

**SARA DE ALMEIDA RIOS**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE  
HERBICIDAS PÓS-EMERGENTES NA COMPOSIÇÃO DE CAROTENOIDES  
EM GRÃOS DE MILHO**

**Tese apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Melhoramento, para obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.**

**VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2010**

**SARA DE ALMEIDA RIOS**

**DIVERSIDADE GENÉTICA E INFLUÊNCIA DA APLICAÇÃO DE  
HERBICIDAS PÓS-EMERGENTES NA COMPOSIÇÃO DE CAROTENOIDES  
EM GRÃOS DE MILHO**

**Tese apresentada à Universidade Federal de  
Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Genética e  
Melhoramento, para obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.**

Aprovada: 11 de junho de 2010.

---

Dra. Maria Cristina Dias Paes  
(Co-orientadora)

---

Prof. João Carlos Cardoso Galvão  
(Co-orientador)

---

Dra. Tânia Cristina de O. Gondim

---

Prof. Paulo Roberto Cecon

---

Prof. Aluizio Borém de Oliveira  
(Orientador)

**A DEUS,**

Aos meus pais, irmãs, sobrinhos e, especialmente, ao meu esposo Samuel e a nossa filha Laura, os quais me incentivaram e me deram força para concluir mais este projeto de vida.

**DEDICO.**

## **AGRADECIMENTOS**

A DEUS por sempre me dar forças e iluminar o meu caminho.

Aos meus pais Nelci Rios e Celma Almeida pelo amor e apoio infinitos.

Às minhas irmãs Cíntia, Soraia e Solange Rios pela força e carinho.

Ao grande amor da minha vida, meu esposo Samuel, por tudo!

A minha filha Laura Campos Rios que a cada dia ilumina mais a minha vida. Amo você!

À Universidade Federal de Viçosa – UFV, funcionários e amigos. Obrigada!

À EMBRAPA/CNPMS, todos os funcionários e amigos. Obrigada!

Ao Prof. Aluizio Borém pela orientação incondicional, apoio, amizade e ensinamentos.

Obrigada!

Aos meus co-orientadores Dra. Maria Cristina Dias Paes e Dr. João Carlos Cardoso Galvão, pelos ensinamentos e orientações e pelo apoio na realização deste experimento.

Obrigada!

Aos meus conselheiros, Dra. Tânia e Prof. Cecon por toda atenção e contribuições.

Obrigada!

Aos colegas de laboratório, estagiários, funcionários da Embrapa Milho e Sorgo e amigos pelo apoio técnico.

Aos demais professores e funcionários do Programa de Pós-graduação da UFV.

Aos queridos amigos de república, de curso e de caminhada: em especial às Danis (Formiga e Belém).

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Harvest Plus – Challenge Program pelos recursos destinados ao programa de biofortificação de alimentos.

E a todos que direta ou indiretamente colaboraram para o sucesso deste trabalho.

**OBRIGADA.**

## **BIOGRAFIA**

SARA DE ALMEIDA RIOS, filha de Nelci Gonçalves Rios e Celma José de Almeida, nasceu em 25 de maio de 1982, em Belo Horizonte, estado de Minas Gerais.

Cursou o ensino fundamental e médio científico na rede pública, na cidade de Sete Lagoas/MG e, em 2001 iniciou o curso de Engenharia Agrônômica/ Bacharelado, na Universidade Estadual de Montes Claros/UNIMONTES, no campus de Janaúba/MG.

No ano de 2003 ingressou como bolsista de iniciação científica, pelo CNPq, trabalhando com “Sistema de previsão para controle de Sigatoka em bananeiras no Norte de Minas”, sob orientação do Dr. Mário Sérgio Carvalho Dias, na Epamig/CTNM, por onde permaneceu como bolsista/estagiária, por três anos.

Em abril de 2005 iniciou o projeto de conclusão de curso no Laboratório de Cultura de Tecidos e Células Vegetais da UNIMONTES, sob orientação da Dra. Sílvia Nietsche, trabalhando com “COMPRIMENTO DE EXPLANTES E PROTOCOLOS DE

ASSEPSIA PARA MICROPROPAGAÇÃO DE BANANEIRA (*Musa* sp.) ‘PRATA ANÃ’”, monografia aprovada em 12 de Janeiro de 2006.

Em fevereiro de 2006 foi selecionada pelo programa de Pós-Graduação, Mestrado *Stricto Sensu*, em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa. Sob orientação do professor Aluizio Borém, realizou seus experimentos na Embrapa Milho e Sorgo – CNPMS, trabalhando com Adaptabilidade e estabilidade de carotenoides em milho. A dissertação foi aprovada em 25 de fevereiro de 2008.

Em março de 2008 iniciou o doutorado neste mesmo programa, sob orientação do professor Aluizio Borém tendo finalizado os créditos e a qualificação em abril de 2010.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	IX
ABSTRACT .....	XI
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS .....	5
Divergência genética entre cultivares de milho quanto ao teor de carotenoides nos grãos .....	8
Resumo.....	8
Abstract .....	9
Introdução .....	10
Material e métodos .....	11
Resultados e discussão .....	14
Conclusões .....	20
Referências.....	20
Análise de trilha para carotenoides em milho .....	25
Resumo.....	25
Abstract .....	25



Introdução .....	26
Material e métodos .....	28
Resultados e discussão .....	30
Conclusões .....	36
Referências.....	36
Teor e perfil de carotenoides em milho verde sob a aplicação de herbicidas pós-emergentes .....	40
Resumo.....	40
Abstract .....	41
Introdução .....	41
Material e Métodos .....	42
Resultados e Discussão .....	44
Referências.....	46
CONCLUSÕES FINAIS.....	51

## RESUMO

RIOS, Sara de Almeida, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2010.  
**Diversidade genética e influência da aplicação de herbicidas pós-emergentes na composição de carotenoides em grãos de milho.** Orientador: Aluizio Borém de Oliveira. Co-Orientadores: Maria Cristina Dias Paes e João Carlos Cardoso Galvão

Os objetivos deste trabalho foram: 1. estimar a diversidade genética entre cultivares de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos; 2. estimar as correlações genéticas e as relações de causa e efeito por meio da análise de trilha e 3. analisar os teores de carotenoides em grãos de milho submetidos à aplicação de herbicidas distintos. Para os dois primeiros objetivos, foram utilizados os dados de 10 cultivares de milho avaliados em diferentes ambientes, no ano agrícola de 2004/2005, utilizando-se o delineamento experimental de blocos casualizados com duas repetições. Já para o terceiro objetivo, utilizou-se o híbrido BRS 1030, em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos - sem aplicação; foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium ( $40 \text{ g.ha}^{-1}$ ); nicosulfuron ( $20 \text{ g.ha}^{-1}$ ); mesotrione ( $120 \text{ g.ha}^{-1}$ ) e tembotrione ( $100 \text{ g.ha}^{-1}$ ) e duas repetições. As análises químicas foram conduzidas no Laboratório de Qualidade de Grãos do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG. Foram quantificados os teores de

carotenoides totais (CT), luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno,  $\beta$ -caroteno, total de carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA), expressos em base seca e fresca ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) e produtividade de grãos ( $\text{kg.ha}^{-1}$ ). Os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética entre os cultivares estudados foram luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de avaliação. Foram obtidas correlações positivas elevadas entre  $\beta$ -caroteno e as variáveis zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina e CT. Porém, apenas zeaxantina apresentou alta correlação e alto efeito direto sobre o  $\beta$ -caroteno. A aplicação de herbicidas nas doses avaliadas não reduziu os teores de carotenoides, embora a composição dos grãos tenha apresentado diferenças para  $\beta$ -caroteno e percentuais de luteína e carotenoides precursores de vitamina A.

## ABSTRACT

RIOS, Sara de Almeida, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, June of 2010. **Genetic diversity and influence of postemergence herbicides application on the composition of carotenoids in maize.** Adviser: Aluizio Borém de Oliveira. Co-Advisers: Maria Cristina Dias Paes and João Carlos Cardoso Galvão

The aims of this work were: 1. estimate the genetic diversity among maize cultivars in carotenoids corn grain composition; 2. estimate the genetic correlations and the relations of cause and effect through path analysis and 3. analyze carotenoids levels in maize submitted to different herbicides application. For the first two goals, it was used data from ten maize cultivars grown under different environments in the 2004/2005 growing season, using a randomized complete block design with two replications. As for the third objective, it was used BRS 1030 hybrid, in a completely randomized design with five treatments - without application; foramsulfuron iodosulfuron-methyl-sodium ( $40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), nicosulfuron ( $20 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), mesotrione ( $120 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) and tembotrione ( $100 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) and two replications. The chemical analyses were conducted at the Laboratory of Quality of Grain from the National Research Center of Embrapa Maize and Sorghum, located in Sete Lagoas, MG. Total carotenoids (TC), lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin,  $\alpha$  and  $\beta$ -carotenes, total carotenoids precursors of

vitamin A (Pro VA), expressed on a dry basis and fresh weight ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) and grain yield ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) were evaluated. The characteristics that most contribute to the genetic diversity among cultivars were lutein and zeaxanthin, considering the two evaluation environments. Positive and high correlation was found between  $\beta$ -carotene and the carotenoids zeaxanthin,  $\beta$ -cryptoxanthin and TC. However, only zeaxanthin showed high correlation and high direct effect on  $\beta$ -carotene. The post-emergent herbicides application evaluated did not reduce carotenoids contents, although the corn green composition presented differences for  $\beta$ -carotene and percentage of lutein and pro vitamin A carotenoids.

## **1. INTRODUÇÃO GERAL**

Estatísticas atuais apontam ascensão do número de desnutridos em diversas regiões do globo, ainda que nas décadas de 80 e 90 tenham sido alcançados progressos positivos na redução da fome no mundo (FAO, 2009). A inanição, a monotonia alimentar e os fatores coadjuvantes como a reduzida ingestão de nutrientes, alta prevalência de infecções, falta de saneamento ambiental e de água tratada, dentre outras condições socioeconômicas desfavoráveis, aspectos característicos das populações de baixa renda, contribuem para o quadro de deficiências nutricionais prevalente nos países em desenvolvimento (RAMALHO e SAUNDERS, 2000).

Os principais micronutrientes deficientes nas populações de risco são o ferro, o zinco e a vitamina A e, ainda que existam diferentes programas de combate a essas deficiências, a exemplo da suplementação medicamentosa, a fortificação de alimentos e programas de educação nutricional para a diversificação da dieta, não é raro que os setores envolvidos nesta luta se deparem com problemas severos de carências nutricionais e desnutrição no mundo. Logo, novas estratégias têm sido desenvolvidas a fim de auxiliar os programas de intervenção nutricional existentes para o combate às deficiências em micronutrientes e prevenção de doenças crônico-degenerativas. Dentre

estas estratégias está a biofortificação de alimentos, cujo principal objetivo é o de aumentar os teores de nutrientes importantes para a saúde humana, conseqüentemente, aumentando a qualidade nutricional dos mesmos, tanto por meio do melhoramento convencional quanto pela transgenia (HARVEST PLUS, 2010).

