

Influência da Aplicação de Herbicidas sobre a Composição de Carotenóides em Milho Verde

Maria Cristina Dias Paes¹, Sara de Almeida Rios² e Décio Karam³

¹ Doutora em Ciência de Alimentos e Nutrição, Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas- MG, mcdpaes@cnpms.embrapa.br ² Doutoranda em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, sarariosss@yahoo.com.br ³ Pesquisador, Embrapa Milho e Sorgo, karam@cnpms.embrapa.br

Palavras-chave: qualidade, milho verde, carotenóides, sulfoniluréias, triquetonas

Na cultura do milho a aplicação de herbicidas é uma necessidade de ordem econômica, garantindo eficiência no controle das plantas daninhas, um dos fatores que afetam a produtividade (López-Ovejero *et al.*, 2003). Porém, alguns grupos químicos de herbicidas recomendados para esta cultura, a exemplo das triquetonas, atuam inibindo a biossíntese de carotenóides (Karam e Cruz, 2004), por meio do efeito indireto causado na depleção do co-fator da enzima fitoeno desidrogenase, catalizadora da reação de conversão do fitoeno em fitoflueno, necessário à produção de licopeno, precursor dos carotenóides, substâncias de importância econômica na produção de aves e biológica para a saúde humana (Astner *et al.*, 2007; Britton *et al.*, 2004), que estão presentes em diversas partes do milho (Schulz *et al.*, 1993). Considerando a crescente preocupação dos consumidores com a qualidade do alimento e a ausência de informações disponíveis sobre o efeito da aplicação de herbicidas na composição de fitoquímicos em grãos de milho, o objetivo deste estudo foi avaliar a resposta da aplicação de herbicidas pós-emergentes de diferentes grupos químicos no perfil de carotenóides em grãos de milho verde. Para tanto, experimento foi conduzido em campo experimental do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG, sendo o plantio realizado no ano agrícola de 2007, utilizando-se dois cultivares comerciais de milho (BRS 1030 e P30F53) em que foram aplicados cinco tratamentos, sendo: 1) controle sem aplicação, 2) foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium (40 g. ha⁻¹); 3) nicosulfuron (20 g. ha⁻¹); 4) mesotrione (120 g.ha⁻¹) e 5) tembotrione (100 g.ha⁻¹), correspondendo os de número 2 e 3 ao grupo das sulfoniluréias e os demais triquetonas. Todos os tratamentos herbicidas constituíram mistura com atrazine a 1000 g.ha⁻¹, considerando ser esta prática usualmente adotada pelos produtores. As aplicações dos herbicidas foram feitas em pós-emergência aos 28 dias pós-germinação (estádios entre V3 e V4). O delineamento experimental aplicado no campo foi o de blocos ao acaso em esquema fatorial 2 x 5, constituído de duas cultivares e cinco tratamentos, com duas repetições. As espigas de milho foram aleatoriamente colhidas em cada parcela experimental correspondente ao tratamento no estágio reprodutivo R3, acondicionadas em sacos plásticos, cobertas com sacos de papel e, imediatamente, transferidas ao Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, onde foram realizadas as análises químicas. Dez espigas por repetição constituíram a unidade experimental para o ensaio laboratorial. As espigas foram despalhadas e os grãos foram cortados da espiga. A amostra composta das dez

unidades experimentais por repetição foi quarterizada e a alíquota final triturada em liquidificador até completa homogeneização. As amostras moídas foram transferidas para frascos de vidro com tampa, lacrados com filme parafinado e cobertos com papel alumínio, sendo armazenadas em freezer à -18°C até posteriores análises químicas, que foram realizadas em duplicata.

