

Adaptabilidade e Estabilidade 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. sarariosss@yahoo.com.br.

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

Palavras-chave: *Zea mays*, Biofortificação, Genótipos x Ambientes, Eberhart & Russel.

Os carotenóides são pigmentos, presentes em plantas e alimentos, que têm sido alvo de vários estudos em nutrição humana dada à importância dos mesmos na prevenção de doenças, principalmente a hipovitaminose A, responsável pela cegueira de mais de 250 mil crianças anualmente, devido à baixa ingestão de vitamina A em suas dietas. Esta situação é um problema que afeta também os brasileiros, principalmente, aqueles de zonas rurais e, especialmente, de regiões semi-áridas (RODRIGUEZ-AMAYA & KIMURA, 2004).

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).

Resultados da literatura 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 de regressão linear.

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 utilizado foi o de blocos casualizados com duas repetições. As parcelas foram constituídas de duas fileiras de quatro metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e um estande final de aproximadamente 55.000 plantas por hectare.

As análises físico-químicas dos grãos foram conduzidas no Laboratório de Qualidade de Grãos e Forragens do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo da Embrapa, localizado em Sete Lagoas, MG, avaliando-se os dez cultivares de milho, nos cinco ambientes de cultivo, quanto à composição de carotenóides. A debulha foi feita em debulhador mecânico, moendo-se os grãos obtidos em micro moinho, tipo ciclone MA 020 MARCONI (Piracicaba –

SP), com posterior acondicionamento das amostras em frascos de vidro, tampados, lacrados com parafilme e envoltos em papel alumínio. Estes foram armazenados à temperatura de -20°C até condução das análises químicas. As extrações foram realizadas segundo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya & Kimura (2004), com posterior quantificação de carotenóides totais (CT) em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália), utilizando-se o comprimento de onda de 450nm. Carotenos (α e β -carotenos) e a xantofila (β -criptoxantina) que apresentam atividade pró-vitamina A foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) em cromatógrafo líquido Shimadzu modelo LC-10 equipado com coluna polimérica YMC C 30 (5 μ m, 4,6x250mm, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de diodo. O gradiente de eluição foi conduzido a 0,8mL 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).

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

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

As médias foram comparadas pelo Teste Duncan, ao nível de 5% de probabilidade e, para o estudo de adaptabilidade e estabilidade foi utilizada a metodologia proposta por Eberhart & Russell (1966). As análises genético-estatísticas foram realizadas por meio dos recursos computacionais do software Genes versão 2007.0.0 (CRUZ, 2006 e 2007).

Os dados avaliados não apresentaram ajuste satisfatório ao modelo de regressão linear, proposto por Eberhart & Russell (1966), baseado no coeficiente de determinação (R^2).

Apenas 10% dos cultivares apresentaram R^2 superior a 80%, considerando-se os teores de CT nos grãos e, 30%, considerando os teores de Pro VA (Tabela 3). O híbrido duplo BRS 2020 apresentou a maior média (β_{0i}) de CT ($\mu\text{g g}^{-1}$), de 26,43 $\mu\text{g g}^{-1}$, coeficiente de regressão linear (β_{1i}) igual à unidade, o que, de acordo com a metodologia proposta, o caracteriza como de ampla adaptabilidade ou adaptabilidade geral, e, além disso, desvio de regressão (σ^2_{di}) igual a zero, ou seja, com alta previsibilidade e/ou estabilidade de comportamento, para esta característica (Tabela 3), classificando-o como cultivar ideal segundo metodologia proposta por Eberhart & Russell (1966).

Tabela 3: Estimativas dos parâmetros de adaptabilidade e estabilidade (média, $\hat{\beta}_{1i}$ e σ^2_{di}), pela metodologia de Eberhart & Russell (1966), para as características carotenóides totais

Cultivares	Carotenóides Totais ($\mu\text{g g}^{-1}$)				Pro VA ($\mu\text{g g}^{-1}$)			
	Média ⁽¹⁾	$\hat{\beta}_{1i}$	σ^2_{di}	R_i^2 (%)	Média ⁽¹⁾	$\hat{\beta}_{1i}$	σ^2_{di}	R_i^2 (%)
BRS 2020	26,43a	0,77 ^{ns}	0,45 ^{ns}	65,00	2,36a	2,94**	0,18''	54,54
Fundacep 35	21,65de	1,17 ^{ns}	7,84''	28,71	1,88cdef	1,33 ^{ns}	0,00 ^{ns}	90,13
CMS 104	19,32f	1,02 ^{ns}	4,83''	32,81	1,73f	1,53**	0,01''	81,78
BRS Caatingueiro	24,92ab	0,65 ^{ns}	1,01'	43,38	2,24a	2,11**	0,01'	92,41
BRS 473 cIII	22,61cd	0,25 ^{ns}	0,84'	11,22	1,78def	0,88 ^{ns}	0,04''	32,76
UFVM100	22,46cd	0,12*	0,04 ^{ns}	9,49	2,07b	-0,02**	0,05''	0,02
CMS 102	23,87bc	0,33 ^{ns}	3,16''	7,22	1,91cde	0,13**	0,01''	2,55
CMS 101	20,51ef	2,74**	0,22 ^{ns}	97,12	1,75ef	0,44**	0,09''	5,05
BRS Missões	23,96bc	0,99 ^{ns}	3,94''	35,65	1,92cd	-0,15**	0,03''	1,77
BRS São Francisco	25,38ab	1,96**	3,08''	73,16	1,95bc	0,82 ^{ns}	0,01''	52,24
Média	23,11				1,96			

** e *: significativamente diferente de um, pelo teste t, ao nível de 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

'' e ' : significativamente diferente de zero, pelo teste F, ao nível de 1 e 5% de probabilidade, respectivamente.

⁽¹⁾ Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem entre si pelo teste Duncan, ao nível de 5% de Probabilidade.

A variedade BRS Caatingueiro apresentou teores de Pro VA ($\mu\text{g g}^{-1}$) superiores à média geral, baixa previsibilidade, porém com ajuste elevado ao modelo (92 %) e adaptabilidade específica a ambientes favoráveis, tornando-se uma variedade promissora como fonte de carotenóides pró-vitamínicos A, dentre os cultivares avaliados (Tabela 3).

Existe 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. Para a maioria das variáveis analisadas, não se observa ajuste satisfatório ao modelo de regressão linear, considerando os teores de carotenóides totais e as frações com atividade pró-vitamínica A. O híbrido BRS 2020 apresenta-se como promissor devido à sua adaptabilidade geral e estabilidade de comportamento, quanto aos teores de carotenóides totais.

Os autores agradecem o apoio do HarvestPlus pelos recursos destinados ao programa de Biofortificação do Milho da Embrapa 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.

EBERHART, S. A.; RUSSELL, W. A. Stability parameters for comparing varieties. Crop Science, Madison, v. 6, n. 1, p. 36-40, 1966.

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.

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