86 pg.

Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho construir o cariótipo e determinar a quantidade de DNA nuclear com o intuito de auxiliar na discriminação dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material botânico

O material genético utilizado foi adquirido junto à coleção ativa de germoplasma de hortaliças não convencionais da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras-MG, localizado na latitude 21°13'18"S, longitude 44°58'07"W e 915 m de altitude. Quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (Figura 1.1) foram identificados a partir da sua

morfologia como *Lactuca canadensis* (Tabela 1.1).

Figura 1.1 – Plantas de almeirão-de-árvore verde (A), almeirão-de-árvore roxo liso de folha estreita (B), almeirão-de-árvore roxo repicado (C) e almeirão-de-árvore roxo liso de folha larga (D).



Fonte: Do autor (2021).

Tabela 1.1 – Identificação das plantas dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca canadensis*), depositadas nos herbários da Universidade Federal de Lavras (ESAL/UFLA) e da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (PAMG/EPAMIG).

Morfotipos	ESAL	PAMG	Identificador
Verde	30340; 32303	58657	
Roxo liso f. estreita	30339; 32302	58658	*ROQUE, N.; **ALVES, M.B.B.
Roxo repicado	30338; 32301	58659	
Roxo liso f. larga	30403; 32304	58656	

*Profa. Dra. Nádia Roque - Universidade Federal da Bahia (UFBA); Curadora do Herbário Alexandre Leal Costa - ALCB (Herbário do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia – IBIO, da UFBA, Ondina, Bahia).

**Profa. Dra. Maria Braga Brito Alves – UFBA.

Fonte: Do autor (2021).

Exemplares foram coletados, para a montagem de exsicatas, depositadas no Herbário

ESAL (Herbário do Departamento de Biologia – DBI da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brasil) e no Herbário PAMG (Herbário da Empresa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), conforme declaração (Anexo A).

As sementes das espécies foram obtidas de plantas cultivadas após seleção massal.

2.2 Análise citogenética

Para a análise do número cromossômico foram utilizados meristemas radiculares obtidos de sementes recém-germinadas em estufa incubadora BOD (Biochemical Oxygen Demand) a 25° C. As raízes foram coletadas às 10 h e, posteriormente, submetidas ao bloqueio mitótico com 8-hidroxiquinoleína (8HQ) a 0,002M por 5 h, a uma temperatura de 15° C. Após esse procedimento, realizou-se a sua fixação em Carnoy 3:1 (etanol absoluto/ácido acético glacial v/v) (Guerra e Souza, 2002).

Para a montagem das lâminas, as raízes foram lavadas em água deionizada e submetidas à hidrólise ácida em HCl 5N, em temperatura ambiente por 20 minutos. As lâminas foram preparadas de acordo com a técnica de esmagamento em ácido acético 60% e coradas com Giemsa 10% (Schwarzacher, Ambros e Schweizer, 1980), por 5 minutos.

As imagens foram capturadas pela microcâmera Axiocam ICc 1, acoplada ao microscópio de campo claro Axio Lab A1 (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Göttingen, Alemanha) e processadas no Adobe Photoshop CS6.

As contagens cromossômicas foram realizadas em 20 células meristemáticas por tipo morfológico de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*), e o cariótipo foi construído com auxílio do *software* Karyotype Analysis, v. 2.0 (Altnordu *et al.*, 2016), a partir das medições de cinco metáfases mitóticas. A classificação dos cromossomos, para a construção da fórmula cariotípica foi baseada nas categorias estabelecidas por Guerra (1986). O grau de assimetria do cariótipo foi determinado de acordo com a classificação de Stebbins (1971). A assimetria centromérica foi calculada, de acordo com Peruzzi e Eroglu (2013) e os índices de assimetria intra-cromossômica (A1) e inter-cromossômica (A2) por Zarco (1986). O comprimento total do grupo haploide cromossômico foi calculado de acordo com Peruzzi, Leitch e Caparelli (2009).

A classificação dos núcleos interfásicos meristemáticos foi realizada com a análise de 100 núcleos por tipo morfológico de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*), observados em campos aleatórios de dez lâminas, de acordo com a nomenclatura proposta por

Guerra (1985). Para a obtenção do volume nuclear interfásico (VNI), foram tomadas duas medidas de diâmetro nuclear para o cálculo médio do diâmetro e do raio final dos núcleos, utilizado na Eq. 1, conforme Das e Mallick (1993).

Eq.1 – Cálculo do volume nuclear interfásico (VNI) a partir do raio do núcleo, expresso em micrômetros (μm^3):

$$VNI = \frac{4}{3}\pi r^3$$

2.3 Quantificação do conteúdo de DNA nuclear

Para a determinação do conteúdo de DNA nuclear, foram analisadas três amostras de cada tipo morfológico de almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis*), com aproximadamente 20 mg de tecido foliar jovem e a mesma quantidade de tecido foliar jovem de *Pisum sativum* L., espécie usada como padrão interno de referência (2C = 9,09 pg).

As amostras foram fragmentadas em placa de Petri com 1 mL de tampão Marie e Brown (1993) para a obtenção da suspensão nuclear. À solução de núcleos interfásicos, obtida após filtragem, foram adicionados 25 μL de iodeto de propídeo (1 mg mL^{-1}) e 2,5 μL de RNase (50 μg mL^{-1}) (Doležel, 1998), para posterior leitura em citômetro de fluxo FacsCalibur (Becton Dickinson), com o programa Cell Quest (Becton, Dickinson and Company, San Jose, CA, USA) e analisados pelo *software* WinMDI, v. 2.8. O tamanho do genoma foi estimado pela Eq. 2, de acordo com Doležel e Bartoš (2005).

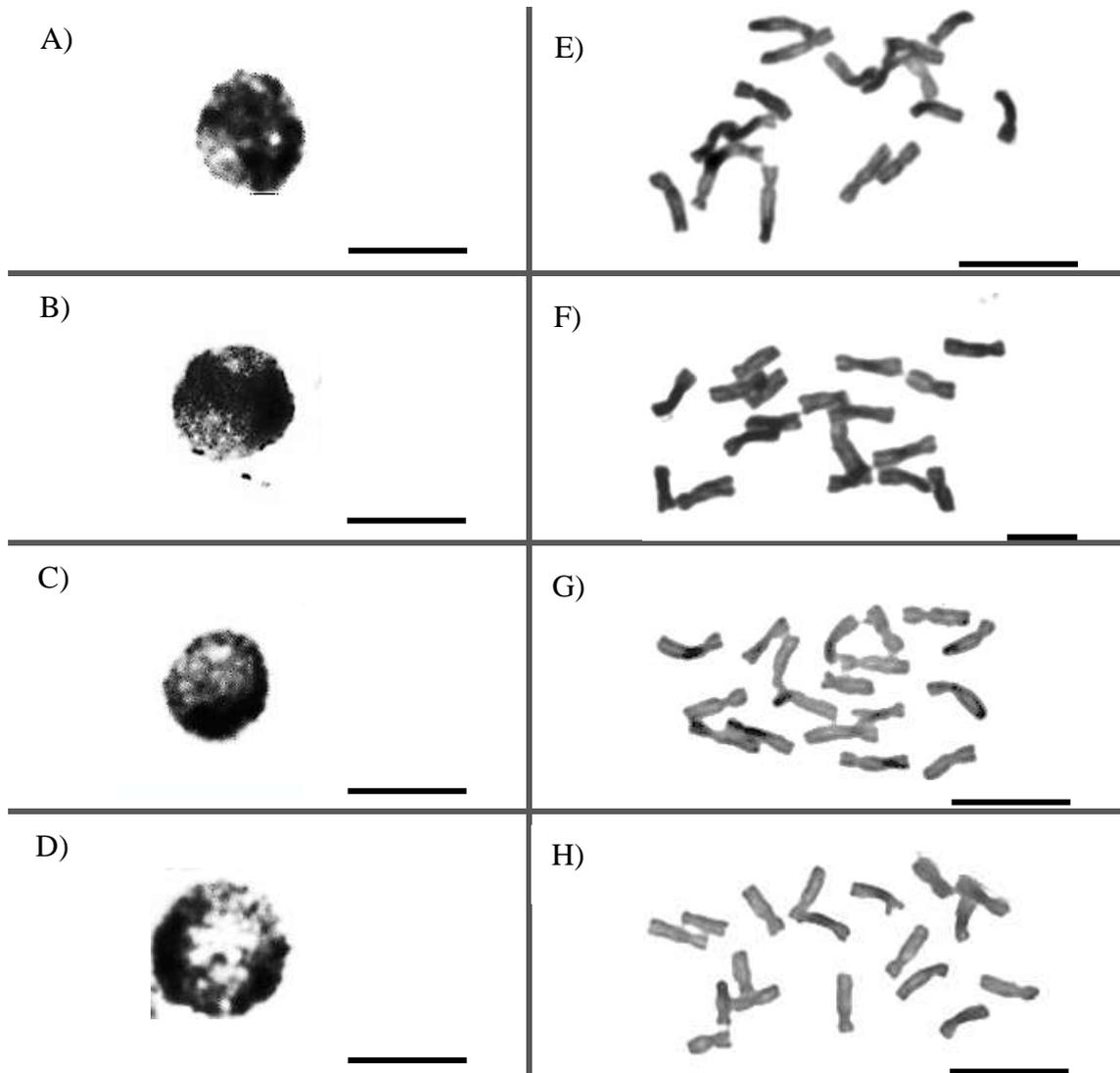
Os dados foram submetidos à análise de variância, considerando o delineamento inteiramente casualizado (DIC), pelo *software* R Core Team (2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore apresentaram núcleo interfásico do tipo reticulado (Figura 1.2), com retículo cromatínico intensamente corado e cromatina polarizada com difícil visualização, de acordo com a classificação proposta por Guerra (1985).

Os números cromossômicos, para os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, foram $2n = 18$ cromossomos (Figura 1.2).

Figura 1.2 – Núcleos interfásicos de células em metáfase do tipo reticulado de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis*): A) almeirão-de-árvore verde; B) almeirão-de-árvore roxo liso folha estreita; C) almeirão-de-árvore roxo repicado; D) almeirão-de-árvore roxo liso folha larga; Metáfases mitóticas com $2n = 18$ cromossomos (E, F, G, H).



Barra: 10 μ m.

Fonte: Do autor (2021).

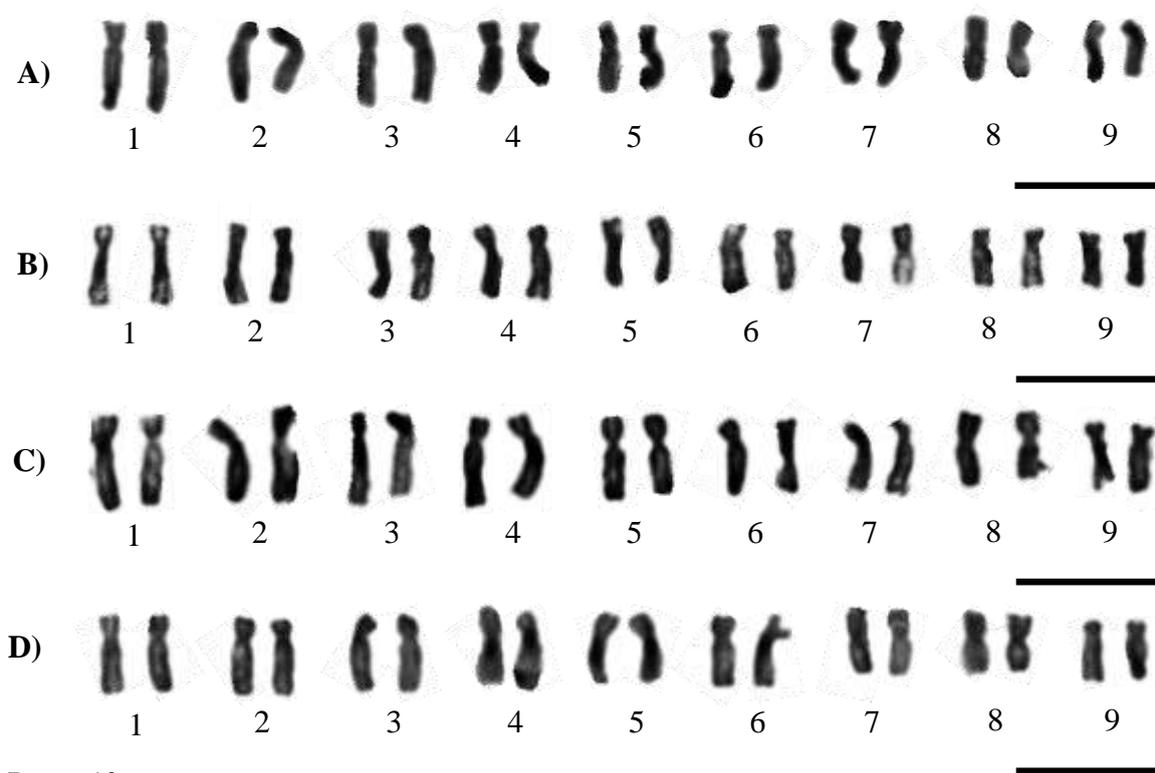
Os núcleos interfásicos de almeirão-de-árvore foram caracterizados pela primeira vez. Essa informação é pouco explorada, para as demais espécies selvagens de Asteraceae, pois grande parte dos estudos citológicos dessa família se limita ao número cromossômico e observações na meiose (Jones *et al.*, 2018; Lebeda *et al.*, 2019).

A estrutura e organização da cromatina, durante a intérfase, geralmente, é constante dentro de uma mesma espécie, como foi observado entre os morfotipos avaliados, entretanto, pode variar dentro do gênero ou outra categoria taxonômica superior (Guerra, 1985).

Na tentativa de posicionar taxonomicamente os quatro morfotipos de almeirão-de-

árvore, considerados a priori pertencentes à espécie *L. canadensis*, realizou-se uma descrição cariotípica detalhada. Porém o cariógrama dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (Figura 1.3) permitiu identificar poucas diferenças morfométricas, apesar das variações morfológicas observadas. (Tabela 1.3).

Figura 1.3 - Cariograma de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore: A) Almeirão-de-árvore verde; B) Almeirão roxo liso folha estreita; C) Almeirão-de-árvore roxo repicado; D) Almeirão roxo liso folha larga.



Barra: 10 μ m.

Fonte: Do autor (2021).

Os morfotipos apresentaram a maioria dos cromossomos metacêntricos (Tabela 1.2). Neste estudo, observou-se variação na fórmula cariotípica entre os almeirões-de-árvore, em que o almeirão-de-árvore roxo repicado apresentou a fórmula cariotípica $12m+2sm+4ac$ e os demais morfotipos apresentaram $10m+6m+2ac$.

Tabela 1.2 – Medidas e relações de braços dos pares cromossômicos, classificação da posição centromérica, índices de assimetria centromérica (AC), assimetria intra e intercromossômica (A1 e A2) e fórmula cariotípica de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.

Almeirão-de-árvore verde					
Par	BL (µm)	BC (µm)	BL+BC (µm)	BL/BC	Classificação centromérica
1	4,80	1,71	6,51	2,80	sm
2	4,43	1,51	5,94	2,93	sm
3	3,97	1,81	5,78	2,19	m
4	3,99	1,59	5,58	2,51	sm
5	3,44	1,75	5,20	1,96	m
6	3,99	1,02	5,01	3,92	ac
7	2,91	2,00	4,92	1,45	m
8	3,17	1,34	4,51	2,36	m
9	2,67	1,80	4,47	1,48	m
A1 = 0,54		A2 = 0,13		AC = 38,57	
Fórmula cariotípica			10m+6sm+2ac		
Almeirão-de-árvore roxo liso folha estreita					
1	3,86	1,46	5,32	2,65	sm
2	3,53	1,41	4,94	2,51	sm
3	3,16	1,34	4,51	2,36	m
4	3,24	1,15	4,39	2,81	m
5	2,70	1,64	4,34	1,65	m
6	3,24	1,05	4,29	3,08	ac
7	2,18	1,66	3,84	1,32	m
8	2,53	0,99	3,52	2,56	sm
9	2,55	0,96	3,51	2,66	m
A1 = 0,55		A2 = 0,14		AC = 39,37	
Fórmula cariotípica			10m+6sm+2ac		
Almeirão-de-árvore roxo repicado					
1	3,87	1,58	5,46	2,45	m
2	3,63	1,79	5,42	2,03	m
3	3,65	1,51	5,16	2,42	m
4	3,70	1,36	5,07	2,71	sm
5	3,36	1,54	4,90	2,18	m
6	3,19	1,37	4,56	2,34	m
7	3,63	0,86	4,49	4,24	ac
8	2,55	1,73	4,28	1,47	m
9	3,24	0,90	4,14	3,59	ac
A1 = 0,58		A2 = 0,10		AC = 42,03	
Fórmula cariotípica			12m+2sm+4ac		
Almeirão-de-árvore roxo liso folha larga					
1	3,76	1,29	5,05	2,91	sm
2	3,59	1,34	4,93	2,67	sm
3	3,59	1,34	4,93	2,68	sm
4	3,04	1,65	4,69	1,84	m
5	3,13	1,49	4,61	2,10	m
6	3,03	1,30	4,33	2,32	m
7	2,70	1,59	4,29	1,69	m
8	2,31	1,49	3,81	1,55	m

9	2,45	0,67	3,11	3,67	ac
A1 = 0,55		A2 = 0,14		AC = 38,83	
Fórmula cariotípica			10m+6sm+2ac		

m = metacêntrico, sm = submetacêntrico, ac = acrocêntrico.

Fonte: Do autor (2021).

As relações e a diversidade genética dentro e entre as espécies de *Lactuca* foram avaliadas por vários autores, usando características cariológicas (Haque e Godward, 1985; Koopman e De Jong, 1996; Doležalová *et al.*, 2002; Matoba *et al.*, 2007; Lebeda *et al.*, 2009; Yang, Choi e Pak, 2009; El-Esawi e Sammour, 2014), os quais constataram que, além de uma constância do número de cromossomos, as espécies do gênero exibiam uniformidade em morfologia cromossômica; a maioria dos cromossomos era metacêntrico ou submetacêntrico.

Uma vez que todos os morfotipos estudados têm $2n = 18$ cromossomos, diferenças em seus cariótipos podem ser atribuídas a alterações estruturais, como rearranjos cromossômicos, inversão pericêntrica e translocação desigual (El-Esawi e Sammour, 2014).

El-Esawi e Sammour (2014) avaliaram o cariótipo de 40 acessos pertencentes a dez espécies, tratados em três seções. Eles observaram que, assim como a maioria das espécies de *Lactuca*, todos os acessos estudados foram diploides com $2n = 18$, estando inclusa a espécie *L. indica*. Já a espécie *L. canadensis* foi classificada como um alotetraploide com $2n = 4x = 34$ cromossomos (Wiegand, 1920; Thompson, T.W e W.F., 1941; Jones *et al.*, 2018; Lebeda *et al.*, 2019).

Os cariótipos dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore foram classificados como 3A (cromossomos maiores/ menores <2:1 e proporção de braços <2:1 entre 10 e 50%), o que define cromossomos relativamente simétricos, de acordo com Stebbins (1971). Um cariótipo simétrico é caracterizado pela predominância de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com aproximadamente o mesmo tamanho (Paszko, 2006).

O comprimento total de braços apresentou variação entre os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, em média, $29,70 \pm 2,97\mu\text{m}$ de braços longos e $12,75 \pm 1,26\mu\text{m}$ de braços curtos. Em relação ao tamanho dos cromossomos, o comprimento total dos braços diminuiu de forma gradual, atingindo 31,3% a 38,9% de redução no tamanho entre os maiores e menores pares cromossômicos.

As assimetrias intra e intercromossômica (A1 e A2) tiveram pouca variação. As diferenças da posição do centrômero, representadas pela assimetria centromérica (AC) e pelo tamanho dos cromossomos (BL+BC) refletiram nos valores de A1 e A2, em que os morfotipos apresentaram níveis semelhantes de assimetria cromossômica, A1 de 0,54 a 0,58 e

A₂ de 0,10 a 0,14, conforme Tabela 1.2.

A assimetria inter-cromossômica (A₂), representada pela variação no tamanho dos cromossomos, permite uma compreensão sobre a evolução cariotípica da espécie e pode ser utilizada para inferir sobre aspectos taxonômicos (Paszko, 2006). Espécies de maior índice de assimetria cariotípica podem indicar plantas mais primitivas, enquanto as mais recentes evolutivamente caracterizam-se por possuir índice com resultado menor (Stebbins, 1971).

O índice de assimetria (A₂), em espécies selvagens do gênero *Lactuca* com 2n=18 cromossomos, como *Lactuca saligna*, *L. serriola*, variam entre 0,21 e 0,22, valores semelhantes aos da alface cultivada (*Lactuca sativa*) com 0,20 a 0,23, dependendo da cultivar. Já para *Lactuca virosa*, o índice de assimetria é menor, entre 0,11 e 0,19 (Koopman e De Jong, 1996; Matoba *et al.*, 2007).

Os almeirões-de-árvore roxo repicado e roxo liso folha larga apresentaram constrição secundária (CS), associados a um segmento de satélite (Sat), no par de cromossomos 3 e 7, respectivamente, visível em uma das metáfases analisadas.

