

ACÚMULO DE MATÉRIA SECA E COMPOSIÇÃO DOS CARBOIDRATOS DE UMA NOVA CULTIVAR DE MILHO, COM ENDOSPERMA TRIPLO MUTANTE "SUGARY-OPAQUE-2-WAXY"¹

MAGALI C.M.S.T. MACHADO², FELIX G.R. REYES³ e WILLIAN J. DA SILVA⁴

RESUMO - O acúmulo de matéria seca e a composição de carboidratos de uma nova cultivar de milho, o triplo mutante Sugary-Opaque-2-Waxy, foram estudados comparativamente em relação às cultivares Sugary-Opaque-2, Waxy-Sugary-Opaque-2 e uma cultivar de milho (*Zea mays* L.) normal. De uma maneira geral, todas as cvs. estudadas apresentaram, aos 25 dias após a polinização (DAP) teores semelhantes de açúcares solúveis redutores. As cultivares que continham o gene sugary apresentaram teores mais elevados de açúcares solúveis totais e de fitoglicogênio, em comparação com as cultivares com endosperma amiláceo. Uma relação inversa foi observada para o conteúdo de amido. A avaliação do acúmulo de matéria seca, em diferentes estádios de maturação, 15, 20, 25, 30 e 35 DAP, indicou que o milho normal e o triplo mutante apresentaram os maiores e menores valores de porcentagem de peso seco, respectivamente. O triplo mutante mostrou acúmulo de matéria seca mais lento do que seus ascendentes, proporcionando um período mais prolongado de colheita como milho verde, favorecendo o seu consumo *in natura*.

Termos para indexação: *Zea mays*, composição de carboidratos, açúcares solúveis redutores, fitoglicogênio, endosperma amiláceo.

DRY MATTER ACCUMULATION AND CARBOHYDRATE COMPOSITION OF A NEW CULTIVAR OF MAIZE, "SUGARY-OPAQUE-2-WAXY"

ABSTRACT - Dry matter accumulation and carbohydrate composition of a new cultivar of maize (*Zea mays* L.), the triple mutant Sugary-Opaque-2-Waxy, was comparatively studied in relation to the cultivars Sugary, Opaque-2, Waxy, Sugary-Opaque-2 and Maya Normal. In general, all cultivars showed similar content of soluble reducing sugars. The cultivars with the sugary gene showed higher content of total soluble sugars and phyto glycogen than those with the starchy endosperm. The opposite was found to the starch content. Maya Normal and the triple mutant showed, respectively, the higher and lower values for dry matter accumulation at the different stages of endosperm development (15, 20, 25, 30 and 35 days after pollination - DAP). The lower rate of dry matter accumulation suggests that the triple mutant would be more appropriate to be consumed as sweet corn.

Index terms: *Zea mays*, carbohydrate composition, soluble reducing sugars, phyto glycogen, starchy endosperm.

INTRODUÇÃO

O consumo de milho verde no Brasil é ainda incipiente, apesar de ser bastante apreciado pela população brasileira, seja para consumo *in natura*, seja em pratos típicos como pamonha, curau e bolo, seja industrializado na forma de milho verde enlatado ou congelado.

¹ Aceito para publicação em 24 de maio de 1990.

² Em Curso de Pós-Graduação na Fac. de Engenh. de Alimentos, UNICAMP, Dep. de "Ciências de Alimentos", Caixa Postal 6121, CEP 13081 Campinas, SP.

³ Prof., Dr., Fac. de Engenh. de Alimentos, UNICAMP, Dep. de "Ciência de Alimentos".

⁴ Prof., Dr., Inst. de Biol., UNICAMP, Dep. de Genética e Evolução.

Vale salientar que o seu potencial de industrialização tem sido pouco explorado, podendo ser utilizado em formulações de pudins, sorvetes e iogurtes, entre outros. A sazonalidade da produção aliada à falta de materiais adequados à comercialização são alguns dos fatores que contribuem para tal situação.

Em geral, no preparo de pratos típicos são usadas cultivares comuns (endosperma normal), dada a necessidade de amido para a sua execução. Em relação ao milho enlatado, congelado ou mesmo consumido na espiga, já é comum o emprego do milho doce. Além das características de sabor que ele é capaz de conferir, o milho doce contém altos teores de polissacarídeos solúveis em água, possuindo propriedades texturais desejáveis ao enlatamento e ao consumo *in natura* (Tosello 1987).

