

Estabilidade Fenotípica de Carotenóides em Cultivares de Milho

Sara A. Rios¹, Maria C. D. Paes², Aluizio Borém¹, Cosme D. Cruz¹, Paulo E. de O. Guimarães², Carlos H. P. Pires² e Wilton S. Cardoso¹

¹Universidade Federal de Viçosa, CEP 36570-000, Viçosa, MG. sararioss@yahoo.com.br.

²Embrapa Milho e Sorgo, CP 151, CEP 35701-970, Sete Lagoas, MG. mcdpaes@cnpmc.embrapa.br

Palavras-chave: *Zea mays*, vitamina a, genótipos x ambientes, método centróide.

Dentre as estratégias utilizadas para o combate às hipovitaminoses, a biofortificação, que é o aumento nos teores de nutrientes essenciais em alimentos básicos da dieta humana, se destaca como alvo de vários programas de melhoramento e transformação genética. O milho, espécie carotenogênica, apresenta-se como um cereal de extrema importância por ser alimento básico de consumidores da África Subsaariana, América Latina e nordeste Brasileiro, dentre muitos outros locais, onde os índices de hipovitaminose A são elevados (HARVEST PLUS, 2007).

Considerando o acúmulo de carotenóides, achados descritos na literatura científica apontam a influência de fatores ambientais interferindo na carotenogênese. E, apesar de escassos, parecem indicar existência de interação genótipos x ambientes, considerando a produção de carotenóides em diversos vegetais (MEDIUM-TERM PLAN, 2007), o que poderia dificultar os processos seletivos dentro dos programas de melhoramento. Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a adaptabilidade e a estabilidade de carotenóides para diferentes cultivares de milho, em cinco ambientes, por meio de metodologia multivariada.

Os materiais estudados foram provenientes do Ensaio de Variedades de Milho conduzido pela Embrapa Milho e Sorgo, no ano agrícola 2004/2005, com cinco ambientes de cultivo e dez cultivares de milho (Tabela 1 e 2). O delineamento experimental foi o de blocos casualizados com duas repetições. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de quatro metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e um estande final de aproximadamente 55.000 plantas por hectare.

As análises físico-químicas dos grãos foram conduzidas no Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG, avaliando-se os dez cultivares de milho, nos cinco ambientes de cultivo, quanto aos teores de carotenóides. A debulha foi feita em debulhador mecânico, moendo-se os grãos obtidos em micro moinho, tipo ciclone MA 020 MARCONI (Piracicaba – SP), com posterior acondicionamento das amostras em frascos de vidro, tampados, lacrados com parafilme e envoltos em papel alumínio. Estes foram armazenados à temperatura de -20°C até condução das análises químicas. As extrações foram realizadas segundo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya e Kimura (2004), com posterior quantificação de carotenóides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália), utilizando-se o comprimento de onda de 450nm. Carotenos (α e β -carotenos) e a xantofila (β -criptoxantina) que

apresentam atividade pró-vitáminica A foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 (5µm, 4,6x250mm, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diiodo. 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. A temperatura do laboratório foi mantida a 22°C durante todo o processo. Para identificação dos compostos foram utilizados padrões purificados a partir de cenoura e milho verde, seguindo protocolo descrito em Rodriguez-Amaya & Kimura (2004).

O total de carotenóides com atividade pró-vitáminica (Pro VA) foi obtido por meio da soma entre o total de β-caroteno + ½ de β-criptoxantina + ½ de α-caroteno, considerando 100% de atividade pró-vitáminica A para β-caroteno e 50% para as outras duas variáveis. Os resultados foram expressos em base seca, considerando os dados de umidade das análises realizadas nas amostras, em duplicata, seguindo o método 44-15A da AACC (2000).

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

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

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

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

Cultivares	Procedência	Tipo e coloração dos grãos	População
BRS 2020	Embrapa	Semiduro/alaranjado	Híbrido Duplo
Fundacep 35	Fundacep	Semiduro/amarelo-alaranjado	Variedade
CMS 104	Embrapa	Semidentado/amarelo	Variedade
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	Variedade
CMS 101	Embrapa	Semidentado/amarelo	Variedade
BRS Missões	Embrapa	Dentado/amarelo	Variedade
BRS São Francisco	Embrapa	Semidentado/amarelo-alaranjado	Variedade

Para o estudo de adaptabilidade e estabilidade utilizou-se o método centróide (ROCHA et al., 2005). As análises genético-estatísticas foram realizadas por meio dos recursos computacionais do software Genes versão 2007.0.0, (CRUZ, 2006 e 2007).

A média geral para CT foi de 23,11 $\mu\text{g g}^{-1}$, com variação entre os genótipos de 19,32 $\mu\text{g g}^{-1}$ a 26,43 $\mu\text{g g}^{-1}$ (Tabela 3). Harjes et al. (2008) encontraram média de 23 $\mu\text{g g}^{-1}$ em linhagens amarelas de milho, porém, com maior variabilidade para esta característica (entre 5,5 e 66 $\mu\text{g g}^{-1}$). Os cultivares brasileiros estudados apresentaram variação de Pro VA entre 1,73 a 2,36 $\mu\text{g g}^{-1}$, com média geral de 1,96 $\mu\text{g g}^{-1}$, valores próximos àqueles encontrados por Ewool et al. (2006), de 2,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 3,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, para os genótipos GH9866SR e GH120DYFP, respectivamente (Tabela 3).