Os carotenóides foram extraídos em esquema seqüencial de solventes orgânicos conforme protocolo descrito por Kurilich e Juvik (1999) e quantificados em técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 (5µm, 4.6x250mm, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diodo. O gradiente de eluição foi conduzido a 0,8 mL. min⁻¹ 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. Para identificação dos compostos foram utilizados padrões purificados a partir de cenoura e milho verde, seguindo protocolo descrito em Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Os resultados foram expressos em base fresca. Os teores de luteína, zeaxantina, β-criptoxantina, α-caroteno e β-caroteno foram quantificados a partir dos cromatogramas, sendo os resultados expressos em base fresca. O teor de carotenóides totais (CT) foi obtido pela soma dos valores de todas as frações quantificadas para cada replicata analítica. Os dados de carotenóides com atividade pró vitamínica A (Pro-VA) foram obtidos a partir dos resultados de cada fração, por meio da seguinte fórmula : total β-caroteno + ½ total de α-caroteno + ½ do total de β-criptoxantina (µg. g⁻¹).

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), seguidos por aplicação de teste de Tukey para comparação de médias a 5% de probabilidade, quando identificada significância para o teste de F. O software aplicado às análises estatísticas foi o Sisvar 5.0, Ferreira (2000).

A interação dos fatores foi significativa para o teor de carotenóides totais nos grãos de milho verde, sendo as médias para esta variável significativamente superiores ao controle quando o herbicida nicosulfuron (20 g. ha⁻¹) foi aplicado ao cultivar BRS1030 e foramsulfuron+iodosulfuron (40 g. ha⁻¹) foi aplicado ao cultivar 30F53 (Tabela 1). Entretanto, as médias para o tratamento com nicosulfuron (20 g. ha⁻¹) não diferiu daqueles dos tratamentos com tembotrione (100 g. ha⁻¹) e foramsulfuron+iodosulfuron (40 g. ha⁻¹) aplicados ao BRS1030.

Os teores de carotenóides totais foram maiores para o BRS 1030 em todos os tratamentos, exceto quando aplicado o herbicida foramsulfuron-iodosulfuron em dose 40 g. ha⁻¹, não havendo diferença significativa entre os genótipos dentro deste tratamento (p>0.05) (Tabela 1). Considerando possuírem as sulfoniluréias, classe a que pertencem os herbicidas nicosulfuron e foramsulfuron, ação inibitória na síntese de aminoácidos alifáticos de cadeia lateral (valina, leucina e isoleucina) e havendo poucas informações sobre os mecanismos envolvidos na síntese e acúmulo de carotenóides em milho, especialmente nos grãos, estudos complementares com detalhes aos aspectos bioquímicos devem ser conduzidos para esclarecer a possível relação existente entre os mecanismos de síntese de proteínas, que envolvam estes aminoácidos, e a deposição de carotenóides em grãos de milho, esclarecendo possível influência favorável destes herbicidas na síntese de carotenóides em grãos de milho.

A interação dos fatores genótipo e herbicidas foi também significativa para a composição de zeaxantina das amostras de grãos, que foi identificado como o principal carotenóide presente nas amostras dos tratamentos estudados.

Tabela 1. Médias de teores de carotenóides totais e zeaxantina em grãos de milho verde resultantes da produção com aplicação ou não de herbicidas, Sete Lagoas, MG, 2007.

Tratamentos	Carotenóides totais ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		Zeaxantina ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	BRS 1030	30F53	BRS 1030	30F53
Controle	12,21 b A	10,34 b B	9,85 b A	6,49 ab B
Foram+ iodoss	13,71 ab A	13,42 a A	11,03 ab A	7,55 a B
Nicosulfuron	15,42 a A	9,63 b B	12,34 a A	5,75 b B
Mesotrione	12,54 b A	8,43 b B	10,03 b A	5,34 b B
Tembotrione	14,16 ab A	10,27 b B	11,37 ab A	5,71 b B

*Foram + iodoss = foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium ($40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$); **Nicosulfuron ($20 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$); Mesotrione ($120 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$); Tembotrione ($100 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna para mesmo cultivar e maiúscula na linha entre cultivares para mesmo componente químico não diferem entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Teor deste carotenóide em grãos de milho verde do genótipo BRS 1030, submetido ao tratamento com o herbicida nicosulfuron ($20 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$), foi significativamente diferente do controle sem aplicação ($p<0.05$), mas significativamente semelhante para os tratamentos com foramsulfuron e tembotrione ($p>0.05$) para o cultivar BRS 1030 (Tabela 1). Diferentemente, a aplicação de foramsulfuron+iodossulfuron ($40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$) não promoveu alteração na composição de zeaxantina no milho verde para o cultivar 30F53 ($p<0.05$), sendo a média de zeaxantina para este tratamento semelhante à testemunha sem aplicação, embora diferente daqueles dos demais tratamentos herbicidas ($p<0.05$).