A não observação em outras metáfases pode ser atribuída a quebras na região do satélite, o que dificulta sua visualização pela metodologia utilizada. Essas estruturas estão relacionadas à região organizadora do nucléolo (RON), que podem conter porções de DNA ativas ou não. Porém a variação no número médio de satélites entre os acessos também pode ser explicada por diferenças no estado de condensação das constrições secundárias nos cromossomos organizadores nucleolares. Esta condição foi observada na análise cariotípica de acessos de outras espécies de *Lactuca* (El-Esawi e Sammour, 2014).

A assimetria centromérica foi, em média, 40,64% para os morfotipos de almeirão-de-árvore (Tabela 1.2) e o comprimento total do lote haploide, em média, 42,45±4,19µm (Tabela 1.3), com maior tamanho de cromossomos para os almeirões-de-árvore verde e roxo repicado.

Tabela 1.3 - Conteúdo de DNA nuclear, volume nuclear interfásico (VNI) e comprimento total do lote haploide (CTLH) de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.

Almeirão-de-árvore	DNA=2C (pg)	VNI (µm ³)	CTLH (µm)
Verde	6,08 a	346,63 ab	47,92
Roxo liso folha estreita	5,93 a	367,72 ab	38,64
Roxo repicado	5,44 a	309,90 b	43,47
Roxo liso folha larga	6,08 a	431,28 a	39,76
CV	11,6 %	20,7%	

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste F e teste Tukey a 5% de probabilidade.

Fonte: Do autor (2021).

Considerando valores próximos encontrados para a assimetria centromérica e comprimento total do lote haploide, verificou-se pouca variação no tamanho do genoma e nos caracteres biométricos dos cromossomos dos morfotipos de almeirão-de-árvore.

Em *L. indica*, Wang *et al.* (2005) encontraram o comprimento total dos braços longos de 40,33 μ m, a fórmula cariotípica 4m+14sm e o comprimento total do lote haploide de 60,03 μ m. El-Esawi e Sammour (2014), avaliando acessos da *L. indica* da China e Indonésia, encontraram a fórmula cariotípica 6m+12sm e CTLH de 10,30 μ m, com presença de 2 satélites (sat), o que mostra discrepância no tamanho e classificação dos cromossômicos em comparação aos morfotipos de almeirão-de-árvore.

Nas amostras avaliadas de almeirão-de-árvore, em se tratando da quantificação do DNA nuclear e de espécimes ricas em metabólitos secundários, o coeficiente de variação foi de 4,2 a 5,0%. Em citometria de fluxo, a ocorrência de variação é normalmente expressa pelo coeficiente de variação (Doležel, Binarova e Lucretti, 1989). Em quantificações que incluem estimativas do tamanho do genoma, ou mesmo para espécies ricas em metabólitos secundários, coeficientes de variação menores que 5% são aceitáveis (Doležel e Bartoš, 2005).

O conteúdo de DNA nuclear foi, em média, 5,88 pg, para os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore (Tabela 1.3), não havendo diferença estatística significativa. A maioria das espécies e de acessos avaliados por Doležalová *et al.* (2002) apresentou conteúdo de DNA variando entre 5,49 a 6,54 pg. Esse grupo contempla a espécie *L. sativa* e espécies intimamente correlacionadas a ela.

Seguindo listas de descritores publicadas para espécies selvagens de *Lactuca*, Doležalová *et al.* (2003) e Doležalová *et al.* (2002) encontraram em *L. serriola* o conteúdo de DNA com variação de 5,77 a 5,86 pg, valores próximos aos encontrados por Lebeda *et al.* (2011). Os mesmos autores encontraram o valor de 17,96 pg para *L. canadensis* e uma variação de 11,87 a 14,12 pg em *L. indica* e o volume nuclear de *L. indica* encontrado por Wang *et al.* (2005) foi de 113,05 μ m³.

Alguns trabalhos mostraram a existência de notável variabilidade intraespecífica no conteúdo do DNA nuclear (Ohri, 1998). Por outro lado, alguns autores consideram o conteúdo do DNA nuclear um caráter específico de cada espécie (Greilhuber e Obermayer, 1998).

Os resultados obtidos neste trabalho mostraram pouca variação na análise cariotípica dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, os quais apresentam consideráveis diferenças morfológicas entre si. Portanto pode-se inferir de que se trata realmente de morfotipos de uma mesma espécie, relatada até então como *L. aff canadensis*. Variabilidade intraespecífica tem

sido amplamente relatada em espécies dentro do gênero *Lactuca* (Křístková *et al.*, 2008; Lebeda *et al.*, 2009; Lebeda *et al.*, 2014).

No entanto, considerando os estudos citogenéticos que relataram *C. intybus* com $2n = 2x = 18$ cromossomos (Rick, 1953; Kiers *et al.*, 2000; Hauser, Jørgensen e Toneatto, 2012), *L. indica* com $2n = 2x = 18$ cromossomos (Thompson, T.W e W.F., 1941; Wang *et al.*, 2005; Chung *et al.*, 2016)) e *L. canadensis* sendo classificada como um alotetraploide com $2n = 4x = 34$ cromossomos (Thompson, T.W e W.F., 1941; Jones *et al.*, 2018; Lebeda *et al.*, 2019), os quatro morfotipos apresentam maior proximidade com as duas primeiras espécies que com *L. canadensis*. Tanto *L. indica* e *L. canadensis* ocorrem de forma subespontânea no Brasil (Monge *et al.*, 2016).

Outra hipótese para a ocorrência do número diploide, caso a espécie seja mesmo *L. canadensis*, segundo Jones *et al.* (2018), é provável que o grupo alotetraploide (*L. canadensis*) tenha se originado por hibridação de *Lactuca plumieri* (ou seu ancestral) com algumas espécies agora extintas ($x = 9$), possivelmente uma espécie ancestral do grupo *L. tatarica* e *L. quercina* L. ($x = 9$) ou mesmo *L. indica* L. (também $x = 9$). Tal hibridação é ainda suportada por similaridades morfológicas de membros do grupo *L. canadensis* com *L. plumieri*.

O número ($2n = 34$ cromossomos) pode ser explicado por meio da redução dispoloide de $2n = 18$ e subsequente autoploidização (Kilian, Gemeinholzer e Lack, 2009). Entretanto, o número $2n = 18$ cromossomos não foi relatado para *L. canadensis*, que também seria possível, resultante de um cruzamento entre espécies com o mesmo número básico ($x = 9$).

Se estabelecermos um comparativo de grupos próximos, o número diploide encontrado ($2n=18$) é comum no gênero *Lactuca*. Assim, considerando o número diploide, verifica-se maior proximidade com *L.indica* que com a *L. canadensis*.

Portanto, para se definir com segurança sobre a taxonomia dos morfotipos, serão necessários estudos mais avançados, como técnicas de bandeamento cromossômico associadas à citogenética convencional. Marcadores moleculares e citotaxonômicos também poderão ser empregados, para auxiliar na identificação da espécie, além de serem úteis à diferenciação de espécies comumente confundidas pela similaridade morfológica.

4 CONCLUSÃO

Não foi verificada variação cromossômica numérica e no conteúdo de DNA entre os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.

A identificação dos tipos morfológicos de almeirão-de-árvore não converge à classificação morfológica e aos estudos cariológicos apresentados.

REFERÊNCIAS

- ALTINORDU, F. et al. A tool for the analysis of chromosomes: KaryoType. **TAXON**, v. 65, n. 3, p. 586-592, 2016. ISSN 0040-0262.
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. **Annals of Botany**, v. 107, n. 3, p. 467-590, 2011. ISSN 0305-7364.
- BRASIL. **Hortalças não-convencionais:(tradicionais)**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 52 p. 2010a.
- BRASIL. **Manual de hortaliças não-convencionais**: Mapa/ACS Brasília: 92 p. 2010b.
- CHUNG, G.-Y. et al. Chromosome numbers of 50 vascular plants in South Korea. **Journal of Asia-Pacific Biodiversity**, v. 9, n. 4, p. 496-504, 2016/12/01/ 2016. ISSN 2287-884X.
- DAS, A. B.; MALLICK, R. Karyotype diversity and interspecific 4C DNA variation in *Bupleurum*. **Biologia Plantarum**, v. 35, n. 3, p. 355-363, 1993. ISSN 00063134 (ISSN).
- DOLEŽALOVÁ, I. et al. Basic morphological descriptors for genetic resources of wild *Lactuca* species. **Plant Genetic Resources**, v. 134, p. 1-9, 2003.
- DOLEŽALOVÁ, I. et al. Variation in chromosome numbers and nuclear DNA contents in genetic resources of *Lactuca L.* species (Asteraceae). **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, n. 4, p. 383-395, 2002. ISSN 09259864 (ISSN).
- DOLEZEL, J. Flow cytometry, its application and potential for plant breeding. **Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement. Universitätsverlag, Vienna, Austria**, p. 80-90, 1998.
- DOLEŽEL, J.; BARTOŠ, J. Plant DNA Flow Cytometry and Estimation of Nuclear Genome Size. **Annals of botany**, v. 95, p. 99-110, 02/01 2005.
- DOLEŽEL, J.; BINAROVA, P.; LUCRETTI, S. Analysis of Nuclear DNA content in plant cells by Flow cytometry. **Biol Plant**, v. 31, p. 113-120, 03/01 1989.
- EL-ESAWI, M. A.; SAMMOUR, R. Karyological and phylogenetic studies in the genus *Lactuca L.* (Asteraceae). **Cytologia**, v. 79, n. 2, p. 269-275, 2014. ISSN 00114545 (ISSN).
- FERÁKOVÁ, V. **The genus *Lactuca L.* in Europe**. [Bratislava]: Univerzita Komenského, 1977. 122 p.
- GREILHUBER, J.; OBERMAYER, R. Genome size variation in *Cajanus cajan* (Fabaceae): a reconsideration. **Plant Systematics and Evolution**, v. 212, p. 135-141, 1998.
- GUERRA, M. Estrutura e diversificação dos núcleos interfásicos em plantas. **Tópicos de citogenética e evolução de plantas**, p. 137-153, 1985.
- GUERRA, M. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et. **Brazil. J. Genet.**, v. 9, p. 741-743, 1986.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: Concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008. ISSN 14248581 (ISSN).

GUERRA, M.; SOUZA, M. D. Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. **Ribeirão Preto: FUNPEC**, p. 201, 2002.

HAQUE, M. Z.; GODWARD, M. B. E. Effects of seed irradiation on M1 achenes of *Lactuca* and *Cichorium*. **Environmental and Experimental Botany**, v. 25, n. 1, p. 53-65, 1985. ISSN 00988472 (ISSN).

HAQUE, M. Z.; GODWARD, M. B. E. Comparison between Two Species and Cultivars in Lactuceae. V. Dose Response, Production of Micronuclei in Root Tip Meristem. **CYTOLOGIA**, v. 53, n. 1, p. 147-152, 1988. ISSN 00114545 (ISSN).

HAUSER, T. P.; JØRGENSEN, R. B.; TONEATTO, F. Reduced sexual compatibility between cultivated and wild chicory and their F 1 hybrids. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 59, n. 5, p. 783-791, 2012. ISSN 09259864 (ISSN).

JONES, K. E. et al. Northern Hemisphere disjunctions in *Lactuca* (Cichorieae, Asteraceae): Independent Eurasia to North America migrations and allopolyploidization. **Willdenowia**, v. 48, n. 2, p. 259-284, 2018. ISSN 05119618 (ISSN).

KIERS, A. M. et al. A search for diagnostic AFLP markers in *Cichorium* species with emphasis on endive and chicory cultivar groups. **Genome**, v. 43, n. 3, p. 470-476, 2000. ISSN 08312796 (ISSN).

KILIAN, N.; GEMEINHOLZER, B.; LACK, H. W. Tribe Cichorieae. In: FUNK, V. A. E. A. (Ed.). **Systematics, evolution, and biogeography of the Compositae**. Vienna: Int. Assoc. Plant Taxon., 2009. p.343-383.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. J. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014. ISBN 8586714461.

KOOPMAN, W. J. M. Identifying lettuce species (*Lactuca* subsect. *Lactuca*, Asteraceae): A practical application of flow cytometry. **Euphytica**, v. 116, n. 2, p. 151-159, 2000. ISSN 00142336 (ISSN).

KOOPMAN, W. J. M.; DE JONG, J. H. A numerical analysis of karyotypes and DNA amounts in lettuce cultivars and species (*Lactuca* subsect. *Lactuca*, Compositae). **Acta Botanica Neerlandica**, v. 45, n. 2, p. 211-222, 1996. ISSN 00445983 (ISSN).

KŘÍSTKOVÁ, E. et al. Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. **Horticultural Science**, v. 35, p. 113-129, 01/01 2008.

LEBEDA, A. et al. **North American continent - A new source of wild *Lactuca* spp. germplasm variability for future lettuce breeding**. *Acta Horticulturae*: International Society for Horticultural Science. 918: 475-482 p. 2011.

- LEBEDA, A. et al. Biodiversity and ecogeography of wild *Lactuca* spp. in some European countries. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, n. 2, p. 153-164, 2001. ISSN 09259864 (ISSN).
- LEBEDA, A. et al. An insight into the genetic polymorphism among European populations of *Lactuca serriola* assessed by AFLP. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, n. 5, p. 597-608, 2009. ISSN 03051978 (ISSN).
- LEBEDA, A. et al. Research Gaps and Challenges in the Conservation and Use of North American Wild Lettuce Germplasm. **Crop Science**, v. 59, n. 6, p. 2337-2356, 2019.
- LEBEDA, A. et al. Wild *Lactuca* species, their genetic diversity, resistance to diseases and pests, and exploitation in lettuce breeding. **European Journal of Plant Pathology**, v. 138, n. 3, p. 597-640, 2014. ISSN 09291873 (ISSN).
- MARIE, D.; BROWN, S. C. A cytometric exercise in plant DNA histograms, with 2C values for 70 species. **Biology of the Cell**, v. 78, n. 1-2, p. 41-51, 1993. ISSN 02484900 (ISSN).
- MATOBA, H. et al. Chromosomal study of lettuce and its allied species (*Lactuca* spp., Asteraceae) by means of karyotype analysis and fluorescence in situ hybridization. **Hereditas**, v. 144, n. 6, p. 235-243, 2007. ISSN 00180661 (ISSN).
- MONGE, M. et al. Two new records of *Lactuca* L.(Cichorieae, Asteraceae) in South America. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 2, 2016. ISSN 1980-4849.
- OHRI, D. Genome size variation and plant systematics. **Annals Bot**, v. 82, p. 75-83, 1998.
- PASZKO, B. A critical review and a new proposal of karyotype asymmetry indices. **Plant Systematics and Evolution**, v. 258, n. 1, p. 39-48, 2006/04/01 2006. ISSN 1615-6110.
- PEDROSA, M. et al. Hortaliças não convencionais. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)-Centro-oeste**, 2012.
- PERUZZI, L.; EROGLU, H. E. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure? **Comparative Cytogenetics**, v. 7, n. 1, 2013.
- PERUZZI, L.; LEITCH, I.; CAPARELLI, K. Chromosome diversity and evolution in Liliaceae. **Annals of botany**, v. 103, p. 459-75, 12/01 2009.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Viena 2018.
- RANIERI, G. R. **Guia prático de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) para escolas**. São Paulo: Instituto Kairós 2018.
- RICK, C. M. Hybridization between chicory and endive. **P American Society Horticulture Science** v. 61, p. 459-466, 1953.

SANTOS, I. C.; SILVA, A. F.; FONSECA, M. C. M. Almeirão-de-árvore, dente-de-leão, peixinho e serralha: plantas exóticas comestíveis. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 295, p. 67-74, 2016. ISSN 0100-3364.

SCHWARZACHER, T.; AMBROS, P.; SCHWEIZER, D. Application of Giemsa banding to orchid karyotype analysis. **Plant Systematics and Evolution**, v. 134, n. 3, p. 293-297, September 01 1980. ISSN 1615-6110.

SILVA, L. F. L. et al. Unconventional vegetables collected in Brazil: chromosome number and description of nuclear DNA content. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, 2017. ISSN 1984-7033.

STEBBINS, G. L. Chromosomal evolution in higher plants. **Chromosomal evolution in higher plants.**, 1971.

THOMPSON, R. C.; T.W, W.; W.F., K. Interspecific genetic relationships in Lactuca. **Journal of Agricultural Research**, v. 63, p. 91-107, 1941.

TOMB, A. S. et al. CHROMOSOME NUMBERS IN THE COMPOSITAE. XIV. LACTUCEAE. **American Journal of Botany**, v. 65, n. 7, p. 717-721, 1978. ISSN 0002-9122.

WANG, B. et al. Karyotype analysis of Lactuca indica chromosome. **Chinese Pharmaceutical Journal**, v. 40, n. 5, p. 335-337, 2005. ISSN 10012494 (ISSN).

WIEGAND, K. M. VARIATIONS IN LACTUCA CANADENSIS. **Rhodora**, v. 22, n. 253, p. 9-11, 1920. ISSN 00354902, 19383401.

YANG, J. Y.; CHOI, K.; PAK, J. H. A karyotype analysis of Lactuca (Asteraceae) in Korea. **Korean Journal of Plant Taxonomy**, v. 39, p. 24-28, 03/31 2009.

ZARCO, C. R. A NEW METHOD FOR ESTIMATING KARYOTYPE ASYMMETRY. **TAXON**, v. 35, n. 3, p. 526-530, 1986. ISSN 0040-0262.

ARTIGO 2

FENOLOGIA E PRODUÇÃO DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L.) EM DIFERENTES ÉPOCAS DE PLANTIO E COLHEITA

RESUMO

O almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.) é considerado uma hortaliça folhosa não convencional, da família Asteraceae. As plantas são cultivadas de Norte a Sul do país, em hortas domésticas e podem ser encontradas, em feiras e supermercados, na região serrana do Rio de Janeiro, Sul de Minas Gerais e interior de São Paulo. As plantas são muito produtivas, podendo alcançar dois metros de altura. O ciclo é perene, mas, no Brasil, o cultivo considerado é anual, pelas condições climáticas. Pouco se sabe sobre o desenvolvimento da cultura e as melhores épocas produtivas, sobretudo, dos morfotipos. Dessa forma, objetivou-se avaliar o desenvolvimento fenológico à capacidade produtiva de três morfotipos de almeirão-de-árvore (verde repicado, roxo liso e roxo repicado). O trabalho foi realizado em duas épocas: 1ª época (fevereiro a agosto de 2017) e 2ª época (abril a setembro de 2018). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3x3, sendo três morfotipos de almeirão-de-árvore, diferenciados pelo formato e coloração das folhas e três épocas de colheita. Foram utilizadas três repetições com parcelas de 10 plantas. A primeira colheita foi realizada aos 63 dias após o transplantio e cada colheita espaçada de 35 dias. Foram avaliados o ciclo fenológico e as características agronômicas: produção total e comercial, massa seca, comprimento e diâmetro do caule no terço colhido e número de folhas. Os dados foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade pelo *software* R. Os morfotipos possuem semelhanças no desenvolvimento, principalmente, no crescimento vegetativo. Algumas diferenças foram detectadas quanto à altura de plantas e ao período reprodutivo. O almeirão-de-árvore verde apresentou menor ciclo, com 294 dias e menor altura de plantas, na fase vegetativa, entre os demais morfotipos. Já o almeirão-de-árvore roxo repicado apresentou maior ciclo, com 324 dias e maior altura de plantas na fase vegetativa. Os almeirões-de-árvore apresentaram grande potencial produtivo, com produção superior a outras hortaliças folhosas como a alface, de estádios de desenvolvimento semelhante, com melhores resultados em épocas mais frias. A fenologia e produção dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore são bem semelhantes, o que permite adotar o mesmo manejo e sistema de produção.

Palavras-chave: Hortaliças Folhosas. Não Convencionais. Potencial Produtivo. Almeirão-Roxo.

ABSTRACT

The almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis* L.) is considered an unconventional leafy vegetable, of the Asteraceae family. The plants are grown from north to south of the country in home gardens and can be found in fairs and supermarkets in the mountainous region of Rio de Janeiro and South of Minas Gerais. The plants are very productive and can reach two meters in height. The cycle is perennial, but in Brazil the cultivation considered is annual, due to climatic conditions. Little is known about the development of culture and the best productive seasons, especially of morphotypes. Thus, the objective was to evaluate the phenological development and the productive capacity of three almeirão-de-árvore morphotypes (lobed green, smooth purple and lobed purple). The work was carried out in two seasons: 1st season (February to August 2017) and 2nd season (April to September 2018). The experimental design was completely randomized, in a 3x3 factorial scheme, with three morphotypes of almeirão-de-árvore, differentiated by the shape and color of the leaves and three harvest times. Three replicates composed of ten plants were used. The first harvest was performed at 63 days after transplanting and each harvest was spaced 35 days apart. The phenological cycle and agronomic characteristics were evaluated: total and commercial production, dry weight, stem length and diameter in the harvested third, number of leaves. The data were subjected to analysis of variance and the means compared by the Tukey test at 5% probability by the R software. The morphotypes have similarities in development, mainly in vegetative growth. Some differences were detected in terms of plant height and reproductive period. Almeirão-de-árvore showed great productive potential, with higher production than other leafy vegetables such as lettuce, of similar development stages, with better results in colder seasons. The phenology of the four morphotypes of almeirão-de-árvore is very similar, which allows adopting the same management and production system.