Muitos mutantes hoje conhecidos são capazes de alterar qualitativa ou quantitativamente a fração de carboidratos no endosperma da semente durante seu desenvolvimento (Creech 1965). Também algumas combinações de duplos mutantes apresentam essa característica (Creech 1965, Creech 1968). Alguns desses genótipos são capazes de tornar a semente doce, aumentando sua preferência, por parte dos consumidores (Weckel et al. 1960 e 1962, Showalter & Miller 1962).

Silva et al. (1978) relataram um novo tipo de milho doce, Nutrimaiz, que contém o gene mutante Sugary associado ao gene Opaque-2, procurando, com essa combinação, melhorar a qualidade protéica do milho doce, para consumo como milho verde.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a composição de carboidratos e o acúmulo de matéria seca nas sementes de uma nova cultivar de milho, o triplo mutante Sugary-Opaque-2-Waxy, visando o desenvolvimento de novas cultivares mais adequadas à alimentação humana.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivares

Foram analisadas comparativamente seis cultivares, homocigotas para os genes Sugary (Su), Opa-

que-2 (o2) e Waxy (wx), bem como uma combinação dupla (suo2) e a combinação tripla suo2wx, além de uma variedade de milho normal (suo2wx), que serviu de referência. As cultivares foram plantadas no campo experimental do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da UNICAMP, Campinas, SP, perfazendo os seguintes materiais: Maya Normal (Su02Wx), Maya Opaco-2 (Suo2Wx), Composto Dentado Waxy (Su02wx), Doce Cubano (suo02Wx), Nutrimaiz (su02Wx) e o triplo mutante Sugary-Opaque-2-Waxy (su02wx) selecionado a partir da introdução do gene Waxy do Composto Dentado na cultivar Nutrimaiz.

Avaliação do acúmulo de matéria seca no fruto

Para a determinação do acúmulo de matéria seca, as cultivares foram plantadas no ano agrícola 85/86, em um experimento na forma de blocos casualizados, com três repetições. A parcela experimental foi constituída de uma linha de 10 m de comprimento, com 1 m de espaçamento entre linhas, 0,20 m entre plantas e com bordadura única. Para evitar o efeito xenia, as plantas foram autofecundadas. As amostras constituídas de cinco espigas de cada linha foram colhidas aos 15, 20, 25, 30 e 35 dias após a polinização (DAP). As espigas foram pesadas com palhas e despalhadas, e tiveram os grãos retirados com facas de aço inox. Os grãos frescos foram então pesados e submetidos à secagem em estufa com circulação de ar, a 60°C até secagem completa (aproximadamente 72 h). Em seguida foram pesados os grãos secos, e calculada a porcentagem de peso seco.

Além da análise de variância pertinente, foi efetuado o teste de Tukey segundo Pimentel-Gomes (1982), para comparação de médias.

Foi também realizada uma análise de variância envolvendo conjuntamente todos os estádios de maturação e os seis tipos de endosperma.

Determinação dos carboidratos

A dosagem dos carboidratos do milho foi realizada em dois ensaios. No primeiro ensaio (ano agrícola 84/85), dosaram-se os conteúdos de açúcares solúveis redutores e totais, em experimento delineado na forma de blocos casualizados, com seis repetições, e com bordadura única. Cada tratamento constou de seis linhas de 10 m de comprimento, com plantas no espaçamento de 1 m entre linhas e 0,20 m entre plantas. As plantas foram autofecundadas e a colheita realizada quando o material atingiu aproximadamente o estágio leitoso, aos 25 DAP.

O segundo ensaio foi realizado no ano agrícola 85/86, visando determinar os conteúdos de açúcares solúveis redutores e totais, de fitoglicogênio e de amido, sendo as cultivares plantadas em lotes isolados de 140 m², em linhas de 10 m de comprimento, com espaçamento de 1 m entre as linhas, 0,20 m entre plantas, e com bordadura única. As plantas foram polinizadas livremente, e a colheita, realizada aos 25 DAP.

