

Retrospectiva de cuarenta años de maíz *opaco 2*

Paulo E. O. Guimarães¹, Maria C. D. Paes, Cleso A. P. Pacheco

¹Embrapa Milho e Sorgo, Caixa postal 151, Sete Lagoas, MG, 35701-9790.
Correo-e: evaristo@cnpms.embrapa.br

Resumo

La seguridad alimentaria es una de las principales preocupaciones mundiales. Muchos factores contribuyen para agravar la desnutrición en los países subdesarrollados: alta tasa de crecimiento poblacional, mala distribución de la renta, escasez de áreas y agua disponibles para la agricultura, erosión, sequía y otros desastres naturales, conflictos, baja escolaridad, enfermedades, precarios sistemas de transporte, distribución de alimentos, etc. El desarrollo de alimentos más nutritivos, baratos y fáciles de producir, procesar y consumir se constituye en una de las contribuciones que la investigación agropecuaria debe ofrecer para atenuar este problema. Debido a su amplia distribución y facilidad de producción y consumo, el maíz es uno de los cultivos objetivo para el desarrollo de cultivares con mayor valor nutricional. Según la FAO, en 2003 fueron producidos a nivel mundial alrededor de 638 millones de toneladas de maíz. Considerando un contenido medio de 8% de proteínas en los granos, el maíz anualmente proporciona considerable volumen de proteínas: cerca de 51.4 y 2.9 millones de toneladas, a nivel mundial y nacional, respectivamente. Sin embargo, esas proteínas son de bajo valor biológico, por presentar bajos tenores de los aminoácidos esenciales, lisina y triptofano. Cerca de 80% de las proteínas de los granos de maíz están en el endospermo y 20% en el embrión. Las proteínas predominantes en el embrión, las albuminas, son de alto valor biológico; en tanto las zeínas, predominantes en el endospermo, tienen bajo valor biológico debido al desequilibrio de aminoácidos esenciales provocado por el alto contenido de leucina y por la deficiencia de lisina y triptofano. Este artículo describe toda la historia iniciada en 1963 cuando fueron seleccionados los dos mutantes de maíz con granos harinaceos, *floury2* y *opaco2*, por presentar mayores contenidos de lisina en la proteína (3 y 4%, respectivamente) que los encontrados en el maíz normal (2% lisina / proteína), y resume secuencialmente los diversos trabajos realizados en las áreas de nutrición humana, animal, bioquímica, procesamiento industrial, economía, genética y mejoramiento, que comprobaron el mayor valor nutricional del mutante *opaco2* en la alimentación humana y de animales monogástricos. Resalta la no aceptación inicial de los maíces *opaco2* por los agricultores debido a su menor productividad (granos opacos con textura amilácea, menor densidad y secado más lento y mayor susceptibilidad a plagas de granos, enfermedades y daños mecánicos), hasta el desarrollo de granos *opaco 2* con alta calidad protéica y apariencia y densidad de maíz normal (materiales denominados QPM). Describe la secuencia del desarrollo de cultivares QPM, con desempeño agronómico competitivo con el maíz común, en el Brasil y a nivel mundial, destacando la calidad superior de la proteína de estos maíces comparada al maíz normal en la alimentación infantil, y su utilización como "anclas" para la agregación de otros factores nutricionales como: aceite, carotenos, minerales esenciales como hierro y zinc, mayores tenores de metionina, bajo fitato, etc.

Palabras clave: *opaco 2*, QPM, lisina, triptofano, qualidade protéica

Introdução

A segurança alimentar é uma das principais preocupações globais. Inúmeros fatores têm contribuído para o agravamento da subnutrição em países não desenvolvidos, tais como: alta taxa de crescimento populacional, má distribuição de renda, escassez de áreas e água disponíveis para agricultura, erosão, secas e outros desastres naturais, conflitos, baixa escolaridade, doenças, precários sistemas de transporte e distribuição de alimentos, etc. O desenvolvimento de alimentos mais nutritivos, que sejam também baratos e fáceis de serem produzidos, processados e consumidos se constitui em uma das contribuições que a pesquisa agropecuária tem a oferecer para a atenuação desse problema. Devido sua amplitude e facilidade de produção e consumo, o milho é uma das culturas alvo para o desenvolvimento de cultivares com maior valor nutricional.

As proteínas do milho

Em 2003 foram produzidas globalmente em torno de 638 milhões de toneladas de milho. (FAO, 2004). Considerando um teor médio de 8% de proteínas nos grãos, o milho anualmente fornece considerável volume de proteínas: cerca de 51.4 e 2.9 milhões de toneladas, ao nível mundial e nacional, respectivamente. Entretanto, essas proteínas são de baixo valor biológico, por apresentarem baixos teores de dois aminoácidos essenciais, lisina e triptofano (NRC, 1988). Cerca de 80% das proteínas dos grãos de milho estão no endosperma e 20% no embrião. As proteínas predominantes no embrião, as albuminas, são de alto valor biológico enquanto as zeínas, predominantes no endosperma, têm baixo valor biológico devido ao desequilíbrio de aminoácidos essenciais provocado pelo alto teor de leucina e pela deficiência de lisina e triptofano (NRC, 1988; Vasal, 2000). Mertz (1997) relatou que, no início do século 20, dois professores da Universidade de Yale, Thomas B. Osborne e Lafayette B. Mendel, descobriram que as zeínas não continham lisina e triptofano. Pela demonstração que ratos morriam, em dietas com zeínas como única fonte protéica, ou desenvolviam normalmente, quando alimentados com zeínas enriquecidas com lisina e triptofano, esses professores foram os primeiros a provarem a existência de aminoácidos essenciais.