Keywords: Leafy Vegetables. Unconventional. Productive Potential. Almeirão-roxo.

1 INTRODUÇÃO

O almeirão-de-árvore (*Lactuca* aff. *canadensis* L.) é uma espécie da família Asteraceae, nativa da América do Norte, onde é conhecida como alface selvagem. A espécie foi introduzida no Brasil, onde a coleção mais antiga data de 1929. Há registros de ocorrência nos estados de Goiás, Paraná, Rio de Janeiro, São Paulo, Rio Grande do Sul, Bahia (Reflora – Herbário Virtual, 2021) e Minas Gerais. É considerada uma hortaliça folhosa não convencional e possui várias denominações populares: almeirão-de-árvore, almeirão roxo, radite-cote, orelha-de-coelho (Kinupp e Lorenzi, 2014), almeirão-serralha (Monge *et al.*, 2016).

Existem tipos que se diferem quanto aos caracteres morfológicos. As folhas são lanceoladas e possuem variações na cor das folhas, tipo de margem e nervuras, que podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. Às vezes, a cor roxa predomina na maior parte da folha nos almeirões de nervura arroxeadas. São cultivadas de Norte a Sul do país em hortas domésticas e podem ser encontradas em feiras e supermercados na região serrana do Rio de Janeiro, Sul de Minas Gerais (Kinupp e Lorenzi, 2014) e no interior de São Paulo.

O almeirão-de-árvore tem sabor e usos mais parecidos com o almeirão convencional (*Cichorium intybus* L.), porém, menos amargo. São plantas ricas em proteínas e minerais, como Ca, Zn, B e Mn (Silva *et al.*, 2018), consumidos na forma de hortaliça fresca em saladas ou refogados (Kinupp e Lorenzi, 2014).

Pode ser cultivado o ano todo, em regiões de clima ameno e de março a outubro em regiões de clima mais quente. Adapta-se a vários tipos de solo com adequado nível de matéria orgânica. O cultivo pode ser via direta por sementes e também com a produção de mudas. Pela falta de informações sobre a cultura, as recomendações de plantio, em geral, são baseadas no cultivo de hortaliças convencionais mais estudadas, da mesma família, como alface, acelga, almeirão, entre outras (Brasil, 2010).

São plantas muito produtivas, proporcionam colheitas sucessivas, estendendo-se por vários meses, podendo alcançar dois metros de altura dependendo das condições climáticas e fitossanitárias (Kinupp e Lorenzi, 2014). À medida que se colhe as folhas, estimula-se o crescimento do caule. A região colhida não se regenera e formam-se novas folhas em brotações superiores. As folhas podem ser consumidas até o início da fase reprodutiva, quando se tornam muito amargas e fibrosas.

Pouco se sabe sobre o desenvolvimento do almeirão-de-árvore e as melhores épocas

produtivas, sobretudo, dos morfotipos. Dessa forma, objetivou-se avaliar a fenologia e a produção de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de plantio e colheita.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e condições experimentais

O trabalho foi realizado, em casa de vegetação, no setor de Olericultura do Departamento de Agricultura da Escola de Ciências Agrárias de Lavras (ESAL) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Sul do Estado de Minas Gerais, latitude 21°13'18"S, longitude 44°58'07"W e 915 m de altitude, em duas épocas de cultivo: 1ª época (fevereiro a agosto de 2017) e 2ª época (abril a setembro de 2018). O clima da região, de acordo com a classificação climática de Köppen, é do tipo Cwb, com inverno seco e verão chuvoso (Alvares *et al.*, 2013).

A semeadura foi realizada em bandejas plásticas de polietileno, furos tipo tubetes, com células cilíndricas de diâmetro de 36 mm e volume de 50 mL para a produção de mudas. Foram semeadas três sementes por célula e contabilizadas na fase de germinação. Na fase de desenvolvimento de plântulas, foram realizadas três adubações foliares, com o fertilizante comercial Biofert® [188,96 g L⁻¹] (NPK 6-4-4; 0,5% Mg; 1% S; 0,02% B; 0,3% Cl; 0,02% Co; 0,05% Cu; 0,1% Fe; 0,05% Mn; 0,01% Mo; 0,1% Zn), em três aplicações, a cada sete dias após a emergência. A irrigação, para as mudas em bandejas, foi via micro aspersão suspensa e invertida.

O transplântio foi realizado, após 35 dias da semeadura, para vasos de polietileno com capacidade de 5L, em que foi conduzida uma planta por vaso. Nessa fase, as plantas apresentavam-se com três a quatro folhas bem desenvolvidas.

O solo utilizado para a formulação do substrato foi um Latossolo Vermelho Distroférrico com as seguintes características: pH (em H₂O) = 6,3; Al trocável = 0,02 cmol_c dm⁻³; Ca²⁺ = 1,32 cmol_c dm⁻³; Mg²⁺ = 0,18 cmol_c dm⁻³; P- Mehlich = 11,31 mg dm⁻³; K⁺ = 24,26 mg dm⁻³; Matéria orgânica = 0,29 dag Kg⁻¹; V = 60,32% ; Soma de bases = 1,56 cmol_c dm⁻³; m = 1,27%; CTC = 1,58 cmol_c dm⁻³; Textura do solo = Argilosa.

A adubação de plantio seguiu a recomendação de Dos Santos *et al.* (2016) a partir da análise de solo. Foram utilizados 4,5L de solo e 0,7L de composto orgânico por vaso. Foram realizadas adubações nitrogenadas com sulfato de amônio [35,2 g L⁻¹], aplicados 100 mL da solução por vaso, a cada 21 dias anteriores a cada colheita. A irrigação via gotejo, com

distribuição de cinco linhas e espaçamento de 30 cm entre gotejadores por plantas.

2.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3x3, sendo três morfotipos de almeirão-de-árvore, diferenciados pelo formato e coloração das folhas: verde repicada, roxo lisa e roxo repicada e três épocas de colheita, aos 63, 98 e 133 dias após o transplântio (DAT). Foram utilizadas três repetições com parcelas de 10 plantas cada, totalizando 30 plantas por morfotipo de almeirão-de-árvore. O experimento foi conduzido em duas épocas com plantios em 24 de fevereiro de 2017 e 2 de abril de 2018.

A primeira colheita foi realizada aos 63 dias após o transplântio e cada colheita espaçada de 35 dias. Na região em que as folhas foram colhidas não houve a formação de novas brotações, sendo caracterizadas: primeira colheita como folhas do terço inferior, segunda colheita (terço médio) e terceira colheita (terço superior).

2.3 Variáveis analisadas

2.3.1 Ciclo fenológico (BBCH-code)

A classificação dos estádios fenológicos foi realizada, com base na codificação unificada dos estádios fenológicos de desenvolvimento de culturas (BBCH-code), para hortaliças folhosas, em que se fundamenta na classificação binária dos estádios fenológicos das culturas. Os códigos numéricos com dois dígitos compõem-se de maneira que o primeiro dígito determina o macro-estádio e o segundo dígito determina o micro estádio dentro de um macro estádio. Os macro-estádios descrevem os estádios de desenvolvimento de uma planta dentro de um ou vários períodos de vegetação (Meier, 2018).

Para o macro-estádio 1 foram registradas da primeira à nona folha visível, independentemente do tamanho e desenvolvimento, observadas após a semeadura. O macro-estádio 2 configurou na contabilização de partes vegetais colhíveis. O almeirão-de-árvore foi representado por folhas totalmente desenvolvidas, as quais são a parte da planta mais consumida. O macro-estádio 3 indica o início da fase reprodutiva, passando pelo florescimento no macro-estádio 4 e o final do ciclo marcado pela produção de sementes e senescência das plantas nos macro-estádios 5 e 6.

Os dados coletados foram referentes aos dias após a semeadura (DAS), inferidos nos

seguintes caracteres: início e fim do intumescimento dos órgãos propagativos, contagem da primeira até a nona ou mais folhas visíveis e contagem do número de folhas desenvolvidas, de tamanho comercial (>20 cm) com as plantas em vasos, aos 98, 133 e 168 DAS.

A semeadura foi realizada em bandejas de 162 células conduzidas até o primeiro dígito. A partir do estágio fenológico 13, ou micro estágio 3 dentro do micro estágio 1, foram conduzidas 30 plantas de cada morfotipo de almeirão-de-árvore, as quais também foram utilizadas para quantificar os parâmetros de produção. As bandejas permaneceram sob as condições de irrigação para avaliar as sementes remanescentes que não apresentaram germinação.

2.3.2 Produção

Nas colheitas, foram colhidas as folhas desenvolvidas para a análise das características produtivas: produção total e comercial (folhas maiores que 20 cm e, com ausência de danos e injúrias), considerado a massa fresca (g), massa seca (g), altura (comprimento do caule no terço colhido em cm), diâmetro médio do caule no terço colhido (mm) e número de folhas total e comercial. Foram mantidas apenas três folhas recém-formadas, para garantir uma boa recuperação da planta para as colheitas subsequentes. Os dados foram submetidos à análise conjunta e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade pelo *software* R (R Core Team, 2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento fisiológico dos morfotipos de almeirão-de-árvore permitiu a classificação dos macros e micro estádios descritos na Tabela 2.1. Os morfotipos de almeirão-de-árvore possuem semelhanças de desenvolvimento, principalmente no crescimento vegetativo. Algumas diferenças foram detectadas quanto à altura de plantas e ao período reprodutivo.

As sementes de almeirão-de-árvore (*Lactuca canadensis* L.) apresentam problemas de dormência. No macro estágio 0 foi verificado após 35 dias da semeadura, que 38% das sementes de almeirão-de-árvore verde, 41% de almeirão-de-árvore roxo repicado e 62% de almeirão-de-árvore roxo liso não haviam germinado.

Tabela 2.1 – Estádios fenológicos de morfotipos de almeirão-de-árvore (*Lactuca aff. canadensis* L.).

código BBCH	Definição	Almeirão-de-árvore		
		VE	RL	RR
Principal estágio de crescimento 0: Germinação		Número de sementes		
00	Sementes secas - órgão de reprodução em fase dormente	62*	106	66
		Média (DAS)		
01	Emergência - cotilédones rompem a superfície do solo	5 (0,8)**	8 (4,7)	6 (2,1)
Principal estágio de crescimento 1: Desenvolvimento das folhas (broto principal)		Média (DAS)		
		VE	RL	RR
11	Primeira folha verdadeira desdobrada	25 (5,0)	20 (3,1)	21 (4,3)
12	2ª folha verdadeira desdobrada	31 (1,5)	29 (1,1)	30 (1,2)
13	3ª folha verdadeira desdobrada	41 (6,9)	33 (3,7)	33 (2,9)
14	4ª folha verdadeira desdobrada	49 (3,5)	46 (1,5)	46 (0,0)
15	5ª folha verdadeira desdobrada	54 (3,6)	53 (1,5)	53 (1,6)
16	6ª folha verdadeira desdobrada	57 (6,1)	56 (4,5)	57 (4,1)
17	7ª folha verdadeira desdobrada	61 (6,5)	58 (6,0)	57 (6,3)
18	8ª folha verdadeira desdobrada	63 (7,1)	65 (3,6)	65 (5,5)
19	9 ou mais folhas verdadeiras desdobradas	68 (4,8)	69 (3,4)	70 (4,4)
Principal estágio de crescimento 2: Alongamento da haste do crescimento da roseta e desenvolvimento de partes vegetais colhíveis				
21	A roseta de folhas atingiu 70% do diâmetro esperado típico da variedade/ 20% da massa foliar típica da variedade alcançada	98	98	98
22	Conclusão do desenvolvimento da roseta / 60% da massa foliar típica da variedade alcançada	133	133	133
23	80% da massa foliar típica da variedade alcançada	168	168	168
24	Massa típica de folhas atingida	235	235	235
Principal estágio de crescimento 3: Emergência da inflorescência				
31	Haste principal começa a alongar-se/ Inflorescência principal visível entre as folhas superiores	182	182	182
32	30% da altura esperada da haste principal alcançada	214	198	153
Principal estágio de crescimento 4: Floração				
41	Início da floração: 10% das flores abertas	196	208	238
42	Floração completa: 50% das flores abertas	211	229	269
Principal estágio de crescimento 5: amadurecimento de frutos e sementes				
51	Início do amadurecimento: 10% das sementes de cor típica, secas e duras	217	229	259
52	50% das sementes de cor típica, secas e duras	238	250	290
Principal estágio de crescimento 6: Senescência				
61	Produto colhido (sementes)	294	289	324

DAS – dias após a semeadura.

*número de sementes dormentes até o transplantio das mudas (35 DAS)

**(desvio-padrão).

Fonte: Do autor (2021).

A emergência completa foi verificada entre cinco e oito dias após a semeadura (DAS), com menor tempo para o almeirão-de-árvore verde e um período mais longo para o almeirão-de-árvore roxo liso. As sementes que se apresentaram dormentes germinaram após 180 dias do 13º estágio fenológico.

É comum encontrar dormência em sementes de espécies pouco exploradas ou que ainda não foram melhoradas geneticamente. Para espécies de ciclo anual e, principalmente, consideradas plantas daninhas, verifica-se nível intermediário de dormência (Mcivor e Howden, 2000).

Arantes *et al.* (2019), avaliando plântulas de *L. canadensis*, submetidas em níveis de sombreamento e doses de esterco bovino adicionadas ao substrato, encontraram um tempo médio de emergência de 6 a 7 DAS e germinação superior a 89%. Os valores de germinação podem estar relacionados à densidade no plantio, em que os autores semearam seis sementes por célula da bandeja.

O tempo médio para transplantio, em que as plantas alcançaram mais de três folhas verdadeiras, foi aos 35 DAS. Esse tempo é considerado longo, comparado ao tempo gasto para o desenvolvimento de plântulas de culturas, como a alface (*Lactuca sativa* L.), o almeirão (*Cichorium intybus* L.) e outras hortaliças folhosas, que levam de 14 a 28 dias para o transplantio, dependendo das condições climáticas.

Pode-se observar que as plantas podem levar até 70 DAS para fornecer nove ou mais folhas visíveis, que determinam o final do macro-estádio 1, independente do tamanho e desenvolvimento de cada par de folhas (Tabela 2.1).

De acordo com (Kinupp e Lorenzi, 2014), no início do desenvolvimento da planta, as folhas são dispostas em forma de roseta, o que pode ser observado até o macro-estádio 3. À medida que o caule cresce e se ramifica, as folhas dispõem-se na forma alternada. As folhas basais medem de 15-30 cm de comprimento e as caulinares apresentam menor tamanho.

O crescimento das plantas na fase vegetativa foi equidistante e com pouca variação entre a época de plantio (Tabela 2.2).

O almeirão-de-árvore roxo repicado apresentou maior crescimento na fase vegetativa, porém é o morfotipo que atingiu a menor altura ao final do ciclo. Além disso, apresentou maior diâmetro do caule e menor número de folhas (Tabela 2.2).

A massa típica de folhas, ou o máximo de produção foliar foi atingido aos 235 DAS, já na fase reprodutiva. Porém, após 168 DAS, houve a emissão do pendão floral e as folhas já se apresentavam com aparência que não favorecia a comercialização. Na fase reprodutiva, a emissão da panícula foi acompanhada por folhas de tamanho diminuto e a inflorescência

recobriu a porção terminal das plantas.

Tabela 2.2 – Interação morfotipo x colheita e ano para as variáveis de produção: altura, diâmetro do caule e número de folhas comerciais de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Almeirão-de-árvore	----- Colheitas (DAS) -----			Total	----- Ano -----	
	98	133	168		2017	2018
	Comprimento do caule (cm)				Comprimento do caule (cm)	
VE	5,22 Bb	8,01 Bab	11,64 Ca	24,87	6,44 Ca	6,71 Ca
RL	5,38 Abc	11,69 Bb	16,79 Ba	33,86	14,68 Ba	10,39 Bb
RR	9,14 Ac	17,88 Ab	22,74 Aa	49,76	19,06 Aa	15,06 Ab
	Ø do caule (mm)			Média	Ø do caule (mm)	
VE	13,99 Bb	12,50 Bc	21,33 Ba	15,94	10,65 ABb	21,23 Ba
RL	14,54 Bb	12,60 Bc	19,50 Ca	15,55	9,53 Bb	21,57 Ba
RR	16,36 Ab	15,03 Ab	24,60 Aa	18,66	11,09 Ab	26,24 Aa
	Nº folhas comerciais			Total	Nº folhas comerciais	
VE	18,85 Ab	26,43 Ba	26,46 Aa	72	21,20 Ab	26,62 Aa
RL	17,53 Ab	33,61 Aa	22,30 Ab	73	20,52 Ab	28,44 Aa
RR	16,50 Aa	20,58 Ba	21,13 Aa	58	19,34 Aa	19,47 Ba

As médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

Na análise da produção (Tabela 2.3), a produção comercial não apresentou diferenças com relação ao número de folhas verificado pela uniformidade de produção.

Tabela 2.3 – Interação colheita x ano para as variáveis de produção: produção total e comercial, massa seca e número de folhas comerciais de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Colheitas (DAS)	----- Ano -----		----- Ano -----	
	2017	2018	2017	2018
	Produção total (g)		Massa seca (g)	
98	225,11 Aa	146,20 Bb	16,10 Ba	12,21 Ba
133	203,93 Ab	373,10 Aa	23,78 Ab	36,23 Aa
168	170,99 Ab	433,87 Aa	17,78 Bb	40,90 Aa
Total	600,03	953,17	57,66	89,34
	Produção comercial (g)		Nº folhas comerciais	
98	187,03 Aa	127,25 Cb	19,53 Aa	15,72 Ca
133	193,22 Ab	319,13 Ba	21,03 Ab	32,71 Aa
168	152,83 Ab	389,29 Aa	20,50 Ab	26,10 Ba
Total	533,08	835,67	61,06	74,53

As médias seguidas de mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

Considerando o período produtivo de 70 dias e o ciclo de 135 dias em vasos, é praticamente o dobro do período estimado à produção de alface (*Lactuca sativa*), que necessita em torno de 30 dias, para a produção de mudas e mais 30 a 35 dias para a colheita (Resende *et al.*, 2018), dependendo da cultivar, do ambiente de cultivo, dos tratos culturais e das condições climáticas.

A produção de almeirão-de-árvore comparado a outras hortaliças folhosas, como a alface, de estádios de desenvolvimento semelhantes, é bem superior (Tabela 2.3). Silva *et al.* (2010), avaliando a produção de alface crespa em diferentes doses de composto orgânico com a cultivar ‘Verônica’, em vasos, após 45 dias do transplântio, obtiveram, em média, 413 g planta⁻¹ de matéria fresca na dose de 120 t ha⁻¹, considerando dois ciclos sucessivos. Villas Bôas *et al.* (2004) obtiveram, aos 56 dias após o transplântio, os melhores resultados, em média, de 145,5 g planta⁻¹ de matéria fresca e 33 folhas com a alface ‘Elisa’, cultivada em diferentes doses e tipos de composto orgânico. Apesar do número de folhas comerciais serem proporcionais aos da alface, considerando o sistema de condução em vasos, os morfotipos de almeirão-de-árvore podem alcançar o dobro em matéria fresca.

Os almeirões-de-árvore apresentam grande potencial produtivo com melhores resultados em épocas mais frias. São plantas com produções semelhantes e de fácil condução. Entretanto são necessários mais estudos para determinar os melhores sistemas de condução e manejo, nos diferentes ambientes de cultivo, para explorar o máximo potencial da cultura.

4 CONCLUSÃO

A fenologia dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore é bem semelhante, com algumas diferenças no porte e período reprodutivo, o que permite adotar o mesmo manejo e sistema de produção.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

ARANTES, C. R. D. A. et al. Shading and substrate in the production of *Lactuca canadensis* L. seedlings. **Iheringia - Serie Botanica**, v. 74, n. 4, 2019. ISSN 00734705 (ISSN).

BRASIL. **Hortaliças não-convencionais:(tradicionais)**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 52 p. 2010.

DO BRASIL, F. em construção. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115> (acesso em 08/06/2018), 2020.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. J. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014. ISBN 8586714461.

MCIVOR, J. G.; HOWDEN, S. M. Dormancy and germination characteristics of herbaceous species in the seasonally dry tropics of northern Australia. **Austral Ecology**, v. 25, n. 3, p. 213-222, 2000. ISSN 1442-9985.

MEIER, U. **Growth stages of mono- and dicotyledonous plants: BBCH Monograph**. Quedlinburg Julius Kühn-Institut (JKI), 2018. ISBN 978-3-95547-071-5.

MONGE, M. et al. Two new records of *Lactuca* L.(Cichorieae, Asteraceae) in South America. **Revista Brasileira de Biociencias**, v. 14, n. 2, 2016. ISSN 1980-4849.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Viena 2018.

RESENDE, G.; YURI, J.; COSTA, N. Cultivo de alface crespa no Submédio do Vale do São Francisco. **Petrolina: Embrapa Semiárido**, 2018.

SANTOS, I. C.; SILVA, A. F.; FONSECA, M. C. M. Almeirão-de-árvore, dente-de-leão, peixinho e serralha: plantas exóticas comestíveis. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 295, p. 67-74, 2016. ISSN 0100-3364.

