

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MARIO PEDRAZA GUEVARA**

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DE DUAS  
VARIEDADES DE MILHO ROXO CULTIVADAS NO SUL DO BRASIL**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO  
2020**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS AGRARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**MARIO PEDRAZA GUEVARA**

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DE DUAS  
VARIEDADES DE MILHO ROXO CULTIVADAS NO SUL DO BRASIL**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO  
2020**

MARIO PEDRAZA GUEVARA

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DE DUAS  
VARIEDADES DE MILHO ROXO CULTIVADAS NO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Solos e Sistemas Integrados de Produção Agropecuária.

Orientador: Prof. Dr. Luís César Cassol

PATO BRANCO

2020

G939f Guevara, Mario Pedraza.  
Fertilização nitrogenada na produção de duas variedades de milho roxo cultivadas no sul do Brasil / Mario Pedraza Guevara. -- 2019.  
73 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Luís César Cassol  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2019.

Inclui bibliografia.  
1. Fenóis. 2. Antioxidantes. 3. Antocianinas. 4. Fertilizantes nitrogenados. I. Cassol, Luís César, orient. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. III. Título.

CDD (22. ed.) 630

Ficha Catalográfica elaborada por  
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630  
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação  
**Universidade Tecnológica Federal do Paraná**  
Campus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-graduação  
**Programa de Pós-Graduação em Agronomia**



**TERMO DE APROVAÇÃO**  
**Título da Dissertação n° 204**

**FERTILIZAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DE DUAS VARIEDADES  
DE MILHO ROXO CULTIVADAS NO SUL DO BRASIL**

Por

MARIO PEDRAZA GUEVARA

Dissertação apresentada às nove horas do dia dezessete de março de dois mil e vinte, como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Fertilidade e Manejo do Solo, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Solos e Sistemas Integrados de Produção Agropecuária), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Dr. Oscar Andres Gamarra Torres**

UNJ/Jaen-Peru

(à distância, por videoconferência)

---

**Dr. Claudio Roberto Novello**

UTFPR/ Francisco Beltrão

---

**Dr. Luís César Cassol**

UTFPR/ Pato Branco

Orientador

---

**Dr. Alcir José Modolo**

Coordenador do PPGAG

O Termo de Aprovação, devidamente assinado, encontra-se arquivado na Coordenação do PPGAG.

*À minha **família,**  
Aos meus **pais,***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida e a saúde para trabalhar;

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realização do Mestrado;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia que contribuíram para a minha formação no mestrado;

Ao programa PAEC OEA-GCUB pela concessão da bolsa de estudos e o financiamento do Projeto;

Aos meus pais, Gerardo e Luz Dina, por me proporcionarem condições de seguir nesta jornada;

Aos colegas, eternos amigos, companheiros de trabalho e de tantas discussões e confraternizações;

A todas as pessoas que participam ou participaram da minha vida nestes últimos dois anos e que de uma forma ou outra contribuíram para que pudesse chegar ao final de mais esta etapa;

A UTFPR, pela sua área experimental necessária na condução do experimento;

Ao professor, amigo e orientador Dr. Luís César Cassol, por sua dedicação a mim e a meu trabalho, pela amizade e orientação;

E por último, mas de forma especial, à minha irmã, Santos Pedraza Guevara, pelo companheirismo, carinho e atenção neste momento tão importante para mim e também pela ajuda nas interpretações do meu trabalho.

*Semeia um pensamento, colhe um ato. Semeia um ato, colhe um hábito. Semeia um hábito, colhe um caráter. Semeia um caráter, colhe um destino.*

**Marion Laurence**

## RESUMO

PEDRAZA GUEVARA, Mario. Fertilização nitrogenada na produção de duas variedades de milho roxo cultivadas no sul do Brasil. 73f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Solos e Sistemas Integrados de Produção Agropecuária) Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2020.

Nos sistemas agroecológicos do Brasil é comum o uso de variedades crioulas em sistemas convencionais. O milho roxo é um cereal cultivado nas zonas Inter Andinas, porém também pode ser desenvolvido no estado de Paraná, mas pouco se sabe sobre o comportamento destas variedades em resposta a níveis de adubação nitrogenada. Este trabalho foi realizado na safra 2018/2019, na área experimental da UTFPR-Pato Branco, nas coordenadas 26°41'17" Sul e 52°41'17" Oeste. O objetivo foi avaliar os componentes agronômicos (altura da planta-AP; altura da inserção da espiga-AIE; comprimento da espiga-CE ; diâmetro da espiga-DE; número de grãos por fileira-NGF; número de fileiras por espiga-NFE; massa de 1000 grãos-MMG; produtividade-PROD) e alguns componentes físico-químicos (antocianinas, índice de atividade antioxidante-IAA e fenóis totais-FT) de duas variedades do milho roxo (UNC-47 e INA-601), em resposta a aplicação de diferentes doses de nitrogênio (0; 50; 100; 150 kg N ha<sup>-1</sup>) em cobertura, usando-se ureia (46%) como fonte. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com quatro repetições. Os resultados indicam que as variáveis AP, AIE, CE, DE, NGF, NFE, NGE, MMG e PROD respondem positivamente em relação as doses de N. Na avaliação dos componentes orgânicos nitrogenados como FT e IAA dos grãos e sabugos verifica-se teores expressivos positivos, em frações de mg EAG/g. e de inibição do DPPH, evidenciando a correlação significativa entre as duas variáveis. Entretanto a adubação nitrogenada, para as antocianinas monoméricas totais (cy-3-glu/g), promoveu a diminuição e interferiu de forma antagônica na qualidade da síntese dos pigmentos antocianínicos do milho roxo.

**Palavras-chave:** Parâmetros Agronômicos; Ácidos fenólicos; Determinação de Antioxidantes e Antocianinas.

## ABSTRACT

PEDRAZA GUEVARA, Mario. Nitrogen fertilization in the production varieties of two varieties of purple corn maize cultivated in the south of Brazil. 73f. Dissertation (Masters in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Concentration Area: Soils and Integrated Agricultural Production Systems) Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2019.

In Brazilian agroecological systems, the use of Creole varieties in conventional systems is common. Purple corn is a cereal grown in the Inter Andean areas, but it can also be developed in the state of Paraná. Little is known about the behavior of these varieties in response to nitrogen fertilization levels. This work was carried out from October to January 2018/2019 in a production system located in the experimental area of UTFPR-Pato Branco, at coordinates 26°41'17" South and 52°41'17" west. The objective was to evaluate the agronomic components (height of the plant-AP; height of the insertion of the ear-EIA; length of the ear-CE; diameter of the ear-DE; number of grains per row-NGF; number of rows per ear- NFE; mass of 1000 grains-MMG; productivity-PROD) and some physicochemical components (total phenols-FT, antioxidant activity index-IAA and anthocyanins) of two varieties of purple corn (UNC-47 and INA-601), at the stage V4 with application of different doses of nitrogen (0; 50; 100; 150 kg ha<sup>-1</sup>), using urea (46%) as a source. The experimental design was randomized blocks, with four replications.

The results indicate that the variables AP, AIE, CE, DE, NGPF, NFPE, NGPE, PMS and PROD. respond positively in relation to the doses of N. In the evaluation of the nitrogenous organic components such as total phenols and antioxidant activity index of grains and cobs, there are expressive positive levels, in fractions of mg EAG / g. and DPPH inhibition, showing a significant correlation between the two variables. However, nitrogen fertilization, for total monomeric anthocyanins (cy- 3-glu / g), promoted the decrease and interfered in an antagonistic way in the quality of the synthesis of anthocyanin pigments in purple corn.

**Keywords:** Agronomic parameters; Phenolic acids; Determination of Antioxidants and Anthocyanin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Estruturas de antocianinas em equilíbrio com relação ao pH ácido, descrito por Giusti; Wrolstad (2001) e adaptado por Ananga et al. (2013). .....	31
<b>Figura 2:</b> Estruturas de antocianinas em equilíbrio com relação ao pH alto, descrito por Giusti; Wrolstad (2001) e adaptado por Ananga et al. (2013). .....	32
<b>Figura 3:</b> Localização geográfica da área experimental (Google Earth, 2019; IGBE, 2010) .....	36
<b>Figura 4:</b> Diagrama da abordagem para o estudo do índice de atividade antioxidante, fenóis totais e antocianinas monoméricas totais para as amostras de milho roxo. ...	39
<b>Figura 5:</b> Altura de planta de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (os valores são médias de duas variedades, INIA-601 e UNC-47). UTFPR, Pato Branco-PR, 2020. ....	44
<b>Figura 6:</b> Altura de inserção da espiga de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A) (média de duas variedades) e entre duas variedades de milho roxo (B) (média de quatro doses de N). UTFPR, Pato Branco-PR, 2020. ....	45
<b>Figura 7:</b> Diâmetro de espiga (A) e comprimento da espiga (B) de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020. ...	48
<b>Figura 8:</b> Número de grãos por fileiras (A) e número de grãos por espiga (B) de duas variedades milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020. ....	50
<b>Figura 9:</b> Número de fileiras por espiga de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (os valores são médias de dois genótipos, INIA-601 e UNC-47). Pato Branco-PR, 2020. ....	52
<b>Figura 10:</b> Massa de mil grãos (A) e produtividade (B) de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020. ....	53
<b>Figura 11:</b> Índice do atividade antioxidante do sabugo de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A) e Índice do atividade antioxidante do grão de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (B) (os valores são as medias de dois genótipos, INIA-601 e UNC-47). Pato Branco-PR, 2020. ....	56
<b>Figura 12:</b> Fenóis totais do sabugo de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A), (média de duas variedades) e entre duas variedades de milho roxo (B)	

(medias de quatro doses de N) e fenóis totais nos grãos de milho em função de doses crescentes de nitrogênio (C) (média de duas variedades). Pato Branco-PR, 2020. .58

**Figura 13:** Antocianinas monoméricas totais sabugo (A) e Antocianinas monoméricas totais grão (B), de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020.....61

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Temperaturas para o desenvolvimento do milho .....	22
<b>Tabela 2:</b> Características Agronômicas do Milho Roxo .....	26
<b>Tabela 3:</b> Composição química do milho roxo (em 100 gramas).....	27
<b>Tabela 4:</b> Composição química proximal do milho roxo e chicha morada (100 g)....	27
<b>Tabela 5:</b> Atributos químicos do solo, na profundidade de 0 a 20 cm, antes da semeadura do milho roxo cultivar INIA-601* e UNC-47** .....	37
<b>Tabela 6:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis altura de plantas (AP) e altura de inserção de espiga (AIE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco- PR, 2020 .....	43
<b>Tabela 7:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis diâmetro da espiga (DE) e comprimento da espiga (CE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020 .....	47
<b>Tabela 8:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis número de grãos por fileira (NGF), número de fileiras por espiga (NFE) e número de grãos por espiga (NGE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020.....	49
<b>Tabela 9:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020 ..	52
<b>Tabela 10:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para a variável índice de atividade antioxidante do sabugo (IAA-Sabugo) e índice de atividade antioxidante do grão (IAA-Grão) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020 .....	55
<b>Tabela 11:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL), e coeficiente de variação (CV) para a variável quantidade de fenóis totais no sabugo (TF- sabugo) e fenóis totais nos grãos (TF- Grão) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020.....	57
<b>Tabela 12:</b> Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para a variável antocianinas monoméricas totais (AMT) no sabugo e nos grãos de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020 .....	59

## LISTA DE SIGLAS E ACRÔNIMOS

Embrapa	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IAPAR	Instituto Agrônômico do Paraná
ILP	Integração lavoura-pecuária
PR	Unidade da Federação – Paraná
SC	Unidade da Federação – Santa Catarina
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná
INIA	Instituto Nacional de Inovação Agrária
SUNAT	Superintendência Nacional de Aduanas e Administração Tributária.
SIICEX	Sistema Integrado do Informação de Comércio Exterior do Peru.
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CTC	Capacidade de Troca de Cátions

## LISTA DE ABREVIATURAS

et al.	Entre outros
CV	Coeficiente de variação
NPK	Nitrogênio; fósforo e potássio
ha <sup>-1</sup>	Hectare
Abs.	Absorbância
V4	Estádio de desenvolvimento do milho (quando a plantação apresenta quatro folhas completamente desenvolvidas)
V6	Est�dio de desenvolvimento do milho (quando a plantação apresenta seis folhas completamente desenvolvidas)
AF	�cidos fenólicos
FT	Fenólicos totais
EM	Espectrometria de massas
AMT	Antocianinas monoméricas totais
CY-3-Glu	Cianidina-3-glucósido
IAA	�ndice de atividade antioxidante
R	Rendimento
PROD	Produtividade
VCM	Variedades Crioulas do Milho
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
CLAE	Cromatografia Líquida de alta eficiência
MET	Máxima eficiência técnica

## LISTA DE SÍMBOLOS

$\text{dm}^{-3}$	Decímetro cúbico
%	Porcentagem
cm	Centímetro
g	Gramma
kg	Quilograma
m	Metro
$\text{m}^2$	Metro Quadrado
mm	Milímetro
N	Nitrogênio
$e^{-1}$	Exponencial
mg	Miligrama
$\mu\text{m}$	Micras
mg/L	Miligrama por Litro
®	Propriedade Intelectual
v:v	Volume
$\text{kg ha}^{-1}$	Quilogramas por hectare
Und.	Unidade

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
1.1 HIPÓTESE .....	20
1.2 OBJETIVOS .....	20
1.2.1 Geral.....	20
1.2.2 Específicos .....	20
<b>2 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	21
2.1 MILHO ROXO .....	21
2.1.1 Exigências agroecológicas do cultivo .....	21
2.1.2 Nitrogênio, fosforo e potássio na cultura do Milho Roxo .....	22
2.1.3 Principais Variedades do Milho Roxo .....	24
2.1.4 Características Genéticas e Agronômicas do Milho Roxo.....	25
2.1.5 Composição Química .....	27
2.1.6 Principais Usos.....	27
2.1.7 O Milho Roxo no Mundo .....	28
2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS .....	28
2.2.1 Antocianinas.....	29
2.2.2 Estrutura das antocianinas .....	29
2.2.3 Propriedades Físicas e Químicas.....	30
2.2.4 Atividade antioxidante nos compostos fenólicos .....	32
2.2.5 Fatores que influenciam a estabilidade e a cor das antocianinas .....	32
2.3 EFEITO DO NITROGÊNIO NA PRODUÇÃO DE MILHO.....	34
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	36
3.1 Localização do Experimento .....	36
3.2 Delineamento experimental e tratamentos .....	37
3.3 Cultivo e manejo da cultura do milho roxo.....	37
3.4 Variáveis Estudadas.....	38

