

Taver

Este exemplar corresponde a redação final da Tese defendida por Magali Conceição Monteiro da Silva Toledo Machado e aprovada pela Comissão Julgadora em 22-12-88.
Campinas, 22 de dezembro de 1988.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

"ESTUDO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA, CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS
E SENSORIAIS DE UMA NOVA CULTIVAR DE MILHO, COM ENDOSPERMA
TRIPLO MUTANTE SUGARY-ORAOUE 2-WAXY"

Magali C. Monteiro da S. T. Machado
Engenheira Química

20/88

ORIENTADOR

Dr. Felix Guillermo Reyes Reyes

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título
de Mestre em Ciências de Alimentos.

"Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alta vive."

Ricardo Reis

Ao Tatá,

sempre tão presente,

dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Félix G. R. Reyes, pela orientação e pela amizade.

Ao Professor William da Silva pela colaboração durante todo o trabalho de tese, e pela oportunidade de discussão.

Aos Professores Paulo Guimarães e Maria Lúcia Setina, pelo auxílio na análise estatística.

A Professora Ruth Garruti, pela orientação na etapa de avaliação sensorial.

Aos Professores Ahmed El Dash, Maria Amélia Chaib de Moraes e Maria Aparecida Azevedo P. da Silva, pelas oportunas sugestões.

Ao Ital, especialmente à Vera L. Puppo Ferreira e Sônia Dedeca Campos, pela receptividade e auxílio na análise sensorial instrumental.

A minha mãe, minha irmã, meu irmão, Ignês e Juca, pelo apoio incondicional e pelo seu amor.

A "grande família" do laboratório de Toxicologia, Doroti, Mônica, Silvana e Rosana, pela solidariedade e incentivo em todos os momentos. A Rosana, também pelo eficiente apoio técnico.

Aos amigos Karina e Victor, por compartilhar os ideais. A Karina, pela lucidez e compreensão.

Ao Valdeci, pelo apoio irrestrito nas fases mais críticas do trabalho experimental.

Aos provadores da equipe de julgamento sensorial, pela seriedade, boa vontade e amizade com que participaram dos trabalhos.

Ao Marquinhos e Cleusinha, pelo carinho com que sempre me atenderam e pelos trabalhos de datilografia. A Zã pela versão final da datilografia.

A FAPESP, CAPES, CNPq e UNICAMP, pela bolsa de estudos concedida.

A ABIA, pela impressão da tese.

	Página
RESUMO.....	i
SUMMARY.....	v
I - INTRODUÇÃO.....	1
II - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1 - Composição química.....	4
2 - Genes mutantes que afetam a síntese de proteínas no endosperma	6
3 - Genes mutantes que afetam a síntese de carboidratos no endosperma.....	16
4 - Combinações de genes mutantes que afetam a síntese de proteínas e carboidratos no endosperma.....	20
III - MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
1 - Materiais.....	23
2 - Métodos.....	25
2.1 - Avaliação do acúmulo de matéria seca.....	25
2.2 - Produção agrícola do material utilizado nas análises químicas e na análise sensorial.....	26

2.2.1 - Obtenção da matéria-prima.....	27
2.3 - Análises químicas.....	29
2.3.1 - Teor de umidade.....	29
2.3.2 - Teor de cinzas.....	29
2.3.3 - Teor de fibras.....	30
2.3.4 - Proteína bruta.....	30
2.3.5 - Nitrogênio Não Protéico.....	30
2.3.6 - Lipídeos totais.....	30
2.3.7 - Determinação dos carboidratos.....	31
2.3.8 - Determinação dos aminoácidos livres e totais.....	31
2.4 - Análise sensorial.....	34
2.4.1 - Equipe de provadores e treinamento.....	34
2.4.2 - Preparo das amostras.....	36
2.4.3 - Apresentação das amostras.....	36
2.4.4 - Avaliação do sabor e da textura.....	37
2.4.5 - Avaliação da cor.....	38
2.5 - Análise sensorial instrumental.....	38
2.5.1 - Preparo das amostras.....	38

	Página
2.5.2 - Avaliação da textura.....	39
2.5.3 - Avaliação da cor.....	39
2.6 - Análise estatística.....	42
2.6.1 - Acúmulo de matéria seca.....	42
2.6.2 - Análises químicas.....	46
2.6.3 - Análise sensorial.....	48
IV - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
1 - Avaliação do acúmulo de matéria seca.....	52
2 - Análises químicas.....	67
3 - Análise sensorial.....	83
V - CONCLUSÕES.....	99
VI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101

1 - Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso da espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.....	53
2 - Médias e teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso da espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.....	54
3 - Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão fresco por espiga (g), obtido no agrícola 85/86.....	55
4 - Médias e teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão fresco(g), obtido no ano agrícola 85/86.....	56
5 - Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão seco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.....	57
6 - Médias e teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão seco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.....	59
7 - Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86.....	61

8 - Médias e teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86.....	62
9 - Quadrados médios (Qm) e coeficientes de variação (C.V.) da análise conjunta dos diferentes estádios de maturação, entre seis cultivares de milho para os quatro caracteres estudados, obtidos no ano agrícola 85/86.....	65
10 - Composição química de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	68
11 - Teores de açúcar redutor, açúcar total, fitoglicogênio, amido e umidade, em seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	73
12 - Médias e teste de Tukey de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP), para teores de açúcar redutor, de açúcar total e de umidade, nos anos agrícolas 84/85 e 85/86.....	76
13 - Composição em aminoácidos de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	78
14 - Quadrados médios e significância do teste F, da análise de variância, em blocos incompletos balanceados, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP), da avaliação sensorial.....	85
15 - Médias e teste de Tukey dos atributos sensoriais utilizados na avaliação sensorial de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	87

16 - Coeficientes de correlação entre medidas sensoriais e instrumentais de cor, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	94
17 - Medidas instrumentais de textura de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	95.
18 - Coeficientes de correlação entre medidas sensoriais e instrumentais de textura, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	96

1 - Fluxograma da obtenção da matéria-prima.....	28
2 - Fluxograma da extração seletiva dos carboidra- tos do milho.....	32
3 - Modelo de ficha-registro da resposta do provador, usada na análise do perfil de sabor e de textura, de seis cultivares de milho aos 25 DAP.....	40
4 - Célula tipo CS-1 usada no "Texture Testing Systems" modelo TP-1.....	41
5 - Variação da porcentagem de peso seco de seis cultivares de milho, durante os estádios de maturação.....	63
6 - Configuração da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) do sabor, de seis cultivares de milho aos 25 DAP.....	88
7 - Configuração da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) da textura, de seis cultivares de milho aos 25 DAP.....	89
8 - Avaliação da cor no sistema Hunter, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).....	92

RESUMO

Neste trabalho foram estudadas a composição química e características agronômicas e sensoriais de uma nova cultivar de milho, com endosperma triplo mutante sugary-opaque-2-waxy (suO2Wx), comparativamente a uma cultivar normal (SuO2Wx) e às cultivares que continham seus genes mutantes de origem, sugary (suO2Wx), opaque-2 (SuO2Wx), waxy (SuO2Wx) e sugary-opaque-2 (suO2Wx), no estágio de milho verde (aproximadamente aos 25 dias após a polinização - DAP).

No estudo da composição química foram feitas determinações da composição centesimal, composição de aminoácidos e dosagem dos carboidratos presentes no grão. Em relação às características agronômicas foi realizado um estudo do acúmulo de matéria seca no grão durante o desenvolvimento do milho, e em relação às características sensoriais, foram avaliados parâmetros de cor, de sabor e de textura, de forma a caracterizar as cultivares estudadas.

A avaliação do acúmulo de matéria seca no grão, em diferentes estádios de maturação 15, 20, 25, 30 e 35 DAP, indicou que o triplo mutante e o milho normal apresentaram, respectivamente, os menores e maiores valores de porcentagem de peso seco (31,9% e 48,5%, respectivamente, para os tipos normal e sugary-opaque-2-waxy, aos 25 DAP). O triplo mutante mostrou acúmulo de matéria seca mais lento do que as cultivares sugary, opaque-2 e waxy, proporcionando um período

mais prolongado de colheita, favorecendo seu consumo "in natura", assim como tornando-o recomendado para a industrialização como milho verde.

Os resultados da composição química mostraram que as cultivares triplo mutante sugary-opaque-2-waxy e opaque-2 apresentaram os maiores teores de nitrogênio não protéico (NNP), tendo sido semelhantes entre si, para essa característica. O conteúdo de proteína variou de 11,3% a 13,3%, respectivamente, para as cultivares opaque-2 e waxy. O perfil de aminoácidos do triplo mutante apresentou um acréscimo de lisina quando comparado às demais cultivares, tendo sido semelhante à cultivar opaque-2 no conteúdo de triptofano e na baixa razão leucina/isoleucina. As cultivares estudadas apresentaram, aos 25 DAP, teores de açúcares solúveis redutores variando entre 2,2% e 7,2%, respectivamente, para os endospermas opaque-2 e sugary-opaque-2. Em relação ao conteúdo de açúcares solúveis totais, as cultivares que continham o gene sugary apresentaram teores mais elevados do que aquelas com endosperma amiláceo, tendo os valores variado entre 3,8% e 12,5%, respectivamente, para os tipos opaque-2 e sugary-opaque-2. O mesmo comportamento foi encontrado em relação ao conteúdo de fitoglicogênio, o qual variou entre 0,3% e 40,6%, respectivamente, para os endospermas opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy. Uma relação inversa foi observada para o conteúdo de amido, cujos teores variaram entre 15,4% e 61,1%,

respectivamente, para os tipos sugary e opaque-2.

Os resultados da avaliação sensorial indicaram que as cultivares que continham o gene sugary apresentaram as menores intensidades de cor amarela, e um comportamento similar em relação ao sabor, com as mais altas intensidades dos sabores doce e típico, e impressão global. As cultivares que continham endosperma amiláceo apresentaram as mais altas intensidades de sabor de amido. Os parâmetros de textura foram considerados como os que mais distinguiram as cultivares entre si. As cultivares que continham o gene sugary apresentaram as mais altas intensidades de fibrosidade, enquanto aquelas com endosperma amiláceo apresentaram as mais altas intensidades de dureza e coesividade. O triplo mutante se caracterizou pelo alto impacto inicial e impressão global, pela alta intensidade dos sabores doce, típico e residual, pela baixa intensidade de dureza e coesividade, além da alta fibrosidade, quando comparado às outras cultivares. Foram observadas correlações altamente significativas (ao nível de 1%) entre medidas sensoriais e instrumentais de cor e de textura, indicando, nesse caso, que a avaliação da cor e da dureza sensorial pode ser substituída pelas medidas objetivas utilizadas.

De uma maneira geral, verificou-se que o triplo mutante sugary-~~opaque-2~~-waxy expressa o efeito do gene opaque-2 em relação à sua composição de aminoácidos e de nitrogênio não protéico. Em relação ao conteúdo de açúcares solúveis totais, o triplo mutante expressa o efeito dos genes sugary e

waxy e, em relação ao conteúdo de fitoglicogênio, de amido e às características sensoriais de sabor e de textura, o triplo mutante expressa o efeito do gene sugary.

SUMMARY

Chemical composition and agronomic and sensory characteristics of a new cultivar of maize, with a triple mutant sugary-opaque-2-waxy endosperm, were studied in relation to their original mutants: sugary (su02Wx), opaque-2 (Suo2Wx), waxy (Su02wx) and sugary-opaque-2 (suo2Wx). The triple mutant was also compared with a normal standard cultivar (Su02Wx). All comparisons were made twenty five days after pollination (25 DAP).

This study involved determinations of chemical composition, including amino acid and carbohydrate composition. Dry matter accumulation was studied at different stages of endosperm development (15, 20, 25, 30 and 35 DAP), and the sensory characteristics were evaluated by color, flavor and texture parameters.

The triple mutant and normal cultivar showed, respectively, lower (31.9%) and higher (48.5%) values for dry matter accumulation, at 25 DAP. The lower rate of dry matter accumulation suggests that the triple mutant would be more appropriate to be consumed as sweet corn, both fresh or industrialized, for a longer period of harvest.

The triple mutant and opaque-2 cultivars showed higher non protein nitrogen (NPN) content than the other cultivars, which were similar among themselves. The contents of protein were 11.3 % and 13.3% (dry basis) for the opaque-2 and waxy

cultivars, respectively. The amino acid profile showed a higher lysine content in the triple mutant as compared to the other cultivars, and the triple mutant was similar to the opaque-2 in respect to the tryptophan content and the leucine/isoleucine ratio. The contents of soluble reducing sugars were 2.2% and 7.2% (dry basis) for the opaque-2 and sugary-~~opaque-2~~ cultivars, respectively, at 25 DAP. Cultivars with the endosperm involving the sugary gene showed higher total soluble sugar content than those with the starchy endosperm, which varied from 3.8% to 12.5% (dry basis) for the opaque-2 and sugary-~~opaque-2~~ cultivars, respectively. The same behavior was found in relation to the phytoglycogen content, which was 0.3% and 40.6% (dry basis) for the opaque-2 and triple mutant endosperms, respectively. The opposite was found for the starch content, which varied from 15.4% to 61.1% (dry basis) for the sugary and opaque-2 cultivars, respectively.

Sensory evaluation indicated that the sugary cultivars showed the lowest intensities of yellow color. A similar behavior was found in relation to flavor, with the sugary endosperm showing the highest intensity of sweetness and fresh corn flavor, and overall impression. The cultivars with the starchy endosperm showed the highest starch flavor intensities. Texture parameters were evaluated and considered to be the most important traits to distinguish the cultivars. Cultivars with the sugary gene also showed the highest sensory intensities of fibers. The starchy cultivars

showed the highest intensities of hardness and cohesiveness. The triple mutant was characterized by high initial impact and overall impression, high intensities of sweetness, fresh corn flavor and aftertaste, low intensity of hardness and cohesiveness, and high sensory intensities of fibers, as compared to the other cultivars. A highly significant ($P < 0.001$) correlation was found for sensory and instrumental measurements of color and texture, indicating that, in this case, instrumental measurements could very well replaced the sensory evaluation .

In general, it was verified that the triple mutant sugary-opaque-2-waxy expresses all effects of the individual genes presented in this original mutants. In respect to amino acid and NNP composition, the triple mutant expresses only the effect of the opaque-2 gene. In respect to the total soluble sugars, the triple mutant expresses both the effect of sugary and waxy genes, and in respect to phytoglycogen content, to starch content and sensory characteristics by color and texture, the triple mutant expresses only the effect of the sugary gene.

I. INTRODUÇÃO

O milho tem desempenhado através dos tempos, um papel importante na alimentação do homem, tendo constituído a dieta básica de várias civilizações como os Incas, Mayas e Astecas. Atualmente, é um cereal muito difundido, e sua aceitação se deve principalmente ao fácil cultivo, ao bom rendimento, às variadas formas de consumo e ao paladar apreciado pelos povos que o consomem regularmente. Além disso, o milho é capaz de se desenvolver em diferentes regiões e sob condições bastante adversas. É considerado o cereal que maior número de produtos industrializados apresenta, sendo largamente empregado na alimentação humana e animal, devido ao seu alto conteúdo de carboidratos, principalmente amido, e outros nutrientes como proteínas, óleos e vitaminas.

Embora o Brasil seja um dos maiores produtores de milho, e a despeito de ser a cultura mais extensivamente cultivada, o milho é ainda pouco consumido pela população brasileira, sendo sua utilização bem mais expressiva na alimentação animal. Entretanto, o milho é uma das culturas que vêm sendo muito estudadas recentemente, tanto do ponto de vista de sua constituição genética, quanto de sua composição química e valor nutricional. A importância dessa cultura tem motivado a realização de pesquisas que visam a obtenção de cultivares que apresentem maior rendimento por área cultivada, maior rendimento de grãos em relação ao sabugo, maior resistência ao ataque de pragas e doenças, além de valores nutricionais mais elevados.

As pesquisas sobre melhoramento genético da qualidade nutritiva do milho foram intensificadas a partir da descoberta de genes que afetam a síntese de proteínas no endosperma das sementes, capazes de aumentar os teores de lisina e triptofano no grão. A baixa disponibilidade biológica da proteína do milho é devida à sua deficiência em lisina e triptofano na proteína do endosperma. Aproximadamente 80% da proteína do grão está no endosperma, sendo que 60% dela é representada pela zeína, que é uma proteína de baixo valor nutricional (Tosello, 1978).

Existe também uma preocupação em se obter cultivares que possuam altos teores de açúcares solúveis no endosperma do grão. A pesquisa de mercado indica que a maioria dos consumidores preferem milho doce, resultante do alto teor de açúcares naturalmente presentes no grão (Showalter e Miller, 1962).

A combinação de mutantes que alteram a composição da proteína, com aqueles que modificam a composição de carboidratos tem resultado num efeito sinérgico no aumento do valor nutricional, representado por um aumento ainda maior nos teores de lisina e triptofano, associado ao benefício determinado pela presença de polissacarídeos e açúcares solúveis (Misra e col., 1975a; Silva e col., 1978).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo comparativo da composição química e das características agronômicas e sensoriais de uma nova cultivar de milho, o

triplo mutante sugary-opaque-2-waxy, visando com o resultado fornecer subsídios ao melhoramento genético do milho, de forma a viabilizar seu emprego na alimentação humana.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. COMPOSIÇÃO QUÍMICA

O milho normal no estágio seco apresenta como característica principal um elevado teor de carboidratos, sendo porém relativamente pobre em proteínas. É também constituído por outros nutrientes como lipídeos, vitaminas e sais minerais. Sua composição química pode variar em função do tipo de semente, do solo, da quantidade de fertilizante usado, das condições climáticas e do estágio de maturação (Pomeranz, 1981; Tosello, 1978).

Devido ao seu alto conteúdo em amido, é considerado excelente fonte energética, sendo por isso largamente empregado na alimentação animal. O amido constitui cerca de 70% da semente do milho normal, e é composto por 2 polissacarídeos, amilose e amilopectina, encontrados nas proporções de 27% e de 73%, respectivamente. Os lipídeos compreendem cerca de 5%, sendo encontrados principalmente no germe (cerca de 80% do total), e apenas 15% no endosperma (Earle e col., 1973). Os principais ácidos graxos na semente do milho (Nilsson e col., 1968), são os ácidos palmítico (12%), esteárico (2%), oléico (27%), linoléico (59%) e linolênico (0,8%). O conteúdo de proteína é de, aproximadamente, 10%, estando 80% desta localizada no endosperma. De acordo com sua solubilidade, as proteínas do milho são classificadas em: albuminas (solúveis em água), globulinas (solúveis em soluções salinas diluídas),

prolaminas (solúveis em solução aquosa de etanol) e glutelinas (solúveis em soluções diluídas de álcalis ou ácidos) (Osborne, 1907). Aproximadamente 50% das proteínas do milho são formadas pela fração de prolamina. Esta fração que no milho é chamada de zeína, é deficiente em dois aminoácidos essenciais, lisina e triptofano. O baixo valor nutricional da proteína do milho é devido ao seu alto conteúdo de zeína, que também é de baixa digestibilidade para animais monogástricos (Tosello, 1978).

A composição química do milho pode ser modificada por seleção e manipulação genética (Inglett, 1970; Eggum e col., 1979). Inúmeros estudos vêm sendo realizados em melhoramento genético de milho, a partir dos quais, se têm procurado obter materiais de maior rendimento por unidade de área e variedades ou híbridos mais resistentes ao ataque de pragas e doenças. É importante ressaltar a indiscutível relevância destes trabalhos que datam de quase um século, e que têm permitido uma contínua evolução dos materiais, que estão cada vez mais adaptados à diferentes condições ambientais.

Somente a partir das 3 últimas décadas houve uma maior preocupação em relação ao valor nutricional da semente, e após a descoberta do mutante opaque-2 por Mertz e col., 1964, grande impulso foi dado a esse campo de estudos. Vários trabalhos foram realizados no sentido de comparar o valor nutritivo desse milho com o milho normal, utilizando-se ratos (Mertz e col., 1965; Sgarbieri e col., 1977; Gupta e col., 1979a e 1979b), suínos (Cromwell e col., 1967a; Cromwell e

col., 1969), ovinos (Cromwell e col., 1967b) e humanos (Clark e col., 1967 e 1977).