SILVA, F. A. D. M.; BÔAS, R. L. V.; SILVA, R. B. Resposta da alface à adubação nitrogenada com diferentes compostos orgânicos em dois ciclos sucessivos. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, p. 131-137, 2010. ISSN 1807-8621.

SILVA, L. F. L. E. et al. Nutritional evaluation of non-conventional vegetables in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p. 1775-1787, 2018. ISSN 00013765 (ISSN).

VILLAS BÔAS, R. L. et al. Efeito de doses e tipos de compostos orgânicos na produção de alface em dois solos sob ambiente protegido. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 28-34, 2004. ISSN 0102-0536.

ARTIGO 3

CARACTERIZAÇÃO, DIMENSÕES E DENSIDADE ESTOMÁTICA DE QUATRO MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L.)

RESUMO

Lactuca aff. canadensis L. é uma alface selvagem da família Asteraceae, nativa da América do Norte. Essa espécie ainda é pouco estudada no Brasil e apresenta divergências em sua denominação científica. O almeirão-de-árvore possui ampla variabilidade morfológica. As folhas são lanceoladas e possuem variações na cor, tipo de margem e nervuras, que podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. Pouco se conhece sobre os seus caracteres anatômicos para fins de identificação. Dessa forma, objetivou-se caracterizar os estômatos de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore. O material genético utilizado foi adquirido junto à coleção ativa de germoplasma de hortaliças não convencionais da UFLA. Foram coletadas amostras de tecido vegetal na região mediana de 10 folhas plenamente desenvolvidas e tratadas para a análise em microscópio eletrônico de varredura. O delineamento estatístico utilizado foi o Inteiramente casualizado (DIC), distribuídos no esquema de parcelas subdivididas, em que as parcelas foram compostas de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore e as subparcelas compostas de fragmentos de folhas. Foram analisados os números de estômatos das epidermes adaxial e abaxial, diâmetros estomáticos polar e equatorial. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade pelo *software* R. As folhas dos morfotipos de almeirão-de-árvore são hipoanfiestomáticas com maior número de estômatos na epiderme abaxial. Em geral, apresentaram semelhanças entre os morfotipos repicados (verde e roxo) e entre os tipos roxos lisos (folha estreita e folha larga) para o número e tamanho de estômatos. Os morfotipos de almeirão-de-árvore apresentaram características que permitem diferenciá-las de outras espécies. Além disso, a densidade estomática e o tamanho dos estômatos são característicos para cada formato de folha.

Palavras-chave: Microscopia Eletrônica. Anatomia Foliar. Hortaliça Não Convencional. Morfologia de Estômatos.

ABSTRACT

Lactuca aff. *canadensis* L. is a wild lettuce in the family Asteraceae, native to North America. This species is still little studied in Brazil and has divergences in its scientific name. The almeirão-de-árvore has wide morphological variability. The leaves are lanceolate and have variations in color, type of margin and ribs, which can be green, smooth purple with narrow leaf, lobed purple and smooth purple with broad leaf. Little is known about its anatomical characters for identification purposes. In this way, the objective was to characterize the stomata of four almeirão-de-árvore morphotypes. The genetic material used was acquired from UFLA active collection of non-conventional vegetable germplasm. Samples of plant tissue were collected in the median region of 10 fully developed leaves and treated for analysis in a scanning electron microscope. The statistical design used was the Entirely randomized distributed in the scheme of subdivided plots, where the plots were composed of four almeirão-de-árvore morphotypes and the subplots composed of leaf fragments. Stomata numbers of the adaxial and abaxial epidermis, polar and equatorial stomatal diameters were analyzed. The data were subjected to analysis of variance and the averages compared by the Tukey test at 5% probability with the aid of R software. The leaves of the almeirão-de-árvore morphotypes are epianphistomatic with the highest number of stomata in the abaxial epidermis. In general, they showed similarities between lobed morphotypes (green and purple) and between smooth purple types (narrow leaf and wide leaf) for the number and size of stomata. The morphotypes of almeirão-de-árvore demonstrate characteristics that allow differentiating them from other species. Beside, stomatal density and stomata size are characteristic for every leaf format.

Keywords: Electron Microscopy. Leaf Anatomy. Unconventional Vegetables. Stomata Morphology.

1 INTRODUÇÃO

Lactuca aff. *canadensis* L. é uma alface selvagem da família Asteraceae, nativa da América do Norte. A espécie foi introduzida no Brasil (Monge *et al.*, 2016), onde é considerada uma hortaliça folhosa não convencional e conhecida popularmente como almeirão-de-árvore, almeirão-roxo, radite-cote, orelha-de-coelho (Kinupp e Lorenzi, 2014), almeirão-selvagem ou almeirão-do-mato.

O almeirão-de-árvore tem sabor e usos mais parecidos com o almeirão convencional (*Cichorium intybus* L. - Asteraceae), porém menos amargo. São consumidos na forma de hortaliça fresca em saladas ou refogados (Brasil, 2010a). As folhas são lanceoladas e possuem variações na cor, tipo de margem e nervuras, que podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. Às vezes, a cor roxa predomina na maior parte da folha nos almeirões de nervura arroxeadas. São cultivadas de Norte a Sul do país em hortas domésticas e podem ser encontradas em feiras e supermercados na região serrana do Rio de Janeiro e Sul de Minas Gerais (Kinupp e Lorenzi, 2014).

Essa espécie ainda é pouco estudada e apresenta divergências em sua denominação científica, sendo identificada como: *Cichorium intybus* L. (Brasil, 2010b; Pedrosa *et al.*, 2012), *Lactuca canadensis* L. (Kinupp e Lorenzi, 2014; Santos, Silva e Fonseca, 2016) e *Lactuca indica* L. (Monge *et al.*, 2016; Ranieri, 2018).

A identificação de espécies, gêneros e famílias por muito tempo foi e ainda é realizada por análise de caracteres morfológicos (Li *et al.*, 2016). A plasticidade fenotípica observada, em várias espécies de plantas, com variações foliares em forma e tamanho, resultou em identificações incorretas e denominações de sinônimos.

Entretanto é possível identificar essas diferenças pelo método de comparação anatômica, que busca a obtenção de dados que possam contribuir para o conhecimento da espécie e, conseqüentemente, para a segurança em sua utilização (Carpano, Castro e Spegazzini, 2009; Gomes *et al.*, 2009). A caracterização anatômica evita a identificação equivocada das espécies e até mesmo a falsificação de matéria-prima para a elaboração de fitoterápicos, por meio do controle de qualidade (Ming, 1994).

O almeirão-de-árvore exibe grande variabilidade morfológica e não existem registros sobre os seus caracteres anatômicos, tampouco para fins de identificação taxonômica. Dessa forma, objetivou-se caracterizar os estômatos de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore para identificar possíveis diferenças anatômicas que possam auxiliar na determinação da correta nomenclatura científica da espécie

2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido a campo, no setor de Olericultura - Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Sul do Estado de Minas Gerais, Brasil, latitude 21°14'18"S, longitude 45°00'07"W e 913 m de altitude. O clima da região, de acordo com a classificação climática de Köppen, é do tipo Cwb, com inverno seco e verão chuvoso (Alvares *et al.*, 2013).

O material genético utilizado foi adquirido junto à coleção ativa de germoplasma de hortaliças não convencionais da UFLA. As sementes utilizadas no plantio foram obtidas de plantas cultivadas, das quais foram coletados exemplares, para a montagem de exsicatas e depositadas (Anexo A) no Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia – DBI da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brasil), sob os números 30340, 30339, 30338, 30403 e no Herbário PAMG (Herbário da Empresa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil), sob os números 58657, 58658, 58659, 58656 para os almeirões Verde (VE), Roxo-liso-folha-estreita (RL3), Roxo-repicado (RR) e Roxo-liso-folha-larga (RL2), respectivamente, conforme Figura 3.1.

Amostras de tecido vegetal foram coletadas na região mediana de 10 folhas plenamente desenvolvidas, que apresentaram comprimento longitudinal médio de $43,5 \pm 3,8$ cm para as folhas do almeirão-de-árvore verde, $40,1 \pm 5,3$ cm para o almeirão-de-árvore roxo liso folha estreita, $39,3 \pm 1,3$ cm para o almeirão-de-árvore roxo repicado, $38,3 \pm 4,2$ cm para o almeirão-de-árvore roxo liso folha larga e média geral de $40,3 \pm 4,3$ cm, livres de defeitos de quaisquer natureza. Foram retirados dois fragmentos de cada lado da nervura mediana (Figura 3.2), preservados em solução fixadora Karnovsky (glutaraldeído 2,5%, paraformaldeído 2,0% em tampão de cacodilato de sódio 0,05M, CaCl₂ 0,001M, pH 7,2) e armazenadas a 4°C por 24 horas.

Figura 3.1 – Morfotipos de almeirão-de-árvore: A) verde; B) roxo liso folha estreita; C) roxo repicado; D) roxo liso folha larga.



Barra: 15 cm.

Fonte: Do autor (2021).

Figura 3.2 – Regiões de coleta de amostras de tecido foliar de almeirão-de-árvore dos morfotipos: A) verde; B) roxo liso folha estreita; C) roxo repicado; D) roxo liso folha larga.



Barra: 10 cm.

Fonte: Do autor (2021).

Após a fixação as amostras, foram lavadas em tampão cacodilato 0,05 M por três vezes de 10 minutos. Em seguida, foram desidratadas, em gradiente de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%), permanecendo por dez minutos em cada concentração e três vezes de dez minutos na concentração 100%.

As amostras foram tratadas em aparelho de ponto crítico Balzers CPD 030, em que a acetona foi substituída por CO₂. Os espécimes foram metalizados com ouro com o auxílio do aparelho *sputtering* Balzers SCD 050 e, então, observadas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss LEO EVO 40. Os procedimentos foram realizados segundo metodologia usual no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) do Departamento de Fitopatologia – DFP da UFLA.

O delineamento estatístico utilizado foi o Inteiramente casualizado (DIC), distribuídos no esquema de parcelas subdivididas, que foram compostas de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore e as subparcelas compostas de fragmentos de folhas. Foram utilizados seis fragmentos, para cada tipo morfológico de almeirão-de-árvore analisado em quatro regiões, sendo selecionadas três posições diferentes, em cada região, para a confecção das imagens.

Foram analisados os números de estômatos das epidermes adaxial e abaxial, diâmetro polar estomático e diâmetro equatorial estomático. As capturas foram realizadas nos aumentos de 500x, para a contagem do número de estômatos e determinação da densidade estomática (número de estômatos mm^{-2}), 3.000x, para as medições do diâmetro polar estomático (DPE), diâmetro equatorial estomático (DEE) e 500 e 1.000x para determinar os tipos de tricomas. A partir dos dados de diâmetro polar estomático e diâmetro equatorial estomático, foi calculada a funcionalidade de estômatos (FE) pela relação do DPE/DEE (Castro, Pereira e Paiva, 2009).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade pelo *software* R Core Team (2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As folhas dos morfotipos de almeirão-de-árvore apresentaram diferenças na densidade de estômatos e, sobretudo, nos caracteres biométricos. Não houve efeito da interação entre os morfotipos e as faces da epiderme foliar para as variáveis analisadas. O almeirão-de-árvore verde apresentou maior número de estômatos mm^{-2} , com diferenças próximas a 100 estômatos mm^{-2} para o almeirão-de-árvore roxo liso folha larga, que apresentou estômatos em menor número entre os demais morfotipos (Tabela 31). O almeirão-de-árvore roxo repicado e o roxo liso folha estreita não diferiram estatisticamente quanto ao número de estômatos.

Tabela 3.1 – Densidade estomática (Nº de estômatos mm^{-2}) e medidas do diâmetro polar estomático (DPE) e diâmetro equatorial estomático (DEE) da epiderme foliar de quatro morfotipos de almeirão-de-árvore.

Almeirão-de-árvore	Nº de estômatos mm^{-2}	DPE (μm)	DEE (μm)	Funcionalidade
Verde	393 (19,06) a	19,67 b	23,08 a	0,86 a
Roxo liso folha estreita	328 (17,06) ab	8,08 c	10,42 b	0,80 a
Roxo repicado	369 (17,83) ab	21,88 a	23,13 a	0,95 a
Roxo liso folha larga	295 (16,08) b	8,83 c	10,02 b	0,88 a
CV (%)	14,23	7,87	9,39	18,74

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

Os almeirões-de-árvore apresentaram 3,7 vezes mais estômatos na epiderme abaxial comparada à epiderme adaxial (Tabela 3.2).

Os estômatos estão relacionados à capacidade fotossintética da planta, ou seja, quanto maior o número de estômatos, menor a resistência à difusão de gases e conseqüente maior taxa fotossintética ou absorção de CO_2 (Abrams e Mostoller, 1995; Evans, 1999; Castro *et al.*,

2006) O número de estômatos comparado a outras espécies do gênero *Lactuca* é bem superior. Em *Lactuca sativa* ‘alface crocanta’ a condição de cultivo em vasos promoveu maiores alterações na densidade estomática em vasos comparada ao cultivo hidropônico, de 32,81 estômatos mm⁻² para 45,83 estômatos mm² na face adaxial e 64,75 estômatos mm² na face abaxial (De Souza *et al.*, 2019). Isso mostra a capacidade fotossintética dos morfotipos de almeirão-de-árvore, que resulta em um rápido crescimento e expansão das folhas.

Em relação ao tamanho dos estômatos, os almeirões-de-árvore roxo liso folha larga e roxo liso folha estreita apresentaram menores diâmetros polares estomáticos (DPE) e diâmetros equatoriais estomáticos (DEE), de acordo com a Tabela 3.1. Apesar da pouca diferença entre o DPE do almeirão-de-árvore roxo repicado para o tipo verde (<2,3 µm), apresentaram os maiores DPE e DEE.

Foi observada uma pequena diferença entre o tamanho dos estômatos da epiderme adaxial e abaxial (Tabela 3.2).

Tabela 3.2 – Densidade estomática (Nº de estômatos mm⁻²) e medidas do diâmetro polar estomático (DPE) e diâmetro equatorial estomático (DEE) nas faces abaxial (AB) e adaxial (AD) da epiderme foliar de almeirão-de-árvore.

Face	Nº de estômatos mm ⁻²	DPE (µm)	DEE (µm)	Funcionalidade
AB	545 (23,25) a	14,06 a	15,72 b	0,89 a
AD	147 (11,76) b	15,17 a	17,60 a	0,85 a
CV (%)	15,23	19,87	7,84	11,89

As médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Do autor (2021).

Não foi verificada diferença estatística entre a funcionalidade de estômatos, para os quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, que apresentaram média de 0,87.

As condições do ambiente como forma de adaptação das plantas, podem alterar a quantidade, distribuição, tamanho, forma e mobilidade dos estômatos, podendo variar de indivíduo para indivíduo (Larcher, 2000). A alteração na densidade de estômatos afeta diretamente a condutância estomática. Além disso, o tamanho, a posição e o controle de abertura dos estômatos também podem afetar a absorção de CO₂ (Boeger e Wisniewski, 2003).

Em ambientes com menor disponibilidade hídrica, ocorre uma diminuição no tamanho dos estômatos, de forma que haja uma menor perda de água da planta por transpiração, com o aumento simultâneo de sua densidade, contribuindo para o equilíbrio das trocas gasosas. O aumento na densidade estomática pode ser relacionado com uma maior capacidade das

plantas em captar o CO₂ da atmosfera e, dessa forma, aumentar a eficiência fotossintética por permitir que mais desse gás seja fixado (Castro, Pereira e Paiva, 2009).

As diferenças entre a morfologia das células epidérmicas e estomáticas podem ser observadas na Figura 3.3 e Figura 3.4.

Foi verificada a presença de cera epicuticular, nos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, com maior ocorrência na face abaxial. Pela sua natureza lipídica, a cutícula mais espessada pode evitar a perda de água excessiva por transpiração, sendo, portanto um importante mecanismo de tolerância ao déficit hídrico (Castro, Pereira e Paiva, 2009), além da proteção contra a herbivoria e fatores de exposição.

Pode-se afirmar, portanto que as folhas dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore são hipoanfiestomáticas, ou seja, contêm estômatos, em ambas as epidermes, com maior número na face abaxial e com funcionalidades semelhantes.

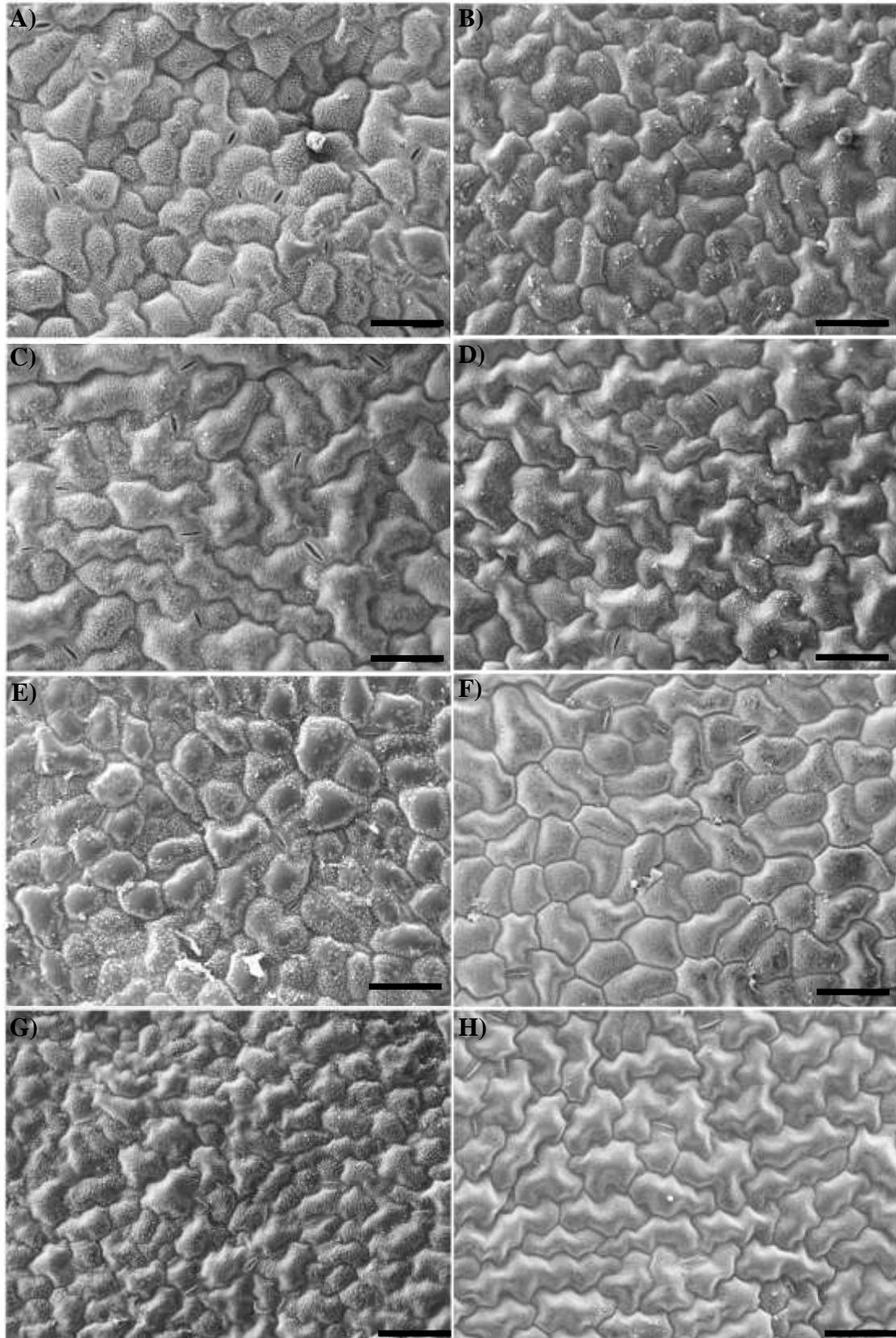
A característica anfiestomática está relacionada com a grande disponibilidade de luz e condições de déficit hídrico, principalmente em plantas que apresentam crescimento rápido, como as herbáceas (Jordan, Carpenter e Brodribb, 2014; Muir, 2015).

As folhas anfiestomáticas são, assim, mais eficientes, pois permitem maiores trocas gasosas comparadas a folhas hipoestomáticas (Parkhurst, 1978; Mott *et al.*, 1982) mais comuns em plantas encontradas à sombra (Mott e Michaelson, 1991).

A disposição dos estômatos, nas superfícies das folhas, é um bom caráter taxonômico, verificado pela sua constância. Essa característica é pouco influenciada pelo ambiente, resultante de uma combinação dos fatores genéticos e ambientais (Kim, 1987).