Milho opaco 2

Mertz (1997) descreveu a história da descoberta do mutante opaco2. Edwin T. Mertz, a partir de 1957, iniciou um projeto de pesquisa para identificar grãos de milho que apresentassem maior proporção de não-zeínas e, conseqüentemente, maiores teores de lisina e triptofano. Ele foi orientado por William D. Rose, que, por sua vez, foi orientado por Thomas B. Osborne, citado anteriormente. Mertz (1997) relatou que, de 1957 à 1963, muitos materiais de milho, teosinte e teosinte x milho foram avaliados mas nenhum apresentou as características desejadas, até que dois mutantes de milho com grãos farináceos, *floury2* e *opaco 2*, foram selecionados em 18 de Novembro de 1963 por apresentarem teores de lisina na proteína maiores (3 e 4 %, respectivamente) que os encontrados no milho normal (2 % lisina / proteína). A divulgação dessa descoberta foi feita por Mertz, Bates e Nelson (1964) na revista Science.

A publicação deste artigo teve grande impacto na comunidade científica internacional. Há inúmeros exemplos desse impacto, dentre os quais podemos destacar: a publicação do "Quality Protein Maize Abstracts", um periódico específico para o tema, e, em Junho de 1966, aproximadamente dois anos após a descoberta do *opaco 2*, a realização da "High Lysine Corn Conference", com a apresentação de inúmeros trabalhos nas áreas de Nutrição Humana, Animal, Bioquímica, Processamento Industrial, Economia, Genética e Melhoramento.

Inúmeros trabalhos comprovaram o maior valor nutricional deste mutante na alimentação humana e de animais monogástricos. Porém, as cultivares de milho *opaco 2* não foram aceitas pelos agricultores, inclusive os do Brasil, devido apresentarem menor produtividade; grãos opacos com textura farinácea, menor densidade e secagem mais lenta e maior susceptibilidade às pragas dos grãos, doenças e danos mecânicos (Ribeiral, 1974; NRC, 1988).

Milho com qualidade protéica melhorada (QPM) - *opaco 2* modificado

Paez *et al.* (1969) observou que alguns grãos opacos apresentavam manchas vítreas. Ele avaliou a qualidade protéica dessas manchas e relatou que algumas delas apresentavam teores de lisina e triptofano comparáveis às frações opacas, indicando que seria possível o desenvolvimento de grãos *opaco 2* com alta qualidade protéica e aparência e densidade do milho normal. A combinação do genótipo o2o2, para conferir alta qualidade protéica, e modificadores genéticos, para melhorar as qualidades físicas e a aparência do grão, resultou no desenvolvimento de materiais denominados QPM, em programas de melhoramento conduzidos pelo CIMMYT, México (Vasal *et al.*, 1980), e Universidade de Natal, África do Sul (Gevers e Lake, 1992). No programa do CIMMYT, cerca de 25 mil amostras de sementes por ano foram avaliadas quanto à qualidade e modificação (Villegas *et al.*, 1992). A análise química desenvolvida permitia tirar a amostra de uma única semente sem prejudicar sua capacidade de germinar (Villegas *et al.*, 1984). Cerca de 10 populações e 13 compostos QPM foram desenvolvidos. Como reconhecimento do valor de suas pesquisas, Dr. Surinder K. Vasal e Dra. Evangelina Villegas foram laureados com o World Food Prize 2000.

Milhos de alta qualidade protéica na nutrição humana

A superioridade da qualidade protéica do milho *opaco-2* e de seu sucessor QPM sobre a proteína dos milhos normais tem sido demonstrada através de estudos conduzidos em animais e humanos. Os dados mais antigos datam de meados do século passado e reportam os resultados de balanço nitrogenado em crianças saudáveis alimentadas com derivados dos milhos normal e *opaco-2*, cultivados em 1965, no estado de Indiana, Estados Unidos. Através desta técnica Bressani e seus colaboradores guatemaltecos concluiriam que a proteína do milho comum não era adequada para manter o crescimento de crianças, quando ofertada como única fonte de proteína da dieta, em nível de ingestão de 1.8 g proteína /kg peso/dia, correspondente a 227 g de milho/dia. Isto porque esta proteína proporcionara um valor biológico equivalente a 32% ao da proteína do leite (caseína), considerada referência por conter, nas quantidades adequadas, todos os aminoácidos essenciais. Por outro lado, o milho *opaco-2* oferecido como fonte exclusiva de proteína na dieta, apresentara um valor biológico de 87% comparado à caseína (Bressani *et al.*, 1969), aproximando-se da proteína padrão. Alguns anos mais tarde, um estudo semelhante foi conduzido por Pradilla *et al.* (1973) comparou a qualidade protéica da mesma variedade de milho *Opaco-2* utilizado por Bressani, com a dos seus pares isogênicos normal e cristalino, usando como métodos de determinação de qualidade protéica a digestibilidade, o índice de utilização líquida de proteína (NPU) e o valor biológico (BV). Os pesquisadores observaram valores semelhantes para os índices de digestibilidade e retenção nitrogenada nos materiais contendo o gene *opaco-2*, entretanto, o índice de utilização protéica foi significativamente inferior para o material cristalino (65%) comparado ao material *opaco* (89%). Neste estudo foram ainda encontrados índices de valor biológico da proteína relativa à proteína do leite de 76%, 75% e 47% para os milhos *opaco*, cristalino e comum respectivamente, e embora estes valores fossem diferentes daqueles reportados por Bressani *et al.* (1969), os autores apresentaram concordância sobre a qualidade superior da proteína dos milhos *opaco-2* comparada ao milho normal na alimentação infantil.