Muitos mutantes atualmente conhecidos são capazes de provocar mudanças drásticas nas propriedades químicas e físicas da semente. Alguns são capazes de alterar a qualidade da proteína no endosperma da semente, provocando mudanças qualitativas nas frações protéicas (Tosello, 1978). São também conhecidos mutantes capazes de alterar o teor de amido no grão, as propriedades físicas e químicas desses amidos, o teor de polissacarídeos solúveis em água e o teor de açúcares solúveis.

2. GENES MUTANTES QUE AFETAM A SÍNTESE DE PROTEÍNAS NO ENDOSPERMA

Do ponto de vista nutricional, os genes mutantes mais importantes são aqueles capazes de afetar a qualidade protéica do endosperma das sementes. Nesse sentido, os genes de maior expressão são o opaque-2 (o2) e o floury-2 (fl2).

O controle genético da composição química da proteína do milho foi primeiramente descrito por Mertz e col., 1964, e Nelson e col., 1965, que mencionaram uma mudança significativa na composição de aminoácidos da proteína do milho, para os milhos mutantes opaque-2 (o2) e floury-2 (fl2).

Segundo Mertz e col., 1964, o milho opaque-2 apresenta 69% mais lisina que o normal, e um maior conteúdo de

triptofano. Além disso, o milho opaque-2 apresenta um perfil de aminoácidos diferente do milho normal, com menores conteúdos de ácido glutâmico, alanina, metionina, leucina e tirosina, e quantidades superiores de lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, glicina e cisteína. A mesma relação foi encontrada quando as composições de aminoácidos da fração de glutelina e de zeína foram comparadas (Mertz e col., 1958). Foi também demonstrado que as diferenças na composição de aminoácidos, entre os milhos opaque-2 e normal, eram atribuídas inteiramente à diferenças nas proteínas de reserva do endosperma, não havendo alteração no perfil de aminoácidos do embrião (Nelson, 1969).

A principal razão para as mudanças ocorridas no perfil de aminoácidos é a redução de zeína no endosperma do mutante opaque-2, e conseqüente aumento das demais frações, principalmente glutelina (Mossé, 1966; Mossé e col., 1966; Misra e col., 1972), o que reduz significativamente a razão zeína/glutelina, chegando a invertê-la, quando comparada com o milho normal (Mertz e col., 1958).

Em comparação com a zeína, as glutelinas são mais ricas em lisina, arginina, histidina e triptofano, apresentando entretanto menores conteúdos de ácido glutâmico. Já as albuminas e globulinas, caracterizam-se pela semelhança de suas composições aminoacídicas, apresentando altas concentrações de aminoácidos essenciais, sendo porém as albuminas mais ricas em ácido aspártico, prolina, glicina e

alanina, e mais pobres em ácido glutâmico e arginina do que as globulinas.

Segundo Tosello, 1978, nos mutantes com alto conteúdo de lisina ocorrem não só alterações na distribuição das macromoléculas, como também na composição química da proteína, o que de acordo com Mertz e col., 1964, é justificado pelo fato do milho opaque-2 conter um tipo de zeína quimicamente diferente. Ocorre ainda, que o nível de aminoácidos livres no mutante opaque-2 é dez vezes maior do que no milho normal (Mertz, 1972).

O gene floury-2, além de conter mais lisina (aproximadamente igual ao opaque-2) (Mertz e col., 1965) do que o milho normal, apresenta também um perfil de aminoácidos modificado, além de 60% mais metionina. Segundo Hansell e col., 1973, isso é devido ao aumento do conteúdo de metionina da fração glutelina, e a alteração na razão zeína/glutelina. No mutante opaque-2, a alteração na relação zeína/glutelina não implica em aumento de metionina (Mertz, 1972). O mutante floury-2 tem aproximadamente o dobro do teor de triptofano do milho normal, apresentando ainda conteúdo mais elevado de proteína que o opaque-2 (Nelson e col., 1965).

Outra característica importante dos mutantes opaque-2 e floury-2 é a textura farinácea e opaca do endosperma, contrastando com o aspecto translúcido do grão normal.

Estudos a cerca da distribuição das proteínas no endosperma do milho demonstraram a existência de uma rede de

proteínas (matriz protéica) nas células do endosperma, a qual mantém juntos os grânulos de amido e contém corpos esféricos, chamados corpos protéicos (Duvick, 1961). O caráter protéico da matriz protéica e dos corpos protéicos foi também investigado por Wolf e col., 1967, que relataram ser os corpos protéicos o lugar primário de deposição de zeína no milho. Com o desenvolvimento do grão os corpos protéicos e os grânulos de amido alargam-se e são envolvidos pela matriz protéica tornando-se firmemente ligados à ela (Christianson e col., 1969).

Estudos semelhantes foram realizados por Robutti e col., 1974, em relação ao mutante opaque-2, nos quais foi observado que os corpos protéicos do mutante tinham cerca de 1/20 do tamanho dos corpos protéicos do milho normal, e que a matriz protéica desse milho não continha corpos protéicos. Segundo esses autores, isso é decorrente da baixa quantidade de zeína encontrada no opaque-2. Wolf e col., 1969, não observaram a presença de corpos protéicos nos milhos opaque-2 e floury-2, sugerindo que tal fato seria devido ao conteúdo de zeína estar relacionado com o tamanho dos corpos protéicos. Ainda segundo Robutti e col., 1974, além da quantidade e tipo de proteína, a forte ligação dos grânulos de amido na matriz é responsável pela aparência translúcida do milho normal. Neste milho, os grânulos de amido encontram-se bastante comprimidos uns contra os outros, enquanto que no mutante opaque-2, eles são arredondados, indicando um arranjo menos compacto. A refração da luz resultante nesses espaços intergranulares é

responsável pela opacidade e pela baixa densidade do endosperma macio do opaque-2. Paralelamente, no milho normal os corpos protéicos preenchem os espaços intergranulares, não deixando entrar ar, conferindo então uma aparência translúcida (Robutti e col., 1974).

Mossé e col., 1966, e Nelson, 1969, sugeriram que o gene opaque-2 é um gene regulador para a síntese de zeína e que seu efeito primário seria a redução no conteúdo desta proteína. Assim, o nitrogênio se tornaria disponível para a síntese de aminoácidos das outras frações protéicas, que consequentemente teriam seus conteúdos aumentados. O efeito da repressão na síntese de zeína e aumento das frações de albumina, globulina e glutelina foram atribuídos como um todo ao gene opaque-2 por Misra e col., 1972.

Dalby e Davies, 1967, observaram um aumento da enzima ribonuclease no endosperma do milho opaque-2 em desenvolvimento, e que a atividade desta enzima era sempre maior no milho opaque-2 do que no normal, chegando a ser 6 vezes maior entre 22 e 55 dias após polinização (DAP). Esta atividade da ribonuclease no mutante opaque-2, conforme sugerido por Dalby e Davies, 1967, e Wilson e Alexander, 1967, possivelmente estaria destruindo mais rapidamente no mutante, o RNA mensageiro responsável pela síntese de zeína.

No endosperma do floury-2 não se conhece até o momento uma maior atividade para a ribonuclease, sugerindo que o mecanismo para redução de zeína seja outro (Tosello, 1978).

Foi também sugerido que o gene opaque-2 seria regulador da síntese de ribonuclease e que a atividade desta enzima seria responsável pela redução na síntese de zeína e consequente modificação no perfil de aminoácidos.

Ainda em relação à síntese de proteínas nos endospermas normal e opaque-2, Lee e col., 1976, utilizando a técnica da eletroforese em gel de poliacrilamida, separaram a fração de zeína em 6 diferentes proteínas, sendo 2 principais (bandas Z1 e Z2). Os autores não observaram diferenças significativas na composição dos aminoácidos dos milhos normal e opaque-2. Contudo, foi observada uma redução drástica do componente Z1 no mutante opaque-2, sugerindo que tal fato estaria relacionado à falta de uma região do retículo endoplasmático, a qual estariam especificamente ligados ribossomos cuja função seria reconhecer as mensagens para produção de zeína. Isto acarretaria uma redução na "disponibilidade" de RNA mensageiro para a síntese de zeína, com consequente diminuição global na síntese desta proteína. Foi também verificado que o milho normal contém quase 2 vezes mais RNA-ribossômico ligado à membrana do que o milho opaque-2. Os autores sugeriram ainda que o mutante poderia interferir com o mecanismo de tradução impedindo a ligação dos ribossomos à membrana do retículo (deficiência de um componente receptor na membrana) ou no início da tradução (deficiência de uma classe particular de proteína ribossômica).

Silva e Arruda, 1979, tentaram explicar o controle genético do acúmulo de lisina no endosperma de milho. Segundo os autores, pode ocorrer síntese de lisina no endosperma, sendo a maior parte, entretanto, sintetizada em outros tecidos da planta e então transportada para o endosperma, sugerindo que o milho normal receba uma maior quantidade desta lisina do que o milho opaque-2, uma vez que no primeiro ocorre maior acúmulo de nitrogênio. Os autores verificaram, no entanto, que o conteúdo de lisina nos dois endospermas era o mesmo no início do desenvolvimento, mas que com a maturação, o nível de lisina no milho normal era reduzido, permanecendo contudo constante no mutante. Os autores sugeriram que o excesso de lisina que entra no endosperma normal estaria sendo catabolizado. Apoiados em estudos sobre a conversão de lisina em ácido glutâmico e prolina, que ocorre com muito mais intensidade no endosperma normal do que no mutante, Silva e Arruda concluíram que a taxa de conversão de lisina seria um importante mecanismo de controle dos níveis de lisina no endosperma de milho. Segundo Menten, 1982, a proposta de Silva e Arruda sugere que o gene opaque-2 atue, de alguma forma, sobre a conversão de lisina no endosperma, favorecendo a síntese de proteínas ricas em lisina, quando esta não é catabolizada (milho opaque-2), e de proteínas pobres em lisina quando esta é catabolizada (milho normal).

Pode-se observar o esforço empreendido por vários pesquisadores no sentido de explicar o mecanismo de ação do

gene opaque-2. Verifica-se, entretanto, que as propostas apresentadas explicam parcialmente as formas de atuação que o gene opaque-2 pode ter, uma vez que à luz dos conhecimentos atuais, ainda não se tem uma visão global de seu mecanismo de ação.

O milho opaque-2 apresenta também algumas características indesejáveis como menor produção de grãos, endosperma macio e maior susceptibilidade ao ataque de pragas e doenças, na espiga e durante o armazenamento. Essas deficiências podem ser atribuídas, em parte, ao germoplasma em que ele é introduzido (Salamini e col., 1970). Diferenças na produção de grãos, no peso dos grãos e no teor de proteína entre milhos normal e opaque-2, foram extensivamente demonstradas (Gupta e Kovacs, 1978; Arnold e col., 1977; Salamini e col., 1970; Tosello, 1978 e Sgarbieri e col., 1977).

Com o objetivo de superar as deficiências apontadas, foram desenvolvidos trabalhos de melhoramento genético visando a obtenção de milhos opaque-2 com endosperma mais vítreo. A maior ênfase tem sido dada a materiais que apresentem vitreosidade e que mantenham a mesma qualidade protéica do milho opaque-2 (Villegas e col., 1980; Eggum e col., 1979, Gupta e col., 1979a, 1979b e 1979c; Ortega e Bates, 1983).

Cabe também considerar que a aparência vítrea do endosperma do milho opaque-2 modificado, contribuiria para

uma maior aceitação deste tipo de milho.

A ocorrência de grãos de milho opaque-2 com endosperma parcialmente translúcido foi inicialmente relatada por Paez e col., 1969, que não encontraram diferenças nos conteúdos de lisina entre os grãos translúcidos e os não translúcidos. Ortega e Bates, 1983, verificaram que o milho opaque-2 modificado apresentava aumento na vitreosidade e densidade do grão quando comparado com o milho opaque-2 típico. O aumento do teor protéico no opaque-2 modificado foi demonstrado por Gupta e col., 1979c. Decréscimo no conteúdo de lisina do opaque-2 modificado foi observado por Gupta e col., 1979b e 1979c, e por Eggum e col., 1979, em comparação com o opaque-2 típico, mas em relação ao endosperma normal o conteúdo de lisina era ainda bastante elevado (Eggum e col., 1979).

Tem sido verificado, por diversos autores, que as características nutricionais apresentadas pelo milho opaque-2, são superiores às aquelas apresentadas pelo milho normal. Em experimentos conduzidos com ratos, Mertz e col., 1965, relataram um ganho de peso 3,6 vezes maior, quando os animais eram alimentados com o milho opaque-2, em relação ao milho normal, não observando, contudo, diferenças na digestibilidade da proteína. Aumento no ganho de peso em ratos também foi descrito por Sgarbieri e col., 1977.

Pode-se também destacar aumento no ganho de peso em suínos (Cromwell, 1967a e Cromwell, 1977) e em ovinos (Cromwell, 1967b). Além disso, o milho opaque-2 apresentou

valores de quociente de eficiência protéica (PER) mais elevados do que o milho normal, atingindo valores semelhantes aos da caseína (Sgarbieri e col., 1982 e Schonhaus e Sgarbieri, 1983). Clark e col., 1967 e 1977, relataram que o milho opaque-2 tinha maior digestibilidade e valor biológico do que o milho normal, proporcionando maior retenção de nitrogênio em humanos adultos. Em estudos com crianças, Bressani e col., 1969, verificaram que, quando o nível de ingestão diária das proteínas utilizadas era idêntico, o valor das proteínas do milho opaque-2 correspondia a 90% do encontrado para as proteínas do leite.

O milho opaque-2 modificado também apresenta qualidade nutricional elevada, mostrando valores mais altos do que o opaque-2 típico em relação à digestibilidade e PER, assim como valores intermediários entre o milho opaque-2 típico e o normal em relação ao valor biológico e à utilização líquida de proteína (NPU) (Gupta e col., 1979a e 1979b, e Eggum e col., 1980).

3 - GENES MUTANTES QUE AFETAM A SÍNTESE DE CARBOIDRATOS NO ENDOSPERMA

Vários são os genes mutantes que afetam a síntese de carboidratos no endosperma da semente, provocando alterações nas proporções e/ou tipos de carboidratos presentes, assim como alterações na estrutura química do amido, modificando sua digestibilidade e temperatura final de gelatinização. Alguns mutantes são também capazes de provocar alterações físicas no grão, modificando suas propriedades texturais, a forma e a quantidade de endosperma. Entre os vários mutantes pode-se destacar os seguintes: waxy (wx), amilose extender (ae), sugary (su e su2), shrunken (sh2 e sh4), brittle (bt e bt2) e dull (du). Os genes mutantes wx, ae, su e du resultam em mudanças que alteram a proporção relativa dos dois polissacarídeos constituintes do amido (Kramer e col., 1958; Sprague e col., 1943; Cameron, 1947).

O milho normal apresenta um amido contendo 25 a 27% de amilose. O gene ae foi descrito como capaz de aumentar o conteúdo de amilose do endosperma do milho, sem contudo diminuir o conteúdo de amido do grão (Kramer e col., 1958; Deatherage e col., 1954). O gene ae apresenta um amido com 60% de amilose e, devido a essa característica, é muito utilizado na fabricação de filmes, plásticos, celofane, adesivos, etc. (Deatherage e col., 1954).

Estudos realizados com mutantes que afetam a síntese de carboidratos no endosperma têm mostrado que a variação do

conteúdo de amilose ocorre em função de bloqueios enzimáticos parciais ou totais (Tosello, 1978). Creech, 1965, e Shannon e Creech, 1973, verificaram que o gene ae, além de aumentar o conteúdo de amilose, causa um aumento substancial no conteúdo de açúcares solúveis e uma redução no conteúdo de amido, sugerindo que o gene ae está associado com um bloqueio na síntese de amilopectina.

Outros genes mutantes que alteram o teor de amilose são o su2 e du, que elevam esses teores para 38-40% e 30-35%, respectivamente, em relação ao milho normal (Kramer e col., 1958).

Cameron e Teas, 1954, descreveram dois outros mutantes, bt e bt2, como capazes de reduzir substancialmente o conteúdo de amido do endosperma, aumentando contudo, os conteúdos de açúcares solúveis redutores e de sacarose.

O milho waxy, também conhecido como milho ceroso, caracteriza-se por apresentar um amido constituído exclusivamente por amilopectina (Andrew e col., 1944; Sprage e col., 1943). Devido ao seu alto conteúdo de amilopectina, o milho waxy apresenta maior digestibilidade do que o milho normal, apresentando também, apesar da sua condição de mutante, rendimento agrícola semelhante ao normal (Tosello, 1978). O milho ceroso é utilizado na fabricação de adesivos e também produtos alimentares como gomas, pudins, sorvetes, sopas, cremes, etc.

Os milhos conhecidos como doce, têm sua característica fenotípica condicionada pelos genes su, sh2, bt2, entre outros, além de combinações. Eles acumulam mais açúcares solúveis no endosperma, sintetizando apenas uma pequena proporção de amido (Creech, 1968).

O gene su condiciona a síntese de polissacarídeos solúveis em água. Essa fração, chamada de fitoglicogênio, consiste num tipo de polissacarídeo que apresenta-se mais ramificado do que a amilopectina, e menos ramificado do que o glicogênio (Creech, 1968). Segundo Black e col., 1966, o fitoglicogênio resulta da ação de uma enzima ramificadora. Essa enzima produziria fitoglicogênio a partir de amilose e amilopectina, e uma outra enzima (enzima Q) produziria amilopectina, mas não fitoglicogênio a partir de amilose (Creech, 1968).

O gene su é o único dos mutantes capaz de acumular fitoglicogênio em altas proporções, elevando também o conteúdo de açúcares solúveis e diminuindo o teor de amido na semente. Creech, 1965, observou correlações negativas entre os conteúdos de açúcares totais, açúcares redutores e sacarose com o teor de matéria seca e de amido para o milho su, indicando que os açúcares são precursores de amido. O alto teor de fitoglicogênio confere ao milho sugary propriedades texturais desejáveis para o enlatamento e para seu consumo "in natura" (Tosello, 1978), sendo também industrializado na forma de milho verde congelado. O milho su também apresenta características nutricionais superiores

ao milho normal (Paulis e col., 1978), mesmo no estágio de milho maduro, proporcionando maior crescimento e PER (Sgarbieri e col., 1977). Na fase de grão maduro o milho su apresenta-se com as sementes enrugadas e devido à grande redução do amido, o peso da semente é bastante reduzido.

O milho sh2, conhecido como super doce, foi estudado por Laughnan, 1953, em comparação com o milho su, visando elucidar o efeito desses mutantes na distribuição dos carboidratos do endosperma. O autor relatou que cerca de 20% da matéria seca dos grãos shrunk-2 era constituída por açúcares solúveis, o que representava um aumento de 10 vezes em relação ao milho normal. Foi também observada uma redução correspondente no conteúdo de amido. O milho shrunk-2 apresenta, na fração de açúcares solúveis, 85% de sacarose, enquanto que no su, menos de 60% é sacarose (Laughnan, 1961). Laughnan, 1961, sugeriu que o gene sh2 bloqueava a síntese de amido num estágio anterior ao su. O autor também relatou que o sh2 é menos sujeito à perdas de açúcar pós-colheita do que o su. O milho sh2 é indicado para uso em enlatamento e também para congelamento no estágio de milho verde (Laughnan, 1961).

4. COMBINAÇÕES DE GENES MUTANTES QUE AFETAM A SÍNTESE DE PROTEÍNAS E CARBOIDRATOS NO ENDOSPERMA

Muitos estudos têm sido realizados visando obter novas cultivares de milho. Através de cruzamentos entre genes mutantes, novas variedades com características químicas e nutricionais mais favoráveis têm sido obtidas.

Misra e col., 1975a, estudaram a combinação do mutante opaque-2 com diversos mutantes responsáveis por alterações nas proteínas e/ou carboidratos do endosperma e verificaram que a combinação do gene opaque-2 com genes que condicionavam a diminuição da síntese de amido era capaz de elevar a qualidade protéica do endosperma nessas combinações. Os autores também verificaram que o mutante suo2 apresentava um teor de zeína bem menor do que os milhos normal e opaque-2, mesmo no estágio de milho maduro. Silva e col., 1978, relataram a obtenção de um duplo mutante, adaptado às condições de clima tropical, resultante do cruzamento de variedades de milho sugary e opaque-2. Esse novo mutante, homozigoto para os genes recessivos su e o2, mantinha as características de qualidade de seus mutantes de origem, resultando numa variedade superior, até mesmo em relação ao opaque-2, tanto no aspecto químico como nutricional. O Nutrimaiz, como foi designado o duplo mutante, apresentava quase 6 vezes mais açúcares solúveis totais do que o milho normal, 50% menos amido e um teor de fitoglicogênio 17 vezes maior (Silva e col., 1978). Além disso, o duplo mutante suo2

apresentava um alto teor de lisina e triptofano, baixa razão leucina/isoleucina, e um baixo conteúdo de zeína (Schonhaus e Sgarbieri, 1983).