3.5 Metodologia utilizada para determinar fenóis totais, antioxidantes e antocianinas .....	40
3.5.1 Metodologia para determinação dos ácidos fenólicos totais .....	40
3.5.2 Determinação da Atividade Antioxidante DPPH .....	40
3.5.3 Determinação da quantidade de antocianinas monoméricas .....	41
3.6 Análises estatísticas .....	42
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>43</b>
4.1 Avaliações fitotécnicas, biométricas e componentes de rendimento de variedades de milho roxo em função do nível de nitrogênio .....	43
4.1.1 Altura de planta e altura de inserção da espiga .....	43
4.1.2 Diâmetro e comprimento da espiga .....	46
4.1.3 Números de grãos por fileira, número de fileiras por espiga e número de grãos por espiga. ....	49
4.1.4 Massa de Mil Grãos e Produtividade de Milho Roxo .....	52
4.2 Avaliações dos Componentes Físico-Químicos de Milho Roxo (Antioxidantes, Fenóis totais e antocianinas) nos grãos e no sabugo .....	54
4.2.1 Índice de Atividade Antioxidante do Sabugo e do Grão .....	54
4.2.2 Fenólicos Totais do Sabugo e do Grão .....	57
4.2.3 Antocianinas Monoméricas Totais do Sabugo e Grão .....	59
<b>5 CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>64</b>

## 1 INTRODUÇÃO

No Brasil a cultura do milho tem ocupado maior espaço na segunda safra (também conhecida como milho safrinha), com uma produção total estimada, na safra 2018/19, de 72,3 milhões de toneladas de milho (CONAB, 2019). O estado do Paraná, que responde por cerca de 20% de toda essa produção, tem a maior produtividade média brasileira, tanto em cultivos de primavera-verão como nos cultivos de outono-inverno (CONAB, 2019). Grande parte da produção brasileira de milho é destinada ao consumo doméstico especialmente pelo produto ser consumido na alimentação animal.

Por vezes a instabilidade climática no sul do Brasil gera incertezas quanto ao bom rendimento do milho, levando os produtores a investirem menos em tecnologia, principalmente na adubação (DA SILVA, 2004), como uma forma de redução de gastos. Porém, quando são utilizadas técnicas de produção adequadas e o clima é favorável, a cultura do milho pode alcançar altas produtividades (OHLAND, 2001).

A diversidade genética do milho crioulo, também denominada variedades locais ou tradicional, é mantida principalmente pelas comunidades rurais, povos indígenas e agricultores familiares, os quais são, ao mesmo tempo, promotores naturais da conservação e geração de biodiversidade. Isto se dá através das boas práticas de manejo como autonomia do agricultor, seleção dos caracteres, condução (regeneração e multiplicação) e armazenamento das sementes (TEIXEIRA et al., 2005; SANTOS et al., 2016). No entanto, as regiões onde as espécies ou raças de culturas ou variedades locais se originaram são particularmente vulneráveis ao fluxo de genes transgênicos em variedades locais, ou em raças locais (GIRALDO, 2011). Existe o temor de que variedades transgênicas, com vantagem competitiva, possam gradualmente deslocar valiosa diversidade genética (LÓPEZ; COSIO, 2016).

No mundo existem variedades distintas de milho caracterizadas por cores como: branco, amarelo, vermelho, roxo, marrom, verde e azul. Especificamente em relação ao milho roxo, este tem sua origem em países da América Latina, como o Peru e a Bolívia, e foi introduzido em diferentes partes do mundo devido a quantidade de antioxidantes que possui, que podem ser capazes de neutralizar os radicais livres produzidos no organismo (QUISPE JACOBO; ARROYO CONDORENA; GORRITI GUTIÉRREZ, 2011). No Peru é usado na preparação de bebidas ou suco chamado de “chicha morada”, além de sobremesas como a “mazamorra morada” (GUILLÉN-

SÁNCHEZ; MORI-ARISMENDI; PAUCAR-MENACHO, 2010). O milho roxo apresenta um pigmento chamado de antocianina, responsável por uma grande variedade de cores. As maiores concentrações estão na espiga e no pericarpo do grão.

Estudos têm demonstrado a presença de teores significativos de compostos fenólicos como taninos, entre outros compostos bioativos, os quais têm ações benéficas no organismo, se consumidos frequentemente na dieta. Esses compostos evitam a degeneração ou mutação celular, portanto, o aparecimento de doenças como insuficiência cardíaca, hipertensão, obesidade, câncer de cólon, esôfago, pulmão, fígado, mama e pele, doenças vasculares cerebrais, ruptura de aneurismas e lesões renais (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS, 2004; KUSKOSKI et al., 2004; PÉREZ-JIMÉNEZ; SAURA-CALIXTO, 2006; CHAITTIANAN; SUTTHANUT; RATTANATHONGKOM, 2017).

Independente da variedade do milho, a fertilidade do solo é um dos principais fatores responsáveis pelo aumento na produtividade, sendo que o nitrogênio e o potássio são os nutrientes que promovem as melhores respostas. Os adubos nitrogenados são utilizados em maior quantidade na cultura do milho, devido à grande exigência pela cultura e à maior propensão às perdas.

Os nutrientes primários (N-P-K) necessários para o cultivo de milho, tem diferentes funções como: interferir na fotossíntese, ativação de aproximadamente 60 enzimas e formar proteínas e aminoácidos como a glutamina e glutamato. Embora, interferem na biossíntese dos pigmentos (flavonoides e carotenoides), para dar forma aos aminoácidos primários de tipo fenilalanina (malonil-CoA), (acetil- CoA) e (coumaroil-CoA), os três aminoácidos desencadeiam diferentes tipos de reações enzimáticas como: di-hidroflavonol redutase, antocianina sintetase e flavonoides glicosiltransferase, que dão origem a três antocianinas básicas: cianidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3- glicosídeo e delphinidina-3glucósido (ASSOCIATION, 2000; IRANI; HERNANDEZ; GROTEWOLD, 2003).

Em função das qualidades, quantidades de compostos nitrogenados que contém o milho roxo e a necessidade de entender seu comportamento em resposta a adubação nitrogenada, o objetivo deste trabalho foi avaliar a produtividade e determinar os teores de índice de atividade antioxidantes, fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais de duas variedades de milho roxo cultivadas no Sul do Brasil sob efeito de níveis crescentes de adubação nitrogenada.

## 1.1 HIPÓTESE

A adubação nitrogenada aplicada no milho roxo favorece a produtividade e aumenta os teores de fenólicos totais e antocianinas proporcionando uma maior capacidade de índice de atividade antioxidante.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Geral

Avaliar o efeito da adubação nitrogenada sobre o desempenho de duas variedades de milho roxo cultivadas no sul do Brasil.

### 1.2.2 Específicos

- Determinar os parâmetros agronômicos da cultura do milho roxo após aplicação de doses de adubação nitrogenada.
- Avaliar a produtividade de duas variedades de milho roxo sob efeito de doses de adubação nitrogenada.
- Comparar a atividade antioxidante, fenólicos totais e antocianinas monoméricas totais do milho roxo em relação a variação de doses de adubação nitrogenada.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 MILHO ROXO

O milho roxo é uma variedade diferenciada de milho que apresenta uma forte pigmentação roxa, tanto no sabugo como no pericarpo dos grãos, devido à grande quantidade de antocianinas presentes. Cultivado no Peru, Bolívia, Chile, Equador e México, porém, devido às características geográficas do Peru, seu cultivo é mais extenso nesse país (GUILLÉN-SÁNCHEZ; MORI-ARISMENDI; PAUCAR-MENACHO, 2010).

No Peru tradicionalmente é chamado de “maíz morado”, sua utilização principal é para preparação de “chicha morada”, que é um suco bebido no dia a dia, bem como para a sobremesa “mazamorra morada”, tradicional na gastronomia peruana. Também pode-se extrair possíveis subprodutos como: a produção de amido a partir dos grãos ou a extração das antocianinas do sabugo, componentes altamente desejáveis por suas propriedades funcionais, além da capacidade tintorial para assim emplacar aos de antioxidantes sintéticos.

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados e estudados do mundo, é de grande importância econômica e estratégica, devido a sua diversidade de uso, como o insumo principal na produção de proteína animal, na alimentação humana e na produção de biocombustíveis (SOARES et al., 2017).

O milho roxo, é uma variedade pigmentada de *Zea mays* L., cujos grãos e sabugo apresentam cor roxa, além disso é uma variedade genética de milho peruano, sendo que uma espiga é constituída em 85% por grão e 15% por sabugo.

#### 2.1.1 Exigências agroecológicas do cultivo

O milho roxo adapta-se a solos de textura franca, franco-argilosa, com um pH de 5,5 a 7,5, onde se observa o melhor desenvolvimento. Ele também exige solos profundos, ricos em matéria orgânica e boa drenagem (YÁNEZ et al., 2005).

O crescimento do milho é influenciado pela permeabilidade do perfil do solo e apresenta correlação positiva com a porosidade total do solo; porosidade não capilar, umidade inicial; capacidade de retenção de água; teor de matéria orgânica e compostos NPK (nitrogênio, fósforo e potássio), bem como o genótipo ou variedade,

e a correlação linear negativa com a densidade aparente do solo (FRIES; TAPIA, 2007; VELOSO et al., 2010).

Observa-se que o milho requer uma temperatura entre 15 e 30 °C, suporta temperaturas mínimas de 8 °C e temperaturas máximas de 30 °C; mas a temperatura ideal para o desenvolvimento da espiga deve ficar entre 20 e 32 °C (Tabela 1). O milho, requer uma porcentagem de umidade entre 80 - 90%, com regime de chuva que varia de 700 a 1300 mm ao longo do ciclo.

Adapta-se a todas as altitudes, sendo as melhores entre 1000 e 3000 metros acima do nível do mar com clima quente (BONILLA MORALES, 2008; DERAS, 2014).

**Tabela 1:** Temperaturas para o desenvolvimento do milho

Etapa	Temperatura °C		
	Mínima	Máxima	Ótima
Germinação	10	40	20 a 25
Crescimento	15	40	20 a 30
Floração	20	30	21 a 30

Fonte: (BERGAMASCHI; MATZENAUER, 2014)

### 2.1.2 Nitrogênio, fosforo e potássio na cultura do Milho Roxo

A quantidade de nutrientes extraídos do solo durante o ciclo de desenvolvimento da cultura define as exigências nutricionais da planta. Para suprir essa necessidade é ideal que os nutrientes sejam disponibilizados na forma e no período adequado para que não tenha redução da produtividade efetiva (AMARAL FILHO et al., 2005; YAMADA; SPTIPP, 2006).

Um aumento na produtividade dos grãos foi observado por Duete et al. (2008), com o parcelamento de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N em duas vezes, resultados semelhantes aos de Galindo et al. (2018) e Soares et al. (2017), que também obtiveram aumento da produtividade de grãos com o parcelamento da adubação nitrogenada. Além do nitrogênio (N), o potássio (K) é o segundo nutriente mais requerido pela cultura do milho, contribuindo positivamente com o número de grãos por espiga e massa individual de grãos (YAMADA; SPTIPP, 2006; VELOSO et al., 2010). Já o fósforo (P) influencia consideravelmente na produção dos grãos de milho, tal que do total absorvido pela cultura, 89% é removido pelos grãos (WROBEL et al.,

2012). No entanto, a ausência de P afeta a absorção do nitrogênio (CABRAL et al., 2009).

Caires; Milla (2016), utilizando doses crescentes de N (0, 90, 180, 270 e 360 kg de N ha<sup>-1</sup>), encontraram que a produtividade do milho aumenta linearmente com as doses até um limite 209 kg ha<sup>-1</sup> de N, em até 15,21 kg ha<sup>-1</sup> de grãos por cada kg de N aplicado em cobertura, sendo que, a produtividade total foi de 19,6 t ha<sup>-1</sup> de grãos, correspondendo a produtividade relativa (PR) de 100%.

Com relação à adubação potássica, vale ressaltar que apesar do potássio não fazer parte de nenhum composto orgânico na planta é importante na síntese e metabolismo de carboidratos, como a fotossíntese e a respiração; formação de frutos; translocação de metais pesados como ferro no balanço hídrico. Além de atuar na ativação de enzimas e controlar suas taxas de reação, melhora a qualidade dos produtos e, conseqüentemente, seu valor nutricional (TAKASU et al., 2014).

Coelho et al. (2006), em solos com teores muito baixos de potássio, com a aplicação de 120 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, observaram um aumento significativo na produção, citando como exemplo, os solos no centro do Brasil, com baixas quantidades de potássio disponíveis, apresentam resultados significativos, aumentando a produção em 100% com a aplicação de doses entre (120 e 150 kg ha<sup>-1</sup>) de K<sub>2</sub>O.

A absorção de potássio pelas plantas de milho é mais intensa no período de embonecamento, onde 70% do potássio requerido pelas plantas é absorvido. No entanto, a absorção de nutrientes no final do ciclo da planta é importante para compensar as perdas excessivas que ocorrem nas folhas quando são transferidas para os grãos (TAKASU et al., 2014).