Os programas de biofortificação se baseiam na premissa de que os alimentos mais consumidos pelas populações de risco, a exemplo do arroz, trigo, mandioca e milho, contém níveis insuficientes de micronutrientes para atender às necessidades diárias destas populações. Além disso, esses nutrientes estão divididos distintamente entre as culturas e, ainda, em partes distintas dos órgãos e tecidos vegetais. Por exemplo, os teores de ferro no arroz são altos nas folhas e muito baixos em grãos polidos. Da mesma forma, os carotenoides provitamina A só são encontrados nas folhas desta cultura (HIRSCHI, 2009; TANG et al., 2009).

Em 2005 ocorreu a implantação do programa Harvest Plus de biofortificação, uma aliança mundial de instituições de pesquisa e de entidades executoras que se uniram para melhorar e disseminar produtos de melhor qualidade nutricional. Na América Latina, a aliança AgroSalud se destaca no empenho em desenvolver cultivares de milho, arroz, feijão e batata, biofortificados, com características agrônômicas favoráveis e mais eficientes no uso de água e insumos agrícolas (AGROSALUD, 2010).

O milho é uma cultura estratégica para uso como biofortificado, especialmente por ser uma espécie carotenogênica, o que possibilita sua utilização na alimentação humana como fonte de carotenoides precursores da vitamina A. Além disso, o cultivo do milho tem se destacado entre as atividades de pequenos produtores, uma vez que o grão é utilizado tanto na alimentação animal quanto para o consumo humano.

Entre os maiores consumidores mundiais desta espécie estão México, Zâmbia e Zimbábue, entre 110 e 122 kg/per capita/ano. Porém, o milho permanece como base da alimentação unicamente na Mesoamérica, região de origem da espécie e, também, na América do Sul, na qual a planta teve uma grande expansão na época pré-colombiana, área considerada de domesticação secundária e algumas regiões do continente africano (IBGE, 2002-2003).

No Brasil, o consumo de milho é bem inferior ao do México, porém, muito mais pronunciado em algumas regiões do país. No Nordeste brasileiro, o consumo anual de produtos a base de milho é de aproximadamente 11,22 kg *per capita*, consumo este 30% maior do que a média nacional, de 8,0 kg/per capita/ano (IBGE, 2002-2003). A zona rural da região Sudeste é a maior consumidora de milho e derivados, atingindo uma média de 31,8 kg/per capita/ano (IBGE, 2002-2003), seguida pela zona rural da região Nordeste (19,84 kg/per capita/ano). Estes dados caracterizam a importância desta cultura na alimentação humana de populações rurais e urbanas de diferentes regiões brasileiras e de todo o mundo.

Em condições que se empregam baixas tecnologias de cultivo, as variedades, em detrimento à utilização de híbridos simples comerciais, apresentam desempenho satisfatório, com outras vantagens ligadas à sustentabilidade da produção. Cecarelli *et al.* (1994) relata ganho ambiental superior, uma vez que o uso de variedades adaptadas localmente, mantém a diversidade genética das espécies, podendo servir de fonte para o melhoramento.

As variedades de milho são materiais de base genética ampla, capazes de melhor suportar os estresses bióticos e abióticos (resistência a doenças, pragas, desequilíbrios climáticos, entre outros) e as sementes podem ser armazenadas para as safras seguintes, diminuindo o custo de produção, o que não é viável quando da utilização de híbridos simples (ROMANO *et al.*, 2007).



Resultados da biofortificação de milho, ainda que incipientes, principalmente por se tratar de um programa jovem de melhoramento genético, apontam existência de variabilidade genética para ferro, zinco e carotenoides precursores de vitamina A, o que viabiliza a obtenção de cultivares biofortificados, por meio do melhoramento genético (CARDOSO et al., 2009; GUPTA et al., 2009). E, em muitos casos, informações sobre a relação entre os diferentes nutrientes, efeitos da capacidade geral e específica de combinação, estudos de diversidade genética, interação genótipo x ambiente e adaptabilidade e estabilidade para alguns desses micronutrientes já estão disponíveis na literatura científica (EGESEL et al., 2003; HARJES et al., 2008; CARDOSO et al., 2009; RIOS et al., 2009). Porém, ainda são incipientes as pesquisas envolvendo aspectos importantes para os programas de biofortificação, a exemplo do entendimento da relação linear entre os caracteres, dos efeitos do meio ambiente sobre os mesmos e, de estudos de diversidade genética para alguns destes micronutrientes. Sendo assim, este trabalho teve como principais objetivos estimar a diversidade genética entre cultivares de milho com base no teor e perfil de carotenoides nos grãos; estimar as relações lineares entre os caracteres e o posterior desdobramento em efeitos diretos e indiretos e, por último, avaliar o efeito da aplicação de herbicidas sobre o teor de carotenoides em grãos de milho verde.

## REFERÊNCIAS

AGROSALUD. Disponível em: <<http://www.agrosalud.org>>. Acesso: 28 de março de 2010.

CARDOSO, W.S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. A.; GUIMARÃES, P.E.O.; SCHAFFERT, R.E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44, n.2, p. 164-173, 2009.

CECARELLI, S. Specific adaptation and breeding for marginal conditions. Euphytica, v. 77, n. 3, p. 205-219, 1994.

EGESEL, C. O.; WONG, J. C.; LAMBERT, R. J.; ROCHEFORD, T. R. Combining Ability of Maize Inbreds for Carotenoids and Tocopherols. Crop Science, v. 43, p. 818–823, 2003.

FAO – Food and Agriculture Organization. The state of food insecurity in the world 2009. Disponível em: <<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/012/i0876e/i0876e.pdf>>. Acesso: 28 de março de 2010.

GUPTA, H. S.; AGRAWAL, P. K.; MAHAJAN, V.; BISHT, G. S.; KUMAR, A.; VERMA, P.; SRIVASTAVA, A.; SAHA, S.; BADU, R.; PANT, M. C.; MANI, V. P. Quality protein maize for nutritional security: rapid development of short duration hybrids through molecular marker assisted breeding. *Current Science*, v. 96, n. 2, p. 230-237, 2009.

HARJES, C.E.; ROCHEFORD, T.R., BAI, L.; BRUTNELL, T. et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*, v. 319, p. 330-333, 2008.

HARVEST PLUS. Disponível em: < <http://www.harvestplus.org/content/about-harvestplus>>. Acesso: 27 de fevereiro de 2010.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e estatística. POF: Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/defaulttab.shtm>>. Acesso: 19 de fevereiro de 2010.

RAMALHO, R.A.; SAUNDERS, C. O papel da educação nutricional no combate às carências nutricionais. *Revista de Nutrição*, v. 13, n.1, p. 11-16, 2000.

ROMANO, M.R.; VERBURG, NATANAEL; ANDRADE, J.M. de; ROCHA, C.H.

Desempenho de cinco variedades de milho crioulo em diferentes sistemas de produção.

Revista Brasileira de Agroecologia, v.2, n.2, p. 808-811, 2007.

RIOS, S.A.; PAES, M.C.D.; BOREM, A.; CRUZ, C.D.; GUIMARÃES, P.E.O.;

SCHAFFERT, R.E.; CARDOSO, W.S.; PACHECO, C.A.P. Adaptability and stability of carotenoids in maize cultivars. Crop Breeding and Applied Biotechnology, v. 9, p.

313-319, 2009.

TANG G.; QIN, J.; DOLNIKOWSKI, G.G.; RUSSELL, R.M.; GRUSAK, M.A. Golden

rice is an effective source of vitamin A. American Journal of Clinical Nutrition, v. 89, p.

1776-1783, 2009.

## **Divergência genética entre cultivares de milho quanto ao teor de carotenoides nos grãos**

Sara de Almeida Rios<sup>(1)</sup>, Aluizio Borém<sup>(1)</sup>, Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães<sup>(2)</sup> e  
Maria Cristina Dias Paes<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Fitotecnia, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: [sarariosss@yahoo.com.br](mailto:sarariosss@yahoo.com.br); [borem@ufv.br](mailto:borem@ufv.br). <sup>(2)</sup> Embrapa Milho e Sorgo, C.P. 285, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brazil.

Resumo – A biofortificação é uma alternativa eficiente no auxílio às intervenções nutricionais existentes para o combate às deficiências de micronutrientes na população humana. Em milho, os programas de melhoramento para biofortificação visam à obtenção de materiais com altos teores de Fe, Zn e carotenoides precursores de vitamina A, o que requer estudos preliminares de variabilidade genética e diversidade entre genótipos. O objetivo deste trabalho foi estimar a divergência genética entre cultivares de milho quanto ao teor e perfil de carotenoides nos grãos. Foram utilizados dados obtidos do Ensaio Nacional de variedades de milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005, no total de 10 cultivares avaliados em dois ambientes. Avaliaram-se os teores de carotenoides totais (CT),  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos, luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina, o somatório de carotenoides precursores de vitamina A (total de  $\beta$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  de  $\alpha$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  de  $\beta$ -criptoxantina = Pro VA) e a produtividade de grãos. Observaram-se médias de carotenoides nos cultivares avaliados relativamente baixas quando comparadas àquelas reportadas na literatura em linhagens elite. Os caracteres que mais contruíram para a diversidade genética entre os cultivares estudados foram luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de

avaliação. O efeito do ambiente na expressão do caráter coloca dúvidas quanto à segurança das análises de diversidade em um único ambiente, enfatizando a necessidade de que os estudos sejam efetuados em condições ambientais múltiplas.

Palavras-chave: *Zea mays*, carotenoides, diversidade genética, variabilidade.

Abstract – The biofortification is efficient in helping the existing nutritional interventions to combat micronutrient deficiencies in the human population. In corn, the breeding programs aim to obtain materials with high contents of Fe, Zn and pro-vitamin A carotenoids, which requires preliminary studies of genetic diversity among genotypes. The aim of this study was to estimate the genetic divergence among maize cultivars in the content and profile of carotenoids in grains. It was used data from the test corn varieties conducted by Embrapa Maize and Sorghum in the 2004/2005 growing season, a total of ten cultivars evaluated in two environments. It were evaluated the levels of total carotenoids (TC),  $\alpha$  and  $\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin,  $\beta$ -criptoxantina, the sum of carotenoids precursors of vitamin A (total of  $\beta$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  of  $\alpha$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  of  $\beta$ -criptoxantina = Pro VA) and grain yield. It was observed averages of carotenoids in the evaluated cultivars relatively low compared to those reported in the literature for elite lines. Lutein and zeaxanthin were the characteristics that most contriubuted to the genetic diversity among cultivars, considering the two environments. The environment effect on trait expression raises questions about the safety of diversity analysis in a single environment, emphasizing the need for studies to be conducted in multiple environmental conditions.

key-words: *Zea mays*, carotenoids, genetic diversity, variability.

## 1. Introdução

A biofortificação de alimentos – desenvolvimento de alimentos fortificados geneticamente - é a mais atual estratégia agrícola a fim de auxiliar programas de intervenção nutricional para o combate à fome oculta no mundo. O melhoramento convencional e a transgenia tem tido como principal foco a obtenção de genótipos com alto valor nutricional, ricos em Fe, Zn e carotenoides precursores de vitamina A, além do alto valor agrônômico, para atender às necessidades das populações em situação de risco (HOTZ et al., 2007; WHITE e BROADLEY, 2009; BOUIS e WELCH 2010).

O sucesso da biofortificação de alimentos depende em primeira instância da existência de variabilidade genética suficiente para atender aos objetivos dos programas e, diversos resultados de pesquisa apontam existência de variação fenotípica para Fe, Zn e vitamina A em diversas culturas (HARJES et al., 2008; CARDOSO et al., 2009; GUPTA et al., 2009; BOUIS e WELCH 2010).