Sgarbieri e col., 1982, relataram que as características herdadas de seus genes mutantes de origem, conferem ao Nutrimaiz um maior valor nutritivo, maior digestibilidade, capaz de promover aumento de peso e PER em ratos em níveis próximos ao da caselna, e sabor e textura agradáveis. Seu uso tem sido proposto na forma de milho verde desidratado (flocos), produtos extrudados, bem como milho verde "in natura".

Apesar das características químicas e nutricionais favoráveis, o Nutrimaiz apresenta-se enrugado quando maduro, com endosperma macio e rendimento agrícola inferior ao milho normal.

Outras combinações genéticas formando duplos mutantes têm mostrado características superiores em relação ao grão e qualidade protéica superior no estágio maduro. Entre essas combinações destacam-se aquelas envolvendo o gene sugary-2 e opaque-2, e waxy e opaque-2 (Tosello, 1978). O aumento na vitreosidade e densidade do grão para o duplo mutante su2o2, sugere uma maior aceitação deste em relação ao opaque-2, além de conferir à semente maior resistência ao ataque de insetos no campo e durante o armazenamento (Tosello, 1978). Apesar do aumento na vitreosidade, não foi verificada alteração na qualidade protéica da semente em relação ao opaque-2

(Tosello, 1978).

Outras várias combinações de mutantes vêm também sendo estudadas quanto à composição de carboidratos e/ou proteínas do endosperma. O efeito dessas combinações no controle genético da composição química dos milhos, têm sido descrito na literatura (Creech, 1965; Creech, 1968; Creech e Mc Ardle, 1966; Kramer e col., 1958; Ferguson e col., 1978; Garwood e Creech, 1972; Misra e col., 1975a).

Cabe ressaltar, que a obtenção de cultivares que apresentem características favoráveis continua sendo o propósito de novas pesquisas. Nesse sentido, foi obtido na Unicamp um triplo mutante, proveniente do cruzamento do Nutrimaiz com o mutante waxy, conhecido como suO2wx. O presente trabalho de tese teve como objetivo avaliar química, agrônômica e sensorialmente este triplo mutante em comparação com os milhos normal, su, O2, wx e Nutrimaiz.

II. MATERIAIS E METODOS

1. MATERIAIS

As cultivares utilizadas neste estudo foram fornecidas pelo Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas. Esses materiais foram obtidos através da transferência dos genes sugary (su), opaque-2 (o2) e waxy (wx) para diferentes cultivares de milho. Estes mutantes foram combinados posteriormente, tendo sido selecionadas as seguintes combinações: sugary-opaque-2 (suo2), sugary-opaque-2-waxy (suo2wx).

Além desses mutantes duplo e triplo, foram também utilizados para comparação os mutantes simples, bem como uma variedade de milho normal.

Os materiais utilizados estão listados a seguir:

- Tipo Normal: Maya Normal (SuO2Wx)

Variedade sintética desenvolvida no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) a partir de germoplasma da raça Tuxpeño. Apresenta grãos dentados de coloração amarela e espigas cilíndricas. É homozigoto dominante para genes que determinam a textura e composição química encontradas no endosperma do milho comum.

- Tipo Opaque-2: Maya Opaque-2 (Suo2Wx)

Versão opaca do Maya Normal, também desenvolvida no IAC. Apresenta sementes opacas, com endosperma de menor peso específico, rico em lisina e triptofano e espigas cilíndricas. É homozigoto para o gene opaque-2 (o2).

- Tipo Waxy: Composto dentado waxy (SuO2wx)

A variedade sintética de endosperma normal foi desenvolvida no Depto de Genética da ESALQ a partir de variedades da raça Tuxpeño de baixas altitudes do Golfo do México. A versão waxy foi feita na UNICAMP. Apresenta endosperma de coloração amarela e espigas cilíndricas com pontas afiladas. É homozigoto para o gene waxy (wx).

- Tipo Sugary: Cubano (suO2Wx)

Variedade Pajimaca procedente de Cuba. Apresenta endosperma de coloração branca e espigas cónicas. É homozigoto para o gene sugary (su).

- Tipo Sugary-opaque-2: Nutrimaiz (suo2Wx)

Variedade sintética derivada a partir de cruzamento da variedade Maya Opaque-2 com a variedade Cubano Pajimaca. Foi desenvolvida na UNICAMP. Apresenta endosperma de coloração amarela clara. É homozigoto para ambos os genes opaque-2 e sugary.

- Tipo Sugary-opaque-2-waxy: Triplo mutante selecionado a partir da introdução do gene waxy do composto dentado na cultivar Nutrimaiz (suo2wx).

Trata-se de um híbrido simples resultante do cruzamento de duas linhagens puras para os genes sugary, opaque-2 e waxy. Foi obtido na UNICAMP. Apresenta endosperma de coloração amarela clara.

2. MÉTODOS

2.1. Avaliação do Acúmulo de Matéria Seca

No ensaio para verificação do acúmulo de matéria seca em diferentes fases de desenvolvimento do milho, as cultivares foram plantadas em linhas de 10 m de comprimento, com 1 m de espaçamento entre as linhas, 20 cm entre plantas e com bordadura única. O experimento foi conduzido na forma de blocos casualizados, com 3 repetições, tendo sido realizado no ano agrícola 85/86. Para tal, foi utilizada uma área no campo experimental do Departamento de Genética e Evolução, do Instituto de Biologia da UNICAMP. As plantas foram auto-fecundadas manualmente, tendo sido anotadas as datas de polinização, para melhor identificação da idade das sementes.

Foram colhidas 5 espigas de cada linha aos 15, 20, 25, 30 e 35 dias a após a polinização (DAP). As espigas foram pesadas, despalhadas, novamente pesadas, e tiveram os grãos retirados com facas de aço inox. Os grãos frescos foram então pesados e submetidos

a secagem em estufa com circulação de ar, a 60 °C até secagem completa (aproximadamente 72 h). Em seguida foi feita a pesagem dos grãos secos.

2.2. Produção Agrícola do Material Utilizado na Análise Química e Avaliação Sensorial

Para a produção do material utilizado nas análises químicas e avaliação sensorial, foram realizados 2 experimentos. O primeiro, no ano agrícola 84/85, foi conduzido na forma de blocos casualizados, com 6 repetições e com bordadura única. Cada tratamento constou de uma parcela com 6 linhas de 10 m de comprimento, com espaçamento entre linhas de 1 m e 0,20 m entre plantas. As plantas foram autofecundadas manualmente, sendo anotadas as datas de polinização para identificação da idade das sementes. O material obtido neste primeiro experimento foi utilizado para as análises químicas.

O segundo plantio foi realizado no ano agrícola 85/86. As cultivares foram plantadas na forma de lotes isolados de 140 m², em linhas de 10 m de comprimento, com 1 m de espaçamento entre as linhas e com bordadura única. As plantas foram polinizadas livremente. O material obtido foi utilizado na avaliação sensorial e na dosagem dos carboidratos do milho.

Os dois plantios foram realizados no Campo

Experimental do Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da UNICAMP.

Nos dois casos, a colheita foi realizada quando o material atingiu aproximadamente 25 dias após polinização (DAP), estágio em que as sementes apresentavam aspecto leitoso.

2.2.1. Obtenção da Matéria-Prima

As etapas utilizadas no processamento das espigas de milho, para a obtenção de uma farinha integral a partir dos grãos de milho verde, estão apresentadas no fluxograma da Figura 1.

Após a colheita, as espigas foram despalhadas manualmente e tiveram as extremidades aparadas com facas de aço inox. As espigas foram submetidas a um branqueamento (4 min. em água fervente), sendo posteriormente resfriadas. Em seguida, as espigas foram congeladas em túnel de congelamento, através de congelamento rápido e acondicionadas em embalagens de polietileno, as quais foram armazenadas à temperatura de -20°C até sua utilização.

Do material obtido no ano agrícola 84/85 foi feita uma amostragem das espigas armazenadas, da qual foram retirados grãos da parte central de todas as espigas de cada cultivar. Esses grãos ainda congelados foram desidratados por liofilização.

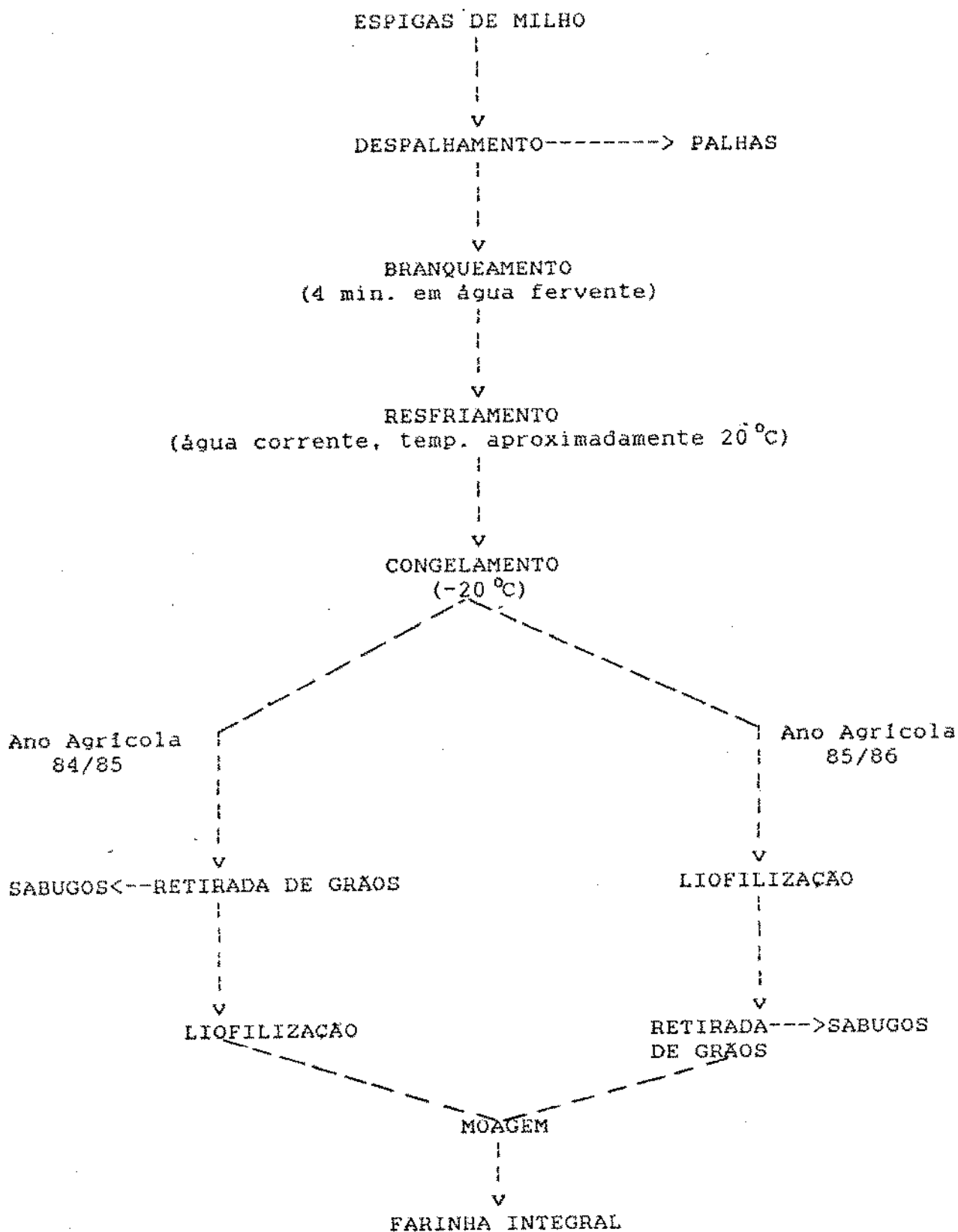


FIGURA 1 - Fluxograma da Obtenção de Matéria-Prima.

O liofilizador utilizado foi o Stoke Freezer Dryer, nas seguintes condições: temperatura de -18°C a 10°C e pressão de 0 a 30 pol. de Hg vácuo. Depois de secos, os grãos foram triturados em moinho misto de facas e martelo, sendo então obtida uma farinha integral. Com exceção da determinação do teor de umidade, todas as outras análises químicas foram efetuadas a partir dessa farinha, que permaneceu armazenada a -20°C .

Parte das amostras obtidas no ano agrícola 85/86 não foi submetida ao branqueamento, para que fosse possível realizar a determinação seletiva dos carboidratos do milho.

2.3. Análises Químicas

2.3.1. Teor de Umidade

O teor de umidade foi determinado segundo o método N°4415A da AACC (1976), usando-se estufa a 105°C com circulação de ar. Foram realizadas determinações de umidade nos materiais colhidos nos anos agrícolas 84/85 e 85/86.

2.3.2. Teor de Cinzas

A determinação de cinzas foi feita em mufla a 550°C , conforme o método N° 14.007 da AOAC, 1980.

2.3.3. Teor de Fibras

Para a determinação de fibras foi utilizado o método de Fibra detergente neutro, de acordo com a metodologia descrita por Van Soest e Wine, 1967. Nesta análise utilizou-se cadinho de Gooch com lâ de vidro, em lugar de utilizar cadinho de vidro com filtro poroso, conforme proposto no método original.

2.3.4. Proteína Bruta

Para a determinação do nitrogênio total foi utilizado o método semimicro Kjeldahl N° 46-12, de acordo com a AACC, 1976. A proteína bruta foi calculada multiplicando-se a porcentagem de nitrogênio total pelo fator 6,25. Utilizou-se uma mistura de sulfato de potássio, óxido de titânio e óxido de selênio como catalisador.

2.3.5. Nitrogênio Não Protéico

O nitrogênio não protéico foi determinado segundo a metodologia descrita por Becker e col., 1940, sendo o nitrogênio dosado pelo método semimicro Kjeldahl, AACC N° 46-12, 1976.

2.3.6. Lipídeos Totais

A determinação dos lipídeos totais foi feita de acordo com o método de Bligh e Dyer, 1959, conforme descrito por Contreras e col., 1982.

2.3.7. Determinação dos Carboidratos

A extração seletiva dos carboidratos do milho foi realizada segundo a metodologia descrita por Gonzales e col., 1976, com algumas modificações conforme apresentado na Figura 2. Os sobrenadantes contendo fitoglicogênio (sobrenadante II) e amido (sobrenadante III) tiveram seus volumes elevados a 250 ml com solução de H_2SO_4 , de forma a se obter uma solução, aproximadamente, 1N H_2SO_4 . Dessas soluções foram retiradas alíquotas, as quais foram aquecidas em banho-maria a 90-100 °C, em tubo com rosca, durante 3 h. As soluções foram resfriadas à temperatura ambiente, tendo sido realizada a dosagem dos açúcares totais.

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

2.3.8. Determinação dos Aminoácidos Livres e Totais.

Os aminoácidos totais e livres foram determinados no hidrolisado ácido, através de cromatografia de troca iônica, usando-se analisador semi-automático da Beckman, modelo CL-119, segundo o

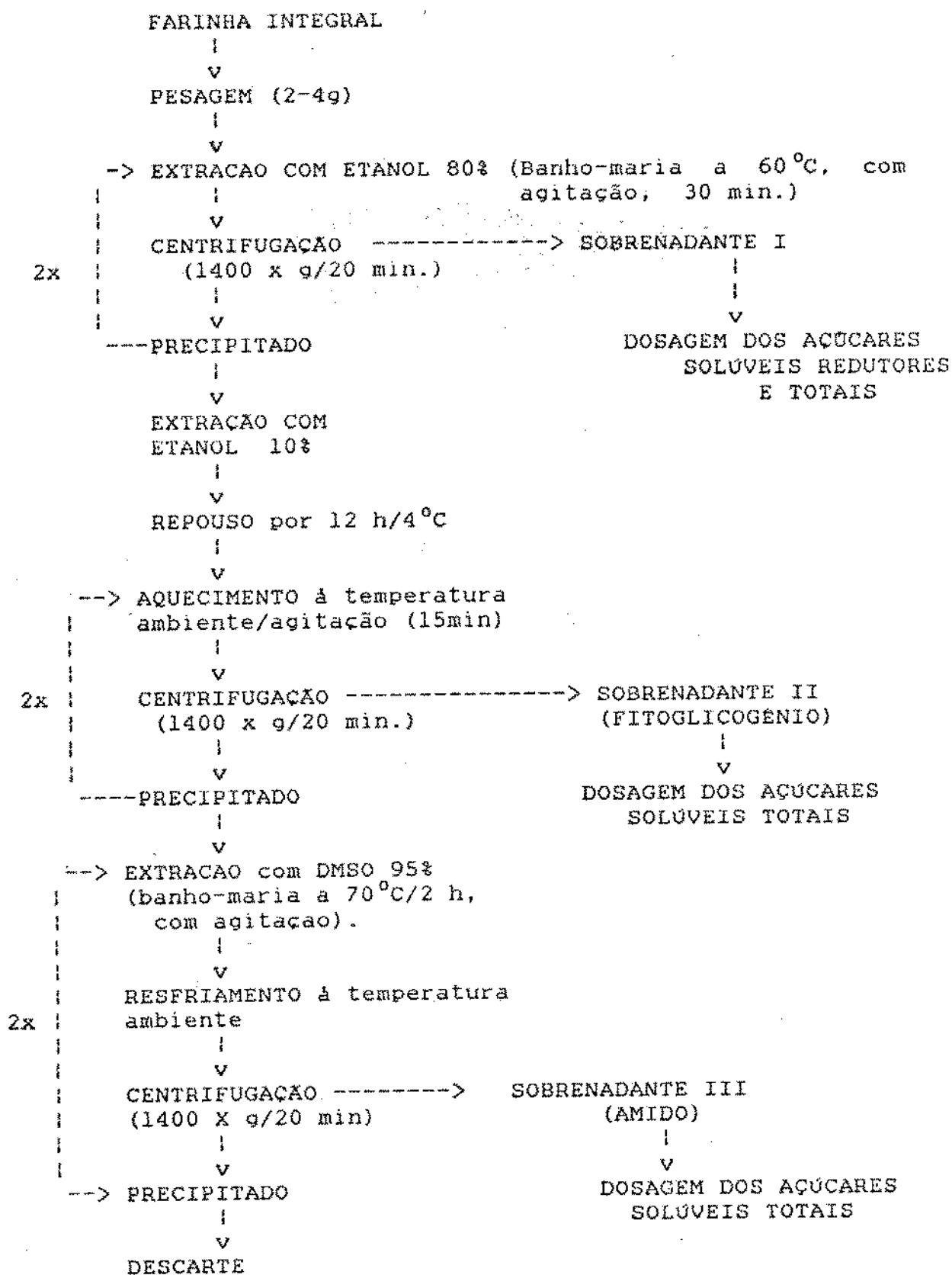


FIGURA 2 - Fluxograma da Extração Seletiva dos Carboidratos do Milho.

manual de instruções do aparelho (Beckman Instruments, 1973). As amostras foram preparadas seguindo-se basicamente as recomendações descritas no manual da Beckman, tendo-se utilizado uma quantidade conhecida de proteína (25 a 30 mg) para hidrólise. As amostras foram hidrolisadas em HCl 6N a 110 °C durante 22 horas, em tubos pyrex (16 X 150 mm) com tampas providas de teflon, hermeticamente fechados. Os hidrolisados foram filtrados em filtro de vidro com fundo poroso, tendo-se em seguida completado o volume de cada um a 100 ml. Tomou-se uma alíquota de 10 ml de cada uma destas soluções e evaporou-se o HCl em rotoevaporador com banho a 55 °C e circulação de uma mistura azeotrópica de etanol e água (1:3) a 0 °C. Lavou-se o resíduo de evaporação 2 vezes com 10 ml de água destilada cada vez, e os hidrolisados finais foram dissolvidos um a um em 5 ml de tampão citrato de sódio pH = 2,2. Esses hidrolisados foram ainda filtrados em filtro Millipore, e posteriormente foi injetado 100 μ L de cada solução no analisador. Após a cromatografia foram obtidos os aminogramas a partir dos quais, calculou-se quantitativamente os aminoácidos das amostras.

