

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MILHO QUANTO AO TEOR DE CAROTENOIDES NOS GRÃOS

SARA DE ALMEIDA RIOS¹, ALUÍZIO BORÉM², PAULO EVARISTO DE OLIVEIRA GUIMARÃES³ e MARIA CRISTINA DIAS PAES³

¹*Embrapa Amazônia Ocidental, Rod. AM 010 km 29, Cx. Postal 319, CEP: 69010-970, Manaus, AM, Brasil. E-mail: sara.rios@cpaa.embrapa.br*

²*Universidade Federal de Viçosa (UFV), Departamento de Fitotecnia, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n, CEP: 36570-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: borem@ufv.br*

³*Embrapa Milho e Sorgo, Rod. MG 424 km 45, Cx. Postal 285, CEP: 35701-970, Sete Lagoas, MG, Brasil. E-mail: evaristo@cnpms.embrapa.br; mcdpaes@cnpms.embrapa.br*

Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.9, n.3, p. 277-286, 2010

RESUMO - A biofortificação é uma alternativa eficiente no combate às deficiências de micronutrientes na população humana. Em milho, os programas de melhoramento para biofortificação visam à obtenção de materiais com altos teores de Fe, Zn e carotenoides precursores de vitamina A, o que requer estudos preliminares de variabilidade genética e diversidade entre genótipos. O objetivo deste trabalho foi estimar a divergência genética entre genótipos de milho quanto ao teor e perfil de carotenoides nos grãos. Foram utilizados dados obtidos do Ensaio Nacional de Variedades de Milho, no ano agrícola 2004/2005, no total de dez genótipos avaliados em dois ambientes. Avaliaram-se os teores de carotenoides totais (CT), α e β -carotenos, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, o somatório de carotenoides precursores de vitamina A (total de β -caroteno + $\frac{1}{2}$ de α -caroteno + $\frac{1}{2}$ de β -criptoxantina = Pró-VA) e a produtividade de grãos. Observaram-se médias de carotenoides nos genótipos avaliados relativamente baixas quando comparadas àquelas relatadas na literatura para linhagens-elite. Os caracteres que mais contribuíram para a diversidade genética entre os genótipos estudados foram luteína e zeaxantina. O efeito do ambiente na expressão do caráter coloca dúvidas quanto à validade das análises de diversidade em um único ambiente, enfatizando a necessidade de que os estudos sejam efetuados em condições ambientais múltiplas.

Palavras-chave: *Zea mays*, carotenos, biofortificação, variabilidade.

GENETIC DIVERGENCE AMONG MAIZE GENOTYPES ON CAROTENOID CONTENTS IN GRAINS

ABSTRACT - Biofortification is an efficient alternative in helping to combat micronutrient deficiencies in the human population. In maize, breeding programs aim to obtain materials with high contents of Fe, Zn and pro-vitamin A (carotenoids) which require preliminary studies of genetic diversity among entries. The aim of this study was to estimate the genetic divergence among maize varieties for content and profile of carotenoids in grains. Data from the National Maize Variety Tests were used, from the 2004/2005 growing season. A total of ten genotypes were evaluated in two environments. Total carotenoids (TC), α and β -carotene, lutein, zeaxanthin, β -criptoxantina, the sum of carotenoids precursors of vitamin A (total of β -caroteno + $\frac{1}{2}$ of α -caroteno + $\frac{1}{2}$ of β -criptoxantina = Pro-VA) and grain yield were evaluated. Carotenoid levels were relatively low in the evaluated varieties, compared to those reported in the literature for elite-lines. Lutein and zeaxanthin were the most contributing characters to the genetic diversity among genotypes. The environmental effect on trait expression raises questions about the validity of diversity analysis in a single environment, emphasizing the need for studies to be conducted in multiple environmental conditions.

Key-words: *Zea mays*, carotenes, biofortification, variability.

A biofortificação, desenvolvimento de alimentos fortificados geneticamente, tem sido estrategicamente empregada como auxílio aos programas de intervenção nutricional para o combate à fome oculta no mundo. Nesse sentido, programas de melhoramento têm direcionado seus esforços na obtenção de genótipos com alto desempenho agrônomo e, ao mesmo tempo, ricos em Fe, Zn e carotenoides precursores de vitamina A, visando atender às necessidades das populações em situação de risco (Hotz et al., 2007; White & Broadley, 2009; Bouis & Welch, 2010).