Em milho, avanços no desenvolvimento de variedades *Quality Protein Maize* (QPM) trouxeram boas expectativas nutricionais para os grãos (RODRIGUES, 2000). Porém, em geral, para Fe e Zn, dificuldades de amostragem, complexidade da herança e a interação genótipo x ambiente, tornam mais trabalhosa a obtenção de genótipos biofortificados para estes micronutrientes. Já, em termos de precursores de vitamina A, apesar da existência de interação genótipo x ambiente, observa-se repetibilidade para os resultados fenotípicos.

Os carotenoides presentes nos grãos de milho se dividem em dois grandes grupos: carotenos ( $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -caroteno) e xantofilas (luteína,  $\beta$ -criptoxantina e zeaxantina), sendo que 90% destes compostos no grãos são constituídos por luteína e zeaxantina (GOODWIN, 1980). A atividade pró-vitáminica A é resultante

do  $\beta$ -caroteno e, em menor grau, do  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina. Na verdade,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina exibem, individualmente, apenas 50% de atividade pro-vitáminica A (RODRIGUEZ-AMAYA e KIMURA, 2004).

Vários estudos têm mostrado diferença significativa entre genótipos de milho para níveis de carotenoides. Rocheford (2008) avaliando 300 linhagens de milho, encontrou variações para os teores de CT entre 0,08 e 65,95  $\mu\text{g.g}^{-1}$ . No Brasil, algumas linhagens *QPM* apresentaram média de 37,2  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de CT (PAES et al., 2006). Já se dispõe de linhagem com 13,6  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de  $\beta$ -caroteno, resultado extremamente promissor uma vez que o alvo para carotenoides precursores de vitamina A é de 15 $\mu\text{g.g}^{-1}$  (ORTIZ-MONASTERIO et al., 2007; HARJES et al., 2008).

Cardoso et al. (2009) reportaram a existência de variabilidade genética para carotenoides apresentando possíveis grupos de genótipos promissores para cruzamentos contrastantes. Porém, considerando a ocorrência de expressão diferencial dos genes, os estudos de diversidade, sempre que possível, deveriam levar em consideração avaliações em ambientes contrastantes para recomendação de genitores potenciais à formação de população base. Diversos estudos têm relatado não só números variáveis de agrupamentos em diferentes ambientes, mas diferentes agrupamentos de genótipos de um ambiente para outro (SANTOS, MENEZES e ARAÚJO, 1997; FIGUEIREDO, MALHEIROS e BRAZ, 2004; SÁVIO et al., 2008). Logo, o objetivo deste trabalho foi estimar a divergência genética para carotenoides em cultivares de milho avaliados em dois ambientes distintos.

## **2. Material e métodos**

Foram utilizados dados obtidos do Ensaio Nacional de Variedades de Milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005, avaliando-se



dois ambientes, no município de Sete Lagoas/MG, distintos quanto ao nível de fertilidade do solo: o primeiro ambiente onde foi feita adubação com altos níveis de nitrogênio (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura) e o segundo, com adubação utilizando-se baixos níveis de nitrogênio (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio) (Tabela 2), ambos, entre os estádios V2 e V4. A descrição dos 10 cultivares, suas origens, além de outras características encontram-se na Tabela 1. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de quatro metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e estande final de aproximadamente 55.000 plantas por hectare.

As análises foram conduzidas no Laboratório de Qualidade de Grãos do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG, utilizando-se delineamento em blocos casualizados, com 10 cultivares de milho em dois ambientes de avaliação, com duas repetições.

Tabela 1: Caracterização dos cultivares de milho quanto à procedência, tipo de grão e população

<b>Cultivares</b>	<b>Procedência</b>	<b>Tipo e coloração dos grãos</b>	<b>População</b>
BRS 2020	Embrapa	Semiduro/alaranjado	Híbrido Duplo
Fundacep 35	Fundacep	Semiduro/amarelo-alaranjado	Variedade
CMS 104	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
BRS Caatingueiro	Embrapa	Semiduro/amarelo	Variedade
BRS 473 cIII	Embrapa	Semiduro/amarelo-alaranjado	Variedade
UFVM100	UFV	Dentado/amarelo-alaranjado	Variedade
CMS 102	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
CMS 101	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
BRS Missões	Embrapa	Dentado/amarelo	Variedade
BRS São Francisco	Embrapa	Semidentado/amarelo-alaranjado	Variedade

Tabela 2: Caracterização da fertilidade dos solos em Sete Lagoas/MG para posterior adubação nitrogenada, caracterizando os ambientes de Alto N (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura) e Baixo N (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio)

Local	Ambiente	pH	MO	P	K	Ca	Mg	H+Al	Cu	Zn	Fe	Mn
		(água)	g/ dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>		-----cmolc/dm <sup>3</sup> -----			-----mg/dm <sup>3</sup> -----			
Sete Lagoas/MG	Alto N	6,1	3,75	10	126	4,62	0,87	4,39	1	3,87	45,2	25,2
	Baixo N	6,2	3,47	8	110	4,18	0,84	4,05	2,97	4,5	46,1	25,1

A debulha foi feita mecanicamente com posterior moagem dos grãos em micro moinho, tipo ciclone MA 020 MARCONI (Piracicaba, SP) e acondicionamento 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 e Kimura (2004), com posterior quantificação de carotenoides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália). Carotenos ( $\alpha$ - e  $\beta$ -carotenos) e xantofilas luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina 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 diiodo. 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 e Kimura (2004). Os resultados foram expressos em base

seca, por meio da análise de umidade realizada nas amostras, em duplicata, seguindo o método 44-15A da AACC (2000).

O somatório dos teores de luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno resultou nos valores de carotenoides totais (CT). O total de carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA) foi obtido por meio do somatório entre o total de  $\beta$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  total de  $\alpha$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  do total de  $\beta$ -criptoxantina, considerando 100% de atividade pró-vitáminica A para  $\beta$ -caroteno e 50% para as outras duas variáveis (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004).

Adotaram-se as distâncias generalizadas de Mahalanobis ( $D^2$ ) como medida de dissimilaridade e o método de Tocher para agrupamento dos cultivares. As análises estatísticas foram executadas separadamente para cada ambiente de avaliação, utilizando-se o software Genes, Cruz (1998).

### **3. Resultados e discussão**

As médias de CT variaram entre 20,45 e 26,90  $\mu\text{g. g}^{-1}$  para o ambiente Alto N e entre 15,38 e 26,59  $\mu\text{g. g}^{-1}$  em Baixo N, com uma média geral de 23,36  $\mu\text{g. g}^{-1}$  (Tabela 2), sendo que houve diferença estatística tanto entre os dois ambientes quanto entre os cultivares em cada ambiente ( $p < 0,05$ ). Resultado similar foi verificado por Harjes et al. (2008) os quais encontraram média de 23  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de CT em linhagens amarelas de milho, porém, com maior variabilidade para esta característica (entre 5,5 e 66  $\mu\text{g. g}^{-1}$ ). Burt et al. (2006) apresentaram linhagens de um programa de biofortificação de milho com médias de CT variando entre 43,6 e 88,3  $\mu\text{g. g}^{-1}$ , evidenciando a possibilidade de sucesso no aumento destes carotenoides nos grãos. Observa-se que os cultivares comerciais de milho podem apresentar menor variabilidade quando comparadas às linhagens elite, linhagens e acessos de banco de germoplasma avaliados

quanto ao teor e perfil de carotenoides nos grãos (BURT et al., 2006; PAES et al., 2006; RIOS et al., 2007; CARDOSO et al., 2007; HARJES et al., 2008). Isto se justifica pelo fato de que, ao longo dos anos, programas de melhoramento genético de milho priorizavam características agronômicas, principalmente relacionadas à produtividade. E, só recentemente, aumenta o interesse pela maior qualidade nutricional do milho, principalmente como fonte de micronutrientes para a população humana.

Os cultivares apresentaram variação de Pro VA entre 1,50 e 2,32  $\mu\text{g.g}^{-1}$ , (Tabela 2), valores próximos aqueles encontrados por Ewool et al. (2006), de 2,9  $\mu\text{g.g}^{-1}$  para o genótipo GH9866SR avaliado na safra de 2004, em Gana, África.

Em geral, o híbrido BRS 2020 apresentou médias de CT e Pro VA estatisticamente superiores às demais, nos dois ambientes, sendo superado apenas pela variedade BRS São Francisco, em condições de Baixo N, quanto aos teores de CT (Tabela 2). Ainda que este híbrido tenha apresentado a maior média de Pro VA (2,32  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ), este valor é inferior aos valores encontrados na literatura. Palacios-Rojas et al. (2006) observaram ampla variação de Pro VA (entre 0,5 e 8,8  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em genótipos de milho com coloração de grãos desde o amarelo até o laranja. Li et al. (2007) avaliaram os teores de Pro VA em uma população de milho de alto teor de  $\beta$ -caroteno, encontrando 11,75  $\mu\text{g.g}^{-1}$  de carotenoides precursores de vitamina A.

Em geral, verificaram-se teores de carotenoides nos cultivares avaliados, inferiores aqueles encontrados em linhagens elite de diversos programas de melhoramento do mundo. Porém, ainda que inferiores, estes materiais poderiam auxiliar na reversão de quadros de deficiência nutricional para aquelas populações cujo hábito cultural é o consumo de milho branco, que tem pouco ou quase nenhum teor de carotenoides nos grãos.

A média de produtividade, sob condições de alta aplicação nitrogenada, foi superior para o híbrido duplo BRS 2020 (7430,77  $\text{kg.ha}^{-1}$ ) e, sob Baixo N, o

destaque foi para a variedade CMS 102 (6851,35 kg.ha<sup>-1</sup>). Porém, não foram observadas diferenças estatísticas entre os cultivares no mesmo ambiente de avaliação ou entre os ambientes para um mesmo cultivar, considerando o caráter produtividade de grãos (Tabela 2).

Tabela 2: Médias de carotenoides totais (CT), carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA), em µg.g<sup>-1</sup> e produtividade de grãos (kg.ha<sup>-1</sup>) em cultivares de milho, avaliados em dois ambientes contrastantes quanto ao nível de aplicação de nitrogênio (Alto N e Baixo N\*). Safra 2004/2005. Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG

Cultivares	CT				Pro VA <sup>(1)</sup>				Produtividade			
	Alto N		Baixo N		Alto N		Baixo N		Alto N		Baixo N	
BRS 2020	26,90	Aa	25,94	Aab	2,32	Aa	2,23	Ba	7430,77	Aa	6257,96	Aa
Fundacep 35	25,89	Aa	22,90	Bc	1,90	Ad	1,78	Bc	7142,91	Aa	6147,06	Aa
CMS 104	20,45	Ad	15,38	Be	1,60	Ae	1,50	Bd	6177,92	Aa	5543,76	Aa
BRS Caatingueiro	24,44	A abc	23,63	Abc	2,13	Ab	1,98	Bb	4597,52	Aa	4429,33	Aa
BRS 473 cIII	22,80	Abcd	22,11	Acd	1,70	Be	1,85	Abc	5512,66	Aa	3876,30	Aa
UFVM100	21,82	Acd	22,23	Ac	2,04	Abc	1,94	Bb	7026,89	Aa	5448,54	Aa
CMS 102	24,75	Aab	23,31	Abc	1,96	Acd	1,93	Ab	6583,39	Aa	6851,35	Aa
CMS 101	22,75	Abcd	19,30	Bd	1,70	Ae	1,52	Bd	6677,51	Aa	5637,82	Aa
BRS Missões	25,43	Aab	24,04	Aabc	1,86	Ad	1,88	Abc	6282,75	Aa	4906,80	Aa
BRS São Francisco	26,59	Aa	26,59	Aa	2,09	Abc	1,84	Bbc	5775,98	Aa	4834,03	Aa
Média	24,18		22,54		1,93		1,84		6320,83		5393,29	
CV (%)	3,46				2,10				18,44			

\* Alto N: 120 kg.ha<sup>-1</sup> (20 kg no plantio e 100 kg em cobertura); Baixo N: 20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio.