Outros estudos foram ainda delineados naquela época para avaliar a qualidade protéica dos materiais *opaco-2* em crianças em fase de recuperação de desnutrição protéico-calórica (Luna-Jaspe *et al.*, 1971; Viteri *et al.*, 1972), evidenciando um dado inesperado: ambos milhos *opaco-2* e normais ofertados com base de um grama proteína/kg peso/dia não promoviam uma retenção nitrogenada positiva, necessária para que houvesse recuperação das crianças. Somente os estudos conduzidos no início da década de 80 por Graham e seus colaboradores, com base nos níveis plasmáticos de aminoácidos de crianças de 10 a 25 meses de idade, alimentadas com farinhas produzidas a partir dos materiais normais e *opaco-2*, possibilitaram o entendimento de que os teores de lisina, triptofano e isoleucina em milhos, mesmo modificados nos milhos *opaco-2*, eram limitantes para crianças apresentando taxa de crescimento extremamente acelerada (Graham *et al.*, 1980a). Este fato estimulou novas pesquisas, cujos resultados possibilitou identificar a baixa retenção nitrogenada da proteína promovida por estes materiais, e a indicar a necessidade de compensação da oferta de proteína quando o milho era a única fonte protéica da dieta. Através dos experimentos conduzidos pelos mesmos pesquisadores foi possível ainda compreender as mudanças nas propriedades nutricionais induzidas pelo gene *opaco-2* no endosperma do milho, e demonstrar a contribuição das proteínas do gérmen na qualidade protéica deste cereal (Graham *et al.*, 1980b). Embora a retenção de nitrogênio nos grupos de crianças alimentadas com farinhas de milho *opaco-2* fosse inferior àquela do grupo de crianças alimentadas com leite, a farinha integral de milho *opaco-2* promovia uma retenção nitrogenada superior à farinha obtida somente do endosperma dos grãos do mesmo material, em mesma base calórica, indicando desta maneira a importância de se utilizar os derivados integrais do milho na composição da dieta humana.

Apenas em 1989 foram realizados os primeiros estudos em crianças desnutridas para avaliação da qualidade protéica dos materiais QPM. No Peru, pesquisadores reportaram ganhos de peso médios de 33, 25 e 18 gramas por dia, respectivamente para crianças desnutridas alimentadas com caseína, QPM e milho normal, a um nível de ingestão de aproximadamente 14g/kg de peso/dia (Graham *et al.*, 1989). Em uma segunda avaliação, os pesquisadores peruanos compararam a qualidade protéica de uma dieta, na qual o milho QPM representava 90% das calorias e 100% da proteína e lipídeos, à outra composta apenas por leite de vaca, oferecidas a crianças de 13 a 29 meses de idade, em fase de recuperação de quadro de desnutrição. As dietas proporcionaram ganhos de peso iguais, embora os níveis de albumina e de aminoácidos essenciais séricos apresentaram-se reduzidos após a ingestão da dieta com QPM (Graham *et al.*, 1990), indicando que o milho com teores aumentados de lisina e triptofano poderia ser utilizado na alimentação infantil com o objetivo de prevenir a desnutrição infantil. À semelhança deste estudo,

Graham (1993) observou em crianças desnutridas o efeito do consumo de dietas formuladas com dois cultivares distintos de milhos QPM apresentando teores elevados de óleo, não tendo detectado diferença significativa na retenção nitrogenada entre os grupos alimentados com dietas à base de milhos e caseína.

Em estudos mais recentes, as cultivares de milho QPM desenvolvidas no Brasil pela Embrapa Milho e Sorgo foram avaliadas quanto ao conteúdo de aminoácidos essenciais e aproveitamento biológico da proteína em ensaios utilizando ratos recém desmamados. Através dos índices de utilização protéica líquida (NPU), digestibilidade verdadeira (TD) e do valor protéico relativo (RPV) a qualidade protéica dos milhos QPM, BR 451 e BR 473, e do normal, BR 201, na forma de farinhas integrais, foi comparada à da caseína, em três níveis protéicos na dieta (3%, 5% e 7%). Os resultados dos ensaios biológicos permitiram observar que a proteína presente nos milhos QPM e normal não diferiram quando à digestibilidade, no entanto, a qualidade protéica dos materiais QPM, determinada por ambos os índices, era significativamente superior ao material normal. Quando comparados à caseína, os milhos QPM apresentaram valor biológico relativo de aproximadamente 85%, enquanto este valor era de 65% para o milho normal (Paes e Bicudo, 1995). Dados semelhantes foram obtidos em um estudo posterior onde foi comparada a qualidade protéica dos materiais QPM em farinhas integrais, medida através do cômputo químico e da razão protéica líquida (Net Protein Ratio) (Costa *et al.*, 1996). Através da análise de composição aminoácida das proteínas, foi possível observar que as cultivares QPM BR 473 e comum BR 201 apresentavam os aminoácidos lisina e triptofano como o primeiro (89% BR 473 e 51% BR 201) e segundo (94% BR473 e 60% BR 201) limitantes, respectivamente, relativos ao padrão FAO para crianças em idade pré-escolar. Apesar da pequena diferença na composição dos materiais QPM em relação à lisina e triptofano, os valores de NPR, relativo à caseína, foram semelhantes entre os materiais QPM (85%), diferindo de forma significativa do material comum (48%) (Paes *et al.*, 1997).

De forma a comparar o valor nutricional da proteína dos materiais QPM com a base da dieta brasileira, determinou-se em ratos a qualidade protéica de rações experimentais com milho à 7% de proteína (QPM BR 473, QPM BR 451 e milho normal BR 136) e com a mistura arroz com feijão à 10% de proteína (1:1 em base protéica) aplicando as técnicas de NPR e NPU (Veloso *et al.*, 2004). Os milhos QPM BR 473 e QPM BR 451 apresentaram qualidades protéicas semelhantes entre si e superiores à do milho convencional, tanto em relação aos valores de NPR quanto ao NPU, sendo as diferenças significativas. Os fubás dos milhos QPM apresentaram valor protéico elevado (média de 83% em relação à proteína de referência), similar à proteína presente na mistura arroz com feijão.