O sucesso dos programas de melhoramento direcionados à biofortificação de alimentos depende essencialmente da existência de variabilidade genética a ser explorada pela seleção. Diversos estudos indicam existência de variação fenotípica para Fe, Zn e carotenoides pró-vitamínicos A em diversas culturas, como milho, arroz, batata doce, mandioca, entre outras (Harjes et al., 2008; Cardoso et al., 2009; Gupta et al., 2009; Bouis & Welch, 2010).

Em milho, os avanços no desenvolvimento de variedades *Quality Protein Maize* (QPM)

trouxeram boas expectativas nutricionais para os grãos (Rodrigues, 2000). Entretanto, a obtenção de materiais biofortificados em Fe e Zn tem sido trabalhosa, devido a dificuldades de amostragem, complexidade da herança e interação genótipo x ambiente (Guimarães et al., 2005; Rios et al., 2009).

Os carotenoides presentes nos grãos de milho se dividem em dois grandes grupos: carotenos (β -caroteno e α -caroteno) e xantofilas (luteína, β -criptoxantina e zeaxantina), sendo que 90% desses compostos, nos grãos, são constituídos por luteína e zeaxantina (Goodwin, 1980). A atividade pró-vitáminica A é resultante do β -caroteno e, em menor grau, do α -caroteno e β -criptoxantina, considerando que os carotenoides α -caroteno e β -criptoxantina exibem, individualmente, apenas 50% de atividade pró-vitáminica A (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004).

Estudos têm mostrado diferença significativa entre genótipos de milho para teores de carotenoides. Avaliando 300 linhagens de milho, Rocheford (2008) mostrou variação de 0,08 a 65,95 $\mu\text{g g}^{-1}$ no acúmulo de carotenoides totais (CT). A variedade *QPM BRS 473*, desenvolvida no Brasil, apresentou acúmulo médio de 22,61 $\mu\text{g g}^{-1}$ de CT em cinco diferentes ambientes (Rios et al., 2009). Alguns programas de melhoramento já dispõem de linhagem com 13,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ de β -caroteno, nível bem próximo dos 15 $\mu\text{g g}^{-1}$ de β -caroteno que deseja-se atingir com a biofortificação (Ortiz-Monasterio et al., 2007; Harjes et al., 2008).

Apesar da existência de variabilidade genética para carotenoides e, considerando a ocorrência de expressão diferencial dos genes, os estudos de diversidade, sempre que possível, deveriam levar em consideração avaliações em ambientes contrastantes para posterior seleção de genitores potenciais à formação de população base para o melhoramento. Isso porque estudos também têm relatado números variáveis de agrupamentos em diferentes ambientes e, ainda, diferentes agrupamentos de genótipos de um ambiente para outro (Santos, et al., 1997; Figueiredo et al., 2004; Sávio et al., 2008). O objetivo deste trabalho foi estimar a divergência genética para o conteúdo de carotenoides em genótipos de milho avaliados em dois ambientes distintos quanto à fertilidade do solo.

Material e Métodos

Foram utilizados dados de produtividade e grãos oriundos do Ensaio Nacional de Variedades de Milho, do ano agrícola 2004/2005, conduzidos em dois ambientes distintos quanto ao nível de fertilidade do solo: no primeiro ambiente, foi feita adubação com altos níveis de nitrogênio (120 kg ha^{-1} : 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura) (alto N) e, no segundo, adubação com baixos níveis de nitrogênio (20 kg ha^{-1} no plantio) (baixo N) (Tabela 1), sendo a adubação em cobertura realizada entre os estádios V2 e V4. As descrições dos genótipos, suas origens, além de outras características, encontram-se na Tabela 2.

TABELA 1. Caracterização da fertilidade dos solos em Sete Lagoas, Mg, Brasil para posterior adubação nitrogenada, caracterizando os ambientes de alto N (120 kg ha⁻¹: 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura) e baixo N (20 kg ha⁻¹ no plantio).

Parâmetros	Ambiente	
	Alto N	Baixo N
pH (água)	6,1	6,2
MO g dm ⁻³	3,75	3,47
P mg dm ⁻³	10,0	8,0
K (cmolc dm ⁻³)	126	110
Ca (cmolc dm ⁻³)	4,62	4,18
Mg (cmolc dm ⁻³)	0,87	0,84
H+Al (cmolc dm ⁻³)	4,39	4,05
Cu (mg dm ⁻³)	1,00	2,97
Zn (mg dm ⁻³)	3,87	4,5
Fe (mg dm ⁻³)	45,2	46,1
Mn (mg dm ⁻³)	25,2	25,1

TABELA 2. Caracterização de dez genótipos de milho quanto à procedência, tipo e coloração de grãos e tipo de população.