Preparo das amostras

As espigas foram despalhadas e tiveram as bordas aparadas, após o que foram submetidas a um branqueamento em água fervendo (4 min), resfriamento em água a aproximadamente 20°C (5 a 10 min) e congelamento rápido a -20°C. Em seguida, as espigas foram liofilizadas, e os grãos, separados do sabugo, triturados em moinho de facas, obtendo-se uma farinha integral. O material utilizado para a dosagem seletiva dos carboidratos (ano agrícola 85/86) não foi submetido ao branqueamento, a fim de possibilitar a dosagem do amido, uma vez que este procedimento provoca a gelatinização dos grânulos de amido.

Dosagem dos carboidratos

A extração seletiva dos carboidratos foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Gonzales et al. (1976), com algumas modificações. O procedimento utilizado é apresentado na Fig. 1. Os sobrenadantes contendo fitoglicogênio (sobrenadante II) e amido (sobrenadante III) tiveram seus volumes elevados a 250 ml com solução de H₂SO₄, de forma a se obter uma solução, aproximadamente, de 1N H₂SO₄. Dessas soluções foram retiradas alíquotas, as quais foram aquecidas em banho-maria a 90-100°C, em tubo com rosca, durante três horas. As soluções foram resfriadas à temperatura ambiente, e em seguida, realizada a dosagem dos açúcares totais.

A dosagem dos açúcares solúveis redutores foi feita pelo método colorimétrico de Somogyi-Nelson (Somogyi, 1945), e a dosagem dos açúcares totais, pelo método colorimétrico do fenol/ácido sulfúrico, descrito por Dubois et al. (1956).

Para cada determinação química realizada, utilizou-se a análise de variância e teste F, seguindo o delineamento inteiramente casualizado. Visando comparar os resultados obtidos para açúcares redutores e açúcares totais, efetuou-se também a análise

de variância a dois critérios. Foi empregado o teste de Tukey para a ordenação das médias nos dois tipos de análise, e calculadas as diferenças mínimas significativas (DMS), ao nível de 5% de significância.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O acúmulo de matéria seca, avaliado através da porcentagem de peso seco das seis cultivares de milho, está apresentado na Fig. 2. Verificou-se que, apesar de todas as cultivares estudadas terem apresentado comportamento semelhante no início do seu desenvolvimento, a partir dos 20 DAP observou-se acúmulo diferenciado de matéria seca entre os tipos de endosperma amiláceo e os que continham o gene Sugary. Em geral, o milho normal e o triplo mutante Sugary-Opaque-2-Waxy apresentaram, a cada estágio de maturação, res-

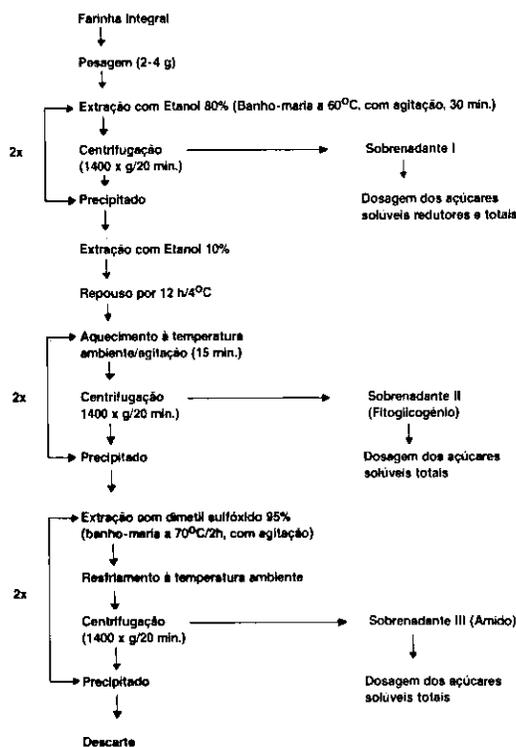


FIG. 1. Fluxograma da extração seletiva dos carboidratos do milho.

pectivamente, o maior e o menor valor para porcentagem de peso seco. O triplo mutante apresentou um comportamento característico de milho doce, acumulando matéria seca mais lentamente do que as cultivares que continham seus genes mutantes de origem.

Creech (1965, 1968) estudou o conteúdo de matéria seca e o teor de vários carboidratos em

31 genótipos de milho, em quatro estádios de maturação (16, 20, 24 e 28 DAP). Nossos resultados assemelham-se aos descritos pelo mesmo autor em relação ao conteúdo de matéria seca, para a variedade Golden Cross Bantán (su), apresentando, entretanto, valores mais elevados do que os relatados para o milho normal e para os genótipos su e wx, em todos os estádios de desenvolvimento.