Grãos verdes do cultivar BRS1030 apresentaram teor médio de zeaxantina significativamente superiores àqueles do 30F53, independente do tratamento aplicado.

O teor de luteína nos grãos verdes de milho foi apenas influenciado pelo fator genótipo ($p<0.05$), com média significativamente superior para 30F53 ($1,86 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) comparada a BR1030 ($0,85 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$). Já o teor de α -caroteno não diferiu entre os genótipos ou tratamentos herbicidas, apresentando média geral de $0,02 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

A interação entre os fatores também foi significativa para a resposta teor de β -criptoxantina, embora diferenças nos teores médios tenham ocorrido apenas para o tratamento foramsulfuron+iodossulfuron ($40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$) entre cultivares, como também entre os tratamentos herbicidas dentro do cultivar 30F53 ($p<0.05$) (Tabela 2). O teor médio de β -criptoxantina foi maior para o tratamento herbicida foramsulfuron+iodossulfuron ($40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$), dentro do genótipo 30F53, média que foi significativamente superior àquela obtida para BRS1030 para o mesmo tratamento herbicida.

Para o carotenóide com maior atividade pró vitamínica A, β -caroteno, diferenças foram identificadas nas médias do teor em milho verde entre genótipos e tratamentos herbicidas, havendo significância para a interação dos fatores ($p<0.01$).

O teor médio de β -caroteno foi superior para os tratamentos herbicidas em relação ao controle no cultivar BRS1030 e inferior para o tratamento com mesotrione ($120 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$) quando aplicado ao cultivar 30F53 (Tabela 2).

Tabela 2. Médias de teores de β -criptoxantina e β -caroteno em grãos de milho verde resultantes da produção com aplicação ou não de herbicidas, Sete Lagoas, MG, 2007.

Tratamentos	β -criptoxantina($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)		β -caroteno ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	
	BRS 1030	30F53	BRS 1030	30F53
Controle	0,77 a A	0,79 b A	0,88 c B	1,24 b A
Foram+ iodios	0,77 a B	1,40 a A	0,97 ab B	2,32 a A
Nicosulfuron	0,78 a A	0,79 b A	1,31 a A	1,30 b A
Mesotrione	0,64 a A	0,67 b A	1,03 ab A	0,94 c A
Tembotrione	0,80 a A	0,90 b A	1,17 ab B	1,53 b A

*Foram + iodios = foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium (40 g. ha⁻¹);**Nicosulfuron (20 g. ha⁻¹); Mesotrione (120 g. ha⁻¹); Tembotrione (100 g. ha⁻¹). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna para mesmo cultivar e maiúscula na linha entre cultivares para mesmo componente químico não diferem entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

O teor médio de β -caroteno foi superior para os tratamentos herbicidas em relação ao controle no cultivar BRS1030 e inferior para o tratamento com mesotrione (120 g. ha⁻¹) quando aplicado ao cultivar 30F53 (Tabela 2).

O teor médio de pro-VA diferiu entre os tratamentos herbicidas e destes ao controle para o cultivar BRS 1030, mas as médias de pro-VA foram diferentes nos grãos de milho verde produzidos com aplicação de foramsulfuron+iodossulfuron (40 g. ha⁻¹) e mesotrione(120 g. ha⁻¹), sendo os valores superiores para foramsulfuron e inferior para mesotrione em relação ao controle sem aplicação de herbicida para o cultivar 30F53 (Tabela 3).