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

Os dez genótipos de milho foram distribuídos em cada um dos ambientes previamente caracterizados, de acordo com delineamento em blocos casualizados, com duas repetições constituídas de duas fileiras de quatro

metros, com espaçamento de 0,90 m entre linhas e estande final de aproximadamente 55.000 plantas ha⁻¹.

Visando à obtenção de amostras de milho para condução das análises químicas laboratoriais

e considerando a parcela experimental composta por dez espigas, conduziu-se a debulha mecânica, seguida pela moagem dos grãos em micromoinho, tipo ciclone MA 020 Marconi (Piracicaba, SP, Brasil). As amostras obtidas foram acondicionadas em frascos de vidro, os quais foram lacrados com parafilme, envoltos em papel alumínio e armazenados à temperatura de -20 °C até condução das análises químicas.

As extrações de CT e frações foram realizadas no laboratório de Qualidade Grãos da Embrapa Milho e Sorgo, Sete Lagoas, Mg, Brasil, segundo protocolo descrito por Rodriguez-Amaya & Kimura (2004). A quantificação de CT foi conduzida em espectrofotômetro Cary 50 Conc UV-Visible (VARIAN - Austrália), com comprimento de onda de 450 nm. Carotenos (α - e β -carotenos) e xantofilas luteína, zeaxantina e β -criptoxantina foram quantificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em cromatógrafo líquido Shimadzu, modelo LC-10, equipado com coluna polimérica YMC C 30 (5 μ m, 4,6 x 250mm, Waters, Milford, MA, USA), acoplado a detector de arranjo de di-iodo. O gradiente de eluição foi conduzido a 0,8 mL min⁻¹, em condições de gradiente linear 80:20 a 15:85 de metanol: éter metil *tert*-butil em 25 minutos, seguido por constante de 80:20 em cinco minutos, finalizando com seis minutos de equilíbrio. A temperatura do laboratório foi mantida a 22° C durante todo o processo. Para a identificação dos compostos, foram utilizados padrões purificados a partir de cenoura e milho verde, seguindo protocolo

descrito em Rodriguez-Amaya & Kimura (2004). Os resultados foram expressos em base seca, por meio da análise de umidade realizada nas amostras, em duplicata, seguindo o método 44-15A da American... (2000).

O valor total de carotenóides precursores de vitamina A (Pró-VA) foi obtido por meio do somatório entre o total de β -caroteno + $\frac{1}{2}$ total de α -caroteno + $\frac{1}{2}$ do total de β -criptoxantina, considerando 100% de atividade pró-vitamínica A para b-caroteno e 50% para as outras duas variáveis (Rodriguez-Amaya & Kimura, 2004).

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Adotou-se a distância generalizada de Mahalanobis (D²) (Mahalanobis, 1936) como medida de dissimilaridade, principalmente porque a D² leva em consideração as correlações residuais entre os caracteres sob avaliação, dando maior robustez à análise. Para o agrupamento dos genótipos, utilizou-se o método de Tocher (Rao, 1952). As análises estatísticas foram executadas separadamente para cada ambiente de avaliação, utilizando-se o software Genes (Cruz,1998).

Resultados e Discussão

As médias de CT variaram de 20,45 a 26,90 μ g g⁻¹ para o ambiente Alto N e entre 15,38 e 26,59 μ g g⁻¹ em Baixo N, com uma média geral de 23,36 μ g g⁻¹ (Tabela 3), sendo que houve diferença estatística tanto entre os dois ambientes quanto entre os genótipos em cada ambiente

TABELA 3. Médias de carotenoides totais (CT), carotenoides precursores de vitamina A (Pró-VA), em $\mu\text{g g}^{-1}$ e produtividade de grãos (kg ha^{-1}) em genótipos de milho, avaliados em dois ambientes contrastantes quanto ao nível de aplicação de nitrogênio no solo (alto N e baixo N), na safra 2004/05. Sete Lagoas, Mg, Brasil^{1,2}.

