



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de São José do Rio Preto

ALINE GOMES DE MOURA E SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ALIMENTOS BIOFORTIFICADOS  
PRODUZIDOS EM SISTEMAS  
AGROECOLÓGICOS DO TRÓPICO ÚMIDO**

São José do Rio Preto, SP

2016

ALINE GOMES DE MOURA E SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ALIMENTOS BIOFORTIFICADOS  
PRODUZIDOS EM SISTEMAS  
AGROECOLÓGICOS DO TRÓPICO ÚMIDO**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos junto ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – Área de concentração – Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neuza Jorge

**Co-orientadora:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Alana C. F. Aguiar

São José do Rio Preto, SP

2016

Silva, Aline Gomes de Moura e.

Avaliação da qualidade de alimentos biofortificados produzidos em sistemas agroecológicos do trópico úmido / Aline Gomes de Moura e Silva. – São José do Rio Preto, 2016

104 f. : il., tabs.

Orientador: Neuza Jorge

Coorientadora: Alana C. F. Aguiar

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Tecnologia de alimentos. 2. Plantas - Nutrição. 3. Cultivos alimentares. 4. Agricultura sustentável. 5. Uréia como fertilizante. 6. Cloreto de potássio. I. Jorge, Neuza. II. Aguiar, Alana das Chagas Ferreira. III. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. IV. Título.

CDU – 664

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

ALINE GOMES DE MOURA E SILVA

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ALIMENTOS BIOFORTIFICADOS  
PRODUZIDOS EM SISTEMAS  
AGROECOLÓGICOS DO TRÓPICO ÚMIDO**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos junto ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos – Área de concentração – Ciência e Tecnologia de Alimentos do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus de São José do Rio Preto.

Comissão Examinadora

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Neuza Jorge  
UNESP – São José do Rio Preto  
Orientadora

Prof. Dr. Arthur Bernardes Cecílio Filho  
UNESP – Jaboticabal

Prof. Dr. David Ariovaldo Banzatto  
UNESP – Jaboticabal

Prof. Dr. Eduardo Ramirez Asquieri  
UFG – Goiânia

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sabria Aued-Pimentel  
Instituto Adolfo Lutz – São Paulo

São José do Rio Preto  
18 de fevereiro de 2016

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Neuza Jorge, obrigada pela confiança e orientação, e principalmente pela preocupação para que resultasse em um bom trabalho.

À minha co-orientadora Alana, que foi mais que uma co-orientadora para mim!

Aos membros da banca pelas valiosas contribuições e sugestões.

Aos meus pais, Íris e Francisco, por terem escutado todos meus desabafos sempre com paciência e pelos sábios conselhos, além de toda ajuda na mudança de cidade.

Aos meus irmãos, Stanley e Andersom, por todas as assistências: intelectual, prática, emocional, linguística...

À avó Georgeta por sempre me lembrar de que eu não estou só.

À tia Juçara, responsável por estimular minha leitura desde a infância e a seguir estudando.

À Lídia, a primeira pessoa que conheci em Rio Preto e que me acolheu com tanto carinho. Muito obrigada por toda ajuda, pelas inúmeras procuras por um apto, pelos almoços, pela hospedagem, pelas risadas, é uma amiga para toda vida!

À tia Beth, muito importante para que eu fixasse residência em Rio Preto.

Ao tio Emanuel Gomes de Moura, que foi o responsável pela minha ida à Rio Preto.

Ao meu primo querido Vítor, que me buscava de madrugada no aeroporto em São Luís.

Obrigada pelas idas e vindas à UEMA e pela hospedagem com muitas mordomias.

À pesquisadora Tânia da Silveira Agostini Costa por todo auxílio na análise de carotenoides.

Obrigada por ser tão prestativa!

Ao prof<sup>o</sup> Eduardo Ramirez Asquieri, pelo longo tempo de análise em seu laboratório e por ter me ensinado que temos que ter paciência e bom humor sempre.

Ao prof<sup>o</sup> João Reis Salgado Costa Sobrinho do Laboratório de Química do Solo (UEMA) pelas muitas análises de minerais realizadas.

Aos funcionários Dionísio e Neto e aos alunos da UEMA que auxiliaram na colheita da mandioca: Marta, Virley, Carlos César, Vinícius e Leandro.

Aos amigos da Unesp por tornar esses 5 anos (!) inesquecíveis, pelas risadas, desabafos e almoços no RU: Ana Beatriz, Felipe, Lady, Mariana, Michele, Sabrina, Tatiane e Vivian.

Aos amigos do Laboratório de Óleos e Gorduras pela convivência, pelas comemorações de aniversário, viagens à congressos e auxílios nas análises: Ana Carolina, Carolina Veronezi, Danusa, Irene, Liara, Tainara e ao técnico Luiz Carlos. À Débora pela convivência, apesar de curta, e pelas análises cromatográficas no óleo de milho.

Agradeço Emiko e Inácio pela confortável hospedagem em Brasília.

## RESUMO GERAL

O sistema de cultivo em aleias é uma forma de agricultura sustentável que melhora a qualidade do solo do trópico úmido. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do sistema de cultivo em aleias na produtividade e na qualidade nutricional das culturas biofortificadas de milho e mandioca. O milho QPM (Quality Protein Maize) BR 473 foi cultivado em Chapadinha (MA). Foram utilizadas as combinações de leguminosas: GA (Gliricídia + Acácia), GS (Gliricídia + Sombreiro), LA (Leucena + Acácia), LS (Leucena + Sombreiro) e sem leguminosas (SL), com ou sem adição de 80-80 kg/ha de cloreto de potássio e ureia. As análises realizadas foram: massa de 100 grãos, número de grãos/espiga, massa da espiga, produtividade de grãos, composição centesimal, carotenoides totais, teores de minerais, perfil de ácidos graxos e de tocoferóis. O plantio com resíduos de leguminosas e a adição de cloreto de potássio e ureia aumentaram a produtividade do milho. Com relação à proteína, a ureia teve maior influência que os resíduos de leguminosas. As combinações sem adubação com ureia e cloreto de potássio obtiveram os maiores teores de tocoferóis. O plantio da mandioca BRS Dourada foi realizado em São Luís (MA). Foram utilizadas as combinações de leguminosas: GA (Gliricídia + Acácia), GS (Gliricídia + Sombreiro), GL (Gliricídia + Leucena), LA (Leucena + Acácia), LS (Leucena + Sombreiro) e sem leguminosas (SL), com ou sem adição de 100 kg/ha de ureia. As análises realizadas foram: produtividade de parte aérea, número de raízes por pé, massa de raiz, produtividade de raízes, composição centesimal, teor de amido, minerais, tempo de cocção, perfil de carotenoides e teor de pró-vitamina A. A produtividade foi maior em GL. A adição de ureia ao solo aumentou os teores de proteína e amido. Para a pró-vitamina A, GS com ureia se destacou com 12,4 RAE (Equivalente de atividade retinol) /100 g. A escolha da combinação de leguminosas está relacionada à cultura a ser plantada e ao atributo de qualidade desejado. O sistema de cultivo em aleias foi capaz de aumentar a produção de milho e de mandioca biofortificados e influenciar diferentemente cada nutriente.

**Palavras-chave:** sistema de cultivo, ureia, cloreto de potássio, milho QPM, mandioca, pró-vitamina A.

## ABSTRACT

No-tillage alley cropping is a form of sustainable agriculture that improves soil quality of the humid tropics. The aim of this study was to evaluate the influence of the alley cropping system in the productivity and nutritional quality of biofortified maize and cassava. The high-quality protein maize (QPM) BR 473 was grown in Chapadinha (MA). The combinations of legumes were: GA (Gliricidia + Acacia), GS (Gliricidia + Sombreiro), LA (Leucena + Acacia), LS (Leucena + Sombreiro) and the bare soil, with or without addition of 80-80 kg/ha of potassium chloride and urea. The analysis were: 100-grain weight (g), grain/ear, weight of ear, grain yield, proximate composition, mineral content, carotenoids, fatty acid profile and tocopherols. The planting with legume residues and addition of potassium chloride and urea increased corn yield. Regarding protein, urea had greater influence than residues. The combinations of trees without fertilization with urea and potassium chloride had the highest levels of tocopherols. The BRS Dourada cassava was grown in São Luís (MA). The combinations of legumes were: GA (Gliricidia + Acacia), GS (Gliricidia + Sombreiro), LA (Leucena + Acacia), LS (Leucena + Sombreiro), GL (Gliricidia + Leucena) and the bare soil, with or without addition of 100 kg/ha of urea. The analysis were: shoot production, number of roots/plant, root weight, root production, proximate composition, starch, minerals, cooking time, carotenoids profile and pro-vitamin A contents. The yield was greater in GL. The addition of urea to the soil increased the protein and starch contents. For pro-vitamin A, the GS with urea stood out with 12.4 RAE (Retinol Activity Equivalent) /100 g. The choice of combination of pulses is related to the crop to be planted and the desired quality attribute. The cropping system in alleys was able to increase the production of corn and biofortified cassava and to influence differently each nutrient.

**Keywords:** cultivation system, urea, potassium chloride, QPM maize, cassava, pro-vitamin A.

## LISTA DE FIGURAS

### **Capítulo 1 - Cultivo em aleias, biofortificação de alimentos e compostos bioativos**

Figura 1	Estrutura de caroteno e xantofila .....	32
Figura 2	Estrutura dos ácidos graxos: linoleico e $\alpha$ -linolênico .....	37
Figura 3	Estrutura do tocoferol .....	39

### **Capítulo 2 - A importância do sistema de plantio e da fertilização na qualidade do milho QPM BR 473**

Figura 1	Diagrama das parcelas experimentais indicando os tratamentos com e sem NK .....	56
Figura 2	Cromatograma da composição de ácidos graxos do tratamento sem leguminosa e sem NK .....	66
Figura 3	Cromatograma da composição de tocoferóis do tratamento sem leguminosa e sem NK .....	68

### **Capítulo 3 - Avaliação da influência do sistema de plantio e da adição de ureia na qualidade da mandioca biofortificada com pró-vitamina A**

Figura 1	Diagrama das parcelas experimentais indicando os tratamentos com e sem N .....	82
Figura 2	Cromatograma da composição de carotenoides do tratamento sem leguminosa e sem N .....	94



## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1 - Cultivo em aleias, biofortificação de alimentos e compostos bioativos

Tabela 1	Culturas dos projetos da Rede de Biofortificação no Brasil .....	27
----------	--	----

### Capítulo 2 - A importância do sistema de plantio e da fertilização na qualidade do milho QPM BR 473

Tabela 1	Massa de 100 grãos (g), grãos/espiga, massa da espiga (g) e produtividade de grãos (t/ha) para a interação NK x combinações de leguminosas .....	61
Tabela 2	Composição centesimal (g/100 g) para os fatores NK e combinações de leguminosas .....	63
Tabela 3	Teores de minerais (mg/100 g) para os fatores NK e combinações de leguminosas .....	64
Tabela 4	Carotenoides totais ( $\mu\text{g/g}$ ) para a interação NK x combinações de leguminosas .....	65
Tabela 5	Teores de ácidos graxos (g/100 g) para a interação NK x combinações de leguminosas .....	67
Tabela 6	Teores de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados (g/100 g) para a interação NK x combinações de leguminosas .....	68
Tabela 7	Teores de tocoferóis (mg/kg) para a interação NK x combinações de leguminosas .....	69

### Capítulo 3 - Avaliação da influência do sistema de plantio e da adição de ureia na qualidade da mandioca biofortificada com pró-vitamina A

Tabela 1	Número de raízes/pé e massa de raiz (kg) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas .....	88
Tabela 2	Parte aérea (t/ha) e produtividade (t/ha) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas .....	88
Tabela 3	Teores de lipídios (g/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas .....	89
Tabela 4	Umidade, cinzas, proteína e carboidratos totais (g/100 g) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas .....	90

Tabela 5	Teores de amido (%) e tempo de cocção (min) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas .....	91
Tabela 6	Teores de potássio, magnésio, fósforo, zinco, ferro e iodo (mg/100 g) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas .....	93
Tabela 7	Teores de cálcio (mg/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas .....	93
Tabela 8	Conteúdo de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) e pró-vitamina A (RAE/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas .....	96

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GA	Combinação de Gliricídia e Acácia
GL	Combinação de Gliricídia e Leucena
GS	Combinação de Gliricídia e Sombreiro
LA	Combinação de Leucena e Acácia
LS	Combinação de Leucena e Sombreiro
MUFA	Ácidos graxos monoinsaturados
N	Adição de 100 kg/ha de ureia
NK	Adição de 80-80 kg/ha de ureia e cloreto de potássio
PUFA	Ácidos graxos poli-insaturados
QPM	Quality Protein Maize
RAE	Equivalente de atividade retinol
SL	Sem leguminosas

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	13
<b>Capítulo 1 - Cultivo em aleias, biofortificação de alimentos e compostos bioativos</b> .....	14
<b>RESUMO</b> .....	15
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2 SISTEMA DE CULTIVO EM ALEIAS</b> .....	17
<b>3 BIOFORTIFICAÇÃO</b> .....	21
3.1 HISTÓRICO DA BIOFORTIFICAÇÃO .....	23
3.2 MÉTODOS DE BIOFORTIFICAÇÃO .....	24
3.2.1 Biofortificação agronômica .....	24
3.2.2 Biofortificação por engenharia genética .....	25
3.2.3 Biofortificação por melhoramento convencional .....	26
3.2.3.1 Milho QPM (Quality Protein Maize) .....	27
3.2.3.2 Mandioca biofortificada .....	30
<b>4 COMPOSTOS BIOATIVOS</b> .....	32
4.1 CAROTENOIDES .....	32
4.2 ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS .....	35
4.3 TOCOFEROIS .....	39
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	43
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	44
<b>Capítulo 2 - A importância do sistema de plantio e da fertilização na qualidade do milho QPM BR 473</b> .....	52
<b>RESUMO</b> .....	53
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	54
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	55
2.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS .....	57
2.2 OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS .....	57
2.3 ANÁLISES QUÍMICAS .....	57
2.3.1 Composição centesimal .....	57
2.3.2 Análise de minerais .....	59
2.3.3 Carotenoides totais .....	59

2.3.4 Perfil de ácidos graxos .....	59
2.3.5 Determinação de tocoferóis .....	60
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	60
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
3.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS .....	61
3.2 ANÁLISES QUÍMICAS .....	62
3.2.1 Composição centesimal .....	62
3.2.2 Análise de minerais .....	64
3.2.3 Carotenoides totais .....	65
3.2.4 Perfil de ácidos graxos .....	65
3.2.5 Tocoferóis .....	68
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>70</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>71</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>74</b>

<b>Capítulo 3 - Avaliação da influência do sistema de plantio e da adição de ureia na qualidade da mandioca biofortificada com pró-vitamina A .....</b>	<b>78</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>79</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>80</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>81</b>
2.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS .....	83
2.2 OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS .....	83
2.3 ANÁLISES QUÍMICAS .....	83
2.3.1 Composição centesimal .....	83
2.3.2 Teor de amido .....	85
2.3.3 Tempo de cocção .....	85
2.3.4 Análise de minerais .....	85
2.3.5 Determinação de carotenoides e pró-vitamina A .....	86
2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	87
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>87</b>
3.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS .....	87
3.2 ANÁLISES QUÍMICAS .....	89
3.2.1 Composição centesimal .....	89
3.2.2 Teor de amido e tempo de cocção .....	90

<b>3.2.3 Análise de minerais .....</b>	<b>92</b>
<b>3.2.4 Carotenoides e pró-vitamina A .....</b>	<b>94</b>
<b>4 CONCLUSÃO .....</b>	<b>97</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>98</b>
<b>APÊNDICES .....</b>	<b>101</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>104</b>

## INTRODUÇÃO GERAL

A produção de alimentos na agricultura familiar do trópico úmido é dificultada pela pouca disponibilidade de nutrientes nos solos, combinada à baixa eficiência do seu uso pelas plantas. A biofortificação, do ponto de vista de enriquecimento em nutrientes de alimentos, que fazem parte da dieta básica das populações, visa aumentar a qualidade das culturas cultivadas pelos pequenos agricultores. No entanto, apenas a disponibilidade de variedades biofortificadas não garante o acesso das famílias aos alimentos de qualidade. Se não forem oferecidos aos agricultores os processos por meio dos quais possam implantar agrossistemas sustentáveis, principalmente nas regiões do trópico úmido, existirá uma dificuldade em se conseguir lavouras produtivas.

O sistema de cultivo em aleias é uma alternativa para melhoria do solo, pois regenera sua fertilidade, além de possibilitar a utilização de uma mesma área por mais tempo e diminuir o impacto sobre o meio ambiente. É um sistema de produção em que as culturas são cultivadas entre as linhas de espécies de leguminosas, cujos ramos são periodicamente podados e deixados sobre o solo para servirem de cobertura e fonte de nutrientes.

Este projeto está fundamentado na hipótese que o cultivo de alimentos biofortificados em sistema de aleias pode ser interessante para a agricultura familiar do trópico úmido ao aumentar a produtividade e melhorar a qualidade nutricional do produto colhido.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a produtividade e a qualidade nutricional das culturas biofortificadas de milho e mandioca quando cultivadas em agrossistemas do trópico úmido utilizando combinações das leguminosas: Acácia, Gliricídia, Leucena e Sombreiro. Para tanto, os objetivos específicos do trabalho foram:

- Avaliar a produtividade de milho e mandioca biofortificados cultivados nos sistemas de aleias.
- Determinar a composição centesimal e quantificar minerais em milho e mandioca.
- Analisar o teor de amido e o tempo de cocção da mandioca biofortificada.
- Quantificar os teores de carotenoides totais do milho biofortificado.
- Avaliar o perfil de carotenoides e estimar o teor de pró-vitamina A da mandioca biofortificada.
- Analisar o perfil de ácidos graxos e teor de tocoferóis em milho biofortificado.

## **Capítulo 1 - Cultivo em aleias, biofortificação de alimentos e compostos bioativos**



## RESUMO

Uma das alternativas para melhorar a produção de alimentos e a conservação do solo é o uso dos sistemas agroecológicos como o cultivo em aleias. Esse sistema fornece nutriente e cobertura ao solo simultaneamente, melhorando a capacidade de aeração, retenção de água e absorção de nutrientes. As condições físicas e químicas do solo influenciam na qualidade de um alimento. Assim, baixos teores de nutrientes do solo resultam em baixos teores de nutrientes nos alimentos vegetais. A biofortificação busca elevar o conteúdo de nutrientes, como minerais e vitaminas por meio de práticas agronômicas, por melhoramento vegetal convencional ou por transgenia. No entanto, é questionável se o uso de práticas agroecológicas para plantio de alimentos biofortificados, que de certa forma é considerada uma estratégia sustentável, teria impacto na segurança alimentar das famílias que vivem no meio rural. Muito se fala sobre os compostos bioativos por causa dos benefícios à saúde e certamente esses compostos são influenciados pelas condições de plantio, outro aspecto a ser estudado.

**Palavras-chave:** sistema de produção, aleias, carotenoides, ácidos graxos, tocoferóis.

## 1 INTRODUÇÃO

A agricultura contribui para a melhoria da nutrição humana por meio da diversificação da dieta e aumento da renda dos agricultores. Ela deve estar intimamente ligada à saúde humana para que se encontrem soluções sustentáveis às deficiências de nutrientes que afligem um grande número de pessoas. A deficiência de minerais e vitaminas interfere no desenvolvimento do indivíduo, com consequências tanto do ponto de vista físico, como social e econômico, afetando o crescimento do país (GRAHAM; WELCH; BOUIS, 2001).

A degradação do solo afeta a nutrição e a saúde humana pelo impacto na quantidade e qualidade da produção de alimentos. A redução na produtividade das culturas agrava a insegurança alimentar e a baixa concentração de macro e micronutrientes influencia na desnutrição e na fome oculta. Existe forte relação entre a qualidade do solo e a saúde humana, portanto, a melhoria da fertilidade do solo beneficia o conteúdo de vitaminas e minerais de algumas culturas alimentares, assim como a biofortificação contribui para a nutrição (LAL, 2009).

O sistema de cultivo em aleias é um sistema de uso de terras que recupera a fertilidade dos solos e é ecologicamente vantajoso para a produção de alimentos e biomassa em comparação com as práticas agrícolas convencionais. As vantagens estão relacionadas ao aumento da produtividade das culturas e uso eficiente dos recursos hídricos e dos nutrientes do solo (QUINKENSTEIN et al., 2009).

A introdução de alimentos biofortificados - variedades melhoradas que apresentam maior conteúdo de nutrientes - tem como objetivo proporcionar de maneira sustentável e de baixo custo, maior ingestão diária de nutrientes melhorando o estado nutricional dos agricultores que cultivam os alimentos que consomem e também daqueles que têm limitado acesso aos sistemas formais de mercado e de saúde (PACHÓN; TORRES, 2010).

## 2 SISTEMA DE CULTIVO EM ALEIAS

A segurança alimentar é definida pela legislação brasileira como “a realização do direito de todos ao acesso regular e permanente a alimentos de qualidade, em quantidade suficiente, sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, tendo como base práticas alimentares promotoras de saúde que respeitem a diversidade cultural e que sejam ambiental, cultural, econômica e socialmente sustentáveis” (BRASIL, 2006).

De acordo com pesquisa do IBGE (2014), o Estado do Maranhão tem o maior índice de insegurança alimentar do país (60,9%), ou seja, apenas 39,1% dos domicílios têm uma alimentação assegurada. Neste mesmo estudo, verificou-se que a região Nordeste apresentou elevados percentuais de domicílios em situação de insegurança alimentar, tanto na área urbana (34,0%) quanto na área rural (50,1%).

O Estado do Maranhão é tradicionalmente rural e, por vezes, boa parte dos pequenos agricultores não consegue produzir seu próprio alimento. Na agricultura familiar predomina o sistema de cultivo tradicional chamado de agricultura itinerante ou de “derrubada e queima”, que consiste na derrubada e queima da vegetação nativa para limpar a área de plantio e o uso da cinza para corrigir a acidez e fertilizar o solo (FERRAZ JÚNIOR, 2002). Esta forma de manejo do solo contribui para as mudanças climáticas e o aquecimento global, além de outros efeitos ambientais prejudiciais, como o empobrecimento da biodiversidade e a degradação do solo (AGUIAR et al., 2009).

Os solos do centro-norte maranhense são derivados de rochas sedimentares, com baixa capacidade de reter cátions, pouca disponibilidade de nutriente e baixa eficiência de uso pelas plantas. O trópico úmido se caracteriza por estações bem definidas de períodos de seca e chuva, fazendo com que os solos sofram ciclos repetitivos de umedecimento-secagem. Estas mudanças resultam na coesão do solo, prejudicando a absorção de nutrientes pelas raízes, a aeração do solo e a infiltração de água (AGUIAR et al., 2011).

Uma das alternativas para conservação do solo e melhoria da produção de alimentos é o uso de sistemas agroecológicos, como o sistema de cultivo em aleias. Este sistema de cultivo possibilita a utilização de mesma área por mais tempo, proporcionando melhores produções, diminuindo o impacto sobre o meio ambiente e regenerando a fertilidade do solo (AGUIAR et al., 2010).

O cultivo em aleias é um sistema de produção em que as culturas são cultivadas entre as linhas de espécies arbóreas, geralmente leguminosas, cujos ramos são periodicamente podados e deixados sobre o solo para servirem de cobertura e fonte de nutrientes

(TSONKOVA et al., 2012). O sistema de cultivo em aleias mantém a cobertura do solo, melhorando os indicadores físicos de qualidade (densidade, porosidade, capacidade de aeração e de retenção de água), estimulando a microbiota do solo (com a presença de espécies que “escavam” o solo, aumentando a aeração e o fluxo de água) e participando do controle das plantas daninhas (por processos aleloquímicos e formação de uma barreira física) (MOURA et al., 2009).

O sistema de cultivo em aleias produz grande quantidade de resíduos derivados de galhos e folhas. A decomposição desta matéria orgânica com a liberação contínua de nutrientes contribui para a retenção destes compostos na camada superficial do solo e para a ciclagem de cálcio, nitrogênio, potássio e magnésio. Em estudo comparando áreas com aplicação dos ramos das leguminosas ao solo e áreas com superfície descoberta, observou-se que a adição de resíduos de leguminosas aumentou os teores de cálcio e magnésio nos primeiros 10 cm do perfil do solo. Também se verificou que as melhorias nas condições químicas do solo foram mantidas por pelo menos cinco anos após a aplicação do material podado das árvores (AGUIAR et al., 2010; MOURA et al., 2010).

Para se implantar um sistema de cultivo em aleias eficiente é necessário se atentar a alguns fatores como a quantidade e a qualidade do material podado, os teores de nutrientes liberados da cobertura, o tempo de liberação e a sincronia entre a liberação e as necessidades das culturas, a competição entre as leguminosas e as culturas por água, luz e nutrientes. A competição é abrandada pela escolha de espécies com sistemas radiculares compatíveis entre si, aumento do espaçamento entre as linhas de leguminosas e a poda periódica dos ramos (ZHAO; ZHANG; HILL, 2012).

As razões para a utilização de leguminosas estão na capacidade de simbiose com bactérias fixadoras do nitrogênio atmosférico, a elevada produção de massa seca e o sistema radicular, geralmente, profundo e ramificado (SILVA; MENEZES, 2007).

As leguminosas arbóreas extraem os nutrientes das camadas mais profundas do solo e por meio da decomposição do material podado adicionado à superfície, oferecem estes nutrientes à cultura. Neste processo de ciclagem, a liberação de diferentes nutrientes está relacionada à qualidade do resíduo, que é dependente do seu conteúdo de carbono, nitrogênio, fósforo, lignina, polifenóis e as interações entre eles. São considerados de “alta qualidade”, resíduos com teores de nitrogênio acima de 2,5%, conteúdo de lignina inferior a 15% e de polifenóis abaixo de 4% e os de “baixa qualidade” quando apresentam os teores inversos (TEKLAY, 2007).

As leguminosas também são caracterizadas pela relação C/N. O conteúdo de carbono (C) dos materiais vegetais está entre 40-50% (base seca) e o teor de nitrogênio (N) é variável.

A biomassa das leguminosas com baixa relação C/N tem rápida decomposição, enquanto uma alta relação C/N indica lenta decomposição do material. A velocidade de decomposição é influenciada também por fatores que afetam a atividade dos microrganismos como temperatura, umidade, condições físicas e químicas do solo e aplicação de fertilizantes. Por exemplo, no caso dos fertilizantes, a adição de N diminui a relação C/N, favorece a proliferação de microrganismos decompositores e de enzimas, que catalisam a degradação da celulose e da lignina, assim acelera-se a decomposição da biomassa e a liberação de nutrientes (CATTANIO; KUEHNE; VLEK, 2008; MOORE et al., 2011).

Os resíduos de “alta qualidade” liberam rapidamente os nutrientes, o que é indesejável quando não há sincronia entre a oferta de minerais e as necessidades da cultura. Em algumas situações, o efeito de cobertura é mais importante que o fornecimento de nutrientes. Portanto, experimentos conduzidos no trópico úmido maranhense demonstraram que a combinação de leguminosas de “alta qualidade” e “baixa qualidade” é uma estratégia para que a liberação de nutrientes coincida com as demandas da cultura, ao mesmo tempo em que protege o solo durante o período de cultivo (AGUIAR et al., 2010; MOURA et al., 2010).

As combinações das leguminosas: Acácia, Gliricídia, Leucena e Sombreiro foram utilizadas em experimentos para avaliar a influência do sistema de cultivo em aleias na melhora das propriedades do solo e na absorção de nutrientes pela cultura agrícola e demonstraram bons resultados (MOURA et al., 2012; MOURA et al., 2014; MOURA et al., 2015). Estas leguminosas foram utilizadas neste trabalho e, por isso, estão descritas abaixo.

A Acácia (*Acacia mangium* Willd) é uma leguminosa arbórea de rápido crescimento e de “baixa qualidade”. Atualmente, a maioria dos cultivos de *A. mangium* é direcionada principalmente para a produção de polpa de celulose, para uso em movelaria, como matéria-prima para compensados, para controle de erosão e também tem sido considerada como uma planta com potencial melífero. O reflorestamento com *A. mangium* permite a recuperação dos solos degradados e impróprios para a agricultura (BERTUOL et al., 2008).

A Gliricídia (*Gliricidia sepium* (Jacq.) Kunth ex Walp) é uma leguminosa arbórea de “alta qualidade” que apresenta rápido crescimento, alta capacidade de regeneração e resistência à seca. As raízes de Gliricídia associam-se às bactérias do gênero *Rhizobium*, com as quais entram em simbiose, originando grande número de nódulos, responsáveis pela fixação de nitrogênio. A Gliricídia também possui valor como forrageira, pois sua folhagem tem alto valor proteico, variando de 20-30% de proteína bruta. Quanto à conservação de solos,

a espécie é recomendada no controle de erosão em função de sua alta sobrevivência, resistência ao fogo e fácil rebrota, sendo também utilizada como adubo verde e para o sombreamento de plantas de cacau, café, chá e baunilha (ARRUDA; COSTA, 2003).