O triptofano foi determinado no hidrolisado alcalino, pelo método de Spies, 1967. Para tanto, as amostras foram hidrolisadas em KOH 5N a 110 °C durante

4 horas, em tubos de polipropileno (15 X 65 mm) com rosca dispostos em panela de pressão. Os hidrolisados foram quantitativamente transferidos para beckers de 100 ml e neutralizados com HCl 6N, tendo sido anotado o volume total de cada um. A seguir foram filtrados em papel de filtro. Tomou-se uma alíquota de 1,0 ml de cada hidrolisado e adicionou-se 0,5 ml de solução de p-dimetilaminobenzaldeído e 4,5 ml de H_2SO_4 19N, deixando-se em repouso por 1 hora fora do alcance da luz. Adicionou-se a cada uma destas soluções 0,01 ml de $NaNO_2$ 0,04% agitando-se em seguida. Após 20 min., foram feitas leituras em espectrofotômetro a 600 nm, utilizando-se uma curva padrão de triptofano como referência. Uma vez obtidas as absorbâncias das amostras e da curva padrão, foi calculado quantitativamente o triptofano presente nas amostras.

2.4. Análise Sensorial

2.4.1. Equipe de Provadores e Treinamento

Foram selecionados 10 provadores (seis mulheres e quatro homens), com faixa etária entre 23 e 40 anos, entre pessoas com boa acuidade sensorial, que participam com frequência de testes sensoriais de sabor, textura, e cor, no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP. Com esta equipe foi realizado um treinamento

sensorial, segundo a metodologia descrita por Zook e Wessman, 1977. Foram realizadas 5 fases de treinamento. Inicialmente foram feitos o reconhecimento do sabor e da textura do milho verde e esclarecimentos sobre os objetivos do método a ser utilizado. Posteriormente foram determinados os descritores usados na avaliação sensorial, de acordo com a terminologia descritiva escolhida pela equipe para caracterização do milho verde. A seguir foram testados tempos diferentes de cozimento, tendo sido escolhido pela equipe aquele que, segundo a mesma, mais se aproximava da prática doméstica da cozinha brasileira. Foi elaborada a ficha-registro usada na avaliação sensorial, tendo sido discutida a adequação dos descritores ao tratamento térmico escolhido, e decidida a forma de apresentação das amostras. Por fim, os provadores foram treinados para quantificar a intensidade das sensações percebidas e a ordem em que foram percebidas.

Cada fase de treinamento foi constituída de várias sessões tendo sido realizadas discussões com toda a equipe, durante todas as sessões.

Com a equipe de provadores, além do treinamento convencional para Análise Descritiva Quantitativa (Stone e col., 1974), também foi realizado um treinamento renovador, o qual consistiu em repetir o treinamento inicial, imediatamente antes

da realização dos testes sensoriais nas cultivares estudadas. Durante a fase do treinamento renovador houve substituição de dois provadores.

2.4.2. Preparo das Amostras

Na avaliação sensorial, a colheita das espigas foi realizada no dia dos testes, momentos antes destes. Após colhidas, as espigas eram despalhadas e tinham as extremidades aparadas. Posteriormente, as espigas eram cortadas em seções de 2 cm de comprimento, que sofriam cozimento em água fervente durante 20 min., sendo escorridas por 2 min.

2.4.3. Apresentação das Amostras

Os provadores receberam amostras com 2 cm de seção, servidas em recipientes codificados, cuja ordem era sorteada de forma a evitar vícios nos resultados devido a posição das amostras (Amerine e col., 1965). O esquema de sorteio é apresentado em anexo.

A fim de evitar a possível ocorrência de fadiga sensorial durante os testes, uma vez que seriam provados 6 tipos de milho, os provadores solicitaram que fossem testadas 3 amostras por vez, fato que determinou o tipo de delineamento experimental empregado.

Foi utilizado um delineamento em blocos incompletos balanceados tipo III, segundo Cochran e Cox, 1957, onde: $t=6$; $k=3$; $r=5$; $b=10$; $\lambda=2$ e $E=80\%$, sendo:

t = número de tratamentos (6 cultivares de milho);

k = número de amostras por bloco;

r = número de repetições de cada tratamento;

b = número de blocos

λ = número de vezes que 2 tratamentos aparecem juntos no mesmo bloco;

E = grau de eficiência do delineamento.

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Análise Sensorial da Faculdade de Engenharia de Alimentos da UNICAMP, durante 3 dias consecutivos, 2 vezes no período da manhã e 2 vezes no período da tarde, tendo sido sempre excluída a faixa de 1 hora antes e 2 horas depois do almoço. Cada provador recebia um bloco por vez para teste, de modo a perfazer 10 blocos.

Os testes foram conduzidos em cabines individuais de degustação, iluminadas com lâmpada de cor vermelha. Para o teste sensorial foram utilizados os materiais colhidos no ano agrícola 85/86.

2.4.4. Avaliação do Sabor e da Textura

Na avaliação do sabor e da textura do milho

foi utilizado o método da Análise Descritiva Quantitativa, descrito por Stone e col., 1974. Foram realizadas avaliações do perfil de sabor e do perfil de textura (Szczeniak e col., 1975). A medida da intensidade de cada atributo sensorial foi feita utilizando-se escala horizontal não estruturada de 10 cm, delimitada nas extremidades 1 cm e 9 cm, com os termos FRACO e FORTE, respectivamente, onde os provadores marcavam um traço vertical num ponto da linha que melhor descrevesse a intensidade percebida de cada atributo. O modelo de ficha-registro utilizado é apresentado na Figura 3.

2.4.5. Avaliação da Cor

Na avaliação da cor, foi medida a intensidade de cor amarela, utilizando-se escala horizontal não estruturada de 10 cm, delimitada nas extremidades 1 cm e 9 cm, com os termos FRACO e FORTE, respectivamente. Os provadores marcavam um traço vertical num ponto da linha que melhor descrevesse a intensidade de cor amarela percebida. O modelo de ficha-registro é apresentado na Figura 3.

2.5. Análise Sensorial Instrumental

2.5.1. Preparo da Amostra

Na análise sensorial instrumental as amostras de milho seguiram o mesmo critério de preparação da

análise sensorial, sendo que após o cozimento e drenagem os grãos eram retirados das espigas por meio de facas de aço inox.

Para a análise sensorial instrumental, também foram utilizados os materiais colhidos no ano agrícola 85/86.

2.5.2. Avaliação da Textura

A avaliação da textura foi realizada no "Texture Testing System", utilizando célula-padrão de cisalhamento e compressão (apresentada na Figura 4), segundo descrito por Campos, S.D.S., 1987.

Foi utilizado anel de 3.000 lbf, com velocidade de 20 cm/min., e amostras de 100 g. Para cada amostra foram realizadas 3 repetições, tendo sido obtidas curvas de força-tempo em registrador.

2.5.3. Avaliação da Cor

Para a avaliação da cor, grãos inteiros foram selecionados e limpos para compor as amostras, que eram colocadas em cápsulas de vidro de 96 mm de diâmetro e 20 mm de altura, comprovando-se suas opacidades.

A medida da cor foi realizada através do colorímetro "Hunter Color Difference Metter", modelo D-25A, com sensor ótico circular, de acordo com Ferreira, V.L.P., 1981.

ANALISE DESCRITIVA QUANTITATIVA

Nome: _____ Data: _____ n amostra

Instruções: Por favor, prove cada amostra da esquerda para a direita e faça um traço vertical num ponto da linha de 10cm que melhor descreve a intensidade de cada parâmetro sensorial abaixo relacionado. Lave a boca após cada amostra e espere 20 segundos entre uma e outra.

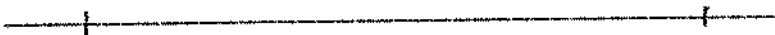
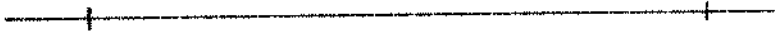
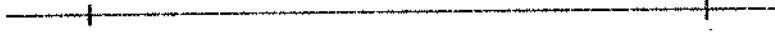
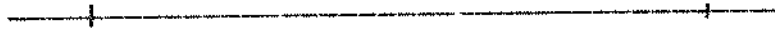
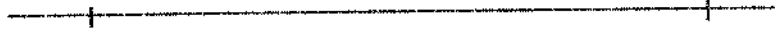
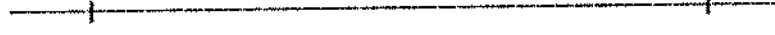
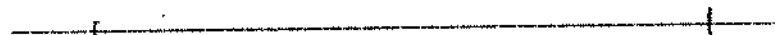
COR	Fraco	Forte
Amarelo		
IMPACTO INICIAL		
SABOR		
Doce		
Típico (Milho Verde)		
Cru		
Amido		
Sabor Residual		
TEXTURA		
Dureza		
Fibrosidade (casca)		
Gomosidade (papa)		
Coesividade		
Recobrimento na boca (residual)		
IMPRESSÃO GLOBAL		

FIGURA 3 - Modelo de ficha-registro, da resposta do provador, usada na análise do Perfil de Sabor e de Textura de 6 cultivares de milho aos 25 DAP.

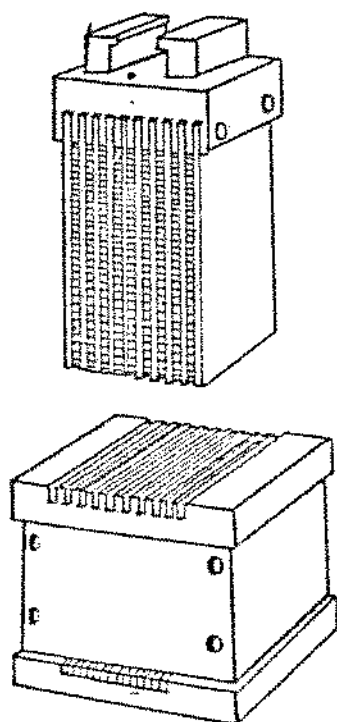


FIGURA 4 - Célula tipo CS-1 para o "Texture Testing Systems" modelo TP-1.

Foram feitas duas leituras por amostra, tendo sido observados os seguintes parâmetros: L Hunter (Luminosidade); a Hunter (Vermelho); -a Hunter (Verde) e b Hunter (Amarelo).

2.6. Análise Estatística.

A análise estatística foi realizada compreendendo três etapas experimentais distintas.

2.6.1. Acúmulo de Matéria Seca

Na avaliação do acúmulo de matéria seca das cultivares estudadas, utilizou-se a análise de variância, seguindo o delineamento de blocos ao acaso, em cada um dos estádios de desenvolvimento do milho, segundo o modelo matemático:

$$y_{ij} = m + t_i + b_j + e_{ij}$$

onde:

y_{ij} = observação do tratamento i ($i = 1, 2, \dots, 6$) no bloco j ($j = 1, 2, 3$);

m = média geral do experimento a cada estágio de maturação;

t_i = efeito do i -ésimo tratamento;

b_j = efeito do j -ésimo bloco;

e_{ij} = erro experimental, associado à parcela correspondente ao i -ésimo tratamento na j -ésima repetição.

Foram avaliados os caracteres peso da espiga (g), peso do grão fresco por espiga (g), peso do grão seco por espiga (g) e porcentagem de peso seco, testando-se pelo teste F as seguintes hipóteses:

H_0 = não existe diferença entre as cultivares, para cada um dos quatro caracteres avaliados, nos vários estádios de maturação.

H_1 = existe alguma diferença.

Uma vez rejeitada a hipótese H_0 , procedeu-se o teste de Tukey para ordenação das médias.

Foi também realizada uma análise de variância e teste F envolvendo conjuntamente todos os estádios de maturação e os seis tipos de endosperma, em relação a cada caráter avaliado, tendo sido empregado o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ijk} = m + t_i + b_j + s_k + (tb)_{ij} + (ts)_{ik} + (bs)_{jk} + (tbs)_{ijk} + e_{ijk}$$

onde:

y_{ijk} = observação do tratamento i ($i = 1, 2, \dots, 6$) no bloco j ($j = 1, 2, 3$), e nos estádios de maturação k ($k = 1, 2, 3, 4, 5$);

m = média geral do experimento;

t_i = efeito do i -ésimo tratamento;

b_j = efeito do j -ésimo bloco;

s_k = efeito do k -ésimo estágio de maturação;

$(tb)_{ij}$ = efeito da interação do i -ésimo tratamento e do j -ésimo bloco;

$(ts)_{ik}$ = efeito da interação do i -ésimo tratamento e do k -ésimo estágio de maturação;

$(bs)_{jk}$ = efeito da interação do j -ésimo bloco e do k -ésimo estágio de maturação;

$(tbs)_{ijk}$ = efeito da interação do i -ésimo tratamento, do j -ésimo bloco e do k -ésimo estágio de maturação;

e_{ijk} = erro experimental associado à parcela correspondente ao i -ésimo tratamento.

na j-ésima repetição, no k-ésimo
estádio de maturação;

As seguintes hipóteses foram testadas:

H₀₁ = não existe diferença entre as culti-
vares, para os caracteres avaliados;

H₁₁ = existe alguma diferença;

H₀₂ = não existe diferença entre os estádios
de maturação, para os caracteres
avaliados;

H₁₂ = existe alguma diferença;

H₀₃ = não existe diferença no efeito de
interação entre as cultivares e os
estádios de maturação;

H₁₃ = existe alguma diferença.

De todos os dados analisados, obteve-se também, seus
respectivos coeficientes de variação, obedecendo à
seguinte expressão:

$$C.V. = \frac{\sqrt{Q_m \text{ erro} \cdot 100}}{\bar{X}}$$

onde:

C.V. = coeficiente de variação;

Q_m = quadrado médio do erro;
erro

$\bar{X}$ = estimativa da média geral dos dados.

2.6.2. Análises Químicas

Foram efetuadas análises de variância e teste F para cada uma das determinações químicas realizadas, usando o delineamento inteiramente casualizado, segundo o modelo matemático:

$$y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

onde:

y_{ij} = observações do tratamento i ($i = 1, 2, \dots, 6$) na repetição j ($j = 1, 2, 3$);

m = média geral do experimento;

t_i = efeito do i -ésimo tratamento;

e_{ij} = erro experimental associado à parcela correspondente ao i -ésimo tratamento, na j -ésima repetição.

Foram testadas as hipóteses:

H_0 = não existe diferença entre as cultivares, em

relação a cada uma das determinações químicas realizadas;

H_1 = existe alguma diferença.

1

Em cada caso no qual H_0 foi rejeitada, realizou-se o teste de Tukey para ordenação das médias.

A fim de comparar resultados obtidos em diferentes épocas, procedeu-se a análise de variância a 2 critérios, para as determinações químicas de teor de umidade, teor de açúcar redutor e teor de açúcar total, por terem sido realizadas tanto no ano agrícola 84/85 como no ano agrícola 85/86. O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = m + t_i + a_k + (ta)_{ik} + e_{ijk}$$

onde:

Y_{ijk} = observação do tratamento ($i = 1, 2, 3, \dots, 6$) na repetição j ($j = 1, 2, 3$);
no ano k ($k = 1, 2$);

m = média geral do experimento;

t_i = efeito do i -ésimo tratamento;

a_k = efeito do k -ésimo ano agrícola;

$(\tau)_{ik}$ = efeito da interação do i-ésimo
tratamento e do k-ésimo ano agrícola;

e_{ijk} = erro experimental associado à parcela
correspondente ao i-ésimo tratamento
na j-ésima repetição, do k-ésimo ano
agrícola;

As hipóteses testadas foram:

H_{01} = não existe diferença entre as cultivares, para
cada uma das determinações químicas, nos anos
agrícolas considerados;

H_{11} = existe alguma diferença;

H_{02} = não existe diferença entre os anos agrícolas
para cada uma das determinações químicas;

H_{12} = existe alguma diferença.

Quando H_0 foi rejeitada, foi feito o teste de

Tukey para a ordenação das médias.

2.2.6.3. Análise Sensorial

Os dados obtidos na avaliação sensorial foram
registrados em arquivo no computador, perfazendo 300
respostas aos vários atributos. A partir desse

arquivo, foi desenvolvido pelo Laboratório de Estatística da Unicamp, um programa de computação para a análise estatística dos dados utilizando o SAS (Statistical Analysis Systems). Foram realizadas análises de variância e teste F para cada uma das seguintes variáveis: cor, impacto inicial, sabor doce, sabor típico, sabor cru, sabor de amido, sabor residual, dureza, fibrosidade, gomosidade, coesividade, recobrimento na boca e impressão global, considerando, em cada caso, o modelo matemático:

$$Y_{ijk} = m + t_l + p_k + b_i + (tp)_{lk} + (pb)_{ki} + (tb)_{li} + e_{ijk}$$

onde:

Y_{ijk} = observações do tratamento l ($l = 1, 2, \dots, 6$), definido pelo bloco i ($i = 1, \dots, 10$), disposto na posição j ($j = 1, 2, 3$), de acordo com o delineamento de blocos incompletos balanceados, do provador k ($k = 1, \dots, 10$).

m = média geral do experimento a cada parâmetro avaliado;

t_l = efeito do l-ésimo tratamento;

p_k = efeito do k-ésimo provador;

b_i = efeito do i-ésimo bloco;

$(tp)_{lk}$ = efeito da interação do l-ésimo
tratamento e do k-ésimo provador;

$(pb)_{ki}$ = efeito da interação do k-ésimo provador
e do i-ésimo bloco;

$(tb)_{li}$ = efeito da interação do l-ésimo
tratamento e do i-ésimo bloco;

e_{ijk} = erro experimental associado à parcela
correspondente ao i-ésimo bloco, na j-
ésima repetição, do k-ésimo provador.

As hipóteses testadas foram:

H_0 = não existe diferença entre as cultivares, para
os parâmetros avaliados;

H_1 = existe alguma diferença.

Em cada caso em que H_0 foi rejeitada, foi
aplicado o teste de Tukey para ordenação de médias.

Foram também calculados, através do uso da
regressão linear, coeficientes de correlação linear
entre medidas sensoriais e instrumentais, para

textura e para cor, tendo sido testadas através do teste t de Student, as seguintes hipóteses:

H_0 = não existe correlação entre as variáveis testadas;

H_1 = existe correlação.

III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. AVALIAÇÃO DO ACÚMULO DE MATÉRIA SECA

O acúmulo de matéria seca durante o desenvolvimento do milho foi avaliado através do peso da espiga, do peso do grão fresco por espiga, do peso do grão seco por espiga e da porcentagem de peso seco.

Os resultados da análise de variância para o caráter peso da espiga, a cada estágio de maturação estudado, estão apresentados na Tabela 1. Pelos dados obtidos verificou-se que, diferenças significativas entre as cultivares só foram detectadas quando as mesmas atingiram o estágio de 35 DAP.

Na Tabela 2 estão apresentadas as médias e os resultados do teste de Tukey para o caráter peso da espiga. Pode-se observar que, aos 35 DAP a cultivar sugary-opaque-2-waxy apresentou o maior peso da espiga, diferindo significativamente ao nível de 5%, das cultivares sugary e sugary-opaque-2, não diferindo contudo, das cultivares normal, opaque-2, e waxy.

Nas Tabelas 3 e 5 estão apresentados, respectivamente, os resultados da análise de variância para os caracteres peso do grão fresco por espiga e peso do grão seco por espiga. Pode-se observar que, diferenças significativas entre as cultivares foram detectadas aos 25 DAP (ao nível de 5% de probabilidade) e aos 35 DAP (ao nível de 1% de probabilidade).

TABZLA,01.-Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso da espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.

TV	GL	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
		15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
BLOCOS	2	n.s. 1921,05	* 6749,91	n.s. 671,80	n.s. 154,02	n.s. 1331,16
CULTIVARES	5	n.s. 601,69	n.s. 1201,44	n.s. 1714,57	n.s. 833,89	** 8132,04
RESIDUO	10	1332,67	922,93	2509,88	1242,14	755,04
C.V. (%)		17,27	15,52	21,24	16,52	13,14

n.s. = F não significativo

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade

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

DAP = dias após polinização

TABELA 02.- Médias e Teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso da espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86. Os resultados representam a média de 3 repetições.