Genótipos	CT		Pró-VA ³		Produtividade	
	Alto N	Baixo N	Alto N	Baixo N	Alto N	Baixo N
BRS 2020	26,90 Aa	25,94 ABa	2,32 Aa	2,23 Ab	7430,77 Aa	6257,96 Aa
Fundacep 35	25,89 Aa	22,90 Cb	1,90 Da	1,78 Cb	7142,91 Aa	6147,06 Aa
CMS 104	20,45 Da	15,38 Eb	1,60 Ea	1,50 Db	6177,92 Aa	5543,76 Aa
BRS Caatingueiro	24,44 ABCa	23,63 BCa	2,13 Ba	1,98 Bb	4597,52 Aa	4429,33 Aa
BRS 473	22,80 BCDA	22,11 CDA	1,70 Eb	1,85 BCa	5512,66 Aa	3876,30 Aa
UFVM 100	21,82 CDA	22,23 Ca	2,04 BCa	1,94 Bb	7026,89 Aa	5448,54 Aa
CMS 102	24,75 ABa	23,31 BCa	1,96 CDA	1,93 Ba	6583,39 Aa	6851,35 Aa
CMS 101	22,75 BCDA	19,30 Db	1,70 Ea	1,52 Db	6677,51 Aa	5637,82 Aa
BRS Missões	25,43 ABa	24,04 ABCa	1,86 Da	1,88 BCa	6282,75 Aa	4906,80 Aa
BRS São Francisco	26,59 Aa	26,59 Aa	2,09 BCa	1,84 BCb	5775,98 Aa	4834,03 Aa
Média	24,18	22,54	1,93	1,84	6320,83	5393,29
CV (%)	3,46		2,10		18,44	

¹Alto N: 120 kg ha^{-1} (20 kg no plantio e 100 kg em cobertura); Baixo N: 20 kg ha^{-1} no plantio.

²Médias seguidas pelas mesma letra, maiúscula na coluna, e minúscula na linha, não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste Tukey.

³Pró-VA=carotenoides precursores de vitamina A (total de β -caroteno + $\frac{1}{2}$ total de α -caroteno + $\frac{1}{2}$ do total de β -criptoxantina).

($p < 0,05$). Resultado similar foi verificado por Harjes *et al.* (2008), os quais encontraram média de 23 $\mu\text{g g}^{-1}$ de CT em linhagens de milho com grãos de coloração amarela, porém, com maior variabilidade para essa característica (entre 5,5 e 66 $\mu\text{g g}^{-1}$), evidenciando a possibilidade de sucesso no aumento desses carotenoides nos grãos. Estudos apontam menor variabilidade em genótipos comerciais de milho quanto ao teor e perfil de carotenoides nos grãos (Harjes *et al.*, 2008; Cardoso *et al.*, 2009; Rios *et al.*, 2009). Isso se justifica pelo fato de que, ao longo dos anos, programas de melhoramento genético de milho priorizavam características agrônomicas principalmente relacionadas à produtividade.

Só recentemente, aumentou o interesse pela maior qualidade nutricional dos grãos de milho, principalmente como fonte de micronutrientes para a população humana.

Quanto ao conteúdo de Pró-VA, os genótipos apresentaram variação de 1,50 a 2,32 $\mu\text{g g}^{-1}$, (Tabela 3), valores próximos àqueles relatados por Islam *et al.* (2010), os quais avaliaram 85 linhagens, encontrando uma média de 2,74 $\mu\text{g g}^{-1}$, na safra de 2002.

Em geral, o híbrido BRS 2020 apresentou médias de CT e Pró-VA estatisticamente superiores ou iguais às demais, nos dois ambientes (Tabela 3). Ainda que esse híbrido tenha apresentado a maior média de Pró-VA

(2,32 $\mu\text{g g}^{-1}$), esse valor é muito inferior aos 11,75 $\mu\text{g g}^{-1}$ de carotenoides precursores de vitamina A obtidos por Li et al. (2007), avaliando uma população de milho conhecida pelo elevado teor de β -caroteno. Verificaram-se teores de carotenoides nos genótipos avaliados inferiores àqueles encontrados em linhagens-elite de outros programas de melhoramento (Harjes et al., 2008; Cardoso et al., 2009). Porém, ainda que inferiores, esses materiais poderiam auxiliar na reversão de quadros de deficiência nutricional para aquelas populações cujo hábito cultural é o consumo de milho branco, que tem pouco ou quase nenhum teor de carotenoides nos grãos.