Oré Gallegos (2015), testando o efeito da fertirrigação potássica (K<sub>1</sub>=80, K<sub>2</sub>=160 e K<sub>3</sub>=240 kg ha<sup>-1</sup>) e nitrogenada com ácidos húmicos comerciais (T<sub>1</sub>=testemunha, T<sub>2</sub>=160 N kg ha<sup>-1</sup> + 80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e T<sub>3</sub>=160 N kg ha<sup>-1</sup>+80 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> + 300 litros ha<sup>-1</sup>de ácidos húmicos), com o cultivo de milho roxo, genótipo PVM-581 sob condições de solos salinos, encontraram diferenças estatísticas significativas com (K<sub>1</sub>=80 kg ha<sup>-1</sup>), para a variável rendimento total (7.336 kg ha<sup>-1</sup>), fato de que, para o nível de adubação com o (T<sub>2</sub>) obtiveram as melhores respostas de (7.499 kg ha<sup>-1</sup>). Além disso, Pajuelo; Bernaldina (2016) testaram o efeito da adubação nitrogenada, no milho roxo cultivar PMV 581, encontrando que os componentes fisiológicos e de rendimento tinham médias estatisticamente diferentes, porém com o

nível da adubação nitrogenada ( $120 \text{ kg ha}^{-1}$  de N), obtiveram valores de  $6.713 \text{ kg ha}^{-1}$ , superior a testemunha não adubada que obteve rendimento de  $5.200 \text{ kg ha}^{-1}$ .

Além disso, Giordano et al. (2018) avaliando o conteúdo de compostos orgânicos nitrogenados, fenóis totais, índice de atividade antioxidante e antocianinas monoméricas totais (FT, IIA e AMT), das variedades de milho de polinização aberta cultivados sobre diferentes taxas de fertilização de N ( $170$  e  $300 \text{ kg ha}^{-1}$ ), encontraram que para fenóis totais e atividade antioxidante ocorre diferença significativa positiva nas concentrações, e permitem enfatizar que as variedades com coloração mais tensa (vermelho, azul e roxo), contém maior atividade de eliminação de radicais DPPH. No entanto, doses mais altas de nitrogênio aumentam o conteúdo de proteínas e, conseqüentemente, de aminoácidos, incluindo os precursores de ácidos fenólicos (HIDALGO; BRANDOLINI, 2017; MARTÍNEZ-BALLESTA et al., 2010).

### 2.1.3 Principais Variedades do Milho Roxo

As variedades de milho roxo são caracterizadas da seguinte forma: PVM-581, PVM-582, INIA-515, Roxo Canteño, Roxo Melhorado, Caraz Roxo, Arequipeño, Roxo Cuzco e Negro Junín (REQUIS, 2012; SEVILLA; VALDEZ, 1985). No entanto, a variedade mais comercial é o milho Roxo Canteño, porque é bem desenvolvido a altitudes entre  $1800$  a  $2500 \text{ m}$ , com florescimento entre  $110$  a  $125$  dias, tolerante a pragas, doenças e se adapta bem a diferentes áreas, mesmo nas montanhas acima de  $3000 \text{ m}$  (MANRIQUE CHÁVEZ, 2000).

No sul do Brasil, mais especificamente na região extremo oeste do Estado de Santa Catarina, nos municípios de Anchieta, Guaraciaba, Novo Horizonte, De Oliveira et al. (2011), estudaram sete variedades nativas crioulas de milho (VCM) com diferentes colorações de grãos (branco, amarelo vermelho e roxa) e encontraram que a variedade de coloração roxa (língua de papagaio), apresentou um conteúdo cinco vezes maior de antocianinas ( $10,15 \text{ mg/100g}$ ), quando comparada às demais. Esses compostos possuem ação antioxidante, o que reforça o uso das VCM. É importante destacar que a seleção e o manejo podem alterar o conteúdo dos mesmos, como a manipulação das sementes no laboratório, doses elevadas de fertilizantes, mudança das condições climáticas (MARTÍNEZ-BALLESTA et al., 2010).

Na América do Sul existem muitas variedades de milho roxo. Os principais são descritos abaixo (REQUIS, 2012; SEVILLA; VALDEZ, 1985; MANRIQUE CHÁVEZ, 2000).

- Negro de Junín: Este é o nome dado a uma variedade precoce de milho preto, grande, irregularmente disposto em uma espiga curta e arredondada. Ele encontra-se nas regiões Serra, Centro e Sul, Peru, Bolívia, México, e Equador ocupando terras mais altas que outras variedades.
- Arequipeño: Nas altitudes dos países da Bolívia e do Peru, é uma variedade de grãos roxos dispostos em fileiras regulares na espiga. A forma da espiga é semelhante a variedade Cuzco, mais pequeno. A cor do sabugo não é tão intensa como em outras variedades, mas na coleção feita em Arequipa-Peru há muita variabilidade para essa característica, então ela pode ser melhorada e produzir mais cedo do que as variedades ditas anteriormente.
- Morado Canteño: Derivado da variedade Cuzco, com características de espiga muito semelhante a variedade Cuzco Morado, embora de menores dimensões, é mais precoce. É cultivada em muitos lugares da serra do Peru, mas especialmente nas partes altas do vale de Chillón, na região de Lima, até 2.500 m. É a variedade mais consumida no mercado de Lima.
- Cuzco Morado: Relacionado a cultivar Cuzco gigante, com grãos mais grandes, dispostos em espigas com fileiras muito bem definidas e é cultivado em diferentes lugares em zonas intermediárias de altitude nas regiões da Paz Bolívia.
- Morado de Caraz: Derivado da variedade Ancashino. Recebe este nome porque é cultivado na cidade de Caraz, no beco de Huaylas-Peru, em áreas relativamente maiores. O milho é menor do que as variedades de origem Cuzco. É de precocidade intermediária e tem a vantagem de poder também ser adaptada à Costa. Entre as variedades tradicionais, destaca-se aquela que apresenta maior capacidade produtiva e aquela que possui um sabugo mais pigmentada.

#### 2.1.4 Características Genéticas e Agronômicas do Milho Roxo

Para Quiñones; Barrera (2015), a cor da planta varia de verde a roxo escuro, mas a luminosidade das folhas e anteras é invariável, sempre com uma cor escura. A coloração roxa apresentada pelas plantas, sabugo e pericarpo dos grãos do

milho roxo, é o resultado da ação complexa dos genes localizados em diferentes cromossomos, que dá origem aos diferentes pigmentos de antocianinas coloridas, que em combinação produz uma cor púrpura (combinação de pigmentos vermelhos e azuis). A única diferença do milho preto com o milho roxo é o interior do sabugo a coloração quase branca e não roxo intensa (MANRIQUE CHÁVEZ, 2000). As principais características agronômicas do milho roxo são apresentadas na Tabela 2.

**Tabela 2:** Características Agronômicas do Milho Roxo

Caraterísticas	Dados
Altura da planta	2,16 m
Altura da espiga	1.24 m
Dias da floração feminina	98
Dias de maturação	170
Unidade do calor na floração	875,7 -+8,1° Cd
Folhas normais	Lanceoladas
Número de folhas por planta	12 aprox.
Número das espigas por planta	1 a 2
Forma da espiga	Cônica
Cor da espiga	Roxo intenso
Cor do sabugo	Roxa intensa
Longitude da espiga	17,5 cm
Diâmetro da espiga	4,6 cm
Número das fileiras	10 a 12
Pigmentação do grão	Farinhosa
Longitude do grão	13 mm
Cumprimento do grão	11 mm
Espessou de grão	5 mm
Porcentagem de desgrane	78%
Peso de 1000 sementes	456,2 g
Potencial do rendimento	6,0 t/h ha <sup>-1</sup>
Rendimento em campo do agricultor	3,0 t/h ha <sup>-1</sup>

Fonte: (INIA, 2014)

### 2.1.5 Composição Química

Em termos químicos, a composição do milho roxo e da bebida chicha morada encontra-se nas Tabela 4, respectivamente.

**Tabela 3:** Composição química do milho roxo (em 100 gramas)

COMPONENTE	GRAO	SABUGO
Umidade	11.40 %	11.20 %
Proteína	6.70 %	3.74 %
Gordura	1.50 %	0.32 %
Fibra	1.80 %	24.01 %
Cinzas	1.70 %	3.29 %
Carboidratos	76.90 %	57.44 %

Fonte: (MANRIQUE CHÁVEZ, 2000; QUISPE JACOBO; ARROYO CONDORENA; GORRITI GUTIÉRREZ, 2011)

**Tabela 4:** Composição química proximal do milho roxo e chicha morada (100 g)

Componente	Milho Roxo	Bebida Chicha Morada
Calorias	3.75 g	20 g
Água	6.7g	95 g
Carboidratos	76.9g	5g
Fibra	1.8g	-
Cinza	1.7g	0.1 g
Cálcio	12mg	24 mg
Fósforo	328 mg	4 mg
Ferro	0.02 mg	1.3 mg
Cisandina	0.06 mg	-
Tiamina	0.38 mg	-
Riboflavina	0.02 mg	0.1 mg
Niacina	2.8	0.04 mg

Fonte: (MENDOZA et al., 2007)

### 2.1.6 Principais Usos

De acordo com os dados coletados por vários historiadores, se sabe que o milho roxo foi usado na culinária, como a bebida "chicha morada". A mesma contém milho roxo, cascas de maçã ou abacaxi e o limão que lhe confere sabor. Além de ter capacidade curativa, refrescante e desintoxicante, ela é uma excelente alternativa para substituir os refrigerantes e outros tipos de bebidas açucaradas. Além dessas propriedades, o milho roxo também previne câncer graças à sua contribuição em betacaroteno; o milho é uma excelente fonte energética, por causa de seu alto teor de carboidratos.

Pão de milho, bolos, bolachas e cremes de milho são pratos comuns em várias regiões do Brasil e do mundo. No Nordeste brasileiro, o milho assado e cozido é consumido o ano inteiro, juntamente com muitas comidas à base deste cereal, como a canjica e a pamonha. Também possui as vitaminas A, B e E, além de fibras que previnem a pressão, hemorroidas e outras doenças no intestino. Por seus nutrientes, o milho é indicado na dieta alimentícia para melhorar a imunidade, e também para crianças e adolescentes, que precisam de muita energia. Os atletas também podem se beneficiar deste alimento, além de ser saboroso é muito versátil.

### 2.1.7 O Milho Roxo no Mundo

Um dos principais produtores e exportadores de milho roxo do mundo é o Peru. Seu mercado concentra-se em países como China, França, Servia, Romênia, Itália, África do Sul e países americanos, cuja matéria-prima é geralmente usada para a produção de corantes sintéticos. Embora a China tenha uma produção significativa de milho roxo, esta contém menor concentração de pigmento do que a produção Peruana. Outros países da América Latina, como Bolívia e Venezuela também produzem alguns tipos de corantes originados de outros cultivos, como taya ou tara, açafraão e achiote, que é muito utilizado como insumo da indústria alimentícia (GUILLÉN-SÁNCHEZ; MORI-ARISMENDI; PAUCAR-MENACHO, 2010; SIERRA EXPORTADORA, 2012).

No Brasil o milho roxo é produzido em baixa escala e um aumento de área vai depender do material genético, bem como do nível de rendimento possível de ser obtido. Nesse contexto o uso do nitrogênio pode contribuir para a melhoria de produtividade das variedades de milho roxo.

## 2.2 COMPOSTOS FENÓLICOS

Alguns compostos fenólicos não se apresentam em forma livre nos tecidos vegetais também na forma de polímeros, que podem ser taninos e as ligninas. Os taninos são compostos de alto peso molecular, que conferem ao alimento a sensação de adstringência, e classificam-se em dois grupos, taninos hidrolisáveis e taninos condensados. Os primeiros contêm um núcleo central de glicose ou um álcool poliídrico, esterificado com ácido gálico, e são prontamente hidrolisáveis com ácidos, bases ou enzimas. O segundo são polímeros de catequina ou leucoantocianidina, não prontamente hidrolisáveis por tratamento ácido. As ligninas são polímeros complexos

de grande rigidez e resistência mecânica, e sua hidrólise alcalina libera uma grande variedade de derivados dos ácidos benzóico e cinâmico (SOARES, 2002; ROCHA et al., 2011; SUCUPIRA et al., 2015).

### 2.2.1 Antocianinas

As antocianinas são corantes pertencentes à família de flavonóides, amplamente distribuídos entre flores, frutas, baías e legumes, e são responsáveis pela cor brilhante, como azul, vermelho e roxo. Também possuem efeitos terapêuticos positivos, principalmente associados à sua capacidade antioxidante (HWANG et al., 2011).

A presença de antocianinas nas variedades pigmentadas de milho, torna-o um produto potencial para o fornecimento de corantes naturais e antioxidantes, despertando grande interesse no estudo. Estudos mostraram que antocianinas do milho roxo podem inibir a mutação celular, prevenir doenças degenerativas como o câncer, e contribuir para a prevenção da obesidade e da diabetes (MAZEWSKI; LIANG; GONZALEZ DE MEJIA, 2017)

### 2.2.2 Estrutura das antocianinas

A maioria das antocianinas em alimentos contém uma ou duas unidades monossacarídicas comumente na terceira posição da estrutura, algumas vezes nas posições 3,5 e mais raramente nas posições 3,7. Os açúcares estão ligados às antocianidinas através das uniões hemiacetálicas. A glicose é o açúcar mais comum unido às antocianinas dentro da composição de muitos alimentos, sendo que a maioria das vezes está ligada na posição 3 ou às vezes na posição 3,5 (MERCADANTE; BOBBIO, 2008; SUI et al., 2019).

Mais de 540 pigmentos antociânicos foram identificados naturalmente (VOLP; RENHE; STRINGUETA, 2009). Embora na natureza existam 17 antocianinas, seis delas são as mais difundidas e aquelas que comumente contribuem para a coloração da maioria das plantas e frutas: pelargonidina (Pg), cianidina (Cy), delphinidina (Df), peonidina (Pn), petunidina (Pt) e malvidina (LAO; GIUSTI, 2018; MERCADANTE; BOBBIO, 2008). A maioria dos compostos fenólicos, incluindo as antocianinas, pode-se destacar pela capacidade de desativar radicais livres, sendo também eficientes como agentes de:

- Quelantes de metais: esta ação requer da presença dos grupos hidroxilas pertos em anel aromático. Neste tipo, os fenóis simples são sequestradores efetivos de íons metálicos e inibem a geração de radicais pela reação de Fenton (solução versátil para tratamentos de efluentes industriais que podem conter contaminantes através de compostos orgânicos) (DANIEL, 2009).