TRATAMENTOS	ESTÁDIOS DE MATURACÃO				
	15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
NORMAL	210,69 ^a	244,26 ^a	243,08 ^a	240,00 ^a	251,50 ^a
OPAQUE-2	204,51 ^a	235,19 ^a	219,37 ^a	203,41 ^a	211,52 ^{ab}
WAXY	215,93 ^a	277,97 ^a	245,77 ^a	224,97 ^a	208,45 ^{ab}
SUGARY	204,70 ^a	226,94 ^a	195,31 ^a	197,09 ^a	164,95 ^b
SUGARY-OPAQUE-2	236,52 ^a	248,68 ^a	255,73 ^a	199,96 ^a	138,98 ^b
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	195,32 ^a	222,32 ^a	255,75 ^a	214,60 ^a	278,98 ^a

Letras iguais na mesma coluna = não diferem significativamente entre si ao nível

de 5% de probabilidade

DAP = dias após polinização

TABELA.03.-,Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão fresco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.

TV	GL	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
		15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
BLOCOS	2	340,78 ^{n.s.}	594,09 [*]	621,70 ^{n.s.}	161,68 ^{n.s.}	489,59 ^{n.s.}
CULTIVARES	5	88,04 ^{n.s.}	294,30 ^{n.s.}	1146,95 [*]	87,79 ^{n.s.}	2480,50 ^{**}
RESIDUO	10	144,10	100,86	306,53	435,06	177,16
C.V. (%)		22,96	11,96	17,70	19,63	11,47

n.s. = F não significativo

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade

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

DAP = dias após polinização

TABELA,04,- Médias e Teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão fresco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86. Os resultados representam a média de 3 repetições.

TRATAMENTOS	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
	15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
NORMAL	46,14 ^a	71,49 ^a	83,69 ^a	111,66 ^a	137,89 ^{ab}
OPAQUE-2	59,76 ^a	95,02 ^a	109,51 ^a	110,77 ^a	132,24 ^{ab}
WAXY	51,99 ^a	84,94 ^a	82,87 ^a	101,88 ^a	103,18 ^b
SUGARY	46,32 ^a	76,33 ^a	80,44 ^a	110,06 ^a	87,47 ^b
SUGARY-OPAQUE-2	56,37 ^a	95,71 ^a	128,69 ^a	101,00 ^a	82,89 ^b
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	53,09 ^a	80,06 ^a	107,98 ^a	101,06 ^a	152,28 ^a

Letras iguais na mesma coluna = não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade

DAP = dias após polinização

TABELA.05.-Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão seco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86.

FV	GL	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
		15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
BLOCOS	2	n.s. 13,75	* 123,34	n.s. 34,57	n.s. 94,78	n.s. 73,69
CULTIVARES	5	n.s. 3,65	n.s. 33,23	* 122,89	n.s. 208,16	** 865,88
RESIDUO	10	7,25	16,54	34,81	70,98	43,80
C.V. (%)		23,13	15,68	15,54	17,89	11,68

n.s. = F não significativo

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade

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

DAP = dias após polinização

Em relação aos coeficientes de variação, foram obtidos valores entre 13,1% e 21,2% para peso da espiga (Tabela 1), 11,4% e 22,9% para peso do grão fresco (Tabela 3), e 15,5% e 23,1% para peso do grão seco (Tabela 5). Esses valores podem ser considerados como indicativos de uma precisão média na condução do experimento (Gomes, 1982).

As Tabelas 4 e 6 apresentam as médias e os resultados do teste de Tukey para os caracteres peso do grão fresco por espiga e peso do grão seco por espiga, respectivamente. Em relação ao peso do grão fresco, observa-se que, apesar da análise de variância ter revelado diferenças significativa entre as cultivares aos 25 DAP, o teste de Tukey não foi sensível para detectar essa diferença. Aos 35 DAP, verifica-se que o maior valor para peso do grão fresco foi apresentado pela cultivar sugary-opaque-2-waxy, que diferiu significativamente das cultivares waxy, sugary e sugary-opaque-2, as quais apresentaram os menores valores, não diferindo significativamente entre si. As cultivares normal e opaque-2 apresentaram valores intermediários, que não diferiram significativamente da cultivar sugary-opaque-2-waxy e nem daquelas que apresentaram os menores valores de peso de grão fresco.

Em relação ao caráter peso do grão seco, verifica-se que aos 25 DAP, o milho opaque-2 apresentou o maior valor (Tabela 6), com diferença significativa, ao nível de 5%, apenas em relação ao milho sugary.

TABELA 04.- Médias e Teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter peso do grão seco por espiga (g), obtido no ano agrícola 85/86. Os resultados representam a média de 3 repetições.

TRATAMENTOS	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
	15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
NORMAL	^a 10,23	^a 25,32	^{ab} 39,20	^a 58,79	^a 80,85
OPAQUE-2	^a 12,99	^a 28,43	^a 46,64	^a 51,30	^{ab} 67,63
WAXY	^a 11,89	^a 30,82	^{ab} 35,71	^a 51,64	^{bc} 59,35
SUGARY	^a 10,39	^a 23,30	^b 28,78	^a 44,74	^{cd} 40,88
SUGARY-OPAQUE-2	^a 12,42	^a 26,02	^{ab} 43,05	^a 38,89	^d 34,72
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	^a 11,90	^a 21,69	^{ab} 34,38	^a 37,15	^{bc} 56,45

Letras iguais na mesma coluna = não diferem significativamente entre si ao nível

de 5% de probabilidade

DAP = dias após polinização

Na Tabela 7 estão apresentados os resultados das análises de variância referente ao caráter porcentagem de peso seco, a cada estágio de maturação. Verifica-se que, diferenças significativas (ao nível de 1% de probabilidade) entre as cultivares, começam a ocorrer após os 20 DAP. O coeficiente de variação apresentou valores de 4,9% e 10,3%, os quais, segundo Gomes, 1982, podem ser considerados como indicativos de uma boa precisão.

A Tabela 8 apresenta as médias e os resultados do teste de Tukey para o caráter porcentagem de peso seco. Pelos dados obtidos verifica-se que, aos 20, 25, 30 e 35 DAP, os maiores valores foram apresentados pelas cultivares normal e waxy, seguidas pela cultivar opaque-2, as quais não apresentaram diferenças significativas (ao nível de 5% de probabilidade) entre si. As cultivares sugary e sugary-opaque-2 apresentaram valores intermediários, e os menores valores foram apresentados pela cultivar sugary-opaque-2-waxy, não tendo sido detectadas diferenças significativas (ao nível de 5% de probabilidade) entre as mesmas.

As variações na porcentagem de peso seco em função dos estágios de maturação podem ser melhor ilustradas pela Figura 5. Verifica-se que, apesar de todas as cultivares 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 aqueles que continham o gene sugary. Em geral, o

TABELA.07.-Quadrados médios e coeficientes de variação (C.V.) da análise de variância, em blocos ao acaso, de seis cultivares de milho em diferentes estádios de maturação, para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86.

FV	GL	ESTÁDIOS DE MADURAÇÃO				
		15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
BLOCOS	2	n.s. 1,72	n.s. 17,38	n.s. 20,85	n.s. 12,95	n.s. 28,48
CULTIVARES	5	n.s. 0,32	** 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

TABELA 08. - Médias e Teste de Tukey de seis cultivares de milho, em diferentes estádios de maturação, para o caráter porcentagem de peso seco, obtido no ano agrícola 85/86. Os resultados representam a média de 3 repetições.

TRATAMENTOS	ESTÁDIOS DE MATURACAO				
	15 DAP	20 DAP	25 DAP	30 DAP	35 DAP
NORMAL	a 22,21	a 35,26	a 48,51	a 52,88	a 58,91
OPAQUE-2	a 22,05	ab 29,91	ab 42,77	bc 46,36	ab 51,17
WAXY	a 22,91	a 36,01	ab 43,11	ab 50,44	a 58,18
SUGARY	a 22,40	ab 30,62	b 35,96	cd 40,30	abc 46,74
SUGARY-OPAQUE-2	a 22,02	b 26,83	b 33,59	d 38,56	bc 41,89
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	a 22,27	b 27,09	b 31,87	d 36,83	c 37,05

Letras iguais na mesma coluna = não diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade

DAP = dias após polinização

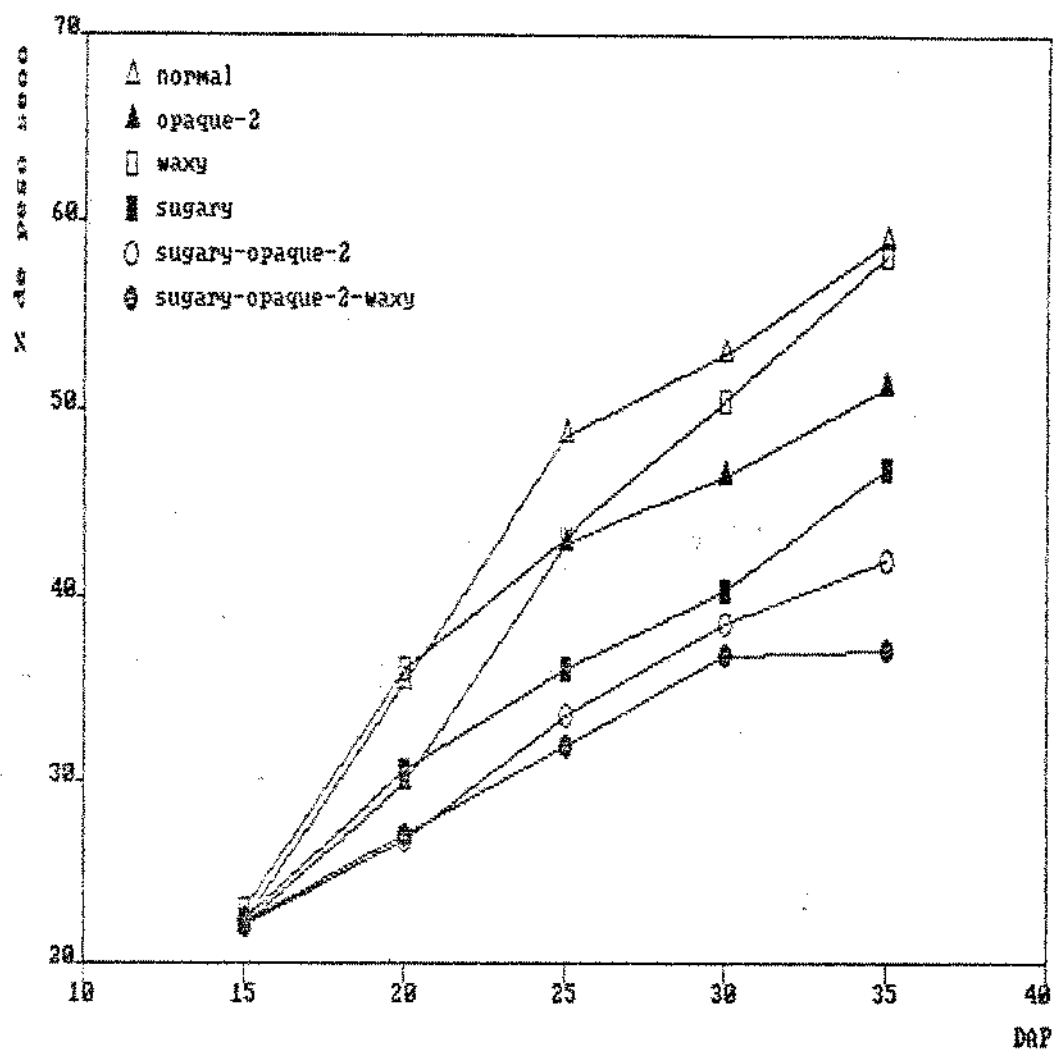


FIGURA 5 - Variação da porcentagem de peso seco de seis cultivares de milho durante os estádios de maturação.

milho normal e o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy apresentaram a cada estágio de maturação, respectivamente, 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.

A Tabela 9 mostra o resultado da análise de variância envolvendo conjuntamente todos os estádios de maturação e os seis tipos de endosperma, para os quatros caracteres estudados. Os resultados obtidos, indicam indiretamente, através da existência de interações significativas (ao nível de 1%) entre cultivares e estádios de maturação, que as curvas de acúmulo de matéria seca diferem entre si nos vários endospermas, com exceção do caráter peso da espiga.

As diferenças observadas entre peso da espiga, peso do grão fresco por espiga e peso do grão seco por espiga não podem ser unicamente atribuídas ao efeito de genes para características de endosperma, uma vez que caracteres como tamanho da espiga, tamanho dos grãos e quantidade de grãos por espiga, entre outros, são condicionados por genes que determinam características de produção. Assim, as diferenças observadas entre os caracteres agronômicos estudados devem ser atribuídas como um todo ao efeito de genes para característica agronômicas de produção e ao efeito de genes para características de endosperma.

Ao observarmos, por exemplo, o caráter peso da espiga

TABELA.09.- Quadrados médios (Qm) e coeficientes de variação (C.V.) na análise conjunta dos diferentes estádios de maturação, entre seis cultivares de milho para os quatro caracteres estudados, obtidos no ano agrícola 85/86?

FV	GL	Qm			
		Peso da Espiga (g)	Peso do Grão Fresco (g)	Peso do Grão seco (g)	Porcentagem de Peso seco
BLOCOS	2	9.208,07**	1.304,81**	183,32**	43,48*
ESTÁDIOS	4	4.368,02*	11.101,83**	5.615,29**	2.041,11**
CULTIVARES	5	3.645,29*	975,69**	476,96**	389,28**
CULTIVARES X ESTÁDIOS	20	2.209,56 n.s.	780,47**	189,22**	36,79**
RESÍDUO	58	1.454,94	231,79	35,30	10,10
C.V. (%)		17,15	16,65	16,57	8,55

n.s. = F não significativo

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade

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

(Tabela 2) aos 35 DAP, quando o material está mais maduro, verifica-se que não ocorre diferença entre as cultivares normal (que é uma variedade) e triplo mutante (que é um híbrido), o que parece indicar que, embora o triplo mutante seja um híbrido simples, isto não pode ser considerado um fator importante para explicar as vantagens do híbrido sobre as demais cultivares estudadas.

Por outro lado, ao observarmos o caráter porcentagem de peso seco (Tabela 8), que praticamente considera a curva dentro do tipo, verifica-se que o comportamento das cultivares independe do material genético utilizado, dependendo tão somente do efeito do endosperma.

2- Análises Químicas:

Os resultados referentes a composição química e ao teste de Tukey das seis cultivares de milho estudadas, estão apresentados na Tabela 10. Verificou-se que a cultivar sugary-opaque-2-waxy apresentou o maior teor de umidade, diferindo significativamente das demais cultivares ao nível de 5%, enquanto as cultivares opaque-2, waxy e sugary-opaque-2 não diferiram entre si. A cultivar sugary só não apresentou diferença significativa em relação ao duplo mutante, e a cultivar normal diferiu significativamente de todas as outras, tendo apresentado o menor teor de umidade. Os resultados obtidos foram menores do que aqueles encontrados por Silva e col., 1978, para as cultivares normal, opaque-2, sugary e sugary-opaque-2, aos 24 DAP, e semelhantes aos descritos por Sgarbieri e col., 1982 para estas quatro cultivares, aos 20 DAP.

O teor de cinzas teve o seu menor valor para a cultivar normal, que diferiu significativamente (ao nível de 5% de probabilidade) de todas as outras cultivares, que por sua vez não diferiram entre si. Os resultados obtidos para conteúdo de cinzas assemelham-se àqueles relatados por Schonhaus e Sgarbieri, 1983, para os tipos opaque-2, sugary, sugary-opaque-2 e normal.

Quanto ao teor de fibra detergente neutro o maior valor foi apresentado pela cultivar sugary-opaque-2, não tendo havido diferença significativa (ao nível de 5%) em relação às

TABELA.10.- Composição química de seis cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP).

CULTIVARES	umidade	# cinza	# fibra# detergente neutro	# proteína bruta	nitrogenio#,+ nao proteico	# lipideos totais	# acucares redutores	# acucares totais
NORMAL	d 51,4	b 1,5	a 10,7	c 11,6	d 1,5	b 4,8	cd 3,6	d 5,4
OPAQUE-2	b 61,8	a 2,0	b 8,0	c 11,3	a 3,2	bc 4,6	e 2,6	c 5,0
WAXY	b 61,4	a 2,1	b 7,7	a 13,3	c 2,0	c 4,5	bc 3,9	c 7,5
SUGARY	c 59,2	a 2,2	a 10,2	b 12,7	c 1,9	a 5,8	b 4,1	b 9,2
SUGARY-OPAQUE-2	bc 59,8	a 2,0	a 10,9	b 12,4	b 2,5	b 4,8	a 7,2	a 12,5
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	a 66,0	a 2,2	a 10,2	b 12,2	a 3,3	b 4,9	d 3,3	b 8,9

- % base seca

+ - % N X 6,25

Letras iguais na mesma coluna - Não diferem significativamente entre si no teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

cultivares sugary, sugary-opaque-2-waxy e normal. Os menores valores foram apresentados pelas cultivares waxy e opaque-2.

O maior teor de proteína bruta (13,3%) foi apresentado pela cultivar waxy, que diferiu significativamente (ao nível de 5%) das demais. Essa característica não foi retida pelo triplo mutante sugary-opaque-2-waxy que apresentou um conteúdo de proteína de 12,2%, não diferindo significativamente das cultivares sugary (12,7%) e sugary-opaque-2 (12,4%) tendo sido, entretanto, superior às cultivares opaque-2 (11,3%) e normal (11,6%). Sgarbieri e col., 1982, e Schonhaus e Sgarbieri, 1983, relataram teores de proteína bruta para as seguintes cultivares: normal (12,0 - 13,0%), sugary (12,3 - 13,6%), opaque-2 (11,3-11,2%) e sugary-opaque-2 (12,0 - 14,0%), quando avaliadas aos 20 DAP. Outros resultados descritos na literatura apresentaram um conteúdo de proteína bruta na faixa de 8,7 a 12,8 % para o milho normal, e de 10,4 a 12,3% para o tipo opaque-2 (Silva e col., 1978; Eggum e col., 1979; Gupta e col., 1979a, 1979,b e 1979c; Nelson, 1969; Tosello, 1978). Os resultados obtidos em nosso trabalho encontram-se na faixa de valores relatados na literatura.

O nitrogênio não protéico apresentou seus maiores teores nas cultivares opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy, as quais não diferiram significativamente (ao nível de 5%) entre si, diferindo no entanto das outras cultivares. A cultivar sugary-opaque-2 também mostrou, em relação ao milho normal,

um alto teor de nitrogênio não protéico, tendo apresentado diferença significativa em relação às demais cultivares. Entre as cultivares sugary e waxy não ocorreu diferença significativa, e o milho normal apresentou o menor conteúdo de nitrogênio não protéico, diferindo significativamente de todas as outras cultivares. Os resultados aqui obtidos confirmam o possível efeito do gene opaque-2 no conteúdo de nitrogênio não protéico. Misra e col., 1975b, também verificaram um aumento no teor de aminoácidos livres no milho opaque-2 em relação ao normal, assim como em todas as combinações duplas em que o gene opaque-2 foi introduzido. O alto conteúdo de aminoácidos livres como característica do duplo mutante sugary-opaque-2 também foi descrito por Arruda e col., 1978. O comportamento da cultivar sugary-opaque-2-waxy, sugere que combinações triplas que contenham o gene opaque-2 também expressem a característica de alto teor de nitrogênio não protéico.

Para os lipídios totais, o maior teor foi encontrado na cultivar sugary, a qual diferiu significativamente (ao nível de 5%) das demais, não tendo sido verificada diferença significativa entre as cultivares opaque-2, sugary-opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy e entre as cultivares opaque-2 e normal. A cultivar waxy foi a que apresentou o menor conteúdo de lipídeos totais. Os resultados obtidos para as cultivares sugary, opaque-2 e sugary-opaque-2, estão de acordo com aqueles descritos por Contreras-Guzman e col., 1982, os quais relataram que, o alto teor de lipídeos totais das cultivares

sugary e sugary-opaque-2 era uma característica manifestada pelo efeito do gene sugary. Em nosso trabalho, embora a cultivar sugary tenha apresentado o maior conteúdo de lipídeos totais, não foi observado que essa característica tenha sido retida pelas cultivares do tipo sugary-opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy, uma vez que as mesmas apresentaram um conteúdo de lipídeos totais semelhante à cultivar normal.