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na linha, e minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

<sup>(1)</sup> Pro VA = carotenoides precursores de vitamina A (total de β-caroteno + ½ total de α-caroteno + ½ do total de β-criptoxantina).

A Tabela 3 descreve os grupos similares de cultivares de milho avaliados sob Alto N, com o agrupamento de 3 genótipos nos grupos 1 e 2, e pares de genótipos no terceiro e quarto grupos. Em condições de Baixo N, o grupo 1 apresentou o maior número de genótipos. Estes resultados caracterizam a existência de agrupamentos distintos sob diferentes condições de fertilidade do solo, provavelmente, pela expressão

diferencial dos genes. Coimbra et al. (1999) relataram a formação de agrupamentos distintos, tanto no número de grupos formados quanto no número e constituição de genótipos de feijão em cada grupo, considerando duas safras (safra e safrinha) no município de Chapecó em SC. Para Falconer (1987) um caráter medido em dois ambientes não deve ser visto como único e sim como dois caracteres e Baniwal e Jatarsa (1980) relataram que o efeito do ambiente na expressão do caráter coloca dúvidas quanto à segurança das análises da distância de Mahalanobis quando estas são realizadas com dados de um único ambiente, enfatizando a necessidade de que os estudos sejam efetuados em condições ambientais múltiplas.

Tabela 3: Grupos similares de cultivares de milho avaliados em dois ambientes distintos<sup>(1)</sup>, agrupadas com base na distância de Mahalanobis e Método Tocher

Grupos	Alto N	Baixo N
1	4, 7 e 6	7, 9, 6, 2 e 10
2	2, 10 e 1	3 e 5
3	3 e 5	1 e 4
4	8 e 9	8

<sup>(1)</sup>Alto N: altos níveis de aplicação nitrogenada (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura); Baixo N: baixos níveis de aplicação nitrogenada (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio).

As distâncias entre os cultivares, com base na metodologia de Mahalanobis, estão descritas nas Tabelas 4 e 5, para os dois ambientes de avaliação. As maiores distâncias foram verificadas no ambiente sob Alto N. Porém, os pares 1x7, 5x6, 5x7 e 6x7 apresentaram valores aproximados nos dois ambientes. O somatório das

distâncias para o ambiente Alto N foi 52% superior ao Baixo N, evidenciando a maior expressão dos caracteres avaliados para o primeiro. No ambiente Alto N, a maior e menor estimativa de  $D^2$  foram observadas entre os pares 5x9 e 4x7, respectivamente. Segundo Gaur, Gupta e Kishore (1978), a magnitude da divergência genética está intimamente relacionada com o grau de heterose encontrado na espécie em estudo.

Tabela 4: Matriz de distâncias de Mahalanobis para 10 cultivares de milho, avaliados sob aplicação de altos níveis de nitrogênio no solo (Alto N<sup>\*</sup>)

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	531,77	2868,77	548,31	2652,19	1563,00	879,39	1378,27	2217,96	245,23
2	0,00	1774,48	703,93	2352,56	1032,50	603,36	253,61	1095,73	204,65
3		0,00	1112,80	432,58	285,13	607,11	2084,85	4889,59	2866,85
4			0,00	812,46	367,17	<b>108,17</b>	1598,09	3486,05	900,26
5				0,00	454,68	628,08	3283,26	<b>6480,12</b>	3158,77
6					0,00	141,01	1611,86	3929,86	1700,79
7						0,00	1272,59	3265,01	1072,52
8							0,00	607,82	660,76
9								0,00	1119,22
10									0,00

(<sup>\*</sup>)Alto N: altos níveis de aplicação nitrogenada (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura).

A contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética dos 10 cultivares de milho nos dois ambientes está descrita na Figura 1. Pode ser observado que os caracteres não tiveram a mesma estimativa de contribuição relativa e nem a ordem de classificação para contribuição da divergência genética nos dois ambientes, caracterizando influência da interação genótipo x ambiente. Porém, luteína e zeaxantina apresentaram contribuições relativas significativas nos dois ambientes, podendo ser priorizadas no estudo de diversidade genética para carotenoides em milho.

Tabela 5: Matriz de distâncias de Mahalanobis para 10 cultivares de milho, avaliados sob aplicação de baixos níveis de Nitrogênio (Baixo N\*)

	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1603,60	<b>2339,69</b>	488,87	1362,29	1049,83	827,69	1745,80	887,76	949,07
2	0,00	540,41	794,43	657,75	138,74	294,14	579,90	174,75	638,52
3		0,00	873,83	249,47	546,19	939,55	1965,35	1028,28	2021,97
4			0,00	285,45	420,45	355,67	1662,99	561,46	1046,29
5				0,00	454,69	694,81	2091,02	852,37	1730,91
6					0,00	135,70	750,13	131,52	610,76
7						0,00	654,56	<b>102,57</b>	341,28
8							0,00	343,70	214,37
9								0,00	196,62
10									0,00

(\*) Baixo N: baixos níveis de aplicação nitrogenada (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio).

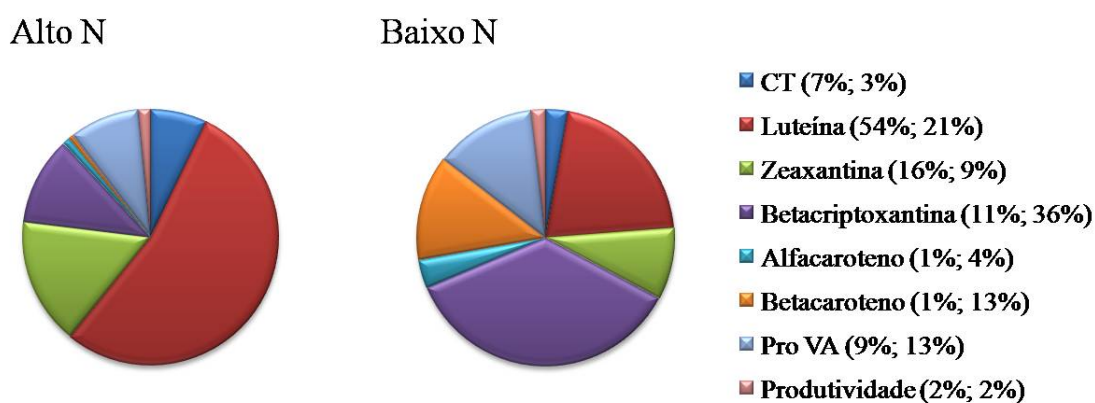


Figura 1: Contribuição relativa dos oito caracteres para a divergência genética em 10 cultivares de milho, avaliados em dois ambientes distintos (Alto N e Baixo N), safra 2004/2005, Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG. Os valores em parênteses representam as contribuições percentuais em Alto N e Baixo N, respectivamente.



#### **4. Conclusões**

1. O efeito do ambiente na expressão dos caracteres avaliados sugere a necessidade de que estes estudos sejam efetuados em várias condições ambientais.
2. Os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética entre os cultivares estudados foram luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de avaliação.

#### **5. Referências**

AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods, 10. ed. St. Paul: AACC, 2000.

BAINIWAL, C.R.; JATARSA, D.S. Genetic divergence in pigeon pea. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, v. 40, p. 153-156, 1980.

BOUIS, H. E.; WELCH, R.M. Biofortification - A Sustainable Agricultural Strategy for Reducing Micronutrient Malnutrition in the Global South. *Crop Science*, v.50, p. S20-S32, 2010.

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. Disponível em:*

<<http://www.cimmyt.org/english/docs/proceedings/IPBS06-Abstracts.pdf>>. Acesso: 26 de janeiro de 2008.

CARDOSO, W.S.; PAES, M.C.D.; GALVÃO, J.C.C.; RIOS, S.A.; GUIMARÃES, P.E.O.; SCHAFFERT, R.E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à composição de carotenoides nos grãos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v.44, n.2, p.164-173, 2009.

COIMBRA, J.L.M. Divergência genética em feijão preto. Ciência Rural, v.29, n.3, p. 427-431, 1999.

CRUZ, C.D. Genes - Software for experimental statistics in genetics. Genetic and Molecular Biology, v. 21, p. 135-138, 1998.

EWOL, 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. Disponível em:

<<http://www.cimmyt.org/english/docs/proceedings/IPBS06-Abstracts.pdf>>. Acesso: 26 de Jan de 2008.

FALCONER, D.S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa: Imprensa Universitária, 1987. 279 p.

FIGUEIREDO, E.B. de; MALHEIROS, E.B.; BRAZ, L.T. Interação genótipo x ambiente em cultivares de alface na região de Jaboticabal. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.1, p. 66-71, 2004.

GAUR, P.C., GUPTA, P.K., KISHORE, H. Studies on genetic divergence in potato. *Euphytica*, Wageningen, v. 27, p. 316-368, 1978.

GOODWIN, T.W. *The Biochemistry of the carotenoids*. v.1: Plants (New York: Chapman and Hall), 1980.

GUPTA, H. S.; AGRAWAL, P. K.; MAHAJAN, V.; BISHT, G. S.; KUMAR, A.; VERMA, P.; SRIVASTAVA, A.; SAHA, S.; BADU, R.; PANT, M. C.; MANI, V. P. Quality protein maize for nutritional security: rapid development of short duration hybrids through molecular marker assisted breeding. *Current Science*, v. 96, n. 2, p. 230-237, 2009.

HARJES, C.E.; ROCHEFORD, T.R., BAI, L.; BRUTNELL, T. et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*, v. 319, p. 330-333, 2008.

HOTZ, C.; MCCLAFFERTY, B.; HAWKES, C.; RUEL, M.; BABU, S. From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. *Food and Nutrition Bulletin*, v. 28, p. S271–S279, 2007.

LI, S.; TAYIE, F.A.K.; YOUNG, M.F.; ROCHEFORD, T.; WHITE, W.S. Retention of Provitamin A Carotenoids in High  $\beta$ -carotene Maize (*Zea mays*) During

Traditional African Household Processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, p. 10744–10750, 2007.

ORTIZ-MONASTERIO, J.I.; PALACIOS-ROJAS, N.; MENG, E.; PIXLEY, K.; TRETHOWAN, R.; PEÑA, R.J. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. *Journal of Cereal Science*, v. 46, p. 293–307, 2007.

PAES, M. C. D.; GUIMARÃES, P. E. O.; SCHAFFERT, R. E. (2006). Perfil de carotenoides 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.