A Leucena (*Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit) é uma leguminosa de “alta qualidade”, que pode ser utilizada para forragem, produção de madeira, carvão vegetal e melhoramento do solo. Pesquisadores da Embrapa Milho e Sorgo realizaram experimento com plantio de milho variedade BR 106 e usaram a Leucena como adubo. Os resultados indicaram o aumento da produtividade de grãos, maior massa da espiga e controle de plantas daninhas. A Leucena é uma leguminosa que tem a capacidade de incorporar até 500 kg/ha/ano do nitrogênio proveniente da atmosfera, proporcionando economia do nitrogênio químico. Na cultura do milho, o nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade e o que tem maior influência na produtividade de grãos. Outro diferencial da Leucena são as micorrizas (associações de fungos com as raízes) presentes em seu sistema radicular, capazes de converter o fósforo inorgânico presente no solo para a forma orgânica, mais facilmente absorvida pelo milho (VIANA, 2009).

O Sombreiro (*Clitoria fairchildiana* R. Howard) é considerada uma leguminosa de “baixa qualidade”. Sua madeira é moderadamente pesada e de média resistência, sendo empregada em construção civil como divisórias de casas e forros. Proporciona ótima sombra e apresenta características ornamentais para arborização de parques. Por ser uma espécie rústica e de rápido crescimento, é útil nos reflorestamentos destinados à reconstituição da vegetação e recuperação de áreas degradadas (SILVA; MÔRO, 2008).

Com o sistema de plantio em aleias consegue-se: alta produtividade, sustentabilidade do ponto de vista de plantio na mesma área com produção estável ou crescente em função da adição constante de matéria orgânica, preservação das áreas que seriam queimadas, melhora na segurança alimentar e aumento da renda das famílias dos agricultores. No entanto, é um sistema que apresenta limites: (1) é mais eficiente quando utilizado em regiões como o centro-norte do Maranhão, onde o período chuvoso não é interrompido por veranicos, pois nesses casos, a leguminosa e a cultura podem vir a competir por água, (2) o sistema atinge maturação completa no terceiro ano, mas as produtividades já serão significativas a partir do segundo ano, (3) as leguminosas têm exigências em relação a teores de cálcio e fósforo no solo que devem ser corrigidos antes do seu plantio (MOURA; AGUIAR, 2007).

Contudo, existe um consenso de que a substituição da agricultura de derrubada e queima é necessária, sendo o sistema de cultivo em aleias uma alternativa promissora. Este trabalho propõe que o cultivo de alimentos biofortificados em agroecossistemas sustentáveis é

uma estratégia viável para melhorar o quadro nutricional das famílias, elevar a renda das populações e atenuar os problemas ambientais.

### **3 BIOFORTIFICAÇÃO**

Micronutrientes são vitaminas e minerais considerados essenciais para o desenvolvimento físico e mental, para o funcionamento do sistema imunológico e vários processos metabólicos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). A deficiência dos micronutrientes é referida como fome oculta e afeta mais da metade da população do mundo, principalmente mulheres e crianças nos países em desenvolvimento (SHEKHAR, 2013).

As deficiências provocadas pela falta de ferro, iodo, selênio, zinco e vitamina A causam grande preocupação em relação à saúde humana. Dietas pobres em ferro e zinco causam anemia, redução da capacidade de trabalho, problemas no sistema imunológico, retardo no desenvolvimento e até a morte. Geralmente, fontes ricas em ferro biodisponível também são ricas em zinco biodisponível. Já a vitamina A é essencial para o bom funcionamento da visão e do sistema imunológico (MORAES et al., 2009).

As principais causas das deficiências nutricionais são: alta ingestão de alimentos com baixos teores de minerais e vitaminas, ao invés da incorporação de frutas, vegetais e alimentos de origem animal na dieta; baixos teores de nutrientes no solo que resultam em baixos teores de nutrientes nos alimentos vegetais; perda de nutrientes durante o beneficiamento; presença de fatores antinutricionais; acesso limitado das populações aos alimentos ricos em micronutrientes seja por viverem em regiões remotas ou por estarem condicionadas a disponibilidade dos alimentos da época (MORAES et al.; 2012).

Algumas das estratégias para diminuir os índices de deficiências nutricionais são: a fortificação e a suplementação. A fortificação ocorre quando um alimento processado é adicionado de nutrientes com a finalidade de reforçar o seu valor nutritivo, seja repondo os nutrientes destruídos durante o processamento, seja acrescentando nutrientes em concentrações superiores ao seu conteúdo normal. A suplementação é a ingestão de grandes doses de micronutrientes, geralmente sob a forma de comprimidos, cápsulas ou xaropes. É capaz de fornecer quantidade ideal de nutrientes, sob forma altamente absorvível, e é, muitas vezes, o meio mais rápido para controlar a deficiência em indivíduos ou grupos de população (ALLEN et al., 2006). Mas, infelizmente, estes produtos não estão ao alcance de todos, por vários motivos, pelo valor mais elevado, pela insuficiente infraestrutura de distribuição e pela prevalência da agricultura sustentável nas zonas rurais (MEENAKSHI et al., 2010).

A biofortificação é o processo de melhoramento genético ou de fertilização para enriquecimento das culturas alimentares em nutrientes biodisponíveis visando combater as deficiências de nutrientes específicos atribuíveis à ingestão inadequada. É um meio de ajudar as populações em risco fornecendo alimentos naturalmente enriquecidos para as pessoas com acesso limitado aos alimentos comercialmente disponíveis em áreas urbanas (JOHNS; EYZAGUIRRE, 2007).

A biofortificação tem o propósito de desenvolver variedades com maior teor nutritivo e também de alta produtividade. O baixo teor de nutrientes em alguns alimentos está relacionado ao plantio em solo pobre em nutrientes ou uso de cultivares ineficientes para absorção. As raízes dos genótipos biofortificados são mais eficientes em absorver os micronutrientes do solo e mais efetivas em termos de penetração no perfil do solo. Isso as torna mais tolerantes às doenças na fase inicial de crescimento e mais econômicas na utilização de fertilizantes, água e defensivos agrícolas. Também é vantajoso o fato da biofortificação ser considerada sustentável, pois a partir do momento que o agricultor obtém a primeira semente, pode guardá-la para o próximo plantio, assim o cultivo e o consumo serão contínuos ano após ano. Além disso, não muda o comportamento do consumidor, pois se antes o agricultor plantava para própria subsistência, ele continuará plantando, mas com um diferencial de ser uma cultivar biofortificada (NESTEL et al., 2006).

Para definir os alimentos e os nutrientes para biofortificação é necessário conhecer quais são os nutrientes associados aos maiores índices de deficiências nutricionais, quais são as populações-alvo e os alimentos usualmente consumidos por esta população. A quantidade de nutrientes a ser acrescida aos alimentos biofortificados está relacionada ao nível de consumo (estimativa da ingestão habitual), à retenção no alimento (teor do nutriente no alimento pronto para comer), à biodisponibilidade (proporção de nutriente absorvido e disponível para funções biológicas) e à ingestão diária recomendada. Deve-se ressaltar que são valores estimados, pois as diferentes formas de processamento e a inclusão de outros alimentos na dieta afetam o conteúdo de nutrientes e sua biodisponibilidade (HOTZ; McCLAFFERTY, 2007).

Algumas ressalvas são feitas à biofortificação como: a exigência de investimento na distribuição de sementes, rotulagem, embalagem e na educação do consumidor para convencê-lo a aceitar o novo alimento, pois, em certos casos, como o enriquecimento com pró-vitamina A, altera-se a coloração de um alimento de cor branca para amarelada ou alaranjada. Também é discutida a questão da biofortificação provocar um aumento da dependência a culturas com alto teor de amido (maior parte dos alimentos biofortificados são



cereais, leguminosas, raízes e tubérculos), contrariando o fato de que a diversidade na alimentação resolve o problema da deficiência dos nutrientes. Entretanto, quando se considera como grupo alvo, as pessoas sem recursos que se alimentam de uma dieta simples à base de cereais, então, a melhoria na concentração de nutrientes nos cereais trará benefícios (JOHNS; EYZAGUIRRE, 2007).

Não se espera que a biofortificação elimine as deficiências de nutrientes em todos os grupos populacionais, mas que complemente as intervenções existentes para fornecer nutrientes às pessoas mais vulneráveis, de forma sustentável, com baixo custo e com boa relação custo-benefício. Assim, a biofortificação é apenas mais uma estratégia que unida à fortificação, suplementação e diversificação da dieta, deve ser considerada para cada país (SALTZMAN et al., 2013).

### 3.1 HISTÓRICO DA BIOFORTIFICAÇÃO

A biofortificação iniciou-se em 1993 quando o Dr. Howarth E. Bouis do Instituto Internacional de Pesquisa sobre Políticas Alimentares (IFPRI) em Washington, propôs a seleção de plantas visando não somente maior produção, mas também maiores teores de minerais e vitaminas na parte comestível. As atividades de pesquisa em biofortificação estão divididas em dois programas, HarvestPlus e AgroSalud. Estes programas de biofortificação têm como objetivo melhorar a qualidade nutricional das culturas alimentares consideradas básicas e fazer a distribuição de sementes ricas em nutrientes para aqueles que praticam agricultura de subsistência, buscando diminuir as deficiências nutricionais e garantir a segurança alimentar (MORAES et al., 2009).

A biofortificação iniciou-se no Brasil, em 2003, com o BioFORT, projeto responsável pela biofortificação de alimentos no Brasil, coordenado pela Embrapa Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro-RJ). Neste projeto participam também as Embrapas: Milho e Sorgo (Sete Lagoas/MG), Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás/GO), Cerrados (Planaltina/DF), Semi-Árido (Petrolina/PE), Soja (Londrina/PR), Hortaliças (Brasília/DF), Meio-Norte (Teresina/PI), Mandioca e Fruticultura Tropical (Cruz das Almas/BA), Trigo (Passo Fundo/RS) e Tabuleiros Costeiros (Aracaju/SE). São conduzidos trabalhos simultâneos de melhoramento com oito culturas básicas: arroz, feijão, feijão-caupi e trigo para maiores teores de ferro e zinco; mandioca, milho, abóbora e batata-doce para maiores teores de pró-vitamina A (NUTTI; CARVALHO; WATANABE, 2006).

O projeto prevê que as Embrapas após concluírem as pesquisas, em conjunto com o Ministério da Agricultura registrem as cultivares para comercialização, repassem sementes e ramas de cultivares com maiores teores de nutrientes aos municípios e promovam a capacitação de produtores por meio de dias de campo e seminários. Esses materiais serão multiplicados em uma unidade de produção e disponibilizados aos agricultores familiares selecionados. Os alimentos produzidos estão chegando às comunidades rurais e escolas de Sergipe, Piauí, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Maranhão e Minas Gerais. Produtos derivados e embalagens que conservam os nutrientes também estão sendo desenvolvidos (VIANA, 2012).

### 3.2 MÉTODOS DE BIOFORTIFICAÇÃO

A biofortificação ocorre por meio de práticas agronômicas, por melhoramento vegetal convencional ou por transgenia (CARVALHO; VASCONCELOS, 2013; HIRSCHI, 2009; SALTZMAN et al., 2013).

#### 3.2.1 Biofortificação agronômica

A variação genotípica influencia na concentração de nutrientes nos alimentos juntamente com fatores como: 1) características da planta, tais como idade e grau de maturação; 2) características do meio ambiente, como clima, solo, chuvas e 3) condições de processamento, como tempo de armazenamento, temperatura, método de conservação e preparação dos alimentos (NUTTI; CARVALHO; WATANABE, 2006).

A adubação é uma prática importante para aumentar a concentração de nutrientes em culturas agrícolas. A absorção de nutrientes por espécies vegetais é influenciada pelo clima, solo e fatores da planta. Os fatores climáticos que devem ser considerados são: temperatura, precipitação e radiação solar, já entre os fatores do solo estão: umidade, textura, teor de matéria orgânica, pH e a concentração de nutriente no solo. Em relação à planta têm influência: o sistema radicular e a composição genética de cada espécie (FAGERIA et al., 2012).

A biofortificação agronômica está baseada na aplicação de adubos minerais e na melhora da solubilização e mobilização dos minerais. Embora relativamente simples e com resultados imediatos, a viabilidade desta estratégia de biofortificação depende de vários fatores, incluindo a composição do solo, mobilidade do mineral no solo e a capacidade da planta de armazená-lo nas partes comestíveis (SALTZMAN et al., 2013).

A biofortificação agrônômica é realizada por meio da adubação via solo, do tratamento de sementes ou pela aplicação foliar. Outras práticas como a aplicação de biofertilizantes (inoculação com fungos micorrízicos), rotação de culturas e irrigação também são adotadas visando aumentar o teor de minerais nas culturas (MORAES et al., 2009).

A aplicação de fertilizantes é simples e barata, mas apresenta algumas complicações devido ao método de aplicação, a composição do solo, mobilidade do mineral na planta e o local de acumulação. O uso de fertilizantes com iodo, selênio e zinco que são minerais móveis no solo e em plantas, aumentam as concentrações destes minerais em cereais e leguminosas. Por outro lado, o uso de  $\text{FeSO}_4$  (sulfato ferroso) não é eficiente, pois o ferro tem uma mobilidade reduzida no solo. Deve-se atentar que grandes quantidades de metais aplicados aos solos são prejudiciais para o crescimento das plantas. Os fertilizantes muitas vezes são aplicados regularmente e, assim, tornam-se potencialmente prejudiciais ao meio ambiente (GÓMEZ-GALERA et al., 2010; HIRSCHI, 2009).

Em estudo realizado com 15 genótipos de mandioca de mesa, Carvalho et al. (2007) comprovaram que o tempo de cozimento foi maior quanto maiores eram os teores de cálcio e magnésio no solo e com o aumento dos teores de fósforo, manganês, zinco e cobre conseguiu-se menores tempos de cozimento. Pesquisa realizada com milho mostrou que a adubação nitrogenada aumentou a produtividade, o tamanho dos grãos e melhorou a qualidade em termos de teores de proteína, zinco e ferro (FERREIRA et al., 2001).

A qualidade de alimentos e a sua relação com o solo permite concluir que as culturas são prejudicadas em quantidade e qualidade quando os solos apresentam deficiência ou excesso de nutrientes, portanto, devem-se utilizar adubações equilibradas na produção de alimentos.

### **3.2.2 Biofortificação por engenharia genética**

A modificação genética é a manipulação da constituição genética de um organismo vivo por eliminação, modificação ou adição de cópias de genes específicos, muitas vezes de outros organismos, por meio de técnicas de biologia molecular, tais como o DNA recombinante ou fusão celular. A engenharia genética permite que as plantas com melhor desempenho sejam selecionadas em uma única geração, assim os novos genes são introduzidos diretamente em cultivares locais. Também permite que características nutricionais sejam direcionadas para órgãos específicos e que várias características possam ser combinadas na mesma planta (JOHNS; EYZAGUIRRE, 2007).

O método de transgenia é necessário quando não há variação genética do conteúdo de nutrientes entre variedades e, em alguns casos, é potencialmente vantajoso comparado com o melhoramento convencional. O exemplo mais conhecido é o *Golden rice*, o arroz que contém carotenoides no valor de 37  $\mu\text{g/g}$ , dos quais 31  $\mu\text{g/g}$  são de  $\beta$ -caroteno. Este composto não foi identificado no endosperma de nenhuma variedade de arroz. Embora todos os genes necessários para produzir pró-vitamina A estejam presentes no grão, plantas de arroz produzem  $\beta$ -caroteno apenas nos tecidos verdes. Esta variedade de arroz é a primeira cultura transgênica desenvolvida para a população de baixa renda e não apenas para os agricultores e empresas de pesticidas. Outro exemplo é o tomate transgênico que por meio do uso de genes bacterianos e genes de levedura apresentou alto teor de licopeno (HIRSCHI, 2009; NESTEL et al., 2006).

Outras culturas também fizeram uso da transgenia para seu enriquecimento, como o arroz com elevado conteúdo de ferro, a banana rica em pró-vitamina A e ferro, o sorgo com teor reduzido de fitatos, alto conteúdo de pró-vitamina A e melhor perfil proteico (SALTZMAN et al., 2013).

### **3.2.3 Biofortificação por melhoramento convencional**

A biofortificação por melhoramento genético convencional ocorre por meio do cruzamento das plantas com melhor desempenho e seleção daquelas com características favoráveis ao longo de muitas gerações (JOHNS; EYZAGUIRRE, 2007).

A existência de variação genética na concentração de micronutrientes nas partes comestíveis das culturas faz com que o melhoramento convencional seja uma estratégia para aumentar os teores de minerais e vitaminas (RIOS et al., 2009). No entanto, o melhoramento convencional é limitado a genes que são provenientes de plantas sexualmente compatíveis e requer longos programas para introduzir características em variedades adaptadas localmente (JOHNS; EYZAGUIRRE, 2007).

Pelo melhoramento convencional já foram desenvolvidos em todo o mundo: milheto, sorgo e lentilha com altos teores de ferro e zinco; batata rica em ferro e banana com elevado conteúdo de pró-vitamina A. No Brasil, grande parte das culturas do projeto de biofortificação é resultado de cruzamento de plantas da mesma espécie a partir de variedades que existem na natureza. A Embrapa desenvolve pesquisas com milho, batata-doce, abóbora e mandioca ricas em pró-vitamina A e também feijão-caupi, arroz, trigo e feijão com altos teores de ferro e zinco (SALTZMAN et al., 2013).

Alguns exemplos de culturas biofortificadas estão apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Culturas dos projetos da Rede de Biofortificação no Brasil.

<b>Culturas</b>	<b>Convencional</b>	<b>Biofortificada</b>
Milho	Em média, 4,5 µg de pró-vitamina A/g milho em base seca	Até 9 µg de pró-vitamina A/g milho em base seca
Batata-doce	Em cultivares de polpa branca, até 10 µg de β-caroteno/g raízes frescas	Média de 115 µg de β-caroteno/g raízes frescas
Abóbora	Em avaliação	Média de 186 µg de carotenoides/g de abóbora
Trigo	Em média, 30 mg de ferro e 30 mg de zinco/kg trigo integral	Média superior a 40 mg de ferro e 40 mg de zinco/kg trigo integral
Feijão-caupi	Média de 50 mg de ferro e 40 mg de zinco/kg feijão	Média de 77 mg de ferro e 53 mg de zinco/kg feijão
Mandioca	Em variedades de polpa branca não há teores expressivos de β-caroteno	Até 9 µg de β-caroteno/g raízes frescas
Feijão	Em média, 50 mg de ferro e 30 mg de zinco/kg feijão carioca	Em média, 90 mg de ferro e 50 mg de zinco/kg feijão carioca
Arroz	Em média, 12 mg de zinco e 2 mg de ferro/kg arroz branco polido	Média de 18 mg de zinco e 4 mg de ferro/kg arroz branco polido

Fonte: Nutti, 2012.

Neste trabalho foram avaliadas as culturas biofortificadas de milho com alta qualidade proteica e a mandioca enriquecida com pró-vitamina A. Uma breve descrição dessas culturas é exposta a seguir.

### 3.2.3.1 Milho QPM (Quality Protein Maize)

O grão de milho é composto por endosperma (83%), gérmen (11%) e pericarpo (6%). O milho contém amido e açúcares simples como sacarose, maltose, glicose, frutose e rafinose. A proteína está distribuída no endosperma e no gérmen e a fibra está em maior parte no pericarpo. Os ácidos graxos estão presentes no gérmen e são encontrados em maiores quantidades: linoleico, oleico e palmítico. A variedade, condições ambientais, idade da planta e localização geográfica alteram a composição do grão, portanto, a análise nutricional deve ser vista como valores estimados (PAES, 2006).

No gérmen do grão do milho são encontradas as vitaminas A e E, e grande parte dos minerais, sendo os mais relevantes: fósforo (na forma de fitato), potássio, magnésio e enxofre (constituente dos aminoácidos: metionina e cistina). Na variedade de milho amarelo estão presentes os carotenoides, que são encontrados em quantidades significativas no endosperma. Os principais carotenoides presentes nos grãos de milho são:  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno, luteína, zeaxantina e  $\beta$ -criptoxantina (NUSS; TANUMIHARDJO, 2010).

O milho é um cereal que apresenta uma qualidade inferior no perfil de aminoácidos devido às deficiências em lisina e triptofano, dois aminoácidos que são considerados essenciais. Para melhorar sua qualidade proteica, pesquisas são realizadas em todo o mundo desde a década de 60.

Em 1964, pesquisadores dos Estados Unidos, descobriram que um mutante de milho, chamado de opaco 2, apresentava grãos com concentrações maiores de lisina e triptofano. No entanto, ele não foi bem aceito pelos agricultores em virtude de sua aparência opaca e textura farinácea, a qual geralmente está associada com baixa densidade dos grãos, menor produtividade e maior susceptibilidade a pragas, doenças e danos mecânicos. O Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), localizado no México, conseguiu superar os problemas associados ao opaco 2 e desenvolveu variedades de milho QPM (Quality Protein Maize), tão produtivas quanto às de milho comum, apresentando grãos de mesmo valor energético e com proteína de maior valor biológico. Em 1983, a Embrapa de Milho e Sorgo iniciou estudos com 23 populações QPM desenvolvidas pelo CIMMYT. Em 1988, foi lançada pela Embrapa uma variedade de milho QPM de cor branca, a BR 451. No ano de 1994, foi lançada pela Embrapa outra variedade de milho QPM, a BR 473, de cor amarela que é tão produtiva quanto às variedades precoces comuns, de grãos semiduros e que fornece alimentos e rações com aparência e sabor similares às do milho comum (GUNARATNA et al., 2010).

As variedades de milho QPM têm maiores teores de lisina (52 mg/g proteína) e triptofano (10 mg/g proteína) que o milho comum que geralmente contém 30 mg/g proteína (lisina) e 7 mg/g proteína (triptofano) (NAVES et al., 2004).

A Organização Mundial de Saúde recomenda um consumo de lisina de 48 mg/g proteína e de triptofano de 6,6 mg/g proteína para crianças em idade escolar (3 a 10 anos) e para os adultos, o recomendado de lisina é de 45 mg/g proteína e de triptofano de 6 mg/g proteína (WHO, 2007).

A lisina e o triptofano são aminoácidos essenciais para os seres humanos e têm de ser fornecidos pela dieta. A lisina aumenta a absorção intestinal de cálcio e impede um aumento

da excreção deste mineral na urina, melhorando a saúde óssea em crianças e mulheres na pós-menopausa. O triptofano é necessário para a produção de niacina, ajudando assim a combater a pelagra e também é precursor do neurotransmissor serotonina que está envolvido no controle do humor, na agressividade, na dor, na ansiedade, no sono, na memória, no comportamento alimentar e na regulação endócrina. Além disto, é um dos aminoácidos que estimula a secreção de insulina e do hormônio do crescimento (ROSSI; TIRAPÉGUI, 2004).

Gunaratna et al. (2010) afirmam que muitos nutricionistas acreditam que outros alimentos compensariam as deficiências de aminoácidos no milho, e que a ingestão de proteína não é o principal fator limitante para o crescimento e desenvolvimento das crianças. Assim, pouco benefício seria esperado ao aumentar a ingestão de aminoácidos como lisina e triptofano. No entanto, esta afirmação não se estende às populações com limitado acesso a alimentos com proteína de alta qualidade.

Gunaratna et al. (2010) citam estudos que comparam o milho comum com o QPM, e em geral, a proteína do QPM está mais biodisponível do que a proteína do milho comum. Os resultados sugerem que o QPM tem efeito sobre o crescimento e ganho de massa em lactentes e crianças com leve a moderada desnutrição.

O milho QPM além de trazer benefícios para a saúde humana também traz melhorias para a nutrição animal, já que no Brasil cerca de 70% do milho produzido é direcionado para ração animal (PAES, 2006).

Castro et al. (2009) realizaram um estudo comparando o milho QPM com os milhos híbridos comerciais e concluíram que o milho QPM apresentou menor rendimento de endosperma e maior rendimento de gérmen. Também obtiveram teores similares de proteína, lipídios e cinzas e maiores teores de fibra alimentar e de ferro no milho QPM, em relação aos híbridos de milho comum. Sendo assim, o milho QPM tem potencial para uso na indústria de alimentos. Segundo Prasanna et al. (2001), outros benefícios nutricionais do milho QPM são: a maior disponibilidade de niacina, cálcio e carboidratos.

O milho QPM é um exemplo de como a biofortificação enriquece o valor nutritivo de um alimento e é classificado por Prasanna et al. (2001) como uma biofortificação por melhoramento convencional. Já as pesquisas que objetivam aumentar o conteúdo de proteína de culturas alimentares com o uso da adubação, utilizam-se da biofortificação agrônômica.

Com o uso da adubação nitrogenada obtém-se um aumento no teor de proteína do milho que, na maioria das vezes, está ligado ao aumento da zeína, uma proteína do grupo das prolaminas presente no endosperma. A zeína é uma proteína de baixa qualidade nutritiva, portanto neste caso, o aumento da quantidade de proteína não significa necessariamente em

aumento da qualidade proteica. A adubação nitrogenada aumenta a produtividade e o teor de proteína, mas por outro lado, altera as proporções de aminoácidos essenciais em milhos comuns. Comportamento contrário tem o milho QPM, que após a aplicação de fertilizantes nitrogenados mantém ou aumenta os teores de lisina e triptofano (GRANT; BRUULSEMA, 2012).

### 3.2.3.2 Mandioca biofortificada

A mandioca é uma fonte de carboidrato capaz de resistir às doenças, à seca e às pragas, além de ser flexível quanto à época de colheita (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009). A composição química da mandioca varia não somente para cultivar, mas também com a idade e condições ambientais durante o desenvolvimento da cultura e no período da colheita (CENI et al., 2009).

A raiz tem conteúdo elevado de carboidratos, que variam de 32 a 35%, o amido representa 80% dos carboidratos e o restante são pequenas quantidades de sacarose, glicose, frutose e maltose. O conteúdo de lipídios varia de 0,1 a 0,3% e o de proteína de 1 a 3%. As raízes de mandioca contêm pequenas quantidades de tiamina, riboflavina e niacina e parte destas é perdida durante o processamento (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009).

A mandioca é classificada quanto ao teor de ácido cianídrico como: mandioca brava, com teor acima de 100 mg/kg ou mandioca mansa com teor inferior a 100 mg/kg (também conhecida como macaxeira, aipim ou mandioca de mesa) (ALVES; SILVA, 2003).

Em 2005, a Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical (Cruz das Almas BA) lançou duas variedades de mandioca biofortificadas em  $\beta$ -caroteno (precursor de vitamina A): BRS Gema de Ovo e BRS Dourada que contêm 4  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno /g nas raízes frescas. A colheita destas variedades é recomendada de 8 a 13 meses após o plantio, são culturas com tempo de cozimento de 20 minutos e com teor de ácido cianídrico de 50 mg/kg nas raízes cruas. A variedade BRS Gema de Ovo é ideal para consumo na forma de farinha ou cozida e a BRS Dourada não tem restrições (FUKUDA et al., 2005; FUKUDA; PEREIRA, 2005).

Em 2009, foi lançada a mandioca de mesa BRS Jari que tem cerca de 9  $\mu$ g de  $\beta$ -caroteno/g nas raízes frescas. A massa cozida da Jari apresenta coloração amarela intensa, ausência de fibras e tempo de cozimento de 25 minutos. A cultivar é recomendada para colheitas entre 10 e 12 meses após o plantio. Com o uso de adubação e irrigação, a colheita pode ocorrer a partir dos seis meses de idade. Pesquisadores e produtores estão cultivando



esta mandioca em pequenas áreas dos Estados da Bahia, Sergipe, Pernambuco, Ceará, Maranhão e Minas Gerais (FUKUDA et al., 2009).

O Projeto de Melhoramento de Mandioca para Biofortificação, liderado pela Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, tem como meta alcançar altos teores de  $\beta$ -caroteno nas raízes, baixos teores de ácido cianídrico, boa qualidade para o consumo de mesa e boas características agrônômicas por meio de biofortificação pelo melhoramento convencional (FUKUDA et al., 2005).

A vitamina A é uma vitamina lipossolúvel que desempenha importante papel em diversos processos vitais como: manutenção da visão, integridade do sistema imunológico, está envolvida na formação de estruturas ósseas e dentes, na reprodução e no crescimento (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

A vitamina A não é produzida pelo organismo humano, portanto, deve ser adquirida na alimentação. É encontrada como retinol, que é a vitamina pré-formada, presente em alimentos de origem animal, tendo como melhores fontes: o fígado, ovos e leite; ou na forma de retinóides, que são alguns carotenoides que são metabolizados a retinol, por exemplo:  $\beta$ -caroteno,  $\alpha$ -caroteno e criptoxantina presentes em alimentos de origem vegetal (ALLEN et al., 2006). Os carotenoides pró-vitamina A de frutas e vegetais contribuem para dois terços da ingestão dietética de vitamina A em todo o mundo e mais de 80% do consumo em países em desenvolvimento (CHÁVEZ et al., 2007).

A deficiência de vitamina A tem impacto na saúde pública, afetando populações do mundo inteiro e é causada por uma dieta pobre em fontes de vitamina A ou estado nutricional deficiente. As consequências desta deficiência são significativas em crianças menores de 6 anos que necessitam da vitamina para seu crescimento, e para as gestantes e lactantes que a utilizam para manter o crescimento dos tecidos maternos e fetais e para repor as perdas com a lactação. Nas crianças, a deficiência causa cegueira infantil, aumento da morbidade e mortalidade por infecções. Nas mulheres gestantes e lactantes, leva à cegueira noturna e contribui para elevar as taxas de morbidade e mortalidade materna (GIORI, 2010).