Em relação ao teor de açúcares solúveis redutores, a cultivar sugary-opaque-2 apresentou o maior valor, diferindo significativamente (ao nível de 5%) das demais. As cultivares waxy e sugary apresentaram valores semelhantes entre si, bem como o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy e o milho normal. O menor valor foi apresentado pela cultivar opaque-2.

Quanto aos açúcares solúveis totais, o teor mais elevado foi encontrado para a cultivar sugary-opaque-2, a qual diferiu significativamente (ao nível de 5%) das outras. Os tipos triplo mutante e sugary também apresentaram valores elevados em relação ao normal, tendo sido semelhante entre si. A cultivar waxy apresentou um valor intermediário, diferindo significativamente das demais, e os tipos normal e opaque-2 apresentaram os menores teores de açúcares totais, não diferindo entre si. De uma maneira geral, observa-se que as cultivares que continham o gene sugary apresentaram conteúdos mais elevados de açúcares totais do que os tipos normal e opaque-2. Segundo Reyes e col., 1988, as diferenças entre o conteúdo de açúcares solúveis totais e redutores estão

relacionadas com a capacidade de acúmulo de sacarose. Creech, 1965, também relatou resultados de teor de açúcares totais representados pela soma do conteúdo de açúcares redutores mais o teor de sacarose, tendo apenas realizado a dosagem dos dois últimos.

Com base nos resultados obtidos de açúcares solúveis optou-se por fazer um estudo mais detalhado sobre os carboidratos presentes no milho, e para tal foi realizada uma extração seletiva dos mesmos (Figura 2), visando a dosagem dos açúcares solúveis redutores e totais, do fitoglicogênio e do amido presentes nas cultivares em avaliação. Para esse propósito foi realizado outro plantio, no ano agrícola 85/86. Os teores de açúcares redutores e totais, fitoglicogênio, amido e umidade, estão apresentados na Tabela 11. Pela análise da tabela, observa-se que, em relação ao conteúdo de açúcares redutores, todas as cultivares apresentaram diferenças significativas (ao nível de 5%) entre si, tendo as cultivares sugary e opaque-2 apresentado, respectivamente, o maior e o menor valor.

O maior conteúdo de açúcares totais foi encontrado na cultivar sugary, que apresentou-se semelhante ao triplo mutante sugary-opaque-2-waxy, diferindo (ao nível de 5%), entretanto, de todas as outras. Novamente destacam-se as cultivares que continham o gene sugary como aquelas com conteúdo mais elevado de açúcares totais em relação aos tipos normal e opaque-2, os quais apresentaram os menores teores.

TABELA.11.- Teores de açúcar redutor, açúcar total, fitoglicogênio, amido e unidade,
em seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização (DAP).

CULTIVARES	DETERMINAÇÃO DOS CARBOIDRATOS DO MILHO [*]				UNIDADE
	açúcar redutor	açúcar total	fitoglicogênio	amido	
NORMAL	d 3,7	c 5,7	d 0,8	a 60,7	bc 66,4
OPAQUE-2	f 2,2	d 3,8	d 0,3	a 61,1	d 60,2
WAXY	c 4,1	b 7,5	d 0,6	a 58,9	c 64,7
SUGARY	a 5,5	a 10,6	b 36,5	c 15,4	a 75,5
SUGARY-OPAQUE-2	b 4,7	b 8,0	c 26,6	b 28,9	d 61,7
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	e 2,8	a 10,0	a 40,6	c 17,3	b 68,8

* - % base seca

Letras iguais na mesma coluna - não diferem significativamente entre si no teste de Tukey,
ao nível de 5% de probabilidade.

porém diferindo significativamente entre si. A cultivar waxy novamente apresentou um conteúdo intermediário entre esses dois grupos, sem contudo ter sido significativamente diferente do duplo mutante.

Em relação ao fitoglicogênio, as cultivares com endosperma amiláceo foram semelhantes entre si, apresentando teores muito baixos (menores que 1%) em relação aos endospermas que continham o gene sugary, os quais apresentaram teores entre 26,6% e 40,6% para o sugary-opaque-2, e sugary-opaque-2-waxy, respectivamente, tendo sido detectada diferença significativa (ao nível de 5%) entre os mesmos (Tabela 11). Valores semelhantes de fitoglicogênio foram encontrados por Creech, 1965, e Gonzales e col., 1976.

Andrew e col., 1944, relataram que o gene waxy é capaz de aumentar a concentração de fitoglicogênio em combinações de mutantes que contenham o gene sugary. Nossos resultados confirmam as observações desses autores, uma vez que o teor de fitoglicogênio do triplo mutante sugary-opaque-2-waxy foi maior do que nas cultivares sugary e sugary-opaque-2.

O conteúdo de amido das cultivares que continham endosperma amiláceo foi bastante elevado, variando entre 58,9% (waxy) e 61,1% (opaque-2), não tendo ocorrido diferença significativa (ao nível de 5%) entre as mesmas. Já em relação às cultivares que continham o gene sugary, o teor de amido foi bem menor, tendo variado entre 15,4% e 28,9%, respectivamente, para as cultivares sugary e sugary-opaque-2.

Resultados semelhantes foram relatados por Creech, 1965; Gonzales e col., 1976 e Shannon e Creech, 1973.

Em geral, os resultados obtidos para açúcares solúveis redutores e totais (Tabelas 10 e 11), assemelham-se àqueles descritos por Creech, 1965 e 1968 e Sgarbieri e col., 1982. Os resultados indicaram que o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy expressa as características de açúcares solúveis totais dos genes sugary e waxy. Em relação ao conteúdo de fitoglicogênio e de amido, o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy expressa claramente o efeito do gene sugary individualmente, independente da combinação desse gene com os outros mutantes.

A fim de comparar os resultados obtidos para açúcares solúveis e umidade nos dois anos agrícolas foi realizada uma análise de variância envolvendo as cultivares e as épocas de plantio. Empregou-se o teste de Tukey quando diferenças significativas ao nível de 5% foram detectadas de um ano para o outro, em relação a cada parâmetro estudado. Os resultados do teste de Tukey e as médias estão apresentados na Tabela 12, a qual revela que as cultivares normal e waxy não apresentaram diferenças significativas (ao nível de 5%) entre os dois anos agrícolas, em relação ao conteúdo de açúcares solúveis redutores. Entretanto, para esse parâmetro, todas as outras cultivares apresentaram diferença significativa entre as épocas.

TABELA 12.- Médias e Teste de Tukey de 6 cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP), para teores de açúcar redutor, de açúcar total e de unidade, nos anos agrícolas 84/85 e 85/86.

Diferenças entre médias em Teste de Tukey

CULTIVARES	açúcar redutor		açúcar total		unidade	
	84/85	85/86	84/85	85/86	84/85	85/86
NORMAL	3,6 A	3,7 A	5,4 A	5,7 A	51,4 B	66,4 A
OPAQUE-2	2,6 A	2,2 B	5,0 A	3,2 B	61,8 A	60,2 B
WAXY	3,9 A	4,1 A	7,5 A	7,5 A	61,4 B	64,7 A
SUGARY	4,1 B	5,5 A	9,2 B	10,6 A	59,2 B	75,5 A
SUGARY-OPAQUE-2	7,2 A	4,7 B	12,5 A	8,0 B	59,8 B	61,7 A
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	3,3 A	2,8 B	8,7 B	10,0 A	66,0 B	68,8 A

Letras iguais na mesma linha, para cada determinação química = não diferem significativamente entre si no teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

* = de acordo com análise de variância a 2 critérios

Verifica-se pela Tabela 12, que as cultivares que continham o gene sugary, apresentaram os maiores conteúdos de açúcares solúveis totais nas duas épocas de plantio, sugerindo que o acúmulo de sacarose seja responsável por esse fato.

Na Tabela 13 estão apresentados os resultados referentes a composição de aminoácidos livres e totais das seis cultivares de milho estudadas. Verifica-se que as cultivares opaque-2, sugary-opaque-2 e o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy apresentaram um perfil de aminoácidos mais favorável, em relação aos endospermas normal, sugary e waxy. Embora não tenham sido efetuadas repetições quando da determinação dos aminoácidos livres e totais, e conseqüentemente também não se tenha realizado a análise de variância, acredita-se que os resultados obtidos indiquem diferenças entre as cultivares. Desse modo, a análise da tabela revela que o triplo mutante apresentou teores mais elevados de glicina e alanina do que a cultivar normal, tendo ocorrido aumento adicional nos níveis de lisina e treonina em relação à todas as cultivares. Quanto ao triptofano, as cultivares opaque-2 e triplo mutante sugary-opaque-2-waxy apresentaram valores semelhantes entre si e superiores às demais cultivares. Em comparação com o endosperma normal, houve redução nos níveis de histidina, ácido aspártico, serina, prolina, isoleucina, leucina, fenilalanina, e ácido glutâmico do triplo mutante, que também apresentou uma razão leucina/isoleucina mais baixa.

TABELA.13.- Composição em aminoácidos de 6 cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP).

AMINOACIDOS (g/16gN)	CULTIVARES					
	NORMAL	OPAQUE-2	WAXY	SUGARY	SUGARY-OPAQUE-2	SUGARY-OPAQUE-2-WAXY
Lisina	3,6	3,9	2,9	3,5	3,8	4,5
Histidina	1,6	1,3	1,2	1,6	1,6	1,5
Arginina	4,0	4,7	2,9	3,6	4,3	4,5
Acido Aspartico	9,0	10,2	6,8	8,6	8,0	7,9
Treonina	4,5	4,6	3,9	4,6	4,1	5,2
Serina	6,0	5,5	5,0	5,7	5,6	5,3
Acido Glutamico	28,7	26,9	22,3	24,8	24,2	26,0
Prolina	10,3	6,5	7,6	9,5	8,4	7,5
Glicina	4,0	4,0	3,2	4,2	4,1	4,6
Alanina	8,4	8,7	6,9	8,7	8,7	9,5
1/2 Cistina	0,9	1,2	0,8	1,0	1,1	1,1
Valina	5,5	5,0	4,6	5,3	5,2	5,1
Metionina	1,6	1,9	1,4	1,8	1,7	1,8
Isoleucina	6,2	4,4	4,2	4,0	4,2	4,8
Leucina	14,8	8,1	16,4	13,8	12,0	8,5
Tirosina	2,3	2,7	1,5	2,4	3,2	2,5
Fenilalanina	5,4	3,7	4,2	5,1	4,7	3,8
^a Tryptofano	1,6	2,2	1,2	1,5	1,7	2,0

^a
Determinado pelo método de Spies (1967).

As cultivares opaque-2 sugary-opaque-2 e o triplo mutante apresentaram um comportamento semelhante em relação à composição de aminoácidos, sugerindo que as mesmas expressem as características de composição aminoácídica do gene opaque-2.

Mertz e col., 1964 e 1968 e Nelson e col., 1965 também verificaram diferenças consideráveis nos níveis de vários aminoácidos no endosperma opaque-2 em comparação com o normal, com destacado aumento nos teores de lisina e triptofano. Segundo vários autores (Mossé, 1966; Mossé e col., 1966 e Misra e col., 1972 e 1975a) as mudanças ocorridas no perfil de aminoácidos no endosperma de sementes opaque-2 são causadas principalmente pela redução no teor de zeína, e pelo aumento das outras frações protéicas, essencialmente glutelina. Para esses autores, as diferenças na composição global dos endospermas normal e opaque-2 seriam uma consequência direta da inversão na razão zeína/glutelina. Paralelamente, a zeína se caracteriza por ser uma proteína pobre em lisina e triptofano, enquanto as glutelinas apresentam quantidades apreciáveis desse aminoácidos essenciais. Além disso, o alto teor de leucina, presente no endosperma normal também foi associado ao maior acúmulo de zeína deste milho, uma vez que os níveis de leucina são duas a três vezes maior no endosperma normal, quando comparado com o opaque-2 (Mossé e col., 1966; Baudet e col., 1966; Sodek e Wilson, 1971). Ainda segundo Arruda e Silva, 1982, a síntese de leucina está aparentemente sob o controle do gene opaque-2, visto que mesmo está presente em quantidades bastante

reduzidas em relação ao endosperma normal. Cabe também ressaltar, que o aumento dos níveis de isoleucina no mutante opaque-2 é capaz de proporcionar uma relação leucina/isoleucina mais favorável, facilitando a conversão de triptofano em niacina (Schonhaus, 1980).

Misra e col., 1975a e Schonhaus, 1980, relataram que combinações dos genes opaque-2 e sugary apresentam a capacidade de reduzir ainda mais o teor de zeína, aumentando consequentemente as outras frações protéicas. Segundo Sgarbieri, 1988, as grandes diferenças entre o duplo mutante sugary-opaque-2 e o tipo normal não estão na diferença de composição em aminoácidos para as mesmas frações nas duas cultivares, e sim nas diferentes proporções entre as várias frações protéicas. De acordo com o mesmo autor, tanto no duplo mutante quanto no normal, a fração de zeína apresentava uma composição de aminoácidos desfavorável, entretanto esta fração protéica estaria representando 40-50% das proteínas totais no tipo normal, enquanto no duplo mutante representaria apenas 5-6%.

Nossos resultados podem ser comparados àqueles descritos por Sgarbieri e col., 1982 e Schonhaus e col., 1983, para os tipos normal, opaque-2 e sugary-opaque-2, e àqueles descritos por Eppendorfer e col., 1985, para o tipo normal, e Eggum, e col., 1979, para o opaque-2.

Na literatura, a maioria dos trabalhos cita composições em aminoácidos relativas ao endosperma das sementes, e em

nosso trabalho foi analisado o grão integral. Entretanto, de uma maneira geral, os resultados obtidos assemelham-se àqueles encontrados na literatura (Silva e col., 1978; Arruda e Silva, 1982; Gupta e col., 1979b; Nelson e col., 1969), provavelmente devido ao fato de que as proteínas do germe não são alteradas qualitativamente por modificações genéticas (Nelson, 1969).

Embora tenham sido utilizados diferentes germoplasmas em nossa pesquisa, pôde-se observar que as características químicas das cultivares de origem foram mantidas. Pode-se ainda acrescentar o fato de que os materiais foram cultivados nas mesmas condições, indicando que o genótipo do endosperma foi o responsável pela diferença de composição química entre as cultivares.

Apesar de ter apresentado um teor de proteína inferior à cultivar waxy, o triplo mutante sugary-opaque-2-waxy apresentou um perfil de aminoácidos semelhante às cultivares opaque-2 e sugary-opaque-2, com elevados conteúdos de lisina e triptofano e uma relação leucina/isoleucina bastante favorável, sugerindo que esta cultivar também apresente um elevado valor nutritivo.

As características de composição química do triplo mutante sugary-opaque-2-waxy expressam o efeito de seus genes mutantes de origem. Em relação à composição de aminoácidos e ao conteúdo de nitrogênio não protéico, o triplo mutante expressa o efeito do gene opaque-2. Em relação ao conteúdo

de açúcares solúveis totais, o triplo mutante expressa o efeito dos genes sugary e waxy e, em relação ao conteúdo de fitoglicogênio e de amido, o triplo mutante expressa o efeito do gene sugary.

Cabe ainda sugerir, pesquisas complementares que visem a avaliação das características tecnológicas do triplo mutante e, nesse sentido, seria oportuno a realização de um estudo sobre as propriedades reológicas do amido, tais como as propriedades viscoamilográficas.

3 - ANALISE SENSORIAL:

Para se estudar as características sensoriais do milho verde, tornou-se necessário avaliar parâmetros sensoriais de sabor, de textura e de cor, os quais contribuem efetivamente para as propriedades gerais do produto.

O método de avaliação do sabor e da textura empregado em nosso trabalho, Análise Descritiva Quantitativa (ADQ), é capaz de descrever e discriminar as principais características que compõem, por exemplo, o sabor de um alimento, além de medir a intensidade das sensações percebidas, na ordem em que são percebidas (Stone e col., 1974). Para ser aplicado, entretanto, exige uma equipe de provadores treinados, aptos principalmente para caracterizar os atributos sensoriais de sabor e de textura e para descrever a intensidade desses atributos.

Os atributos de sabor escolhidos por nossa equipe para a avaliação sensorial das cultivares estão apresentados na ficha-registro (Figura 3). A equipe definiu os seguintes termos descritivos para a caracterização do milho verde: sabor doce, sabor típico de milho verde, sabor cru, sabor de amido e sabor residual (sabor remanescente após engolir a amostra). Em relação à textura os descritores escolhidos foram: dureza (força requerida na primeira mordida), fibrosidade (sensação devida ao pericarpo), gomosidade (sensação de gomas durante a mastigação), coesividade (sensação de acúmulo nos dentes relacionada com farinha ou amido, durante a mastigação) e recobrimento na boca (sensação

residual após a deglutição). Os termos descritivos impacto inicial e impressão global estavam relacionados, segundo a equipe de provadores, às características de sabor e de textura, mas não à de cor. O impacto inicial foi definido como a intensidade do conjunto das sensações percebidas no início da mastigação, independentemente se fossem boas ou não. A impressão global seria a sensação análoga ao impacto inicial, ocorrendo contudo, após a mastigação.

Os resultados obtidos pela análise de variância dos atributos sensoriais estão apresentados na Tabela 14. Foram detectadas diferenças significativas (ao nível de 1%) entre as cultivares para os atributos cor, sabor doce, sabor típico, sabor de amido, sabor residual, dureza, fibrosidade, gomosidade, coesividade, recobrimento na boca e impressão global. As cultivares também diferiram entre si, ao nível de 5%, em relação ao descriptor sabor cru. Verifica-se também que houve diferença significativa (ao nível de 1%) entre os provadores em todos os atributos avaliados. A diferença altamente significativa na variação devido aos provadores, possivelmente está relacionada ao fato dos provadores terem usado diferentes partes da escala de intensidade, e como resultado há diferença significativa entre as médias para cada provador. Essa diferença entre provadores é considerada normal neste tipo de teste (Nobel, 1988).

As médias e o resultado do teste de Tukey para cada um

TABELA 14. - Quadrados médios e significância do teste F da análise de variância, em blocos incompletos balanceados, de seis cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP), de avaliação sensorial.

ATRIBUTOS SENSORIAIS														
FV	GL	COR	IMPACTO INICIAL	SABOR DOCE	SABOR TIPOCO	SABOR CRO	SABOR DE AMIDO	SABOR RESIDUAL	DUREZA	FIBROSI-DADE	COMOSI-DADE	COESIVI-DADE	RECORRIMENTO NA BOCA	IMPRESSAO GLOEAL
Cultivares	5	95,94	2,26	n.s.	6,96	3,28	10,93	3,74	36,10	28,98	10,36	13,30	6,77	7,12
Blocos	9	1,81	2,80	n.s.	5,30	2,03	2,53	0,48	4,65	1,22	1,63	2,39	2,23	0,93
Provedores	9	19,68	43,81	25,96	28,82	76,20	57,10	42,23	27,62	85,28	46,71	15,95	57,89	42,94
Cultivares X Provedores	45	1,22	1,62	n.s.	1,80	1,61	2,06	1,41	1,39	2,19	4,30	2,86	2,69	1,74
Provedores X Blocos	81	0,79	1,91	n.s.	1,48	1,56	1,00	1,16	1,95	1,69	1,37	1,44	1,50	1,37
Cultivares X Blocos	15	2,38	2,47	n.s.	3,13	1,27	1,35	1,39	5,61	1,19	0,64	2,35	1,60	2,09
Resíduo	135	0,76	1,20	0,96	2,10	1,20	1,20	1,17	1,43	1,25	1,00	1,33	1,61	1,34

n.s. = F não significativo ao nível de 5% de probabilidade

* = F significativo ao nível de 5% de probabilidade

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

dos atributos sensoriais, avaliados estão apresentados na Tabela 15. Verifica-se que as cultivares normal e waxy apresentaram as maiores médias para o atributo cor, diferindo significativamente (ao nível de 5%) da cultivar opaque-2. As cultivares que continham o gene sugary apresentaram as menores intensidades de cor amarela, não tendo ocorrido diferença significativa entre os tipos sugary e sugary-opaque-2.