PALACIOS-ROJAS, N.; BECK, D.; BÄNZIGER, M.; ROCHEFORD, T.; PIXLEY, K. Genetic variation for improving micronutrient content in maize. In: Book of Poster Abstracts. International Plant Breeding Symposium, Honoring John Dudley. Mexico City, 20-25 August, 2006. Disponível em: <<http://www.cimmyt.org/english/docs/proceedings/IPBS06-Abstracts.pdf>>. Acesso: 26 de Jan de 2008.

RIOS, S. A. ; PAES, M. C. D. ; BORÉM, A. ; GUIMARAES, P. E. O. ; SCHAFFERT, R. E. ; PIRES, C. H. P. . Composição de carotenóides de variedades comerciais de milho. In: 7 Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2007, Campinas, SP. Anais do 7 Simpósio Latino Americano de Ciências de Alimentos, 2007.

ROCHEFORD, T.R. Power point presentations. Disponível em: <<http://www.cropsci.uiuc.edu/faculty/rocheford/>>. Acesso: 10 de janeiro de 2008.

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

RODRIGUES, M. C. (2000). Heterose e seus componentes em cruzamentos de populações de milho com alta qualidade protéica. Tese de Doutorado. Escola de Agronomia. Goiânia, Goiás. 232 p.

SANTOS, C.A.F.; MENEZES, E.A.; ARAÚJO, F.P. Divergência genética em genótipos de feijão-de-corda avaliados em dois ambientes. Revista Ceres, v. 44, n. 251, p. 35-42, 1997.

SÁVIO, F.L.; FARIA, P.N.; PEREIRA, W.A.; BORÉM, A.; TARDIN, F.D.; RODRIGUES, J.A.S.; SCHAFFERT, R.E. Divergência genética em híbridos de sorgo cultivados sob diferentes níveis de fósforo, em solução nutritiva. Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.7, n.3, p. 305-321, 2008.

WHITE, P.J.; BROADLEY, M.R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. New Phytology, v. 182, p. 49–84, 2009.

## Análise de trilha para carotenoides em milho

Sara de Almeida Rios<sup>(1)</sup>, Aluizio Borém<sup>(1)</sup>, Paulo Evaristo de O. Guimarães<sup>(2)</sup> e Maria Cristina Dias Paes<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Fitotecnia, CEP 36570-000, Viçosa, MG, Brazil. E-mail: [sarariosss@yahoo.com.br](mailto:sarariosss@yahoo.com.br); [borem@ufv.br](mailto:borem@ufv.br). <sup>(2)</sup> Embrapa Milho e Sorgo, C.P. 285, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brazil.

Resumo - Ainda que sejam considerados os aspectos de magnitude e significância, o estudo de correlações entre caracteres por si só não garante causa e efeito entre os mesmos. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi desdobrar as correlações fenotípicas em seus efeitos diretos e indiretos, pela análise de trilha, considerando o perfil de carotenoides em genótipos de milho. Foram utilizados dados obtidos do ensaio nacional de variedades de milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005, com médias de 10 cultivares em cinco ambientes. Avaliaram-se os teores de carotenoides totais (CT),  $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina. A xantofila zeaxantina apresenta o maior efeito direto sobre  $\beta$ -caroteno. As altas correlações entre  $\beta$ -caroteno e carotenoides totais, e entre  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina são devido ao efeito indireto, via zeaxantina. Esquemas de seleção simultânea de caracteres, por meio da utilização de índices de seleção serão mais eficientes na obtenção de genótipos com altos teores de  $\beta$ -caroteno do que a resposta correlacionada.

Palavras-chave: *Zea mays*, carotenoides, correlações, análise de trilha.

Abstract - Although are regarded aspects of magnitude and significance, the study of correlations among traits, alone, does not guarantee cause and effect among them.

Therefore, the objective was to deploy the correlations in their direct and indirect effects, using path analysis and considering the profile of carotenoids in maize genotypes. It was used data from the test corn varieties conducted by Embrapa Maize and Sorghum in the 2004/2005 growing season, averaging ten cultivars in five environments. Total carotenoid content (CT), alpha and  $\beta$ -carotene, lutein, zeaxanthin and  $\beta$ -criptoxantina were evaluated. The xanthophyll zeaxanthin provides the highest direct effect on  $\beta$ -carotene. The high correlations between  $\beta$ -carotene and total carotenoids and between  $\beta$ -carotene and  $\beta$ -criptoxanthin are the action of the indirect effect via zeaxanthin. Schemes of simultaneous selection of characters, through the use of selection indexes will be more efficient in obtaining genotypes with high levels of  $\beta$ -carotene than a correlated response.

Key-words: *Zea mays*, carotenoids, correlations, path analysis.

## **1. Introdução**

O conhecimento da relação linear entre caracteres, nas fases iniciais de um programa de melhoramento, é de grande importância principalmente em casos onde a característica de interesse apresenta baixa herdabilidade e difícil mensuração e identificação, entre outros. A utilização, portanto, de seleção indireta por resposta correlacionada pode permitir maior eficiência e progresso na seleção. Cardoso et al. (2009) relataram altas correlações significativas entre carotenoides totais e carotenos e xantofilas. E, considerando a influência das xantofilas na coloração alaranjada dos grãos de milho, poder-se-ia esperar que a seleção fenotípica com base nesta coloração fosse eficiente para obtenção de genótipos com elevados teores desses carotenoides nos grãos. Porém, Harjes et al. (2008) reportaram baixas correlações entre carotenoides totais e cor

dos grãos, indicando que a seleção assistida por marcadores seria mais eficiente. No entanto, os valores de correlações, ainda que sejam considerados os aspectos de magnitude, significância e significado, não garantem uma relação de causa e efeito entre os caracteres, podendo levar a erros na sua interpretação.

A análise de trilha, desenvolvida por Wright (1921) permite o desdobramento das correlações fenotípicas em efeitos diretos e indiretos dos caracteres sobre uma variável principal, o que permite maior confiabilidade na escolha dos caracteres para seleção. A mensuração dos efeitos diretos e indiretos é dependente do conjunto de caracteres estudados, que normalmente é estabelecido pelo conhecimento prévio do pesquisador de sua importância e de possíveis inter-relações expressas em diagramas de trilha (CRUZ e REGAZZI, 1997). No desdobramento de um conjunto de caracteres sobre uma variável básica faz-se necessário estimar coeficientes de trilha, obtidos por meio de equações de regressão em que as variáveis são previamente padronizadas. O conhecimento dos efeitos diretos e indiretos que uma variável principal responde pelas demais explicativas é que permite decidir, durante a fase de seleção do programa de melhoramento, qual estratégia será mais eficiente, se a resposta correlacionada ou a utilização de índices de seleção.

Santos, Senalik e Simon (2005) foram os primeiros a avaliar as inter-relações entre produtos em uma via biossintética, trabalhando com a análise de trilha para carotenoides em cenoura e concluíram que este desdobramento além de auxiliar na identificação de pontos da rota metabólica, que limitam o acúmulo de carotenoides, auxilia no entendimento da evolução desta rota de biossíntese. Considerando escassas as informações desta natureza na literatura científica para a cultura do milho, o objetivo deste trabalho foi desdobrar as correlações fenotípicas entre carotenoides e produtividade, em efeitos diretos e indiretos, por meio da análise de trilha.



## 2. Material e métodos

Foram utilizados dados obtidos do Ensaio Nacional de Variedades de Milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005. Foram avaliados três ambientes distintos quanto ao nível de fertilidade do solo (Tabela 1), no município de Sete Lagoas/MG: o primeiro ambiente caracterizado por solo fértil; o segundo ambiente onde foi feita adubação com altos níveis de nitrogênio (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura) e o terceiro, com adubação utilizando-se baixos níveis de nitrogênio (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio). Os outros dois ambientes de avaliação localizaram-se nos municípios de Planaltina e Goiânia, no estado de Goiás, com diferentes altitudes, 1000 e 823 m, respectivamente (Tabela 1). A descrição dos 10 cultivares, suas origens, além de outras características, encontra-se na Tabela 2.

As parcelas foram constituídas de duas fileiras de quatro metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e estande final de aproximadamente 55.000 plantas por hectare.

Tabela 1: Fertilidade dos solos para quatro dos cinco ambientes de avaliação caracterizados como Fértil, Alto N (120 kg.ha<sup>-1</sup>: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura), Baixo N (20 kg.ha<sup>-1</sup> no plantio) e Planaltina

Local	Ambiente	pH	MO	P	K	Ca	Mg	H+Al	Cu	Zn	Fe	Mn
		(água)	g/dm <sup>3</sup>	mg/dm <sup>3</sup>			-----cmolc/dm <sup>3</sup> -----		-----mg/dm <sup>3</sup> -----			
Sete Lagoas/MG	Fértil	5,8	21	6,7	120	2,88	1,07	5,06	2,1	4,8	41	62
	Alto N	6,1	3,75	10	126	4,62	0,87	4,39	1	3,87	45,2	25,2
	Baixo N	6,2	3,47	8	110	4,18	0,84	4,05	2,97	4,5	46,1	25,1
Planaltina/DF		5,5	3,2	12,5	85	2,4	0,5	4,02	-	-	-	-

As análises 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, utilizando-se delineamento em blocos casualizados, com 10 cultivares de milho em cinco ambientes de avaliação, com duas repetições.

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.

Tabela 2: Caracterização dos cultivares de milho quanto à procedência, tipo de grão e população

<b>Cultivares</b>	<b>Procedência</b>	<b>Tipo e coloração dos grãos</b>	<b>População</b>
BRS 2020	Embrapa	Semiduro/alaranjado	Híbrido Duplo
Fundacep 35	Fundacep	Semiduro/amarelo-alaranjado	Variedade
CMS 104	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
BRS Caatingueiro	Embrapa	Semiduro/amarelo	Variedade
BRS 473 cIII	Embrapa	Semiduro/amarelo-alaranjado	Variedade
UFVM100	UFV	Dentado/amarelo-alaranjado	Variedade
CMS 102	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
CMS 101	Embrapa	Semidentado/amarelo	População
BRS Missões	Embrapa	Dentado/amarelo	Variedade
BRS São Francisco	Embrapa	Semidentado/amarelo-alaranjado	Variedade

As extrações foram realizadas segundo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), com posterior quantificação de carotenoides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália). Carotenos ( $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos) e xantofilas luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina 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 e Kimura (2004). Os resultados foram expressos em base seca, por meio da análise de umidade realizada nas amostras, em duplicata, seguindo o método 44-15A da AACC (2000).

Foram estimados os coeficientes de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais entre as variáveis utilizando-se os 10 cultivares e a média dos 5 ambientes. A análise de trilha foi realizada após o diagnóstico de multicolinearidade na matriz de correlações fenotípicas. As análises estatísticas foram realizadas por meio do software Genes, Cruz (1998).

### **3. Resultados e discussão**

A matriz de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais para as variáveis CT, luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\beta$ -caroteno, em  $\mu$ g.g<sup>-1</sup> e produtividade de grãos em kg.ha<sup>-1</sup> está apresentada no Quadro 1, obtida das médias dos 10 cultivares de milho avaliados nos cinco ambientes.

Em geral, observaram-se correlações fenotípicas e genotípicas com mesmo sinal, sugerindo confiabilidade em se utilizar as correlações fenotípicas para interpretação dos dados, uma vez que o efeito ambiental não foi muito pronunciado.