A Tabela 1, com a análise referente à porcentagem de peso seco, a cada estágio de maturação, revela que as diferenças significativas (ao nível de 1%) entre as cultivares começam a ocorrer após os 20 DAP. A análise da Tabela 2 indica, indiretamente, através da existência da interação cultivares x estádios de maturação, que as curvas de acúmulo de matéria seca diferiram entre si, nos vários endospermas.

Os valores obtidos na dosagem de açúcares solúveis redutores e totais estão apresentados nas Fig. 3 e 4, respectivamente. Em relação ao conteúdo de açúcares redutores, verificou-se que, aparentemente, não houve variação entre os anos agrícolas, com exceção da cultivar Sugary-Opaco-2, que apresentou uma diferença de 35% de um ano agrícola para o outro. Provavelmente, o endosperma suo2 apresentou variabilidade genética para teor de açúcares redutores, o que poderia afetar a germina-

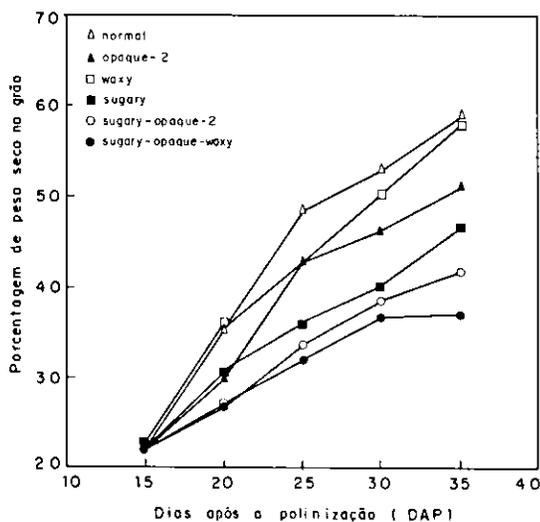


FIG. 2. Variação da porcentagem de peso seco no grão de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação.

TABELA 1. Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos casualizados, para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86.

FV	GL	Estádios de maturação				
		15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
Blocos	2	1,72n.s.	17,38n.s.	20,85n.s.	12,95n.s.	8,48n.s.
Cultivares	5	0,32n.s.	46,41**	126,21**	132,14**	231,31**
Resíduo	10	1,50	4,66	16,43	4,87	22,56
C.V. (%)		5,48	6,97	10,31	4,99	9,69

n.s. = F não-significativo.

** = F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

DAP = dias após polinização.

ção de sementes com alto teor de açúcares num determinado ano. Nesse caso, os tipos com menor conteúdo de açúcares teriam mais vantagem, porque se desenvolveriam com mais vigor.

TABELA 2. Quadrados médios e significância do teste F na análise conjunta dos diferentes estádios de maturação, entre seis cultivares de milho para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86.

FV	GL	Quadrados médios
Blocos	2	43,48*
Estádios	4	2.041,11**
Cultivares (endosperma)	5	389,28**
cultivares x Estádios	20	36,79**
Resíduo	58	10,10

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade.

** = F significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Em relação aos açúcares totais, verificou-se que as cultivares que continham o gene Sugary apresentaram, de uma maneira geral, teores mais elevados do que os tipos normal e Opaque-2, tendo a cultivar Waxy apresentado um conteúdo de açúcares totais intermediário entre esses dois grupos. Segundo Reyes et al. (1989), o acúmulo de sacarose pode ser considerado responsável pelo alto conteúdo de açúcares totais das cultivares que continham o gene Sugary. Em geral, os resultados encontrados para açúcares solúveis redutores e totais assemelham-se aos descritos por Creech (1965) e Sgarbieri et al. (1982).