Várias técnicas de preparação de alimentos como cozimento, moagem e adição de óleo, influenciam na absorção de precursores de vitamina A nos alimentos. Em experimento sobre a retenção de vitamina A durante o processamento da mandioca, observou-se que na mandioca cozida, a perda de carotenoides foi menor do que quando as raízes foram transformadas em farinha, na qual se teve uma perda de 50% no processamento (OLIVEIRA et al., 2010). Análises de retenção de nutrientes mostram que a mandioca cozida mantém grande parte dos nutrientes, exceto a riboflavina e o ferro, em contraste com as raízes

processadas que perdem grande parte da matéria seca, carboidratos e proteína (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009).

## 4 COMPOSTOS BIOATIVOS

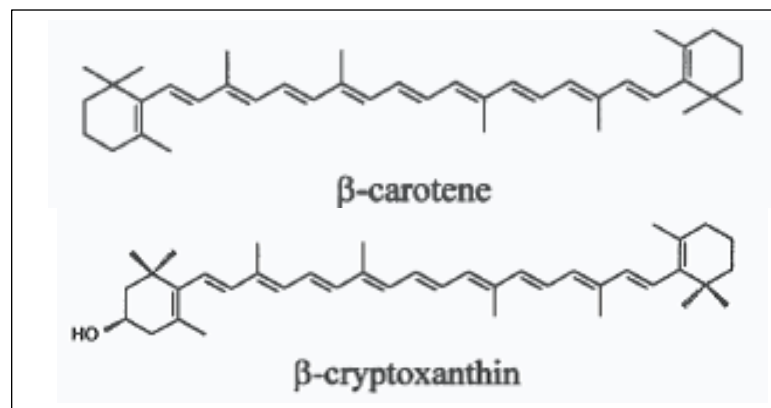
Os alimentos apresentam compostos com atividades biológicas promotoras de saúde como atividade antioxidante, anti-inflamatória e hipocolesterolêmica sendo capazes de atuar na prevenção de doenças. Estes compostos são chamados de bioativos e normalmente são produzidos como metabólitos secundários pelas plantas. Os metabólitos primários são as substâncias para o crescimento e desenvolvimento, tais como carboidratos, proteínas e lipídios, já os metabólitos secundários, são compostos que ajudam a planta a aumentar a sua capacidade para sobreviver e superar os desafios locais (BERNHOF, 2010).

### 4.1 CAROTENOIDES

Os carotenoides são pigmentos naturais divididos em dois grupos: carotenos que são hidrocarbonetos, ou seja, são constituídos de átomos de carbono e hidrogênio e as xantofilas que são derivadas dos carotenos pela adição de várias funções oxigenadas, sendo consideradas como produtos de oxidação dos carotenos (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

O  $\beta$ -caroteno e o licopeno são exemplos de carotenos, enquanto a luteína e a  $\beta$ -criptoxantina são xantofilas (Figura 1).

**Figura 1.** Estrutura de caroteno e xantofila.



Fonte: Damodaran; Parkin; Fennema (2010).

A principal característica dos carotenoides é um sistema de ligações duplas conjugadas que permite a estes compostos absorver luz na região do visível e resulta no poder corante dos carotenoides. Pelo menos sete duplas ligações conjugadas são necessárias para que um carotenoide seja colorido e à medida que as duplas aumentam a cor também se intensifica, como o licopeno com 11 duplas e de coloração avermelhada. A estrutura de cadeia longa com duplas conjugadas também os torna muito suscetíveis à oxidação, daí a função de antioxidantes. Por outro lado, também são suscetíveis à isomerização levando à perda ou diminuição de sua cor e demais funções biológicas (SAINI; NILE; PARK, 2015).

A maioria dos carotenoides existe na forma *trans* mais estável em comparação com a forma *cis*. A isomerização de *trans* para *cis* promovida pelo contato com ácidos, tratamento térmico e exposição à luz, diminui a cor e altera sua atividade biológica. A degradação dos carotenoides durante processamento e estocagem dos alimentos aumenta com a destruição da estrutura celular dos alimentos, aumento da área superficial ou porosidade, severidade das condições de processamento, tempo e temperatura de estocagem, exposição à luz e permeabilidade da embalagem ao oxigênio. Reduzindo o tempo e a temperatura de processamento e o tempo entre descascamento, corte e processamento tem-se uma melhora significativa da retenção (RODRIGUEZ-AMAYA, 2001).

Alguns carotenoides são precursores da vitamina A e dentre eles estão:  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno, criptoxantina e  $\beta$ -caroteno. Os carotenoides têm benefícios que vão além de precursores de vitamina A, como fortalecimento do sistema imunológico, manutenção da integridade dos tecidos epiteliais, no processo visual, no crescimento e reprodução (SAINI; NILE; PARK, 2015).

Alguns fatores afetam a absorção de vitamina A pelo indivíduo, dentre eles encontram-se: o tipo e a quantidade de carotenoide ingerido na dieta, matriz na qual se encontra o carotenoide, presença de fatores inibidores ou facilitadores da absorção, estado nutricional do indivíduo e fatores genéticos. Outros fatores afetam a composição e o conteúdo de carotenoides nos alimentos, como variedade, estágio de maturação, clima, práticas agrícolas e condições de armazenamento (RODRIGUEZ-AMAYA, 2016).

A degeneração macular é uma doença que acarreta cegueira e está relacionada à: idade, fatores genéticos, dieta e uso de cigarro. Estudos indicam que os carotenoides: luteína e zeaxantina protegem contra a perda visual. A luteína é encontrada em milho, vegetais verdes e várias frutas. Já a zeaxantina está presente em gema de ovo, caqui, pimentas alaranjadas, milho e também vegetais verdes. Um aumento na ingestão de luteína e zeaxantina aumentaria

a densidade óptica do pigmento macular e proporcionaria uma melhor proteção contra a foto-oxidação (BIAN et al., 2012).

O licopeno não é precursor da vitamina A, mas revela-se com ação antioxidante. A oxidação do LDL é um mecanismo fundamental na iniciação da aterosclerose e o licopeno tem efeito protetor na progressão da doença cardiovascular, além de melhorar o fluxo sanguíneo e reduzir respostas inflamatórias (MULLER et al., 2015). O licopeno confere a cor vermelha aos tomates e produtos à base de tomate, bem como para a melancia e goiaba. Sua absorção é maior quando o tomate é processado em sucos, molhos, pastas ou ketchup, tornando-o mais biodisponível especialmente quando combinados com os lipídios (ROTELLI et al., 2015).

Estudos *in vitro*, *in vivo* e clínicos têm revelado uma associação inversa entre o consumo alimentar de licopeno e o risco de câncer de próstata. Tem sido proposto que o licopeno tem efeito protetor por meio da redução da oxidação lipídica e da inibição da proliferação de células cancerosas (LEE; FOO, 2013).

Erdman Jr., Ford e Lindshield (2009) relatam que há dados insuficientes para afirmar a atividade antioxidante *in vivo* do licopeno. Estes autores citam trabalhos em que o licopeno não teve efeito sobre o câncer de próstata e apontam que os resultados positivos podem ter sofrido influência de um grupo controle inadequado. Ressaltam ainda que nos estudos com tomate e seus derivados, talvez sejam outros compostos bioativos presentes no tomate ou a interação entre eles que resultem em efeitos benéficos.

Entretanto, McEneny et al. (2013) realizaram experimento com indivíduos de meia-idade moderadamente acima do peso divididos em três grupos: controle, dieta rica em licopeno e suplementação com licopeno e afirmam que foi o licopeno, independentemente de outros constituintes presentes no tomate, o responsável pela proteção cardiovascular.

O  $\beta$ -caroteno é um potente antioxidante com ação protetora contra doenças que se desenvolvem a partir do estresse oxidativo. É encontrado em frutas e vegetais, como acerola, damasco, abacaxi, pêssego, chicória, cenoura, coentro e abóbora (SAINI; NILE; PARK, 2015). Estudo realizado por Sluijs et al. (2015), mostrou que dietas com altos teores de  $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno (aproximadamente 10 mg/dia) estão associadas com a redução de incidência de diabetes tipo 2 em homens e mulheres saudáveis. Por causa da ação antioxidante, estes carotenoides reduzem o estresse oxidativo que está relacionado ao desenvolvimento da diabetes.

Kasperczyk et al. (2014) mostraram resultados que indicam uma redução do estresse oxidativo após a suplementação com  $\beta$ -caroteno em casos de intoxicação crônica com

chumbo. Este metal mesmo em pequenas quantidades é prejudicial e o mecanismo ligado à sua toxicidade está relacionado à indução do estresse oxidativo. No entanto, existem evidências da atividade pró-oxidante do  $\beta$ -caroteno e de outros carotenoides, tanto *in vitro* como *in vivo*, estando ligada a vários fatores, como alta pressão parcial de oxigênio, a alta concentração do carotenoide e a interação com outros antioxidantes (JOMOVA; VALKO, 2013).

Vrolijk et al. (2015) ressaltam que a relação entre risco e benefício deve ser determinada para cada antioxidante e cada indivíduo, considerando-se também a dose. Este mesmo estudo cita o exemplo da suplementação com  $\beta$ -caroteno que foi associada ao aumento da incidência de câncer de pulmão em fumantes.

Rutkowski e Grzegorzcyk (2012) explicam que o  $\beta$ -caroteno é um antioxidante ativo em baixas pressões parciais de oxigênio que são encontradas, por exemplo, nos tecidos periféricos. No caso dos alvéolos pulmonares, a pressão é maior e o  $\beta$ -caroteno se torna instável, assim os produtos de oxidação deste carotenoide dão continuidade ao processo de oxidação. Além disso, a suplementação com  $\beta$ -caroteno faz com que sua ingestão seja maior que em concentrações encontradas na dieta causando efeitos adversos à saúde devido à alta concentração.

## 4.2 ÁCIDOS GRAXOS ESSENCIAIS

Os ácidos graxos são compostos que contêm uma cadeia alifática e um grupo ácido carboxílico. A maioria dos ácidos graxos na natureza apresenta de 4 a 24 átomos de carbono. Os ácidos graxos saturados não possuem nenhuma dupla ligação entre os átomos de carbono, os insaturados são classificados como monoinsaturados (MUFAs) quando se tem apenas uma dupla ligação e poli-insaturados (PUFAs) quando contêm duas ou mais duplas ligações (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Os ácidos graxos saturados são conhecidos por elevarem o LDL, aumentarem a concentração de colesterol sanguíneo e o risco de doenças coronarianas. No entanto, a afirmação de que os ácidos graxos saturados são prejudiciais está sendo questionada, pois um grupo destes compostos não apresenta efeitos prejudiciais e até manifestam propriedades benéficas. Por exemplo, o ácido láurico aumenta a concentração de HDL e tem efeito favorável sobre a relação colesterol total/HDL. Outro exemplo é o ácido esteárico que não tem impacto negativo sobre os teores de colesterol (VANNICE; RASMUSSEN, 2014).

Em revisão sistemática e meta-análise realizada por Souza et al. (2015), não foi encontrada nenhuma associação clara entre maior ingestão de saturados e acidente vascular cerebral, diabetes tipo 2 e doença arterial coronariana. Também se discute o efeito de um alimento específico (exemplo: a carne bovina) no aumento de doenças cardiovasculares analisando apenas o seu perfil lipídico, pois este alimento apresenta outros componentes que talvez tenham influência sobre este aumento (ASTRUP et al., 2011).

Alimentos com teores consideráveis de ácidos graxos saturados como a carne bovina quando preparada em altas temperaturas são induzidos à oxidação lipídica das pequenas quantidades de poli-insaturados presentes. Os produtos da oxidação lipídica são conhecidos por promoverem doenças do coração, câncer e outras doenças crônicas. Portanto, produtos da oxidação de monoinsaturados ou poli-insaturados e os conservantes das carnes processadas estão associados às doenças coronarianas (LAWRENCE, 2013).

A avaliação dos resultados das pesquisas não deve estar limitada às concentrações de HDL, LDL, triglicérides e pressão arterial. Segundo Astrup et al. (2011), a relação colesterol total/ HDL é mais preditiva que apenas a concentração de LDL. Devem ser incluídos marcadores de inflamação e medidas da incidência de obesidade, diabetes e síndrome metabólica que são fatores de risco para as doenças cardiovasculares (DILDY, 2015).

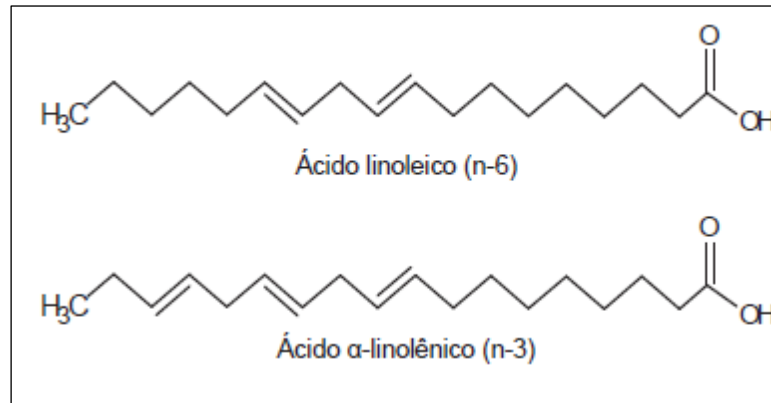
Os MUFAs da dieta humana ocorrem quase que exclusivamente na forma de ácido oleico e pesquisas apontam que a substituição de ácidos graxos saturados por monoinsaturados, diminuem as concentrações de LDL, de triglicérides e da relação colesterol total/HDL, enquanto aumenta o HDL (VANNICE; RASMUSSEN, 2014). De acordo com Astrup et al. (2011), não existem dados suficientes para afirmar que a substituição dos ácidos graxos saturados por monoinsaturados tem efeito sobre o risco de desenvolver doenças cardiovasculares.

Para Schwingshackl e Hoffmann (2014), a explicação para os estudos inconclusivos deve-se às diferentes fontes de MUFA, como azeite de oliva, abacate, amendoim, produtos lácteos, carnes e derivados. Apenas o azeite de oliva está associado à redução de risco de doenças cardíacas, no entanto, o azeite não contém só lipídios, também tem polifenóis que interferem no aparecimento dessas doenças assim como de câncer (LORGERIL; SALEN, 2012).

Os PUFAs são divididos em dois grupos: ômega 3 e ômega 6. O grupo do ômega 3 é formado pelos ácidos graxos que apresentam a primeira dupla ligação localizada no carbono 3 a partir do radical metil ( $\text{CH}_3$ ). Já o grupo do ômega 6 é formado por ácidos graxos que

apresentam a primeira dupla ligação no sexto carbono da cadeia a partir do mesmo radical (Figura 2).

**Figura 2.** Estrutura dos ácidos graxos: linoleico e  $\alpha$ -linolênico.



Fonte: Das (2006).

Os principais ácidos graxos da família ômega 3 são: o  $\alpha$ -linolênico (C18:3), o eicosapentanóico-EPA (C20:5) e o decosahexanóico-DHA (C22:6). Os ácidos graxos da família ômega 6 mais importantes são: o linoleico (C18:2) e o araquidônico (C20:4). São considerados essenciais os ácidos graxos: linoleico e  $\alpha$ -linolênico. O ácido araquidônico já foi considerado essencial, mas hoje se sabe que ele é produzido a partir do ácido linoleico. Os ácidos graxos EPA e DHA são sintetizados nos seres humanos a partir do ácido  $\alpha$ -linolênico (DAS, 2006).

No entanto, apenas uma pequena porção de  $\alpha$ -linolênico é convertida em EPA e DHA. É um processo limitado que sofre interferência de fatores como dieta, genética e estado de saúde (VANNICE; RASMUSSEN, 2014). Segundo Patterson et al. (2012), as concentrações protetoras de EPA e DHA não são obtidas apenas com o consumo de  $\alpha$ -linolênico.

O ácido linoleico está presente nos óleos vegetais como óleo de girassol, milho, soja, algodão, entre outros. O ácido  $\alpha$ -linolênico é encontrado em quantidades apreciáveis em sementes oleaginosas como canola, soja e linhaça. EPA e DHA são encontrados em peixes e frutos do mar, embora o peixe não produza EPA e DHA, mas sim os organismos marinhos unicelulares que são comidos pelos peixes (VANNICE; RASMUSSEN, 2014).

Os ácidos graxos essenciais são necessários para o crescimento e desenvolvimento do sistema nervoso central e para o funcionamento adequado do sistema cardiovascular. Além disso, estes ácidos graxos se incorporam às membranas celulares, combinando-se com fosfolipídios, tornando-se precursores de eicosanoides (prostaglandinas, tromboxanos e leucotrienos), que são um grupo de substâncias que participam da regulação da pressão

sanguínea, frequência cardíaca, dilatação vascular, coagulação sanguínea, lipólise, integridade das membranas celulares, resposta imunológica e sistema nervoso central. A ação destas substâncias no organismo é importante para a prevenção de doenças cardíacas uma vez que elas atuam inibindo a agregação das plaquetas junto às paredes dos vasos sanguíneos, evitando-se assim a trombose (DAS, 2006).

O risco de doenças cardiovasculares diminui quando se substitui na alimentação os ácidos graxos saturados por poli-insaturados (ASTRUP et al., 2011; SOUZA et al., 2015). Entretanto, Lawrence (2013) cita estudos que apontam que uma grande abundância de PUFA em relação a saturados e monoinsaturados durante condições de estresse oxidativo pode provocar aterogênese, já que esses ácidos são mais suscetíveis à oxidação devido às insaturações.

Os ácidos graxos ômega 3: DHA e EPA têm atividade anti-inflamatória e neuroprotetoras. O DHA é componente estrutural da membrana de glóbulos vermelhos e é encontrado em alta concentração no tecido da retina e nas células neurais. O EPA é precursor de prostaglandinas com funções vasodilatadoras e anti-agregadoras (VANNICE; RASMUSSEN, 2014).

Vannice e Rasmussen (2014) observaram que existe uma relação inversa entre concentrações de ômega 3 no sangue e morte cardíaca súbita. Também citam estudos que apontam que o consumo de certos peixes e óleo de peixe reduz inflamação, melhora a função endotelial, reduz sintomas da artrite reumatoide, mas em altas doses limitam a agregação de plaquetas. E que dietas ricas em  $\alpha$ -linolênico têm sido relacionadas à redução de inflamação vascular e redução da pressão sanguínea.

O ácido graxo ômega 6 linoleico é parcialmente convertido em ácido araquidônico que por sua vez é precursor de prostaglandinas pró-inflamatórias, vasoconstritoras e que estimulam a agregação plaquetária (VANNICE; RASMUSSEN, 2014).

Existe uma preocupação que o alto teor de linoleico possa contribuir para maiores quantidades de produtos metabólicos eicosanoides do ácido araquidônico, que se formados em grandes quantidades, favorecem a formação de trombos e ateromas e desordens inflamatórias e alérgicas, particularmente em pessoas suscetíveis. Inclusive alguns fármacos anti-inflamatórios eliminam a inflamação bloqueando a liberação de araquidônico e sua conversão em eicosanoides (LAWRENCE, 2013). Entretanto, o estudo de Vannice e Rasmussen (2014) relata que não foi encontrada correlação significativa entre o aumento da ingestão de linoleico e o aumento de araquidônico.



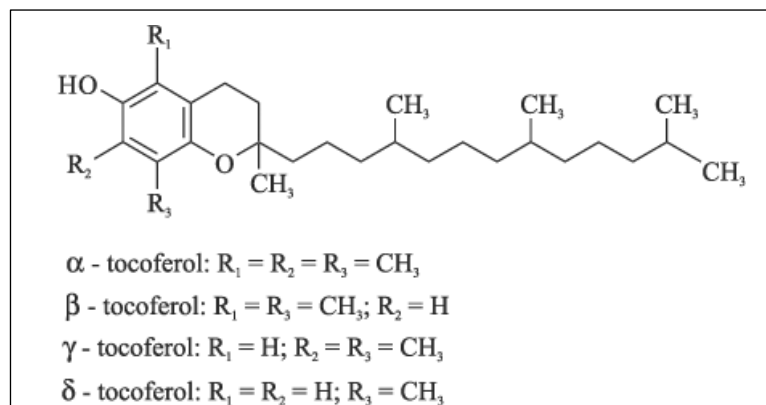
Os mediadores gerados pelo ácido araquidônico (ômega 6), EPA (ômega 3) e DHA (ômega 3) são importantes para regular a imunidade e as inflamações. Patterson et al. (2012) afirmam que o consumo de ômega 6 tem se tornado maior que o de ômega 3 e que o desequilíbrio na proporção de ômega 6: ômega 3 potencializa os processos inflamatórios e agrava doenças devido às diferentes funções dos eicosanoides derivados de cada grupo.

Um balanço adequado na proporção de ômega 6: ômega 3 na dieta é muito importante, pois ômega 6 em altos teores promove inflamação, enquanto quantidades moderadas de ômega 3 atenuam as respostas inflamatórias. Uma ingestão ideal ômega 6: ômega 3 deve ser em torno de 1-4:1. Em alguns países, esta proporção está no intervalo de 10:1 a 20:1, coincidindo com aumentos na incidência de doenças que envolvem processos inflamatórios, tais como doenças cardiovasculares, obesidade, artrite reumatoide e câncer (PATTERSON et al., 2012). Existem muitos fatores relacionados à saúde além da proporção de insaturados e saturados, tais como a prática de exercícios físicos e a ingestão de mais fibras e menos açúcares (LAWRENCE, 2013).

### 4.3 TOCOFERÓIS

Vitamina E é o termo genérico usado para os compostos lipossolúveis: tocoferóis e tocotrienóis. Estes compostos são constituídos por um anel fenólico e um heterocíclico, chamado de anel cromanol e também uma cadeia lateral ramificada com 16 carbonos saturados no caso do tocoferol ou com três duplas ligações quando tocotrienol. O número e posição de grupamentos metila no anel aromático diferenciam as formas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$  (Figura 3) (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

**Figura 3.** Estrutura do tocoferol.



Fonte: Miyazawa; Nakagawa; Sookwong (2011).

Os tocotrienóis estão presentes em menores concentrações que os tocoferóis e são encontrados principalmente em farelo de arroz, óleo de palma, gérmen de trigo, aveia, centeio e cevada (FRANK et al., 2012).

Os tocoferóis estão presentes em vários alimentos como óleos vegetais: de milho, de soja, de canola, bem como em castanhas. O  $\alpha$ -tocoferol é predominante em amendoim, amêndoas e semente de girassol. O  $\gamma$ -tocoferol é a forma mais abundante em nozes, pistache e semente de gergelim. Boas fontes de  $\delta$ -tocoferol são: semente de tomate, gérmen de arroz e óleo de soja (YANG et al., 2013; JIANG, 2014).

Geralmente, óleos com altos teores de PUFA são boas fontes de  $\gamma$ -tocoferol e os óleos que tendem a ter mais MUFA do que PUFA são ricos em  $\alpha$ -tocoferol (JIANG, 2014). O perfil de tocoferóis de um óleo vegetal é característica do genótipo da planta, mas também é influenciado pelo clima e solo, bem como as condições utilizadas para processar e armazenar o óleo (ELISIA et al., 2013).

O  $\alpha$ -tocoferol tem maior eficácia como vitamina E que os demais isômeros, por ser a forma mais abundante no sangue e nos tecidos não hepáticos. Independentemente disso, todas as formas de vitamina E são capazes de induzir efeitos antioxidantes e atuar como agentes de proteção contra a peroxidação lipídica em alimentos e membranas biológicas (MIYAZAWA; NAKAGAWA; SOOKWONG, 2011).

Segundo Elisia et al. (2013) existem resultados contraditórios na literatura sobre as funções dos diferentes isômeros na estabilidade dos lípidios dos óleos vegetais. Esses resultados são influenciados pela fonte de lípidios, composição de tocoferóis e também pelos métodos de análise da oxidação lipídica. No caso do óleo de peixe, a atividade antioxidante segue a ordem:  $\delta > \gamma > \alpha$ -tocoferol, já no óleo de soja, a ordem seria:  $\alpha > \gamma > \delta$ -tocoferol.

A estabilidade de um antioxidante ao calor é uma vantagem na indústria, pois muitos alimentos contendo lípidios são aquecidos durante o processamento, e o calor é, muitas vezes, o iniciador da oxidação lipídica. Na temperatura de 80°C, a atividade antioxidante do  $\gamma$ -tocoferol é duas vezes a do  $\alpha$ -tocoferol; no entanto, seu efeito diminui à medida que se aumenta a temperatura de 80°C a 150°C, enquanto a atividade antioxidante de  $\alpha$ -tocoferol permanece razoavelmente constante entre 80°C e 110°C, diminuindo apenas em temperaturas superiores a 110°C (BREWER, 2011).

As funções fisiológicas da vitamina E compreendem: a estimulação de fertilidade (incluindo a prevenção de abortos espontâneos), participação na biossíntese de colágeno (importante para a estrutura adequada dos músculos e paredes dos vasos sanguíneos) e a ativação do sistema imunológico (RUTKOWSKI; GRZEGORCZYK, 2012).

Entre os quatro tocoferóis, o  $\gamma$ -tocoferol tem provado possuir atividade anti-inflamatória *in vivo*, reduzindo danos oxidativos ao DNA, sendo o  $\alpha$ -tocoferol menos eficaz neste sentido (SHEN; JI, 2012).

Justamente pelo  $\alpha$ -tocoferol ser a forma mais presente no sangue e tecidos, muitos estudos são realizados com suplementos que contêm este isômero na forma de acetato, no entanto, os resultados não têm sido satisfatórios, como no caso do câncer de próstata. Indivíduos que receberam a suplementação apresentaram risco de desenvolver câncer de próstata, o que pode ser explicado pelo fato de que o  $\alpha$ -tocoferol do suplemento diminuiu a concentração de  $\gamma$ -tocoferol no plasma. Como se tem sugerido que o isômero  $\gamma$ - tem forte ação anti-inflamatória, sua redução em concentrações teciduais e sanguíneas contribui em parte para o aumento do risco de câncer (YANG et al., 2013).

Yang et al. (2013) realizaram experimento com modelos animais e demonstraram a maior atividade preventiva do  $\delta$ -tocoferol ao câncer de cólon em comparação ao  $\gamma$ -tocoferol e a ineficácia do  $\alpha$ -tocoferol. Estes mesmos autores relatam as ações dos isômeros  $\gamma$ - e  $\delta$ - ao diminuírem a proliferação das células de tumores mamários, a qual o  $\alpha$ -tocoferol não teve efeito.

É proposto por Yang et al. (2013) que a nível nutricional todas as formas de tocoferóis previnem o câncer, pois a ingestão de alimentos com estes compostos e suas concentrações no plasma estão inversamente relacionados com o risco de câncer. Em concentrações maiores do que encontrados nos alimentos, o  $\alpha$ -tocoferol já não tem este efeito. Isso é demonstrado por experimentos realizados por estes autores ou mesmo citados por eles. Os isômeros  $\delta$ - e  $\gamma$ - apresentaram ações preventivas ao câncer em experimentos com animais e humanos e altas concentrações de  $\alpha$ -tocoferol (acima de 400 UI) diminuíram esses efeitos ao competirem pela ligação com proteínas que são importantes para a prevenção do câncer.

Quando usada em doses elevadas (acima de 300 mg/dia), a suplementação com  $\alpha$ -tocoferol resulta na diminuição da coagulação do sangue, interfere no armazenamento de vitamina A no corpo, limita a absorção de  $\gamma$ -tocoferol, além de se tornar pró-oxidante (RUTKOWSKI; GRZEGORCZYK, 2012).

Estudos dos efeitos das diferentes formas do tocoferol sobre as doenças desencadeadas por estresse oxidativo mostram resultados contraditórios: efeitos benéficos, efeitos limitados, nenhum benefício e até mesmo possíveis danos. Essas contradições podem ser explicadas em parte pela seleção inadequada de indivíduos devido ao estado nutricional de vitamina E ou à presença de lesões já avançadas, também pela dosagem ou forma química da vitamina E administrada. Os melhores resultados foram obtidos com uma mistura das diferentes

isoformas dos tocoferóis incluindo os tocotrienóis, reduzindo danos no DNA, restaurando a resposta inflamatória e protegendo as células do sistema imunológico (MOCCHIGIANI et al., 2014).

Desta forma, a ingestão de alimentos com as diferentes formas de vitamina E é mais benéfica que o uso de suplementos, pois os suplementos apresentam uma alta concentração e contêm apenas a forma sintética do  $\alpha$ -tocoferol, enquanto na dieta tem-se uma mistura de isômeros (SHEN; JI, 2012).

Os suplementos apresentam benefícios em relação às doenças crônicas quando estas são resultado de um organismo com baixas concentrações de antioxidantes. Quando o indivíduo já se encontra com estado nutricional adequado, a suplementação provavelmente não trará benefícios. Também é importante notar que o efeito benéfico da vitamina E é conseguido em longo prazo (TRABER; STEVENS, 2011; JIANG, 2014).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No Estado do Maranhão, o índice de insegurança alimentar é alto e especula-se que esteja associado à baixa renda da população, dificultando uma alimentação de boa qualidade e diversificada com a presença de frutas, verduras e carnes. Considerando que a população de baixa renda tem alimentação deficiente em nutrientes e que não tem acesso a alimentos fortificados ou suplementos alimentícios, surgiram pesquisas com biofortificação de alimentos. Incentivar o cultivo de alimentos biofortificados em sistemas de plantio produtivos pode ser uma das formas de aumentar a segurança alimentar daqueles que praticam a agricultura familiar.