Correlações fenotípicas positivas e significativas foram observadas entre CT e as variáveis zeaxantina (0,75),  $\beta$ -criptoxantina (0,81) e  $\beta$ -caroteno (0,73), para os cultivares estudados (Quadro 1). Estes resultados apontam aspectos positivos na seleção de genótipos de milho para biofortificação, principalmente, considerando que os carotenoides de maior interesse são aqueles com atividade pró-vitáminica A ( $\beta$ -caroteno;  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina), ou seja, poder-se-ia realizar a seleção indireta deste carotenoide por resposta correlacionada. A seleção dos genótipos apenas com base nos teores de CT significaria maior rapidez no *screening* dos materiais e economia de reagentes, se as correlações simples entre estas variáveis apresentarem uma relação de causa e efeito.

Já os resultados de correlações fenotípicas entre luteína e os carotenoides zeaxantina e  $\alpha$ -caroteno foram negativos e significativos e, ainda, a correlação ambiental entre luteína e  $\beta$ -criptoxantina foi negativa. Porém, o que se dispõe na literatura científica sobre correlações envolvendo a xantofila luteína, são resultados contraditórios (MENKIR et al. 2008; CHANDER et al., 2008a; CHANDER et al., 2008b), talvez por diferenças na precisão da coleta dos dados, tipo de população/genótipos, interação genótipo x ambiente, além de outros motivos desconhecidos, dificultando a interpretação destas correlações.

As correlações fenotípicas positivas e significativas entre a xantofila zeaxantina e os carotenoides precursores de vitamina A,  $\beta$ -criptoxantina (0,88),  $\alpha$ -caroteno (0,67) e  $\beta$ -caroteno (0,86) sugerem que os materiais biofortificados, além de conter altos teores de carotenoides precursores de vitamina A, poderão ser fonte de carotenoides importantes para qualidade da visão, podendo contribuir para a prevenção da degeneração macular (Quadro 1). Além disso, estes materiais teriam valor agregado como alimento para aves, principalmente frangos, que requerem grãos com altos teores

de luteína e zeaxantina, o que garante a coloração amarelo-alaranjada das gemas dos ovos (HANDELMAN et al., 1999).

Quadro 1: Matriz de correlações fenotípicas (rfe), genéticas (rge) e ambientais (ra) entre as variáveis carotenoides totais (CT), luteína (Lut), zeaxantina (Zeax),  $\beta$ -criptoxantina (Bcrip),  $\alpha$ -caroteno (Acar),  $\beta$ -caroteno (Bcar), expressos em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e produtividade de grãos (Prod) em  $\text{kg.ha}^{-1}$  obtida de 10 cultivares de milho avaliadas com base na média de cinco ambientes

		Lut	Zeax	Bcrip	Acar	Bcar	Prod
CT	rfe	-0.2968	0.7553*	0.8108**	0.2773	0.7311*	-0,1298
	rge	-0,3017	0,7571	0,8205	0,2840	0,7351	-0,1343
	ra	0,1604	0,6363	0,1163	0,1846	0,4810	-0,0711
Lut	rfe	1	-0.7622*	-0.4162	-0.6667*	-0.4009	0,2279
	rge		-0,7684	-0,4149	-0,6831	-0,4037	0,2459
	ra		0,0068	-0,5952	-0,3858	-0,1519	-0,2558
Zeax	rfe		1	0.8782**	0.6669*	0.8555**	-0,2102
	rge			0,8839	0,6936	0,8594	-0,2100
	ra			0,3585	0,0789	0,5547	-0,3614
Bcrip	rfe			1	0.5825	0.8778**	-0,0602
	rge				0,6054	0,8816	-0,0662
	ra				0,0000	0,6078	0,0806
Acar	rfe				1	0.5631	0,2143
	rge					0,5863	0,2219
	ra					0,0000	0,1249
Bcar	rfe					1	0,0313
	rge						0,0497
	ra						-0,4312

\*\*,: Significativo a 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t;

Em geral, foram observadas correlações baixas e negativas entre produtividade de grãos e as demais frações de carotenoides, o que está de acordo com os resultados obtidos por Menkir e Maziya-Dixon (2004) e que não dificulta a obtenção de genótipos com altos teores de carotenoides e produtivos simultaneamente.

Os caracteres de maior contribuição para elevar os teores de  $\beta$ -caroteno, com base no estudo de correlações simples, são CT, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina (Quadro 1).

O diagnóstico de multicolinearidade revelou que das 21 correlações analisadas, 4 delas apresentaram valor absoluto maior que 0,80; 4 números de fatores de inflação da variância (VIF) superiores a 10 e número de condição (NF) maior do que 1000, caracterizando existência de colinearidade severa. Este resultado não inviabiliza a realização da análise de trilha, uma vez que já existem metodologias apropriadas para estudo de efeitos diretos e indiretos sob multicolinearidade (CARVALHO, 1995; CARVALHO et al., 1999; COIMBRA et al., 2005). Logo, utilizou-se a metodologia proposta por Carvalho (1995), denominada análise de trilha em crista, para estimação dos parâmetros como forma alternativa à metodologia dos quadrados mínimos. A constante  $k$  adicionada à diagonal da matriz  $X'X$  foi determinada pelo exame do traço da crista, por meio da construção de um gráfico onde foram plotados os coeficientes de trilha em função dos valores de  $k$  no intervalo de  $0 < k < 1$ .

O resultado da análise de trilha de  $\beta$ -caroteno em função das variáveis explicativas CT, luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno e produtividade é apresentado na Tabela 2, com um valor de  $k$  de 0,0497. O coeficiente de determinação do modelo de análise de trilha ( $R^2$ ) foi igual a 0,8364, caracterizando que 83,64% da variação da variável dependente  $\beta$ -caroteno no modelo, estão sendo explicados pelas variáveis utilizadas no diagrama causal.

Tabela 2. Estimativas dos efeitos diretos e indiretos envolvendo a variável principal dependente  $\beta$ -caroteno e as independentes explicativas: carotenoides totais, luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno e produtividade

CAROTENOIDES TOTAIS	Estimativa	VIF
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	-0,0132	3,5128
Efeito indireto via luteína	-0,1011	0,3406
Efeito indireto via zeaxantina	0,6660	5,7796
Efeito indireto via $\beta$ -criptoxantina	0,1873	3,7334
Efeito indireto via $\alpha$ -caroteno	0,0105	0,2257
Efeito indireto via produtividade	-0,0177	0,0229
Total		0,7311*
<b>LUTEÍNA</b>		
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	0,3406	4,2596
Efeito indireto via carotenoides totais	0,0039	0,2809
Efeito indireto via zeaxantina	-0,6721	5,8850
Efeito indireto via $\beta$ -criptoxantina	-0,0962	0,9836
Efeito indireto via $\alpha$ -caroteno	-0,0252	1,2929
Efeito indireto via produtividade	0,0310	0,0708
Total		-0,4009
<b>ZEAXANTINA</b>		
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	0,8818	11,1635
Efeito indireto via carotenoides totais	-0,0100	1,8187
Efeito indireto via luteína	-0,2596	2,2455
Efeito indireto via $\beta$ -criptoxantina	0,2029	4,3797
Efeito indireto via $\alpha$ -caroteno	0,0253	1,3054
Efeito indireto via produtividade	-0,0286	0,0603
Total		0,8555**
<b>B-CRIPTOXANTINA</b>		
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	0,2310	6,2580
Efeito indireto via carotenoides totais	-0,0107	2,0957
Efeito indireto via luteína	-0,1418	0,6695
Efeito indireto via zeaxantina	0,7744	7,8129
Efeito indireto via $\alpha$ -caroteno	0,0220	0,9869
Efeito indireto via produtividade	-0,0082	0,0049
Total		0,8778**
<b><math>\alpha</math> - CAROTENO</b>		
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	0,0377	3,2052
Efeito indireto via carotenoides totais	-0,0037	0,2474
Efeito indireto via luteína	-0,2271	1,7182
Efeito indireto via zeaxantina	0,5907	4,5467
Efeito indireto via $\beta$ -criptoxantina	0,1346	1,9269
Efeito indireto via produtividade	0,0292	0,0626
Total		0,5631

PRODUTIVIDADE		
Efeito direto sobre $\beta$ -caroteno	0,1362	1,5036
Efeito indireto via carotenoides totais	0,0017	0,0536
Efeito indireto via luteína	0,0776	0,2006
Efeito indireto via zeaxantina	-0,1854	0,4478
Efeito indireto via $\beta$ -criptoxantina	-0,0139	0,0204
Efeito indireto via $\alpha$ -caroteno	0,0081	0,1335
Total		0,0313
Coeficiente de determinação		0,8364
Valor de k usado na análise		0,0497
Efeito da variável residual		0,4044

\*\*,\*: Significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade, pelo teste t;

Apesar de o estudo de correlações simples ter apontado como caracteres de maior contribuição para elevar os teores de  $\beta$ -caroteno, as variáveis CT, zexantina e  $\beta$ -criptoxantina (Quadro 1), a existência de alta correlação entre  $\beta$ -caroteno e as variáveis CT (0,73) e  $\beta$ -criptoxantina (0,88) não significa relação de causa e efeito entre estas variáveis, ou seja, a seleção de genótipos com altos teores de  $\beta$ -caroteno por resposta indireta por CT, por exemplo, não seria eficiente considerando que a zeaxantina é que tem efeito direto elevado sobre  $\beta$ -caroteno. Logo, a utilização da seleção simultânea de caracteres por meio de índices de seleção apropriados seria mais vantajosa e segura.

A variável que apresentou o maior efeito direto sobre  $\beta$ -caroteno foi a zeaxantina (0,88) e a correlação simples entre estas variáveis também foi elevada (0,85) o que caracteriza um efeito pronunciado da zeaxantina sobre o teor de  $\beta$ -caroteno. Este resultado já era esperado uma vez que pela rota de biossíntese de carotenoides, a zeaxantina é o produto da hidroxilação do  $\beta$ -caroteno (HOWITT e POGSON, 2006). Confirma-se, portanto, a necessidade em se realizar a varredura de genótipos promissores quanto ao teor de  $\beta$ -caroteno por meio da análise das frações de carotenoides, pois só a análise de CT não é suficiente, já que os resultados das



correlações e posteriores desdobramentos não foram favoráveis à resposta correlacionada.

#### **4. Conclusões**

1. As correlações fenotípicas e genotípicas entre  $\beta$ -caroteno e as variáveis zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina e carotenoides totais neste trabalho foram elevadas;
2. Apenas a variável zeaxantina apresentou alta correlação e alto efeito direto sobre  $\beta$ -caroteno;
3. O *screening* de genótipos promissores quanto ao teor de  $\beta$ -caroteno deve levar em conta todas as demais frações de carotenoides, pois só a análise de CT não é suficiente para discriminar os melhores genótipos;
4. A seleção de genótipos com altos teores de  $\beta$ -caroteno pode ser realizada por meio da utilização de índices de seleção apropriados, já que também é vantajosa a seleção de genótipos ricos em outras frações de carotenoides.

#### **5. Referências**

AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved Methods, 10. ed. St. Paul: AACC, 2000.