Nas Figuras 6 e 7, respectivamente, estão apresentadas as configurações da ADQ para sabor e para textura. Essas configurações podem mais efetivamente comparar o perfil de sabor e de textura de cada cultivar. O centro da figura representa baixa intensidade, e a intensidade de cada atributo aumenta, com o aumento da distância do centro. As médias obtidas para cada cultivar foram interligadas para produzir um perfil descritivo de sabor e de textura. Verifica-se pela Figura 6, que as cultivares que continham o gene sugary apresentaram as mais altas intensidades e comportamento similar em relação ao sabor doce, ao sabor típico e à impressão global. O tipo waxy também apresentou alta intensidade de sabor doce. A intensidade do sabor de amido foi mais alta nas cultivares normal e opaque-2, intermediária para o triplo mutante e waxy, e mais baixa nos endospermas sugary e sugary-opaque-2. Para esse atributo, o teste de Tukey indicou diferença significativa entre as cultivares ao nível de 5% (Tabela 15). O sabor residual teve sua maior intensidade nas cultivares normal, sugary-opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy, tendo o tipo waxy apresentado a mais

TABELA.15. - Médias e Teste de Tukey dos atributos sensoriais utilizados na avaliação sensorial de seis cultivares de milho aos 25 dias após polinização (VAP). Os resultados representam a média de 50 repetições.

CULTIVARES	ATRIBUTOS SENSORIAIS												
	COR	IMPACTO INICIAL	SABOR NOCE	SABOR TIPOICO	SABOR CRU	SABOR DE ARRUO	SABOR RESIDUAL	DUREZA	FIRMEZA	CONSI-DADE	CONSI-DADE	RECORRIMENTO NA BOCA	IMPRESSAO GLOBAL
NORMAL	6,79a	5,91a	3,08bc	3,92b	3,27a	4,00a	4,90ab	5,77a	4,58c	4,03cd	4,06a	4,91ab	5,43b
OPAQUE-2	5,00b	6,04a	2,55c	4,17b	3,27a	3,78a	4,60ab	4,77L	4,82c	4,65b	3,62ab	4,65ab	5,60ab
WAXY	6,50a	5,59a	3,69a	4,13b	2,57a	3,42ab	4,35b	4,35Lc	4,49c	5,27a	3,85a	4,40b	5,24b
SUGARY	3,75cd	5,58a	3,57ab	4,65a	3,10ab	2,88b	4,70ab	3,77c	5,50b	3,95d	2,99bc	4,66ab	5,90ab
SUGARY-OPAQUE-2	3,93c	5,70a	3,55ab	4,58a	2,78ab	3,10b	5,01a	4,51c	6,15ab	4,02cd	2,88c	5,03ab	5,76ab
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	3,27d	5,97a	3,87a	4,51a	3,02ab	3,47ab	5,10a	3,13.d	6,44a	4,56bc	2,74c	5,35a	6,24a

Letras iguais na mesma coluna - não diferem significativamente entre si no teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

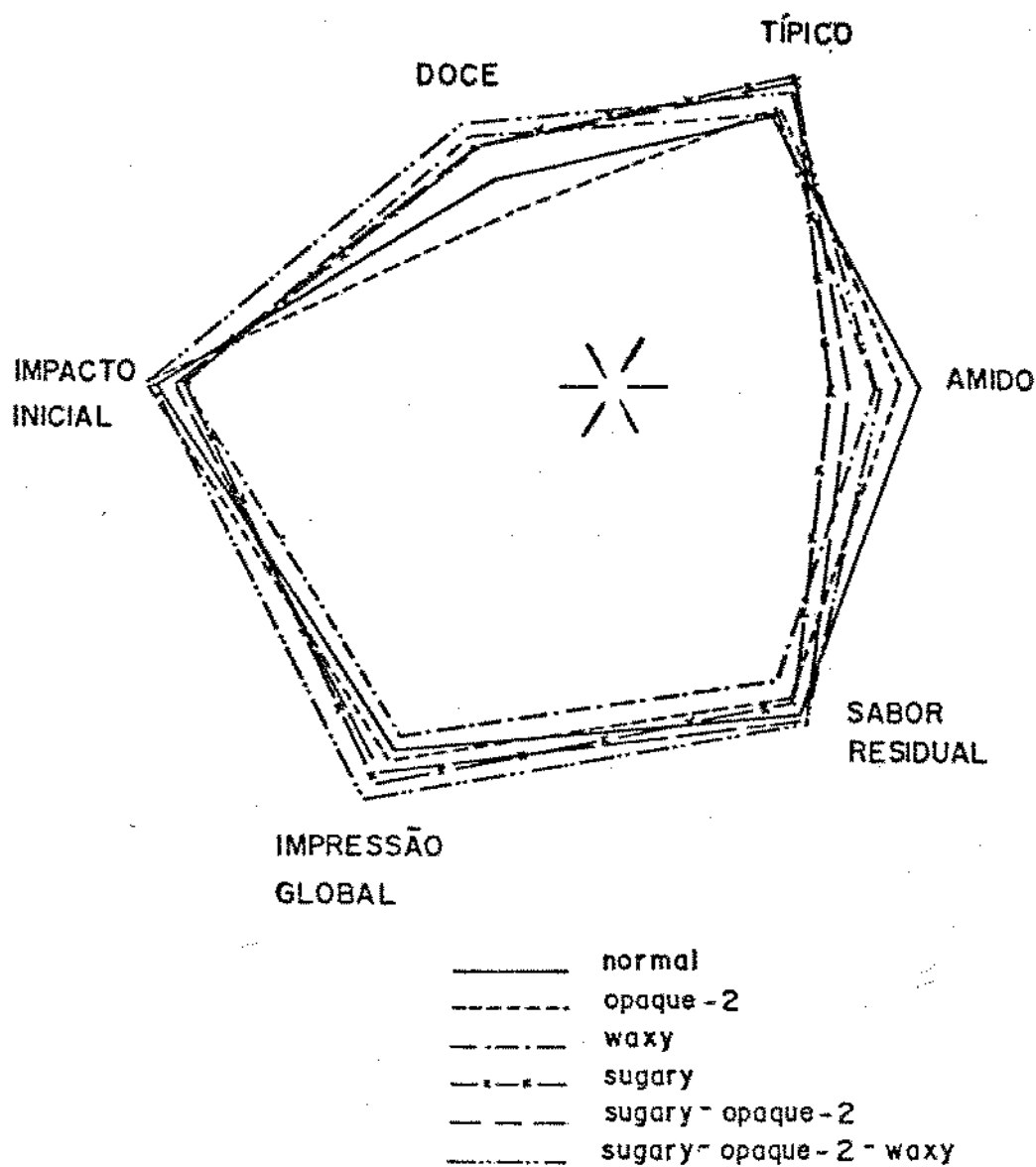


FIGURA 6 - Configuração da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) do sabor, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização.

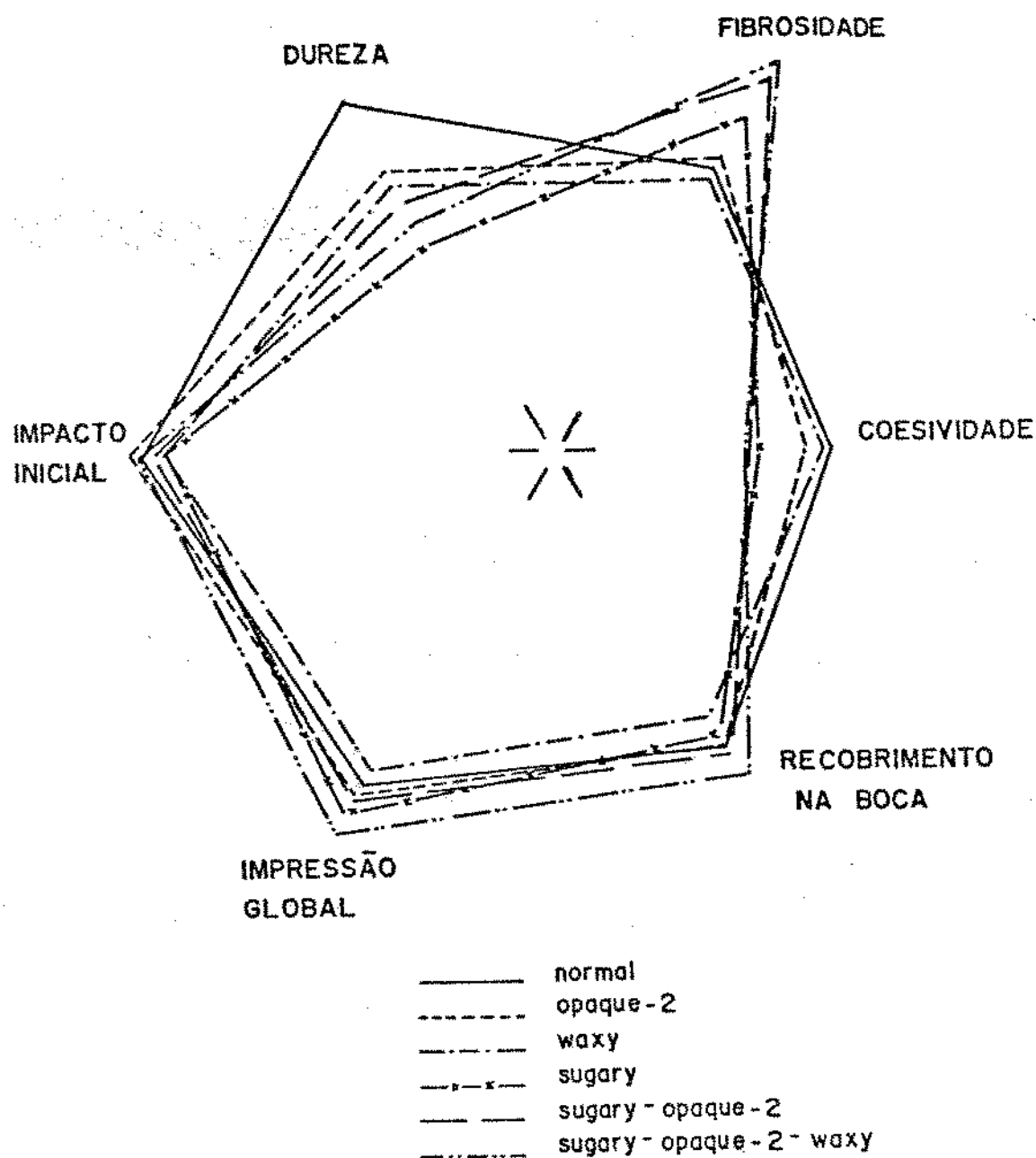


FIGURA 7 - Configuração da Análise Descritiva Quantitativa (ADQ) da Textura, de seis cultivares de milho aos 25 dias após a polinização.

baixa intensidade. Segundo a equipe de provadores, o sabor residual era devido tanto à intensidade do sabor típico remanescente quanto a intensidade do sabor de amido remanescente.

Na Figura 7 está apresentada a configuração da ADQ para textura. Os dados sugerem um comportamento diferenciado entre as cultivares que continham o gene sugary e aquelas com endosperma amiláceo, o que é corroborado pelos dados da Tabela 15. As cultivares sugary, sugary-opaque-2 e sugary-opaque-2-waxy apresentaram a mais alta intensidade de fibrosidade, enquanto as cultivares normal, opaque-2 e waxy apresentaram as mais altas intensidades de dureza e de coesividade. O recobrimento na boca teve sua mais alta intensidade na cultivar waxy, tendo as demais cultivares apresentado intensidade intermediária. A sensação percebida de recobrimento na boca era devida, segundo a equipe de provadores, à sensação remanescente de coesividade (para as cultivares com endosperma amiláceo) e de fibrosidade (para as cultivares que continham o gene sugary).

De uma maneira geral, pode-se dizer que o triplo mutante se caracteriza pelo alto impacto inicial e impressão global, pela alta intensidade dos sabores doce, típico e residual, pela baixa intensidade de dureza e de coesividade, além da alta fibrosidade, quando comparado às demais cultivares avaliadas. Por outro lado, a cultivar normal

seria melhor caracterizada pela alta intensidade de sabor de amido, de sabor residual, de dureza, de coesividade e pela baixa intensidade de fibrosidade e dos sabores doce e típico.

Cabe ainda ressaltar que, para as seis cultivares de milho avaliadas pela ADQ, os parâmetros de textura foram considerados os mais importantes na caracterização do milho verde. As cultivares distinguiram-se muito mais em função dos atributos de textura, tendo apresentado um comportamento bastante definido, principalmente em relação à fibrosidade e à dureza.

Na Figura 8 estão apresentados os resultados da análise sensorial instrumental e de cor. Verifica-se uma ampla variação entre as cores das diversas cultivares, com a presença de dois grupos distintos, o das cultivares que continham o gene sugary e o das cultivares com endospermas amiláceo. As cultivares normal, opaque-2 e waxy apresentaram os menores valores de luminosidade (L Hunter) e os maiores valores de vermelho (a Hunter) e de amarelo (b Hunter), caracterizando-se por uma cor cromática mais intensa do que o grupo composto pelas cultivares que continham o gene sugary, tendo sido o triplo mutante a única cultivar a apresentar teor de verde ($-a$ Hunter). Esses resultados corroboram aqueles obtidos na avaliação sensorial da cor, nos quais as cultivares com endosperma amiláceo foram consideradas as mais amarelas.

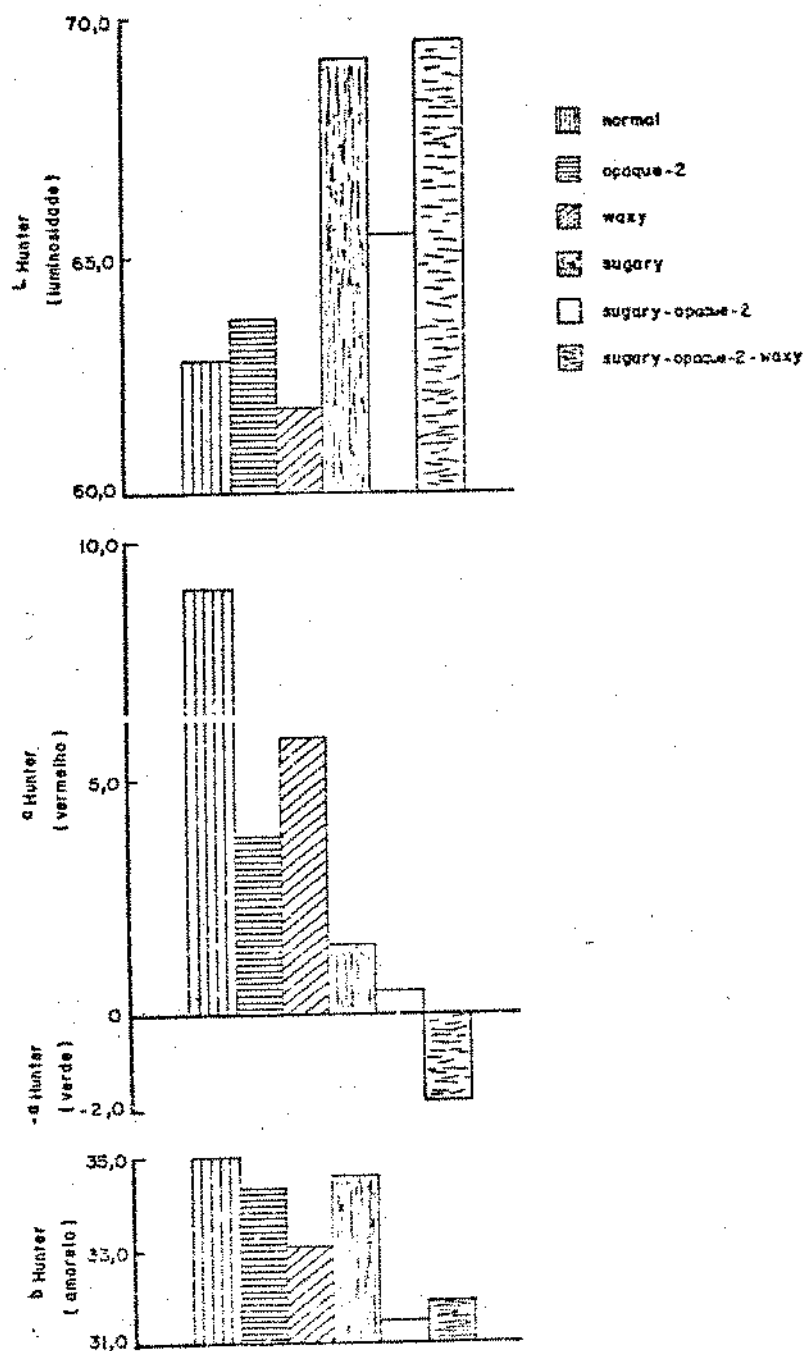


FIGURA 8 - Avaliação da cor no sistema Hunter, de seis cultivares aos 25 dias após a polinização (DAP).

De uma maneira geral, pode-se dizer que o triplo mutante se caracteriza por apresentar elevado teor de luminosidade, baixo teor de amarelo e pela presença de verde (-a) na sua composição de cor, diferindo das Hunter demais cultivares.

Na Tabela 16 estão apresentados os coeficientes de correlação entre as medidas sensoriais e instrumentais de cor. A avaliação visual das cultivares apresentou correlação inversa e significativa (ao nível de 5%) com a luminosidade. Os coeficientes de correlação obtidos indicam que na avaliação sensorial considerou-se as cultivares de menor luminosidade como aquelas de cor amarela mais intensa, o que na verdade é representado pela correlação significativa (ao nível de 1%) entre a avaliação visual e os teores de vermelho (a), na qual o Hunter maior teor de vermelho implicou em mais cromaticidade de cor.

Os resultados da análise sensorial instrumental de textura, das seis cultivares de milho avaliadas, estão apresentados na Tabela 17. Observa-se que as cultivares normal e opaque-2 apresentaram os valores mais elevados de textura, enquanto as cultivares sugary e sugary-opaque-2-waxy apresentaram os valores mais baixos.

Na Tabela 18 encontram-se os coeficientes de correlação entre as medidas sensoriais e instrumentais de textura. Verifica-se que houve correlação significativa (ao nível de

TABELA.14.- Coeficientes de correlação entre medidas sensoriais e instrumentais de cor, de seis cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP).

COR SENSORIAL	COR INSTRUMENTAL [†]		
	L	a	b
	Hunter	Hunter	Hunter
	* -0,89	** 0,97	n.s. 0,52

† = "Hunter Color Difference Meter"

n.s. = t não significativo

* = t significativo ao nível de 5% de probabilidade

** = t significativo ao nível de 1% de probabilidade

L = Luminosidade
Hunter

-a = Verde
Hunter

a = Vermelho
Hunter

b = Amarelo
Hunter

TABELA 17.- Medidas instrumentais de textura (lbf) de seis
cultivares de milho aos 25 dias após
ponilização (DAP).

CULTIVARES	MEDIDAS DE TEXTURA (lbf)	*
NORMAL	703,3	
OPAQUE-2	575,0	
WAXY	381,7	
SUGARY	306,7	-1
SUGARY-OPAQUE-2	405,0	
SUGARY-OPAQUE-2-WAXY	268,3	

* = "Texture Testing System", n = 3

TABELA.18.-, Coeficientes de correlação entre medidas sensoriais e instrumentais de textura, de seis cultivares de milho aos 25 dias após polinização (DAP).

	TEXTURA SENSORIAL				
	DUREZA	FIBROSIDADE	GOMOSIDADE	COESIVIDADE	RECUBRIMENTO NA BOCA
TEXTURA	##	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
INSTRUMENTAL	+ 0,92	-0,66	0,15	0,78	-0,09

t₁ = "Texture Testing System"

n.s. = t não significativo

= t significativo ao nível de 1% de probabilidade

1%) entre a textura instrumental e a dureza sensorial ($r=0,92$), indicando, nesse caso, que a avaliação da dureza sensorial pode ser substituída por este tipo de medida objetiva.

Embora em nosso trabalho não tenha sido realizado teste de preferência, a equipe de provadores fez inúmeros comentários sobre os atributos que estariam ou não mais próximos da preferência do consumidor. Pode-se citar por exemplo, a importância do sabor típico, do sabor doce e da textura mais macia na preferência da equipe, para a escolha do milho verde e, a sensação desagradável da grande quantidade de cascas (pericarpo) no recobrimento na boca, entre outras. Ainda, num estudo sobre a preferência dos consumidores por milho verde, Showalter e Miller, 1962, relataram que, o sabor doce era o fator mais importante na avaliação do sabor, e que havia maior preferência pelos milho mais doces (com maior teor de açúcares solúveis). Além disso, os autores também verificaram uma maior preferência em relação aos milho mais macios.

