

## Carotenóides em Grãos de Cultivares de Milho Avaliados em Diferentes Ambientes de Cultivo

Sara A. Rios<sup>1</sup>, Maria C. D. Paes<sup>2</sup>, Aluizio Borém<sup>1</sup>, Cosme D. Cruz<sup>1</sup>, Paulo E. de O. Guimarães<sup>2</sup>, Carlos H. P. Pires<sup>2</sup> e Wilton S. Cardoso<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000, Viçosa, MG. [sarariosss@yahoo.com.br](mailto:sarariosss@yahoo.com.br).

<sup>2</sup>Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG. [mcdpaes@cnpmc.embrapa.br](mailto:mcdpaes@cnpmc.embrapa.br)

Palavras-chave: *Zea mays*, biofortificação, vitamina A, genótipos x ambientes.

A deficiência de vitamina A (DVA) continua sendo uma carência nutricional de impacto na saúde pública, pois atinge populações do mundo inteiro. A introdução de produtos agrícolas biofortificados, variedades melhoradas que apresentam um conteúdo maior de minerais e vitaminas, apresenta-se como uma alternativa complementar às intervenções em nutrição existentes para o combate da hipovitaminose A (MEDIUM-TERM PLAN, 2007).

O milho, espécie carotenogênica, apresenta-se como um cereal de extrema importância por ser alimento básico de populações no mundo inteiro. No Brasil, o milho e seus derivados são largamente consumidos na zona rural e região nordeste do país (DUTRA-DE-OLIVEIRA et al. 1996). Portanto, a identificação ou geração de cultivares de milho ricos em pró-vitamina A e o aumento de sua oferta poderiam melhorar de forma significativa a saúde e a longevidade da população em diversas partes do mundo (DESENVOLVENDO, 2004).

Vários estudos têm mostrado diferença significativa entre genótipos de milho para níveis de carotenóides e, apesar de escassos, resultados apontam para interação genótipo x ambiente para o teor destes compostos nos alimentos (MEDIUM-TERM PLAN, 2007). Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de carotenóides em grãos de cultivares comerciais de milho submetidos a diferentes ambientes de cultivo.

Foram utilizados dados obtidos do Ensaio de Variedades de Milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005, com cinco ambientes de cultivo (Tabela 1). Os cultivares avaliados foram: o híbrido duplo BRS 2020 e as variedades Fundacep 35, CMS 104, BRS Caatingueiro, BRS 473 cIII, UFVM100, CMS 102, CMS 101, BRS Missões e BRS São Francisco. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos casualizados com duas repetições. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de quatro metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e um estande final de aproximadamente 55.000 plantas por hectare.

As análises físico-químicas dos grãos foram conduzidas no Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG, avaliando-se os dez cultivares de milho, nos cinco ambientes de cultivo, quanto à composição de carotenóides. A debulha foi feita em debulhador mecânico, moendo-se os grãos obtidos em micro moinho, tipo ciclone MA 020 MARCONI (Piracicaba – SP), com posterior acondicionamento das amostras em frascos de vidro, tampados, lacrados com parafilme e envoltos em papel alumínio. Estes foram armazenados à temperatura de -20°C até

condução das análises químicas. As extrações foram realizadas segundo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya & Kimura (2004), com posterior quantificação de carotenóides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália), utilizando-se o comprimento de onda de 450nm. Carotenos ( $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos) e a xantofila ( $\beta$ -criptoxantina) que apresentam atividade pró-vitáminica A foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 (5 $\mu$ m, 4,6x250mm, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diodo. O gradiente de eluição foi conduzido a 0,8mL min<sup>-1</sup> em condições de gradiente linear 80:20 a 15:85 de metanol: éter metil *tert*-butil em 25 minutos, seguido por constante de 80:20 em 5 minutos, finalizando com 6 minutos de equilíbrio. A temperatura do laboratório foi mantida a 22°C durante todo o processo. Para identificação dos compostos foram utilizados padrões purificados a partir de cenoura e milho verde, seguindo protocolo descrito em Rodriguez-Amaya & Kimura (2004).

O total de carotenóides com atividade pró-vitáminica (Pro VA) foi obtido por meio da soma do total de  $\beta$ -caroteno + 1/2 de  $\beta$ -criptoxantina + 1/2 de  $\alpha$ -caroteno em cada amostra, considerando 100% de atividade pró-vitáminica A para  $\beta$ -caroteno e 50% para as outras duas variáveis. Os resultados foram expressos em base seca, com correções baseadas nos dados de teor de umidade realizada nas amostras, em duplicata, seguindo o método 44-15A da AACC (2000).

Os dados foram submetidos à análise de variância individual e conjunta e as médias foram comparadas pelo Teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade por meio dos recursos computacionais do software Genes versão 2007.0.0 (CRUZ, 2006 e 2007).