Recentemente, o efeito da extrusão sobre a retenção de aminoácidos em farinhas integrais de milho normal e QPM foi avaliada, demonstrando que reduções significativas no conteúdo dos aminoácidos essenciais isoleucina, leucina, lisina, treonina e valina ocorrem em extrusados de milho, mas que as perdas independem do tipo de milho processado (Paes e Maga, 2004). Portanto, matérias primas com um melhor perfil aminoácídico produzem extrusados com a mesma característica.

Considerando o exposto, não há dúvidas quanto ao melhor valor nutricional dos milhos QPM em relação aos milhos normais e a sua potencialidade de uso na alimentação humana, especialmente para o combate à desnutrição infantil. Entretanto, esforços necessitam ser envidados para que ocorra um aumento significativo na produção dos cultivares QPM, garantindo a substituição dos milhos normais por outros mais nutritivos na produção de alimentos destinados à alimentação humana. Além disto, o desenvolvimento de novas cultivares QPM de alto rendimento e com melhores características nutricionais, a exemplo de alto teor de óleo, com maiores teores de carotenos e de minerais essenciais, deve ser priorizado, afim de que problemas nutricionais epidêmicos, como a hipovitaminose A, a anemia ferropriva e a desnutrição sejam eliminados nas populações menos favorecidas do globo, garantindo a todos a segurança alimentar.

Utilização de milho QPM na alimentação de animais

O maior valor biológico da proteína QPM pode ser melhor aproveitado pelos organismos de animais monogástricos como suínos, aves, peixes e equídeos. Entretanto, o efeito da utilização de milho QPM dependerá dos teores e da digestibilidade de óleo, aminoácidos e outros nutrientes de cada cultivar em cada ambiente e, também, do tipo do animal, fase de desenvolvimento e qualidade da ração fornecida.

Oliveira *et al.* (1996) reportaram que, para suínos de 15 a 30 kg alimentados com milho QPM, os

ganhos de peso diários e a eficiência alimentar foram, respectivamente, 41% e 5.7% maiores quando comparados aos alimentados com milho normal, em rações sem suplemento protéico.

No caso de criações mais tecnificadas, que fornecem rações balanceadas, o ganho na utilização de milho QPM será na economia de uso de concentrado protéico, o que implicará na redução do custo das rações. Lopes- Pereira (1992), fez simulações com utilização de milhos QPM no Brasil e estimou que os mesmos poderiam reduzir os custos de rações na ordem de 4-5% para suínos e 3-4% para aves.

Bertechini *et al.* (1999) avaliaram o efeito de milho QPM no desempenho de frangos de corte (2 experimentos) e poedeiras comerciais. No primeiro experimento com pintos de corte, os autores observaram vantagens para o milho QPM em relação ao normal para ganho de peso e consumo de alimento, somente em condições de dieta subnormal de proteína. No segundo experimento, foi demonstrado que os animais alimentados com QPM apresentaram melhor ganho de peso e conversão alimentar, em condições de níveis de lisina dietética semelhantes. Porém, dietas com milhos QPM e normal não diferiram quanto ao desempenho e a qualidade dos ovos das poedeiras. Bellaver e Lima (1998) compararam o desempenho de uma cultivar de milho QPM com uma normal no crescimento e terminação de suínos e relataram que em todos os tratamentos o desempenho dos animais foi semelhante nas duas fases de desenvolvimento. Entretanto, rações com o milho QPM poderiam ser mais baratas devido apresentarem energia metabolizável maior e com melhor digestibilidade.

Burgoon *et al.* (1992) avaliaram o desempenho de suínos, nas fases inicial e terminação, em dietas contendo a mesma quantidade de farelo de soja. Na fase inicial, todos os tratamentos apresentaram adequados níveis de lisina e os animais não apresentaram diferenças em desempenho. Na fase de terminação, a performance dos suínos alimentados com milho normal respondeu, enquanto as com milho QPM não respondeu, ao aumento da proporção do farelo de soja de 10.8 para 13.8%. Uma dieta baseada em QPM, com 6% de farelo de soja e suplementada com lisina e triptofano, não otimizou a eficiência alimentar, mas apresentou taxas de crescimento equivalente a uma dieta de milho normal com 13.8% de farelo de soja.

Zhang (2002) sumariza os resultados de uma série de experimentos de avaliação de rações baseadas em milho QPM, com níveis de proteína variando de 9 a 16%. Rações formuladas com QPM propiciaram ganho diário de peso maiores (de 30 à 124%) que as do milho normal, principalmente em dietas com menor requerimento de proteína, e, também, melhor conversão alimentar, requerendo menos ração (de 0.47 à 2.13 kg) para produzir 1 kg de carne.

Duarte (2003) alerta que se os custos de preservação da identidade dos materiais QPM nas etapas de produção e processamento forem elevados, a vantagem de utilização de milhos QPM para formulação de rações pode ser perdida.

Para criações de animais pouco tecnificadas, típicas das que ocorrem na agricultura de subsistência, as vantagens da substituição de milho normal por QPM são claras, como indicado por Oliveira *et al.* (1996). Contudo, o Brasil possui sistemas tecnificados e altamente competitivos de produção de suínos e aves que demandam informações precisas sobre valor nutricional e volume de produção de componentes para formulação de rações. O milho QPM tem potencial de ser útil para esses sistemas. Porém, há a necessidade prévia de considerável volume de produção de híbridos QPM competitivos com os de milho normal e, também, mais resultados de pesquisa, para cada tipo de animal e fase de crescimento, comparando os efeitos de formulações baseadas em milho de alto óleo, QPM e normal. Pesquisas poderiam ser conduzidas para gerar cultivares QPM que apresentassem maiores teores de outros fatores, tais como óleo e metionina, agregando assim maior valor nutricional para a alimentação de animais.