Tabela 3. Médias de teores de carotenóides com atividade pró vitamínica A ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em grãos de milho verde resultantes da produção com aplicação ou não de herbicidas, Sete Lagoas, MG, 2007.

Tratamentos	Cultivares	
	BRS 1030	30F53
Controle	1,27 a A	1,64 bc A
Foram+ iodios	1,36 a B	3,03 a A
Nicosulfuron	1,71 a A	1,71 bc A
Mesotrione	1,36 a A	1,28 c A
Tembotrione	1,58 a B	1,99 b A

*Foram + iodios = foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium (40 g. ha⁻¹);**Nicosulfuron (20 g. ha⁻¹); Mesotrione (120 g. ha⁻¹); Tembotrione (100 g. ha⁻¹). Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Diferenças entre médias de carotenóides com atividade pró vitamínica A no milho verde foram ainda identificadas entre os tratamentos com tembotrione, mesotrione e foramsulfuron+iodossulfuron aplicados a 30F53. Grãos de milho verdes do cultivar 30F53, resultantes de aplicação com herbicida foramsulfuron+iodossulfuron (40 g. ha⁻¹) e tembotrione

(100 g. ha⁻¹), apresentaram teores de pro-VA maiores do que aqueles resultantes do BRS1030 com mesmos tratamentos herbicidas, possivelmente influenciados pelo conteúdo de β- caroteno.

Apesar dos herbicidas mesotrione e tembotrione atuarem sobre o fotossistema e a biossíntese de carotenóides, apenas o primeiro na dose de 100 g. ha⁻¹ teve influência nos teores de β-caroteno nos grãos verde de milho, resultando em menor teor de carotenóides pro-VA para o cultivar 30F53. Outras modificações no perfil de carotenóides nos grãos de milho verde, como resultado da aplicação dos herbicidas foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium (40 g. ha⁻¹);nicosulfuron (20 g. ha⁻¹) e tembotrione (100 g. ha⁻¹) foram positivas para alguns componentes. Portanto, a escolha de herbicidas na produção de milho verde deve ser cuidadosa, observando tanto o cultivar como a dose a ser aplicada, principalmente para a garantia da qualidade nutricional do produto destinado ao consumo humano.

Estudos complementares para avaliação da influência de uso de agroquímicos na composição química de grãos de milho devem ser realizados com maior número de genótipos, considerando a importância deste fator nas variáveis analisadas neste trabalho.

Referências bibliográficas

ASTNER, S.; WU, A.; CHEN, J., et al. (2007). Dietary lutein/zeaxanthin partially reduces photoaging and photocarcinogenesis in chronically UVB-irradiated Skh-1 hairless mice. **Skin Pharmacology and Physiology**, 20: 283-291.

BRITTON, G., LAAEN JENSEN, S., PFANDER, H. (2004). **Carotenoids Handbook**- Basel: Birkauer Verlag. 562p.

FERREIRA, D. F. 2000. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos**. São Carlos: UFSCar, p. 235.

KARAM, D.; MELHORANÇA, A. L. **Plantas Daninhas**. In: Cultivo do milho. CRUZ, J.C. (Ed). , 2007. Sistemas de produção, 2. Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/plantadaninhas.htm>>. Acesso em: 23 de nov de 2007.

KURILICH, A. C.; JUVIK, J. A. (1999). Quantification of carotenoid and tocopherol antioxidants in *Zea mays*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47:1948-1995.

LOPEZ-OVEJERO, R. F. ; FANCELLI, A. L. ; DOURADO NETO, D. ; GARCIA, A. G. ; CHRISTOFFOLETI, P. J. 2003. Seletividade de Herbicidas para a Cultura de Milho (*Zea mays*) Aplicados em Diferentes Estádios Fenológicos da Cultura. **Planta Daninha**, 21:3, p. 413-419,

SCHULZ, A., ORT,O., BEYER, P., KLEINIG, H. 1993. SC-0051, A 2- benzoyl-cyclohexane-1,3-dione bleaching herbicide, is a potent inhibitor of the enzyme p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. **FEBS Letters** . 318:162-166.

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