Os resultados obtidos em nosso trabalho sugerem que, em relação ao sabor doce e à textura mais macia do milho verde, as características sensoriais das cultivares expressem o efeito do genótipo (as cultivares mais doces e as menos duras foram aquelas que continham o gene sugary).

Baseados em nossos resultados e no julgamento e comentários dos provadores, torna-se oportuno sugerir novas

pesquisas em melhoramento genético. Por exemplo, uma vez que o triplo mutante foi considerada a mais doce e uma das mais macias dentre todas as cultivares estudadas, fato que poderia indicar uma boa aceitação por parte dos consumidores, seria interessante que a mesma tivesse também o pericarpo menos espesso e/ou em menor quantidade, visando sua melhor adequação ao mercado consumidor de milho verde.

IV - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos em nosso trabalho permitem-nos concluir 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 do milho verde, quando comparadas com os mutantes simples. Com isso, o triplo mutante sugary-~~opaque-2~~-waxy fica ainda mais tenro, tornando-o recomendado para o consumo "in natura" por um período mais prolongado de tempo.
- O triplo mutante 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.
- Por ter apresentado um perfil de aminoácidos favorável, com altos conteúdos de lisina e triptofano, e uma baixa relação leucina/isoleucina, o triplo mutante expressa o efeito do gene opaque-2 em relação à sua composição aminoacídica, sugerindo que esta cultivar deva apresentar um elevado valor nutritivo.
- Sensorialmente o triplo mutante se caracterizou pela alta intensidade de sabor doce, típico e residual, pela alta intensidade de fibrosidade, impacto inicial e impressão global, e pela baixa intensidade de dureza e

coesividade. Os atributos de textura foram considerados os que mais distinguiram as cultivares entre si.

- Houve correlação significativa (ao nível de 1%) entre medidas objetivas e subjetivas, tanto em relação à textura (dureza), quanto em relação à cor.

- Em relação ao sabor doce e a textura do milho verde, os resultados sugerem que, as características sensoriais das cultivares decorrem da expressão do efeito dos genes presentes no endosperma.

- O conjunto das características apresentadas pelo triplo mutante, manifestadas por seus genes mutantes de origem, conferem a esta nova cultivar uma composição química favorável, características de sabor e de textura bastante desejáveis, além de uma menor velocidade de acúmulo de matéria seca, tornando-o indicado para a alimentação humana.

V - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMIST - Approved methods of the AACC. St. Paul, AACC, 1976.

AMERINE, M.A.; PANGBORN, R.M. and ROESSLER, E.B.
Principles of sensory evaluation of food. New York, Academic Press, 1965. 602p.

ANDREW, R.H.; BRINK, R.A.; NEAL, N.P. Some effects of the waxy and sugary genes on endosperm development in maize. J. Agr. Res. 69 (9): 355, 1944.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURE CHEMISTS) - Official methods of analysis. 11th ed., Washington, D.C., AOAC, 1980.

ARNOLD, J.M.; BAUMAN, L.F.; MAKONNEN, D. Physical and chemical kernel characteristics of normal and opaque-2 endosperm maize hybrids. Crop Sci. 17:362, 1977.

ARRUDA, P.; SILVA, W.J. and TEIXEIRA, J.P.F. Protein and free amino acids in a high lysine maize double mutant. Phytochemistry, 17 : 1217, 1978

ARRUDA, P. & SILVA, W.J. Protein and amino acid metabolism in normal and high lysine sugary opaque-2 maize endosperm during kernel development. Rev. Brasil. Genet., 2 : 313, 1982.

BAUDET, J.; HUET, J.C.; MOUSSE, J. Variability and relationship among amino acids and nitrogen in maize

- grains. J. Agric. Food Chem., 34 : 365, 1986.
- BECKER, H.C.; MILNER, R.T.; NAGEL, R.H. A method for the determination of nonprotein nitrogen in soybean meal. Cereal chem. 17 : 447, 1940.
- BECKMAN. Procedures manual 120 PM-1, Palo Alto, Spinco Division of Beckman Instruments, 1973.
- BLACK, R.C.; LOERCH, J.D.; MCARDLE, L.J.; CREECH, R.G. Genetic interaction affecting phytyglycogen and the phytyglycogen forming branching enzyme. Genetics, 53 :661, 1966.
- BLIGH, E.C. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol., 37 : 991, 1959.
- BRESSANI, R.; ALVARADO, J.; VITERI, F. Evaluación en niños, de la calidad de la proteína del maíz opaco-2. Arch. Lat. Amer. Nutr., 19 : 129, 1969.
- CAMERON, J.W. A study of the genetic control of carbohydrates in maize endosperm. Genetics, 32 : 80, 1947.
- CAMERON, J.W. & TEAS, H.J. Carbohydrate relationships in developing and mature endosperms of brittle and related maize genotypes. Am. J. Botany, 41 : 50, 1954.
- CAMPOS, S.D.S. Reologia e textura de alimentos,

CHRISTIANSON, D.D.; NIELSEN, H.C.; KHOV, U.; WOLF, M.J.; WALL, J.S. Isolation and chemical composition of protein bodies and matrix proteins in corn endosperm. Cereal Chem., 46 : 372, 1969.

CLARK, H.E.; ALLEN, P.E.; MAYERS, S.M.; TUCKETT, S.E.; YAMAMURA, Y. Nitrogen balances of adults consuming opaque-2 maize protein. Amer. J. Clin. Nutr., 20 : 825, 1967.

CLARK, H.E.; GLOVER, D.V.; BETZ, J.L.; BAILEY, L.B. Nitrogen retention of young men who consumed isonitrogenous diets containing normal, opaque-2 or sugary-2-opaque-2 corn. J. Nutr., 107 : 404, 1977.

COCHRAN, W.G. & COX, G.M. Experimental designs. 2 nd ed. New York, Wiley, 1957, 611p.

CONTRERAS-GUZMAN, E.; STRONG III, F.C.; SILVA, W.J. Fatty acid and vitamin E content of nutrimaiz a sugary/opaque-2 corn cultivar. J. Agric. Food. Chem., 38 : 1113, 1982.

CREECH, R.G. Genetic control of carbohydrate synthesis in maize endosperm. Genetics, 52 : 1175, 1965.

CREECH, R.G. Carbohydrate synthesis in maize. Advan. Agron., 20 : 275, 1968.

CREECH, R.G. & Mc ARDLE, F.J. Gene interaction for quantitative changes in carbohydrates in maize kernels.

Crop Sci., 6 : 192, 1966.

CROMWELL, G.L.; PICKETT, R.A.; BEESON, W.M. Nutrition value of opaque-2 corn for swine. J. Animal Sci., 26 : 1325, 1967a.

CROMWELL, G.L.; ROGLER, J.C.; FEATHERSTON, W.R.; PICKETT, R.A. Nutritional value of opaque-2 corn for the chick. Poultry Sci., 56 : 705, 1967b.

CROMWELL, G.L.; PICKETT, R.A.; CLINE, T.R.; BEESON, W.M. Nitrogen balance and growth studies of pigs fed opaque-2 and normal corn. J. Animal Sci., 28 : 478, 1969.

DALBY, Y. & DAVIES, I. Ribonuclease activity in developing seeds of normal and opaque-2 maize. Science, 155: 1573, 1967.

DEATHERAGE, W.L.; Mac MASTERS, M.M.; VINEYARD, M.L.; BEAR, R.P. A note on starch of high amylose content from corn with high starch content. Cereal Chem., 31 : 50, 1954.

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.

DUVICK, D.N. Protein granules of maize endosperm cells. Cereal Chem., 38 : 374, 1961.

EARLE, F.R.; CURTTS, J.J.; HUBBARD, J.E. Composition of the component parts of the corn kernel. Cereal Chem.,

EGGUM, B.O.; VILLEGAS, E.M.; VASAL, S.K. Progress in protein quality of maize. J. Sci. Food Agric., 30 : 1148, 1979.

EPPENDORFER, W.H., BILLE, S.W.; PATIPANAWATTANA, S. Protein quality and amino acid-protein relationship of maize, sorghum and rice grain as influenced by nitrogen, phosphorus, potassium and soil moisture stress. J. Sci. Food Agric., 36 : 453, 1985.

FERGUSON, J.E.; RHODES, A.; DICKINSON, D.B. The genetics of sugary enhancer(se), an independent modifier of sweet corn (su). The Journal of Heredity, 69 : 377, 1978.

FERREIRA, V.L.P. Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos. Campinas, ITAL, 1981. 85p. (Instruções técnicas, 19).

GARWOOD, D.L. & CREECH, R.G. Kernel phenotypes of Zea mays L. genotypes possessing one to four mutated genes. Crop Sci., 12 : 119, 1972.

GOMES, F.P. Curso de estatística experimental. 10 ed., São Paulo, Liv. Nobel, 1982. 430p.

GONZALES, J.W.; RHODES, A.M.; DICKINSON, D.B. Carbohydrate and enzymic characterization of a high sucrose sugary inbred line of a sweet corn. Plant Physiol., 58 : 28, 1976.

- GUPTA, H.O.; LODHA, M.L.; METHA, S.L., RASTOGI, D.K.; SINGH, J. Effect of amino acid(s) and pulse supplementation on nutritional quality of normal and modified opaque-2 maize (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 27(4) : 787, 1979a.
- GUPTA, H.O.; LODHA, M.L.; RASTOGI, D.K.; SINGH, J.; METHA, S.L. Nutritional evaluation of hard endosperm opaque-2 maize (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 27(2) : 390, 1979b.
- GUPTA, H.O., LODHA, M.L.; SEN, K.; SINGH, J.; METHA, S.L. Protein, lipid, mineral and trypsin inhibitor content in modified opaque-2 maize (*Zea mays* L.). *J. Food Sci. and Tech.*, 16 : 129, 1979c.
- GUPTA, H.O.; RAM, P.C.; LODHA, M.L.; SINGH, L. Chemical composition and "in vitro" evaluation of protein quality of maize kernels and their products. *J. Food Sci. and Tech.*, 21 : 171, 1984.
- GUPTA, H.O. & KOVACS, I. Leaf area and grain yield comparison of opaque-2 and analogous normal maize. *Maydica*, 23 : 1, 1978.
- HANSEL, L.W.; TSAI, C.Y.; NELSON, O.E. The effect of the flory-2 gene on the distribution of proteins fractions and methionine in maize endosperm. *Cereal Chem.*, 50 : 383, 1973.
- INGLETT, G.E. Corn in perspective. In: -----, Corn, culture processing products. Westport, AVI, 1970.

- JONES, R.A., LARKINS, B.A.; TSAI, C. Y. Storage protein synthesis in maize. II. Reduced synthesis of a maize zein component by the opaque-2 mutant of maize. Plant Physiol., 59 : 525, 1970.
- KRAMER, H.H.; PFAHLER, P.L.; WHISTLER, R.L. Gene interactions in maize affecting endosperm properties. Agron. J., 50 : 207, 1958.
- LAUGHNAN, J.R. The effect of the sh2 factor on carbohydrate reserves in the mature endosperm of maize. Genetics, 38: 485, 1953.
- LAUGHNAN, J.R. Super sweet, a product of mutation breeding in corn. Seed World, 13 : 18, 1961.
- LEE, K.H.; JONES, R.A.; DALBY, A.; TSAI, C.Y. Genetic regulation of storage protein content in maize endosperm. Biochem. Genetics, 14 : 641, 1976.
- MENTEN, J.F.M. Uso do milho opaco-2 na alimentação de suínos em crescimento-terminação e seus efeitos sobre o desempenho e características de carcaça. Piracicaba, 1982. 100p. (Tese de mestrado) - ESALQ/USP.
- MERTZ, E.T.; LLOYD, N.E.; BRESSANI, R. Studies on corn proteins II. Electrophoretic analysis of germ and endosperm extracts. Cereal Chem., 35 : 146, 1958 .

- MERTZ, E.T.; BATES, L.S.; NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. *Science*, 145 : 279, 1964.
- MERTZ, E.T.; VERON, O.A.; BATES, L.S.; NELSON, O.E. Growth of rats fed on opaque-2 maize. *Science*, 148 : 1741, 1965.
- MERTZ, E.T. High lysine corn. *Agric. Sci. Rev.*, 6 :1, 1968.
- MERTZ, E.T. Recent improvements in corn proteins. In: Inglet, G.E. ed. Symposium: Seed Protein, Westport, AVI, 1972. p.136-146.
- MISRA, P.S.; JAMBUNATHAN, R.; MERTZ, E.T.; GLOVER, D.V.; BARBOSA, H.M.; Mc MHISTER. Endosperm protein synthesis in maize mutants with increased lysine content. *Science*, 176 : 1425, 1972.
- MISRA, P.S.; MERTZ, E.T.; GLOVER, D.V. Studies on corn proteins. VI. Endosperm protein changes in single and double mutants of maize. *Cereal Chem.*, 52 : 161, 1975a.
- MISRA, P.S.; MERTZ, E.T.; GLOVER, D.V. Studies on corn proteins. VIII. Free amino acid content of opaque-2 double mutants. *Cereal Chem.*, 52 : 844, 1975b.
- MOSSE, J. Alcohol - soluble proteins of cereal grains. In: Nutrition Society Symposium Feder. Proc., 25 : 1663, 1966.
- MOSSE, J.; BANDET, J.; LANDRY, J. MOUREAUX, T. Etude sur les

protein du maïs. II. Comparision entre les compositions en acide amine et les proportions mutueles des fraction proteique de grain normaux et mutants. Ann. Physiol. Vegetable, 8 : 331, 1966.

NELSON, O.E.; MERTZ, E.T.; BATES, L.S. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. Science, 150 : 1469, 1965.

NELSON, O.E. Genetic modification of protein quality in plants. Advan. Agron., 21 : 171, 1969.

NILSSON, J.L.G.; REDALEIN, E.; NILSSON, I.M.; FOLKERS, K. On the protection against infraction by corn oil. Acta Chem. Scand., 22 : 97, 1968.

NOBEL, A.C. Wine type and sensory evaluation. Davies, University of California, 1988. p.77-83, (mimeogr.).

ORTEGA, E.I. & BATES, L.S. Biochemical and agronomic studies of two modified hard-endosperm opaque-2 maize (*Zea mays* L.) populations. Cereal Chem., 60(2) :107, 1983.

OSBORNE, T.B. The proteins of wheat kernel. Washington, Carnegie Inst., 1907.

PAEZ, A.V.; HELM, J.L.; ZUBER, M.S. Lysine content of opaque-2 maize kernels having different phenotypes. Crop Sci., 9 : 251, 1969.

PAULIS, J.W.; WALL, J.S.; SANDERSON, J. Origin of high methionine content in sugary corn endosperm. Cereal

Chem., 55(5) : 705, 1978.

POMERANZ, Y. Genetic factors affecting protein content and composition of cereal grains. Wld. Rev. Nutr. Diet., 36 : 174, 1981.

REYES, F.G.R.; IGUTI, A.M.; SGARBIERI, V.C. Comparative study of maize cultivars 30 days after pollination (30 DAP): Carbohydrate and protein. rch. Latinoamericanos de Nutricion, 1988. (in press).

ROBUTTI, J.L., HOSENEY, R.C.; WASSON, C.E. Modified opaque-2 corn endosperms. II. Structure viewed with a scanning electron microscope. Cereal Chem., 51(2) : 173, 1974.

SALAMINI, F.; BORCHI, B.; LORENZONI, C. The effect of opaque-2 gene on yield in maize. Euphytica, 19 : 531, 1970.

SCHONHAUS, I. Composição e valor biológico das proteínas de quatro variedades de milho (Zea mays L.) em dois estágios de maturação. Campinas, 1980. 88p. (Tese de mestrado) - FEA/UNICAMP.

SCHONHAUS, I. & SGARBIERI, V.C. Inherited characteristics of composition and protein nutritive value of a new cultivar of maize (Nutrimaiz) in two stages of maturity. J. Agric. and Food Chem., 31(1) : 7, 1983.

SGARBIERI, V.C.; SILVA, W.J.; ANTUNES, P.L.; AMAYA, J.F. Chemical composition and nutritional properties of a

- sugary-1/opaque-2 (sul/o2) variety of maize (*Zea mays* L.). *J. Agric. Food Chem.*, 25 : 1098, 1977.
- SGARBIERI, V.C.; CONTRERAS, E.; AMAYA, J.F.; 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, 1982.
- SGARBIERI, V.C.; Composição e valor nutritivo da matéria-prima. In: ----- . Industrialização do milho verde: novas perspectivas para a indústria de alimentos; apostila. Campinas, FEA/UNICAMP, 1988. pt. 1, 173p.
- SHANNON, J.C. & CREECH, R.G. Genetics of storage polyglucosides in *Zea mays* L. *Annals of the New York Academy of Sci.*, 210 : 279, 1983
- SHOWALTER, R.K. & MILLER, L.W. Consumer preference for high sugar sweet corn varieties. *Proc. Fla. State Hort. 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*, XXIII : 129, 1978.
- SILVA, W.J. & ARRUDA, P. Evidence for the genetic control of lysine catabolism in maize endosperm. *Phytochem.*, 18 : 1803, 1979.
- SODEK, L. & WILSON, C.M. Amino acid composition proteins isolated from normal, opaque-2 and floury-2 corn

- endosperm by a modified Osborne procedure. J. Agri. Food Chem., 19 : 1144, 1971.
- SOMOGYI, M.A. A new reagent for the determination of sugars. J. Biol. Chem., 160 : 61, 1945.
- SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. Anal. Chem., 32 : 1412, 1967.
- SPRAGUE, G.F.; BRIMHALL, B.; HIXON, R.M. Some effects of the waxy gene in corn on properties of the endosperm starch. J. of the Amer. Soc. Agr., 35 : 817, 1943.
- STONE, H.; SIDEL, J.; OLIVER, S.; WOOLSEY, A.; SINGLETON, R.C. Sensory Evaluation by Quantitative Descriptive Analysis. Food Tech., 28(11) : 24, 1974.
- SZCZESNIAK, A.S.; LIEW, B.J.; SKINNER, E.Z. Consomer Texture Profile. J. Food Sci., 40 : 1253, 1975.
- TOSELLO, G.A. Evaluation of protein and carbohydrate quality and content in selected endosperm mutants and their double-mutant combinations with opaque-2 at two imature stages of development in Zea Mays L. (PhD Thesis) -Purdue University, USA, 1974. 85p. Purdue University, USA.
- TOSELLO, G.A. Milhos especiais e seu valor nutritivo, In: E. Paterniani (ed.). Melhoramento e produção do milho no Brasil. Campinas, Fundação Cargil, 1978. 338p.
- VAN SOEST, P.J. & WINER, R.H. Use of detergents in the

- analysis of fibrous feeds. IV. Determination of plant cell-wall constituents. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 50 : 50, 1967.
- VILEGAS, E.M.; EGGUM, B.O.; VASAL, S.K.; KOHLI, M.M. Progress in nutritional improvement of maize and triticale. Food and Nutr. Bull., 2(1) : 17, 1980.
- WILSON, P.M. & ALEXANDER, D.P. Ribonuclease activity in normal and opaque mutant endosperm of maize. Science, 155 : 1575, 1967.
- WOLF, M.J.; KHOV., U.; SECKINGER, H.L. Subcellular structure of endosperm protein in high-lysine and normal corn. Science, 157 : 556, 1967.
- WOLF, M.J.; KHOV, U.; SECKINGER, H.L. Distribution and subcellular structure of endosperm protein in varieties of ordinary and high-lysine maize. Cereal Chem., 46 : 253, 1969.
- ZOOK, K. & WESSMAN, C. The selection and use of judges for descriptive panels. Food Tech., 31(11) : 56, 1977.

ANEXO 01

* ESQUEMA DO SORTEIO UTILIZADO NA AVALIAÇÃO SENSORIAL

BLOCOS	TRATAMENTOS		
(1)	2	5	1
(2)	2	6	1
(3)	3	1	4
(4)	1	6	3
(5)	5	1	4
(6)	2	3	4
(7)	5	3	2
(8)	4	6	2
(9)	3	5	6
(10)	4	6	5

* de acordo com o delineamento de blocos incompletos balanceados, conforme descrito no plano 11.4 por Cochran e Cox, 1957.