Tabela 1: Coordenadas geográficas para os cinco ambientes de avaliação, safra de 2004/2005. Fonte: Embrapa Milho e Sorgo/2006

Estado	Município	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Data de plantio
MG	Sete Lagoas <sup>(1)</sup>	19°28'00"	44°15'00"	732	27/11/2004
	Sete Lagoas <sup>(2)</sup>	19°28'00"	44°15'00"	732	03/12/2004
	Sete Lagoas <sup>(3)</sup>	19°28'00"	44°15'00"	732	03/12/2004
GO	Planaltina	15°27'10"	47°36'48"	1000	09/11/2004
	Goiânia	16°28'00"	49°17'00"	823	26/11/2004

<sup>(1)</sup> Solo fértil; <sup>(2)</sup> Altos níveis de adubação nitrogenada: 120 kg ha<sup>-1</sup> (20 kg no plantio e 100 kg em cobertura); <sup>(3)</sup> Baixos níveis de adubação nitrogenada: 20 kg ha<sup>-1</sup> (no plantio).

A média geral para CT foi de 23,11  $\mu$ g g<sup>-1</sup>, com variação entre os genótipos, nos diferentes ambientes, de 14,45  $\mu$ g g<sup>-1</sup> a 28,38  $\mu$ g g<sup>-1</sup>. Burt et al. (2006) apresentaram linhagens de um programa de biofortificação de milho com médias de CT variando entre 43,6 e 88,3  $\mu$ g g<sup>-1</sup>, evidenciando a possibilidade de sucesso no aumento de carotenóides totais nos grãos. Além disso, observa-se que as variedades comerciais de milho podem apresentar menor variabilidade quando comparado às linhagens elites, linhagens e acessos de banco de germoplasma, avaliados quanto ao teor e perfil de carotenóides nos grãos (BURT et al., 2006; PAES et al., 2006). Os maiores teores de CT foram observados nos ambientes 3 e 5 (24,18  $\mu$ g g<sup>-1</sup> e 24,16  $\mu$ g g<sup>-1</sup>), e menor no ambiente 2 (21,02  $\mu$ g g<sup>-1</sup>) (Tabela 2).

A média geral para a concentração de Pro VA foi de 1,96  $\mu\text{g g}^{-1}$ , sendo que as médias para os ambientes 1, 2, 3, 4 e 5 foram de 2,18  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 1,86  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 1,93  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 1,84  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 1,97  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente (Tabela 3). Os cultivares apresentaram variação de Pro VA entre 1,50  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 3,24  $\mu\text{g g}^{-1}$ , valores próximos àqueles encontrados por Ewool et al. (2006), de 2,9  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 3,5  $\mu\text{g g}^{-1}$ , para os genótipos GH9866SR e GH120DYFP, respectivamente. Foram observadas médias de Pro VA para o híbrido BRS 2020, estatisticamente superiores às demais, nos ambientes 1, 3 e 4, de 3,24  $\mu\text{g g}^{-1}$ , 2,32  $\mu\text{g g}^{-1}$  e 2,23  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

Tabela 2: Médias de carotenóides totais ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em cultivares de milho. Safra 2004/2005. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas

Cultivares	Ambientes									
	1		2		3		4		5	
BRS 2020	25,94	a	25,00	a	26,90	a	25,94	ab	28,38	a
Fundacep 35	21,48	bc	18,38	c	25,88	a	22,90	abc	19,63	d
CMS 104	20,57	c	18,81	c	20,45	c	15,38	d	21,40	cd
BRS Caatingueiro	25,88	a	23,93	a	24,44	ab	23,62	ab	26,71	ab
BRS 473 cIII	21,51	bc	22,48	ab	22,80	bc	22,11	bc	24,15	bc
UFVM100	23,00	b	22,20	ab	21,82	c	22,23	bc	23,04	bcd
CMS 102	26,29	a	23,00	ab	24,75	ab	23,31	ab	21,99	cd
CMS 101	22,91	b	14,45	d	22,75	bc	19,30	c	23,15	bcd
BRS Missões	21,50	bc	22,05	ab	25,43	a	24,04	ab	26,78	ab
BRS São Francisco	27,45	a	19,92	bc	26,59	a	26,59	a	26,36	ab
Média	23,65		21,02		24,18		22,54		24,16	
Amplitude	20,57-27,45		14,45-25,00		20,45-26,90		15,38-26,59		19,63-28,38	
CV (%)	2,29		3,65		2,54		4,25		4,03	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de Probabilidade. (1) Sete Lagoas (MG) - Fértil; (2) Goiânia (GO); (3) Sete Lagoas (MG) – Altos níveis de nitrogênio no solo (120 kg ha<sup>-1</sup>); (4) Sete Lagoas (MG) – Baixos níveis de nitrogênio no solo (20 kg ha<sup>-1</sup>); (5) Planaltina (GO). Os resultados são expressos em base seca.