Os resultados encontrados na dosagem de fitoglicogênio estão apresentados na Fig. 5. Verificou-se que os tipos com endosperma amiláceo apresentaram teores muito baixos (menores que 1%) de fitoglicogênio em relação aos endospermas que continham o gene Sugary, os quais apresentaram valores entre 26,6 e 40,6% para o Sugary-Opaque-2 e Sugary-Opaque-2-Waxy, respectivamente. Valores semelhantes de fitoglicogênio foram encontrados por Gonzales et al. (1976). O teor

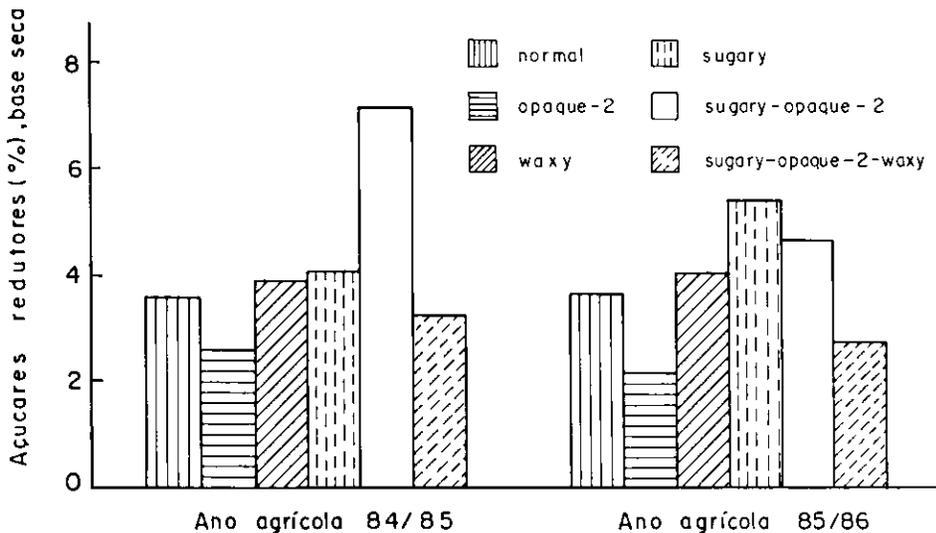


FIG. 3. Conteúdo de açúcares redutores de seis cultivares de milho aos 25 DAP, expresso em base seca, nos anos agrícolas 84/85 e 85/86 (DMS (0,05) = 0,25).