Existe uma parcela considerável da população maranhense composta por pequenos agricultores que praticam agricultura ineficiente em um solo considerado de baixa fertilidade. Para melhorar as condições de cultivo de alimentos indica-se o sistema de plantio em aleias.

Como é de conhecimento geral que a composição de alimentos está relacionada a questões ambientais, como clima e solo, faz-se necessário estudar as melhores condições de plantio dos alimentos biofortificados e como as alterações na fertilidade do solo influenciam na composição química destes alimentos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. C. F.; AMORIM, A. P.; COÊLHO, K. P.; MOURA, E. G. Environmental and agricultural benefits of a management system designed for sandy loam soils of the humid tropics. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 33, p. 1473-1480, 2009.
- AGUIAR, A. C. F.; BICUDO, S. J.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; MARTINS, A. L. S.; COELHO, K. P.; MOURA, E. G. Nutrient recycling and physical indicators of an alley cropping system in a sandy loam soil in the pre-Amazon region of Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 86, p. 189-198, 2010.
- AGUIAR, A. C. F.; FREITAS, I. C.; CARVALHO, C. S.; MONROE, P. H. M.; MOURA, E. G. Efficiency of an agrosystem designed for family farming in the pre-Amazon region. **Renewable Agriculture and Food Systems**, New York, v. 26, n. 1, p. 24-30, 2011.
- ALLEN, L.; BENOIST, B.; DARY, O.; HURRELL, R. **Guidelines on food fortification with micronutrientes**. Geneva, Switzerland: World Health Organization/ Food and Agriculture Organization, 2006.
- ALVES, A. A. C.; SILVA, A. F. **Cultivo da mandioca para a Região Semi-árida. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical**. 2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/>. Acesso em: 28 maio 2013.
- ARRUDA, M. R.; COSTA, J. R. **Importância e alguns aspectos no uso das leguminosas na Amazônia**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2003, 40 p.
- ASTRUP, A.; DYERBERG, J.; ELWOOD, P.; HERMANSEN, K.; HU, F. B.; JAKOBSEN, M. U.; KOK, F. J.; KRAUSS, R. M.; LECERF, J. M.; LEGRAND, P.; NESTEL, P.; RISE RUS, U.; SANDERS, T.; SINCLAIR, A.; STENDER, S.; THOLSTRUP, T.; WILLETT, W. C. The role of reducing intakes of saturated fat in the prevention of cardiovascular disease: where does the evidence stand in 2010? **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 93, p. 684-688, 2011.
- BERTUOL, T. J.; GALBIATI, C.; PEREIRA, M. J. B.; AMARAL, A. M. Avaliação de Mutualismo entre *Acacia mangium* Willd (Mimosaceae) e Formigas (Hymenoptera: Formicidae). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 41-47, 2008.
- BERNHOF, A. A brief review on bioactive compounds in plants. In: \_\_\_\_\_. **Bioactive compounds in plants – benefits and risks for man and animals**. Oslo: The Norwegian Academy of Science and Letters, 2010.
- BIAN, Q.; GAO, S.; ZHOU, J.; QIN, J.; TAYLOR, A.; JOHNSON, E. J.; TANG, G.; SPARROW, J. R.; GIERHART, D.; SHANG, F. Lutein and zeaxanthin supplementation reduces photooxidative damage and modulates the expression of inflammation-related genes in retinal pigment epithelial cells. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 53, p. 1298-1307, 2012.

BRASIL. **Lei n. 11 346**, de 15 de setembro de 2006. Cria o Sistema Nacional de Segurança Alimentar e Nutricional – SISAN. Brasília: DF, 2006.

BREWER, M. S. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 10, p. 221-247, 2011.

CARVALHO, C. R. L.; FELTRAN, J. C.; MORGANO, M. A.; VALLE, T. L.; BERTTI, F.; MAZETTI, T. F.; GALERA, J. M. S. V. Aspectos bioquímicos e agrônômicos no cozimento de mandiocas. II. Fertilidade de solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 12, 2007, Paranavaí. **Anais...** Paranavaí: PMP/SBM/IAPAR/CETEM, 2007. 4 p.

CARVALHO, S. M. P.; VASCONCELOS, M. W. Producing more with less: Strategies and novel technologies for plant-based food biofortification. **Food Research International**, Barking, v. 54, n. 1, p. 961-971, 2013.

CASTRO, M. V. L.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, J. P.; FROES, L. O. Rendimento industrial e composição química de milho de alta qualidade proteica em relação a híbridos comerciais. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 39, n. 3, p. 233-242, 2009.

CATTANIO, J. H.; KUEHNE, R.; VLEK, P. L. G. Organic material decomposition and nutrient dynamics in a mulch system enriched with leguminous trees in the Amazon. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 32, p. 1073-1086, 2008.

CENI, G. C.; COLET, R.; PERUZZOLO, M.; WITSCHINSKI, F.; TOMICKI, L.; BARRIQUELLO, A. L.; VALDUGA, E. Avaliação de componentes nutricionais de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* crantz). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 107-111, 2009.

CHÁVEZ, A. L.; SÁNCHEZ, T.; CEBALLOS, H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NESTEL, P.; TOHMEL, J.; ISHITANI, M. Retention of carotenoids in cassava roots submitted to different processing methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, p. 388-393, 2007.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DAS, U. N. Essential fatty acids: biochemistry, physiology and pathology. **Biotechnology Journal**, Weinheim, v. 1, n. 4, p. 420-439, 2006.

DILDY, T. Evidence for and against dietary recommendations to prevent cardiovascular disease. **Texas Heart Institute Journal**, Texas, v. 42, p. 234-236, 2015.

ELISIA, I.; YOUNG, J. W.; YUAN, Y. V.; KITTS, D. D. Association between tocopherol isoform composition and lipid oxidation in selected multiple edible oils. **Food Research International**, Barking, v. 52, p. 508-514, 2013.

ERDMAN JR., J. W.; FORD, N. A.; LINDSHIELD, B. L. Are the health attributes of lycopene related to its antioxidant function? **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 483, p. 229-235, 2009.

FAGERIA, N. K.; MORAES, M. F.; FERREIRA, E. P. B.; KNUPP, A. M. Biofortification of trace elements in food crops for human health. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 43, p. 556-570, 2012.

FERRAZ JÚNIOR, A. S. L. O cultivo em aleias como alternativa para a produção de alimentos na agricultura familiar do trópico úmido. In: Moura, E. G. **Agroambientes de transição: entre o trópico úmido e o semi-árido**. São Luís: UEMA, 2002. cap. 3, p. 61-89.

FERREIRA, A. C. B.; ARAÚJO, G. A. A.; PEREIRA, P. R. G.; CARDOSO, A. A. Características agronômicas e nutricionais do milho adubado com nitrogênio, molibdênio e zinco. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 131-138, 2001.

FRANK, J.; CHIN, X. W. D.; SCHRADER, C.; ECKERT, G. P.; RIMBACH, G. Do tocotrienols have potential as neuroprotective dietary factors? **Ageing Research Reviews**, Kidlington, v. 11, p. 163-180, 2012.

FUKUDA, W. M. G.; PEREIRA, M. E. C. **BRS Gema de Ovo: mandioca de mesa biofortificada**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005. 1 folder.

FUKUDA, W. M. G.; PEREIRA, M. E. C.; OLIVEIRA, L. A.; GODOY, R. C. B. **BRS Dourada: mandioca de mesa com uso diversificado**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, 2005. 1 folder.

FUKUDA, W. M. G.; CARVALHO, H. W. L.; OLIVEIRA, L. A.; OLIVEIRA, I. R.; PINHO, J. L. N.; SANTOS, V. S.; NUTTI, M. R.; KIMURA, M. **BRS Jari: Nova variedade de mandioca para mesa com alto teor de betacaroteno nas raízes**. Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical; Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. 1 folder.

GIORI, F. P. **Adaptação de metodologia de digestão *in vitro* e determinação da bioacessibilidade *in vitro* de  $\beta$ -caroteno em três variedades de batata-doce de polpa alaranjada**. 2010. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

GÓMEZ-GALERA, S.; ROJAS, E.; SUDHAKAR, D.; ZHU, C.; PELACHO, A. M.; CAPELL, T.; CHRISTOU, P. Critical evaluation of strategies for mineral fortification of staple food crops. **Transgenic Research**, London, v. 19, p. 165-180, 2010.

GRAHAM, R. D.; WELCH, R. M.; BOUIS, H. E. Addressing micronutrient malnutrition through enhancing the nutritional quality of staple foods: principles, perspectives and knowledge gaps. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 70, p. 77-142, 2001.

GRANT, C.; BRUULSEMA, T. W. Protein, carbohydrate and oil composition of food crops. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 143-174. Disponível em: <http://www.ipni.net/article/IPNI-3269>. Acesso em: 28 junho 2013.

GUNARATNA, N. S.; GROOTE, H.; NESTEL, P.; PIXLEY, K. V.; MCCABE, G. P. A meta-analysis of community-based studies on quality protein maize. **Food Policy**, Guildford, v. 35, p. 202-210, 2010.



HIRSCHI, K. D. Nutrient Biofortification of Food Crops. **Annual Review Nutrition**, Palo, Alto, v. 29, p. 401-421, 2009.

HOTZ, C.; McCLAFFERTY, B. From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status. **Food and Nutrition Bulletin**, Tokyo, v. 28, n. 2, p. 271-279, 2007.

IBGE. **Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios - Segurança Alimentar 2013**. Rio de Janeiro: IBGE, 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br>. Acesso em: 28 outubro 2014.

JIANG, Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 72, p. 76-90, 2014.

JOHNS, T.; EYZAGUIRRE, P. B. Biofortification, biodiversity and diet: a search for complementary applications against poverty and malnutrition. **Food Policy**, Guildford, v. 32, p. 1-24, 2007.

JOMOVA, K.; VALKO, M. Health protective effects of carotenoids and their interactions with other biological antioxidants. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Paris, v. 70, p. 102-110, 2013.

KASPERCZYK, S.; DOBRAKOWSKI, M.; KASPERCZYK, J.; OSTAŁOWSKA, A.; ZALEJSKA-FIOLKA, J.; BIRKNER, E. Beta-carotene reduces oxidative stress, improves glutathione metabolism and modifies antioxidant defense systems in lead-exposed workers. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 280, p. 36-41, 2014.

LAL, R. Soil degradation as a reason for inadequate human nutrition. **Food Security**, London, v. 1, p. 45-57, 2009.

LAWRENCE, G. D. Dietary fats and health: Dietary recommendations in the context of scientific evidence. **Advances in nutrition: an international review journal**, Bethesda, v. 4, p. 294-302, 2013.

LEE, L. K.; FOO, K. Y. An appraisal of the therapeutic value of lycopene for the chemoprevention of prostate cancer: A nutrigenomic approach. **Food Research International**, Barking, v. 54, p. 1217-1228, 2013.

LORGERIL, M.; SALEN, P. New insights into the health effects of dietary saturated and omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. **BMC Medicine**, London, v. 10, p. 50, 2012.

McENENY, J.; WADE, L.; YOUNG, I. S.; MASSON, L.; DUTHIE, G.; MCGINTY, A.; McMASTER, C.; THIES, F. Lycopene intervention reduces inflammation and improves HDL functionality in moderately overweight middle-aged individuals. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 24, p. 163-168, 2013.

MEENAKSHI, J. V.; JOHNSON, N. L.; MANYONG, V. M.; DEGROOTE, H.; JAVELOSA, J.; YANGGEN, D. R.; NAHER, F.; GARCÍA, C. G. J.; MENG, E. How cost-effective is biofortification in combating micronutrient malnutrition? An *ex ante* assessment. **World Development**, Oxford, v. 38, n.1, p. 64-75, 2010.

MIYAZAWA, T.; NAKAGAWA, K.; SOOKWONG, P. Health benefits of vitamin E in grains, cereals and green vegetables. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 22, p. 651-654, 2011.

MOCCHIGIANI, E.; COSTARELLI, L.; GIACCONI, R.; MALAVOLTA, M.; BASSO, A.; PIACENZA, F.; OSTAN, R.; CEVENINI, E.; GONOS, E. S.; FRANCESCHI, C.; MONTI, D. Vitamin E-gene interactions in aging and inflammatory age-related diseases: Implications for treatment. A systematic review. **Ageing Research Reviews**, Kidlington, v. 14, p. 81-101, 2014.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 8, p. 181-194, 2009.

MOORE, T. R.; TROFYMOW, J. A.; PRESCOTT, C. E.; TITUS, B. D. Nature and nurture in the dynamics of C, N and P during litter decomposition in Canadian forests. **Plant and Soil**, The Hague, v. 339, p. 163-175, 2011.

MORAES, M. F.; NUTTI, M. R.; WATANABE, E.; CARVALHO, J. L. V. Práticas agrônomicas para aumentar o fornecimento de nutrientes e vitaminas nos produtos agrícolas alimentares. In: LANA, R. P.; MÂNCIO, A. B.; GUIMARAES, G.; SOUZA, M. R. M. **I Simpósio Brasileiro de Agropecuária Sustentável**. Viçosa: Ed. UFV, 2009. cap. 18, p. 299-312.

MORAES, M. F.; PASCOALINO, J. A. L.; ALVES, S. J. F.; NUTTI, M. R.; CARVALHO, J. L. V. Biofortificação - alternativa à segurança nutricional. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, n. 140, p. 9-15, 2012.

MOURA, E. G.; AGUIAR, A. C. F. Plantio direto na palha de leguminosas em aleias, uma alternativa agroecológica para a agricultura familiar do trópico úmido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 7., 2007, Fortaleza. **Anais...**, 2007. p. 1-9.

MOURA, E. G.; MOURA, N. G.; MARQUES, E. S.; PINHEIRO, K. M.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Evaluating chemical and physical quality indicators for a structurally fragile tropical soil. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 25, p. 368-375, 2009.

MOURA, E. G.; SERPA, S. S.; SANTOS, J. G. D.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Nutrient use efficiency in alley cropping systems in the Amazonian periphery. **Plant and Soil**, The Hague, v. 335, p. 363-371, 2010.

MOURA, E. G.; OLIVEIRA, A. K. C.; COUTINHO, G.; PINHEIRO, K. M.; AGUIAR, A. C. F. Management of a cohesive tropical soil to enhance rootability and increase the efficiency of nitrogen and potassium use. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 28, p. 370-377, 2012.

- MOURA, E. G.; MARQUES, E. S.; SILVA, T. M. B.; PIEDADE, A. R.; AGUIAR, A. C. F. Interactions among leguminous trees, crops and weeds in a no-till alley cropping system. **International Journal of Plant Production**, Gorgan, v. 8, p. 441-456, 2014.
- MOURA, E. G.; AGUIAR, A. C. F.; PIEDADE, A. R.; ROUSSEAU, G. X. Contribution of legume tree residues and macrofauna to the improvement of abiotic soil properties in the eastern Amazon. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 86, p. 91-99, 2015.
- MÜLLER, L.; CARIS-VEYRAT, C.; LOWE, G.; BÖHM, V. Lycopene and its antioxidant role in the prevention of cardiovascular diseases – A critical review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Boca Raton, DOI: 10.1080/10408398.2013.801827, 2015.
- NAVES, M. M. V.; SILVA, M. S.; CERQUEIRA, F. M.; PAES, M. C. D. Avaliação química e biológica da proteína do grão em cultivares de milho de alta qualidade proteica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 34, n. 1, p. 1-8, 2004.
- NESTEL, P.; BOUIS, H. E.; MEENASKHI, J. V.; PFEIFFER, W. Biofortification of staple food crops. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 136, n. 4, p. 1064-1067, 2006.
- NUSS, E. T.; TANUMIHARDJO, S. A. Maize: A Paramount staple crop in the context of global nutrition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 9, p. 417-436, 2010.
- NUTTI, M. R. **Avanços da biofortificação no Brasil – Projeto BioFORT**. 2012. Disponível em: [http://www.gape-esalq.com.br/portal/zinc/avancos\\_da\\_biofortificacao\\_no\\_brasil.pdf](http://www.gape-esalq.com.br/portal/zinc/avancos_da_biofortificacao_no_brasil.pdf). Acesso em: 28 maio 2013.
- NUTTI, M.; CARVALHO, J. L. V.; WATANABE, E. **A biofortificação como ferramenta para combater as deficiências em micronutrientes**. In: WORKSHOP INTERNACIONAL DE BIOLOGIA MÉDICA, 2006, Rio de Janeiro. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/handle/doc/994883>. Acesso em: 30 maio 2013.
- OLIVEIRA, R. G. A.; CARVALHO, M. J. L.; NUTTI, R. M.; CARVALHO, L. V. J.; FUKUDA, W. G. Assessment and degradation study of total carotenoid and  $\beta$ -carotene in bitter yellow cassava (*Manihot esculenta* Crantz) varieties. **African Journal of Food Science**, Nairobi, v. 4, n. 4, p. 148-155, 2010.
- PACHÓN, H.; TORRES, L. C. **El impacto nutricional de cultivos biofortificados o cultivos con mayor calidad nutricional**. Colômbia: Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), 12p. 2010.
- PAES, M. C. D. **Aspectos físicos, químicos e tecnológicos do grão de milho**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 6p. (Circular técnica, n. 75), 2006.
- PATTERSON, E.; WALL, R.; FITZGERALD, G. F.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Health implications of high dietary omega-6 polyunsaturated fatty acids. **Journal of Nutrition and Metabolism**, Cairo, v. 2012, p. 1-16, 2012.
- PRASANNA, B. M.; VASAL, S. K.; KASSAHUN, B.; SINGH, N. N. Quality protein maize. **Current Science**, Bangalore, v. 81, p. 1308-1319, 2001.

QUINKENSTEIN, A.; WOLLECKE, J.; BOHM, C.; GRUNEWALD, H.; FREESE, D.; SCHNEIDER, B. U.; HUTTL, R. F. Ecological benefits of the alley cropping agroforestry system in sensitive regions of Europe. **Environmental Science & Policy**, Exeter, Inglaterra, v. 12, p. 1112-1121, 2009.

RIOS, S. A.; ALVES, K. R.; COSTA, N. M. B.; MARTINO, H. S. D. Biofortificação: culturas enriquecidas com micronutrientes pelo melhoramento genético. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 56, n. 6, p. 713-718, 2009.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in food**. Washington: ILSI Press, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Natural food pigments and colorants. **Current Opinion in Food Science**, Ontario, v. 7, p. 20-26, 2016.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Implicações do sistema serotoninérgico no exercício físico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 227-233, 2004.

ROTELLI, M. T.; BOCALE, D.; DE FAZIO, M.; ANCONA, P.; SCALERA, I.; MEMEO, R.; TRAVAGLIO, E.; ZBAR, A. P.; ALTOMARE, D. F. *In-vitro* evidence for the protective properties of the main components of the Mediterranean diet against colorectal cancer: A systematic review. **Surgical Oncology**, New York, v. 24, n. 3, p. 145-152, 2015.

RUTKOWSKI, M.; GRZEGORCZYK, K. Adverse effects of antioxidative vitamins. **International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health**, Lodz, v. 25, n. 2, p. 105-121, 2012.

SAINI, R. K.; NILE, S. H.; PARK, S. W. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. **Food Research International**, Barking, v. 76, p. 735-750, 2015.

SALTZMAN, A.; BIROL, E.; BOUIS, H. E.; BOY, E.; MOURA, F. F.; ISLAM, Y.; PFEIFFER, W. H. Biofortification: progress toward a more nourishing future. **Global Food Security**, Lincoln, v. 2, p. 9-17, 2013.

SCHWINGSHACKL, L.; HOFFMANN, G. Monounsaturated fatty acids, olive oil and health status: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Lipids in Health and Disease**, London, v. 13, p. 154-169, 2014.

SHEKHAR, C. Hidden hunger: addressing micronutrient deficiencies using improved crop varieties. **Chemistry and Biology**, Cambridge, v. 20, p. 1305-1306, 2013.

SHEN, L.; JI, H. F. Vitamin E: supplement versus diet in neurodegenerative diseases. **Trends in Molecular Medicine**, Cambridge, v. 18, p. 443-445, 2012.

SILVA, T. O.; MENEZES, R. S. C. Adubação orgânica da batata com esterco e, ou, *Crotalaria juncea*. II – Disponibilidade de N, P e K no solo ao longo do ciclo de cultivo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 31, n. 1, p. 39-49, 2007.

SILVA, B. M. S.; MÔRO, F. V. Aspectos morfológicos do fruto, da semente e desenvolvimento pós-seminal de faveira (*Clitoria fairchildiana* R. A. Howard. - Fabaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 30, n. 3, p. 195-201, 2008.

SLUIJS, I.; CADIER, E.; BEULENS, J. W. J.; VAN DER A., D. L.; SPIJKERMAN, A. M. W.; VAN DER SCHOUW, Y. T. Dietary intake of carotenoids and risk of type 2 diabetes. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, Napoli, v. 25, p. 376-381, 2015.

SOUZA, R. J.; MENTE, A.; MAROLEANU, A.; COZMA, A. I.; HA, V.; KISHIBE, T.; ULERYK, E.; BUDYLOWSKI, P.; SCHÜNEMANN, H; BEYENE, J.; ANAND, S. S. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. **British Medical Journal**, London, v. 351, DOI: 10.1136/bmj.h3978, 2015.

TEKLAY, T. Decomposition and nutrient release from pruning residues of two indigenous agroforestry species during the wet and dry seasons. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 77, p. 115-126, 2007.

TRABER, M. G.; STEVENS, J. F. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 51, p. 1000-1013, 2011.

TSONKOVA, P.; BOHM, C.; QUINKENSTEIN, A.; FREESE, D. Ecological benefits provided by alley cropping systems for production of woody biomass in the temperate region: a review. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 85, p. 133-152, 2012.

VANNICE, G.; RASMUSSEN, H. Position of the academy of nutrition and dietetics: Dietary fatty acids for healthy adults. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, New York, v. 114, p. 136-153, 2014.

VIANA, G. F. **Dia de campo na tv mostra plantio de milho intercalado com leucena**. Embrapa Milho e Sorgo. 2009. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/noticias/mostranoticia.php?codigo=555>. Acesso em: 20 março 2013.

VIANA, G. F. **Prosa Rural desta semana debate alimentos biofortificados na merenda escolar**. Embrapa Milho e Sorgo. 2012. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/noticias/mostranoticia.php?codigo=740>. Acesso em: 20 março 2013.

VROLIJK, M. F.; OPPERHUIZEN, A.; JANSEN, E. H. J. M.; GODSCHALK, R. W.; VAN SCHOOTEN, F. J.; BAST, A.; HAENEN, G. R. M. M. The shifting perception on antioxidants: The case of vitamin E and  $\beta$ -carotene. **Redox Biology**, Birmingham, v. 4, p. 272-278, 2015.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Protein and amino acid requirements in human nutrition**. WHO Technical Report Series, n. 935, Geneva: WHO, 2007.

ZHAO, Y.; ZHANG, B.; HILL, R. Water use assessment in alley cropping systems within subtropical China. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 84, p. 243-259, 2012.

YANG, C. S.; LI, G.; YANG, Z.; GUAN, F.; CHEN, A.; JU, J. Cancer prevention by tocopherols and tea polyphenols. **Cancer Letters**, Amsterdam, v. 334, p. 79-85, 2013.

**Capítulo 2 - A importância do sistema de plantio e da fertilização na qualidade do milho**

**QPM BR 473**

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência do sistema de cultivo em aleias e da aplicação de cloreto de potássio e ureia, na produtividade e na qualidade nutricional do milho QPM BR 473. Foram utilizadas as combinações de leguminosas: GA (Gliricídia + Acácia), GS (Gliricídia + Sombreiro), LA (Leucena + Acácia), LS (Leucena + Sombreiro) e sem leguminosas (SL), com ou sem adição de 80-80 kg/ha de ureia e cloreto de potássio (NK). Determinaram-se a massa de 100 grãos, número de grãos/espiga, massa da espiga, produtividade de grãos, composição centesimal, minerais, carotenoides totais, perfil de ácidos graxos e de tocoferóis. O plantio com resíduos de leguminosas e a adição de cloreto de potássio e ureia aumentaram a produtividade do milho. Com relação à proteína, a aplicação de cloreto de potássio e ureia teve maior influência que os resíduos. Já os teores de potássio, cálcio, ferro, magnésio, fósforo, iodo e zinco não apresentaram diferença significativa. Os teores de carotenoides e o perfil de ácidos graxos foram influenciados pela interação entre as combinações de leguminosas e a aplicação de NK. Com relação aos tocoferóis, os isômeros encontrados em maiores quantidades foram o  $\gamma$  (157,4 mg/kg) e o  $\alpha$  (123,4 mg/kg) em LS sem NK. De forma geral, as combinações sem adubação com ureia e cloreto de potássio obtiveram os maiores teores de tocoferóis. Alguns nutrientes mantiveram seus valores, sem interferência das combinações de leguminosas e da utilização de NK, como: umidade, cinzas, lipídios e os minerais. No entanto, pode-se concluir que o plantio do milho QPM BR 473 em sistema de cultivo em aleias é uma opção para que as famílias que praticam a agricultura de subsistência no trópico úmido melhorem a produção e qualidade da sua alimentação.

**Palavras-chave:** *Zea mays*, adubação potássica, nitrogênio, aleias, sistema de produção.

## 1 INTRODUÇÃO

A produção de alimentos no trópico úmido é um desafio porque se associam em uma mesma região, solos de reduzida fertilidade natural, elevada precipitação pluvial e o uso de um sistema de plantio que se baseia no “corte e queima”. Áreas são desmatadas para o plantio das culturas e os resíduos do desmatamento são queimados provocando o empobrecimento do solo. Depois de alguns anos de cultivos, as áreas exploradas são abandonadas e novas áreas são desmatadas. Desta forma, a biodiversidade é afetada, aumenta-se a produção de gases do efeito estufa e não há diminuição da pobreza no meio rural (FERRAZ JÚNIOR, 2004).

O sistema de cultivo em aleias traz melhoria ao solo, pois regenera sua fertilidade, além de possibilitar a utilização de uma mesma área por mais tempo, causando menor impacto ao ambiente. É um sistema de produção em que as culturas são cultivadas entre as linhas de espécies de leguminosas, cujos ramos são periodicamente podados e deixados sobre o solo para servirem de cobertura e após decomposição, como fonte de nutrientes (TSONKOVA et al., 2012).

Os resíduos de leguminosas podem ser classificados: de alta ou baixa qualidade, de acordo com seus teores de nitrogênio, lignina e polifenóis, que são compostos que influenciam na velocidade de decomposição (TIAN; BRUSSAARD; KANG, 1995). Os resíduos de alta qualidade liberam os nutrientes mais rapidamente, mas, em certas situações, os efeitos de cobertura e adição contínua de nutrientes dos resíduos de baixa qualidade são mais importantes. Experimentos realizados nos trópicos úmidos têm mostrado que a combinação de leguminosas de alta e baixa qualidade é uma estratégia para a liberação de nutrientes de acordo com a demanda da cultura, enquanto melhora a enraizabilidade do solo e a eficiência do uso desses nutrientes (MOURA et al., 2010).

A adubação mineral complementar é importante para prevenir a deficiência de nitrogênio, pois apesar da grande quantidade fornecida com a aplicação dos resíduos de leguminosas, a eficiência de utilização desse nutriente na forma orgânica é muito baixa. Souza (2013) relata que a fertilização mineral é fundamental para que a cultivar atinja todo o seu potencial produtivo, pois os solos do trópico úmido apresentam baixa disponibilidade de nutrientes e o sistema de aleias não é capaz de manter os teores adequados de P, K, Ca e Mg.

No trópico úmido, a população que vive na zona rural obtém proteína e os requerimentos calóricos diários, principalmente a partir do milho (PRASANNA et al., 2001). A qualidade deste cereal é importante para os pequenos agricultores, enquanto a quantidade é o que impulsiona o produtor.



Os alimentos biofortificados são resultados de estudos para enriquecer em nutrientes os alimentos que fazem parte da dieta básica das populações. Um exemplo é o milho QPM que apresenta maiores teores dos aminoácidos, lisina e triptofano, que o milho convencional. A biofortificação visa aumentar a qualidade das culturas cultivadas pelos pequenos agricultores e auxiliar no combate às deficiências nutricionais (SALTZMAN et al., 2013).

Embora, o sistema de aleias possa atender as exigências de uma agricultura com uso de poucos insumos químicos, ainda existe a preocupação do efeito das interações entre as leguminosas e as culturas alimentares (AGUIAR et al., 2010). A interação leguminosa-cultura pode causar prejuízos quando as leguminosas afetam o crescimento das culturas por meio da competição por água, luz e nutrientes, assim como pelos efeitos alelopáticos (IMO; TIMMER, 2000). Os potenciais efeitos positivos ou negativos de resíduos de leguminosas sobre a produtividade e a qualidade das culturas, em condições de campo, não foram devidamente estudados (ALBUQUERQUE et al., 2011).