- Provadores de radicais livres: atuam como doadores de hidrogênio ou elétrons em reações de terminação que quebram o ciclo de geração de novos radicais livres, interrompendo as reações em cadeia nas quais os radicais livres estão envolvidos. O radical fenoxilo gerado é menos reativo, uma vez que é estabilizado por ressonância com os elétrons "p" do anel aromático (DANIEL, 2009; GARCÍA ALONSO, 2008; ROCHA et al., 2011).

No entanto, existem outros fatores que afetam a atividade antioxidante dos compostos fenólicos. Assim, o número e a posição dos grupos hidroxila, a presença de açúcares ligados ao grau de polimerização (que é a quantidade de meros existente na macromoléculas (meros é uma unidade repetidora de polímeros)) determinarão as propriedades dos compostos fenólicos, como a solubilidade e a tendência a liberar elétrons ou átomos de hidrogênio (KNEZ HRNČIČ et al., 2019).

Nos estudos feitos com vinhos de castas endêmicas (cabernet sauvignon; merlot; pinot noir) e com amoras (amoreiras) verificou-se que a atividade antioxidante é influenciada pela porcentagem de antocianinas poliméricas que se formam durante o envelhecimento, tendo um percentual de 30,44% ao ano, ao contrário do conteúdo de amoras. Antocianinas monoméricas é diminuído com o tempo de armazenamento (TSAI; HUANG; HUANG, 2004; KHARADZE et al., 2018).

### 2.2.3 Propriedades Físicas e Químicas

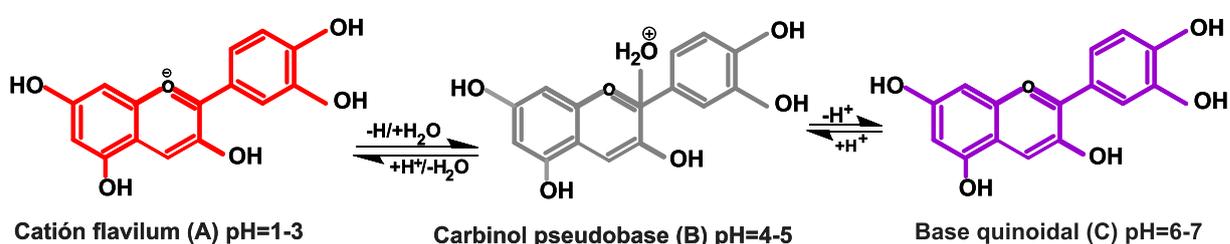
Na atualidade existem cerca de 17 tipos de antocianinas de origem natural, nas seguintes proporções: cianidina (50%), pelphinidin (12%) pelargonidin (12%), peonidin (12%), malvidin (7%) e petunidin (7%). As três primeiras são consideradas não metiladas (Cy, Dp e Pg), e portanto são encontrados em folhas, frutos e flores das plantas, fato que as metiladas (Pn, Mv, e Pt), são escassas (PANCHE; DIWAN; CHANDRA, 2016).

As antocianinas são estruturas com características próprias em comparação aos demais flavonoides. Pode-se encontrar quatro principais formas

estruturais em equilíbrio: cátion flavílio, base quinoidal, carbinol pseudobase e chalcona (LAO; GIUSTI, 2018).

Segundo, Fernández Fernández (1995) variedade de cores, tonalidades e matizes que ocorrem na natureza, são o resultado de uma série de fatores, entre os principais são que:

Em pH ácido (1-3), as antocianinas estarão predominantemente na forma de um cátion flavílio (Figura 1A), sendo esta a forma mais estável, com coloração que vai do vermelho ao roxo. Em pH variando de 6 a 7, a forma de base quinoidal (Figura 1C) é a principal, proporcionando uma coloração azul (ANTUNES; PERES, 2013).

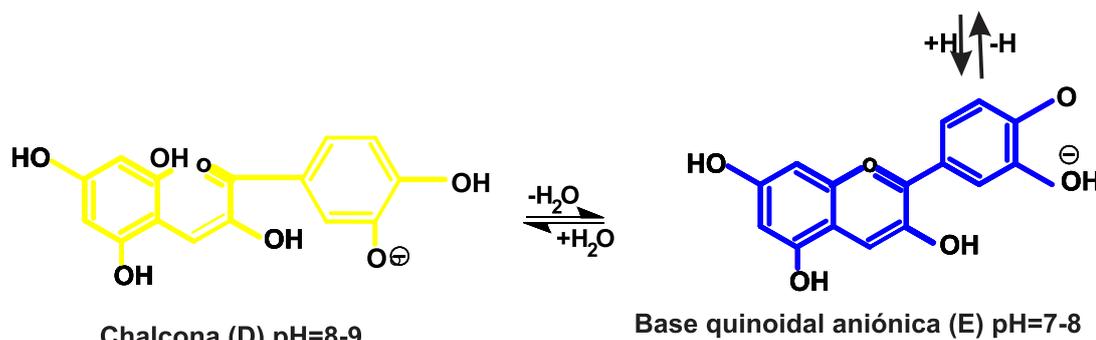


**Figura 1:** Estruturas de antocianinas em equilíbrio com relação ao pH ácido, descrito por Giusti; Wrolstad (2001) e adaptado por Ananga et al. (2013).

Em pH alto: as antocianinas passam através de uma cor violeta, para uma cor azul; em valores de pH muito altos, há uma mudança para a cor verde e depois para a cor amarelo (isso não é comum encontrar nas plantas).

Quando o pH está entre 5 e 6, duas formas estruturais são observadas, a carbinol pseudobase (Figura 1C) e uma chalcona (Figura 2D), as quais não apresentam coloração.

Em pH acima de 7, ocorrerá a degradação das antocianinas, levando à formação de um ácido fenólico e um aldeído. Quando o pH está entre 4 e 5 (Figura 1B), podendo ter a presença das quatro formas estruturais presentes simultaneamente (ANTUNES; PERES, 2013).



**Figura 2:** Estruturas de antocianinas em equilíbrio com relação ao pH alto, descrito por Giusti; Wrolstad (2001) e adaptado por Ananga et al. (2013).

As antocianinas apresentam estruturas complexas e ocorrem em misturas dificultando o processo de isolamento. As melhorias contínuas nos métodos de análise e instrumentação, como, por exemplo, Cromatografia Líquida de alta eficiência (CLAE), Espectrometria de Massas (EM) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), facilitaram os processos de separação e elucidação estrutural de pigmentos antociânicos, sendo possível utilizar pequenas quantidades de material e obter ótima precisão (YAMADA; SPTIPP, 2006).

As plantas celulares, às vezes, contêm não apenas antocianinas como pigmento, mas também algumas das antocianinas que podem ser carotenoides amarelos.

#### 2.2.4 Atividade antioxidante nos compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são antioxidantes naturais, são os principais que podem estar presentes em todas as partes da planta, embora também podem atuar como agentes quelantes de metais (KUSKOSKI et al., 2004; ROCHA et al., 2011). O grau de polimerização dos compostos fenólicos tem um efeito marcante sobre atividade antioxidante (SOMAVAT; KUMAR; SINGH, 2018). Além disso as moléculas mais simples como os flavonoides e ácidos fenólicos também são encontrados em diferentes tipos de frutas, pôr as cuias são caracterizados como compostos fenólicos de alto peso molecular que logram precipitar proteínas, como as salivares da cavidade oral (ROCHA et al., 2011).

#### 2.2.5 Fatores que influenciam a estabilidade e a cor das antocianinas

A cor e estabilidade das antocianinas pode depender de diferentes fatores que incluem estrutura e concentração dos pigmentos; pH; intensidade e tipo de luz, temperatura; íons metálicos; presença de copigmentos; íons metálicos;

oxigênio; ácido ascórbico, açúcares e seus produtos de degradação e dióxido de enxofre (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS, 2004).

A estabilidade dos compostos de antocianina é dependente de vários fatores como sua estrutura química; temperatura; pH; intensidade de luz; disponibilidade de oxigênio e conteúdo sólido da matriz (HE *et al.*, 2016).

As agliconas (antocianidinas), são menos solúveis em água que seus correspondentes glicosídeos (antocianinas) e, portanto, não são livres na natureza (SOMAVAT; KUMAR; SINGH, 2018). Perto de 250 antocianinas isoladas são estabilizadas pela substituição com açúcares nas diferentes posições. A substituição na posição 3 é a mais difundida, mas as substituições nas posições 5 ou 7 são diferentes (LAO; GIUSTI, 2018). Esses açúcares podem ser isolados com ácidos orgânicos [acético, láctico, coumárico, cafeico, etc.] (MERCADANTE; BOBBIO, 2008).

Os corantes com conteúdos altos em antocianinas, isoladas, como a batata doce roxa e a cenoura roxa, são mais estáveis que os corantes ricos em antocianinas não aciladas, como o milho roxo e as uvas vermelhas (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS, 2004; SOMAVAT; KUMAR; SINGH, 2018). As antocianinas aciladas com ácidos cinâmicos são mais estáveis do que aquelas aciladas com ácidos malônicos (LAO; GIUSTI, 2018).

Os principais fatores que influenciam na estabilidade da cor são:

- Temperatura: é fator importante na estabilidade das antocianinas porque à medida que se submete uma solução de antocianinas a uma temperatura superior a do ambiente (25°C), a sua degradação é maior, mesmo quando são complexadas com ácido tânico, e esta degradação é ainda mais notável quando se aumenta o pH do meio (MERCADANTE; BOBBIO, 2008; SUI *et al.*, 2019).

- Co-pigmentação: é um fenômeno durante o qual os pigmentos e outros compostos orgânicos incolores ou íons metálicos formam associações moleculares ou complexas (BOULTON, 2001). A estabilização das antocianinas poderia ser melhorada através de co-pigmentações intramoleculares e intermoleculares, auto-associação e complexação de metais (CASTAGNINI *et al.*, 2015).

- Influência do pH: as antocianinas são encontradas em diferentes tipos, dependendo do pH do meio ambiente (FLESCHHUT *et al.*, 2006). Quando o pH é maior que 7, ocorre a degradação das antocianinas, que depende de seus substituintes (CASTAÑEDA-OVANDO *et al.*, 2009).

- Influência do Oxigênio: a presença de oxigênio acelera o processo de degradação das antocianinas (DAMODARAN; PARKIN, 2018). Especificamente, essa influência do oxigênio pode ocorrer através de um mecanismo de oxidação direto ou através da ação de enzimas oxidantes, como a polifenoloxidase (PPO). O PPO catalisa a oxidação de antocianinas para formar produtos de condensação marrom (BADUI DERGAL; CEJUDO GÓMEZ, 2006).

- Congelamento: o dano causado pela temperatura de congelamento é atribuído principalmente à destruição da membrana celular das plantas, pelo oxigênio ativo e outros radicais livres. Contudo, os fenóis presentes nas plantas previnem a formação de radicais livres, diminuindo os danos causados pelo congelamento.

### 2.3 EFEITO DO NITROGÊNIO NA PRODUÇÃO DE MILHO

No sistema solo-planta, o ciclo do nitrogênio é complexo, uma vez que a maior fração do mesmo encontra-se na matéria orgânica do solo (MOS) ou como parte dos microrganismos. O nitrogênio pode ingressar no sistema por deposições atmosféricas, fixação biológica, adubações químicas (ureia e outros) ou orgânicas (resíduos de animais) (ASSMANN et al., 2017).

Além disso, é importante mencionar que, como a fertilização, a água é essencial, para o desenvolvimento fisiológico e físico-químico na planta. Se houver escassez, no momento próximo à floração, exerce um efeito multiplicador sobre o rendimento e a quantidade de reservas na espiga e conseqüentemente, reduz o nitrogênio orgânico, portanto, dificulta a formação dos principais componentes orgânicos nitrogenados, como aminoácidos, enzimas proteicas.

De acordo com Caires; Milla (2016), estima-se que a cultura do milho requer em torno de 14 kg de N para produzir 1000 kg ha<sup>-1</sup> de grãos, em estudo realizado com aplicação de doses crescentes de N em sistema de plantio direto de longa duração (30 anos). Também no sistema plantio direto há 10 anos, trabalhando com épocas de aplicação e doses de N, Gomes et al. (2007) constataram que a aplicação de 150 kg de N ha<sup>-1</sup> foi responsável pelo maior rendimento de grãos, teor de N nas folhas, peso de grãos por espiga e altura de plantas, porém a maior rentabilidade de aplicação de N foi obtida quando 25 kg de N ha<sup>-1</sup> foram aplicados no momento da semeadura do milho, comprovando a necessidade de uma dose inicial, especialmente porque a área experimental também havia sido cultivada com milho na safra anterior.

Além disso, Sandini (2009) testando o efeito residual da aplicação de doses de N (0, 75, 150 e 225 kg ha<sup>-1</sup>) na pastagem, sobre a cultura do milho, encontrou que o número de grãos por fileira variou de 24 a 41 com a testemunha e a dose de 225 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente. O número médio de grãos por espiga variou de 372 a 673 nas mesmas doses descritas anteriormente, e a massa de mil grãos de 287g a 360 g. Em outro estudo Balbinot JR et al. (2008), verificaram que a dose de 100 kg de N ha<sup>-1</sup> permitiu a formação de grãos com maior massa, comparativamente a testemunha sem N.

Carmo et al. (2012), avaliando o efeito de diferentes fontes (Novatec®, Uréia e Sulfato de Amônio) e doses de N (0, 50, 100, 150 kg ha<sup>-1</sup>), na cultura de milho doce, sobre os componentes morfológicos: altura de inserção de espiga e diâmetro do colmo e componentes de rendimento: diâmetro de espiga, número de fileiras por espiga, número de grão por fileiras, número de grãos por espiga, comprimentos de espiga e de grão, população final de plantas por (ha<sup>-1</sup>), número de espigas por (ha<sup>-1</sup>), verificaram que ao aumento da adubação nitrogenada, independentemente da fonte de N utilizada, responde positivamente para a cultura em estudo.