O mutante *opaco2* e seus genes modificadores

O gene *Opaco 2* é um dos mais estudados em plantas, podendo ser considerado como um "gene modelo" para vários estudos de genética. O locus *Opaco 2* está localizado no cromossomo 7, posição 16 (Soave *et al.*, 1981, citado por Vasal, 2000). Schmitd *et al.* (1987) foram os primeiros a clonarem o fragmento genômico do *O2*, via a utilização da técnica de identificação por transposon ("transposon tagging"). O gene *O₂* codifica uma proteína que regula a expressão do promotor dos genes que expressam as zeínas 22-kD. O alelo *opaco 2* é completamente recessivo e causa uma redução na fração zeína com conseqüente aumento das frações não-zeínas (albuminas,

globulinas e glutelinas), que são mais ricas em lisina e triptofano (ver revisão de Vasal, 2000).

De acordo com Bjarnason e Vasal (1992), a herança dos modificadores dos efeitos adversos do *opaco 2* é quantitativa e predominantemente aditiva. Eles relataram que a frequência de sementes bem modificadas é bem baixa na geração F2. Porém, Vasal (2000) não descartou a possibilidade de, em alguns casos, esta herança ser oligogênica, ou, até mesmo controlada por um único gene. Vasal (2000) também relatou que a seleção para modificadores em geral causa redução na qualidade protéica, apesar de ser possível identificação de amostras combinando alta qualidade protéica e aparência e densidade do milho normal.. Wallace *et al.* (1990) identificaram que milhos QPM apresentam uma alta concentração da proteína gama-zeína, que, provavelmente, está envolvida na modificação do endosperma por apresentar elevados teores de cisteína, aminoácido envolvido na formação de pontes dissulfídricas que podem funcionar como um agente cimentante (Lopes, 1993). Lopes *et al.* (1995) identificaram dois genes situados no cromossomo 7 relacionados com a modificação do endosperma. Gaziola *et al.* (1999) demonstraram que milhos QPM, em comparação com o *opaco 2*, apresentam maior atividade de AK, enzima envolvida na biosíntese da lisina, e menor atividade de LKR e SDH, enzimas relacionadas com a degradação da lisina. Gibbon *et al.* (2003) descobriram que o milho QPM apresenta alterações na estrutura do amido (amilopectina com ramificações mais curtas e crescimento acentuado de partículas de amido) associadas com maior conexão entre as partículas de amido e modificação do endosperma (maior vitreosidade).

Desenvolvimento de cultivares QPM na Embrapa.

O programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo começou em 1983 com a introdução de 23 populações QPM desenvolvidas pelo CIMMYT, 14 amarelas e 9 brancas. Esse material foi avaliado em 6 locais, do nordeste ao sul do Brasil. As populações brancas se mostraram superiores às amarelas, tanto em produtividade quanto em qualidade. Destacou-se a população 64, "Blanco dentado 2- Tropical" (Magnavaca *et al.*, 1988). Em 1988, após três ciclos de seleção massal e um de seleção entre e dentro de progênies de meios irmãos na população 64, foi lançada a variedade BR 451. Ela apresenta alta produtividade e boas características agrônomicas associadas a alta qualidade protéica de seus grãos que, quando moídos, apresentam um alto rendimento de fubá de excelente qualidade e granulometria, para ser utilizado na fabricação de pães e massas. (Peixoto *et al.*, 1990).

Em 1994, foi lançada a variedade sintética BR 473 (Guimarães *et al.*, 1997). Seus grãos amarelos possuem cerca de 50% a mais de lisina e triptofano e fornecem alimentos e rações com aparência e sabor similares ao milho normal. Carvalho *et al.* (2000) desenvolveram a variedade sintética Assum Preto, que, em 2001, foi lançada para as condições do semiárido nordestino. Seu ciclo super precoce propicia maiores chances de "escape" das condições de seca, que usualmente acontecem após os primeiros meses da época de plantio.

Três novas populações com 25% de genótipos de milho normal foram desenvolvidas: CMS 474, CMS 455c e CMS 475. Essas populações foram, respectivamente, originadas da introgressão das populações normais BR 106, CMS 14c e Illinois High Protein nas populações QPM CMS 454, CMS 455 e CMS 52 (Guimarães *et al.*, 1997). Atualmente, o programa de desenvolvimento de variedades QPM, tanto para a região tropical quanto para a Subtropical, está priorizando a formação de sintéticos oriundos do cruzamento de linhagens elites QPM com linhagens com endosperma normal, elites para desempenho agrônomico.

No programa de híbridos QPM diversas pesquisas foram feitas para se ter informações básicas quanto ao desenvolvimento de linhagens, capacidade combinatória de populações e linhagens, estabilidade de modificadores, avaliações de qualidade protéica e densidade dos grãos, etc. (Guimarães *et al.*, 1997; Pacheco *et al.*, 1999). Também foi desenvolvida (Guimarães *et al.*, 2000) e testada (Duarte, 2003) uma metodologia para facilitar a conversão de linhagens de endosperma normal para QPM. Duarte (2003) comparou versões de híbridos de milho normal com híbridos QPM (obtidos a partir da conversão parcial de linhagens normais). As versões QPM apresentaram melhor qualidade protéica, produtividade e outras características agrônomicas semelhantes às normais e maior porcentagem de acamamento e quebramento, sabugos mais grossos e grãos mais curtos e menos densos. Uma possível explicação para esses resultados poderia ser atribuída ao processo de conversão das linhagens ter sido parcial (Duarte, 2003). Também é possível que, durante o processo de conversão para QPM, as sementes selecionadas, com maior modificação, foram também as associadas com menor comprimento dos grãos e sabugos mais grossos.

Em 1997, foi lançado o híbrido duplo BR 2121. Esse híbrido apresentou boa estabilidade de produção e desempenho agrônomico competitivo com os híbridos duplos de milho normal BR 201, BR 205 e BR 206 (Guimarães *et al.*, 1996). Porém, esse híbrido foi retirado do mercado, devido ao

pouco interesse que despertou nas empresas produtoras de sementes e agricultores. Provavelmente, por não ter tido bom desempenho agrônomico nas primeiras lavouras comerciais nas regiões onde foi plantado e, também, por ter havido demandas, que não foram propriamente atendidas, por informações mais específicas sobre o uso dos grãos desse material para formulação de rações.