Portanto, a associação do cultivo de um alimento biofortificado, como o milho QPM, com um sistema de plantio em aleias pode ser interessante para a agricultura familiar do trópico úmido. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a influência do sistema de cultivo em aleias associado à adição de cloreto de potássio e ureia, na produtividade e na qualidade nutricional do milho QPM BR 473.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

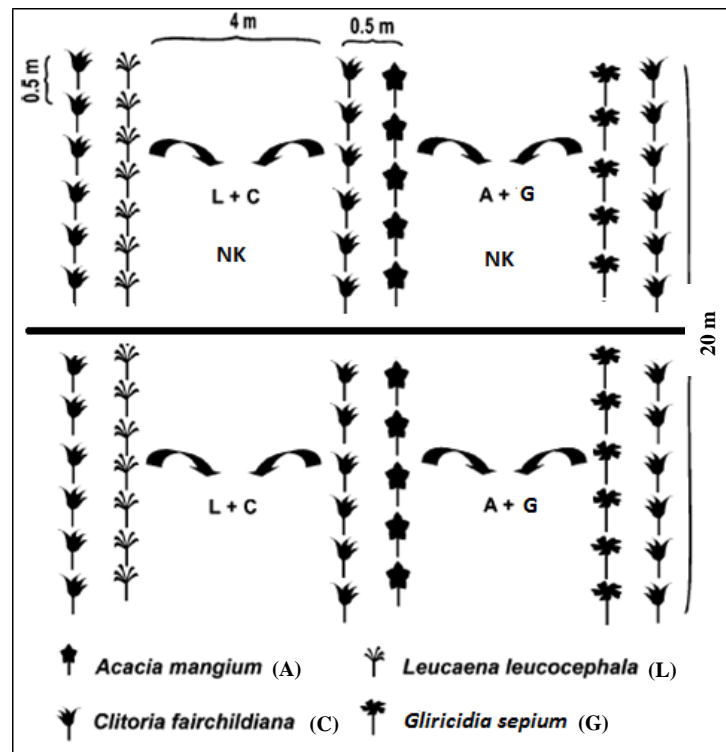
O milho QPM da variedade BR 473 foi plantado em área experimental da Universidade Federal do Maranhão, localizada no assentamento da Vila União, na cidade de Chapadinha, MA (3°44'30" S, 43°21'37" W).

O sistema de aleias já instalado utilizava as leguminosas: Acácia – A (*Acacia mangium*), Gliricídia – G (*Gliricidia sepium*), Leucena – L (*Leucaena leucocephala*) e Sombreiro – S (*Clitoria fairchildiana*). As combinações consistiram de resíduos de baixa qualidade (Sombreiro e Acácia) com resíduos de alta qualidade (Leucena e Gliricídia). As leguminosas estavam espaçadas em 0,5 m entre as plantas na linha e em 4 m entre linhas nas parcelas de 10 x 4 m (Figura 1).

A área experimental foi corrigida com a aplicação superficial de 1 Mg/ha de calcário, o que correspondeu a 279 e 78 kg/ha de Ca e Mg, respectivamente. No início do período chuvoso, em janeiro de 2012, o milho foi plantado, com semeadora manual do tipo “matraca”, adaptada para plantio direto. A densidade de plantio foi de 5 plantas por metro linear,

distribuídas em 4 fileiras de milho em cada parcela. O espaçamento do milho foi de 1,0 m entre fileiras e 0,20 m entre plantas.

**Figura 1.** Diagrama das parcelas experimentais indicando os tratamentos com e sem NK.



A adubação mineral realizada na sementeira em toda área experimental foi de 80 kg/ha de superfosfato simples e 6,25 kg/ha de sulfato de zinco, de acordo com a análise do solo. A adubação de cobertura foi realizada no momento da sementeira e no período correspondente ao quarto par de folhas completamente abertas, nas quantidades de 80 kg/ha de ureia e 80 kg/ha de cloreto de potássio apenas nas parcelas selecionadas.

Uma semana após a emergência do milho, as leguminosas arbóreas foram podadas a 50 cm de altura. As combinações de biomassa foram ajustadas de acordo com os teores do elemento e as curvas de liberação dos nutrientes encontradas por Aguiar et al. (2010) e Moura et al. (2010), para garantir o aporte da mesma quantidade de N orgânico nos diferentes tratamentos no momento da distribuição superficial. Efeitos alelopáticos dos resíduos de leguminosas facilitaram o controle das plantas daninhas, no entanto, as remanescentes foram removidas manualmente.

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados em um esquema fatorial 5 x 2. O primeiro fator se refere às combinações de leguminosas: GA, GS, LA, LS e sem leguminosas (SL). O segundo fator se refere à adição ou não ao solo, de 80 kg/ha de cloreto de potássio e 80 kg/ha de ureia como fontes de K e N, respectivamente. Desta forma, formaram-se 10 tratamentos que repetidos em 4 blocos, resultaram em 40 parcelas.

## 2.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS

Após 90 dias do plantio do milho foram determinadas: a massa de 100 grãos, o número de grãos por espiga, a massa da espiga e a produtividade de grãos.

## 2.2 OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As espigas foram colhidas manualmente, despalhadas, e com auxílio de um debulhador mecânico, foram retirados os grãos secos. Aproximadamente 1 kg de cada parcela foi embalado em sacos plásticos, identificados e armazenados em refrigerador a 5°C até envio para o campus da UNESP em São José do Rio Preto, onde foram armazenados em freezer a -18°C.

## 2.3 ANÁLISES QUÍMICAS

Para as análises, os grãos de milho foram triturados em moinho analítico (modelo A11, marca IKA, Campinas, SP, Brasil) e peneirados a 20 mesh.

### 2.3.1 Composição centesimal

- Umidade

Pesou-se 2 g de amostra e submeteu-se a aquecimento em estufa (modelo TE-393, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 105°C até obtenção de peso constante segundo método nº 925.40 (AOAC, 2005).

- Cinzas

Pesou-se 2 g de amostra que foram carbonizadas em bico de Bunsen e incineradas em mufla (modelo EDGCon 3P F300, marca EDG, São Paulo, SP, Brasil) a 550°C até obtenção de peso constante segundo método nº 923.03 (AOAC, 2005).

- Lipídios

Foram extraídos e quantificados segundo a metodologia de Bligh e Dyer (1959). Pesou-se 3 g de amostra e após transferência para tubo de 70 mL, adicionou-se 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água, agitou-se lentamente por 30 min. Acrescentou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%, agitou-se por 2 min. Deixou-se em repouso por 2 h e descartou-se a camada superior. Filtrou-se a camada inferior adicionando 1 g de sulfato de sódio ao papel de filtro. Transferiu-se 5 mL do filtrado para cadinho previamente seco e tarado que foi submetido a aquecimento a 105°C em estufa (modelo TE-393 marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) por 1 h. Após pesagem do cadinho fez-se o cálculo dos lipídios totais.

- Proteína

Utilizou-se a metodologia de micro Kjeldahl método nº 950.48 com modificações (AOAC, 2005). Amostras de 0,5 g foram pesadas e transferidas para um tubo de digestão, adicionou-se 2,5 g de mistura catalisadora e 7 mL de ácido sulfúrico concentrado. A digestão iniciou-se a 50°C e aumentou-se gradativamente a temperatura até atingir 350°C. A digestão continuou até o líquido apresentar coloração verde. Após esfriar, conectou-se o tubo ao aparelho de destilação e a ponta do condensador foi mergulhada em um erlenmeyer de 250 mL, contendo 20 mL de solução de ácido bórico a 4% e 3 gotas de indicador de Peterson. Esse indicador foi preparado com 10 mL de solução de vermelho de metila 0,1% e 70 mL de azul de metileno 0,05%. Adicionou-se lentamente solução de hidróxido de sódio 50% ao tubo contendo a amostra até o aparecimento de precipitado pardo escuro de óxido cúprico. A destilação foi realizada em destilador (modelo TE 036/1, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) controlando-se a temperatura até atingir o volume de 100 mL. O destilado foi titulado com solução de ácido clorídrico padronizado 0,1 N. Calculou-se o teor de nitrogênio e para convertê-lo em proteína bruta multiplicou-se pelo fator de conversão de 6,25.

- Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais foi estimado por diferença, subtraindo-se de 100 os valores em porcentagens de umidade, cinzas, lipídios e proteína.

### 2.3.2 Análise de minerais

As amostras (1 g) foram digeridas por via úmida a 200°C por 1 h em 10 mL de solução de ácido nítrico: ácido perclórico (2+1) segundo método 984.27 da AOAC (2005). Após transferência para balão volumétrico de 50 mL e completado volume com água, fez-se a determinação dos minerais em Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Indutivamente Acoplado (modelo 720-ES, marca Varian, Walnut Creek, CA, USA) com auxílio do Software ICP Expert II. As condições de operação do equipamento foram: potência do plasma 1,0 kW; gás auxiliar (Ar) a 1,5 L/min; pressão do nebulizador de 200 kPa, fluxo do plasma 15,0 L/min.

### 2.3.3 Carotenoides totais

As amostras (3 g) foram previamente hidratadas em 10 mL de água por 30 minutos. A extração foi feita com acetona refrigerada, realizando a maceração até descoloração. O extrato foi filtrado a vácuo e, em seguida, fez-se a partição com 20 mL de éter de petróleo em funil de separação. A fase aquosa foi descartada e a fase de éter e carotenoides passou por filtração com sulfato de sódio para balão de 25 mL. Completou-se o volume do balão com éter de petróleo. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro (modelo UV mini 1240, marca Shimadzu, Quioto, Japão) em comprimento de onda de 450 nm (RODRIGUEZ-AMAYA; KIMURA, 2004).

### 2.3.4 Perfil de ácidos graxos

Os óleos das amostras foram extraídos pelo método de Bligh e Dyer (1959) e em seguida, fez-se a esterificação com KOH metanólico segundo o procedimento Ce 2-66 da AOCS (2009). Para a determinação dos ácidos graxos foi utilizado o método Ce 1-62 da AOCS (2009). A análise foi realizada em cromatógrafo gasoso (modelo 3900, marca Varian, Walnut Creek, CA, USA) com detector de ionização de chama, injetor *split* e amostrador automático. Condições de análise: coluna capilar de sílica fundida (CP-Sil 88, Microsorb, Varian) de 60 m de comprimento, com diâmetro interno de 0,25 mm e espessura do filme de 0,20 µm. A programação de temperatura da coluna foi iniciada em 90°C por 4 minutos, aquecida a 10°C/min até 195°C e mantida em isoterma durante 16 min. As temperaturas

utilizadas no injetor e no detector foram 230°C e 250°C, respectivamente. O gás de arraste foi o hidrogênio com velocidade linear de 30 mL/min. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção de padrões puros de ésteres metílicos de ácidos graxos com os componentes separados das amostras e a quantificação foi feita por normalização de área. Utilizou-se como padrão uma mistura composta de 37 ésteres metílicos de ácidos graxos (Supelco, Bellefonte, USA) de C4:0 a C24:1, com pureza entre 99,1 e 99,9%.

### **2.3.5 Determinação de tocoferóis**

Os teores de tocoferóis dos óleos extraídos das amostras pelo método de Bligh e Dyer (1959) foram determinados utilizando o método Ce 8-89 da AOCS (2009). A análise foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo 210-263, marca Varian, Walnut Creek, CA, USA) com detector de fluorescência. Condições de análise: coluna de aço inox empacotada com sílica (Microsorb 100 Si, Varian) de 250 x 4,6 mm com poro de 5 µm e comprimento de onda de excitação em 290 nm e de emissão em 330 nm. A separação cromatográfica foi realizada por eluição isocrática de fase móvel constituída de n-hexano: álcool isopropílico (95,5: 0,5 v/v) com fluxo de 1,2 mL/min. Os tocoferóis foram identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões puros analisados nas mesmas condições das amostras. A quantificação de cada isômero foi realizada por padronização externa com base nas áreas dos picos, utilizando padrões de  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol (Supelco, Bellefonte, USA) com grau de pureza de 99,9%, 98,0%, 99,4% e 99,6%, respectivamente. Os teores de tocoferóis individuais foram expressos como mg por kg de óleo (mg/kg).

## **2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados foram submetidos à análise de variância de dois fatores e teste de comparação de médias de Tukey a 5%. Para a análise estatística utilizou-se o programa Assistat versão 7.7.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS

O Apêndice A apresenta as análises de variância para as avaliações agronômicas. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação dos fatores: adição de NK e combinações de leguminosas.

A massa de 100 grãos foi influenciada pela interação entre NK e as combinações de leguminosas. Observou-se que SL com e sem NK obtiveram as menores massas e as combinações de leguminosas não apresentaram diferença significativa entre si (Tabela 1).

**Tabela 1.** Massa de 100 grãos (g), grãos/espiga, massa de espigas (g) e produtividade de grãos (t/ha) para a interação NK x combinações de leguminosas.

NK	Combinações de leguminosas				
	GA	GS	LS	LA	SL
<b>Massa de 100 grãos</b>					
Com	31,3 <sup>aA</sup>	28,8 <sup>aA</sup>	33,8 <sup>aA</sup>	32,5 <sup>aA</sup>	24,0 <sup>bA</sup>
Sem	31,3 <sup>aA</sup>	30,0 <sup>aA</sup>	30,0 <sup>aA</sup>	26,3 <sup>aA</sup>	23,8 <sup>bA</sup>
<b>Grãos/espiga</b>					
Com	299,8 <sup>bA</sup>	390,6 <sup>aA</sup>	352,2 <sup>aA</sup>	307,9 <sup>bA</sup>	78,3 <sup>cA</sup>
Sem	249,5 <sup>bB</sup>	271,0 <sup>aB</sup>	302,0 <sup>aB</sup>	261,6 <sup>bB</sup>	52,5 <sup>cB</sup>
<b>Massa da espiga</b>					
Com	93,8 <sup>bA</sup>	112,5 <sup>aA</sup>	118,7 <sup>aA</sup>	100,0 <sup>bA</sup>	18,8 <sup>cA</sup>
Sem	78,1 <sup>bA</sup>	81,3 <sup>aB</sup>	90,6 <sup>aB</sup>	68,8 <sup>bB</sup>	12,5 <sup>cA</sup>
<b>Produtividade de grãos</b>					
Com	3,0 <sup>bA</sup>	3,6 <sup>aA</sup>	3,8 <sup>aA</sup>	3,2 <sup>bA</sup>	0,6 <sup>cA</sup>
Sem	2,5 <sup>bA</sup>	2,6 <sup>aB</sup>	2,9 <sup>aB</sup>	2,2 <sup>bB</sup>	0,4 <sup>cA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

O número de grãos/espiga aumentou com a adição dos fertilizantes. Encontrou-se diferença significativa entre as combinações de leguminosas, sendo que GS e LS obtiveram valores maiores que GA e LA que, por sua vez, foram superiores à SL. GS com NK apresentou 5 vezes mais grãos/espiga que SL com NK.

Com relação à massa da espiga, a aplicação de NK nas combinações de leguminosas: GS, LS e LA, aumentou a massa da espiga. Observou-se que GS e LS alcançaram maiores

valores que GA e LA, que foram superiores à SL. A massa da espiga de LS com NK foi 6,3 vezes superior à SL com NK.

A aplicação de NK ao solo com GS, LS e LA aumentou a produtividade de grãos. Analisando as combinações de leguminosas, GS e LS atingiram produtividades elevadas em comparação à GA e LA que foram mais produtivas que SL. A produtividade do milho com LS e NK foi 6,3 vezes maior do que a encontrada em SL com NK.

De forma geral, a aplicação de NK aumentou a massa da espiga, o nº de grãos/espiga e a produtividade em aleias com GS, LS e LA. O nitrogênio e o potássio são os nutrientes absorvidos em maiores quantidades pelo milho. O nitrogênio é um nutriente altamente limitante à produtividade de grãos e o potássio torna a absorção do nitrogênio pela planta mais eficiente (BRUULSEMA et al., 2012).

Os solos sem leguminosas (SL) obtiveram os menores valores para todas as avaliações agronômicas determinadas. Moura et al. (2012) utilizaram as mesmas combinações de leguminosas deste trabalho e adubação com 30 kg/ha de ureia e 60 kg/ha de cloreto de potássio, e afirmam que as leguminosas melhoraram as propriedades físicas do solo e, conseqüentemente, aumentaram a produtividade do milho que foi ainda maior quando associada à adubação.

Com GS e LS, foram obtidos os maiores valores de grãos/espiga, massa de espigas e produtividade de grãos. Possivelmente, a combinação de resíduos de alta qualidade (Gliricídia e Leucena) com o Sombreiro foi importante por proporcionar cobertura ao solo, ao mesmo tempo em que forneceu nutrientes para a cultura.

## 3.2 ANÁLISES QUÍMICAS

### 3.2.1 Composição centesimal

O Apêndice B apresenta os resultados das análises de variância para a composição centesimal. O teste F não foi significativo ( $P > 0,05$ ) para a interação, por isso, os fatores: aplicação de NK e combinações de leguminosas foram analisados separadamente.

Na Tabela 2, observa-se que as combinações de leguminosas não influenciaram os macronutrientes do milho. Quanto à adição de NK ao solo, houve um aumento do teor de proteína e, conseqüentemente, uma diminuição no teor de carboidratos totais.

Os teores de proteína não tiveram influência das combinações de leguminosas. A absorção de N pela cultura do milho não reflete exatamente a quantidade de N liberada a partir dos resíduos. Segundo Moura et al. (2009a), a utilização de N proveniente dos resíduos



depende da sincronização entre a necessidade da planta e a decomposição dos resíduos. No entanto, uma lenta decomposição da mistura de resíduos não é necessariamente um indicador de liberação de nutrientes mal correspondida para o crescimento das plantas. No sistema de aleias, a eficiência do uso de N liberado pelos resíduos é de aproximadamente 20%, que possivelmente não foram suficientes para o aumento na concentração de proteína.

Já as quantidades aplicadas de ureia e cloreto de potássio acarretaram um discreto acréscimo no conteúdo de proteína. Grant e Bruulsema (2012) relatam que a adubação nitrogenada em condições de deficiência de N pode aumentar o rendimento e o teor de proteína. Além disso, o potássio é necessário para a etapa principal de síntese de proteínas e para a produção de enzimas que regulam os processos de crescimento (MOURA et al., 2010).

No entanto, Wang, Li e Malhi (2008), ressaltam que a quantidade de fertilizante nitrogenado necessária para maximizar a produtividade de grãos não é a mesma quantidade necessária para produzir a concentração máxima de proteína no grão, geralmente esta é mais elevada do que a anterior.

**Tabela 2.** Composição centesimal (g/100 g) para os fatores NK e combinações de leguminosas.

Fatores	Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteína	Carboidratos totais
<b>NK</b>					
Com	12,4 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	5,6 <sup>a</sup>	10,4 <sup>a</sup>	69,9 <sup>b</sup>
Sem	12,6 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	9,4 <sup>b</sup>	71,3 <sup>a</sup>
<b>Leguminosas</b>					
GA	12,7 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	5,5 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	70,0 <sup>a</sup>
LA	11,9 <sup>a</sup>	1,6 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	71,2 <sup>a</sup>
LS	12,4 <sup>a</sup>	1,7 <sup>a</sup>	5,7 <sup>a</sup>	10,1 <sup>a</sup>	70,1 <sup>a</sup>
GS	13,2 <sup>a</sup>	1,8 <sup>a</sup>	5,0 <sup>a</sup>	10,0 <sup>a</sup>	69,9 <sup>a</sup>
SL	12,2 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	5,3 <sup>a</sup>	9,1 <sup>a</sup>	71,8 <sup>a</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.2.2 Análise de minerais

O Apêndice C apresenta as análises de variância para os dados de minerais. O teste F não foi significativo ( $P > 0,05$ ) para a interação, por isso, os fatores: aplicação de NK e combinações de leguminosas foram analisados separadamente. Observa-se na Tabela 3 que as combinações de leguminosas não interferiram nos teores de minerais, assim como a adição de NK ao solo também não.

A adição de cloreto de potássio e ureia ao solo não influenciou significativamente os teores de potássio nos grãos de milho. De acordo com Sawyer e Mallarino (2002), a absorção de potássio é altamente dependente da atividade da raiz e requer um sistema radicular com um crescimento vigoroso e capaz de absorver o potássio disponível. Nielsen (2012) explica que o aumento da oferta de potássio às raízes aumenta seu conteúdo em todos os órgãos da planta, exceto em grãos e sementes. Assim, o aumento do conteúdo de potássio no solo tem um impacto limitado sobre o potássio presente em sementes ou grãos de cereais.

Foi inesperado o fato das combinações de leguminosas não alterarem os teores de minerais. A aplicação de resíduos de leguminosas tem como característica: a alta quantidade de cálcio e potássio reciclados (MOURA et al., 2009b). No entanto, já foi citado por Aguiar et al. (2010), a incapacidade do sistema de aleias de manter suficientemente altas as concentrações de potássio e magnésio na zona de raiz. Também é relatada a baixa concentração de fósforo nos resíduos, sugerindo-se o uso de fertilizantes para aumentar a concentração deste mineral no solo durante as fases críticas.

**Tabela 3.** Teores de minerais (mg/100 g) para os fatores NK e combinações de leguminosas.

Fatores	Cálcio	Magnésio	Potássio	Fósforo	Zinco	Ferro	Iodo
<b>NK</b>							
Com	8,4 <sup>a</sup>	98,1 <sup>a</sup>	115,7 <sup>a</sup>	463,9 <sup>a</sup>	3,3 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	24,9 <sup>a</sup>
Sem	8,2 <sup>a</sup>	93,3 <sup>a</sup>	113,2 <sup>a</sup>	426,8 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	2,7 <sup>a</sup>	24,0 <sup>a</sup>
<b>Leguminosas</b>							
GA	8,5 <sup>a</sup>	92,5 <sup>a</sup>	114,1 <sup>a</sup>	446,4 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	2,9 <sup>a</sup>	26,2 <sup>a</sup>
LA	8,2 <sup>a</sup>	96,6 <sup>a</sup>	114,8 <sup>a</sup>	451,8 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	25,3 <sup>a</sup>
LS	8,2 <sup>a</sup>	99,3 <sup>a</sup>	115,6 <sup>a</sup>	453,9 <sup>a</sup>	3,4 <sup>a</sup>	3,1 <sup>a</sup>	23,7 <sup>a</sup>
GS	8,0 <sup>a</sup>	93,7 <sup>a</sup>	117,6 <sup>a</sup>	445,0 <sup>a</sup>	3,4 <sup>a</sup>	3,0 <sup>a</sup>	25,8 <sup>a</sup>
SL	8,8 <sup>a</sup>	96,5 <sup>a</sup>	110,2 <sup>a</sup>	429,8 <sup>a</sup>	3,2 <sup>a</sup>	2,9 <sup>a</sup>	21,5 <sup>a</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.2.3 Carotenoides totais

O Apêndice D apresenta as análises de variância para os carotenoides totais. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação dos fatores.

A aplicação de NK aumentou os teores de carotenoides totais de LA e SL, diminuiu o conteúdo em LS e não alterou os valores de GA e GS (Tabela 4). Bruulsema et al. (2012) relatam que a concentração de carotenoides tende a aumentar com a adubação nitrogenada. Oke e Paliyath (2012) atestaram que a adubação com potássio aumenta a atividade de enzimas relacionadas à biossíntese de carotenoides.

Outro fato a ser observado foi a ocorrência de diferenças significativas entre as combinações de leguminosas, sendo que a ausência de resíduos de leguminosas sobre o solo, denominada de SL, com aplicação de NK alcançou o maior teor de carotenoides totais.

Ao analisarem 24 variedades de milho, Tiwari et al. (2012) encontraram resultados de carotenoides totais que variaram de 12,2 a 30,1  $\mu\text{g/g}$  e não observaram diferença significativa entre os conteúdos de carotenoides de milhos QPM e não-QPM.

**Tabela 4.** Carotenoides totais ( $\mu\text{g/g}$ ) para a interação NK x combinações de leguminosas.

NK	Combinações de leguminosas				
	GA	GS	LS	LA	SL
Com	13,3 <sup>bcA</sup>	13,1 <sup>cA</sup>	13,5 <sup>bcB</sup>	14,3 <sup>abA</sup>	15,2 <sup>aA</sup>
Sem	12,8 <sup>bcA</sup>	13,2 <sup>abcA</sup>	14,0 <sup>aA</sup>	12,3 <sup>cB</sup>	13,6 <sup>abB</sup>

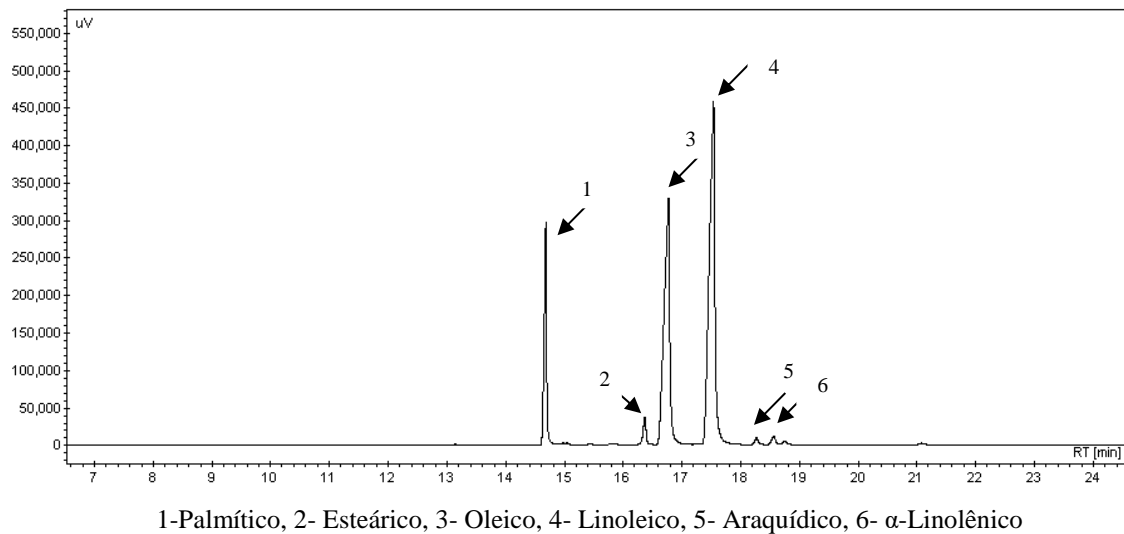
Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.2.4 Perfil de ácidos graxos

Os resíduos das leguminosas e a adubação com NK não interferiram na quantidade de lipídios totais, mas sim na qualidade do seu perfil. As pequenas diferenças embora tenham sido significativas não seriam capazes de modificar a qualidade do milho.

Vale a pena ressaltar que alguns ácidos graxos foram detectados em maiores quantidades como o palmítico (12,6% a 13,3%), o oleico (33,9% a 35,7%) e o linoleico (47,8% a 49,6%) (Figura 2). Orhun e Korkut (2011) também encontraram em óleos extraídos de 28 variedades de milho, ácido linoleico como majoritário (42,2% a 60,9%), seguido pelo oleico (23,3% a 43,4%) e palmítico (9,6% a 12,1%).

**Figura 2.** Cromatograma da composição de ácidos graxos do tratamento sem leguminosa e sem NK.



O Apêndice E apresenta as análises de variância para os teores de ácidos graxos. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação entre os fatores.

Pela análise dos resultados apresentados na Tabela 5, o ácido graxo palmítico teve um aumento no seu conteúdo com a aplicação de NK nas combinações de leguminosas: GA, GS, LA e SL. Teores significativamente maiores foram encontrados em SL (sem ou com NK) e LA com NK. O ácido esteárico resultou em conteúdos superiores em SL (sem ou com NK), LS com NK e GS sem NK.

A aplicação de NK acarretou um aumento no conteúdo de oleico em GA, LS e SL, ao mesmo tempo em que houve diminuição em GS e LA. Os maiores teores de oleico foram quantificados em LS (com NK) e em GS (sem NK).

Um dos principais representantes do grupo ômega 6, o ácido graxo linoleico, foi influenciado pela adição de NK ao solo que aumentou o teor em GS e diminuiu os teores em GA, LS, LA e SL. As maiores concentrações de linoleico foram detectadas em LA com NK e em SL sem NK. Com relação ao somatório de linolênico e araquídico (Outros), o solo sem leguminosas (SL), sem ou com NK, apresentou os maiores valores.