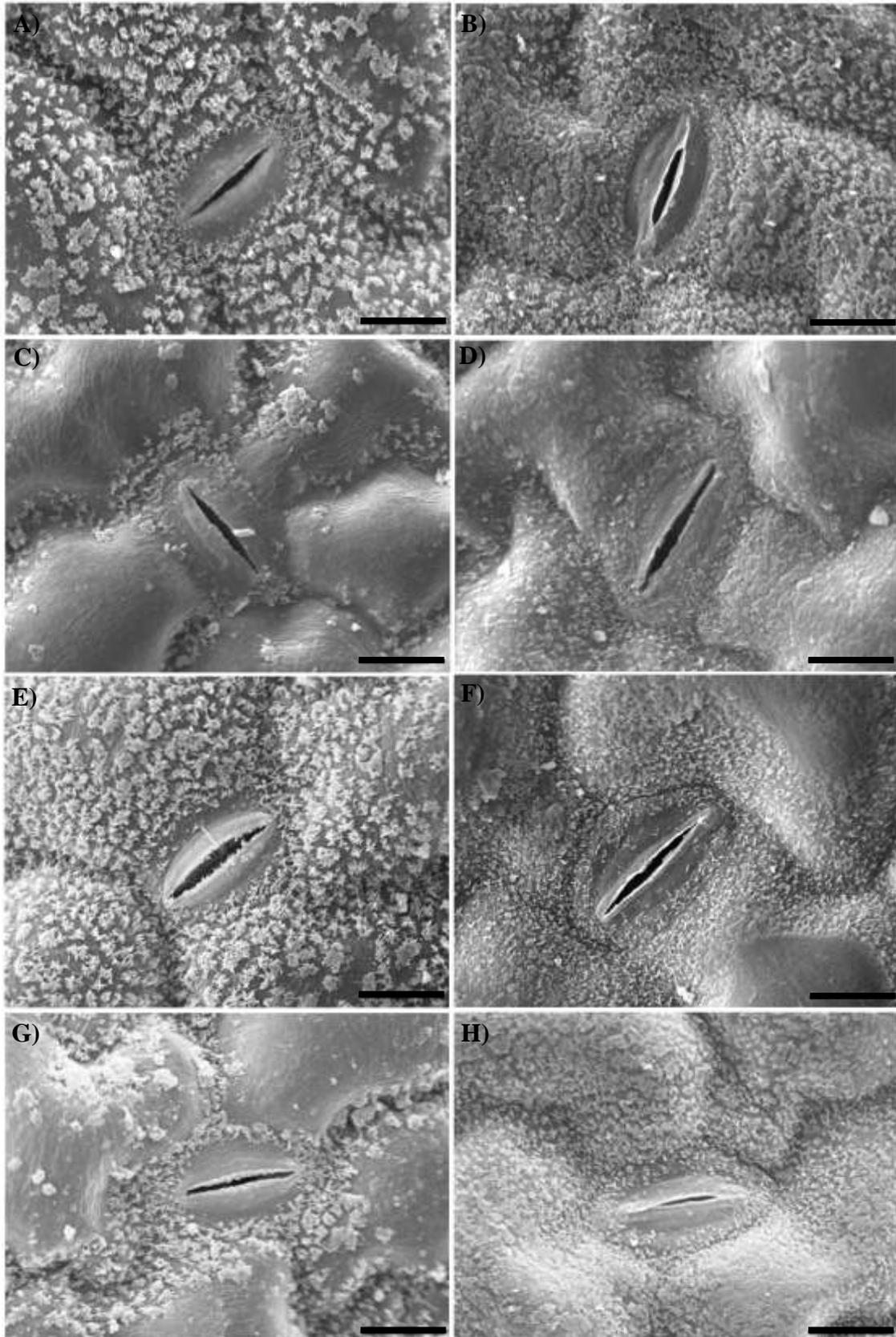
Os estômatos dos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore são anomocíticos, ou seja, não possuem células subsidiárias. Estômatos do tipo anomocítico são comuns, para a família Asteraceae (Metcalf e Chalk, 1950), verificada em várias espécies como *Bidens pilosa* (Santos e Cury, 2011), *Vernonia condensata* (Lolis e Milaneze-Gutierrez, 2003) e *Baccharis trimera* (Mintegiuga *et al.*, 2018).

Figura 3.3 – Eletro-micrografia de varredura evidenciando estômatos na face abaxial - A, C, E, G e adaxial – B, D, F, H dos almeirões-de-árvore: verde A-B, roxo liso folha estreita C-D, roxo repicado E-F, roxo liso folha larga G-H.



Barra: 50 μ m. Fonte: Do autor (2021).

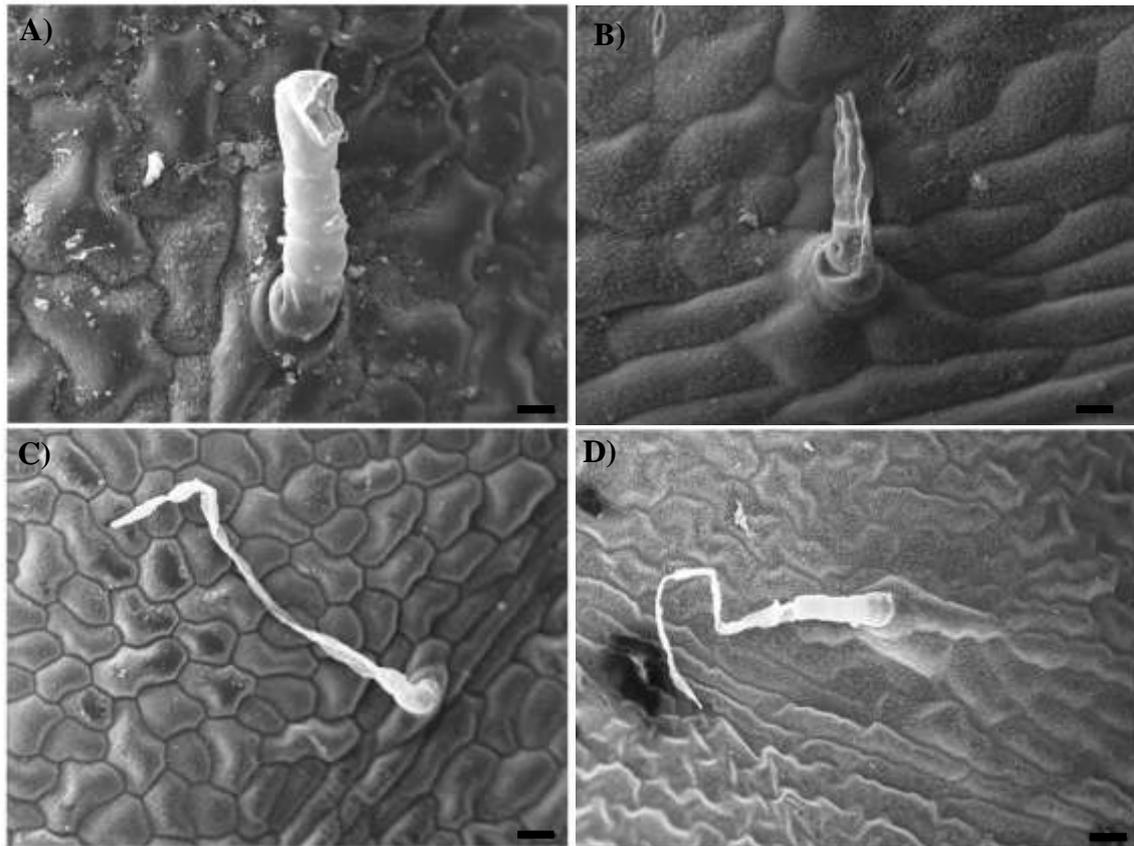
Figura 3.4 – Eletro-micrografia de varredura evidenciando estômatos na face abaxial - A, C, E, G e adaxial – B, D, F, H dos almeirões-de-árvore: verde A-B, roxo liso folha estreita C-D, roxo repicado E-F, roxo liso folha larga G-H.



Barra: 10 μ m. Fonte: Do autor (2021).

Foi verificada a presença de tricomas tectores pluricelulares filiformes, nos quatro morfotipos de almeirão-de-árvore, localizados nas proximidades da nervura central ou na própria nervura da epiderme adaxial, conforme pode ser observado na Figura 3.5.

Figura 3.5 – Eletro-micrografia de varredura mostrando tricomas na face adaxial da lâmina foliar dos almeirões-de-árvore: A) verde (10 μm), B) roxo liso folha estreita (10 μm), C) roxo repicado (20 μm), D) roxo liso folha larga.



Barra: 20 μm .

Fonte: Do autor (2021).

Liesenfeld *et al.* (2019) propuseram que todas as espécies da família Asteraceae apresentaram tricomas, os quais podem ser tectores ou glandulares e suas derivações e ocorrem, simultaneamente, em ambas as faces da lâmina foliar. Essa microcaracterística também é importante para a sistemática da família, de acordo com Robinson (2009).

A ampla distribuição dessas espécies, nos mais distintos habitats, é atribuída à diversidade de estruturas secretoras, como os tricomas, à facilidade de dispersão e à plasticidade fenotípica (Funk *et al.*, 2005) que, na maioria dos casos, manifesta-se na estrutura interna dos órgãos vegetativos (Anderson, 1982).

A partir dos caracteres morfoanatômicos avaliados, pode-se indicar uma semelhança entre os almeirões-de-árvore verde e roxo repicado que apresentam folhas com margem lobada e entre o roxo liso de folha estreita e o roxo liso de folha larga de margem indivisa. Entretanto as outras características avaliadas foram semelhantes entre os morfotipos de almeirão-de-árvore.

4 CONCLUSÃO

Os morfotipos de almeirão-de-árvore apresentaram características que permitem diferenciá-las de outras espécies. Além disso, a densidade estomática e o tamanho dos estômatos são característicos para cada formato de folha.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, M. D.; MOSTOLLER, S. A. Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. **Tree physiology**, v. 15, n. 6, p. 361-370, 1995. ISSN 1758-4469.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. ISSN 09412948 (ISSN).
- ANDERSON, W. R. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. **Brittonia**, v. 34, n. 2, p. 268-270, 1982/04/01 1982. ISSN 1938-436X.
- BOEGER, M. R. T.; WISNIEWSKI, C. Comparação da morfologia foliar de espécies arbóreas de três estádios sucessionais distintos de floresta ombrófila densa (Floresta Atlântica) no Sul do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 26, n. 1, p. 61-72, 2003. ISSN 0100-8404.
- BRASIL. **Hortaliças não-convencionais:(tradicionais)**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 52 p. 2010a.
- BRASIL. **Manual de hortaliças não-convencionais**: Mapa/ACS Brasília: 92 p. 2010b.
- CARPANO, S. M.; CASTRO, M. T.; SPEGAZZINI, E. D. Caracterización morfoanatómica comparativa entre Aloe vera (L.) Burm. F., Aloe arborescens Mill., Aloe saponaria Haw. y Aloe ciliaris Haw.(Aloeaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 269-275, 2009. ISSN 0102-695X.
- CASTRO, E. M. D.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, R. Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos. **Lavras: UFLA**, v. 9, n. 4, 2009.
- CASTRO, L. et al. Aspectos fisioanatômicos de plantas jovens de Cupania vernalis Camb. submetidas a diferentes níveis de sombreamento. **Revista Árvore**, v. 30, 02/01 2006.
- DE SOUZA, P. F. et al. Diferenças fisiológicas em alface ‘crocantela’ cultivada em vasos e em sistema hidropônico. **Horticultura Brasileira**, v. 37, n. 01, 2019.
- EVANS, J. R. Leaf anatomy enables more equal access to light and CO₂ between chloroplasts. **New Phytologist**, v. 143, n. 1, p. 93-104, 1999. ISSN 0028-646X.
- FUNK, V. A. et al. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. **Biol. Skr.** **55: 343-373**, 2005.
- GOMES, S. M. et al. Anatomia foliar de espécies de Myrtaceae: contribuições à taxonomia e filogenia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 1, p. 224-238, 2009. ISSN 0102-3306.
- JORDAN, G. J.; CARPENTER, R. J.; BRODRIBB, T. J. Using fossil leaves as evidence for open vegetation. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 395, p. 168-175, 2014. ISSN 0031-0182.

KIM, I. Comparative anatomy of some parents and hybrids of the Hawaiian Madiinae (Asteraceae). **American journal of botany**, v. 74, n. 8, p. 1224-1238, 1987. ISSN 0002-9122.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. J. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014. ISBN 8586714461.

LARCHER, W. Ecofisiologia vegetal (Tradução: Carlos H. Pedro), Ed. **Rima, São Paulo, 531p**, p. 97-106, 2000.

LI, X. et al. Transformation of *Cichorium intybus* with the HvBADH1 gene enhanced the salinity tolerance of the transformants. **South African Journal of Botany**, v. 102, p. 110-119, 2016. ISSN 02546299 (ISSN).

LIESENFELD, V. et al. Leaf morphology and anatomy of Asteraceae of the Pampas biome (sand-fields). **Flora**, v. 258, p. 151418, 2019/09/01/ 2019. ISSN 0367-2530.

LOLIS, M. I. G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 68-71, 2003. ISSN 0102-695X.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2. **Anatomy of the dicotyledons, Vols. 1 & 2**, 1950.

MING, L. Estudo e pesquisa de plantas medicinais na agronomia. **Horticultura Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 3-9, 1994.

MINTEGUIAGA, M. et al. Morphoanatomy and essential oil analysis of *Baccharis trimera* (Less.) DC. (Asteraceae) from Uruguay. **Industrial Crops and Products**, v. 112, p. 488-498, 2018. ISSN 09266690 (ISSN).

MONGE, M. et al. Two new records of *Lactuca L.*(Cichorieae, Asteraceae) in South America. **Revista Brasileira de Biociencias**, v. 14, n. 2, 2016. ISSN 1980-4849.

MOTT, K. A.; MICHAELSON, O. Amphistomy as an adaptation to high light intensity in *Ambrosia cordifolia* (Compositae). **American Journal of Botany**, v. 78, n. 1, p. 76-79, 1991. ISSN 0002-9122.

MUIR, C. D. Making pore choices: repeated regime shifts in stomatal ratio. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 282, n. 1813, p. 20151498, 2015. ISSN 0962-8452.

PEDROSA, M. et al. Hortaliças não convencionais. **Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)-Centro-oeste**, 2012.

RANIERI, G. R. **Guia prático de Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) para escolas**. São Paulo: Instituto Kairós 2018.

ROBINSON, H. An introduction to micro-characters of Compositae. **Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae. Vienna (Austria): IAPT**, p. 89-100, 2009.

SANTOS, I. C.; SILVA, A. F.; FONSECA, M. C. M. Almeirão-de-árvore, dente-de-leão, peixinho e serralha: plantas exóticas comestíveis. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 295, p. 67-74, 2016. ISSN 0100-3364.

SANTOS, J.; CURY, J. Picão-preto: uma planta daninha especial em solos tropicais. **Planta daninha**, v. 29, n. SPE, p. 1159-1172, 2011. ISSN 0100-8358.

ARTIGO 4

CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS DE MORFOTIPOS DE ALMEIRÃO-DE-ÁRVORE (*Lactuca aff. canadensis* L. - Asteraceae)

RESUMO

Lactuca aff. canadensis é uma alface selvagem da família Asteraceae, nativa da América do Norte. A espécie foi introduzida no Brasil, onde é popularmente conhecida como almeirão-de-árvore e considerada uma hortaliça folhosa não convencional. Poucas são as informações encontradas na literatura sobre as propriedades nutricionais, sobretudo, dos diferentes morfotipos existentes. Dessa forma, objetivou-se com este trabalho analisar a qualidade nutricional de três morfotipos de alfaces selvagens (verde lobada, roxo lisa e roxo lobada) em diferentes épocas de colheita. O experimento foi conduzido, em cultivo protegido, em vasos, utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado, no esquema fatorial 3 x 3, (tipos de alface selvagem x épocas de colheita), com três repetições. A primeira colheita foi realizada aos 63 dias após o transplantio e cada colheita espaçada de 35 dias. Foram avaliadas a produção, cor da folha, textura (firmeza do pecíolo), atividade antioxidante (DPPH), compostos fenólicos, vitamina C, antocianinas monoméricas, acidez titulável, sólidos solúveis, pH, composição centesimal, valor calórico, macro e micronutrientes. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey. As variáveis foram correlacionadas pela Análise de Componentes Principais pelo *software* R. As alfaces selvagens mostraram-se plantas de elevado conteúdo nutricional, com destaque para o teor de compostos fenólicos, vitamina C, que, em geral, é baixo em hortaliças folhosas comumente utilizadas, além de outros constituintes, como proteínas, macro e micronutrientes, em especial, para o teor de Ca, Mg, K e Mn. Entretanto, faz-se necessário avançar nos estudos quanto à biodisponibilidade e outras propriedades.

Palavras-chave: Almeirão-roxo. Hortaliças Não Convencionais. Compostos Bioativos. Pós-Colheita.

ABSTRACT

Lactuca aff. *canadensis* is a wild lettuce of Asteraceae family native of North America. The species was introduced in Brazil, where it is popularly known as almeirão-de-árvore being considered an non- conventional leafy vegetable. Few are the information found in the literature on nutritional properties, especially of the different morphological types existing. Thus, the objective of this work was to analyze the nutritional quality and chemical composition of the leaves of three types of almeirão-de-árvore (lobed green, smooth purple and lobed purple) at different harvesting times. The experiment was conducted in a potted culture using a completely randomized experimental design in the 3 x 3 factorial scheme (three types of almeirão-de-árvore x harvesting times), with three replications. The first harvest was performed at 63 days after transplanting and each harvest was spaced 35 days. The production, leaf color, texture (petiole firmness), antioxidant activity (DPPH), phenolic compounds, vitamin C, monomeric anthocyanins, titratable acidity, soluble solids, pH, centesimal composition, caloric value, macro and micronutrients were evaluated. The data were submitted to analysis of variance and the means compared by the Tukey test. The variables were correlated by Principal Component Analysis by the R software. The wild lettuces showed high nutritional content, with emphasis on the content of phenolic compounds, vitamin C, which is generally low in commonly used leafy vegetables, in addition to other constituents such as proteins, macro and micronutrients, in particular for the Ca, Mg, K and Mn content. However, it is necessary to advance the studies on bioavailability and other properties.

Keywords: purple-almeirão, unconventional vegetables, bioactive compounds, post-harvest

1 INTRODUÇÃO

Lactuca aff. *canadensis* L. é uma alface selvagem da família Asteraceae, nativa da América do Norte. A espécie foi introduzida no Brasil (Monge *et al.*, 2016), onde é considerada uma hortaliça folhosa não convencional e conhecida popularmente como almeirão-de-árvore, almeirão-roxo, radite-cote, orelha-de-coelho (Kinupp e Lorenzi, 2014), almeirão-selvagem ou almeirão-do-mato.

Existem tipos que se diferem quanto aos caracteres morfológicos. As folhas são lanceoladas e possuem variações em sua cor, tipo de margem e nervuras, que podem ser verde-claras repicadas, ou lisas e repicadas com nervuras arroxeadas. Às vezes, a cor roxa predomina na maior parte da folha nos almeirões de nervura arroxeadas. São cultivadas de Norte a Sul do país, em hortas domésticas e podem ser encontradas em feiras e supermercados na região serrana do Rio de Janeiro e Sul de Minas Gerais (Kinupp e Lorenzi, 2014).

O almeirão-de-árvore tem sabor e usos mais parecidos com o almeirão convencional (*Cichorium intybus* L.), porém menos amargo. São consumidos na forma de hortaliça fresca em saladas ou refogados (Brasil, 2010), mas pouco se conhece sobre sua composição química para recomendação de usos na alimentação.

O conceito de qualidade de hortaliças envolve vários atributos, como a aparência visual (frescor, cor, defeitos e deterioração), textura (firmeza, resistência e integridade do tecido), sabor e aroma, valor nutricional (carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas, minerais e água) e segurança do alimento (Kyriacou e Rouphael, 2018).

Estudos preliminares, avaliando a qualidade nutricional de hortaliças não convencionais, destacaram o almeirão-de-árvore com valores consideráveis de proteínas e de minerais como Ca, Zn, B e Mn, entre as espécies avaliadas por Silva *et al.* (2018). Entretanto poucas são as informações encontradas na literatura sobre as propriedades nutricionais entre os diferentes morfotipos existentes.

Dessa forma, objetivou-se com este trabalho analisar características nutricionais de três morfotipos de almeirão-de-árvore (verde, roxo liso e roxo repicado) em diferentes épocas de colheita.

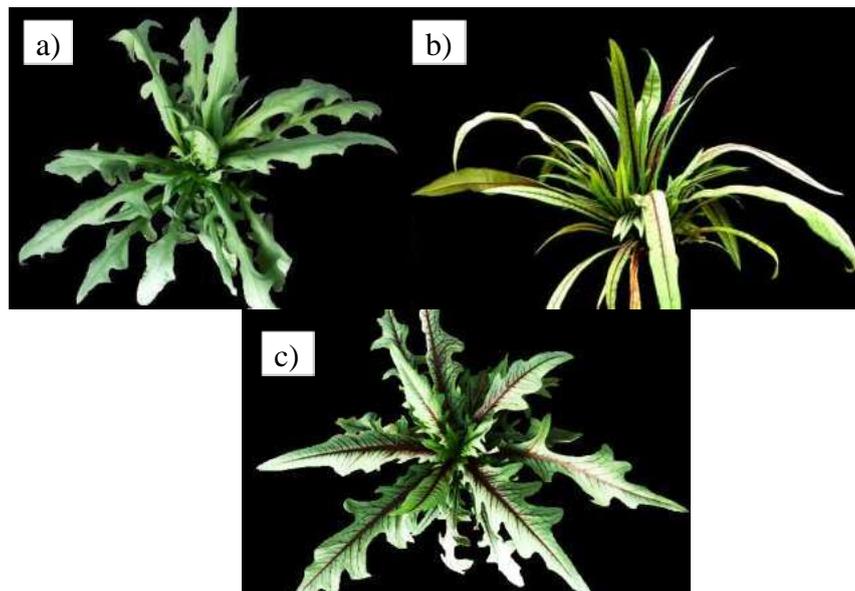
2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local e condições experimentais

O experimento foi realizado, em casa de vegetação, no setor de Olericultura do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), no município de Lavras, Sul do Estado de Minas Gerais, latitude 21°14'S, longitude 45°00'W e 913 m de altitude, no período de Fevereiro a Agosto de 2017. O clima da região, de acordo com a classificação climática de Köppen, é do tipo Cwb, com inverno seco e verão chuvoso (Alvares *et al.*, 2013).

