

# Influência da cor no perfil de carotenóides de grãos de milho para geração de cultivares biofortificados

Sara Almeida Rios<sup>1</sup>, Wilton Soares Cardoso<sup>2</sup>, Maria Cristina Dias Paes<sup>3</sup>, Aluizio Borém<sup>4</sup>, Paulo Evaristo de O. Guimarães<sup>5</sup>, Robert Eugene Schaffert<sup>5</sup>, Flávia França Teixeira<sup>5</sup>, Ana Flávia Gomes<sup>6</sup>

## Introdução

Os carotenóides representam uma família de mais de 600 compostos lipossolúveis encontrados nas plantas, microorganismos e alguns animais invertebrados [1]. Cerca de 50 carotenóides possuem atividade pró-vitamina A, sendo que o  $\beta$ -caroteno apresenta maior atividade pró-vitáminica, e, por este motivo, tem sido considerado um composto de interesse em programas de melhoramento genético para geração de grãos biofortificados, especialmente, em partes comestíveis de culturas agrícolas que constituam a dieta básica de populações com índices elevados de hipovitaminose A. Alguns exemplos de sucesso dos programas de biofortificação incluem batata doce melhorada para as condições do Quênia e o arroz dourado transgênico das Filipinas com teores elevados de carotenóides [2, 3].

O milho é considerado um vegetal carotenogênico [4], sendo os principais carotenóides encontrados nos grãos deste cereal classificados como xantofilas (luteína + zeaxantina), carotenos ( $\beta$ -caroteno, o  $\alpha$ -caroteno e o  $\beta$ -zeacaroteno) e monohidroxilados ( $\beta$ -criptoxantina). Variações no perfil de carotenóides de grãos de milho têm sido relatadas com influência direta da interação genótipo x ambiente [5, 6 e 7] e existe relação entre a cor amarela ou alaranjada do endosperma e a presença de carotenóides no grão [8]. Porém, não há informações disponíveis na literatura que permitam relacionar a intensidade de cor nos grãos e o perfil de carotenos e outras frações de carotenóides.

A seleção fenotípica com base na coloração da espiga proporcionaria maior rapidez e economia, se considerarmos que os programas de melhoramento utilizam análises químicas, onerosas, caras e demoradas, para quantificar os carotenóides nos grãos. Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito da variabilidade em coloração de espigas de milho no perfil de carotenóides dos grãos dentro de um mesmo acesso do germoplasma.

## Material e métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG. Foram utilizados quatro acessos do banco de germoplasma de milho da Embrapa Milho e Sorgo (BAG – milho), multiplicados em campo experimental da Embrapa, localizado no município de Nova Porteirinha, no ano agrícola de 2005/2006. A seleção das espigas dentro de um mesmo acesso foi feita com base em uma escala visual de cor (Fig. 1), considerando as mais claras (amareladas) em um grupo e as mais coloridas (alaranjadas) em outro grupo. As espigas destes dois grupos foram debulhadas separadamente, em debulhador mecânico, moídas em moinho ciclone (MARCONI), acondicionadas em frascos de vidro com tampa envoltos em papel alumínio, sendo armazenadas em freezer à temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  até posteriores análises químicas. Nas amostras moídas, foram quantificados os teores de carotenóides totais, carotenos ( $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos), xantofilas (luteína + zeaxantina) e monohidroxilados ( $\beta$ -criptoxantina), conforme protocolo cromatográfico descrito em RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA, [4]. As amostras foram analisadas para umidade conforme método 44-15A AACC, [9] e as concentrações de carotenóides foram expressas em base seca.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial  $4 \times 2$ , com quatro genótipos e duas intensidades de cor de espiga, utilizando-se 2 repetições. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software Systat 8.0, tendo sido aplicada a análise de variância e o teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