**Tabela 5.** Teores de ácidos graxos (g/100 g) para a interação NK x combinações de leguminosas.

NK	Combinações de leguminosas				
	GA	GS	LS	LA	SL
<b>Palmítico</b>					
Com	13,05 <sup>bA</sup>	13,08 <sup>bA</sup>	12,97 <sup>cA</sup>	13,33 <sup>aA</sup>	13,33 <sup>aA</sup>
Sem	13,00 <sup>bB</sup>	12,61 <sup>dB</sup>	12,98 <sup>cA</sup>	12,97 <sup>cB</sup>	13,13 <sup>aB</sup>
<b>Esteárico</b>					
Com	1,92 <sup>dB</sup>	2,03 <sup>bA</sup>	2,09 <sup>aA</sup>	1,99 <sup>cA</sup>	2,09 <sup>aA</sup>
Sem	1,98 <sup>cdA</sup>	2,04 <sup>aA</sup>	2,00 <sup>bcB</sup>	1,96 <sup>dB</sup>	2,02 <sup>abB</sup>
<b>Oleico</b>					
Com	35,02 <sup>cA</sup>	35,18 <sup>bB</sup>	35,45 <sup>aA</sup>	34,35 <sup>dB</sup>	35,31 <sup>bA</sup>
Sem	34,41 <sup>dB</sup>	35,73 <sup>aA</sup>	35,23 <sup>bB</sup>	34,57 <sup>cA</sup>	33,85 <sup>eB</sup>
<b>Linoleico</b>					
Com	48,71 <sup>bB</sup>	48,42 <sup>cA</sup>	48,18 <sup>dB</sup>	49,03 <sup>aB</sup>	47,78 <sup>eB</sup>
Sem	49,27 <sup>bA</sup>	48,27 <sup>eB</sup>	48,47 <sup>dA</sup>	49,15 <sup>cA</sup>	49,60 <sup>aA</sup>
<b>Outros*</b>					
Com	1,24 <sup>bB</sup>	1,27 <sup>bB</sup>	1,28 <sup>bA</sup>	1,25 <sup>bB</sup>	1,32 <sup>aB</sup>
Sem	1,30 <sup>bA</sup>	1,30 <sup>bA</sup>	1,29 <sup>bA</sup>	1,32 <sup>bA</sup>	1,35 <sup>aA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

\*Outros: representa o somatório dos ácidos linolênico e araquídico.

O Apêndice F exibe as análises de variância para os ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados e indica que a interação entre adição de NK e as combinações de leguminosas foi significativa ( $P \leq 0,05$ ). Os ácidos graxos saturados foram influenciados pela presença de NK que aumentou os teores em GS, LS, LA e SL. As maiores quantidades foram encontradas em SL, sem ou com NK (Tabela 6).

Para os monoinsaturados, a aplicação de NK foi responsável pelo acréscimo em GA, LS e SL, ao mesmo tempo em que diminuiu os teores em GS e LA. Destacaram-se dos demais, os valores encontrados em LS (com NK), SL (com NK) e GS (sem NK).

Com relação aos poli-insaturados, a presença de NK combinada aos resíduos de leguminosas GA, LS, LA e SL, diminuíram seus valores. Os maiores teores foram quantificados em LA (com NK) e SL (sem NK).

O milho QPM BR 473 se caracterizou por conter um óleo com alto teor de poli-insaturados (48,5% a 50,4%), seguido de monoinsaturados (33,9% a 35,7%) e finalmente de saturados (15,3% a 16,1%).

**Tabela 6.** Teores de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poli-insaturados (g/100 g) para a interação NK x combinações de leguminosas.

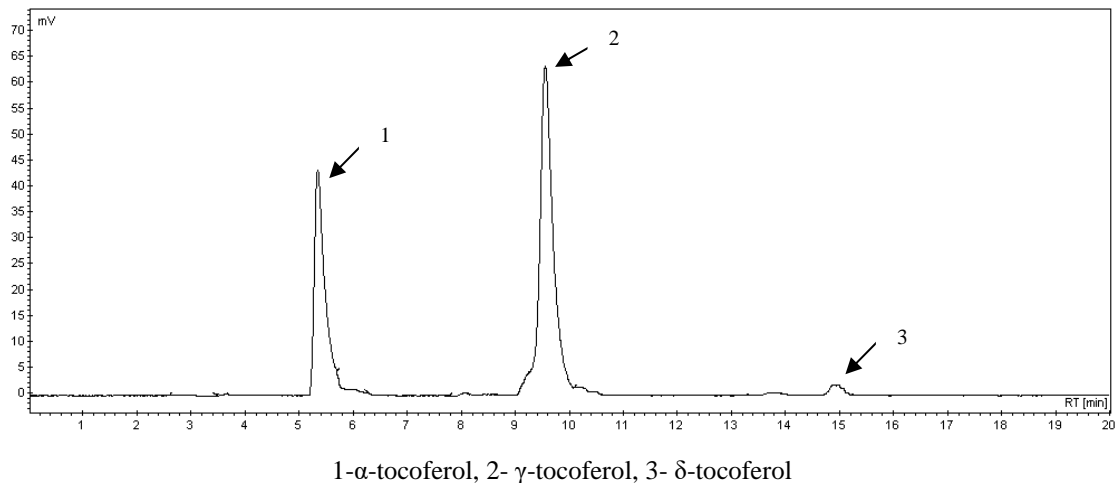
NK	Combinações de leguminosas				
	GA	GS	LS	LA	SL
<b>Saturados</b>					
Com	15,58 <sup>dA</sup>	15,70 <sup>cA</sup>	15,70 <sup>cA</sup>	15,94 <sup>bA</sup>	16,09 <sup>aA</sup>
Sem	15,56 <sup>bcA</sup>	15,27 <sup>dB</sup>	15,60 <sup>bB</sup>	15,53 <sup>cB</sup>	15,78 <sup>aB</sup>
<b>Monoinsaturados</b>					
Com	35,02 <sup>cA</sup>	35,18 <sup>bB</sup>	35,45 <sup>aA</sup>	34,35 <sup>dB</sup>	35,43 <sup>aA</sup>
Sem	34,41 <sup>dB</sup>	35,73 <sup>aA</sup>	35,23 <sup>bB</sup>	34,57 <sup>cA</sup>	33,85 <sup>eB</sup>
<b>Poli-insaturados</b>					
Com	49,40 <sup>bB</sup>	49,12 <sup>cA</sup>	48,86 <sup>dB</sup>	49,71 <sup>aB</sup>	48,48 <sup>eB</sup>
Sem	50,02 <sup>bA</sup>	49,00 <sup>eB</sup>	49,18 <sup>dA</sup>	49,90 <sup>cA</sup>	50,36 <sup>aA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.2.5 Tocoferóis

Os tocoferóis são compostos monofenólicos lipossolúveis que são encontrados nas formas de isômeros:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ . Os isômeros determinados em maiores concentrações nos óleos extraídos do milho QPM foram  $\gamma$ -tocoferol e  $\alpha$ -tocoferol (Figura 3).

**Figura 3.** Cromatograma da composição de tocoferóis do tratamento sem leguminosa e sem NK.



O  $\beta$ -tocoferol não foi detectado em GS sem NK e nos demais tratamentos seu conteúdo variou de 1,3 a 5,4 mg/kg. O Apêndice G mostra as análises de variância para os isômeros do tocoferol e indica que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação dos fatores.

Para o  $\alpha$ -tocoferol, os maiores teores foram encontrados em SL com NK e LS sem NK (Tabela 7). Para o  $\gamma$ -tocoferol, novamente SL com NK, assim como LS sem NK apresentaram diferença significativa dos demais. Analisando os conteúdos de  $\delta$ -tocoferol, verifica-se que SL (com ou sem NK) conteve os maiores teores deste isômero. Os teores de tocoferóis totais refletiram os resultados dos isômeros analisados, destacando SL com NK e LS sem NK.

As combinações de leguminosas sem aplicação de NK obtiveram maiores teores de tocoferóis do que as combinações com NK. Observou-se que os tratamentos que resultaram em maiores produtividades (GS e LS, ambos com NK), apresentaram os menores teores de tocoferóis. Sugere-se que os tocoferóis não estão relacionados à produtividade e que plantas mais produtivas tiveram menores concentrações de tocoferóis, provavelmente devido ao efeito de diluição.

De acordo com o *Codex Alimentarius* (2009), para o óleo extraído de milho, os teores de  $\alpha$ -tocoferol são encontrados de 23 a 573 mg/kg, de  $\beta$ -tocoferol variam de traços até 356 mg/kg, de  $\gamma$ -tocoferol de 268 a 2.468 mg/kg e o  $\delta$ -tocoferol de 23 a 75 mg/kg. Nota-se que apenas o teor de  $\gamma$ -tocoferol ficou abaixo do relatado pelo *Codex*. Provavelmente, esta diferença esteja relacionada à extração do óleo, que para o milho avaliado nesta tese, foi realizada pelo método de Bligh e Dyer.

**Tabela 7.** Teores de tocoferóis (mg/kg) para a interação NK x combinações de leguminosas.

NK	Combinações de leguminosas				
	GA	GS	LS	LA	SL
<b><math>\alpha</math>-tocoferol</b>					
Com	65,6 <sup>cB</sup>	61,0 <sup>dB</sup>	45,7 <sup>eB</sup>	70,6 <sup>bB</sup>	79,1 <sup>aB</sup>
Sem	105,5 <sup>cA</sup>	96,4 <sup>dA</sup>	123,4 <sup>aA</sup>	106,9 <sup>bA</sup>	80,8 <sup>eA</sup>
<b><math>\gamma</math>-tocoferol</b>					
Com	71,4 <sup>cB</sup>	51,2 <sup>eB</sup>	65,4 <sup>dB</sup>	79,5 <sup>bB</sup>	84,4 <sup>aB</sup>
Sem	113,7 <sup>cA</sup>	121,8 <sup>bA</sup>	157,4 <sup>aA</sup>	91,9 <sup>eA</sup>	105,8 <sup>dA</sup>
<b><math>\delta</math>-tocoferol</b>					
Com	10,5 <sup>bB</sup>	10,4 <sup>bB</sup>	9,7 <sup>cB</sup>	10,5 <sup>bA</sup>	11,4 <sup>aB</sup>
Sem	11,1 <sup>bcA</sup>	10,7 <sup>cdA</sup>	11,2 <sup>bA</sup>	10,6 <sup>dA</sup>	69,3 <sup>aA</sup>
<b>Tocoferol total</b>					
Com	149,5 <sup>cB</sup>	125,7 <sup>dB</sup>	122,7 <sup>eB</sup>	161,9 <sup>bB</sup>	178,3 <sup>aB</sup>
Sem	232,5 <sup>cA</sup>	228,9 <sup>dA</sup>	293,7 <sup>aA</sup>	214,9 <sup>eA</sup>	257,9 <sup>bA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

#### **4 CONCLUSÃO**

As deposições da biomassa das leguminosas juntamente com a adubação com NK aumentam a produtividade do milho QPM BR 473.

O conteúdo de proteína eleva-se com aplicação de 80-80 kg/ha de NK e as combinações de leguminosas sem aplicação de NK têm maiores teores de tocoferóis.

A interação da aplicação de NK com as combinações de leguminosas influencia nos teores de carotenoides e no perfil de ácidos graxos, no entanto, não altera significativamente os conteúdos de umidade, de cinzas, de lipídios totais e de minerais do milho QPM BR 473 cultivado no trópico úmido.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A. C. F.; BICUDO, S. J.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; MARTINS, A. L. S.; COELHO, K. P.; MOURA, E. G. Nutrient recycling and physical indicators of an alley cropping system in a sandy loam soil in the pre-Amazon region of Brazil. **Nutrient Cycling Agroecosystems**, Dordrecht, v. 86, p. 189-198, 2010.

ALBUQUERQUE, M. B.; SANTOS, R. C.; LIMA, L. M.; MELO FILHO, P. A.; NOGUEIRA, R. J. M. C.; CÂMARA, C. A. G.; RAMOS, A. R. Allelopathy, an alternative tool to improve cropping systems. A review. **Agronomy for Sustainable Development**, Paris, v. 31, p. 379-395, 2011.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: AOAC, 2005.

AOCS - AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. Champaign: AOCS, 2009.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.

BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. Fertilizing crops to improve human health: a scientific review. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 1-9. Disponível em: [www.ipni.net/article /IPNI-3269](http://www.ipni.net/article/IPNI-3269). Acesso em: 28 junho 2013.

CODEX ALIMENTARIUM COMMISSION. **Codex Stan 210-1999**: codex standard for named vegetable oils. Rome, 2009.

FERRAZ JUNIOR, A. S. L. O cultivo em aleias como alternativa para a produção de alimentos na agricultura familiar do trópico úmido. In: MOURA, E. G. (Ed.). **Agroambientes de transição: entre o trópico úmido e o semi-árido do Brasil**. São Luís: Universidade Estadual do Maranhão, 2004, p. 71-100.

GRANT, C.; BRUULSEMA, T. W. Protein, carbohydrate and oil composition of food crops. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 143-174. Disponível em: <http://www.ipni.net/article /IPNI-3269>. Acesso em: 28 junho 2013.

IMO, M.; TIMMER, V. R. Vector competition analysis of a Leucaena-maize alley cropping system in western Kenya. **Forest Ecology Management**, Amsterdam, v. 126, p. 255-268, 2000.

MOURA, E. G.; MOURA, N. G.; MARQUES, E. S.; PINHEIRO, K. M.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Evaluating chemical and physical quality indicators for a structurally fragile tropical soil. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 25, p. 368-375, 2009a.

MOURA, E. G.; ARAUJO, J. R. G.; MONROE, P. H. M.; NASCIMENTO, I. O.; AGUIAR, A. C. F. Patents on Periphery of the Amazon Rainforest. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, Roma, v. 1, p. 142-148, 2009b.

MOURA, E. G.; SERPA, S. S.; SANTOS, J. G. D.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Nutrient use efficiency in alley cropping systems in the Amazonian periphery. **Plant Soil**, Czech Republic, v. 335, p. 363-371, 2010.

MOURA, E. G.; OLIVEIRA, A. K. C.; COUTINHO, G.; PINHEIRO, K. M.; AGUIAR, A. C. F. Management of a cohesive tropical soil to enhance rootability and increase the efficiency of nitrogen and potassium use. **Soil Use and Management**, Oxford, v. 28, p. 370-377, 2012.

NIELSEN, F. Calcium, Magnesium and Potassium in Food. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 123-142. Disponível em: <http://www.ipni.net/article/IPNI-3269>. Acesso em: 28 junho 2013.

OKE, M.; PALIYATH, G. Fertilizer application and nutraceutical content in health-functional foods. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 175-191. Disponível em: [www.ipni.net/article/IPNI-3269](http://www.ipni.net/article/IPNI-3269). Acesso em: 28 junho 2013.

ORHUN, G. E.; KORKUT, K. Z. Interrelationships among the oil and fatty acids in maize. **African Journal of Agricultural Research**, Ebène, v. 6, p. 2115-2117, 2011.

PRASANNA, B. M.; VASAL, S. K.; KASSAHUN, B.; SINGH, N. N. Quality protein maize. **Current Science**, Bangalore, v. 81, p. 1308-1319, 2001.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington: IFPRI and CIAT, 2004, 59 p.

SALTZMAN, A.; BIROL, E.; BOUIS, H. E.; BOY, E.; MOURA, F. F.; ISLAM, Y.; PFEIFFER, W. H. Biofortification: progress toward a more nourishing future. **Global Food Security**, Lincoln, v. 2, p. 9-17, 2013.

SAWYER, J. E.; MALLARINO, A. P. Corn leaf potassium deficiency symptoms. In: **The Integrated Crop Management Newsletter**. IC-488. Iowa State University Extension, USA, 2002, 4p.

SOUZA, E. A. **Plantio direto na palha de leguminosas como estratégia para melhorar a eficiência de uso de nutrientes em milho QPM**. 2013. 66f. Dissertação (Mestrado em Agroecologia) – Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2013.

TIAN, G.; BRUSSAARD, L.; KANG, B. An index for assessing the quality of plant residues and evaluating their effects on soil and crop in the (sub-) humid tropics. **Applied Soil Ecology**, Amsterdam, v. 2, p. 25-32, 1995.

TIWARI, A.; PRASANNA, B. M.; HOSSAIN, F.; GURUPRASAD, K. N. Analysis of genetic variability for kernel carotenoid concentration in selected maize inbred lines. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 72, p. 1-6, 2012.

TSOKOVA, P.; BOHM, C.; QUINKENSTEIN, A.; FREESE, D. Ecological benefits provided by alley cropping systems for production of woody biomass in the temperate region: a review. **Agroforestry Systems**, Dordrecht, v. 85, p. 133-152, 2012.

WANG, Z. H.; LI, S. X.; MALHI, S. Effects of fertilization and other agronomic measures on nutritional quality of crops. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 88, p. 7-23, 2008.

**Apêndice A** - Análises de variância para a avaliação agronômica do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM			
		Massa de 100 grãos	Grãos/espiga	Massa de espigas	Produtividade de grãos
Leguminosas	4	1,5001**	1.700,0002**	95,4212**	384,6100**
NK	1	0,7012 <sup>ns</sup>	62.961,0123**	10.844,0100**	220,9000**
Leguminosas x NK	4	0,8011**	3.875,0121**	1.072,4511**	40,4322**
Tratamentos	9	0,0096*	2,0096*	1,0011*	4,1116*
Blocos	3	0,0041 <sup>ns</sup>	1,0041 <sup>ns</sup>	2,0021 <sup>ns</sup>	3,0432 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,0221	3,0001	0,8901	15,0011
DP		3,45	5,51	1,81	4,80
CV (%)		1,82	4,29	4,67	1,55

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice B** - Análises de variância para a composição centesimal do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM				
		Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteína	Carboidratos
Leguminosas	4	2,0221 <sup>ns</sup>	0,0620 <sup>ns</sup>	0,5472 <sup>ns</sup>	1,6630 <sup>ns</sup>	5,8021 <sup>ns</sup>
NK	1	0,2331 <sup>ns</sup>	0,0689 <sup>ns</sup>	1,8022 <sup>ns</sup>	9,2160*	17,3110*
Leguminosas x NK	4	3,0381 <sup>ns</sup>	0,0460 <sup>ns</sup>	0,8222 <sup>ns</sup>	0,1790 <sup>ns</sup>	4,6211 <sup>ns</sup>
Tratamentos	9	0,0089 <sup>ns</sup>	0,0029 <sup>ns</sup>	0,0096 <sup>ns</sup>	0,0011*	1,1116*
Blocos	3	0,0870 <sup>ns</sup>	0,0123 <sup>ns</sup>	0,0041 <sup>ns</sup>	0,0021 <sup>ns</sup>	2,0432 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	2,6061	0,0320	0,8352	0,6380	3,0000
DP		1,59	0,19	0,91	0,96	1,95
CV (%)		1,27	1,16	1,70	9,68	2,76

\*significativo a 5%

ns: não significativo

**Apêndice C** - Análises de variância para teores de minerais do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM						
		Ca	Mg	K	P	Zn	Fe	I
Leguminosas	4	0,8361 <sup>ns</sup>	56,8121 <sup>ns</sup>	59,3000 <sup>ns</sup>	719,0120 <sup>ns</sup>	0,1478 <sup>ns</sup>	0,0357 <sup>ns</sup>	28,8311 <sup>ns</sup>
NK	1	0,3201 <sup>ns</sup>	233,9001 <sup>ns</sup>	67,7001 <sup>ns</sup>	13.803,0001 <sup>ns</sup>	0,2673 <sup>ns</sup>	2,7301 <sup>ns</sup>	9,1100 <sup>ns</sup>
Leguminosas x NK	4	1,2131 <sup>ns</sup>	28,6342 <sup>ns</sup>	61,5100 <sup>ns</sup>	836,0121 <sup>ns</sup>	0,0967 <sup>ns</sup>	0,0780 <sup>ns</sup>	3,5622 <sup>ns</sup>
Tratamentos	9	0,0059 <sup>ns</sup>	6,0129 <sup>ns</sup>	4,0096 <sup>ns</sup>	8,0096 <sup>ns</sup>	0,0096 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>	4,1116 <sup>ns</sup>
Blocos	3	0,0670 <sup>ns</sup>	5,0623 <sup>ns</sup>	3,0041 <sup>ns</sup>	9,0041 <sup>ns</sup>	0,0041 <sup>ns</sup>	0,0021 <sup>ns</sup>	3,0432 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,6141	3,2001	1,4000	5,0009	0,2166	0,4358	4,0234
DP		1,49	1,71	10,33	6,95	0,44	0,64	6,39
CV (%)		1,79	1,79	9,02	1,56	1,36	2,17	2,61

ns: não significativo

**Apêndice D** - Análise de variância para teor de carotenoides totais do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM
Leguminosas	4	2,5271*
NK	1	5,0131*
Leguminosas x NK	4	2,2351*
Tratamentos	9	2,6733**
Blocos	3	0,0690 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,2787
DP		0,90
CV (%)		6,67

\*significativo a 5%

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice E** - Análises de variância para teores de ácidos graxos dos óleos extraídos do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM				
		Palmítico	Estearico	Oleico	Linoleico	Outros
Leguminosas	4	0,1783**	0,0184**	1,6615**	1,0107**	0,0055**
NK	1	0,4551**	0,0058**	0,9282**	2,7945**	0,0165**
Leguminosas x NK	4	0,0805**	0,0072**	1,2125**	1,1809**	0,0009*
Tratamentos	9	0,1656**	0,0120**	1,3805**	1,2846**	0,0047**
Blocos	3	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0003 <sup>ns</sup>	0,0041 <sup>ns</sup>	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0008 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,0002	0,0002	0,0041	0,0004	0,0003
DP		0,19	0,06	0,57	0,55	0,04
CV (%)		1,51	2,75	1,63	1,12	5,00

\*significativo a 5%

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice F** - Análises de variância para os ácidos graxos dos óleos extraídos do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM		
		Saturados	Monoinsaturados	Poli-insaturados
Leguminosas	4	0,2399**	1,5889**	1,0529**
NK	1	0,6317**	1,0802**	3,3640**
Leguminosas x NK	4	0,0689**	1,3569**	1,2080**
Tratamentos	9	0,2074**	1,4293**	1,3786**
Blocos	3	0,0009 <sup>ns</sup>	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0011 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,0005	0,0004	0,0007
DP		0,22	0,58	0,57
CV (%)		1,41	1,65	1,15

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice G** - Análises de variância para teores de tocoferóis dos óleos extraídos do milho QPM.

Fontes de variação	G.L.	QM			
		$\alpha$ -tocoferol	$\gamma$ -tocoferol	$\delta$ -tocoferol	Total
Leguminosas	4	128,4570**	863,1584**	1.414,9995**	2.139,3229**
NK	1	14.445,0647**	22.800,6264**	1.463,2934**	95.959,0103**
Leguminosas x NK	4	1.456,5635**	2.226,9568**	1.310, 2698**	3.980,9788**
Tratamentos	9	2.309,4608**	3.906,7875**	1.373,8189**	13.382,2463**
Blocos	3	0,0802 <sup>ns</sup>	1,3005 <sup>ns</sup>	0,1140 <sup>ns</sup>	0,7891 <sup>ns</sup>
Resíduo	27	0,0824	1,2764	0,0383	1,1019
DP		2,31	3,01	1,79	5,58
CV (%)		2,77	3,20	10,8	2,83

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Capítulo 3 - Avaliação da influência do sistema de plantio e da adição de ureia na qualidade da mandioca biofortificada com pró-vitamina A**



## RESUMO

A biofortificação da mandioca para aumentar seu conteúdo de vitamina A tem o propósito de elevar a ingestão deste nutriente e diminuir o número de casos de cegueira que atingem principalmente as crianças. Este trabalho tem como objetivo avaliar a influência do cultivo em aleias e da aplicação de ureia nas características agronômicas e nutricionais da mandioca biofortificada. Foram utilizadas as combinações de leguminosas: GA (Gliricídia + Acácia), GS (Gliricídia + Sombreiro), GL (Gliricídia + Leucena), LA (Leucena + Acácia), LS (Leucena + Sombreiro) e sem leguminosas (SL), com ou sem a adição de 100 kg/ha de ureia (N). Para avaliação agronômica, determinaram-se a produção de parte aérea, número de raízes por pé, massa de raiz e produtividade de raízes. Foram analisadas: composição centesimal, teor de amido, tempo de cocção, teor de minerais, perfil de carotenoides e conteúdo de pró-vitamina A. Quanto às características agronômicas, a aleia com GL, com ou sem adição de ureia, proporcionou alta produtividade (33,7 e 33,1 t/ha, respectivamente), enquanto o solo sem leguminosas (SL) e sem ureia apresentou a menor produtividade (9,6 t/ha). A aplicação de ureia aumentou o conteúdo de proteína e sua interação com os resíduos de leguminosas elevou o conteúdo de amido das raízes, que alcançou 38,8% com GS e ureia. Para o tempo de cocção, com LS e sem ureia, a mandioca apresentou 25 minutos, em contrapartida, com LA e GA sem ureia foram necessários apenas 8 minutos de cozimento. A combinação de leguminosas influenciou os teores de potássio e magnésio, enquanto a interação com a adição de ureia alterou os teores de cálcio. Os teores de fósforo, zinco e iodo não apresentaram diferenças significativas. Os carotenoides identificados foram: luteína, zeaxantina, *cis*  $\beta$ -criptoxantina, *cis*  $\zeta$ -caroteno, *trans*  $\zeta$ -caroteno, *trans*  $\beta$ -caroteno, (9-*cis*)  $\beta$ -caroteno e (13-*cis*)  $\beta$ -caroteno. Os teores de pró-vitamina A variaram de 3,8 a 12,4 RAE/100 g, e o maior valor foi encontrado com GS e adição de ureia. Com base nos resultados, observou-se que as diferentes misturas de resíduos de leguminosas juntamente com a adição de ureia melhoraram a produtividade e influenciaram os teores de grande parte dos nutrientes da mandioca.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta*, aleias, nitrogênio, carotenoides, sistema de produção.

## 1 INTRODUÇÃO

A mandioca foi uma das primeiras culturas a serem domesticadas, consumida por milhões de pessoas em países em desenvolvimento, é o principal alimento em regiões da África e América Latina. O importante papel da mandioca em manter a segurança alimentar pode ser atribuído ao seu fácil cultivo e à tolerância a solos pobres, à baixa precipitação e a altas temperaturas. Adicionalmente, a mandioca não requer manejo intensivo como outras culturas, como milho, trigo e arroz (BURNS et al., 2012). Além de sua colheita ser flexível quanto à época, geralmente de 8 a 24 meses após o plantio (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009). A composição química da mandioca varia não somente com a cultivar, mas também com a idade de colheita e condições ambientais durante o desenvolvimento da cultura (CENI et al., 2009).

Uma refeição com cerca de 500 g de produtos à base de mandioca fornece grande parte do requerimento mínimo diário de energia, mas somente pequena parte do necessário de vitamina A, proteína, ferro e zinco. Este é um aspecto crítico para as famílias que têm a mandioca como o constituinte principal de sua alimentação e não têm acesso a outras fontes alternativas de nutrientes (MONTAGNAC; DAVIS; TANUMIHARDJO, 2009).

Pesquisas são realizadas para enriquecer a mandioca com carotenoides precursores da vitamina A através do melhoramento convencional (SALTZMAN et al., 2013). A vitamina A é lipossolúvel e desempenha importante papel em diversos processos vitais como: manutenção da visão, integridade do sistema imunológico, formação de estruturas ósseas, na reprodução e no crescimento (DAMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). Os carotenoides pró-vitamina A presentes em frutas e vegetais contribuem com dois terços da ingestão dietética de vitamina A em todo o mundo e mais de 80% do consumo em países em desenvolvimento (CHÁVEZ et al., 2007).

O fornecimento das manivas de mandiocas biofortificadas aos pequenos agricultores não é suficiente para que estes consigam melhorar sua alimentação. É necessário que o sistema de plantio seja eficiente do ponto de vista de fornecer nutrientes e melhorar a eficiência do uso destes nutrientes pelas plantas.

Infelizmente, nos trópicos úmidos, as altas temperaturas e a chuva combinadas com solos derivados de rochas sedimentares resultam em condições desfavoráveis para o acúmulo de matéria orgânica e disponibilidade de nitrogênio. Em particular, um cultivo contínuo de mandioca na mesma área de plantio reduz a disponibilidade de nutrientes e resulta em depleção da fertilidade do solo. Estes fatores são agora reconhecidos como causas de

desflorestamento e declínio da segurança alimentar na região Amazônica e redondezas (AGUIAR et al., 2011).

Para contornar estes obstáculos, os agricultores desta região praticam uma agricultura itinerante que está associada ao corte e queima da vegetação natural, onde a mandioca tem uma função importante devido à tolerância aos sistemas de baixa fertilidade. Infelizmente, este sistema tem efeitos negativos no meio ambiente, tanto local como global, e não fornece benefícios sociais às comunidades rurais (MOURA et al., 2014).

O sistema de aleias é uma alternativa de agricultura sustentável por meio do qual se consegue: alta produtividade, possibilidade de plantio na mesma área com produção estável ou crescente em função da adição constante de matéria orgânica, preservação das áreas que seriam queimadas, segurança alimentar e aumento da renda das famílias dos agricultores (MOURA; AGUIAR, 2007).

A eficiência deste sistema pode ser aumentada ao se combinar resíduos de baixa e alta qualidade provenientes de leguminosas. Primeiramente, a enraizabilidade do solo é melhorada por resíduos de baixa qualidade, o que leva a uma maior absorção de nutrientes. Segundo, a aplicação de resíduos de alta qualidade aumenta a ciclagem de nutrientes que por sua vez, melhora a disponibilidade de nutrientes. Entretanto, as leguminosas também modificam o ambiente em favor de seu crescimento. Assim várias interações negativas ou antagônicas, tanto competitivas como alelopáticas, podem influenciar os componentes de culturas de sistemas agroflorestais (MOURA et al., 2013).