CARDOSO, W.S.; PAES, M. C. D.; GALVÃO, J. C. C.; RIOS, S. A.; GUIMARÃES, P.E.O.; SCHAFFERT, R.E.; BORÉM, A. Variabilidade de genótipos de milho quanto à

composição de carotenoides nos grãos. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 44, n.2, p. 164-173, 2009.

CARVALHO, C. G. P. de; OLIVEIRA, V. R.; CRUZ, C. D.; CASALI, V. W. D. Análise de trilha sob multicolinearidade em pimentão. Pesquisa Agropecuária Brasileira, vol.34, n.4, p. 603-613, 1999.

CARVALHO, S.P. de. Métodos alternativos de estimação de coeficientes de trilha e índices de seleção, sob multicolinearidade. Viçosa: UFV, 1995. 163p.

CHANDER, S.; GUO, Y.Q.; YANG, X.H.; ZHANG, J.; LU, X.Q.; YAN, J.B.; SONG, T.M.; ROCHEFORD, T.R.; LI, J.S. Using molecular markers to identify two major loci controlling carotenoid contents in maize grain. Theor Appl Genet, v. 116, p.223–233, 2008a.

CHANDER, S.; MENG, Y.; ZHANG, Y.; YAN, J.; LI, J. Comparison of Nutritional Traits Variability in Selected Eighty-Seven Inbreds from Chinese Maize (*Zea mays* L.) Germplasm. J. Agric. Food Chem., v. 56, p.6506–6511, 2008b.

COIMBRA, J.L.M.; BENIN, G.; VIEIRA, E.A.; OLIVEIRA, A.C. de.; CARVALHO, F.I.F.; GUIDOLIN, A.F.; SOARES, A.P. Conseqüências da multicolinearidade sobre a análise de trilha em canola. Ciência Rural, v.35, n.2, p. 347-352, 2005.

CRUZ, C.D. Genes - Software for experimental statistics in genetics. Genet Mol Biol 21:135-138, 1998.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. Editora UFV, Vicosa, 1997, 390 pp.

HANDELMAN, G.J.; NIGHTINGALE, Z.D.; LICHTENSTEIN, A.H.; SCHAEFER, E.J.; BLUMBERG, J.B. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *American Journal of Clinical Nutrition*. v. 70, n. 2, p. 247-251, 1999.

HARJES, C.E.; ROCHEFORD, T.R., BAI, L.; BRUTNELL, T. et al. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. *Science*, v. 319, p. 330-333, 2008.

HOWITT, C.A.; POGSON, B.J. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant, Cell and Environment*. v.29, p. 435-445, 2006.

MENKIR, A.; LIU, W.; WHITE, W.; MAZIYA-DIXON, B.; ROCHEFORD, T. Carotenoid diversity in tropical adapted yellow maize inbred lines. *Food Chemistry*, v. 109, p. 521–529, 2008.

MENKIR, A.; MAZIYA-DIXON, B. Influence of genotype and environment on  $\beta$ -carotene content of tropical yellow-endosperm maize genotypes. *Maydica*, v. 49, p. 313-318, 2004.

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

SANTOS, C. A. F.; SENALIK, D.; SIMON, P. W. Path analysis suggests phytoene accumulation is the key step limiting the carotenoid pathway in white carrot roots. *Genetics and Molecular Biology*. v.28, n.2, p. 287-293, 2005.

WRIGHT, S. Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research*, v. 20, p.557-585, 1921.

## Teor e perfil de carotenoides em milho verde sob a aplicação de herbicidas pós-emergentes<sup>1</sup>

Sara de Almeida Rios<sup>(1)</sup>, Maria Cristina Dias Paes<sup>(2)</sup>, Décio Karam<sup>(2)</sup>, Aluizio Borém<sup>(1)</sup> e  
Wilton Soares Cardoso<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Universidade Federal de Viçosa, Av. Peter Henry Rolfs, s/nº, CEP 36570-000 Viçosa, MG. E-mail: [sarariosss@yahoo.com.br](mailto:sarariosss@yahoo.com.br), [borem@ufv.br](mailto:borem@ufv.br), [wiltonscardoso@yahoo.com.br](mailto:wiltonscardoso@yahoo.com.br)

<sup>(2)</sup> Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 285, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: [mcdpaes@cnpmc.embrapa.br](mailto:mcdpaes@cnpmc.embrapa.br), [karam@cnpmc.embrapa.br](mailto:karam@cnpmc.embrapa.br)

Resumo – O objetivo foi avaliar o efeito da aplicação de herbicidas sobre o teor de carotenoides em grãos de milho verde. O plantio foi conduzido em campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 2007, utilizando-se o híbrido simples BRS 1030. As aplicações químicas foram: sem aplicação; foramsulfuron + iodossulfuron-methyl-sodium (40 g.ha<sup>-1</sup>); nicosulfuron (20 g.ha<sup>-1</sup>); mesotrione (120 g.ha<sup>-1</sup>) e tembotrione (100 g.ha<sup>-1</sup>). O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco tratamentos e duas repetições. A aplicação de herbicidas nas doses avaliadas não reduziu os teores de carotenoides, embora a composição dos grãos tenha apresentado diferenças para β-caroteno e percentuais de luteína e carotenoides precursores de vitamina A.

Termos para indexação: *Zea mays*, herbicidas, carotenoides, vitamina A

---

<sup>1</sup> Artigo publicado na revista Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 45, n. 1, p. 106-109, 2010.

## **Green corn carotenoids content and profile under post emergence herbicides application**

Abstract – The objective was to evaluate herbicides application and the carotenoids in corn green grains. The experiment was carried out in experimental field of the Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, MG, 2007, using the BRS 1030. The chemical applications were: no application; foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium ( $40 \text{ g.ha}^{-1}$ ); nicosulfuron ( $20 \text{ g.ha}^{-1}$ ); mesotrione ( $120 \text{ g.ha}^{-1}$ ) and tembotrione ( $100 \text{ g.ha}^{-1}$ ). The experimental design was completely randomized with five treatments, and two replications. The post-emergent herbicides application evaluated did not reduce carotenoids contents, although the corn green composition presented differences for  $\beta$ -carotene and percentage of lutein and pro vitamin A carotenoids.

Index terms: *Zea mays*, herbicides, carotenoids, vitamin A.

### **1. Introdução**

O controle de plantas daninhas é uma prática importante para a obtenção de altos rendimentos em qualquer exploração agrícola, uma vez que a busca por produtividade e o fator econômico na produção de grandes culturas esbarra na interferência das plantas daninhas, as quais tendem a aumentar o custo de produção, reduzir as margens de lucro e diminuir a qualidade do produto (Constantin & Oliveira, 2005).

A cultura do milho, apesar de ser considerada como de boa capacidade competitiva e se enquadrar entre o grupo de culturas que mais sombreiam o solo, sofre intensa interferência das plantas daninhas, com sérios prejuízos no crescimento, na produtividade e na operacionalização de colheita (López-Ovejero et al., 2003; Nicolai et

al., 2006). Portanto, o uso de herbicidas apresenta-se como uma necessidade de ordem econômica, garantindo rapidez e eficiência no controle das plantas daninhas.

Alguns grupos químicos recomendados para o controle de invasoras na cultura do milho, a exemplo das tricetonas, atuam inibindo a biossíntese de carotenoides (Karam & Cruz, 2004). A inibição é indireta, causada pela depleção do co-fator da enzima fitoeno desidrogenase, catalizadora da reação de conversão do fitoeno em fitoflueno, necessária à produção do licopeno que é precursor dos carotenoides presentes no milho (Schulz et al., 1993). Isso pode trazer preocupações para programas de melhoramento de milho que visem o aumento ou manutenção de carotenoides nos grãos, a exemplo da biofortificação, alternativa complementar às ações nutricionais existentes para o combate às deficiências nutricionais, principalmente a hipovitaminose A (Handelman et al., 1999; Oaim et al., 2007).

Os carotenoides presentes nos grãos de milho se dividem em carotenos ( $\beta$ -caroteno e  $\alpha$ -caroteno) e xantofilas (luteína,  $\beta$ -criptoxantina e zeaxantina) e a atividade pró-vitamina A é resultante do  $\beta$ -caroteno e, em menor grau,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina em milho (Kurilich & Juvik, 1999). Existem poucas informações sobre o efeito dos herbicidas no teor e perfil destes compostos de reconhecida importância para a saúde humana, em grãos de milho verde. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar o efeito da aplicação de herbicidas pós-emergentes na composição de carotenoides em grãos de milho verde.

## **2. Material e Métodos**

O plantio foi conduzido na fazenda experimental da Embrapa Milho e Sorgo, em Sete Lagoas, MG, (19°28'00"S, longitude 44°15'00"W e altitude 732 m), em 2007.

Utilizou-se o híbrido simples comercial BRS 1030 e as aplicações foram feitas com herbicidas pós-emergentes aos 28 dias pós-germinação quando as plantas de milho estavam no estágio V3 a V4 (MAGALHÃES et al., 2002), no total de cinco tratamentos: sem aplicação (capina manual no mesmo momento de aplicação das formulações químicas); foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium ( $40 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ); nicosulfuron ( $20 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ); mesotrione ( $120 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ); e tembotrione ( $100 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Todas as aplicações químicas constituíram mistura com atrazine a  $1.000 \text{ g}\cdot\text{ha}^{-1}$ . A adubação utilizada no plantio foi de NPK (8-28-16) + Zn  $400 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  e  $80 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  de N em cobertura no estágio de quatro a cinco folhas do milho. Para a aplicação dos tratamentos utilizou-se um pulverizador costal pressurizado a  $\text{CO}_2$  ( $2,15 \text{ kgf cm}^{-2}$ ), equipado com bico tipo XR-Teejet 110.02 VS, aplicando-se o equivalente a  $150 \text{ L ha}^{-1}$  de calda.

Dez espigas foram colhidas aleatoriamente em cada parcela experimental no estágio reprodutivo R3 (MAGALHÃES et al., 2002), acondicionadas em sacos de papel. No laboratório, as espigas foram despalhadas e os grãos foram retirados com auxílio de faca inoxidável. A amostra composta de grãos das 10 espigas de cada repetição do tratamento foi quarteirizada e a alíquota final triturada em liquidificador. As amostras moídas foram transferidas para frascos de vidro, lacrados com filme parafinado e cobertos com papel alumínio, sendo armazenadas em freezer à  $-20^\circ\text{C}$ , até posteriores análises químicas, realizadas em duplicata.

As extrações foram realizadas segundo protocolo descrito por Kurilich & Juvik (1999), com posterior quantificação de carotenoides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália). Carotenos ( $\alpha$  e  $\beta$ -carotenos) e xantofilas (luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina) foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência em cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 ( $5\mu\text{m}$ ,  $4,6\times 250\text{mm}$ , Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diodo. O gradiente de eluição



foi conduzido a  $0,8\text{mL min}^{-1}$  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. A temperatura do laboratório foi mantida a  $22^{\circ}$  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 e Kimura (2004). O somatório dos teores de luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\alpha$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno resultou nos valores de carotenoides totais (CT). O total de carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA) foi obtido por meio do somatório entre o total de  $\beta$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  total de  $\alpha$ -caroteno +  $\frac{1}{2}$  do total de  $\beta$ -criptoxantina ( $\mu\text{g.g}^{-1}$  massa fresca), considerando 100% de atividade pró-vitáminica A para  $\beta$ -caroteno e 50% para as outras duas variáveis (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004). Foram determinados os percentuais de contribuição individual das frações e total de Pro VA, em relação ao teor de CT.