Para a classificação dos cultivares em um dos quatro grupos representados pelos ideótipos, segundo metodologia de componentes principais do método Centróide, foram utilizados valores maiores ou iguais a 40% de probabilidade. Considerando os teores de CT nos grãos de milho, observou-se a proximidade do híbrido BRS 2020 (1) e das variedades BRS Caatingueiro (4) e BRS São Francisco (10) ao ideótipo I, sendo, portanto, de adaptabilidade geral, além de apresentarem médias de CT superiores à média geral (Tabela 3).

Tabela 3: Classificação dos cultivares de milho em um dos quatro grupos caracterizados pelos centróides e a probabilidade associada à sua classificação, para as características carotenóides totais e carotenóides com atividade pró-vitáminica A, em $\mu\text{g g}^{-1}$ em grãos de milho. Embrapa/CNPMS, Sete Lagoas, 2004/2005

Cult	Média	Gr	Probabilidades				Média	Gr	Probabilidades			
			I	II	III	IV			I	II	III	IV
-----Carotenóides totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)-----			-----Pro VA ($\mu\text{g g}^{-1}$)-----									
1	26,43	I	0,75	0,08	0,10	0,06	2,36	I	0,45	0,21	0,19	0,15
2	21,65	III	0,22	0,21	0,30	0,28	1,88	IV	0,18	0,20	0,25	0,37
3	19,32	IV	0,13	0,19	0,18	0,50	1,73	IV	0,14	0,19	0,19	0,48
4	24,92	I	0,48	0,17	0,22	0,14	2,24	I	0,40	0,24	0,20	0,17
5	22,62	III	0,26	0,19	0,34	0,21	1,78	IV	0,14	0,16	0,25	0,44
6	22,46	III	0,24	0,18	0,36	0,22	2,07	III	0,23	0,21	0,30	0,26
7	23,87	I	0,33	0,19	0,30	0,18	1,91	III	0,16	0,15	0,36	0,33
8	20,51	IV	0,16	0,27	0,18	0,39	1,75	IV	0,16	0,19	0,23	0,43
9	23,96	I	0,35	0,20	0,27	0,18	1,92	IV	0,18	0,19	0,30	0,34
10	25,38	I	0,46	0,20	0,20	0,15	1,95	IV	0,19	0,20	0,30	0,31
Média	23,11						1,96					

Cult = cultivar; Gr = grupo de classificação; Ideótipo I = Adaptabilidade geral; Ideótipo II = Adaptabilidade específica a ambientes favoráveis; Ideótipo III = Adaptabilidade específica a ambientes desfavoráveis; Ideótipo IV = Pouco adaptado. 1 = BRS 2020; 2 = Fundacep 35; 3 = CMS 104; 4 = BRS Caatingueiro; 5 = BRS 473 cIII; 6 = UFVM100; 7 = CMS 102; 8 = CMS 101; 9 = BRS Missões; 10 = BRS São Francisco.

Em geral, estes resultados demonstram a necessidade de pesquisas complementares de adaptabilidade e estabilidade de cultivares, quanto aos teores de carotenóides, antes de sua indicação como produtos comerciais, principalmente, em regiões onde ocorrem

grandes variações edafoclimáticas e de técnicas de cultivo, como no Brasil. Considerando, ainda, a extensão dos problemas de hipovitaminose A em diferentes regiões mundiais, o estudo da IGA e de suas conseqüências se torna extremamente necessário para a difusão e/ou o intercâmbio de materiais e tecnologias de cultivo, de processamento, dentre outros.

Com base nos resultados pode-se concluir pela existência de interação entre genótipos e ambientes para as características carotenóides totais e carotenóides com atividade provitamínica A (Pro VA) ($\mu\text{g g}^{-1}$), em grãos de milho, sendo o híbrido BRS 2020 classificado como ideal para todas as características avaliadas com base no método centróide.

Os autores agradecem ao HarvestPlus pelos recursos destinados ao programa de Biofortificação de Alimentos e à FAPEMIG pelo apoio à pesquisa.

Referências bibliográficas

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

CRUZ, C.D. Biometria. Editora UFV. Viçosa (MG). 2006. 382p.

CRUZ, C.D. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística. Disponível em: <http://www.ufv.br/dbg/genes/genes.htm>. Acesso em 27/11/2007.

EWOOOL, 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.

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/about.html>. Acesso em: 27/11/2007.

MEDIUM-TERM PLAN: 2008-2010, June 2007. Disponível em: <http://www.harvestplus.org/pdfs/hpmt20082010.pdf>. Acesso em: 25/01/2008.

ROCHA, R.B.; MURO-ABAD, J.I.; ARAÚJO, E.F.; CRUZ, C.D. Avaliação do método centróide para estudo de adaptabilidade ao ambiente de clones de *Eucalyptus grandis*. *Ciência Florestal*, v. 15, n. 3, p. 255-266, 2005.

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