Apesar da inexistência de diferenças estatísticas significativas para produtividade de grãos entre os genótipos no mesmo ambiente ou, ainda, entre os ambientes para um mesmo genótipo, sob condições de alta aplicação nitrogenada, o híbrido duplo BRS 2020 apresentou média elevada de

produtividade (7430,77 kg ha^{-1}), mais de 1.100 kg ha^{-1} em relação à média geral. E, sob baixo N, o destaque foi para a variedade CMS 102 (6851,35 kg ha^{-1}) (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra o agrupamento dos genótipos de milho avaliados em alto e baixo N. Foram observados quatro agrupamentos tanto em alto quanto em baixo N. Em alto N, os grupos foram homoganeamente distribuídos, enquanto que, em baixo N, metade dos genótipos foram agrupados no grupo 1 e o restante dos genótipos foram agrupados nos outros três grupos. Esses resultados caracterizam a existência de agrupamentos distintos sob diferentes condições de fertilidade do solo, provavelmente, pela expressão diferencial dos genes, exceto para CMS 104 e BRS 473, os quais mantiveram-se agrupados nas duas condições ambientais. Coimbra et al. (1999), avaliando rendimento de grãos e características secundárias, relataram a formação de agrupamentos distintos, tanto

TABELA 4. Grupos similares de genótipos de milho avaliados em dois ambientes distintos¹, agrupados² de acordo com o método Tocher, a partir da distância de Mahalanobis.

Grupos	Alto N	Baixo N
1	BRS Caatingueiro, CMS 102 e UFVM 100	CMS 102, BRS Missões, UFVM 100, Fundacep 35 e BRS São Francisco
2	Fundacep 35, BRS São Francisco e BRS 2020	CMS 104 e BRS 473
3	CMS 104 e BRS 473	BRS 2020 e BRS Caatingueiro
4	CMS 101 e BRS Missões	CMS 101

¹Alto N: altos níveis de aplicação nitrogenada (120 kg ha^{-1} : 20 kg no plantio e 100 kg em cobertura); Baixo N: baixos níveis de aplicação nitrogenada (20 kg ha^{-1} no plantio).

²O agrupamento foi feito considerando-se todas as características avaliadas: carotenoides totais, carotenoides precursores de vitamina A (total de β -caroteno + $\frac{1}{2}$ total de α -caroteno + $\frac{1}{2}$ do total de β -criptoxantina) e produtividade.

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

A contribuição relativa dos caracteres para a divergência genética dos dez genótipos de milho, nos dois ambientes, está apresentada na Tabela 5. Observa-se que os caracteres tiveram contribuição diferenciada nos dois ambientes, caracterizando influência da interação genótipo

x ambiente. Em alto N, a maior contribuição relativa foi devida à luteína e, em baixo N, betacriptoxantina, seguida por luteína, foram mais importantes. Essas características podem ser priorizadas no estudo de diversidade genética para carotenoides em milho, em especial luteína (alto N), considerando a possibilidade de seleção sem necessidade de quantificação de frações de carotenoides por cromatografia, ou seja, com menor custo de análise.

A produtividade de grãos representa apenas 2% de contribuição relativa para a divergência genética dos materiais avaliados tanto em baixo quanto em alto N e, tanto para essa característica quanto para todas as demais, os valores de correlações genótípicas poderiam auxiliar na escolha de variáveis úteis à seleção indireta. No entanto, as correlações fenotípicas e genótípicas obtidas neste experimento não foram apresentadas, principalmente pela

TABELA 5. Contribuição relativa dos oito caracteres para a divergência genética em dez genótipos de milho, avaliados em dois ambientes distintos (Alto N e Baixo N¹), safra 2004/2005, Sete Lagoas, Mg, Brasil.

Características	Contribuição ou Importância relativa (%)	
	Alto N	Baixo N
Carotenoides totais	7	3
Luteína	54	21
Zeaxantina	16	9
β -criptoxantina	11	36
α -caroteno	1	4
β -caroteno	1	13
Pró-VA ²	9	13
Produtividade	2	2

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

²Pró-VA = carotenoides precursores de vitamina A (total de β -caroteno + ½ total de α -caroteno + ½ do total de β -criptoxantina).

contradição de resultados apresentados na literatura, em especial para a xantofila luteína, (Chander et al., 2008ab; Menkir et al. 2008), nos quais, seja por diferenças na precisão da coleta dos dados, tipo de população/genótipos, interação genótipo x ambiente, além de outros motivos desconhecidos, torna-se dificultosa a interpretação dos seus valores e, principalmente, a comparação dos mesmos com aqueles obtidos neste experimento.