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco tratamentos e duas repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade, utilizando-se o software Sisvar 5.0 (Ferreira, 2000).

### **3. Resultados e Discussão**

A aplicação dos herbicidas pós-emergentes não influenciou negativamente a composição de carotenoides nos grãos de milho verde, comparados ao tratamento sem aplicação de herbicidas ( $p > 0,05$ ) (Tabela 1).

O uso de nicosulfuron e tembotrione nas doses de  $20\text{ g.ha}^{-1}$  e  $100\text{ g.ha}^{-1}$ , respectivamente, resultou em médias significantemente superiores de  $\beta$ -caroteno ( $1,31\ \mu\text{g.g}^{-1}$  e  $1,17\ \mu\text{g.g}^{-1}$ ) nos grãos de milho verde, comparados ao tratamento sem aplicação

(0,88  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ). A média de luteína ( $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em grãos do tratamento com nicosulfuron foi também significativamente superior (0,98  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) em relação ao tratamento sem aplicação (0,71  $\mu\text{g.g}^{-1}$ ) e, estatisticamente igual aos demais tratamentos, considerando o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1). Schulte e Köcher (2009) avaliando o mecanismo de ação do tembotrione relatam o quanto a degradação metabólica deste herbicida é mais rápida para o milho, em relação a outras espécies. O estresse inicial causado pelo herbicida poderia influenciar positivamente a resposta na biossíntese de carotenoides após aplicação deste herbicida, com possível aumento do pool de carotenoides.

As médias de  $\beta$ -caroteno foram significativamente iguais com aplicação de foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium (40  $\text{g.ha}^{-1}$ ) e Mesotrione (120  $\text{g.ha}^{-1}$ ) em relação ao tratamento sem aplicação de herbicida (Tabela 1). E, os menores teores de  $\beta$ -caroteno em relação aos demais herbicidas não parece ser efeito tóxico do produto e sim, resultado do positivo efeito da aplicação de Nicosulfuron e Tembotrione na biossíntese do  $\beta$ -caroteno (Schulte e Köcher, 2009).

A aplicação de Mesotrione (120  $\text{g.ha}^{-1}$ ) promoveu aumento no percentual de luteína, em relação ao tratamento sem aplicação química. Kopsell et al. (2009) também reportam um aumento nos teores de luteína e zeaxantina em milho, pós aplicação com Mesotrione e Atrazina. Os autores relatam um possível aumento do pool de carotenoides uma vez que os genótipos de milho verde apresentam injúrias moderadas pós aplicação com o Mesotrione, superando o estresse oxidativo inicial causado por este herbicida.

O percentual de luteína foi estatisticamente igual para os tratamentos Tembotrione (100  $\text{g.ha}^{-1}$ ), Nicosulfuron (20  $\text{g.ha}^{-1}$ ) e tratamento sem aplicação química. Em relação aos demais herbicidas, foram observadas médias superiores para essa característica (Tabela 1). Os percentuais de Pro VA também foram significativamente

inferiores no tratamento foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium ( $40 \text{ g.ha}^{-1}$ ), em comparação aos demais herbicidas.

Ambos herbicidas tembotrione, que inibe a enzima 4-hidroxifenil piruvato dioxigenase, precursora da biossíntese de carotenoides na planta (Schulte e Köcher, 2009) e o nicosulfuron, que atua na inibição da enzima acetolactato sintase (ALS)(Williams e Pataky, 2008), nas dosagens estudadas, de  $100 \text{ g.ha}^{-1}$  e  $20 \text{ g.ha}^{-1}$ , respectivamente, não causaram efeitos deletérios aos teores de carotenoides totais e frações com atividade pró-vitáminica A, em grãos do híbrido BRS 1030, e podem ser utilizados, sem restrições no manejo da cultura com esse cultivar para a produção de milho verde destinado à alimentação humana.

Porém, a aplicação do herbicida foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium causou redução dos percentuais de Pro-VA, em grãos do milho verde BRS 1030, sendo, portanto, necessários estudos complementares que contribuam para um maior entendimento da relação entre herbicidas deste grupo químico e os teores de carotenoides em grãos de milho verde.

## **Agradecimentos**

Ao Harvest Plus e à FAPEMIG - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais pelo apoio financeiro.

## **Referências**

CONSTANTIN, J.; OLIVEIRA, R.S. Dessecação antecedendo a semeadura direta pode afetar a produtividade. Potafós: Informações Agronômicas, n.109, p.14-15, 2005.

FERREIRA, D.F. 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, 2000. p. 235.

HANDELMAN, G.J.; NIGHTINGALE, Z.D.; LICHTENSTEIN, A.H.; SCHAEFER, E.J.; BLUMBERG, J.B. Lutein and zeaxanthin concentrations in plasma after dietary supplementation with egg yolk. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.70, p.247-251, 1999.

KARAM, D.; CRUZ, M.B. Características do herbicida mesotrione na cultura do milho. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS, 4p.(Embrapa-CNPMS.Circular Técnica, 52), 2004.

KOPSELL, D.A.; ARMEL,G.R.; MUELLER,T.C.; SAMS, C.E.; DEYTON, D.E.; MCELROY, J.S.; KOPSELL, D.E. Increase in Nutritionally Important Sweet Corn Kernel Carotenoids following Mesotrione and Atrazine Applications. *J. Agric. Food Chem.*, v. 57, p. 6362–6368, 2009.

KURILICH, A.C.; JUVIK, J.A. Quantification of carotenoids and tocopherol antioxidants in *zea mays*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v.47, p.1948-1955, 1999.

LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; FANCELLI, A.L; DOURADO-NETO, D.; GARCÍA Y GARCÍA, A.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Seletividade de herbicidas para a cultura de milho (*Zea mays*)

aplicados em diferentes estádios fenológicos da cultura. *Planta Daninha*, v.21, p.413-419, 2003.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F.O.M. & PAIVA, E. *Fisiologia da planta de milho*. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS, 1995. 27 p. (EMBRAPA-CNPMS. Circular Técnica, 20).

NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Aplicação conjunta de herbicidas e inseticidas na cultura do milho. *Bragantia*, v.65, p. 413-420, 2006.

OAIM, M.; STEIN, A.J.; MEENAKSHI, J.V. Economics of biofortification. *Agricultural Economics*, v. 37, p. 119-133, 2007.

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

SCHULTE, W.; KÖCHER, H. Tembotrione and combination partner isoxadifen-ethyl – mode of herbicidal action. *Bayer CropScience Journal*, v. 62, p. 35-52, 2009.

SCHULTZ, A.; ORT, O.; BEYER, P.; KLEINIG, H. SC-0051, A 2-benzoyl-cyclohexane-1,3-dione bleaching herbicide, is a potent inhibitor of the enzyme *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *FEBS Letters*, v. 318, p.161-166, 1993.

WILLIAMS, M.M.; PATAKY, J.K. Genetic Basis of Sensitivity in Sweet Corn to Tembotrione. Weed Science, v. 56, p. 364–370, 2008.

**Tabela 1.** Teores médios de luteína, zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina,  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA) e carotenoides totais, em  $\mu\text{g.g}^{-1}$  e percentuais de luteína, zeaxantina e carotenoides precursores de vitamina A (Pro VA) em grãos de milho verde do híbrido simples BRS 1030 em função da aplicação ou não de herbicidas pós-emergentes<sup>(1)</sup>

Tratamento	Carotenoides									
	$\mu\text{g.g}^{-1}$ amostra fresca							%		
	Luteína	Zeaxantina	$\beta$ -criptoxantina	$\beta$ -caroteno	$\alpha$ -caroteno	Pro VA	CT	Luteína	Zeaxantina	Pro VA
Sem aplicação	0,71Ab	9,85Aa	0,77Aa	0,88Ac	0,012Ab	1,27Ab	12,21Aa	5,78Ab	80,67Aa	10,37Aab
Foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium (40 g.ha <sup>-1</sup> )	0,93Aab	11,03Aa	0,77Aa	0,97Abc	0,020Aab	1,36Aab	13,71Aa	6,74Ba	80,46Aa	9,93Ab
Nicosulfuron (20 g.ha <sup>-1</sup> )	0,98Ba	12,34Ba	0,78Aa	1,31Ba	0,023Ba	1,71Ba	15,42Ba	6,35Aab	79,97Aa	11,09Aa
Mesotrione (120 g.ha <sup>-1</sup> )	0,83Aab	10,03Aa	0,64Aa	1,03Abc	0,022Bab	1,36Aab	12,54Aa	6,58Ba	79,97Aa	10,83Aa
Tembotrione (100 g.ha <sup>-1</sup> )	0,80Aab	11,37Aa	0,80Aa	1,17Bab	0,022Bab	1,58Aab	14,16Aa	5,61Ab	80,32Aa	11,16Ba
CV (%)	7,72	5,93	6,38	6,48	14,05	6,47	6,01	3,06	0,58	2,10
Média	0,85	10,92	0,75	1,07	0,02	1,45	13,61	6,21	80,28	10,68

<sup>(1)</sup> Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si, pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Médias seguidas de letra maiúscula na coluna comparam os tratamentos com aplicação de herbicidas com a testemunha pelo teste Dunnett, ao nível de 5 % de probabilidade.

## 2. CONCLUSÕES GERAIS

As médias de carotenoides nos cultivares avaliados são relativamente baixas quando comparadas àquelas reportadas na literatura em linhagens elite. Porém, ainda que inferiores, estes materiais poderiam auxiliar na reversão de quadros de deficiência nutricional para aquelas populações cujo hábito cultural é o consumo de milho branco, que tem pouco ou quase nenhum teor de carotenoides nos grãos.

O efeito do ambiente na expressão dos caracteres avaliados sugere a necessidade de que estes estudos sejam efetuados em várias condições ambientais.

Os caracteres que mais contruíram para a diversidade genética entre os cultivares estudados foram luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de avaliação, podendo ser priorizados no estudo de diversidade genética para carotenoides em milho.

As correlações fenotípicas e genotípicas foram elevadas entre  $\beta$ -caroteno e as variáveis zeaxantina,  $\beta$ -criptoxantina e carotenoides totais. Porém, apenas a variável zeaxantina apresentou alta correlação e alto efeito direto sobre  $\beta$ -caroteno. Logo, o *screening* de genótipos promissores quanto ao teor de  $\beta$ -caroteno deve levar em conta todas as demais frações de carotenoides, pois só a análise de CT não é suficiente



para discriminar os melhores genótipos. E, ainda, a seleção de genótipos com altos teores de  $\beta$ -caroteno pode ser realizada por meio da utilização de índices de seleção apropriados, já que também é vantajosa a seleção de genótipos ricos em outras frações de carotenoides.

A aplicação de herbicidas nas doses avaliadas não reduziu os teores de carotenoides, embora a composição dos grãos tenha apresentado diferenças para  $\beta$ -caroteno e percentuais de luteína e carotenoides precursores de vitamina A. Além disso, a aplicação do herbicida foramsulfuron + iodosulfuron-methyl-sodium causou redução dos percentuais de Pro VA, em grãos do milho verde BRS 1030, sendo, portanto, necessários estudos complementares que contribuam para um maior entendimento da relação entre herbicidas deste grupo químico e os teores de carotenoides em grãos de milho verde.