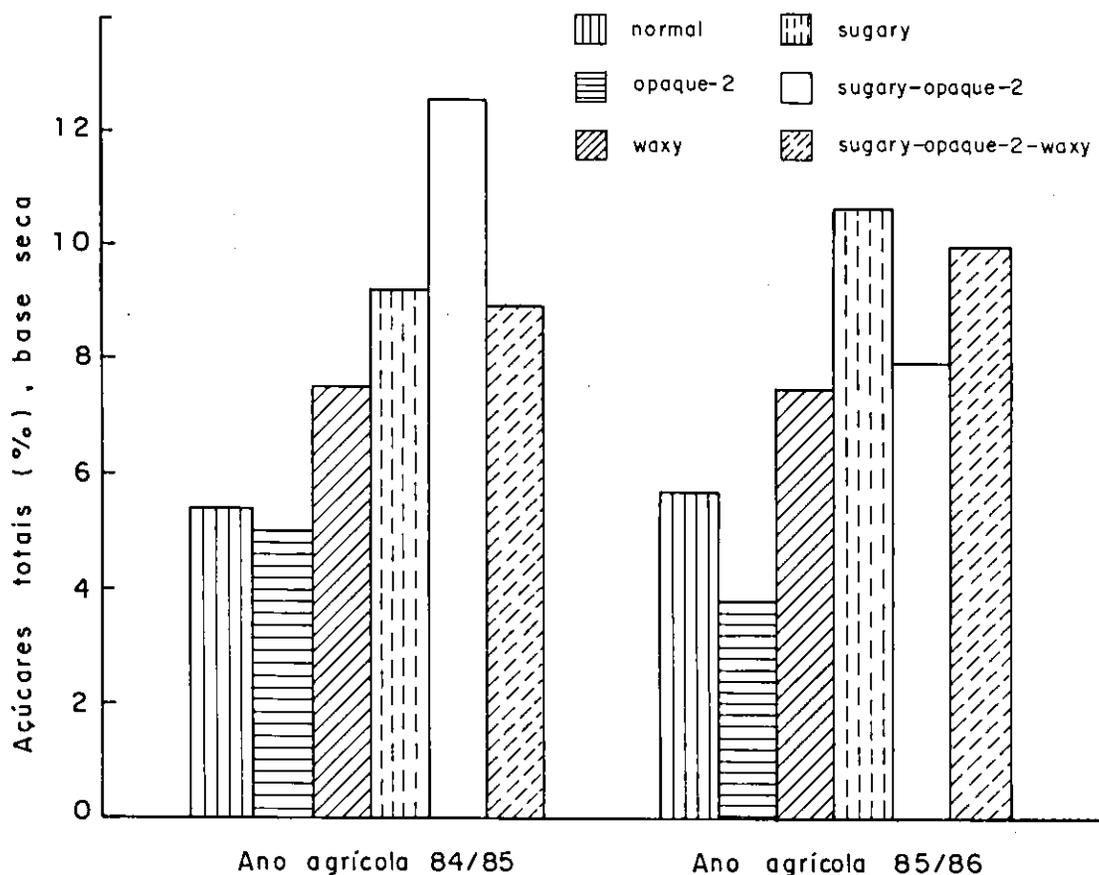


FIG. 4. Conteúdo de açúcares totais de seis cultivares de milho aos 25 DAP, expresso em base seca, nos anos agrícolas de 84/86 (DMS (0,05) = 0,56).

de fitoglicogênio no triplo mutante foi maior do que nas cultivares Sugary e Sugary-Opaque-2, o que confirma as observações de Andrew et al. (1944), segundo as quais o gene Waxy é capaz de aumentar a concentração de fitoglicogênio em combinações de mutantes que contenham o gene Sugary.

O conteúdo de amido das diferentes cultivares está apresentado na Fig. 6. Verificou-se que as cultivares que continham o gene Sugary apresentaram teores de amido menores, entre 15,4 e 28,9% para o Sugary e Sugary-Opaque-2, respectivamente, enquanto as que continham endospermas amiláceos variaram entre

58,9 (Waxy) e 61,1% (Opaque-2), respectivamente.

De maneira geral, os resultados encontrados indicam que o triplo mutante Sugary-Opaque-2-Waxy expressa as características dos genes Sugary e Waxy em relação ao conteúdo de açúcares solúveis totais, e as características do gene Sugary em relação ao conteúdo de fitoglicogênio e amido. O acúmulo de matéria seca, no entanto, revela que combinações do gene Sugary com o Opaque-2 e do Sugary-Opaque-2 com o Waxy proporcionaram uma redução ainda maior de sólidos no endosperma, no período de colheita do milho verde. Com isso,

o triplo mutante fica ainda mais tenro, tornando-o recomendado para o consumo *in natura*.

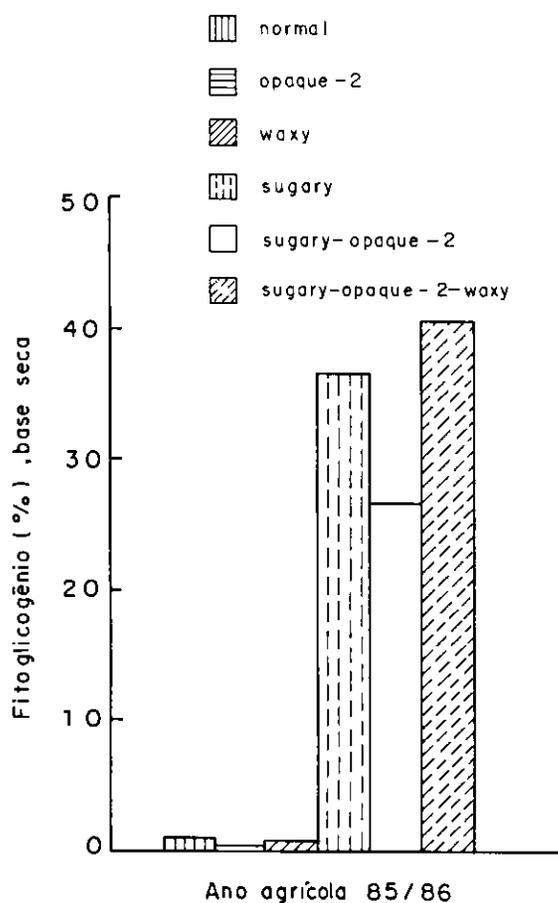


FIG. 5. Conteúdo de fitoglicogênio de seis cultivares de milho aos 25 DAP, expresso em base seca, no ano agrícola 85/86 (DMS (0,05) = 0,83).