Conclusões

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

Os caracteres que mais contribuem para a diversidade genética entre os genótipos estudados são luteína e zeaxantina, considerando os dois ambientes de avaliação.

Agradecimentos

Ao Harvest Plus e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), o apoio financeiro.

Literatura Citada

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 10. ed. St Paul: AACC, 2000.

BAINIWAL, C. R.; JATARSA, D. S. Genetic

divergence in pigeon pea. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 40, p. 153-156, 1980.

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

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

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

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

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: UFV, 1987. 279 p.

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

GOODWIN, T. W. **The Biochemistry of the carotenoids**. v. 1: Plants. 2. ed. London: Chapman and Hall, 1980.

GUPTA, H. S.; AGRAWAL, P. K.; MAHAJAN, V.; BISHT, G. S.; KUMAR, A.; VERMA, P.; SRIVASTAVA, A.; SAHA, S.; BADU, R.; PANT,

- M. C.; MANI, V. P. Quality protein maize for nutritional security: rapid development of short duration hybrids through molecular marker assisted breeding. **Current Science**, Bangalore, v. 96, n. 2, p. 230-237, 2009.
- HARJES, C. E.; ROCHEFORD, T. R.; BAI, L.; BRUTNELL, T. P.; KANDIANIS, C. B.; SOWINSKI, S. G.; STAPLETON, A. E.; VALLABHANENI, R.; WILLIAMS, M.; WURTZEL, E. T.; YAN, J.; BUCKLER, E. S. Natural genetic variation in lycopene epsilon cyclase tapped for maize biofortification. **Science**, Washington, v. 319, p. 330-333, 2008.
- HOTZ, C.; MCCLAFFERTY, B.; HAWKES, C.; RUEL, M.; BABU, S. From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 28, p. S271-S279, 2007.
- ISLAM, S.; PAUL, C.; BUCKLER, E.; ROCHEFORD, T. Survey of carotenoid (Pro vitamin A) variability in maize. Disponível em: <http://cropsci.illinois.edu/faculty/rocheford/CBS_presentation_SI.ppt>. Acesso em 22/06/2010.
- LI, S.; TAYIE, F. A. K.; YOUNG, M. F.; ROCHEFORD, T.; WHITE, W. S. Retention of provitamin A carotenoids in high β -carotene maize (*Zea mays*) during Traditional African Household Processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 55, p. 10744-10750, 2007.
- ORTIZ-MONASTERIO, J. I.; PALACIOS-ROJAS, N.; MENG, E.; PIXLEY, K.; TRETOWAN, R.; PEÑÑA, R. J. Enhancing the mineral and vitamin content of wheat and maize through plant breeding. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, p. 293-307, 2007.
- RIOS, S. A.; PAES, M. C. D.; BORÉM, A.; CRUZ, C. D.; GUIMARÃES, P. E. O.; SCHAFFERT, R. E.; CARDOSO, W. S.; PACHECO, C. A. P. Adaptability and stability of carotenoids in maize cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 9, p. 313-319, 2009.
- ROCHEFORD, T. R. Power point presentations. Disponível em: <<http://www.cropsci.uiuc.edu/faculty/rocheford/>>. Acesso em 10/01/2008.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington, DC: IFPRI; Cali: CIAT, 2004. 58 p. (HarvestPlus Technical Monograph, 2). Disponível em: <<http://www.harvestplus.org/sites/default/files/tech02.pdf>>. Acesso em 13/05/2007.
- RODRIGUES, M. C. **Heterose e seus componentes em cruzamentos de populações de milho com alta qualidade protéica**. 2000. 232 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola de Agronomia, Goiânia.
- SANTOS, C. A. F.; MENEZES, E. A.; ARAÚJO, F. P. Divergência genética em genótipos de feijão-de-corda avaliados em dois ambientes. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 44, n. 251, p. 35-42, 1997.
- SÁVIO, F. L.; FARIA, P. N.; PEREIRA, W. A.; BORÉM, A.; TARDIN, F. D.; RODRIGUES, J. A. S.; SCHAFFERT, R. E. Divergência genética em híbridos de sorgo cultivados sob diferentes níveis de fósforo, em solução nutritiva. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, Sete Lagoas, v. 7, n. 3, p. 305-321, 2008.
- WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortification of crops with seven mineral elements often lacking in human diets - Iron, zinc, copper, calcium, magnesium, selenium and iodine. **New Phytologist**, Oxford, v. 182, p. 49-84, 2009.