O material genético utilizado foi adquirido junto à coleção de germoplasma de hortaliças não convencionais da UFLA. As sementes foram obtidas de plantas cultivadas, em que foram coletados exemplares para a montagem de exsicatas depositadas (Anexo A) no Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia – DBI da Universidade Federal de Lavras - UFLA, Lavras, Minas Gerais, Brasil) sob os números 30340, 30339, 30338 e no Herbário PAMG (Herbário da Empresa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil) sob os números 58657, 58658, 58659, para os almeirões-de-árvore verde (Figura 4.1a), roxo liso (Figura 4.1b) e roxo repicado (Figura 4.1c), respectivamente.

Figura 4.1 – Morfotipos de almeirão-de-árvore analisados e suas denominações: a) almeirão verde; b) almeirão roxo liso; c) almeirão roxo repicado.



Fonte: Do autor (2021).

A semeadura, para a produção de mudas, foi realizada em bandejas plásticas de polietileno. Na fase de desenvolvimento das mudas, foram realizadas três adubações foliares, com o fertilizante comercial Biofert® [188,96 g L⁻¹] (NPK 6-4-4; 0,5% Mg; 1% S; 0,02% B; 0,3% Cl; 0,02% Co; 0,05% Cu; 0,1% Fe; 0,05% Mn; 0,01% Mo; 0,1% Zn), a cada sete dias após a emergência. A irrigação foi via micro aspersão suspensa e invertida.

O transplântio foi realizado, após 35 dias da semeadura, para vasos de polietileno com capacidade de 5L, onde foi conduzida uma planta por vaso. Nessa fase, as plantas apresentavam-se com três a quatro folhas bem desenvolvidas.

O solo utilizado nos vasos foi classificado como Latossolo Vermelho Distroférico e apresenta as seguintes características na camada arável de 0 a 20 cm: pH (em H₂O) = 6,3; Al trocável = 0,02 cmolc dm⁻³; Ca²⁺ = 1,32 cmolc dm⁻³; Mg²⁺ = 0,18 cmolc dm⁻³; P-Mehlich = 11,31 mg dm⁻³; K⁺ = 24,26 mg dm⁻³; Matéria orgânica = 0,29 dag Kg⁻¹; V = 60,32% ; Soma de bases = 1,56 cmolc dm⁻³; m = 1,27%; CTC = 1,58 cmolc dm⁻³; Textura do solo = Argilosa.

A adubação de plantio seguiu a recomendação de Santos, Silva e Fonseca (2016), a partir da análise de solo, para a produção do substrato. Foram utilizados 4,5 L de solo e 0,7 L de composto orgânico por vaso. Foram realizadas adubações nitrogenadas com sulfato de amônio [35,2 g L⁻¹], aplicado 100 mL da solução por vaso, a cada 21 dias anteriores às colheitas. A irrigação foi via gotejo, com distribuição de cinco linhas espaçadas de 50 cm e foi utilizado um gotejador por planta, espaçado de 30 cm.

2.2 Delineamento experimental

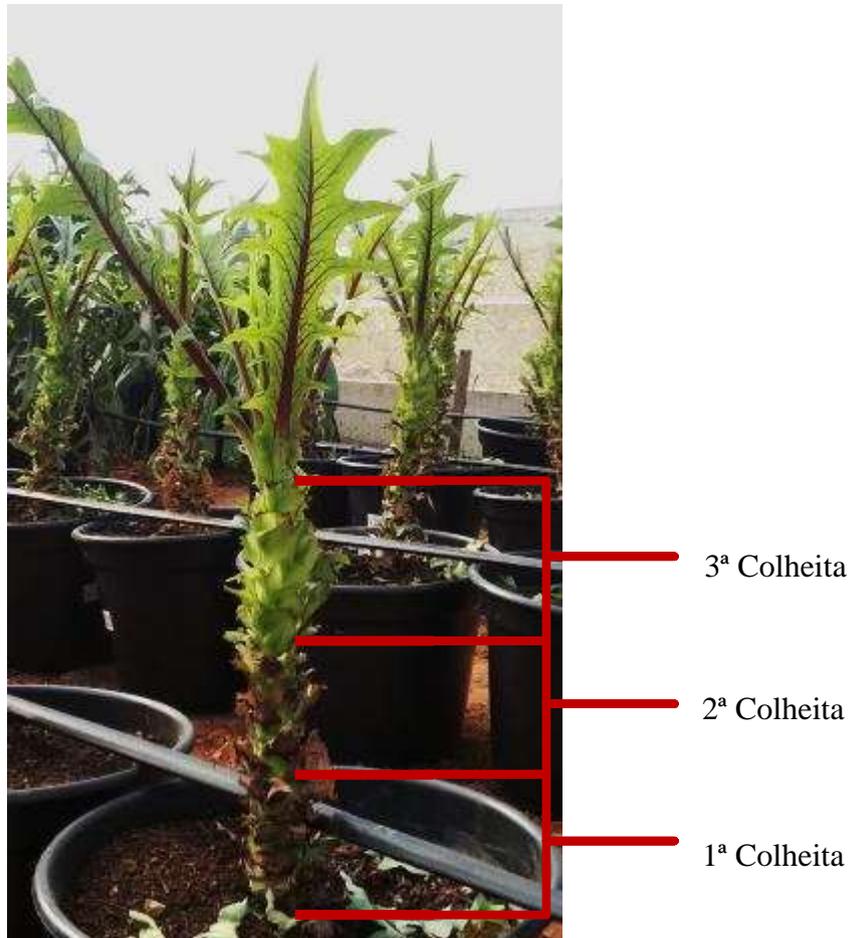
O experimento foi conduzido, em delineamento inteiramente casualizado (DIC), no esquema fatorial 3 x 3 (três morfotipos de almeirão-de-árvore e três épocas de colheita). A primeira colheita foi realizada aos 63 dias após o transplântio (Figura 4.2a) e as colheitas subsequentes (Figura 4.2b e Figura 4.2c) espaçadas de 35 dias. As regiões em que as folhas foram colhidas não se recuperaram, caracterizadas na Figura 4.3: primeira colheita como folhas do terço inferior, segunda colheita no terço médio e terceira colheita no terço superior. Foram utilizadas três repetições compostas de dez plantas, totalizando 30 plantas por morfotipo de almeirão-de-árvore.

Figura 4.2 – Plantas de almeirão-de-árvore nas diferentes épocas de colheita: a) 1ª colheita; b) 2ª colheita; c) 3ª colheita.



Fonte: Do autor (2021).

Figura 4.3 – Regiões em que foram realizadas as colheitas, conforme o desenvolvimento da planta.



Fonte: Do autor (2021).

2.3 Variáveis analisadas

2.3.1 Amostragem e quantificação da produção

Na colheita, foram amostradas quatro folhas por planta ou 40 folhas por repetição para a análise das características nutricionais, que totalizaram 300 g. Em seguida, foram colhidas todas as folhas maduras, para a quantificação da produção total, somadas às utilizadas para a análise das características nutricionais. Foram mantidas apenas quatro folhas recém-formadas, a fim de garantir uma boa recuperação da planta para as colheitas subsequentes, conforme recomendação de Kinupp e Lorenzi (2014).

2.3.2 Análises físico-químicas

Para as avaliações físico-químicas, as amostras foram conduzidas ao Laboratório de Pós-colheita de Frutas e Hortaliças e Química de Alimentos no Departamento de Ciência dos Alimentos, da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. As seguintes avaliações foram realizadas: cor da folha, textura (firmeza do pecíolo), atividade antioxidante (DPPH), compostos fenólicos totais, vitamina C, antocianinas monoméricas, acidez titulável (AT), pH, sólidos solúveis (SS), SS/AT (*ratio*), composição centesimal (umidade, proteínas, lipídios, fibras, carboidratos, cinzas, valor calórico), macro e micronutrientes. Foram produzidos extratos aquoso, para a determinação do pH, sólidos solúveis e acidez titulável (fator diluição 1:10) e metanólico, para a determinação da atividade antioxidante por meio das metodologias de fenólicos totais e DPPH. As análises foram realizadas em triplicata.

2.3.2.1 Clorofila e cor

O teor de clorofila foi determinado pelo índice relativo de clorofila (IRC) com o auxílio do clorofilômetro, modelo SPAD-502, nas folhas amostradas.

A coloração foi determinada, utilizando o colorímetro Konica Minolta CR-400, calibrado de acordo com o sistema CIE com medição de L*, a* e b* (iluminante D65). Os disparos foram direcionados à porção mediana das folhas para a caracterização da cor do limbo foliar e a 5 cm do ponto de inserção das folhas no caule, para a caracterização da cor do pecíolo.

As leituras dos parâmetros permitiram calcular o ângulo hue (°h) que corresponde à tonalidade ou matiz e identifica a cor num ângulo de 360° e o Croma (C*) ou saturação ou intensidade da cor, conforme McGuire (1992). Na análise de cor e firmeza foram utilizadas dez folhas por repetição.

2.3.2.2 Firmeza

A firmeza foi medida por teste de punção, com o auxílio do penetrômetro Magness-Taylor, com sonda de 3 milímetros de diâmetro. As avaliações foram realizadas no mesmo ponto da análise da cor do pecíolo e os resultados foram expressos em newtons (N).

2.3.2.3 Acidez e sólidos solúveis

O pH foi determinado, utilizando-se um pHmetro digital (Schott Handylab), segundo técnica do Instituto Adolfo Lutz (2008). A determinação da acidez titulável foi realizada por titulação com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,01N, usando como indicador a fenolftaleína, de acordo com Horwitz (2019). Os resultados foram expressos em porcentagem (%) de ácido cítrico presente em almeirão-de-árvore.

O teor de sólidos solúveis foi determinado, utilizando refratômetro digital, conforme método do Instituto Adolfo Lutz (2008), os resultados foram expressos em porcentagem (%). A partir dos resultados obtidos da acidez titulável e sólidos solúveis, foi calculada a relação SS/AT, variável relacionada ao sabor, conhecida como *ratio*.

2.3.3 Antioxidantes

2.3.3.1 Vitamina C

A vitamina C total foi determinada pelo método colorimétrico, conforme Strohercker (1967), empregando-se o 2,4-dinitrofenilhidrazina (2,4 – DNPH) e usando-se o ácido ascórbico como padrão. A quantificação foi realizada a 520 nm em espectrofotômetro Beckman 640B, com sistema computadorizado, e os resultados foram expressos em mg de ácido ascórbico 100g⁻¹ de folhas de almeirão-de-árvore.

2.3.3.2 Atividade antioxidante (DPPH)

A determinação da atividade antioxidante foi realizada pelo método de sequestro do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) por antioxidantes, segundo Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995), adaptado por Rufino *et al.* (2007), a um comprimento de onda de 517 nm, em espectrofotômetro UV-visível. Os resultados foram expressos em porcentagem de sequestro de radicais livres (%SRL).

2.3.3.3 Compostos fenólicos totais

Os fenólicos totais foram determinados pelo método Os fenólicos totais foram determinados pelo método Folin-Ciocalteau (Waterhouse, 2002). A cor azul produzida pela

redução do reagente Folin-Ciocalteu pelos fenólicos foi medida espectrofotometricamente, na faixa de absorção de 750 nm. O cálculo do teor de fenólicos foi realizado a partir da equação da reta obtida da curva padrão do ácido gálico. Os resultados foram expressos em mg de equivalente de ácido gálico (EAG) 100g^{-1} de folhas de almeirão-de-árvore.

2.3.3.4 Antocianinas monoméricas

O conteúdo total de antocianinas foi estimado, espectrofotometricamente, segundo Lees e Francis (1972), adaptado por Barcia *et al.* (2012). A leitura foi efetuada em espectrofotômetro, no comprimento de onda de 535nm. A quantificação de antocianinas totais baseou-se no coeficiente de extinção molar da cianidina-3-glicosídeo, a qual representa a principal antocianina presente em hortaliças. Os resultados foram expressos em mg de cianidina-3-glicosídeo 100g^{-1} de almeirão-de-árvore.

2.3.4 Composição centesimal

A composição centesimal foi analisada de acordo com metodologia descrita por Horwitz (2019) e os valores expressos em base seca. O teor de umidade (U) foi determinado pelo método gravimétrico, após secagem em estufa de circulação forçada de ar a $65\pm 3^{\circ}\text{C}$, por 72 h. O extrato etéreo (EE) pelo método de extração contínua em aparelho de ‘Soxhlet’, utilizando-se, como solvente, o éter etílico. O resíduo mineral fixo, cinzas (C) foi determinado pela calcinação da amostra em mufla a 550°C até a obtenção de cinzas claras. O valor de proteína bruta (PB) foi obtido pelo método ‘Kjeldahl’, utilizado 6,25 como fator de conversão. A fração fibra (FB) foi determinada, segundo o método gravimétrico, após digestão em meio ácido, de acordo com Silva e Queiroz (2002) e a fração glicídica (carboidratos) foi obtida por diferença de 100 % da soma dos demais componentes, segundo a Eq.1.

Eq. 1 – Cálculo do conteúdo de carboidratos, representados pela fração glicídica (FG) e expresso em porcentagem:

$$\text{FG} = 100 - (\text{U} + \text{EE} + \text{PB} + \text{FB} + \text{C})$$

Calculou-se o valor calórico, expresso em kcal, com base no teor de proteínas, carboidratos e lipídios das amostras, a partir da Eq. (2), de acordo com o sugerido por Osborne e Voogt (1978).

Eq. 2 – Cálculo do valor calórico ou conteúdo energético (E), expresso em kcal:

$$E = (PB \times 4,0) + (FG \times 4,0) + (EE \times 9,0)$$

Em que, FG = % fração glicídica; U = % umidade; PB = % proteína bruta; FB = % fibra bruta; C = % cinzas, considerando a matéria integral.

2.3.5 Minerais

Para a determinação dos macro e micronutrientes, foram utilizadas as metodologias descritas por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997), a partir das amostras secas. Nitrogênio (N) - o método 'Semimicro-Kjeldahl'; Fósforo (P) - o método colorimétrico, utilizando-se do metavanadato de amônio; Potássio (K), Cobre (Cu), Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cálcio (Ca) e Magnésio (Mg) – espectrometria de absorção atômica após digestão nítrico-perclórica; Enxofre (S) – turbidimetria do sulfato de bário, medida por espectrofotometria.

2.4 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, com o auxílio do pacote Expdes.pt (Ferreira *et al.*, 2013). As variáveis foram correlacionadas pela Análise de Componentes Principais (PCA), com o auxílio do pacote MVar.pt, v.2.0.5 (Ossani, Cirillo e Ossani, 2019), pelo *software* R Core Team (2018).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância para as variáveis: produção, fenólicos totais, vitamina C, firmeza do pecíolo, antocianinas, proteínas, cinzas, carboidratos, valor calórico e os minerais N e P, foi observada interação entre os fatores estudados, sendo necessário realizar o desdobramento. Para o teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, SS/AT, atividade

antioxidante, clorofila, umidade, fibras, carboidratos e para os minerais K, Ca, Mg, S, Cu, Fe, Mn e Zn, não houve efeito da interação entre os tipos de almeirão-de-árvore.

A maior produção de almeirão-de-árvore foi obtida por ocasião da primeira colheita (Tabela 4.1), não havendo diferença significativa entre os diferentes tipos de almeirão-de-árvore, em média, 225,11 g planta⁻¹. A partir da segunda colheita, observou-se uma redução gradativa da produção. As plantas, na terceira colheita, apresentaram os menores valores de produção (média de 170,61 g planta⁻¹) com uma redução de 24% em comparação à primeira colheita. Em relação aos tipos de almeirão, a produção apenas se diferenciou, na segunda colheita, em que o almeirão verde apresentou menor valor.

Tabela 4.1 – Produção, firmeza, teor de sólidos solúveis, pH, acidez titulável, SS/AT (*ratio*), de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Morfotipos de almeirão-de-árvore	Colheita			Colheita		
	1	2	3	1	2	3
	Produção (g planta ⁻¹)			Firmeza (N)		
VE	235.50 Aa	184.15 Bb	165.87 Ab	10.66 Aa	10.17 Ba	10.08 Aa
RL	223.33 Aa	214.81 Aa	175.21 Ab	10.68 Ab	15.35 Aa	9.53 Ab
RR	216.50 Aa	212.82 Aa	170.74 Ab	9.91 Aa	8.68 Ba	7.90 Aa
	----- Umidade (%) -----			----- SS (%) -----		
	92.84 a	88.30 c	89.60 b	2.94 b	7.78 a	8.11 a
	----- pH -----			----- SS/AT -----		
Morfotipos	5.98 b	6.25 a	5.99 b	17.19 c	36.63 a	29.11 b
	Acidez titulável (g ácido cítrico 100 g ⁻¹)			Morfotipos	Clorofila	Acidez
	0.17 c	0.21 b	0.28 a	VE	39.29 C	0.25 A
	----- Clorofila (Índice SPAD) -----			RL	42.00 B	0.20 B
	42.30 b	39.65 c	43.93 a	RR	44.59 A	0.22 B

VE: almeirão verde; RL: almeirão roxo liso; RR: almeirão roxo repicado. As médias seguidas de mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

A umidade das folhas foi estatisticamente diferente de acordo com os períodos de colheita, em que as folhas da primeira colheita apresentaram maiores teores, seguida da terceira colheita e menores teores para as folhas da segunda colheita (Tabela 4.1). A menor variação foi da segunda para a terceira colheita, em que foi acrescido apenas 1,3% no teor de umidade. Apesar dos valores de produção terem sido inferiores aos da primeira colheita, a segunda e terceira colheita resultaram em folhas com maior conteúdo de matéria seca.

As folhas da primeira e terceira colheita resultaram em menor firmeza, em média, 10,11 N. A segunda colheita foi a única que apresentou diferenças entre os tipos de almeirão, cuja firmeza foi maior nas folhas do almeirão roxo liso e, em média, 9,43 N para os almeirões

verde e roxo repicado.

As variáveis sólidos solúveis, pH, acidez titulável e SS/AT diferiram apenas entre as épocas de colheita. O teor de sólidos solúveis aumentou, em média, 2,7 vezes da primeira colheita para as colheitas subsequentes, que não diferiram estatisticamente, conforme Tabela 4.1.

O teor de sólidos em almeirão-de-árvore é superior aos encontrados em alface, em torno de 2,88 a 5,1%, dependendo do sistema de plantio e da cultivar, conforme estudos de Da Silva *et al.* (2011), Santos *et al.* (2010) e Freire *et al.* (2009).

O teor de acidez titulável foi maior em folhas colhidas, na terceira colheita, com variação de 0,17 a 0,28 g de ác. cítrico 100 g⁻¹ da primeira para a terceira colheita e, ainda, diferenciou-se entre os tipos de almeirão-de-árvore, com maior valor para o morfotipo verde (Tabela 4.1). O pH das folhas da primeira e terceira colheita não diferiram estatisticamente (média de 5,98), entretanto da primeira para a segunda colheita houve um aumento significativo de 4,32%, de acordo com a Tabela 4.1.

O teor de acidez no alimento tem importância direta com a qualidade, processamento e conservação, influenciando no sabor, odor, cor, textura, entre outros (Cecchi, 2003). Além disso, a acidez assegura a completa estabilidade da vitamina C no processamento, aumentada pela presença de citratos e flavonoides (Gregory, 2018).

A relação SS/AT (*ratio*) foi 53% maior na segunda colheita (36,63) com relação à primeira, conferida pelo aumento do teor de sólidos solúveis, como pode ser observado na Tabela 4.1. Já na terceira colheita houve uma diminuição do *ratio* pelo aumento da acidez.

A relação SS/AT (*ratio*) representa as características organolépticas pelo equilíbrio entre o sabor doce e ácido, que pode ser correlacionada à acidez sensorial para determinar o ponto ideal de consumo (Kyriacou e Rouphael, 2018). O amargor está associado a várias classes de substâncias químicas, entre elas, os compostos fenólicos e sais orgânicos (Gregory, 2018).

O teor de clorofila sofreu pouca influência da época de colheita, em que o índice SPAD variou de 39,65 a 43,93. Observou-se uma redução de 6,26% da primeira para a segunda colheita, com posterior aumento de 9,74% na terceira colheita. Independente da época de colheita, os maiores valores foram detectados, no almeirão-de-árvore roxo repicado, seguido do almeirão-de-árvore roxo liso e menor para o almeirão-de-árvore verde.

A qualidade dos alimentos também está associada à cor. A alteração dessa característica pode ser atribuída à degradação da clorofila e à formação de compostos secundários (Kyriacou e Rouphael, 2018), como foi observado nas folhas de almeirão-de-

árvore, na segunda colheita que, além de terem apresentado menores teores de clorofila, tiveram maior alteração de cor.