Paschoalick (1998) comparou algumas características agrônomicas e componentes da produção da BR 473 e do BR 2121 com o BR 205 e demonstrou a superioridade dessas cultivares QPM quanto aos teores de lisina e triptofano e óleo e inferioridade para algumas características agrônomicas, tais como: acamamento e quebramento, colmo mais fino, espigas mais finas, sabugos mais grossos, grãos significativamente mais estreitos e mais curtos. As duas cultivares QPM em questão são aparentadas, pois as linhagens do híbrido BR 2121 fazem parte da composição da variedade BR 473, e, provavelmente, não sejam representativas da variabilidade da base genética de milho QPM. Portanto, é recomendável que esse estudo seja ampliado, com a avaliação de diversas variedades e híbridos QPM e testemunhas de milho normal.

Inicialmente, o programa de híbridos QPM foi centrado no desenvolvimento de linhagens extraídas de populações QPM e na introdução de linhagens do CIMMYT, que também foram obtidas a partir de populações QPM. Nossa experiência mostrou que é necessário obter e avaliar um grande número de linhagens para se aumentar a chance de identificar materiais elites, tanto para características agrônomicas quanto para QPM. Também observamos que híbridos desenvolvidos a partir dessas linhagens apresentaram melhor qualidade protéica, mas, em média, pior desempenho agrônomico que os híbridos de milho normal. Para superar esse problema, tanto para a região Tropical quanto para a Subtropical, as linhagens QPM estão sendo desenvolvidas a partir da reciclagem de linhagens elites QPM com linhagens e híbridos elites de milho normal.

Desenvolvimento de cultivares QPM a nível global.

Bourlaug e Dowsell (2004) estimam que cerca de 350 mil ha estão sendo plantados com cultivares QPM. O programa de desenvolvimento de variedades e híbridos QPM do CIMMYT continua gerando materiais e dando suporte para diversos programas nacionais de pesquisa. Na África, os programas nacionais também contam com o auxílio da Fundação Sasakawa Global 2000 para o desenvolvimento e divulgação deste tipo de milho. O projeto "Harvest Plus", coordenado pelo CGIAR e financiado por diversas instituições públicas e privadas, visa o desenvolvimento, em diversas culturas básicas, de cultivares biofortificadas, apresentando maiores níveis de vitamina A, ferro e zinco. No caso do milho, uma das metas desse programa é a obtenção de cultivares QPM apresentando maiores níveis dos nutrientes supracitados (<http://www.harvestplus.org/maize.html>).

Cordova e Listman (2002) reportaram aspectos do programa de melhoramento do CIMMYT que resumimos a seguir: foram identificados híbridos QPM - em ensaios de competição distribuídos em 33 locais da África, América Latina e Ásia - mais produtivos que os melhores híbridos de milho normal; variedades sintéticas estão sendo geradas e selecionadas para apresentarem qualidade protéica superior aos padrões QPM; dez linhagens elites de endosperma normal foram convertidas para QPM; no período de 1996 à 2002, são descritos os pedigrees de 34 cultivares QPM (22 híbridos e 12 variedades) lançadas em 12 países: Benim, Brasil, Burkina Farsó, Colômbia, China, Gana, Guatemala, Guiné, Honduras, Índia, Mali e México.

Considerações finais

Com o crescimento populacional e redução de recursos disponíveis para a agricultura, P&D na área de culturas biofortificadas podem vir a contribuir consideravelmente para a questão da segurança alimentar.

O desenvolvimento e a disseminação de cultivares QPM são mais onerosos e complexos que o milho comum, demandando o envolvimento de uma equipe multidisciplinar e multiinstitucional para se alcançar as metas almejadas.

É possível a geração de cultivares QPM com desempenho agrônomico competitivo com o milho comum, principalmente quando híbridos e variedades sintéticas forem obtidos a partir de linhagens QPM recicladas com linhagens e híbridos elites de milho normal. Quanto maior o número de empresas investindo em QPM e linhagens geradas e testadas, maior será a probabilidade de se obter cultivares QPM promissoras para lançamento.

É desejável a utilização de materiais QPM como "âncoras" para a agregação de outros fatores nutricionais, tais como: óleo, carotenos, minerais essenciais como ferro e zinco, maiores teores de metionina, baixo fitato, etc.

Há a necessidade de pesquisas comparando os efeitos de formulações baseadas em milho de alto

óleo, QPM e normal para cada tipo de animal monogástrico e fase de crescimento. Aspectos econômicos relacionados à necessidade de segregação para produção, transporte, processamento e comercialização precisam ser estudados.