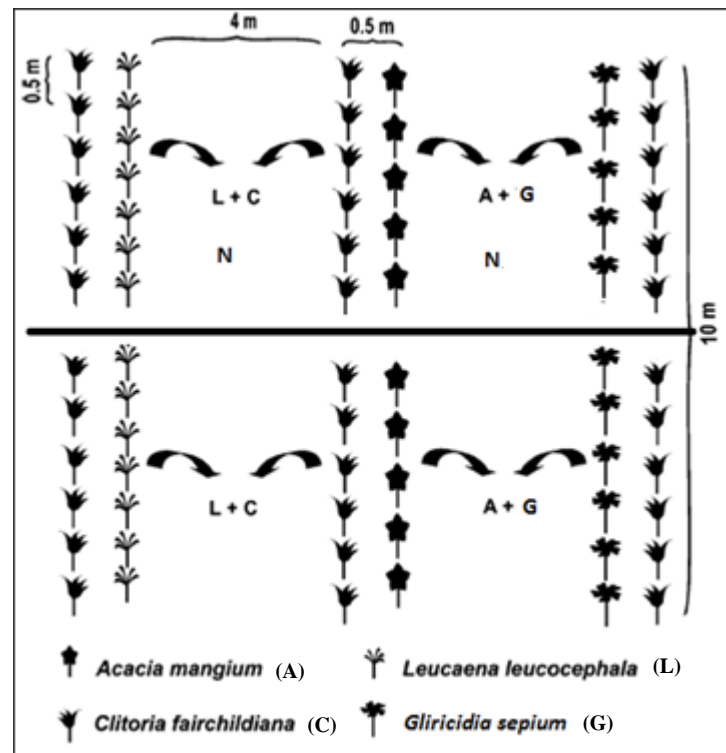
Portanto, o objetivo do trabalho foi avaliar as características agronômicas e nutricionais da mandioca biofortificada em pró-vitamina A da variedade BRS Dourada, quando cultivada em sistema de aleias, sem e com adição de ureia.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

A mandioca biofortificada em pró-vitamina A da variedade BRS Dourada foi plantada em área experimental localizada no Núcleo Tecnológico de Engenharia Rural, da Universidade Estadual do Maranhão, na cidade de São Luís, MA (2° 30'S, 44° 18' W).

O sistema de aleias já instalado utilizava as leguminosas: Acácia – A (*Acacia mangium*), Gliricídia – G (*Gliricidia sepium*), Leucena – L (*Leucaena leucocephala*) e Sombreiro – S (*Clitoria fairchildiana*). As leguminosas estavam espaçadas em 0,5 m entre as plantas na linha e em 4 m entre linhas nas parcelas de 5 x 4 m (Figura 1).

**Figura 1.** Diagrama das parcelas experimentais indicando os tratamentos com e sem N.



A área experimental foi corrigida com a aplicação superficial de 1 Mg/ha de calcário, o que correspondeu a 279 e 78 kg/ha de Ca e Mg, respectivamente. A adubação mineral realizada no plantio em toda área experimental foi de 40 kg/ha de superfosfato triplo e 70 kg/ha de cloreto de potássio, de acordo com a análise do solo. O plantio da mandioca foi realizado em abril de 2012, no período chuvoso, com as manivas espaçadas 1,0 m das leguminosas e 0,5 m entre si.

A adubação de cobertura foi realizada no momento do plantio e no ano de 2013 no início do período de chuva, com aplicação de 100 kg/ha de ureia (N) apenas nas parcelas selecionadas. As leguminosas arbóreas foram podadas a 50 cm de altura, para maximizar a exposição solar na área.

As combinações de biomassa foram ajustadas de acordo com os teores do elemento e as curvas de liberação dos nutrientes encontradas por Aguiar et al. (2010) e Moura et al. (2010), para garantir o aporte da mesma quantidade de N orgânico nos diferentes tratamentos no momento da distribuição superficial. Efeitos alelopáticos dos resíduos de leguminosas facilitaram o controle das plantas daninhas, no entanto, as remanescentes foram removidas manualmente.

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados em um esquema fatorial 6 x 2. O primeiro fator se refere às combinações de leguminosas: GA, GS, GL, LA, LS e sem leguminosas (SL). O segundo fator se refere à adição ou não de 100 kg/ha de ureia como fonte de N. Desta forma, formaram-se 12 tratamentos que repetidos em 4 blocos, resultaram em 48 parcelas.

## 2.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS

A mandioca foi colhida em outubro de 2013, após 18 meses de plantio e foram avaliados: produtividade de parte aérea, número de raízes por pé, massa de raiz e produtividade total de raízes.

## 2.2 OBTENÇÃO E ARMAZENAMENTO DAS AMOSTRAS

As raízes foram colhidas manualmente. Após lavagem em água corrente, aproximadamente 500 g foram separados de cada parcela, embalados a vácuo, identificados e armazenados em freezer a -18°C até envio em caixa de isopor para o campus da UNESP em São José do Rio Preto para as respectivas análises.

## 2.3 ANÁLISES QUÍMICAS

### 2.3.1 Composição centesimal

Para as análises de umidade e cinzas, as raízes de mandioca foram descascadas e trituradas. Para a determinação de lipídios e proteína, foram secas em estufa a 50°C por 24 horas.

- Umidade

Pesou-se 3 g de amostra e submeteu-se a aquecimento em estufa (modelo TE-393 marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil), a 105°C até obtenção de peso constante segundo método nº 925.40 (AOAC, 2005).

- Cinzas

Pesou-se 3 g de amostra que foram carbonizados em chapa aquecedora e incinerados em mufla (modelo EDGCon 3P F300, marca EDG, Campinas, SP, Brasil) a 550°C até obtenção de peso constante segundo método nº 923.03 (AOAC, 2005).

- Lipídios

Foram extraídos e quantificados segundo a metodologia de Bligh e Dyer (1959). Pesou-se 3 g de amostra e após transferência para tubo de 70 mL, adicionou-se 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água, agitou-se lentamente por 30 min. Acrescentou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%, agitou-se por 2 min. Deixou-se em repouso por 24 h e descartou-se a camada superior. Filtrou-se a camada inferior adicionando 1 g de sulfato de sódio ao papel de filtro. Transferiu-se 5 mL do filtrado para cadinho previamente seco e tarado e submeteu-se ao aquecimento a 105°C em estufa (modelo TE-393 marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) por 1 h. Após pesagem do cadinho fez-se o cálculo dos lipídios totais.

- Proteína

Utilizou-se a metodologia de micro Kjeldahl método nº 950.48 com modificações (AOAC, 2005). Amostras de 0,5 g foram pesadas e transferidas para um tubo de digestão, adicionou-se 2,5 g de mistura catalisadora e 7 mL de ácido sulfúrico concentrado. A digestão iniciou-se a 50°C e aumentou-se gradativamente a temperatura até atingir 350°C. A digestão continuou até o líquido apresentar coloração verde. Após esfriar, conectou-se o tubo ao aparelho de destilação e a ponta do condensador foi mergulhada em um erlenmeyer de 250 mL, contendo 20 mL de solução de ácido bórico a 4% e 3 gotas de indicador de Peterson. Esse indicador foi preparado com 10 mL de solução de vermelho de metila 0,1% e 70 mL de azul de metileno 0,05%. Adicionou-se lentamente solução de hidróxido de sódio 50% ao tubo contendo a amostra até o aparecimento de precipitado pardo escuro de óxido cúprico. A destilação foi realizada em destilador (modelo TE 036/1, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) controlando-se a temperatura até atingir o volume de 100 mL. O destilado foi titulado com solução de ácido clorídrico padronizado 0,1 N. Calculou-se o teor de nitrogênio e para convertê-lo em proteína bruta multiplicou-se pelo fator de conversão de 6,25.

- Carboidratos totais

O teor de carboidratos totais foi estimado por diferença, subtraindo-se de 100 os valores em porcentagens de umidade, cinzas, lipídios e proteína.

### **2.3.2 Teor de amido**

Após a desidratação das raízes de mandioca em estufa (modelo TE-393, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 50°C por 24 horas foi determinado o teor de amido por hidrólise enzimática segundo o método 996.11 da AOAC (2005) com modificações. Foram utilizadas 100 mg de amostra, adicionadas de 0,2 mL de etanol 80%, 3 mL de tampão fosfato de sódio 0,2 M pH 6,8 e 100 µL de  $\alpha$ -amilase termoestável (A3306 – Sigma). Levou-se para banho-maria (modelo NT245, marca Nova Técnica, Piracicaba, SP, Brasil) a 95°C por 5 minutos. Em seguida, foram acrescentados 4 mL de tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 e 100 µL de amiloglicosidase (A9913 – Sigma), permanecendo a 50°C em banho-maria com agitação (Dubnoff NT232, marca Nova Técnica, Piracicaba, SP, Brasil) por 30 minutos. Transferiu-se o conteúdo para balão de 100 mL, completou-se o volume com água e filtrou-se com papel de filtro. O teor de glicose foi determinado pelo kit Glucox 500 da marca Doles e convertido a amido multiplicando-se pelo fator 0,9.

### **2.3.3 Tempo de cocção**

As raízes foram descascadas, cortadas em pedaços de 5 cm e pesadas. O tempo de cozimento foi avaliado usando-se 50 g de mandioca imersos em 500 mL de água, em recipiente de inox aberto, até que o material não apresentasse resistência à perfuração por garfo de aço inoxidável (Pereira, Lorenzi e Valle; 1985).

### **2.3.4 Análise de minerais**

As raízes de mandioca foram descascadas, trituradas e secas em estufa (modelo TE-393, marca Tecnal, Piracicaba, SP, Brasil) a 50°C por 24 horas. As amostras (1 g) foram digeridas por via úmida a 200°C por 1 h em 10 mL de solução de ácido nítrico: ácido perclórico (2+1) segundo método 984.27 da AOAC (2005). Após transferência para balão volumétrico de 50 mL e completado volume com água, fez-se a determinação dos minerais em Espectrômetro de Emissão Óptica por Plasma Indutivamente Acoplado (modelo 720-ES, marca Varian, Walnut Creek, CA, USA) com auxílio do Software ICP Expert II. As condições de operação do equipamento foram: potência do plasma 1,0 kW; gás auxiliar (Ar) a 1,5 L/min; pressão do nebulizador de 200 kPa, fluxo do plasma 15,0 L/min.

### 2.3.5 Determinação de carotenoides e pró-vitamina A

Para minimizar a degradação de carotenoides, todas as etapas foram realizadas em ambiente com temperatura controlada e luminosidade reduzida. A análise de carotenoides foi realizada segundo Rodriguez-Amaya e Kimura (2004). Os carotenoides foram extraídos de 20 g de mandioca com acetona resfriada, 3 g de celite, como auxiliar de extração, e 0,1% de antioxidante BHT para minimizar a degradação dos carotenoides. A extração foi repetida até a descoloração total do resíduo (cerca de quatro extrações sucessivas) utilizando o homogeneizador Polytron.

Os carotenoides foram transferidos da acetona para o éter de petróleo, usando um funil de separação. Filtrou-se com sulfato de sódio para balão de 25 mL e completou-se o volume com éter de petróleo. Os carotenoides totais foram determinados em espectrofotômetro UV-visível (modelo Lambda 25, marca Perkin Elmer, Palo Alto, CA, USA) usando absorvância no comprimento de onda máximo de absorção ( $\lambda_{max}$ ) e coeficiente de absorvância ( $A_{1cm}^{1\%}$ ) do  $\beta$ -caroteno.

O extrato foi evaporado a vácuo (temperatura inferior a 35°C) até quase securo, diluído com 1 mL de acetona grau CLAE e filtrado em Millex LCR com membrana PTFE modificada 0,45  $\mu$ m 13 mm (Millipore). A separação foi realizada em cromatógrafo líquido de alta eficiência (Varian, Walnut Creek, CA, USA) equipado com detector por arranjo de diodos (PDA PS-335), bomba quaternária (PS-240), injetor automático (PS-410) e software Galaxie 1.9, em ambiente com temperatura controlada ( $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ).

Os carotenoides foram separados em coluna C18 ODS-2 150 x 4,6 mm 3  $\mu$ m (Waters), utilizando acetonitrila (contendo 0,05% de trietilamina): metanol: acetato de etila iniciando com gradiente de 95:5:0; seguido de 93:7:0 durante os 7 minutos iniciais; 60:20:20 entre 20 e 38 min de corrida e mantendo a proporção de 95:5:0 até o final da corrida (42 min). O tempo de equilíbrio da coluna foi de 4 min. O fluxo utilizado foi de 0,5 mL/min e o volume de amostra injetado foi de 10  $\mu$ L.

Os carotenoides foram identificados de acordo com: a) tempo de retenção, usando padrões de carotenoides analisados nas mesmas condições cromatográficas; b) pelo comprimento de onda máximo ( $\lambda_{max}$ ) absorvido pelo detector de iodo; c) pela área (%III/II que é expressa pelo quociente entre a altura do pico com maior comprimento de onda (III) e pelo pico com absorção intermediária (II) multiplicado por 100); d) a presença ou ausência do pico cis entre 340 e 346 nm.

A concentração de cada carotenoide identificado foi calculada por padronização externa. Curvas padrões foram preparadas usando 6 diferentes pontos de concentração de



zeaxantina, luteína,  $\zeta$ -caroteno e  $\beta$ -caroteno fornecidos pela DSM Nutritional Products. O *cis*  $\beta$ -criptoxantina foi estimado usando curva padrão de  $\beta$ -caroteno. Os cálculos de concentração de carotenoides da mandioca foram corrigidos de acordo com o grau de pureza de cada padrão.

A pró-vitamina A foi calculada de acordo com o fator de conversão em que 12  $\mu\text{g}$  de *trans*  $\beta$ -caroteno e 24  $\mu\text{g}$  de isômeros *cis* do  $\beta$ -caroteno e da  $\beta$ -criptoxantina correspondem a 1 RAE (Equivalente de atividade retinol) (IOM, 2001).

## 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram submetidos à análise de variância de dois fatores e teste de comparação de médias de Tukey a 5%. A análise de correlação de Pearson foi realizada entre as medidas de teor de amido, cálcio, magnésio e o tempo de cocção, também entre teor de proteína e carotenoides totais. Para a análise estatística utilizou-se o programa Assistat versão 7.7.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 AVALIAÇÕES AGRONÔMICAS

O Apêndice A apresenta as análises de variância das avaliações agronômicas. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação dos fatores: adição de N e combinações de leguminosas, em relação à parte aérea e produtividade; e não foi significativo ( $P > 0,05$ ) para o n° de raízes/pé e massa de raiz.

Como não houve interação significativa para o n° de raízes/pé e massa de raiz, os fatores: aplicação de nitrogênio e combinações de leguminosas foram analisados separadamente.

Com relação ao n° de raízes/pé, observa-se na Tabela 1 que a aplicação de ureia aumentou este número, como também o uso de resíduos de leguminosas, entretanto SL obteve o menor valor. Para a massa de raiz, a adição de ureia ao solo e as leguminosas não conseguiram influenciá-la.

**Tabela 1.** Número de raízes/pé e massa de raiz (kg) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas.

Fatores	Nº raízes/pé	Massa de raiz
<b>Nitrogênio</b>		
Com	4,7 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>
Sem	3,9 <sup>b</sup>	0,29 <sup>a</sup>
<b>Leguminosas</b>		
GA	3,6 <sup>bc</sup>	0,32 <sup>a</sup>
LA	4,9 <sup>a</sup>	0,30 <sup>a</sup>
GL	4,9 <sup>a</sup>	0,33 <sup>a</sup>
LS	4,6 <sup>ab</sup>	0,29 <sup>a</sup>
GS	4,6 <sup>ab</sup>	0,30 <sup>a</sup>
SL	2,8 <sup>c</sup>	0,22 <sup>a</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Na Tabela 2, nota-se que a interação entre nitrogênio e combinações de leguminosas foi capaz de aumentar a produção de parte aérea apenas em GS e LS. A mandioca cultivada sem leguminosas (SL) com e sem N, teve os menores índices de produção de parte aérea.

**Tabela 2.** Parte aérea (t/ha) e produtividade (t/ha) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas.

N	Combinações de leguminosas					
	GA	GS	GL	LS	LA	SL
<b>Parte aérea</b>						
Com	16,1 <sup>bA</sup>	23,3 <sup>abA</sup>	22,3 <sup>abA</sup>	26,6 <sup>aA</sup>	19,7 <sup>bA</sup>	8,3 <sup>cA</sup>
Sem	13,1 <sup>abA</sup>	16,2 <sup>abB</sup>	20,1 <sup>aA</sup>	10,9 <sup>bB</sup>	17,6 <sup>abA</sup>	5,4 <sup>cA</sup>
<b>Produtividade</b>						
Com	22,6 <sup>bA</sup>	23,5 <sup>bA</sup>	33,7 <sup>aA</sup>	25,5 <sup>bA</sup>	27,3 <sup>abA</sup>	10,4 <sup>cA</sup>
Sem	19,3 <sup>cA</sup>	14,0 <sup>cdB</sup>	33,1 <sup>aA</sup>	10,9 <sup>dB</sup>	26,2 <sup>bA</sup>	9,6 <sup>dA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

A produção de parte aérea é uma característica importante, pois as ramas podem ser utilizadas como material propagativo para instalação de novos campos de produção e também como ração para alimentação de diferentes animais (OTSUBO et al., 2009).

Com relação à produtividade, foi observado aumento com a adição de ureia ao solo quando utilizadas as combinações GS e LS. A mandioca cultivada com GL se destacou das demais combinações de leguminosas em ambos: com ou sem N. A combinação GL com N proporcionou produtividade 3,2 vezes maior que SL sem N.

A combinação de Gliricídia e Leucena (GL), ambos resíduos de alta qualidade, aumentou a produtividade de raízes de mandioca, indicando que a maior disponibilidade do N orgânico proveniente da rápida decomposição da biomassa dessas leguminosas foi mais importante que a durabilidade da biomassa utilizada como cobertura do solo. Embora a mandioca possa ser cultivada em terras áridas e inférteis, práticas de cultivo eficientes aumentam consideravelmente a sua produtividade.

A aplicação de resíduos de leguminosas na superfície do solo melhora as condições físicas do solo, influenciando na retenção de água, penetração das raízes e absorção de nutrientes (MOURA et al., 2009). Por isso, foi observado que as combinações de leguminosas obtiveram melhores desempenhos de n° de raízes/pé, parte aérea e produtividade que SL.

## 3.2 ANÁLISES QUÍMICAS

### 3.2.1 Composição centesimal

O Apêndice B apresenta as análises de variância dos dados da composição centesimal. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação dos fatores: adição de N e combinações de leguminosas apenas para os teores de lipídios.

A aplicação de ureia ao solo associada às combinações de leguminosas foi capaz de alterar os conteúdos de lipídios (Tabela 3). Quando se observa as combinações de leguminosas sem adição de N não há diferença significativa entre si.

**Tabela 3.** Teores de lipídios (g/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas.

N	Combinações de leguminosas					
	GA	GS	GL	LS	LA	SL
Com	0,39 <sup>abA</sup>	0,57 <sup>aA</sup>	0,14 <sup>bB</sup>	0,35 <sup>abB</sup>	0,32 <sup>abA</sup>	0,53 <sup>aA</sup>
Sem	0,36 <sup>aA</sup>	0,36 <sup>aB</sup>	0,39 <sup>aA</sup>	0,59 <sup>aA</sup>	0,47 <sup>aA</sup>	0,50 <sup>aA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Como não houve interação significativa para umidade, cinzas, proteína e carboidratos totais, os fatores: aplicação de nitrogênio e combinações de leguminosas foram analisados separadamente. A umidade das raízes de mandioca diminuiu com a aplicação de ureia ao solo, e não sofreu nenhum efeito com as combinações de leguminosas (Tabela 4). O conteúdo de

cinzas não variou sob o efeito da adição de N e da utilização de biomassa das leguminosas, assim como o conteúdo de carboidratos totais.

Com a aplicação de ureia se observou um aumento no teor de proteína, ao mesmo tempo em que ocorreu a diminuição da umidade, provavelmente para se exercer um equilíbrio entre os macronutrientes. O conteúdo de proteína aumentou com adição de ureia, indicando que o N disponibilizado pelo fertilizante foi mais importante que aquele fornecido pelos resíduos. No sistema de cultivo em aleias, a cultura recupera apenas 20% de N proveniente dos resíduos, sendo que a maior eficiência de absorção de N depende das condições de enraizabilidade do solo (MOURA et al., 2013).

**Tabela 4.** Umidade, cinzas, proteína e carboidratos totais (g/100 g) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas.

<b>Fatores</b>	<b>Umidade</b>	<b>Cinzas</b>	<b>Proteína</b>	<b>Carboidratos totais</b>
<b>Nitrogênio</b>				
Com	59,4 <sup>b</sup>	0,60 <sup>a</sup>	1,06 <sup>a</sup>	38,5 <sup>a</sup>
Sem	61,8 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,80 <sup>b</sup>	36,4 <sup>a</sup>
<b>Leguminosas</b>				
GA	61,9 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,90 <sup>a</sup>	36,3 <sup>a</sup>
LA	61,2 <sup>a</sup>	0,60 <sup>a</sup>	0,94 <sup>a</sup>	36,9 <sup>a</sup>
GL	60,8 <sup>a</sup>	0,55 <sup>a</sup>	0,96 <sup>a</sup>	37,4 <sup>a</sup>
LS	59,7 <sup>a</sup>	0,66 <sup>a</sup>	0,88 <sup>a</sup>	38,3 <sup>a</sup>
GS	59,3 <sup>a</sup>	0,61 <sup>a</sup>	1,03 <sup>a</sup>	38,6 <sup>a</sup>
SL	60,7 <sup>a</sup>	0,62 <sup>a</sup>	0,89 <sup>a</sup>	37,3 <sup>a</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

### 3.2.2 Teor de amido e tempo de cocção

O Apêndice C apresenta as análises de variância para o teor de amido e o tempo de cocção. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação de nitrogênio x combinações de leguminosas.

Com relação ao amido, as combinações de leguminosas com adição de N expressaram maiores teores do que aquelas sem N, com exceção de LS e LA (Tabela 5). Ao avaliar as combinações com N, observou-se que GS e SL se destacaram em relação aos demais. Para as combinações sem N, LS apresentou o maior teor.

**Tabela 5.** Teores de amido (%) e tempo de cocção (min) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas.

N	Combinações de leguminosas					
	GA	GS	GL	LS	LA	SL
<b>Amido</b>						
Com	34,0 <sup>cA</sup>	38,8 <sup>aA</sup>	35,7 <sup>bA</sup>	34,7 <sup>cA</sup>	33,9 <sup>cA</sup>	38,0 <sup>aA</sup>
Sem	30,1 <sup>dB</sup>	33,5 <sup>bB</sup>	31,5 <sup>cB</sup>	34,6 <sup>aA</sup>	33,5 <sup>bA</sup>	30,6 <sup>dB</sup>
<b>Cocção</b>						
Com	8,8 <sup>cA</sup>	12,5 <sup>bcA</sup>	20,8 <sup>aA</sup>	16,0 <sup>abB</sup>	10,0 <sup>cA</sup>	10,0 <sup>cA</sup>
Sem	8,0 <sup>bA</sup>	9,0 <sup>bB</sup>	20,8 <sup>aA</sup>	25,0 <sup>aA</sup>	8,0 <sup>bA</sup>	11,3 <sup>bA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).  
Valores em base úmida.

O teor de amido está diretamente relacionado ao rendimento industrial dos derivados da mandioca, sendo mais desejáveis, as variedades com elevada produção de amido. Além disso, o amido pode ser usado como insumo em diversos ramos industriais: papel, têxtil, farmacêutico, na formulação de produtos biodegradáveis e até na produção de energia renovável (SRIROTH et al., 2010; VALLE, LORENZI, 2014).

Ao se recomendar uma cultivar de mandioca, deve-se levar também em consideração o tempo de cocção da raiz e outras qualidades culinárias. Um tempo de cocção ideal seria inferior a 30 minutos (VALDUGA et al., 2011). Observou-se que apesar de apresentarem diferenças significativas, todos os tempos obtidos foram inferiores a 30 minutos.

O tempo de cocção foi influenciado pela interação entre adição de N e combinações de leguminosas. Verificou-se que GL e LS, ambos com ou sem N, obtiveram os maiores tempos se diferenciando significativamente dos demais.

Vale a pena ressaltar que o tempo de cocção das raízes foi medido após 18 meses de plantio e que segundo Oliveira e Moraes (2009), em uma mesma variedade, a época de colheita influencia no tempo de cocção. Durante o cozimento de vegetais ricos em amido ocorrem modificações físico-químicas relacionadas à hidratação, gelatinização do amido, expansão e solubilização das substâncias pécicas. Estes são alguns dos fenômenos que resultam na maciez dos tecidos e sabor das raízes cozidas (BUTARELO et al., 2004; LINARES, VERGARA, HASE; 2005).

A correlação entre tempo de cocção e quantidade de amido resultou em baixo coeficiente de correlação ( $r = 0,1079$ ) e não significativo ( $P = 0,180$ ) indicando que não houve

relação direta entre essas variáveis, assim como observado também por Borges, Fukuda e Rossetti (2002).

Carvalho et al. (2007) e Favaro (2003) relatam que há uma possível relação entre o tempo de cocção e a quantidade de íons bivalentes (como cálcio e magnésio), pois esses íons se ligam aos polímeros pécticos da parede celular, formam pectatos insolúveis que ao impedirem a penetração da água e conseqüentemente a gelatinização do amido, acarretam o aumento do tempo de cocção.

Correlacionando o tempo de cocção e os teores de cálcio e magnésio obtiveram-se coeficientes baixos e não significativos. Para tempo de cocção e cálcio, o coeficiente de correlação foi de -0,2102 ( $P = 0,239$ ) e para tempo de cocção e magnésio, o coeficiente foi de 0,1016 ( $P = 0,372$ ). Esta análise indicou que não foi encontrada uma relação entre aumento no tempo de cocção por causa dos teores de cálcio e magnésio, contradizendo Carvalho et al. (2007).

Segundo Lorenzi (1994), o tempo de cozimento das raízes é influenciado por fatores extrínsecos: quando há variações em função do genótipo, das condições ambientais e da época de colheita e por fatores intrínsecos: quando há variações entre as raízes de uma mesma variedade. Este mesmo autor observou que o tempo de cozimento pode ser prolongado de acordo com a fertilidade do solo. Os resíduos das leguminosas se diferem quanto a quantidade de nutrientes (como P, K, Ca, Mg e N) liberada durante a decomposição, o que possivelmente alterou a fertilidade do solo ocasionando os variados tempos de cocção.

### 3.2.3 Análise de minerais

O Apêndice D apresenta as análises de variância para os teores de minerais. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação de nitrogênio x combinações de leguminosas apenas para cálcio.

Como não houve interação significativa para os demais minerais, os fatores: aplicação de nitrogênio e combinações de leguminosas foram analisados separadamente. A aplicação de ureia ao solo não afetou os conteúdos de potássio, magnésio, fósforo, zinco e iodo, mas aumentou o teor de ferro (Tabela 6). Dentre os minerais analisados, o potássio e o magnésio apresentaram variações relacionadas às combinações de leguminosas. Para o potássio, GS obteve o maior valor diferindo apenas de LA e SL. Para o magnésio, a mandioca cultivada sem leguminosas (SL) se diferenciou das demais.

**Tabela 6.** Teores de potássio, magnésio, fósforo, zinco, ferro e iodo (mg/100 g) para os fatores nitrogênio e combinações de leguminosas.

Fatores	Potássio	Magnésio	Fósforo	Zinco	Ferro	Iodo
<b>Nitrogênio</b>						
Com	41,3 <sup>a</sup>	23,2 <sup>a</sup>	57,4 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	1,00 <sup>a</sup>	5,1 <sup>a</sup>
Sem	40,9 <sup>a</sup>	23,5 <sup>a</sup>	57,6 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,83 <sup>b</sup>	5,3 <sup>a</sup>
<b>Leguminosas</b>						
GA	41,3 <sup>ab</sup>	22,9 <sup>b</sup>	53,4 <sup>a</sup>	0,32 <sup>a</sup>	1,01 <sup>a</sup>	4,8 <sup>a</sup>
LA	32,1 <sup>b</sup>	19,2 <sup>b</sup>	52,3 <sup>a</sup>	0,27 <sup>a</sup>	0,87 <sup>a</sup>	4,9 <sup>a</sup>
GL	43,0 <sup>ab</sup>	22,6 <sup>b</sup>	59,7 <sup>a</sup>	0,31 <sup>a</sup>	1,06 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>
LS	42,3 <sup>ab</sup>	23,2 <sup>b</sup>	58,7 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,79 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>
GS	50,4 <sup>a</sup>	20,5 <sup>b</sup>	60,1 <sup>a</sup>	0,26 <sup>a</sup>	0,91 <sup>a</sup>	5,5 <sup>a</sup>
SL	37,0 <sup>b</sup>	31,7 <sup>a</sup>	60,9 <sup>a</sup>	0,29 <sup>a</sup>	0,86 <sup>a</sup>	5,4 <sup>a</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).  
Valores em base úmida.

Aguiar et al. (2010) relatam que as leguminosas têm baixas concentrações de fósforo em seus resíduos, o que pode ter contribuído para manter os valores deste mineral inalterados. Os baixos conteúdos de ferro e zinco sugerem a importância de uma estratégia para melhorar a absorção destes nutrientes pelas culturas. Estes minerais complexam com compostos solúveis da matéria orgânica durante a decomposição dos resíduos dificultando sua absorção pelas raízes (TARIGHI et al., 2012).