1. Mestranda em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, CEP 36570-000. E-mail: sarariooss@yahoo.com.br
2. Mestrando em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, CEP 36570-000. E-mail: wiltonscardoso@yahoo.com.br
3. Cientista de Alimentos, pesquisador, Ph.D. Embrapa/CNPMS, Sete Lagoas, MG, CEP 35701-970. E-mail: mcdpaes@cnpmc.embrapa.br
4. Dr. Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, CEP 36570-000. E-mail: borem@ufv.br
5. Melhorista, pesquisador, Dr., Embrapa/CNPMS, Sete Lagoas, MG, CEP 35701-970.
6. Estagiária - Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens da Embrapa/CNPMS, Sete Lagoas, MG, CEP 35701-970. E-mail: aflaviagsilva@yahoo.com.br

## Resultados e discussão

As médias obtidas para os teores de carotenóides totais (CT) e carotenos nos diferentes acessos são apresentadas na tabela 1.

Os acessos RS 445 e 535 apresentaram médias para os teores de CT e frações estatisticamente superiores aos demais acessos, considerando a seleção com base na espiga colorida. Portanto, a seleção de sementes oriundas de espigas mais alaranjadas, dentro destes acessos, poderia favorecer a seleção de genótipos superiores quanto ao teor de CT e demais frações de carotenóides de importância biológica. Porém, para os demais acessos, não houve diferença estatística entre a cor da espiga e o teor de CT e frações, indicando que, a seleção de materiais com base em espigas de coloração mais intensa, não corresponde, diretamente, a genótipos com melhores perfis de carotenóides, observando-se efeito significativo para o fator genótipo.

Os acessos BA 178, RS 445 e SP 586 apresentaram médias de CT estatisticamente iguais, porém superiores às médias do acesso RS 535, considerando a seleção com base na cor clara da espiga. Entretanto, para a seleção feita com base na coloração mais intensa, o acesso BA 178 apresentou médias inferiores aos demais.

Considerando o conteúdo de carotenos nos grãos de milho, não houve diferença estatística entre os acessos selecionados com base na cor clara da espiga. Comportamento semelhante foi observado para o teor de luteína+zeaxantina (dihidroxilados), considerando a seleção de espigas coloridas. Porém, espigas mais coloridas apresentaram médias de carotenos diferentes entre os acessos avaliados ( $p < 0,05$ ), sendo que para RS 445 e 535 os valores foram significativamente superiores aos demais ( $p < 0,05$ ).

O acesso RS 445 apresentou teor de  $\beta$ -criptoxantina estatisticamente superior aos demais, considerando as duas cores de espigas (clara e colorida). Porém, esta tendência não foi observada para os demais acessos. BA 178 apresentou médias estatisticamente inferiores para o teor deste carotenóide.

Os teores de luteína+zeaxantina nas espigas claras foram estatisticamente superiores nos acessos BA 178 e SP 586. O acesso RS 535 apresentou os menores valores médios da fração, considerando a mesma coloração de espiga.

Os resultados indicam a inexistência de relação direta entre o fenótipo colorido (espigas alaranjadas) e um maior teor de carotenóides totais, carotenos e xantofilas nos grãos de milho. A resposta à seleção quanto ao perfil de carotenóides nos grãos deste cereal com base na coloração da espiga é variável conforme o genótipo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Generation Challenge Program – Harvest Plus, pelo financiamento das atividades de pesquisa deste trabalho.