Contudo as folhas da segunda colheita dos almeirões-de-árvore apresentaram características organolépticas mais acentuadas evidenciado pelo aumento do teor de sólidos solúveis e de outros compostos, como a vitamina C que correlacionou de maneira positiva à relação SS/AT.

Considerando os parâmetros relacionados à coloração das folhas (Tabela 4.2), o morfotipo verde apresentou maior uniformidade, em relação aos parâmetros de cor, em todas as épocas de colheita, tanto no limbo foliar como no pecíolo. Caracterizou-se por folhas de coloração verde claro, durante todas as épocas de colheita, seguindo a mesma tendência para o pecíolo.

Tabela 4.2 – Análise de cor de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Morfotipos	Cor da folha limbo foliar			Cor do pecíolo		
	Colheita			Colheita		
	1	2	3	1	2	3
VE	49.81 Aa	50.17 Aa	49.89 Aa	55.51 Ab	53.11 Ab	58.78 Aa
<i>L</i> RL	50.13 Aa	48.90 Aa	48.50 Aa	<i>L</i> 42.43 Ba	41.47 Ba	43.57 Ba
RR	48.22 Aa	40.34 Bc	43.45 Bb	38.76 Ca	39.34 Ba	36.84 Ca
VE	17.03 Aa	17.27 Aa	17.20 Aa	21.74 Aa	20.02 Aa	21.14 Aa
<i>C</i> RL	14.50 Ba	12.40 Ba	12.95 Ba	<i>C</i> 7.93 Bb	8.79 Bb	12.13 Ba
RR	12.98 Ba	7.16 Cb	8.98 Cb	9.10 Ba	9.93 Ba	10.77 Ba
VE	129.48 Aa	126.40 Aa	127.22 Aa	123.37 Aa	121.63 Aa	119.90 Aa
<i>h</i> RL	124.98 Aa	112.99 Ba	119.27 Aa	<i>h</i> 67.46 Ba	44.63 Bb	21.00 Bc
RR	119.28 Aa	77.40 Cb	101.73 Bb	29.84 Ca	25.02 Ca	19.43 Ba

VE: almeirão verde; RL: almeirão roxo liso; RR: almeirão roxo repicado

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

A partir da segunda colheita, foram observadas diferenças na cor do limbo foliar entre os tipos de almeirão-de-árvore. Já para a cor do pecíolo, as diferenças foram observadas, em todas as épocas de colheita e, ainda, com maior distância entre o almeirão verde para os almeirões roxos.

O almeirão-de-árvore roxo repicado apresentou menor ângulo *hue* do limbo foliar, na segunda colheita, alocado na coloração laranja-amarelado mais intenso (menor valor de *L* e *C*), comparado às outras colheitas e aos tipos de almeirão-de-árvore (Tabela 4.2). As demais colheitas e tipos alocaram-se no quadrante representado pela cor verde menos intensa, exceto o almeirão roxo repicado, que, na terceira colheita as folhas tenderam à cor verde-amarela.

Em relação à cor do pecíolo, os almeirões roxos alocaram-se no quadrante da coloração vermelho-alaranjado, em que o almeirão-de-árvore roxo repicado apresentou tendência à cor vermelha e com maior intensidade.

Na análise da composição centesimal, verificou-se interação entre os fatores para as variáveis: proteínas, cinzas, lipídios e valor calórico, comprovando efeito da época de colheita nas propriedades nutricionais dos almeirões, bem como o comportamento diferenciado dos morfotipos.

O teor de proteínas foi maior nas folhas da primeira colheita, em maior quantidade no almeirão-de-árvore roxo liso e menor no almeirão-de-árvore verde (Tabela 4.3).

Tabela 4.3 – Composição centesimal de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Morfotipos	Colheita			Colheita		
	1	2	3	1	2	3
	Proteínas (% na MS)			Cinzas (% na MS)		
VE	16.84 Ca	13.74 Bb	13.23 Bb	11.93 Ca	9.71 Bb	12.04 Aa
RL	19.78 Aa	12.72 Cb	12.61 Cb	14.62 Aa	9.98 Bc	11.64 Bb
RR	19.05 Ba	15.36 Ab	14.41 Ac	12.50 Ba	10.49 Ac	11.94 ABb
	Lipídios (% na MS)			Valor calórico (kcal)		
VE	5.14 Aa	3.72 Bb	5.07 Ba	133.02 Ba	122.45 Bb	128.29 Bab
RL	5.62 Aa	3.67 Bb	5.23 Aba	146.71 Aa	118.71 Bc	126.87 Bb
RR	5.57 Aa	5.23 Aa	5.65 Aa	144.04 Aa	139.16 Aab	135.91 Ab
	----- Carboidratos (%) -----			----- Fibras (% na MS) -----		
Colheita	4.51 c	8.42 a	7.22 b	16.28 b	16.20 b	17.56 a
Morfotipos	VE	RL	RR	VE	RL	RR
	7.06 a	6.76 ab	6.32 b	16.51 ab	16.13 b	17.40 a

VE: almeirão verde; RL: almeirão roxo liso; RR: almeirão roxo repicado

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

Houve maior redução do teor de proteínas da primeira para a segunda colheita, mais acentuada para o almeirão roxo liso, de 35,7%, seguida do almeirão verde, de 19,4% e 18,4% para o almeirão roxo repicado. Embora não tenha havido redução significativa do teor de proteínas nas colheitas subsequentes, exceto para o almeirão-de-árvore roxo repicado, que reduziu em todas as colheitas, houve redução nos teores de proteínas, para todos os morfotipos de almeirão-de-árvore, após a primeira colheita.

Os resultados obtidos com o almeirão-de-árvore mostraram que o teor de proteínas foi superior a algumas hortaliças folhosas comumente comercializadas e consumidas no Brasil,

tais como alface crespa, 1,3%, couve 2,9%, espinafre 2,0%, rúcula 1,8%, almeirão 1,8%, chicória 1,1% e algumas hortaliças não convencionais, como a taioba, 2,9% e serralha com 2,7% (Unicamp, 2011). Os valores em almeirão-de-árvore, na primeira colheita, foram próximos aos encontrados em ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*), em média, 22 % (Souza *et al.*, 2016) e considerados inferiores aos encontrados por De Almeida *et al.* (2014) e Takeiti *et al.* (2009), em média, 28%.

Os almeirões-de-árvore apresentaram, em média, 5% de lipídios em sua composição. O teor de lipídios sofreu alterações apenas nas folhas da primeira colheita que o almeirão verde e roxo liso, com valores médios de 3,7%.

O teor de lipídios, em almeirão-de-árvore, considerando os valores na matéria integral é considerado baixo (<0,5%), comparado às hortaliças citadas acima, as quais apresentam até 1,0% na MF, de acordo com Unicamp (2011).

O teor de fibras totais aumentou 8,4%, na terceira colheita, quando apresentou 17,56 g 100 g⁻¹ de almeirão. Apesar da pequena diferença, o almeirão roxo repicado apresentou maior quantidade de fibras.

Os teores de fibras observados, nos almeirões-de-árvore, são superiores aos comumente reportados, para algumas hortaliças folhosas convencionais, tais como alface crespa, 1,8%, couve manteiga 3,1% e espinafre 2,1% (Unicamp, 2011).

Os almeirões-de-árvore apresentaram maior teor de carboidratos totais, nas folhas da segunda colheita, de 8,42 g 100 g⁻¹, em geral, com maiores valores para o almeirão verde.

Os carboidratos constituem a maior parte do conteúdo de sólidos solúveis (Kyriacou e Rouphael, 2018). Dessa forma, a segunda e terceira colheitas que apresentaram maiores teores de carboidratos também apresentaram maiores valores de sólidos solúveis.

O valor calórico foi maior, nas folhas de almeirão roxo liso, com 146,71 kcal e roxo repicado com 144,04 kcal. Entretanto o almeirão roxo liso teve maior redução, de 13,7% para as folhas da terceira colheita.

As folhas de almeirão-de-árvore apresentaram baixo valor calórico, mas superior às hortaliças folhosas comumente utilizadas na alimentação, tais como alface crespa, 11 kcal 100 g⁻¹, brócolis 25 kcal 100 g⁻¹, couve 27 kcal 100 g⁻¹ e repolho branco 17 kcal 100 g⁻¹ (Unicamp, 2011). Além disso, apresentou baixo teor de carboidratos, mas também superior às demais hortaliças, como a alface, em média, 2,1%, almeirão 3,3%, brócolis 4,0%, couve manteiga 4,3%, chicória 2,9%, espinafre 2,6%, repolho branco 3,9%, repolho roxo 7,2%, rúcula 2,2%, serralha 4,9% e taioba com 5,4% (Unicamp, 2011).

As cinzas, que representam o teor de minerais nas folhas de almeirão-de-árvore, foram

encontradas em quantidades significativas, mais de 10% da sua composição. A resposta das plantas foi maior na primeira e terceira colheitas.

A fração de minerais em cinzas é em grande parte composta por macro e micronutrientes (Instituto Adolfo Lutz, 2008; Horwitz, 2019). Comparando-se o nível de minerais em almeirão-de-árvore com outras hortaliças folhosas, indicados pela Unicamp (2011), os almeirões-de-árvore apresentaram maiores teores de macro e micronutrientes.

Em relação aos macronutrientes, as folhas da primeira colheita apresentaram maiores valores para os teores de N, P, em que os almeirões verde e roxo repicado foram superiores ao almeirão roxo liso (Tabela 4.4).

Tabela 4.4 – Teor de macro e micronutrientes, na matéria seca de morfotipos de almeirão-de-árvore, em diferentes épocas de colheita.

Morfotipos	Colheita			Colheita		
	1	2	3	1	2	3
	N (mg 100 g ⁻¹)			P (mg 100 g ⁻¹)		
VE	3,427 Aa	1,953 Ab	1,837 ABb	354 Aa	278 Ab	309 Aab
RL	2,760 Ba	1,733 Ab	2,023 Ab	266 Ba	264 Aa	287 Aba
RR	3,340 Aa	2,057 Ab	1,610 Bc	362 Aa	271 Ab	233 Bb
	K (mg 100 g ⁻¹)			Cu (mg 100 g ⁻¹)		
	3,108 a	1,534 b	1,583 b	0,23 b	0,25 ab	0,28 a
	Ca (mg 100 g ⁻¹)			Fe (mg 100 g ⁻¹)		
Morfotipos	2,179 b	2,646 a	2,789 a	16,76 a	12,64 b	17,08 a
	Mg (mg 100 g ⁻¹)			Mn (mg 100 g ⁻¹)		
	395 c	547 b	641 a	8,89 c	11,99 b	15,23 a
	S (mg 100 g ⁻¹)			B (mg 100 g ⁻¹)		
	214 ab	200 b	245 a	4,06 a	4,11 a	4,09 a
	Ca	Mg	S	Mn	Zn	
VE	2,597 AB	498 B	261 A	11,70 AB	2,67 B	
RL	2,668 A	528 A	200 B	13,80 A	3,72 A	
RR	2,348 B	502 B	199 B	10,61 B	3,24 A	

VE: almeirão verde; RL: almeirão roxo liso; RR: almeirão roxo repicado.

As médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

Os teores de N e K foram reduzidos, após a primeira colheita, o que também ocorreu com o P nos almeirões verde e roxo repicado. Por outro lado, aumentou o teor dos outros minerais, principalmente de micronutrientes.

O teor de K diferenciou apenas entre as épocas de colheita. Os valores encontrados foram, em média, 3.108 mg 100g⁻¹, nas folhas da primeira colheita e reduzidos em 50% nas folhas da segunda e terceira colheita, que não diferiram estatisticamente. Já para os nutrientes Ca, Mg e S, os teores aumentaram, ao longo das colheitas, com destaque para o almeirão roxo

liso que apresentou maiores valores de Ca e Mg e o almeirão verde maior teor de S.

Os teores de macronutrientes em almeirão-de-árvore foram superiores às demais hortaliças, em seus respectivos constituintes de maior valor, em até cinco vezes o teor de P em agrião, couve, repolho roxo, serralha e taioba, que apresentaram, em média, 51,8 mg 100g⁻¹; até cinco vezes o teor de K em almeirão, couve, espinafre, repolho roxo, chicória, em média, 372,2 mg 100g⁻¹; até 20 vezes o teor de Ca em couve, espinafre, rúcula, serralha e taioba, em média, 122,6 mg 100g⁻¹; em até seis vezes o teor de Mg em espinafre com 82 mg 100g⁻¹ (Unicamp, 2011).

Com relação aos micronutrientes, os teores de Cu e Fe diferenciaram apenas entre as épocas de colheita e teor de Zn diferenciou-se apenas entre os tipos de almeirão. A resposta das plantas ao acúmulo de Cu foi crescente, com 0,23 mg 100g⁻¹ na primeira colheita, 0,25 mg 100g⁻¹ na segunda colheita e 0,28 mg 100g⁻¹ na terceira colheita. Da mesma forma, ocorreu para o Mn, porém com maior intensidade, de 1,3 vezes maior a cada colheita. As folhas do almeirão roxo liso apresentaram maior teor de Mn e maior teor de Zn entre os demais tipos.

Para o teor de Fe, a segunda colheita apresentou menores valores, em média, 12,64 mg 100g⁻¹. A primeira e terceira colheitas não diferiram estatisticamente e apresentaram maiores valores, em média, 16,92 mg de Fe 100g⁻¹.

O teor de boro nas folhas foi o único que não apresentou diferença significativa entre os tipos de almeirão-de-árvore e entre as épocas de colheita, que resultou, em média, 4,09 mg 100g⁻¹.

Na composição de micronutrientes nos almeirões-de-árvore, os valores foram até cinco vezes maior que o teor de Fe em agrião, com 3,1 mg 100g⁻¹ e próximo ao encontrado em ora-pro-nóbis com 17,4 mg 100g⁻¹ (Souza *et al.*, 2016). Os teores de Mn foram até dez vezes maiores aos valores encontrados em couve, com 1,02 mg 100g⁻¹ e até duas vezes ao teor de Zn, em rúcula, com 1,3 mg 100g⁻¹ (Unicamp, 2011).

As recomendações diárias de minerais, para a dieta de humanos, variam em torno da demanda do organismo por cada nutriente. Os almeirões-de-árvore mostraram um elevado teor de nutrientes comparado às hortaliças convencionais folhosas mais consumidas e outras hortaliças não convencionais.

Os almeirões-de-árvore apresentaram em sua composição valores consideráveis de compostos fitoquímicos, comparados a outras hortaliças folhosas, com destaque para os antioxidantes. Os antioxidantes são substâncias presentes em alguns alimentos, capazes de inibir os processos oxidativos que naturalmente ocorrem no organismo, reduzindo a

concentração de radicais livres que são prejudiciais à saúde humana (Brenna e Pagliarini, 2001; Pieniz *et al.*, 2009).

A ação antioxidante funciona, por meio de uma complexa rede entre vitaminas C e E, carotenoides, enzimas antioxidantes dependentes de zinco, cobre, selênio, magnésio e outros fitonutrientes que, juntos, exercem reações integradas de renovação e regeneração contra radicais livres produzidos pelo estresse oxidativo (Ross, 1991).

A eficiência da ação antioxidante dos compostos bioativos depende da estrutura química e da sua concentração no alimento. Entre os antioxidantes não enzimáticos estão a vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (tocoferol), provitaminas (carotenoides) e compostos polifenólicos (flavonoides) (Magalhães *et al.*, 2006; Pieniz *et al.*, 2009).

Considerando o conteúdo de fenólicos totais, observaram-se diferenças significativas entre os três tipos na primeira colheita com destaque para o almeirão verde, que ainda apresentou maiores valores na segunda colheita, de acordo com a Tabela 4.5.

Tabela 4.5 – Compostos fenólicos totais, antocianinas monoméricas, vitamina C, atividade antioxidante (DPPH) de morfotipos de almeirão-de-árvore em diferentes épocas de colheita.

Morfotipos	Colheita			Colheita		
	1	2	3	1	2	3
	Fenólicos totais (mg EAG 100 g ⁻¹)			Antocianinas (mg cianidina 100 g ⁻¹)		
VE	569.20 Aa	556.72 Aa	160.62 Ab	ND	ND	ND
RL	330.83 Cb	418.41 Ba	104.75 Ac	16.91 Ab	69.35 Ba	50.68 Ba
RR	487.73 Ba	395.53 Bb	135.79 Ac	10.54 Ac	123.33 Aa	73.02 Ab
	Vitamina C (mg ácido ascórbico 100 g ⁻¹)			% SRL (DPPH)		
VE	98.15 Ab	335.18 Aa	106.11 Bb	9.42 b	17.23 a	13.87 a
RL	47.36 Bc	241.85 Ca	115.44 Bb	VE	RL	RR
RR	65.90 Bc	284.85 Ba	142.15 Ab	17.37 a	9.11 b	14.04 a

VE: almeirão verde; RL: almeirão roxo liso; RR: almeirão roxo repicado ND: não detectado. EAG: equivalente de ácido gálico. As médias seguidas pela mesma letra maiúscula nas colunas e minúscula nas linhas não diferem entre si a 5% de significância pelo teste Tukey.

Fonte: Do autor (2021).

O maior valor de fenólicos totais para o almeirão roxo liso foi na segunda colheita e para o almeirão roxo repicado nas folhas da primeira colheita. Houve uma redução drástica de compostos fenólicos, para todos os tipos de almeirão da primeira para terceira colheita, de 71% para o almeirão verde, 75% para o almeirão roxo liso e 66% para o almeirão roxo repicado.

O teor de compostos fenólicos, em almeirão-de-árvore, foi superior aos encontrados em outras hortaliças folhosas não convencionais, tais como: azedinha (*Rumex acetosa*) 8,74 mg 100g⁻¹ e peixinho (*Stachys byzantina*) 209,40 mg 100g⁻¹. Os teores elevados são comparados aos valores máximos encontrados, em frutas convencionais de clima tropical,

como a acerola que contém 835,25 mg 100g⁻¹ (Vieira *et al.*, 2011), manga 544,9 mg 100g⁻¹ (Kuskoski *et al.*, 2006) e de clima temperado, como maçã 474 mg 100g⁻¹, ameixa 471,4 mg 100g⁻¹ e pêra 408 mg 100g⁻¹ (Imeh e Khokhar, 2002).

Vários fatores influenciam no teor de compostos fenólicos e demais fotoquímicos dessas hortaliças, tais como tecnologias de produção, condições edafoclimáticas, época de cultivo e colheita, caracteres genéticos da variedade da espécie cultivada e outros (Kim *et al.*, 1997; Kähkönen *et al.*, 1999; Kaur e Kapoor, 2001; Koleva *et al.*, 2002; Kim, Jeong e Lee, 2003; Melo *et al.*, 2006; Da Costa *et al.*, 2008; Arbos *et al.*, 2010). Arbos *et al.* (2010) encontraram diferenças de 19 a 28% nos teores de compostos fenólicos em hortaliças orgânicas: rúcula, almeirão e alface, comparada às do sistema convencional.

Da mesma forma para os compostos fenólicos, o almeirão verde apresentou maiores teores de vitamina C entre os tipos de almeirão-de-árvore, sendo observados maiores teores na segunda colheita (Tabela 4.5). Apesar do aumento dos teores para a segunda colheita, houve uma redução drástica, nas folhas da terceira colheita, de 68% para o almeirão verde, 52% para o almeirão roxo liso e 50% para o almeirão roxo repicado, que apresentou maior valor nessa mesma colheita. Já os almeirões verde e roxo liso apresentaram, em média, 110,78 mg 100g⁻¹.

A vitamina C apresenta grande importância nutricional. A deficiência do ácido ascórbico no organismo humano causa escorbuto, dificuldade na cicatrização de feridas, anemia, fadiga, depressão, podendo eventualmente ser fatal, sem os devidos cuidados (Arrigoni e De Tullio, 2000; Davies, Partridge e Austin, 2007). Além disso, o ácido ascórbico participa como cofator em diversos processos fisiológicos (Bender, 2003).

As principais fontes primárias de vitamina C são as frutas cítricas, hortaliças folhosas, brócolis, couve-flor, couve de Bruxelas, tomate, pimentão e batata (Eitenmiller, Landen Jr e Ye, 2016). Os almeirões-de-árvore apresentaram valores de ácido ascórbico superiores aos observados na composição de hortaliças folhosas comumente utilizadas, tais como alfaces: crespa 15,6 mg 100 g⁻¹, americana 11,0 mg 100 g⁻¹, lisa 21,4 mg 100 g⁻¹, roxa 13,5 mg 100 g⁻¹, almeirão 1,7 mg 100 g⁻¹, chicória 6,5 mg 100 g⁻¹, rúcula 46,3 mg 100 g⁻¹, couve manteiga 96,7 mg 100 g⁻¹, espinafre 2,4 mg 100 g⁻¹, repolhos: roxo 43,2 mg 100 g⁻¹ e branco com 18,7 mg 100 g⁻¹, de acordo com Unicamp (2011).