Referências bibliográficas

- Bellaver, C., e Lima, G.J.M.M. 1998. Milhos de qualidade superior na alimentação de suínos. In: Embrapa-CPAO, Anais do workshop sobre Qualidade do Milho, 1997. Embrapa-CPAO, Dourados, MS, Documentos, 23.78p.
- Bertechini, A.G.; Fassani, E.J.; Fialho, E.T. 1999. Utilização do milho QPM (Quality Protein Maize) para aves. *Ciência e Agrotecnologia*, v.23, p.434-440..
- Bressani, R., Alvarado, J., Viteri, F. 1969. Evaluacion en niños de la calidad de la proteína del maíz opaco-2. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 19:129-140
- Burgoon, K.G.; Hansen, J.A.; Knabe, D.A.; Bockholt, A.J. 1992. Nutritional value of quality protein maize for starter and finisher swine. *Journal-of-Animal-Science*. 70: 3, 811-817.
- Borlaug, N., Dowsel, C. R. 2004. Achieving sustainable agricultural growth in Africa: Lessons from experience. In: ASSURING FOOD AND NUTRITION SECURITY IN AFRICA BY 2020: Prioritizing action, strengthening actors, and facilitating partnerships. April 1-3, 2004, Kampala, Uganda. Disponível em: www.ifpri.org/2020africaconference/program/day1summaries/borlaug.pdf Acessado em: 01 Julho. 2004.
- Carvalho, H.W.L., Leal, M. L. S., Guimarães, P.E.O., Santos, M.X., Carvalho, P.C.L. ,2000. Três ciclos de seleção entre e dentro de progênies de meios-irmãos na população de milho CMS-52. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 35, 8 :1621-1628..
- Costa, N. M. B., Paes, M.C.D., Guimarães, P.E.O. 1996. Avaliação da qualidade protéica do milho QPM (Quality-Protein Maize). p. 153. In: Congresso Nacional da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição, 4. São Paulo, São Paulo. 192 p. Resumos
- Córdova, H., Listman, M. 2002. Quality Protein Maize: Improved nutrition and livelihoods for the poor. In: Quality Protein Maize: Advanced maize training course with emphasis on Quality protein Maize (QPM) development and dissemination. CIMMYT, El Batan, México, 2002. CD-ROM
- Duarte, J. M. 2003. Conversão de linhagens elites em milho de alta qualidade protéica (QPM). Universidade Federal de Lavras. 141 p. (Tese de Doutorado)
- FAO. FAO Statistics Database 2004 (FAOSTAT). Disponível em: <<http://apps.fao.org/>>. Acessado em: 01 de julho. 2004.
- Gaziola, S.A., Alessi, E.S., Guimaraes, P.E..O., Damerval, C., Azevedo, R.A. 1999. Quality protein maize: a biochemical study of enzymes involved in lysine metabolism. *J. Agric. Food Chem*. 47: 1268-1275.
- Gevers, H. O., Lake, J. K. 1992. Development of modified opaque 2 maize in South Africa. In: Mertz, E. (ed). Quality Protein Maize. ASCC, St. Paul, MN, pp. 49 78.
- Gibbon, B.C., Wang, X., Larkins, B. A. 2003. Altered starch structure is associated with endosperm modification in Quality Protein Maize. *PNAS* .100, 26 :1532915334.
- Graham, G.G., Guber, D.V., López de Romaña, G., Morales, E., McLean, W.C. Jr. 1980a. Nutritional value of normal, opaque-2 and sugary-2 maize hybrids for infants and children. I. Digestibility and utilization. *Journal of Nutrition*. 118: 1061-1069.
- Graham, G.G., Placko, R.P., McLean, W.C. Jr. 1980b. Nutritional value of normal, opaque-2 and sugary-2 maize hybrids for infants and children. II. Plasma free amino acids. *Journal of Nutrition*. 118: 1070-1075.
- Graham, G.G., Lembcke, J., Lancho, E., Morales, E. 1989. Quality protein maize-Digestibility and utilization by recovering malnourished infants. *Pediatrics*. 83:416-421.
- Graham, G.G., Lembcke, J., Morales, E. 1990. Quality protein maize as the sole source of dietary protein and fat for rapidly growing young children. *Pediatrics*. 85:85-91
- Graham, G.G. 1993. Quality protein maize with a high fat content as a weaning food. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 17: 139-144.
- Guimarães, P.E.O., Lopes, M.A., Gama, E.E.G., Santos, M.X., Parentoni, S.N., Paes, M.C.D., Vieira Jr. P.A., Silva, A.E., Paiva, E., Corrêa, L.A., Pacheco, C.A.P. 1997. Quality Protein Maize improvement at the National Maize and Sorghum Research Center - CNPMS/EMBRAPA/BRAZIL - In: B.A. Larkins and E.T. Mertz, (eds). Quality protein maize: 1964-1994. Purdue University Press - USA. pp. 185-203.
- Guimarães, P. E. O.; Pacheco, C. A. P.; Lopes, M. A. 2000. Processo de introdução de características genéticas expressadas em sementes e controladas por um gene recessivo e seus modificadores.. Patente: Privilégio e Inovação. n. PI 00046, "Processo de introdução de característica". 14 de setembro de 2000 (Depósito).