Considerando a escassez de informações sobre a biossíntese de carotenóides, espera-se um grande salto nos programas de biofortificação após o detalhamento de toda a genética envolvida na carotenogênese do milho. Além disso, os países em desenvolvimento consomem mais de 90% de todo o milho branco produzido mundialmente (FAO, 2008), cujos teores de carotenóides são mínimos ou inexistentes em relação ao milho amarelo. Portanto, a difusão de produtos biofortificados, ainda que com baixos teores de carotenóides, proporcionaria mudanças no hábito alimentar, priorizando o consumo do milho amarelo, e, portanto, seriam observados progressos tanto na melhoria quanto na manutenção dos níveis de vitamina A no organismo humano.

Tabela 3: Médias de carotenóides com atividade pró-vitamina A (Pro VA) ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) em cultivares de milho. Safra 2004/2005. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas

Cultivares	Ambientes									
	1		2		3		4		5	
BRS 2020	3,24	a	2,25	a	2,32	a	2,23	a	1,76	de
Fundacep 35	2,18	c	1,68	de	1,90	de	1,78	c	1,84	d
CMS 104	2,04	cd	1,61	e	1,60	f	1,50	d	1,91	cd
BRS Caatingueiro	2,75	b	2,15	ab	2,13	b	1,98	b	2,17	abc
BRS 473 cIII	2,09	cd	1,74	cde	1,70	f	1,85	bc	1,52	e
UFVM100	1,94	cd	1,99	abc	2,04	bcd	1,94	bc	2,42	a
CMS 102	1,99	cd	1,93	bcd	1,96	cde	1,93	bc	1,72	de
CMS 101	1,70	d	1,64	de	1,70	f	1,52	d	2,21	ab
BRS Missões	1,80	cd	1,86	bcde	1,86	e	1,88	bc	2,18	abc
BRS São Francisco	2,09	cd	1,75	cde	2,09	bc	1,84	bc	1,98	bcd
Médias	2,18		1,86		1,93		1,84		1,97	
Amplitude	1,68-3,29		1,56-2,26		1,56-2,32		1,4-2,26		1,50-2,50	
CV (%)	4,89		3,92		2,01		2,21		3,45	

Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey, ao nível de 5% de Probabilidade. (1) Sete Lagoas (MG) - Fértil; (2) Goiânia (GO); (3) Sete Lagoas (MG) – Altos níveis de nitrogênio no solo ( $120 \text{ kg ha}^{-1}$ ); (4) Sete Lagoas (MG) – Baixos níveis de nitrogênio no solo ( $20 \text{ kg ha}^{-1}$ ); (5) Planaltina (GO). Os resultados são expressos em base seca.

Detectou-se interação entre genótipos e ambientes para carotenóides totais e carotenóides com atividade provitamina A (Pro VA) ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ), em grãos de milho. Os teores de carotenóides nos cultivares avaliados foram inferiores em relação à variabilidade existente em materiais brasileiros e internacionais. Ainda assim, sua utilização poderia proporcionar progressos tanto na melhoria quanto na manutenção dos níveis de vitamina A no organismo humano.

### Referências bibliográficas

- AACC. American Association of Cereal Chemists. *Approved Methods*, 10. ed. St. Paul: AACC, 2000.
- BURT, A. J.; SMID, M. P.; SHELP, B. J.; LEE, E. A. High carotenoid maize project: increased accumulation and modified chemical profiles. Book of Poster Abstracts. *International Plant Breeding Symposium*, Honoring John Dudley. Mexico City, 20-25 August, 2006.
- CRUZ, C.D. Biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 2006. 382p.
- CRUZ, C.D. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/genes/genes.htm>. Acesso em 27/11/2007.

DESENVOLVENDO PRODUTOS AGRÍCOLAS MAIS NUTRITIVOS. 2004. Disponível em: <http://www.harvestplus.org/pdfs/brochurepo.pdf>. Acesso em: 02 de maio de 2006.

EWOOL, M.B. SALLAH, P.Y.K.; NELSON-QUARTEY, F.; MENKIR, A. Potentials for improving maize for iron, zinc and beta-carotene content in Ghana. In: Book of Poster Abstracts. *International Plant Breeding Symposium*, Honoring John Dudley. Mexico City, 20-25 August, 2006.

FAO Utilization. In: White Maize: a Traditional Food Grain in Developing Countries. Chapter 4, (Docrep FAO). Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/W2698E/w2698e04.htm#iv.%20utilization>>. Acesso em: 28 de janeiro de 2008.

MEDIUM-TERM PLAN: 2008-2010, June 2007. Disponível em: <http://www.harvestplus.org/pdfs/hpmt20082010.pdf>>. Acesso em: 25 de jan de 2008.

PAES, M. C. D.; GUIMARÃES, P. E. O.; SCHAFFERT, R. E. (2006). Perfil de carotenóides em linhagens elite de milho. 26º Congresso Nacional de Milho e Sorgo. *Inovando para sistemas integrados de produção*, 27 a 31 de agosto de 2006. Belo Horizonte, MG. ABMS - 638p.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.; KIMURA, M. *HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis*. Washington, DC and Cali: IFPRI and CIAT, 2004. 58p. (HarvestPlus Technical Monograph, 2).