REFERÊNCIAS

- ANDREW, R.H.; BRINK, R.A.; NEAL, N.P. Some effects of the Waxy and Sugary genes on the endosperm development in maize. *J. Agri. Res.*, 69:355-71, 1944.
- CREECH, R.G. Carbohydrate synthesis in maize. *Adv. Agron.*, 20:275-319, 1968.

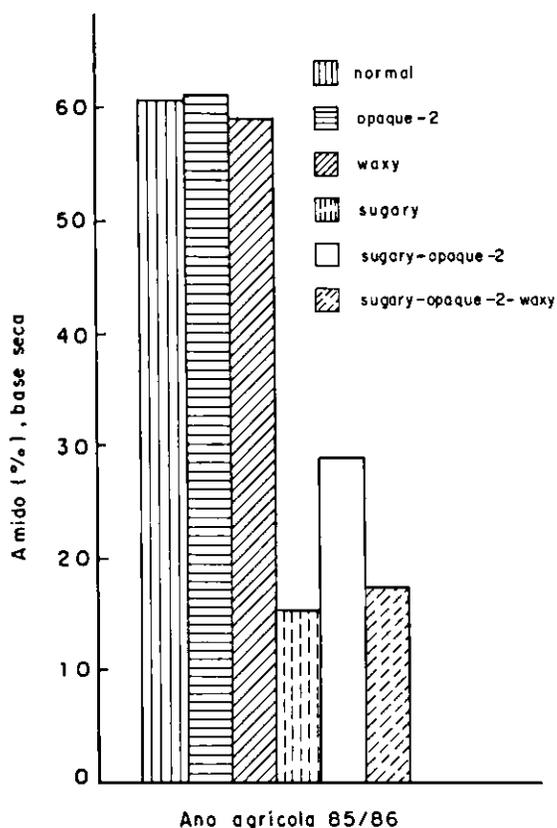


FIG. 6. Conteúdo de amido de seis cultivares de milho aos 25 DAP, expresso em base seca, no ano agrícola 85/86 (DMS (0,05) = 2,21).

- CREECH, R.G. Genetic control of carbohydrate synthesis in maize endosperm. *Genetics*, 52:1175-86, 1965.
- DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.R.; REBERS, P.A.; SMITH, E. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. *Anal. Chem.*, 28:350, 1956.
- GONZALES, J.W.; RHODES, A.M.; DICCKINSON, D.B. Carbohydrate and enzymic characterization of a high sucrose Sugary inbred line of sweet corn. *Plant Physiol.*, 58:28-32, 1976.
- PIMENTEL-GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 10. ed., São Paulo, Nobel, 1982. 430p.

- REYES, F.G.R.; IGUTI, A.M.; SGARBIERI, V.C. Comparative study of maize cultivars 30 days after pollination (30 DAP): Carbohydrate and protein. **Arch. Latinoam. Nutr.**, **39**(1):27-35, 1989.
- SGARBIERI, V.C.; CONTRERAS, E.; AMAYA, J.; DA SILVA, W.J; REYES, F.G.R. Composição e valor nutritivo de quatro cultivares de milho (*Zea mays*) em dois estágios de maturação. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, **2**(2):180-93, 1982.
- SHOWALTER, R.K. & MILLER, L.W. Consumer preference for high-sugar sweet corn varieties. **Proc. Fl. State Horti. Soc.**, **75**:278, 1962.
- SILVA, W.J.; TEIXEIRA, J.P.F.; ARRUDA, P.; LOVATO, M.B. Nutrimaiz, a tropical sweet maize cultivar of high nutritional value. **Maydica**, **23**:129-36, 1978.
- SOMOGYI, M. A new reagent for the determination of sugars. **J. Biol. Chem.**, **160**:61-8, 1945.
- TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo. In: PATERNIANI, E. & VIÉGAS, G.P., ed. **Melhoramento e produção do milho**. Campinas, SP, Fundação Cargill, 1987. v.1. p.375-409.
- WECKEL, K.G.; MARTIN, J.A.; LAKAMA, R.; LYLE, M. Effect of added sugar on consumer acceptance and physicochemical properties of canned cream-style corn. **Food Technol.**, **16**:131-2, 1962.
- WECKEL, K.G.; STRONG, B.; GARNATZ, G.F.; LYLE, M. The effect of added levels of sugar acceptance of whole kernel corn. **Food Technol.**, **14**:369-71, 1960.