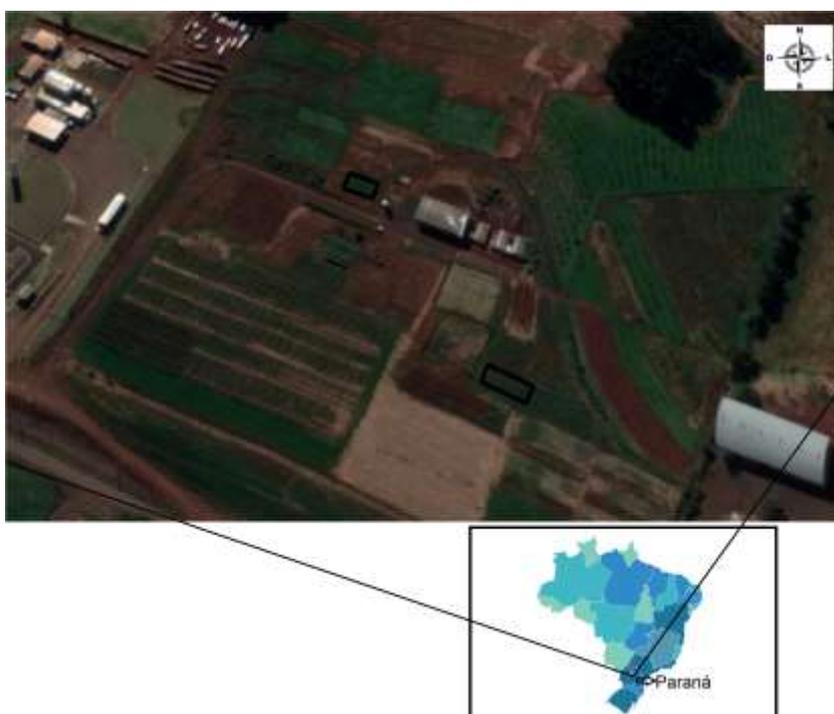
Mortate et al. (2018), avaliando a resposta de plantas de milho submetidas a diferentes fontes de adubos nitrogenados como T1= controle (sem N), T2= 300 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amônio (18% de N), T3= 200 kg ha<sup>-1</sup> de ureia (45% de N) e T4= 2 L ha<sup>-1</sup> de Fortune® (20% de N), sendo aplicados nos estádios V6 e V8 mediante adubação de cobertura e via foliar, encontraram que os parâmetros como clorofila total (SPAD), diâmetro de espigas (cm), número de fileiras, massa de grãos por espiga (g), comprimento de espigas (cm) e produtividade de grãos (kg ha<sup>-1</sup>), foram favorecidos pelo tratamento T3 demonstrando efeito positivo para o uso de ureia como fonte nitrogenada.

Na literatura encontram-se diversas citações envolvendo respostas da cultura do milho (componentes de rendimento e rendimento de grãos) à aplicação de nitrogênio (fontes; doses e épocas). Entretanto, há menor número de informações quanto aos efeitos da variação nutricional na composição química (antocianinas, antioxidante e ácidos fenólicos) dos grãos de milho roxo, e a relação com adubação nitrogenada. Os maiores números de relatos encontrados são sobre os efeitos de fatores genéticos e ambientais na qualidade do grão de milho, principalmente em relação aos componentes de proteína.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Localização do Experimento

O experimento foi conduzido em regime de sequeiro, no período de outubro de 2018 a fevereiro de 2019, na área experimental do Departamento Acadêmico de Ciências Agrárias da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), localizada no município de Pato Branco. A região compreende a área do terceiro planalto paranaense, com altitude de 764 m de altitude, latitude de 26° 10' 38" W e longitude de 53° 04' situada ao sul-oeste do sul do Brasil (Figura 3). O solo da área experimental é um Latossolo Vermelho distrófico típico.



**Figura 3:** Localização geográfica da área experimental (Google Earth, 2019; IGBE, 2010)

O clima predominante na região é do tipo subtropical úmido mesotérmico (Cfb), segundo a classificação de Köppen (NITSCHKE et al., 2019). A temperatura média anual está em torno de 20 °C, em algumas ocasiões tem presença de geadas no inverno e a precipitação média anual é de 2250 mm, com boa distribuição pluviométrica ao longo do ano (CAVIGLIONE et al., 2000).

A área do experimento já vinha sendo manejada com diferentes lavouras. Primeiramente se fez uma coleta de amostras do solo, no mês de agosto de 2018, com a finalidade de conhecer as condições de fertilidade do terreno (Tabela 5).

**Tabela 5:** Atributos químicos do solo, na profundidade de 0 a 20 cm, antes da semeadura do milho roxo cultivar INIA-601\* e UNC-47\*\*

pH	MO	P	K	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+Al	SB	CTC	V
CaCl <sub>2</sub>	g dm <sup>-3</sup>	mg dm <sup>-3</sup>	-----			cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup>		-----		%
4,9*	54,9	9,7	0,45	4,5	2,7	0,07	5,01	7,65	12,66	60,4
5,34**	49,6	7,2	0,55	4,8	2,7	0,00	4,59	8,05	12,64	63,7

Laboratório de análises de solos da UTFPR. Metodologias: M.O. por digestão úmida; P e K extraídos com solução de Mehlich-1; pH em CaCl<sub>2</sub>1:2,5; Ca, Mg e Al trocáveis extraídos com KCl 1 mol L<sup>-1</sup>.

### 3.2 Delineamento experimental e tratamentos

O experimento foi desenvolvido em delineamento em blocos casualizados em esquema fatorial 2 x 4, com quatro repetições, totalizando 32 unidades experimentais. Foram utilizadas duas variedades de milho roxo (INIA-601 e UNC-47) e quatro doses de adubação nitrogenada em cobertura (0, 50, 100 e 150 kg de N ha<sup>-1</sup>). Cada unidade experimental possuía uma área de 45 m<sup>2</sup>, referente a cinco fileiras de milho espaçadas a 0,90 m, com dez metros de comprimento. A área total do experimento foi de 1440 m<sup>2</sup>.

### 3.3 Cultivo e manejo da cultura do milho roxo

Um mês antes da semeadura do milho roxo procedeu-se a dessecação da área do experimento, com o objetivo de eliminar todas as ervas daninhas presentes, como restos das culturas antecessoras, utilizando o herbicida glifosato na dosagem de 2,5 L ha<sup>-1</sup> de produto comercial contendo 360 g L<sup>-1</sup> de ingrediente ativo. A dessecação da área foi realizada no dia 25/09/2018.

A semeadura do milho roxo foi realizada no dia 25/10/2018 em sistema plantio direto, utilizando semeadoras manuais com espaçamento entre plantas de 0,25 e entre linhas de 0,90 m. As variedades de milho roxo foram a INIA-601 e a UNC-47, com população de 45 mil plantas ha<sup>-1</sup>, desenvolvidas pelo Instituto Nacional de Investigação Agrária (INIA) e pela Universidade Nacional de Cajamarca (UNC), respectivamente. A adubação de base foi o formulado NPK 08-20-15, na dose de 400 Kg ha<sup>-1</sup>.

No dia 05/11/2018 foi efetuada a adubação nitrogenada em cobertura no estádio V3-V4, nas doses crescentes de N (0, 50, 100, 150 kg de N ha<sup>-1</sup>), de acordo com os tratamentos, em uma única aplicação, utilizando como base ureia 46% de N.

No estágio V4 das plantas de milho foi aplicado o herbicida PrimaTop (Atrazina + Simazina) na dose de 8 L ha<sup>-1</sup>, com o intuito de controlar as plântulas de Papuã (*Brachiaria plantaginea*) e outras ervas daninhas presentes na área.

### 3.4 Variáveis Estudadas

Ao longo do ciclo do milho foram avaliados a altura da planta; altura da inserção da espiga; comprimento da espiga; diâmetro da espiga; número de grãos por fileira; número de fileiras por espiga; massa de 1000 sementes; produtividade; determinação do teor de antocianinas monoméricas totais; determinação do teor de compostos fenólicos totais e determinação do índice de antioxidantes no grão e no sabugo.

A altura das plantas e de inserção da primeira espiga foram medidas entre o nível do solo e a inserção da folha bandeira e até a base de inserção da primeira espiga, respectivamente, avaliadas no estágio de enchimento de grãos das plantas.

Para o diâmetro de espiga utilizou-se um paquímetro graduado em milímetros, tomando-se a medida na parte central da espiga.

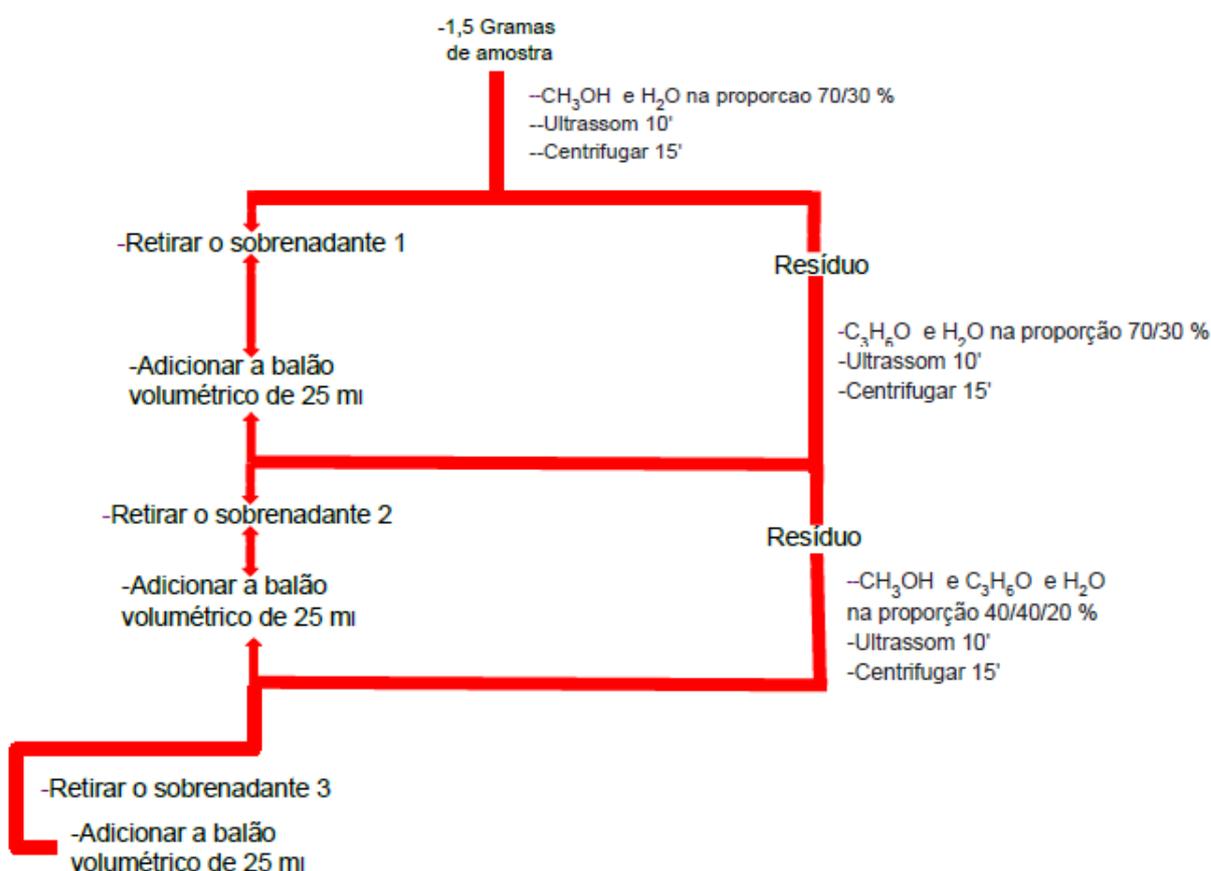
Para o comprimento da espiga utilizou-se régua graduada em milímetros, a medição foi feita a distância entre a base e a ponta da espiga. O diâmetro e comprimento de espiga foram avaliados em 10 espigas sem palha escolhidas aleatoriamente em cada parcela. Nas mesmas espigas também fez-se a contagem do número de fileiras por espiga, de grãos por fileira e de grãos por espiga.

A produtividade de grãos foi determinada através da colheita manual, realizada no dia 02/02/2019, utilizando as três fileiras centrais da parcela, com seis metros de comprimento. Após a coleta manual foi retirada a palha das espigas e realizada a trilha dos grãos. As amostras foram pesadas e a umidade corrigida para 13%, com os valores de produtividade extrapolados para kg ha<sup>-1</sup>. Também foram pesados 300 grãos da área útil da parcela, estimando-se a massa de mil grãos (MMG).

Após secagem em estufa com circulação forçada de ar a 65° C, por 72 horas, os grãos e sabugo foram moídos e a determinação do teor de antocianinas monoméricas totais foi feita pelo método de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001), onde duas alíquotas das amostras previamente diluídas foram transferidas a tubos de ensaio, os quais foram diluídos em tampão de cloreto de potássio (pH 1,0) e acetato de sódio (pH 4,5).

Os compostos fenólicos totais foram avaliados segundo o método de Folin e Ciocalteu (FeC), descrito por Singleton; Orthofer; Lamuela-Raventós (1999), com algumas modificações. Para a medida da atividade antioxidante (IAA) seguiu-se a metodologia descrita por Scherer; Godoy (2009), um método padrão que permite avaliar, por meio de um índice, a capacidade sequestrante de diferentes amostras frente aos compostos radicais.

O fluxograma das amostras para as determinações de antocianinas, compostos fenólicos e índice de atividade antioxidante está descrito na Figura 4.



**Figura 4:** Diagrama da abordagem para o estudo do índice de atividade antioxidante, fenóis totais e antocianinas monoméricas totais para as amostras de milho roxo.