A interação da aplicação de nitrogênio e combinações de leguminosas modificou os teores de cálcio, observando-se que GA com N diferiu dos demais, assim como SL sem N (Tabela 7).

**Tabela 7.** Teores de cálcio (mg/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas.

N	Combinações de leguminosas					
	GA	GS	GL	LS	LA	SL
<b>Cálcio</b>						
Com	44,2 <sup>aA</sup>	18,6 <sup>bA</sup>	16,3 <sup>bA</sup>	16,7 <sup>bA</sup>	18,0 <sup>bA</sup>	16,2 <sup>bB</sup>
Sem	22,5 <sup>bB</sup>	18,7 <sup>bA</sup>	18,8 <sup>bA</sup>	15,3 <sup>bA</sup>	21,6 <sup>bA</sup>	70,3 <sup>aA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).  
Valores em base úmida.

As concentrações de cálcio, em alimentos de origem vegetal, variam de acordo com a quantidade e a disponibilidade deste mineral no solo, portanto, práticas de fertilização podem

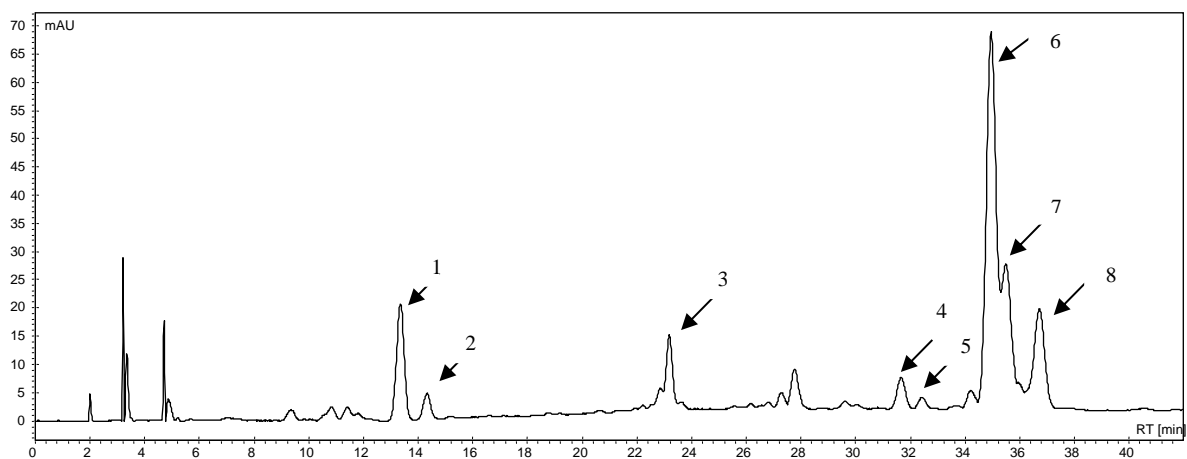
ter impacto sobre seu conteúdo nos alimentos (NIELSEN, 2012). A aplicação de resíduos de leguminosas tem como característica, segundo Moura et al. (2009), a alta quantidade de cálcio reciclado.

Em estudo realizado por Moura et al., (2010), os tratamentos com resíduos obtiveram valores mais elevados de Ca e Mg do que o solo sem leguminosa (SL). Para a mandioca biofortificada, observou-se que os valores de Ca e Mg foram alterados pelo fornecimento destes minerais pelos resíduos, no entanto, diferentemente de Moura et al. (2010), SL sem N obteve os maiores valores para Ca e Mg.

### 3.2.4 Carotenoides e pró-vitamina A

Em função da atividade de vitamina A, apenas os isômeros do  $\beta$ -caroteno, incluindo as elevadas concentrações de *cis*, são geralmente determinados nas raízes de mandiocas amarelas e de coloração creme. No genótipo de mandioca biofortificada (BRS Dourada), além destes carotenoides usualmente determinados, foram identificadas: pequenas quantidades de zeaxantina e luteína, isômero *cis* da  $\beta$ -criptoxantina e os isômeros *cis* e *trans* do  $\zeta$ -caroteno (Figura 2). Estes resultados reforçam a tendência da raiz de mandioca apresentar isômeros *cis* de outros carotenoides, além do  $\beta$ -caroteno.

**Figura 2.** Cromatograma da composição de carotenoides do tratamento sem leguminosa e sem N.



1- Luteína, 2- Zeaxantina, 3- *cis*  $\beta$ -criptoxantina, 4- *cis*  $\zeta$ -caroteno, 5- *trans*  $\zeta$ -caroteno, 6- *trans*  $\beta$ -caroteno, 7- (9-*cis*)  $\beta$ -caroteno, 8- (13-*cis*)  $\beta$ -caroteno

O  $\beta$ -caroteno foi o carotenoide predominante, representando 88% dos carotenoides totais. As raízes de mandioca são classificadas em relação à cor da polpa da raiz em:



variedades de coloração creme, amarela ou rosada. Nas raízes de cor creme e amarela, o carotenoide predominante é o  $\beta$ -caroteno e nas raízes de coloração rosada é o licopeno (CARVALHO et al., 2011; KIMURA et al., 2007).

Dentre os isômeros do  $\beta$ -caroteno, observou-se maior teor de *trans* do que de *cis*, dado importante já que o isômero *trans*  $\beta$ -caroteno tem maior atividade de vitamina A, de acordo com o fator de conversão do Institute of Medicine Food and Nutrition Board – IOM (2001).

Os Apêndices E e F apresentam as análises de variância para o perfil de carotenoides e teores de pró-vitamina A. Observa-se que o teste F foi significativo ( $P \leq 0,05$ ) para a interação de nitrogênio x combinações de leguminosas para todos os carotenoides determinados.

Na Tabela 8, observa-se que a luteína e a zeaxantina tiveram uma diminuição dos seus conteúdos em GA, GL, LS e SL com a aplicação de N.

Maiores conteúdos de *cis*  $\beta$ -criptoxantina foram encontrados em GS (com N) e LS (sem N), de *cis*  $\zeta$ -caroteno em SL (com ou sem N), LS (sem N) e LA (sem N). Para o *trans*  $\zeta$ -caroteno, destacaram-se as combinações com N: GA, LS e SL e as combinações sem N: GL, LA e SL.

As mandiocas cultivadas com GS (com N) e LS (sem N) foram superiores em termos de *trans*  $\beta$ -caroteno, (9 *cis*) e (13 *cis*)  $\beta$ -caroteno. Para os carotenoides totais e para a pró-vitamina A, destacaram-se os valores medidos em GS (com N) e LS (sem N).

Diferentes mecanismos regulam o acúmulo de carotenoides, como fatores genéticos e ambientais. De acordo com Kirchmann e Bergstrom (2012), o fornecimento de N aumenta a síntese de proteínas e cloroplastos em plantas. Como os carotenoides estão presentes nos cloroplastos também terão um aumento no seu conteúdo. No entanto, os resultados apresentados na Tabela 8 demonstram que a aplicação de N teve comportamento diferenciado de acordo com a combinação de leguminosas.

Em estudo genético realizado por Carvalho et al. (2011), foi encontrada uma correlação positiva e significativa entre teor de proteína na raiz e conteúdo de carotenoides totais. Para a mandioca BRS Dourada cultivada em aleias esta correlação não foi significativa ( $r = -0,1219$ ).

**Tabela 8.** Conteúdo de carotenoides ( $\mu\text{g/g}$ ) e pró-vitamina A (RAE/100 g) para a interação nitrogênio x combinações de leguminosas.

N	Combinações de leguminosas					
	GA	GS	GL	LS	LA	SL
<b>Luteína</b>						
Com	0,04 <sup>bB</sup>	0,05 <sup>bA</sup>	0,04 <sup>bB</sup>	0,04 <sup>bB</sup>	0,04 <sup>bA</sup>	0,10 <sup>aB</sup>
Sem	0,12 <sup>aA</sup>	0,04 <sup>cA</sup>	0,12 <sup>aA</sup>	0,08 <sup>bA</sup>	0,04 <sup>cA</sup>	0,14 <sup>aA</sup>
<b>Zeaxantina</b>						
Com	0,01 <sup>bB</sup>	0,02 <sup>aA</sup>	0,01 <sup>bB</sup>	0,01 <sup>bB</sup>	0,01 <sup>bA</sup>	0,02 <sup>aB</sup>
Sem	0,02 <sup>bA</sup>	0,01 <sup>cB</sup>	0,02 <sup>bA</sup>	0,02 <sup>bA</sup>	0,01 <sup>cA</sup>	0,04 <sup>aA</sup>
<b>cis <math>\beta</math>-criptoxantina</b>						
Com	0,05 <sup>cdB</sup>	0,11 <sup>aA</sup>	0,08 <sup>bA</sup>	0,04 <sup>dB</sup>	0,06 <sup>cA</sup>	0,05 <sup>cdA</sup>
Sem	0,06 <sup>bcA</sup>	0,07 <sup>bB</sup>	0,07 <sup>bA</sup>	0,10 <sup>aA</sup>	0,03 <sup>dB</sup>	0,05 <sup>cA</sup>
<b>cis <math>\zeta</math>-caroteno</b>						
Com	0,04 <sup>dB</sup>	0,06 <sup>bA</sup>	0,05 <sup>cA</sup>	0,06 <sup>bA</sup>	0,05 <sup>cB</sup>	0,07 <sup>aA</sup>
Sem	0,05 <sup>bA</sup>	0,05 <sup>bB</sup>	0,05 <sup>bA</sup>	0,06 <sup>aA</sup>	0,06 <sup>aA</sup>	0,06 <sup>aB</sup>
<b>trans <math>\zeta</math>-caroteno</b>						
Com	0,04 <sup>aA</sup>	0,03 <sup>bA</sup>	0,03 <sup>bB</sup>	0,04 <sup>aA</sup>	0,03 <sup>bB</sup>	0,04 <sup>aA</sup>
Sem	0,03 <sup>bB</sup>	0,03 <sup>bA</sup>	0,04 <sup>aA</sup>	0,03 <sup>bB</sup>	0,04 <sup>aA</sup>	0,04 <sup>aA</sup>
<b>trans <math>\beta</math>-caroteno</b>						
Com	0,44 <sup>bA</sup>	1,08 <sup>aA</sup>	0,44 <sup>bA</sup>	0,32 <sup>cB</sup>	0,43 <sup>bA</sup>	0,43 <sup>bA</sup>
Sem	0,35 <sup>cB</sup>	0,77 <sup>aB</sup>	0,41 <sup>bcA</sup>	0,76 <sup>aA</sup>	0,48 <sup>bA</sup>	0,46 <sup>bA</sup>
<b>(9-cis) <math>\beta</math>-caroteno</b>						
Com	0,11 <sup>dB</sup>	0,37 <sup>aA</sup>	0,25 <sup>bA</sup>	0,12 <sup>dB</sup>	0,17 <sup>cB</sup>	0,17 <sup>cA</sup>
Sem	0,14 <sup>eA</sup>	0,22 <sup>cB</sup>	0,19 <sup>cdB</sup>	0,46 <sup>aA</sup>	0,28 <sup>bA</sup>	0,16 <sup>deA</sup>
<b>(13-cis) <math>\beta</math>-caroteno</b>						
Com	0,13 <sup>cdA</sup>	0,35 <sup>aA</sup>	0,18 <sup>bA</sup>	0,11 <sup>dB</sup>	0,14 <sup>cB</sup>	0,15 <sup>bcA</sup>
Sem	0,11 <sup>dB</sup>	0,26 <sup>bB</sup>	0,14 <sup>cdB</sup>	0,32 <sup>aA</sup>	0,17 <sup>cA</sup>	0,11 <sup>dB</sup>
<b>Carotenoides totais</b>						
Com	1,4 <sup>cA</sup>	2,1 <sup>aA</sup>	1,6 <sup>bA</sup>	1,2 <sup>dB</sup>	1,2 <sup>dB</sup>	1,3 <sup>cB</sup>
Sem	1,1 <sup>dB</sup>	1,7 <sup>bB</sup>	1,3 <sup>cB</sup>	2,0 <sup>aA</sup>	1,3 <sup>cA</sup>	1,7 <sup>bA</sup>
<b>Pró-vitamina A</b>						
Com	4,9 <sup>bA</sup>	12,4 <sup>aA</sup>	5,7 <sup>bA</sup>	3,8 <sup>cB</sup>	5,2 <sup>bB</sup>	5,1 <sup>bA</sup>
Sem	4,2 <sup>dB</sup>	8,7 <sup>bB</sup>	5,1 <sup>cdA</sup>	10,0 <sup>aA</sup>	6,0 <sup>cA</sup>	5,2 <sup>cdA</sup>

Médias seguidas por mesma letra na coluna (letra maiúscula) ou na linha (letra minúscula) não diferem pelo teste de Tukey ( $P > 0,05$ ).

Valores em base úmida.

#### **4 CONCLUSÃO**

Os resíduos de leguminosas têm maior influência sobre a produtividade da mandioca que a fertilização com ureia.

A ureia aumenta o teor de proteína e a interação da ureia com as combinações de leguminosas influencia nos teores de amido, de cálcio, de lipídios, tempo de cocção e conteúdo de carotenoides.

Os resíduos de leguminosas são responsáveis pelas variações nas quantidades de potássio e magnésio encontradas nas raízes.

A interação da aplicação de ureia com as combinações de leguminosas não altera significativamente: a massa da raiz e os conteúdos de cinzas, de carboidratos totais, de fósforo, de zinco e de iodo da mandioca BRS Dourada cultivada no trópico úmido.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, A. C. F.; BICUDO, S. J.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; MARTINS, A. L. S.; COELHO, K. P.; MOURA, E. G. Nutrient recycling and physical indicators of an alley cropping system in a sandy loam soil in the pre-Amazon region of Brazil. **Nutrient Cycling in Agroecosystems**, Dordrecht, v. 86, p. 189-198, 2010.
- AGUIAR, A. C. F.; FREITAS, I. C.; CARVALHO, C. S.; MONROE, P. H. M.; MOURA, E. G. Efficiency of an agrosystem designed for family farming in the pre-Amazon region. **Renewable Agriculture and Food Systems**, New York, v. 26, p. 24-30, 2011.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16. ed. Washington: AOAC, 2005.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- BORGES, M. F.; FUKUDA, W. M. G.; ROSSETTI, A. G. Avaliação de variedades de mandioca para consumo humano. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 11, p. 1559-1565, 2002.
- BURNS, A. E.; GLEADOW, R. M.; ZACARIAS, A. M.; CUAMBE, C. E.; MILLER, R. E.; CAVAGNARO, T. R. Variations in the chemical composition of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaves and roots as affected by genotypic and environmental variation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 60, p. 4946-4956, 2012.
- BUTARELO, S. S.; BELEIA, A.; FONSECA, I. C. B.; ITO, K. C. Hidratação de tecidos de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e gelatinização do amido durante a cocção. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 311-315, 2004.
- CARVALHO, C. R. L.; FELTRAN, J. C.; MORGANO, M. A.; VALLE, T. L.; BERTTI, F.; MEZETTE, T. F.; GALERA, J. M. S. V. Aspectos bioquímicos e agrônômicos no cozimento de mandiocas. II. Fertilidade de solos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, 12, 2007, Paranavaí. **Anais...**, Paranavaí: SBM/IAPAR, 2007.
- CARVALHO, L. J. C. B.; VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SOUZA, C. R. B. A genomic assisted breeding program for cassava to improve nutritional quality and industrial traits of storage root. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 11, p. 289-296, 2011.
- CENI, G. C.; COLET, R.; PERUZZOLO, M.; WITSCHINSKI, F.; TOMICKI, L.; BARRIQUELLO, A. L.; VALDUGA, E. Avaliação de componentes nutricionais de cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 20, n. 1, p. 107-111, 2009.
- CHÁVEZ, A. L.; SÁNCHEZ, T.; CEBALLOS, H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NESTEL, P.; TOHMEL, J.; ISHITANI, M. Retention of carotenoids in cassava roots submitted to different processing methods. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 87, p. 388-393, 2007.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos**. 4 ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

FAVARO, S. P. **Composição química e estrutura de paredes celulares de variedades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) com tempos de cocção diferentes**. 2003. 132f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

IOM (Institute of Medicine). **Vitamin A**. In: Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc, pp.82-161. Washington: National Academy Press, 2001.

KIRCHMANN, H.; BERGSTROM, L. Human health issues associated with nutrient use in organic and conventional crop production. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 241-273. Disponível em: <http://www.ipni.net/article/IPNI-3269>. Acesso em: 28 junho 2013.

KIMURA, M.; KOBORI, C. N.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; NESTEL, P. Screening and HPLC methods for carotenoids in sweetpotato, cassava and maize for plant breeding trials. **Food Chemistry**, London, v. 100, p. 1734-1746, 2007.

LINARES, A. R.; VERGARA, M. L.; HASE, S. L. Efecto de la cocción sobre los parámetros texturales de dos variedades de mandioca. **Información Tecnológica**, La Serena, v. 16, n. 5, p. 3-9, 2005.

LORENZI, J. O. Variação na qualidade culinária das raízes de mandioca. **Bragantia**, Campinas, v. 53, n. 2, p. 237-245, 1994.

MONTAGNAC, J. A.; DAVIS, C. R.; TANUMIHARDJO, S. A. Nutritional value of cassava for use as a staple food and recent advances for improvement. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, Chicago, v. 8, p. 181-194, 2009.

MOURA, E. G.; AGUIAR, A. C. F. Plantio direto na palha de leguminosas em aleias, uma alternativa agroecológica para a agricultura familiar do trópico úmido. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO, 7., 2007, Fortaleza. **Anais...**, 2007. p. 1-9.

MOURA, E. G.; ARAUJO, J. R. G.; MONROE, P. H. M.; NASCIMENTO, I. O.; AGUIAR, A. C. F. Patents on periphery of the amazon rainforest. **Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture**, Roma, v. 1, p. 142-148, 2009.

MOURA, E. G.; SERPA, S. S.; SANTOS, J. G. D.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Nutrient use efficiency in alley cropping systems in the Amazonian periphery. **Plant and Soil**, Hague, v. 335, p. 363-371, 2010.

MOURA, E. G.; MONROE, P. H. M.; COELHO, M. J. A.; COSTA SOBRINHO, J. R. S.; AGUIAR, A. C. F. Effectiveness of calcined rock phosphate and leucaena prunings as a source of nutrientes for maize in a tropical soil. **Biological Agriculture & Horticulture**, Oxon, v. 29, p. 132-144, 2013.

MOURA, E. G.; MARQUES, E. S.; SILVA, T. M. B.; PIEDADE, A.; AGUIAR, A. C. F. Interactions among leguminous trees, crops and weeds in a no-till alley cropping system. **International Journal of Plant Production**, Gorgan, v. 8, p. 441-456, 2014.

NIELSEN, F. Calcium, magnesium and potassium in food. In: BRUULSEMA, T. W.; HEFFER, P.; WELCH, R. M.; CAKMAK, I.; MORAN, K. (Eds). **Fertilizing Crops to Improve Human Health: a Scientific Review**. Paris: IPNI, 2012, p. 123-142. Disponível em: [http://www.ipni.net/article /IPNI-3269](http://www.ipni.net/article/IPNI-3269). Acesso em: 28 junho 2013.

OLIVEIRA, M. A.; MORAES, P. S. B. Características físico-químicas, cozimento e produtividade de mandioca cultivar IAC 576-70 em diferentes épocas de colheita. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 3, p. 837-843, 2009.

OTSUBO, A. A.; BRITO, O. R.; MERCANTE, F. M.; OTSUBO, V. H. N.; GONÇALVES, M. A.; TELLES, T. S. Desempenho de cultivares elites de mandioca industrial em área de cerrado do Mato Grosso do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, suplemento 1, p.1155-1162, 2009.

PEREIRA, A. S.; LORENZI, J. O.; VALLE, T. L. Avaliação do tempo de cozimento e padrão de massa cozida em mandiocas de mesa. **Revista Brasileira de Mandioca**, Cruz das Almas, v. 4, n. 1, p. 27-32, 1985.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B.; KIMURA, M. **HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis**. Washington: IFPRI and CIAT, 2004, 59 p.

SALTZMAN, A.; BIROL, E.; BOUIS, H. E.; BOY, E.; MOURA, F. F.; ISLAM, Y.; PFEIFFER, W. H. Biofortification: progress toward a more nourishing future. **Global Food Security**, Lincoln, v. 2, p. 9-17, 2013.

SRIROTH, K.; PIYACHOMKWAN, K.; WANLAPATIT, S.; NIVITCHANYONG, S.; The promise of a technology revolution in cassava bioethanol: from Thai practice to the world practice. **Fuel**, London, v. 89, p. 1333-1338, 2010.

TARIGHI, H.; MAJIDIAN, M.; BAGHAIE, A. H.; GOMARIAN, M. Zinc availability of two wheat cultivars in soil amended with organic and inorganic Zn sources. **African Journal of Biotechnology**, Abraka, v. 11, p. 436-443, 2012.

VALDUGA, E.; TOMICKI, L.; WITSCHINSKI, F.; COLET, R.; PERUZZOLO, M.; CENI, G. C. Avaliação da aceitabilidade e dos componentes minerais de diferentes cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) após a cocção. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 2, p. 205-210, 2011.

VALLE, T. L.; LORENZI, J. O. Variedades melhoradas de mandioca como instrumento de inovação, segurança alimentar, competitividade e sustentabilidade: contribuições do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 31, n.1, p.15-34, 2014.

**Apêndice A** - Análises de variância para a avaliação agronômica da mandioca biofortificada.

Fontes de variação	G.L.	QM			
		Parte aérea	Nº raízes/pé	Massa de raiz	Produtividade
Leguminosas	5	223,0400**	6,0824**	0,0128 <sup>ns</sup>	511,4600**
Nitrogênio	1	365,9400**	7,7602**	0,0000 <sup>ns</sup>	301,1000**
Leguminosas x Nitrogênio	5	57,0000**	0,6327 <sup>ns</sup>	0,0087 <sup>ns</sup>	67,0000**
Tratamentos	11	160,5590**	3,7578**	0,0098 <sup>ns</sup>	290,3085**
Blocos	3	8,9654 <sup>ns</sup>	0,0824 <sup>ns</sup>	0,0049 <sup>ns</sup>	34,2761 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	13,2014	0,8083	0,0070	10,1044
DP		6,89	1,20	0,09	8,79
CV (%)		4,14	2,83	2,99	4,11

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice B** - Análises de variância para a composição centesimal da mandioca biofortificada.

Fontes de variação	G.L.	QM				
		Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteína	Carboidratos
Leguminosas	5	7,4000 <sup>ns</sup>	0,0100 <sup>ns</sup>	0,0641*	0,0259 <sup>ns</sup>	6,1825 <sup>ns</sup>
Nitrogênio	1	66,5000*	0,0001 <sup>ns</sup>	0,0432 <sup>ns</sup>	0,8177*	55,7932 <sup>ns</sup>
Leguminosas x Nitrogênio	5	22,9000 <sup>ns</sup>	0,0053 <sup>ns</sup>	0,0625*	0,0468 <sup>ns</sup>	21,0091 <sup>ns</sup>
Tratamentos	11	19,7761 <sup>ns</sup>	0,0070 <sup>ns</sup>	0,0615*	0,1074*	17,4319 <sup>ns</sup>
Blocos	3	23,2798 <sup>ns</sup>	0,0044 <sup>ns</sup>	0,0003 <sup>ns</sup>	0,0677 <sup>ns</sup>	23,5203 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	14,3627	0,0063	0,0141	0,0320	13,8443
DP		4,02	0,08	0,04	0,06	4,01
CV (%)		6,64	1,33	4,12	2,75	10,43

\*significativo a 5%

ns: não significativo

**Apêndice C** - Análises de variância para teor de amido e tempo de cocção da mandioca biofortificada.

Fontes de variação	G.L.	QM	
		Amido	Cocção
Leguminosas	5	15,0527**	261,9833**
Nitrogênio	1	153,1978**	5,3330 <sup>ns</sup>
Leguminosas x Nitrogênio	5	16,4615**	38,6833**
Tratamentos	11	28,2517**	137,1515**
Blocos	3	0,4516 <sup>ns</sup>	10,9444 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	0,1810	5,3081
DP		2,63	6,04
CV (%)		7,71	4,53

\*\*significativo a 1%

ns: não significativo

**Apêndice D** - Análises de variância para teores de minerais da mandioca biofortificada.

Fontes de variação	G.L.	QM						
		Cálcio	Magnésio	Potássio	Fósforo	Zinco	Ferro	Iodo
Leguminosas	5	970,8377**	153,8646**	303,6740**	110,2730 <sup>ns</sup>	0,0059 <sup>ns</sup>	0,0806 <sup>ns</sup>	0,8604 <sup>ns</sup>
Nitrogênio	1	459,2173*	0,9877 <sup>ns</sup>	1,3372 <sup>ns</sup>	0,9254 <sup>ns</sup>	0,0000 <sup>ns</sup>	0,3524*	0,4075 <sup>ns</sup>
Leguminosas x Nitrogênio	5	1.274,8054**	38,7671 <sup>ns</sup>	59,9613 <sup>ns</sup>	8,5929 <sup>ns</sup>	0,0303 <sup>ns</sup>	0,0774 <sup>ns</sup>	0,0255 <sup>ns</sup>
Tratamentos	11	1.062,4939**	87,6496**	165,4104**	54,1141 <sup>ns</sup>	0,0164 <sup>ns</sup>	0,1039 <sup>ns</sup>	0,4397 <sup>ns</sup>
Blocos	3	459,5094 <sup>ns</sup>	315,4035 <sup>ns</sup>	840,3057 <sup>ns</sup>	1.546,8850 <sup>ns</sup>	0,1307 <sup>ns</sup>	0,5489 <sup>ns</sup>	7,4085 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	85,7463	26,0268	54,1911	98,6062	0,0136	0,0512	0,5008
DP		4,97	1,98	3,27	3,56	0,03	0,08	0,27
CV (%)		8,09	3,48	3,24	2,54	5,01	3,60	2,13

\*\*significativo a 1%

\*significativo a 5%

ns: não significativo



**Apêndice E** - Análises de variância para teores de luteína, zeaxantina, *cis* β-criptoxantina, *cis* ζ-caroteno e *trans* ζ-caroteno.

Fontes de variação	G.L.	QM				
		Luteína	Zeaxantina	<i>cis</i> β-criptoxantina	<i>cis</i> ζ-caroteno	<i>trans</i> ζ-caroteno
Leguminosas	5	0,0069**	0,0003**	0,0023**	0,0004**	0,00005**
Nitrogênio	1	0,0148**	0,0003**	0,0000 <sup>ns</sup>	0,0000*	0,0000 <sup>ns</sup>
Leguminosas x Nitrogênio	5	0,0033**	0,0002**	0,0024**	0,0001**	0,00002**
Tratamentos	11	0,0059**	0,0002**	0,0022**	0,0002**	0,00003**
Blocos	3	0,0000 <sup>ns</sup>	0,0000 <sup>ns</sup>	0,0000 <sup>ns</sup>	0,0000 <sup>ns</sup>	0,0000 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	0,0002	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
DP		0,04	0,01	0,02	0,01	0,03
CV (%)		5,58	5,11	3,54	1,39	7,97

\*\*significativo a 1%

\*significativo a 5%

ns: não significativo

**Apêndice F** - Análises de variância para teores de *trans* β-caroteno, (9-*cis*) β-caroteno, (13-*cis*) β-caroteno, carotenoides totais e pró-vitamina A.

Fontes de variação	G.L.	QM				
		<i>trans</i> β-caroteno	(9- <i>cis</i> ) β-caroteno	(13- <i>cis</i> ) β-caroteno	Carotenoides totais	Pró-vitamina A
Leguminosas	5	0,3145**	0,0369**	0,0376**	0,4865**	38,7095**
Nitrogênio	1	0,0027 <sup>ns</sup>	0,0234**	0,0006 <sup>ns</sup>	0,0140**	1,4145*
Leguminosas x Nitrogênio	5	0,1221**	0,0564**	0,0223**	0,4704**	21,5463**
Tratamentos	11	0,1987**	0,0445**	0,0273**	0,4362**	27,5164**
Blocos	3	0,0006 <sup>ns</sup>	0,0005 <sup>ns</sup>	0,0004 <sup>ns</sup>	0,0010 <sup>ns</sup>	0,1600 <sup>ns</sup>
Resíduo	33	0,0016	0,0003	0,0002	0,0013	0,2206
DP		0,22	0,10	0,08	0,32	2,59
CV (%)		4,17	4,76	4,56	2,18	4,09

\*\* significativo a 1%

\*significativo a 5%

ns: não significativo

## CONCLUSÃO GERAL

As combinações de resíduos de leguminosas e a fertilização com cloreto de potássio e ureia para a cultura do milho, ou apenas ureia para a mandioca, influenciam na qualidade e na produtividade dessas culturas.

O sistema de cultivo em aleias é um sistema de manejo do solo capaz de aumentar a produção e influenciar diferentemente cada nutriente das culturas de milho e mandioca biofortificadas cultivadas em solos do trópico úmido.

A escolha da combinação de leguminosas, seja de resíduos de alta qualidade ou de resíduos de alta e baixa qualidade, depende da cultura a ser plantada e do atributo de qualidade desejado.