Algumas hortaliças não convencionais já estudadas se destacam pelos teores consideráveis (acima de 100 mg 100 g⁻¹ MF) de ácido ascórbico em sua composição, como a taioba (*Xanthosoma sagittifolium*) com valores entre 119,67 e 223 mg 100 g⁻¹ (De Moraes *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2013; Silva *et al.*, 2018), ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) 192,21 mg 100 g⁻¹, bertalha (*Basella rubra*) 139,56 mg 100 g⁻¹, assa peixe (*Vernonia* sp.) de 51 a 198

mg 100 g⁻¹ e caruru (*Amaranthus* sp.) de 46 a 126 mg 100 g⁻¹ (Steyn *et al.*, 2001; Ejoh *et al.*, 2007; Uusiku *et al.*, 2010). Outras, porém apresentaram baixo teor, como a beldroega (*Portulaca oleracea*) de 21,48 a 38,56 mg 100 g⁻¹ (Andarwulan *et al.*, 2012; Oliveira *et al.*, 2013), serralha (*Sonchus oleraceus*) 1,5 mg (Unicamp, 2011).

Algumas frutas são popularmente conhecidas por apresentarem teores consideráveis de vitamina C, porém apenas algumas delas contêm valores acima de 100 mg 100 g⁻¹ MF, como acerola 941,4 mg 100 g⁻¹, caju 219 mg 100 g⁻¹, goiaba branca 197 mg 100 g⁻¹, mexerica rio de 112 mg 100 g⁻¹ de ácido ascórbico (Unicamp, 2011).

De acordo com as recomendações da Fao/Who (2001), para uma alimentação saudável, a ingestão diária de vitamina C para adultos deve ser, em média, 30 mg de ácido ascórbico. Contudo os almeirões-de-árvore apresentam-se como uma boa fonte dessa vitamina.

Os teores de antocianinas monoméricas foram maiores no almeirão roxo repicado na segunda colheita (Tabela 4.5). Houve um aumento nos teores da primeira para a segunda colheita, de 11,7 vezes para o almeirão roxo repicado e 4,1 vezes para o almeirão roxo liso. Na terceira colheita, houve uma redução de 40% para o almeirão roxo repicado e 27% para o almeirão roxo liso. Não foi detectada a presença de antocianinas no almeirão-de-árvore verde em valores consideráveis.

Os teores de antocianinas monoméricas foram maiores no almeirão roxo repicado na segunda colheita. Houve um aumento nos teores da primeira para a segunda colheita, de 11,7 vezes para o almeirão roxo repicado e 4,1 vezes para o almeirão roxo liso. Na terceira colheita, houve uma redução de 40% para o almeirão roxo repicado e 27% para o almeirão roxo liso.

As antocianinas são pigmentos que apresentam propriedades antioxidantes ativas nos vegetais. São compostos suscetíveis à deterioração por fatores como pH e temperatura. As variações nos teores de antocianinas nas folhas de almeirão-de-árvore acompanharam as alterações de pH, mostrando a sua menor atividade, quando há redução do pH.

A atividade antioxidante, baseada no sequestro do radical livre DPPH, aumentou ao longo das colheitas, em média, 1,6 vezes, quando comparada à primeira colheita com as demais, as quais não diferiram estatisticamente, de acordo com a Tabela 4.5.

Em relação aos tipos de almeirão, os maiores valores obtidos, no sequestro do radical livre DPPH, foram para os almeirões verde, 17,37% e roxo repicado, 14,04%. Já o almeirão roxo liso apresentou menor atividade antioxidante, de 9,11%.

Os valores encontrados em almeirão-de-árvore, para a atividade antioxidante, são

considerados baixos, comparados aos encontrados por Melo *et al.* (2006), em hortaliças folhosas comumente utilizadas no Brasil, tais como alface (65% SRL), couve-flor (87,52% SRL), couve (91,63% SRL) e espinafre (81,41% SRL).

Os resultados podem estar relacionados à concentração do extrato ou ao método utilizado para a determinação da atividade antioxidante. Segundo Alves *et al.* (2007), quanto maior o consumo de DPPH pela amostra, maior é sua atividade antioxidante. Nascimento *et al.* (2011).

encontraram diferenças, no sequestro de radicais livres em *Bauhinia variegata* L., em que maiores concentrações promoveram maior consumo de DPPH. Entretanto o potencial antioxidante dos almeirões-de-árvore pode estar associado ao sequestro de outros radicais livres.

Os resultados obtidos no PCA mostraram que os dois primeiros componentes principais responderam por 92,30% da variação amostral. De acordo com Rencher e Christensen (2012), pelo menos, 70% da variância total devem ser explicadas pelo primeiro e o segundo componentes principais. A variabilidade existente contribuiu para o agrupamento dos morfotipos de almeirão-de-árvore, em cada época de colheita, permitindo observar a expressão de cada variável relacionada à qualidade nutricional, com maior interferência das épocas de colheita.

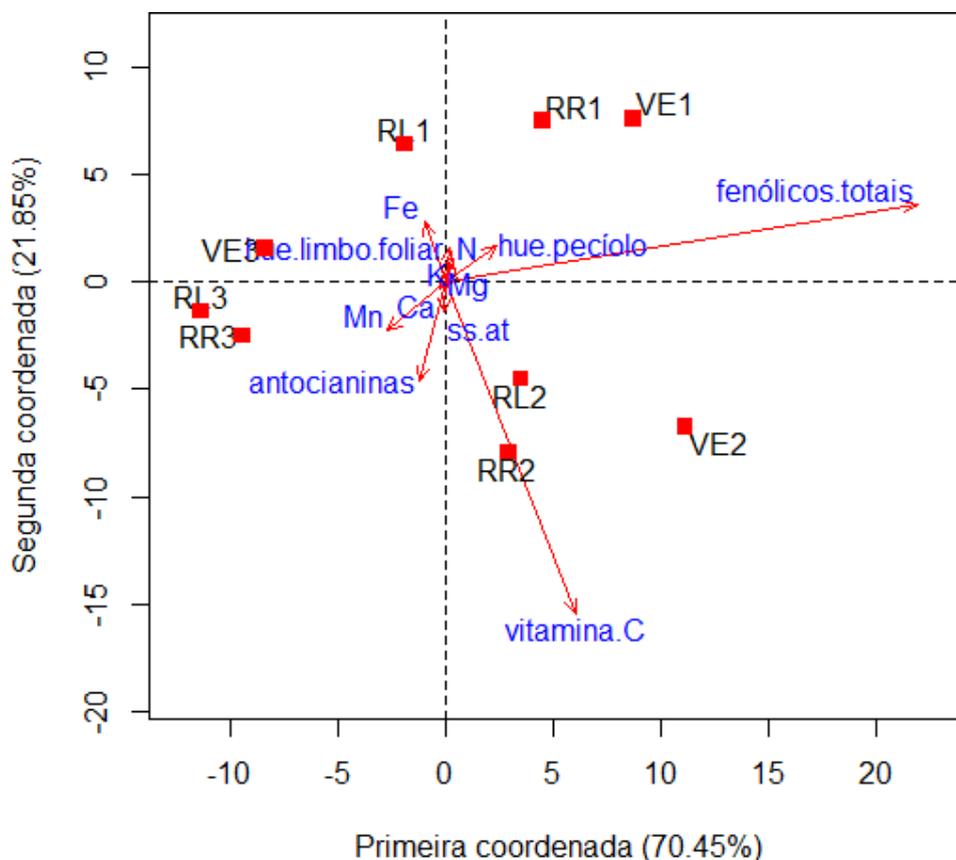
No primeiro componente principal, observou-se que maiores teores de compostos fenólicos foram representados pela primeira colheita, como pode ser observado na Figura 4.4.

A variável fenólicos totais apresentou evidências de uma correlação negativa com Mg (-0,77) e Mn (-0,69). As variáveis N e K apresentaram correlação positiva (0,91) entre si e correlacionaram-se de forma negativa com o teor de Ca, Mg, Mn e SS/AT. Entretanto as variáveis Mg, Ca e Mn foram correlacionadas de maneira positiva ($> 0,75$) com maior relação entre o Mg e Mn (0,94).

A variável antocianinas foi altamente correlacionada de maneira inversa à cor do limbo foliar (-0,94), à cor do pecíolo (-0,73). As variáveis relacionadas à cor apresentaram uma correlação positiva moderada (0,65) entre si.

No segundo componente, observou-se que maiores valores de vitamina C foram associados à segunda colheita, em ordem decrescente, para os almeirões roxo repicado, roxo liso e verde, respectivamente. O teor de vitamina C apresentou evidências de uma correlação positiva com a variável SS/AT (0,81) e negativa com o Fe (-0,70).

Figura 4.4 – Biplot dos componentes principais, dos parâmetros analisados em almeirão-de-árvore nas diferentes épocas de colheita.



Fonte: Do autor (2021).

Como foi observado na segunda colheita, os maiores valores de vitamina C foram obtidos no almeirão-de-árvore verde, que apresentou maior acidez entre os demais tipos. Por outro lado, a redução da vitamina C pode estar associada à presença de Fe^{+3} e Cu^{+2} que catalisam a oxidação (Gregory, 2018).

No presente estudo, foi observado que, nas folhas de almeirão-de-árvore que apresentaram menores teores de vitamina C, foram detectados maiores teores de Fe.

Nos últimos anos, tem aumentado o interesse por alimentos naturais que contenham altos teores de compostos antioxidantes, como vitamina E, vitamina C, compostos fenólicos, carotenoides, entre outros, visando à melhoria na saúde e qualidade de vida da população. Contudo, a qualidade de um alimento depende de sua composição química e de uma série de fatores importantes, como as modificações sofridas durante os tratamentos tecnológicos e as preparações culinárias, além da biodisponibilidade dos nutrientes.

Estudos dessa natureza também têm objetivado o tratamento e a prevenção de doenças

não transmissíveis como aterosclerose, câncer, entre outras. Considerando os resultados obtidos neste trabalho, fica evidente o potencial do almeirão-de-árvore em atender os pressupostos acima, sendo necessário, portanto, estudos mais aprofundados.

4 CONCLUSÃO

Os almeirões-de-árvore mostraram-se plantas de conteúdo nutricional considerável, com destaque para o teor de compostos fenólicos e vitamina C, que, em geral é baixo em hortaliças folhosas comumente utilizadas, além de outros constituintes, como proteínas, macro e micronutrientes, em especial, para os teores de Ca, Mg, K e Mn.

De maneira geral, os almeirões-de-árvore apresentaram melhor qualidade nutricional, nas duas primeiras colheitas, sobretudo, na segunda colheita. Entretanto, se fazem necessários avançar nos estudos quanto à biodisponibilidade e outras propriedades.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711-728, 2013. ISSN 09412948 (ISSN).
- ALVES, C. Q. et al. Avaliação da atividade antioxidante de flavonóides. **Diálogos & Ciência**, v. 12, p. 1-8, 2007.
- ANDARWULAN, N. et al. Polyphenols, carotenoids, and ascorbic acid in underutilized medicinal vegetables. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 339-347, 2012/01/01/ 2012. ISSN 1756-4646.
- ARBOS, K. A. et al. Antioxidant activity and phenolic content in organic and conventional vegetables. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010. ISSN 01012061 (ISSN).
- ARRIGONI, O.; DE TULLIO, M. C. The role of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed functions and unpredictable chemical reactions. **Journal of Plant Physiology**, v. 157, n. 5, p. 481-488, 2000/11/01/ 2000. ISSN 0176-1617.
- BARCIA, M. T. et al. Bioactive Compounds, Antioxidant Activity and Percent Composition of Jambolão Fruits (*Syzygium cumini*). **The Natural Products Journal**, v. 2, n. 2, p. 129-138, 2012. ISSN 2210-3155/2210-3163.
- BENDER, D. A. Vitamin C (ascorbic acid). In: BENDER, D. A. (Ed.). **Nutritional biochemistry of the vitamins**. 2. Cambridge: Cambridge university press, 2003. p.357-384. ISBN 1139437739.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.-E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995. ISSN 0023-6438.
- BRASIL. **Hortalças não-convencionais:(tradicionais)**: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: 52 p. 2010.
- BRENNA, O. V.; PAGLIARINI, E. Multivariate Analysis of Antioxidant Power and Polyphenolic Composition in Red Wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 10, p. 4841-4844, 2001/10/01 2001. ISSN 0021-8561.
- CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. Editora da UNICAMP, 2003. ISBN 8526806416.
- DA COSTA, D. M. A. et al. Conteúdo de N, P, K+, Ca²⁺ e Mg²⁺ no amaranto (*Amaranthus spp*) sob estresse salino e cobertura morta. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 2, p. 209-216, 2008. ISSN 1806-6690.
- DA SILVA, E. M. N. et al. Qualidade de alface crespa cultivada em sistema orgânico, convencional e hidropônico. **Horticultura brasileira**, v. 29, n. 2, p. 242-245, 2011. ISSN 0102-0536.

DAVIES, M. B.; PARTRIDGE, D. A.; AUSTIN, J. **Vitamin C: its chemistry and biochemistry**. royal society of chemistry, 2007. ISBN 1847552307.

DE ALMEIDA, M. E. F. et al. Chemical characterization of the non-conventional vegetable known as ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 3 SUPPL. 1, p. 431-439, 2014. ISSN 15163725 (ISSN).

DE MORAIS, V. S. et al. Efeito do tipo de cultivo no conteúdo de vitamina C em folhas de taioba (*Xanthosoma sagittifolium* Schoot). **Revista Capixaba de Ciência e Tecnologia**, v. 1, 2006.

EITENMILLER, R. R.; LANDEN JR, W.; YE, L. Ascorbic acid: vitamin C. In: EITENMILLER, R. R.; LANDEN JR, W., *et al* (Ed.). **Vitamin analysis for the health and food sciences**. 2. Boca Raton: CRC press, 2016. p.231-289. ISBN 0429129203.

EJOH, R. A. et al. Nutritional components of some non-conventional leafy vegetables consumed in Cameroon. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 6, n. 6, p. 712-717, 2007. ISSN 16805194 (ISSN).

FAO/WHO. Human vitamin and mineral requirements. Report of a joint FAO/WHO expert consultation, Bangkok, Thailand. **Food and Nutrition Division, FAO, Rome**, p. 235-247, 2001.

FERREIRA, E. B. et al. Package 'ExpDes. pt'. 2013.

FREIRE, A. G. et al. Qualidade de cultivares de alface produzida em condições salinas. **Revista Caatinga**, v. 22, n. 4, p. 81-88, 2009. ISSN 0100-316X.

GREGORY, J. F. Vitaminas. In: DAMODARAN, S. e PARKIN, K. L. (Ed.). **Química de alimentos de Fennema**. 4: Artmed Editora, 2018. p.539-621. ISBN 8582715463.

HORWITZ, W. Official methods of analysis. In: LATIMER JR., G. W. (Ed.). **Official methods of analysis**. 21. Gaithersburg: AOAC, v.1, 2019. ISBN 0935584676.

IMEH, U.; KHOKHAR, S. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 22, p. 6301-6306, 2002. ISSN 0021-8561.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz 2008. 1020.

KÄHKÖNEN, M. P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999. ISSN 0021-8561.

KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium's health. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, n. 7, p. 703-725, 2001. ISSN 0950-5423.

KIM, D.-O.; JEONG, S. W.; LEE, C. Y. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry**, v. 81, n. 3, p. 321-326, 2003/06/01/ 2003. ISSN 0308-8146.

KIM, M. J. et al. Serum cholesterol lowering effect of triterpene acetate obtained from *Lactuca indica*. **Korean Journal of Pharmacognosy**, v. 28, n. 1, p. 21-25, 1997. ISSN 02533073 (ISSN).

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. J. **Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) no Brasil: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas**. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda, 2014. ISBN 8586714461.

KOLEVA, I. I. et al. Screening of Plant Extracts for Antioxidant Activity: a Comparative Study on Three Testing Methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002. ISSN 0958-0344.

KUSKOSKI, E. M. et al. Frutos tropicais silvestres e polpas de frutas congeladas: atividade antioxidante, polifenóis e antocianinas. **Ciência Rural**, v. 36, n. 4, p. 1283-1287, 2006-08 2006. ISSN 0103-8478.

KYRIACOU, M. C.; ROUPHAEL, Y. Towards a new definition of quality for fresh fruits and vegetables. **Scientia Horticulturae**, v. 234, p. 463-469, 2018. ISSN 0304-4238.

LEES, D.; FRANCIS, F. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

MAGALHÃES, L. M. et al. Automatic Method for the Determination of Folin–Ciocalteu Reducing Capacity in Food Products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 15, p. 5241-5246, 2006/07/01 2006. ISSN 0021-8561.

MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. D. Metodologia para Análise de Elementos em Material Vegetal. In: MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C., *et al* (Ed.). **Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações**. 2. Piracicaba: POTAFOS, 1997. p.231-305.

MCGUIRE, R. G. Reporting of objective color measurements. **HortScience**, v. 27, n. 12, p. 1254-1255, 1992. ISSN 0018-5345.

MELO, E. D. A. et al. Capacidade antioxidante de hortaliças usualmente consumidas. **Food Science and Technology**, v. 26, p. 639-644, 2006. ISSN 0101-2061.

MONGE, M. et al. Two new records of *Lactuca L.*(Cichorieae, Asteraceae) in South America. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 14, n. 2, 2016. ISSN 1980-4849.

NASCIMENTO, J. C. et al. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonóides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata L.* **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

OLIVEIRA, D. et al. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, 2013.

OSBORNE, D.; VOOGT, P. I. **The analysis of nutrients in foods**. Academic Press Inc.(London) Ltd., 24/28 Oval Road, London NW1 7DX., 1978. ISBN 0125291507.

OSSANI, P. C.; CIRILLO, M. A.; OSSANI, M. P. C. **Package ‘MVar. pt’**. R package 2019.

PIENIZ, S. et al. In vitro assessment of the antioxidant potential of fruits and vegetables. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 552-559, 2009. ISSN 1413-7054.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. Viena 2018.

RENCHEER, A. C.; CHRISTENSEN, W. F. **Methods of Multivariate Analysis**. 3. 2012. 796 ISBN 0470178965.

ROSS, D. Antioxidant defence systems and oxydative stress. **Membrane Lipid Oxidation 2**, p. 151-170, 1991.

RUFINO, M. et al. **Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico (INFOTECA-E) 2007.

SANTOS, C. M. G. et al. Qualidade de alface comercializada no município de Botucatu-SP. **Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha**, p. 67-74, 2010. ISSN 1665-0204.

SANTOS, I. C.; SILVA, A. F.; FONSECA, M. C. M. Almeirão-de-árvore, dente-de-leão, peixinho e serralha: plantas exóticas comestíveis. **Informe Agropecuário**, v. 37, n. 295, p. 67-74, 2016. ISSN 0100-3364.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. D. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. 3. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235.

SILVA, L. F. L. E. et al. Nutritional evaluation of non-conventional vegetables in Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 90, n. 2, p. 1775-1787, 2018. ISSN 00013765 (ISSN).

SOUZA, M. R. D. M. et al. Mineral, protein and nitrate contents in leaves of *Pereskia aculeata* subjected to nitrogen fertilization. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 1, p. 43-50, 2016. ISSN 1983-4063.

STEYN, N. et al. A survey of wild, green, leafy vegetables and their potential in combating micronutrient deficiencies in rural populations: Research in action. **South African Journal of Science**, v. 97, n. 7-8, p. 276-278, 2001. ISSN 0038-2353.

STROHERCKER, R. **Análisis de vitaminas : métodos comprobados**. Madrid: Montalvo, 1967.

TAKEITI, C. Y. et al. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 60, n. sup1, p. 148-160, 2009. ISSN 0963-7486.

UNICAMP. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. 4. Campinas: Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Universidade Estadual de Campinas, 2011. 161.

UUSIKU, N. P. et al. Nutritional value of leafy vegetables of sub-Saharan Africa and their potential contribution to human health: A review. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 499-509, 2010/09/01/ 2010. ISSN 0889-1575.

WATERHOUSE, A. L. Determination of total phenolics. **Current protocols in food analytical chemistry**, v. 6, n. 1, p. II. 1.1-II. 1.8, 2002. ISSN 2572-5599.

ANEXO A

Figura A.1 - Declaração de depósito de vouchers (exemplares-testemunho) de *Lactuca* aff. *canadensis* no Herbário ESAL e no Herbário PAMG.



EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA DE MINAS GERAIS



Avenida José Cândido da Silveira, 1647, Bairro União - Belo Horizonte - Minas Gerais - Brasil
 CEP 31.170-495 - Fone: 31 3489-5069 - Fax: 31 34895064
 E-mail: herbario@epamig.br ou andreiasilva@epamig.br

DECLARAÇÃO

Declaro que Ramon Ivo Soares Avelar, estudante de doutorado em Agronomia (Fitotecnia), da Universidade Federal de Lavras (UFLA) depositou no Herbário PAMG, da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), vouchers (exemplares-testemunho) da espécie abaixo, coletada no Setor de Olericultura do DAG da UFLA, em Lavras, MG.

Espécie	Familia	Registro ESAL	Registro PAMG
<i>Lactuca canadensis</i> L.	Asteraceae	30403	58656
<i>Lactuca canadensis</i> L.	Asteraceae	30340	58657
<i>Lactuca canadensis</i> L.	Asteraceae	30339	58658
<i>Lactuca canadensis</i> L.	Asteraceae	30338	58659

Belo Horizonte, 27 de agosto de 2019.

Andréia Fonseca Silva
 957.639.106-72

Pesquisadora da EPAMIG, Curadora do Herbário PAMG
 Herbário PAMG - Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)
 Instituição Fiel Depositária, conforme Deliberação N° 45, de 18 de Dezembro de 2003