### 3.5 Metodologia utilizada para determinar fenóis totais, antioxidantes e antocianinas

Os grãos e o sabugo das variedades INIA-601 e UNC-47 foram moídos em moinho de facas tipo Wiley, utilizando uma malha de 0,5 mm (faixa de tamanho de partícula menor que 500  $\mu\text{m}$ ). As farinhas de cada variedade foram identificadas e armazenadas em sacolas de polietileno de baixa densidade (PEBD) fechadas com zíper hermético a 4 °C até o início da análise química.

Aproximadamente 1,5 g de amostra foi homogeneizada em 25 mL de solução, metanol e água na proporção 70:30 (v: v) em tubo de falcom e mantida sob agitação no ultrassom por 10 min. Após esse tempo, aguardou-se em repouso por 30 min para depois levar a centrifugar com uma velocidade de 5000 rpm por 15 min, o mesmo procedimento se fez com acetona e água na proporção 70:30, o último foi de metanol, acetona e água em proporção 40:40:20. Em seguida o sobrenadante foi filtrado e mantido no freezer (-20 °C) por até 7 dias para sua respectiva análise. Do extrato foi analisado os seguintes conteúdos: quantidade de antocianinas totais; quantidade de fenóis totais; e índice de atividade antioxidante mediante as diferentes metodologias.

#### 3.5.1 Metodologia para determinação dos ácidos fenólicos totais

Tomou-se 125  $\mu\text{l}$  do extrato com uma concentração de 1,5  $\text{mg L}^{-1}$  previamente foi diluído em metanol, acetona e água, seguidamente foi transferido para o tubo de ensaio onde foram adicionadas 125  $\mu\text{L}$  do reagente FeC.

Deixou-se em repouso por um tempo de 25 min a temperatura ambiente, para posteriormente, ser neutralizada com adição de 1250  $\mu\text{L}$  de carbonato de sódio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7,5%, adicionou-se 1000  $\mu\text{L}$  de água, seguidamente deixou-se em repouso por 40 min no escuro à temperatura ambiente. As absorvâncias (Abs.) foram medidas em espectrofotômetro (Modelo: UV-visível V-730) a 760 nm, utilizando-se uma amostra com água destilada como prova em branco. Se utilizou ácido gálico como padrão para a quantificação de teor total de fenóis com concentrações de 50, 100, 150, 250, e 500  $\text{mg L}^{-1}$  para assim construir uma curva de calibração.

#### 3.5.2 Determinação da Atividade Antioxidante DPPH

Para observar a reação que contém a atividade antioxidante como também o radical, as amostras foram diluídas em metanol, acetona e água, as

quantidades de alíquotas foram de 150 µL, para cada uma das concentrações feitas, nas quais foram transferidas para tubos de ensaios para adição do 500 µL de DPPH e 1100 µL de etanol. Após 30 minutos, as absorbâncias das amostras foram medidas em longitudes de onda de 515 nm em espectrofotômetro (Modelo: UV-visível V-730). As análises foram efetuadas por triplicada e os resultados plotados em absorbância versus a concentração da amostra, com objetivo de obter os valores em % de inibição, a qual é definida como a concentração necessária para reduzir a 50% da concentração inicial de DPPH, sendo os resultados expressos em mg mL<sup>-1</sup>.

### 3.5.3 Determinação da quantidade de antocianinas monoméricas

Para determinar a diluição adequada, alíquotas do extrato da amostra mais concentrada (entre 25 µL e 200 µL) foram extraídas e levadas para um volume final de 1000 µL com tampão cloreto de potássio 0,025 M (KCl), pH 1,0, e acetato de sódio pH 4,5. As diluições foram deixadas em repouso 20 minutos, ao abrigo da luz.

As leituras foram feitas nos comprimentos de onda de 520 e 700 nm em espectrofotômetro (Modelo: UV-visível V-730) com cubetas de quartzo de 1 cm de largura. O fator de diluição (FD) foi calculado como a razão entre o volume final (1000 µL) e o volume inicial da amostra (1,5 g - 25 µL) e (250 µL - 2750 µL). Os resultados foram expressos em miligramas de antocianinas monoméricas totais (AMT) por 100 g de amostra calculados de acordo com as equações 1 e 2 (GIUSTI; WROLSTAD, 2001).

$$(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5} = A \quad \text{Equação 1}$$

$$\text{ATM (mg EP. 100g MU}^{-1}\text{)} = \frac{A \times \text{MM} \times \text{FD} \times 1000}{\epsilon \times L} \quad \text{Equação 2}$$

- A : Absorbância (calculada para equação 1)
- MM : Massa molecular do padrão de cianidina 3-glucosídeo (449,2g)
- FD : Fator de diluição (183,26)
- $\epsilon$  : Coeficiente de absorbância molar cianidina 3-glucosídeo (449,2g) (LM<sup>-1</sup>.CMO<sup>-1</sup>) = 26,900
- L : Caminho óptico da cubeta

### 3.6 Análises estatísticas

Os dados das avaliações foram submetidos a análise de variância utilizando-se o programa computacional estatístico Genes. Quando o F foi significativo ( $P < 0,05$ ) para dose do nitrogênio foi feita análise de regressão. Quando o F foi significativo ( $P < 0,05$ ) para os cultivares foi feito o teste de comparação de médias, Tukey a 5%. Quando F foi significativo ( $P < 0,05$ ) para interação variedades x doses de N foi feito o desdobramento da interação, fazendo-se análises de regressão para as doses de nitrogênio e teste Tukey em nível de 5% de significância para as variedades.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Avaliações fitotécnicas, biométricas e componentes de rendimento de variedades de milho roxo em função do nível de nitrogênio

#### 4.1.1 Altura de planta e altura de inserção da espiga

A Tabela 6 decompõe a variabilidade da altura de planta (AP) e altura da inserção da espiga (AIE) com os fatores em estudo, resultando que existe diferença para doses de N com relação a primeira variável; para a segunda variável demonstra efeito isolado das variedades INIA-601 e UNC-47 e para doses de N (0, 50, 100 e 150 kg de N ha<sup>-1</sup>). Para ambas as variáveis analisadas não houve interação entre variedades de milho roxo e doses de N.

**Tabela 6:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis altura de plantas (AP) e altura de inserção de espiga (AIE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco-PR, 2020

Fontes da Variação	GL	AP	AIE
Blocos	3	0,00031	0,0002
Variedades de milho (VM)	1	0,00011 <sup>ns</sup>	0,00281**
Doses de Nitrogênio (DN)	3	0,00833**	0,09865**
VM x DN	3	0,00041 <sup>ns</sup>	0,00059 <sup>ns</sup>
Residual	21	0,00134	0,00051
Média		1,99	1,34
CV (%)		1,84	1,70

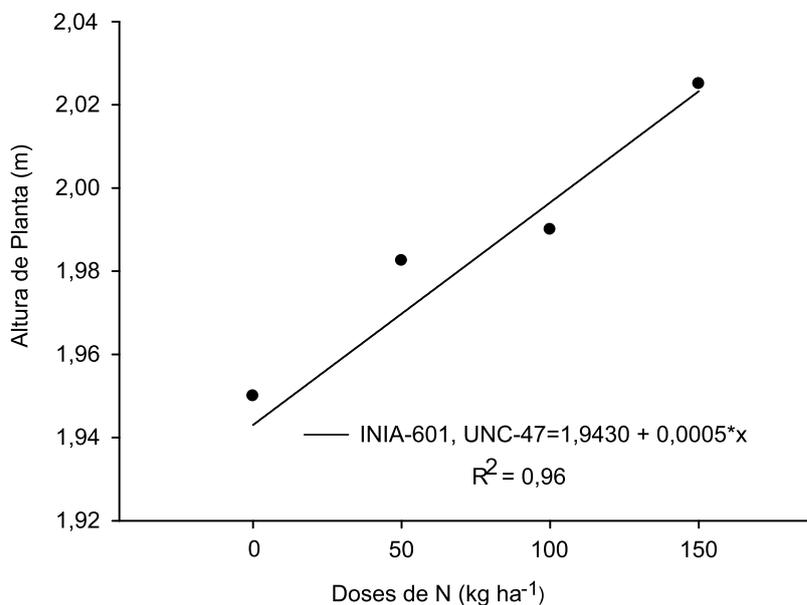
\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) pelo teste F. <sup>ns</sup> não significativo.

O modelo de regressão que melhor se ajustou aos dados de altura de planta (AP) foi a linear. Entre as doses de 0 e 150 kg de N ha<sup>-1</sup> a AP variou de 1,94 a 2,02 m, respectivamente. Para cada kg de N aplicado correspondeu um aumento de 0,0005 m na AP de milho roxo INIA-601 e UNC-47 (Figura 5).

A altura máxima de plantas de milho safrinha, cultivada em Latossolo Vermelho eutrófico no município de Dourados – MS, foi de 2,10 m com a aplicação de 121 kg de N ha<sup>-1</sup>, decrescendo a partir deste valor (DO MAR et al., 2003). Alturas muito elevadas de plantas de milho podem favorecer o acamamento, fato que, além de afetar o rendimento, também prejudica a colheita mecânica.

Segundo Máximo et al. (2019), a altura de plantas de duas cultivares de milho híbrido, com aplicação de adubo nitrogenado em cobertura, em doses correspondentes a 0, 50, 100 e 150% da dose recomendada, usando ureia como fonte, não foi influenciada pelas cultivares e doses de N, atingindo um valor médio de

1,65 m. Apesar de não discutido pelos autores, o resultado inferior de AP encontrado neste estudo, pode ser devido ao fato do solo da área experimental apresentar quase uma condição alcalina, com pH-H<sub>2</sub>O de 6,5 e saturação por bases de 98%, fato que pode prejudicar a absorção de alguns nutrientes.

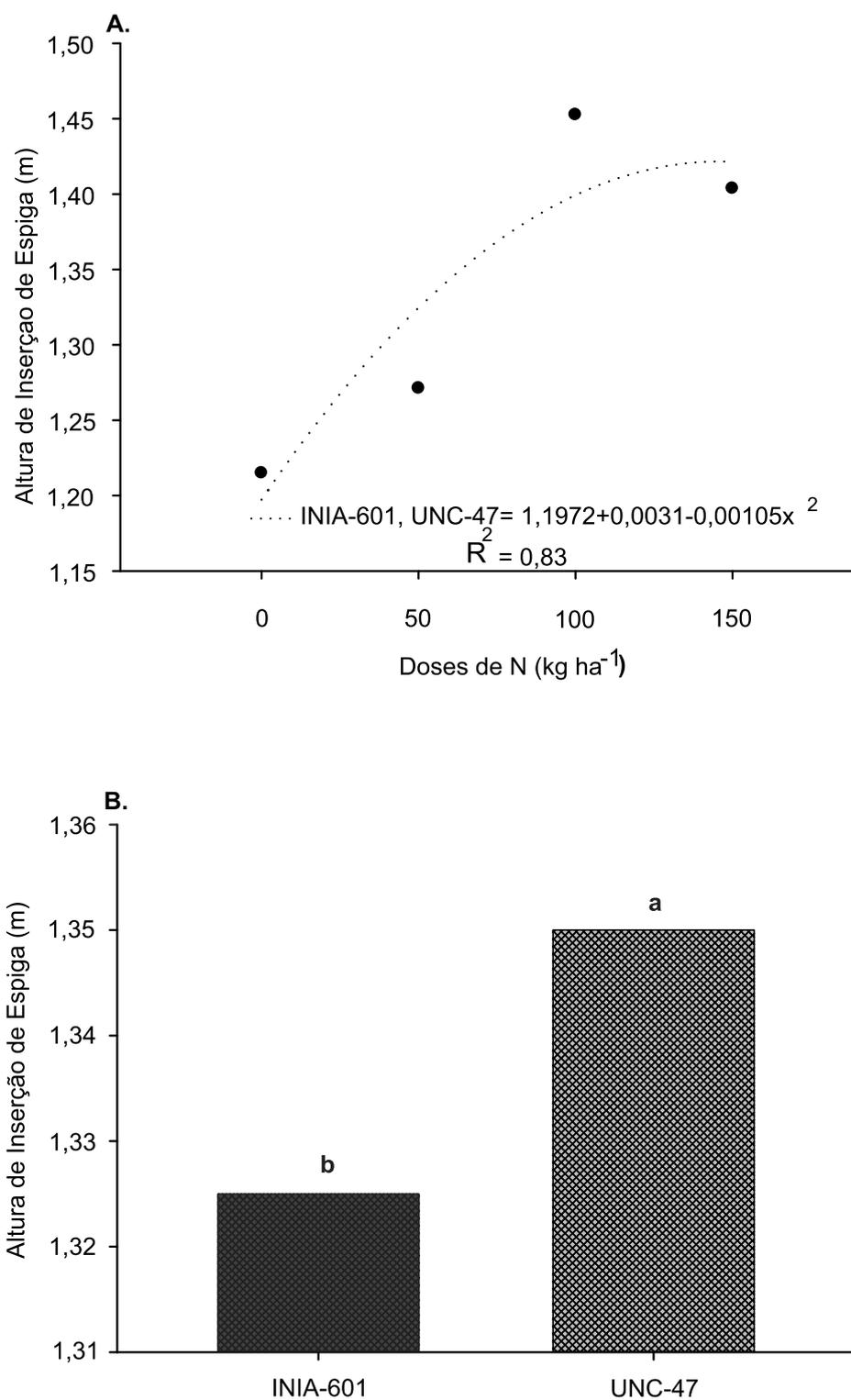


**Figura 5:** Altura de planta de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (os valores são médias de duas variedades, INIA-601 e UNC-47). UTFPR, Pato Branco-PR, 2020.

Em relação a inserção da espiga (AIE) as doses de N demonstraram uma resposta quadrática, sendo que a dose de máxima eficiência técnica foi de 146 kg ha<sup>-1</sup>, a qual proporcionou uma altura de 1,42 m. Quando não foi aplicado N a AIE foi de 1,19 m, valor cerca de 20% inferior ao máximo observado com uso de N (Figura 6A). No trabalho de Do Mar et al. (2003), a aplicação de 116 kg de N ha<sup>-1</sup> promoveu o maior valor de AIE, o qual, neste trabalho, foi de 99,54 cm.