- Guimaraes, P.E.O., Parentoni, S.N., Santos, M.X., Lopes, M.A., Gama, E.E.G., Silva, A.E., Vieira Junior, P.A., Pacheco, C.A.P., Corrêa, L.A., Oliveira, A.C. 1996. BR 2121 híbrido amarelo de milho com qualidade protéica melhorada (QPM). In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 21., 1996, Londrina, PR. Resumos... Londrina: IAPAR. p. 17.
- Magnavaca, R., Paiva, E., Winkler, E.I.G., Carvalho, H.W.L., Silva Filho, M.C., Peixoto, M.J.V.D. 1988. Avaliação de populações de milho de alta qualidade protéica. *Pesq. Agropec. Bras.*, 23:1263-8.
- Mertz, E.T. 1997. Thirty years of opaque-2 maize. - In: B.A. Larkins and E.T. Mertz, (eds). Quality protein maize: 1964-1994. Purdue University Press - USA. pp. 1-9.
- Mertz, E. T., Bates, L. S., Nelson, O. E. 1964. Mutant gene that changes the protein composition and increases the lysine content of maize endosperm. *Science*, 145, 3629: 279-280.
- Soave, C., Reggiani, R., Di Fonzo, N., Salamini, F. 1981. Clustering of genes for 20 kD zein subunits in the short arm of maize chromosome 7. *Genetics*, Baltimore, v. 97, n. 2, p. 363-377.
- Lopes, M. A. 1993. Genetic and biochemical characterization of the maize mutants floury-2 and modified opaque-2. University of Arizona 269 p. PhD Thesis.
- Lopes, M.A., Takasaki, K., Bostwick, D.E., Helentjaris, T., Larkins, B.A. 1995. Identification of two opaque2 modifier loci in Quality Protein Maize. *Mol Gen Genet* 247: 603-613.
- Lopez-Pereira, M.A. 1992. The economics of quality protein maize in animal feed: case studies of Brazil and El Salvador. CIMMYT Economics Working Paper 92-06. Mexico, D.F. 45p.
- Luna-Jaspe, G.H., Parra, J.O .M., Bersal, C.R., Serrano, S.P. 1971. Comparacion de la retencion de nitrógeno en niños alimentados com maíz común, maíz com gene opaco-2 y leche de vaca. Resultados com baja ingesta de proteína. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 21:437-447
- National Reserch Council. (Washington, DC) Quality protein maize. Washington: National Academy, 1988. 100p.
- Oliveira , S. G , Marcatti Neto, A. , Sampaio, I. B. M. , Guimarães, P.E.O. 1996. Valor Nutricional do Milho Branco BR 451 (Quality Protein Maize - QPM) para Suínos de 15 a 30 Kg. (1996) In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 33. Fortaleza, CE. Anais... Fortaleza: SBZ. Disponível em: http://www.sbz.org.br/eventos/Fortaleza/Nut_n_rumi/Sbz488.pdf Acessado em: 01 Julho. 2004.
- Paes, M.C.D., e Bicudo, M.H. 1995. Nutritional Perspectives of Quality Protein Maize. In: Larkins, B.A. e Mertz, E.T. (Eds), Quality Protein Maize: 1964-1994. Proceedings of the International Symposium on Quality Protein Maize, Brazil. pp.65-78
- Paes, M. C. D., Costa, N. M. B., Guimarães, P. E. O. 1997. Protein quality in whole and degerminated-decorticated flours of Brazilian QPM varieties In: AACCC Annual Meeting, 1997, Chicago, IL, USA. Cereal Foods World. St. Paul, MN, USA: American Association of Cereal Chemists, v.42. p.659
- Paes, M.C.D., Maga, J. 2004. Effect of extrusion on essential amino acids profile and color of whole-grain flours of quality protein maize (QPM) and normal maize cultivars. *Revista Brasileira de Milho e Sorgo*. (in press).
- Paez, A. V., Helm, J. L., Zuber, M. S. 1969. Lysine content of opaque2 maize kernels having different phenotypes. *Crop Science* 9: 251-252.
- Pacheco, C. A. P., Guimarães, P. E. O., Parentoni, S. N., Lopes, M.A., Santos, M. X., Gama, E. E. G., Vasconcelos, M. J. V., Correa, L. A., Meirelles, W. F. 1999. O desenvolvimento de milho de alta qualidade nutricional no Brasil. In: REUNIÓN LATINOAMERICANA DEL MAIZ, 28., Sete Lagoas. Memórias.... Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS; México: CIMMYT, 1999. p. 13-26.
- Paschoalick, H.N.S. 1998. Efeito da época de aplicação do nitrogênio na produção, teor de óleo e na qualidade protéica de cultivares de milho (*Zea mays* L.) normal e QPM. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. 107p. (Tese de mestrado).
- Peixoto, M.J.V., Parentoni, S.N., Gama, E.E.G., Magnavaca, R., Paiva, E., Rego, M.M. 1990. Perspectiva de utilização de milho de alta qualidade protéica no Brasil. *Inf. Agropec*. 14:23-24.
- Pradilla, A.G., Francis, C.A., Linares, F. A. 1973. Studies on protein quality of flint phenotypes of opaque-2. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 23:217-223.
- Ribeiral, U. C. 1974. Situação do milho de alta lisina no Brasil. In: Reunião de literatura da cultura do milho no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte, PIPAEMG, p. 26 39.
- Vasal, S. K. 2000. High Quality protein corn. In: Hallauer, A. R. (Ed.). Specialty corns. 2. ed. Boca Raton: CRC Press. p. 85-129.
- Vasal, S.K., Villegas, E., Bjarnason, M., Gelaw, B., Goertz, P. 1980. Genetic modifiers and breeding strategies in developing hard endosperm opaque-2 materials. In Improvement of Quality Traits of Maize for Grain and Silage Use, W.G., Pollmer and R.H., Phillips, eds (London, UK: Matinus Nijhoff), p.p. 37-73.
- Veloso M. M. N., Silva, M.S., Cerqueira, F. M., Paes, M.C.D. 2004. Avaliação química e biológica da

- proteína do grão em cultivares de milho normal e de alta qualidade protéica (QPM). *Pesquisa Agropecuária Tropical* 34: 1-8.
- Villegas, E., Ortega, E., Bauer, R. 1984. Chemical methods used at CIMMYT for determining protein quality in cereal grains. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Villegas, E., Vasal, E.K., Bjarnason, M. 1992. Quality Protein Maize- What is it and how was it developed. p.27-47. *In*: Mertz, E. (ed). Quality Protein Maize. ASCC, St. Paul, MN
- Viteri, F., Martínez, G., Bressani, R. 1972. Evaluation of the protein quality of common maize, opaque-2 maize and common maize supplemented with amino acids and other protein sources. *In*: Nutritional Improvement of Maize. R. Bressani, J.E. Braham, e M. Behar, eds. Publication L-2 INCAP, Guatemala, 195-208p.
- Wallace, J. C., Lopes, M. A., Paiva, E., Larkins, B. A. 1990. New method for extraction and quantitation of zeins reveal a high content of gamma-zein in modified opaque-2 maize. *Plant Physiology* 92, 1: 191-196.
- Zhang, S. H. 2002. QPM research and development in China. *In*: FAO Expert Consultation and Workshop on Protein Sources for the Animal Feed Industry. Bangkok, 2002. Disponível Em: <http://www.fao.org/ag/aga/workshop/feed/papers.htm>. Acessado em: 01 Julho. 2004.