## Referências

- [1] BRITTON, G. 2005. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB Journal*. n. 9, p.1551-1558.
- [2] BEYER,P.; AL-BABILI, S.; YE, X.; LUCCA, P.; SCHAUB, P.; WELSCH, R.; POTRYKUS, I. 2002. Golden Rice: Introducing the  $\beta$ -Carotene Biosynthesis Pathway into Rice Endosperm by Genetic Engineering to Defeat Vitamin A Deficiency. *Journal of Nutrition*. 132:506S-510S.
- [3] CAMPOS, F.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; SOUZA, P.M. de et al. 2006. Provitamins A in vegetables marketed in formal and free market at Viçosa (MG), Brazil, during three seasons of the year. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. vol.26, no.1, pp. 33-40.
- [4] RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. 2001. A guide to carotenoid analysis in foods. ILSI Human Nutrition Institute. One Thomas Circle, NW, Washington, DC 20005-5802, USA, 64 p.
- [5] KURILICH A. C., JUVIK, J. A. 1999. Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, n.47,p.1948.
- [6] EGESSEL, C.O., WONG, J. C., LAMBERT, R. J., ROCHEFORD, T. R. 2003. Combining ability of maize inbreds for carotenoids and tocopherols. *Crop Science*, n.43, p.818-823.
- [7] EGESSEL C.O., WONG J.C., LAMBERT R.J., ROCHEFORD T.R. 2004. Gene Dosage Effects on Carotenoid Concentration in Maize Grain. *Maydica* n.48, p.183-190.
- [8] PALAISA, K.A.; MORGANTE, M.; WILLIAMS, M.; RAFALSKI, A. 2003. Contrasting effects of selection on sequence diversity and linkage disequilibrium at two phytoene synthase loci. *The plant cell*, v.15, n.8, p. 1795-1806.
- [9] American Association of Cereal Chemists. 2000. Approved Methods of the AACC, 10th Ed. Approved Methods 44-15A and 6-13. The Association: St. Paul, St. Paul, Minnesota.

**Tabela 1.** Carotenóides totais e carotenos em acessos do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas/MG, conforme a cor da espiga<sup>1</sup>

Acesso	Carotenóides Totais ( $\mu\text{g/g}$ )				Carotenos ( $\mu\text{g/g}$ )			
	Claras		Coloridas		Claras		Coloridas	
BA 178	23,81 $\pm$ 2,09	Aa	30,05 $\pm$ 2,09	Ab	3,24 $\pm$ 0,44	Aa	4,62 $\pm$ 0,44	Abc
RS 445	25,79 $\pm$ 2,09	Ba	44,45 $\pm$ 2,09	Aa	2,88 $\pm$ 0,44	Ba	7,43 $\pm$ 0,44	Aab
RS 535	15,30 $\pm$ 2,09	Bb	42,44 $\pm$ 2,09	Aa	2,79 $\pm$ 0,44	Ba	8,63 $\pm$ 0,44	Aa
SP 586	31,66 $\pm$ 2,09	Aa	37,67 $\pm$ 2,09	Aab	4,50 $\pm$ 0,44	Aa	5,63 $\pm$ 0,44	Ab

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (linha) e mesma letra minúscula (coluna) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> As médias foram expressas em base seca (média  $\pm$  erro padrão).

**Tabela 2.** Carotenóides monohidroxiados ( $\beta$ -criptoxantina) e dihidroxiados (luteína + zeaxantina) em acessos do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo (CNPMS), Sete Lagoas/MG, conforme a cor da espiga<sup>1</sup>

Acesso	Monohidroxiados ( $\mu\text{g/g}$ )				Dihidroxiados ( $\mu\text{g/g}$ )			
	Claras		Coloridas		Claras		Coloridas	
BA 178	3,96 $\pm$ 0,37	Ab	4,86 $\pm$ 0,37	Ab	16,62 $\pm$ 1,69	Aa	20,57 $\pm$ 1,69	Aa
RS 445	5,19 $\pm$ 0,37	Ba	9,80 $\pm$ 0,37	Aa	16,23 $\pm$ 1,69	Bab	27,95 $\pm$ 1,69	Aa
RS 535	3,45 $\pm$ 0,37	Bb	8,48 $\pm$ 0,37	Aa	9,07 $\pm$ 1,69	Bb	25,34 $\pm$ 1,69	Aa
SP 586	6,10 $\pm$ 0,37	Aa	6,06 $\pm$ 0,37	Ab	21,07 $\pm$ 1,69	Aa	25,98 $\pm$ 1,69	Aa

Médias seguidas pela mesma letra maiúscula (linha) e mesma letra minúscula (coluna) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

<sup>1</sup> As médias foram expressas em base seca (média  $\pm$  erro padrão).



**Figura 1.** Escala utilizada para separação de espigas dentro de um mesmo acesso de milho do banco de germoplasma da Embrapa Milho e Sorgo conforme dois níveis de intensidade de coloração: A = espigas coloridas (alaranjadas) e B = espigas claras (amareladas).