Portugal et al. (2012), trabalhando com doses de N, na presença e ausência de inoculação, via foliar, com *Azospirillum brasilense*, encontraram que a aplicação de 74,5 kg de N ha<sup>-1</sup>, usando sulfato de amônio como fonte, promoveu a maior AIE. Cruz et al., (2008), afirmam que os componentes morfológicos são de fundamental importância para o cultivo do milho, pois estão diretamente relacionados à qualidade e produtividade do grão. Além disso para Possamai; De Souza; Galvão, (2001), as perdas e a pureza do grão na colheita mecanizada são diretamente influenciadas pela altura da planta e, principalmente, pela altura de inserção da espiga e pelas mesmas características descritas, vantagens na colheita.

As duas variedades de milho roxo testados responderam de forma diferenciada, sendo que a maior AIE foi obtida com o genótipo UNC-47 (Figura 6B).



**Figura 6:** Altura de inserção da espiga de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A) (média de duas variedades) e entre duas variedades de milho roxo (B) (média de quatro doses de N). UTFPR, Pato Branco-PR, 2020.

Em estudo no estado de Ayacucho-Peru, com diferentes variedades de milho roxo com um tratamento testemunha (sem adubação) e outros com níveis de NPK (18-46-30=f<sub>1</sub>; 120-90-60=f<sub>2</sub>; 120-110-80=f<sub>3</sub>; 120-120-100=f<sub>4</sub>), verificou-se que a variedade PVM-581, quando não fertilizada, apresentou altura média de plantas de 2,06 m e de espigas de 1,33 m. Por sua vez, o tratamento (f<sub>1</sub> = 18-46-30), para a variedade negro de canaán, proporcionou os melhores resultados, quais sejam, 2,40 m e 1,32m, respectivamente, para altura de plantas e altura de inserção da espiga (PINEDO TACO; RODRÍGUEZ SOTO; VALVERDE REYES, 2017).

Santos et al. (2016), comparando variedades crioulas (Hibra; Cateto; Vermelho; Do Campo; Alho e Santa Catarina) e comerciais (BRS Caatingueiro e QPM BR 473), no semiárido sergipano, destacam que os crioulos, especialmente as variedades Hibra, Vermelho e Do Campo, tem maior altura de planta em relação as cultivares comerciais, porém são menos produtivas. Assim, o uso por parte dos agricultores, vai depender do interesse, sendo as variedades crioulas destinadas para alimentação animal e as comerciais para produção de grãos onde destaca-se que os crioulos têm uma altura de planta maior (3,5 e 2,5 m).

No presente trabalho observou-se, a campo, que algumas plantas de milho roxo sofreram acamamento, possivelmente influenciado pela quantidade de nitrogênio aplicado. Essa explicação pode ser corroborada por Caires; Milla (2016), onde a maior quantidade de fertilizante aplicada aumentou a altura da planta e a inserção da espiga no caule e contribuiu para o maior risco de acamamento da cultura. Portanto, apesar da grande importância do nitrogênio nas lavouras de milho, seu uso na fertilização deve ser racional, pois pode causar danos econômicos e poluição ambiental (TAKASU et al., 2014).

#### 4.1.2 Diâmetro e comprimento da espiga

Foi observado efeito da interação entre as variedades de milho roxo com as doses de N, em relação ao diâmetro e comprimento da espiga do milho roxo (Tabela 7).

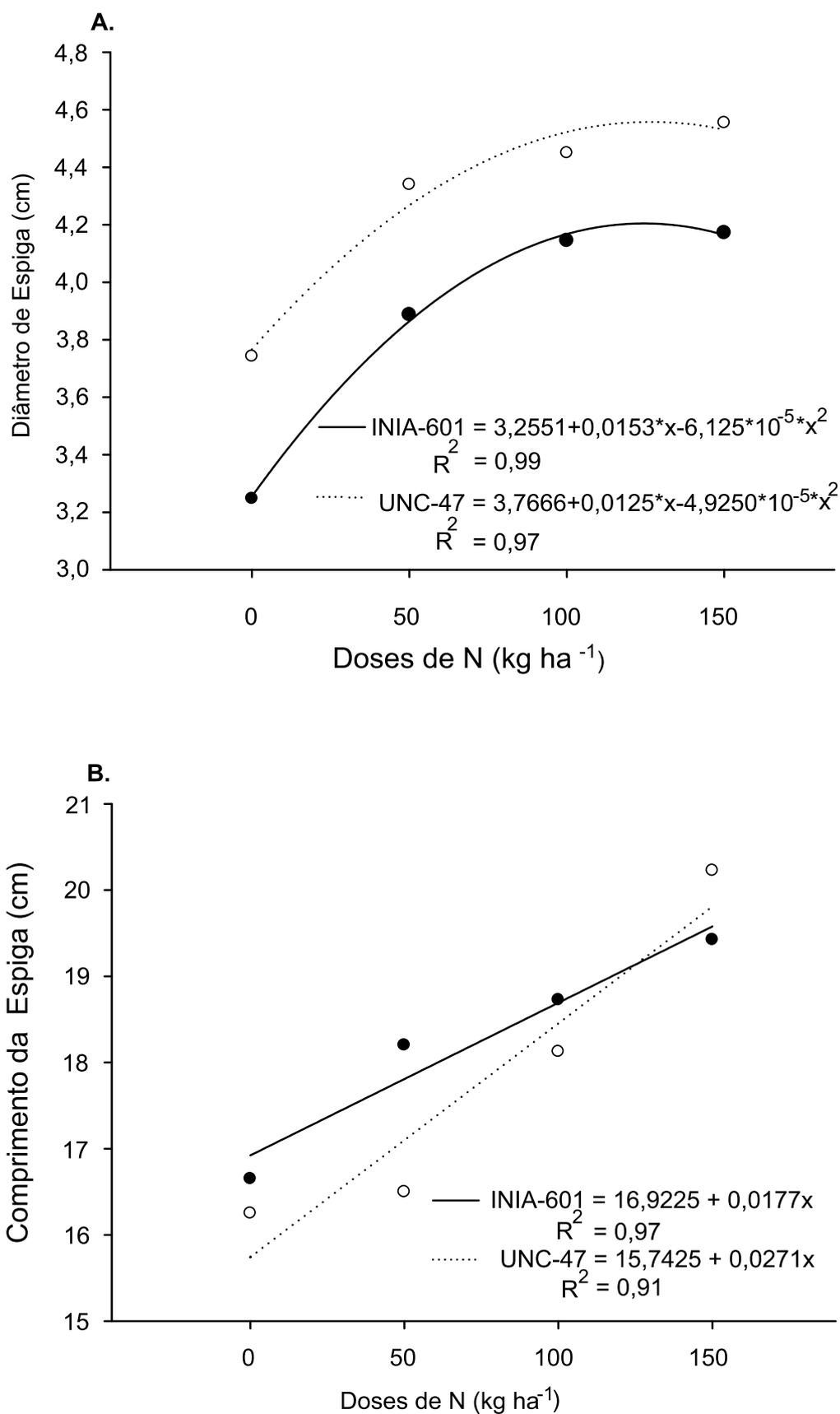
**Tabela 7:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis diâmetro da espiga (DE) e comprimento da espiga (CE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	DE	CE
Blocos	3	0,00038	0,12083
Variedades de milho (VM)	1	1,33661**	1,805**
Doses de Nitrogênio (DN)	3	1,25483**	16,895**
VM x DN	3	0,01387**	2,09833**
Residual	21	0,0027	0,21083
Média		4,06	18,01
CV (%)		1,27	2,55

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) pelo teste F.

Os dados foram ajustados de forma quadrática para diâmetro da espiga (DE), sendo que a dose de máxima eficiência técnica (MET), para a variedade INIA-601, foi de 127 kg de N ha<sup>-1</sup> proporcionando um diâmetro da espiga de 4,23 cm. Para a variedade UNC-47, o comportamento foi quase similar com a MET na dose de 125 kg de N ha<sup>-1</sup>, gerando uma espiga com diâmetro de 4,55 cm. Quando não foi aplicado N o DE foi de 3,25 e 3,77 cm para as variedades em estudo, respectivamente (Figura 7A).

E para o comprimento da espiga (CE), foram aplicadas equações tipo linear. Quando não se fertilizou com nitrogênio o comprimento de espiga das variedades UNC-47 e INIA-601 foi de 15,74 e 16,92 cm, respectivamente. Para cada Kg de N aplicado ocorre um acréscimo de 0,0271 e 0,0177 cm de CE de milho roxo (Figura 7B), para UNC-47 e INIA-601, respectivamente. Os valores encontrados neste trabalho, discordam com os de Inia (2014), para a variedade INIA-601, em sua ficha técnica, cujos valores de diâmetro e de comprimento de espiga foram de 4,6 e 17,5 cm, respectivamente.



**Figura 7:** Diâmetro de espiga (A) e comprimento da espiga (B) de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020.

O comprimento da espiga é uma variável muito importante, pois pode influenciar o número de grãos por espiga e, conseqüentemente, o rendimento. Na pesquisa realizada em Ayacucho-Peru, onde testaram os níveis de NPK (18-46-30=f<sub>1</sub>; 120-90-60=f<sub>2</sub>; 120-110-80=f<sub>3</sub>; 120-120-100=f<sub>4</sub>) com variedades de milho roxo, verificou-se que há interação entre variedades e adubação. Utilizando o nível f<sub>3</sub> de adubação, a variedade INIA-615 apresentou médias de 13,81 cm e 4,20 cm para comprimento e diâmetro de espiga, respectivamente; por sua vez, esses valores foram de 12,99 cm e 4,01 cm para a variedade PMV-581, considerando o nível f<sub>2</sub> de adubação. Os autores concluíram que a melhor adubação para o cultivo de milho roxo deve ser feita com as doses f<sub>3</sub> (PINEDO TACO; RODRÍGUEZ SOTO; VALVERDE REYES, 2017).

Em geral, a maioria das investigações com diferentes variedades de milho roxo como PVM-581 e INIA-601, o diâmetro de espiga foi de 3,67 e 4,6 cm, e com relação a comprimento da espiga foram encontradas médias de 12,48 e 17,46 cm, respectivamente (QUISPE JACOBO; ARROYO CONDORENA; GORRITI GUTIÉRREZ, 2011; GUEVARA, 2017).

#### 4.1.3 Números de grãos por fileira, número de fileiras por espiga e número de grãos por espiga.

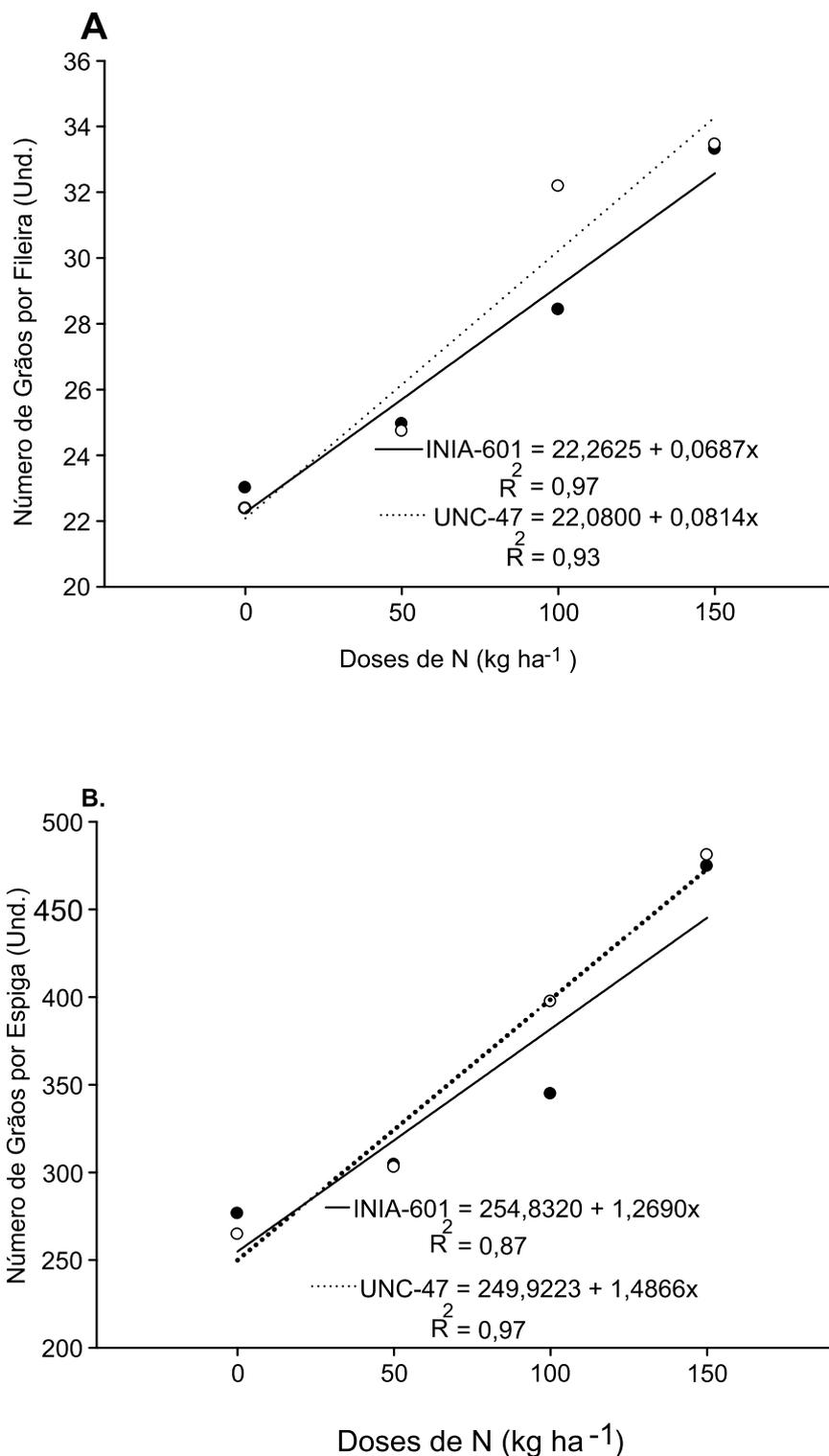
A partir da análise de variância (Tabela 8), observa-se que o nitrogênio aplicado na cultura do milho roxo influenciou o número de fileiras por espiga. Para as variáveis número de grãos por fileira e número de grãos por espiga, houve interação significativa entre as duas variedades de milho e as doses de nitrogênio.

**Tabela 8:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis número de grãos por fileira (NGF), número de fileiras por espiga (NFE) e número de grãos por espiga (NGE) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	NGF	NFE	NGE
Blocos	3	0,0325	0,16167	121,9019
Variedades de milho (VM)	2	4,65125**	0,02 <sup>ns</sup>	1041,391**
Doses de Nitrogênio (DN)	3	192,6525**	9,70083**	66885,56**
VM x DN	3	8,13375**	0,06583 <sup>ns</sup>	1627,221**
RESIDUAL	21	0,19107	0,0731	51,42062
Média		27,8	12,675	355,711
CV (%)		1,57236	2,13303	2,01591

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) pelo teste F. <sup>ns</sup> não significativo.

Independente da variedade de milho roxo, o aumento de dose de N aplicada resultou em aumento linear tanto para o número de grãos por fileira (NGF) quanto para número de grãos por espiga (NGE), sendo muito similar o comportamento das variedades (Figura 8A e 8B).



**Figura 8:** Número de grãos por fileiras (A) e número de grãos por espiga (B) de duas variedades milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020.

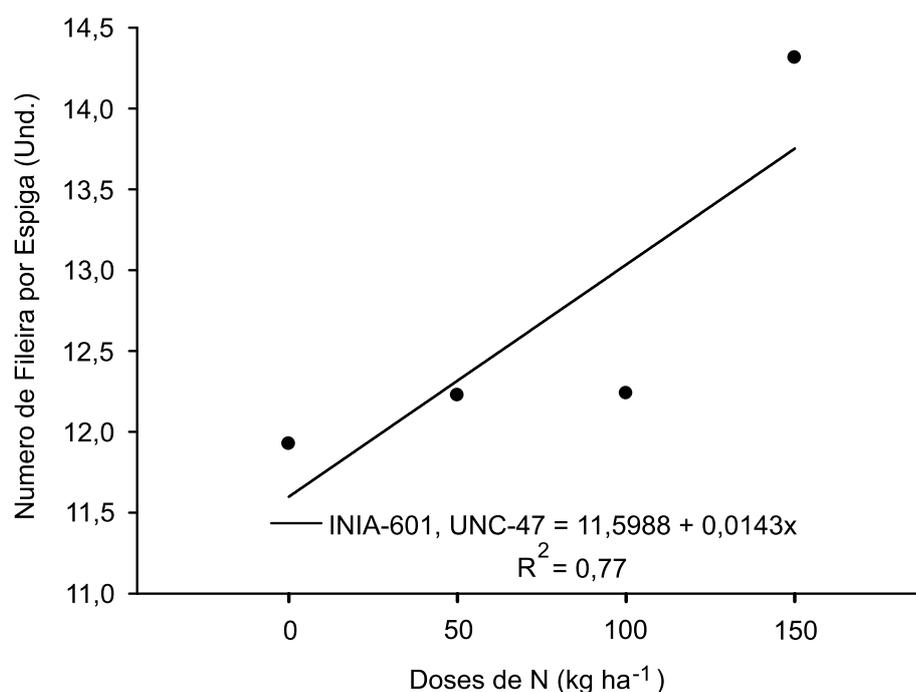
Em média, para as duas variedades de milho roxo, foram obtidos valores máximos de 33 grãos por fileira e de 450 grãos por espiga. Esses dados concordam com os resultados obtidos por Veloso et al. (2010), que encontraram 39 grãos por fileira com a aplicação de 116 kg de N ha<sup>-1</sup>. Souza et al. (2011), avaliando duas safras de milho em 2007 e 2008, com doses de N (0, 50, 100, 150 e 200 kg ha<sup>-1</sup>), observaram resposta linear das doses na safra 2008 e aumento no número de grãos por fileira até a dose de 142 kg ha<sup>-1</sup> na safra 2007. O mesmo ocorreu para o número de grãos por espiga, sendo linear a resposta em 2008 e um valor máximo obtido para a doses de 159 kg de N kg ha<sup>-1</sup> na safra 2007.

Amaral Filho et al. (2005) indicam que o aumento nas doses de N (0, 50, 100 e 150 kg ha<sup>-1</sup>) também promove aumento linear no número de grãos por espiga. Por outro lado, Pinedo Taco; Rodríguez Soto; Valverde Reyes (2017), testaram os níveis de NPK (18-46-30=F<sub>1</sub>; 120-90-60=F<sub>2</sub>; 120-110-80=F<sub>3</sub>; 120-120-100=F<sub>4</sub>) com genótipos de milho roxo. O maior número de grãos por espiga está presente no INIA-615 (227 unidades) e no PMV-581 (214 unidades), com níveis de fertilização F<sub>3</sub> e F<sub>1</sub>, respectivamente.

Efeitos significativos foram encontrados no trabalho descrito por Caires; Milla (2016), onde houve um aumento linear no número de grãos por espiga com taxas crescentes de N, onde 17,9% a mais de grãos por espiga foram alcançados com a dose de (180 kg ha<sup>-1</sup>), comparado com a testemunha.

Estes dados discordam dos encontrados por Casagrande; Fornasieri Filho (2002), que não encontraram efeito nas doses de N (0, 30, 60 e 90 kg ha<sup>-1</sup>), com variáveis agrônômicas e de produtividade de milho.

Por sua vez, o número de fileiras por espiga sofreu influência apenas para as doses de nitrogênio, apresentando o mesmo comportamento independentemente da variedade de milho roxo (Figura 9). De acordo com a equação de regressão, para cada kg de N aplicado correspondeu um aumento de 0,0143 fileira em cada espiga de milho. Entre as doses testadas, o número de fileiras variou entre 11,59 a 13,74, respectivamente, para as doses de 0 e 150 kg de N ha<sup>-1</sup>.



**Figura 9:** Número de fileiras por espiga de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (os valores são médias de dois genótipos, INIA-601 e UNC-47). Pato Branco-PR, 2020.

#### 4.1.4 Massa de Mil Grãos e Produtividade de Milho Roxo

A análise da variância dos dados de massa de mil grãos e produtividade mostrou interação, variedades de milho roxo x doses de nitrogênio (Tabela 9). Esperava-se que a massa de mil grãos aumentasse linearmente com doses crescentes de N, pois segundo Thies; Singleton; Bohlool (1995), doses mais altas de adubação nitrogenada causam aumento nos grãos, resultando em um peso maior de massa de mil grãos.

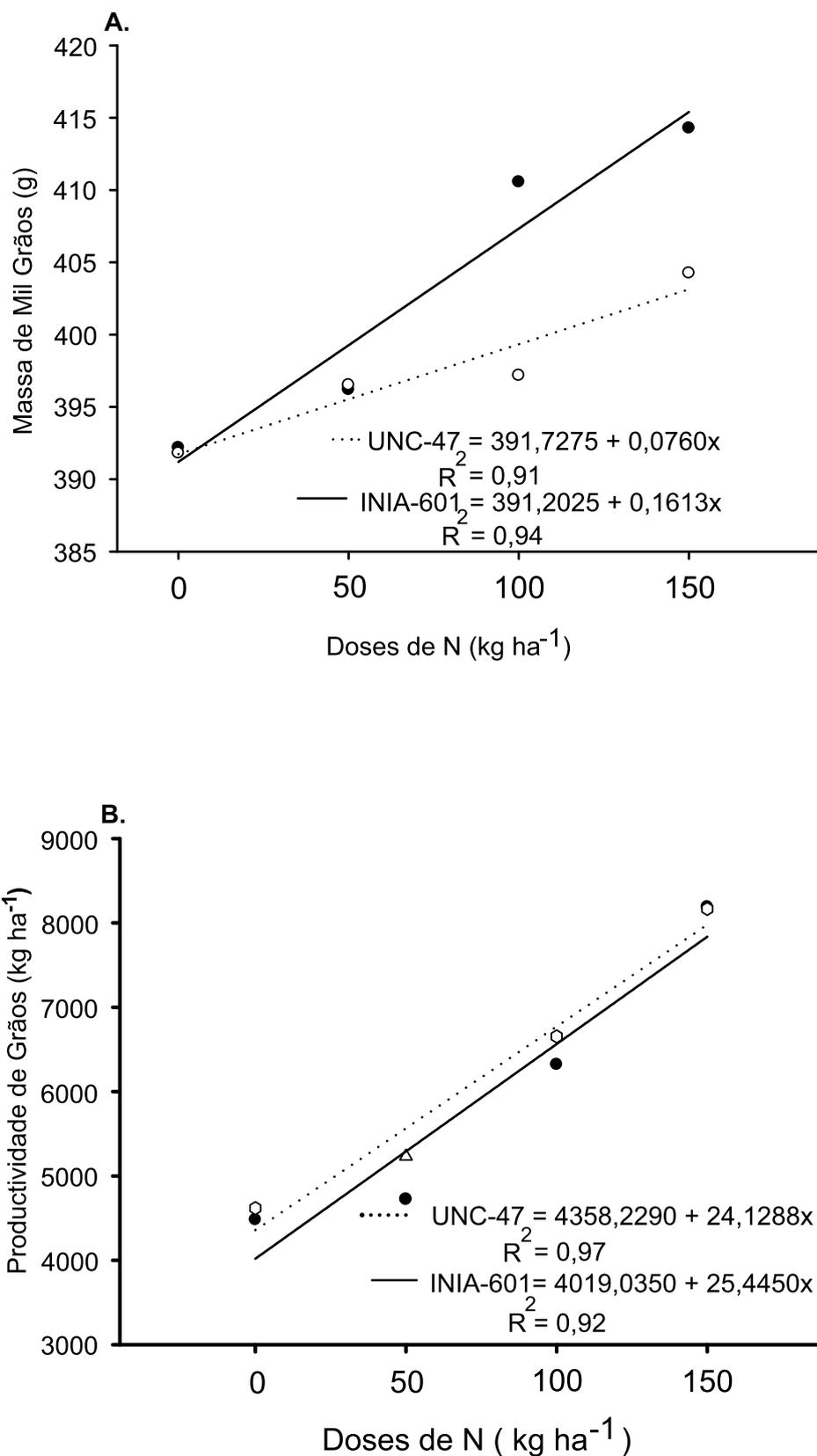
**Tabela 9:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para as variáveis massa de mil grãos (MMG) e produtividade (PROD) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	MMG	PROD.
Blocos	3	2,545365	74846,8
Variedades de milho (VM)	1	275,53781**	462629,6**
Doses de Nitrogênio (DN)	3	473,869**	21647467**
VM x DN	3	94,5687**	106703,3**
Resíduo	21	3.316267	24357,94
Média		400,366	6047,649
CV (%)		0,45485	2,580677

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) pelo teste F.

O valor máximo de massa de mil grãos foi obtido na dose de 150 kg de N ha<sup>-1</sup>, sendo de 415 g e 403 g para as variedades INIA-601 e UNC-47, respectivamente (Figura 10). Em estudos realizados com diferentes doses de N no

milho no sistema plantio direto, também houve um aumento na massa de mil grãos e no número de grãos por fileira (DUETE et al., 2008).



**Figura 10:** Massa de mil grãos (A) e produtividade (B) de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020.

González-Cortés et al. (2016), encontraram 417 g para massa de mil grãos em trabalho realizado com milho crioulo, que teve como prioridade a seleção de material genético e, assim, buscando manter a biodiversidade.

Na Figura 10B, observa-se que as diferentes doses aplicadas afetaram o desenvolvimento do milho roxo, uma vez que o tratamento que não foi fertilizado com N, teve uma menor produtividade (INIA-601 = 4.019,04 kg ha<sup>-1</sup> e UNC-47 = 4.358,23 kg ha<sup>-1</sup>). Quando aplicou-se a dose de 150 kg N ha<sup>-1</sup> a produção foi de 7.835,78 e 7.977,55 kg ha<sup>-1</sup> de grãos para INIA-601 e UNC-47, respectivamente. Nesta variável pode-se inferir que de cada Kg de N aplicado corresponde um aumento de 25,45 e 24,13 kg ha<sup>-1</sup> de rendimento de milho roxo, para as variedades INIA-601 e UNC-47, respectivamente, ficando claro que essa diferença está diretamente relacionada ao efeito residual de N aplicado na cultura.

Esses resultados corroboram aos encontrados por Ferreira Gomes et al. (2007), onde as taxas de N influenciaram significativamente a produtividade de grãos de milho, com produtividade superior na dose de 150 kg de N ha<sup>-1</sup> (7.012 kg ha<sup>-1</sup>), 8,21% maior que o controle (testemunha), que foi de 6.480 kg ha<sup>-1</sup>. Fato de que, para a mesma safra de milho roxo, ela não concorda com os dados encontrados por Pinedo Taco; Rodríguez Soto; Valverde Reyes (2019), que visavam determinar a melhor resposta ao rendimento. No tratamento testemunha (sem adubação), a variedade INIA-615-Negro produziu 3,67 t ha<sup>-1</sup>, seguido de PMV-581 com 2,78 t ha<sup>-1</sup>. Por sua vez, com a fertilização F<sub>3</sub> = 120-90-60 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O), a variedade PMV-581 aumentou o rendimento para 3,69 t ha<sup>-1</sup>, no entanto os valores foram inferiores aos encontrados neste experimento, evidenciando que os fertilizantes aplicados podem não ter sido assimilados adequadamente pelas plantas, devido a algumas situações ocorridas no campo, como pH-7,5 e ausência de H<sub>2</sub>O no momento de formação da espiga.

## 4.2 Avaliações dos Componentes Físico-Químicos de Milho Roxo (Antioxidantes, Fenóis totais e antocianinas) nos grãos e no sabugo

### 4.2.1 Índice de Atividade Antioxidante do Sabugo e do Grão

A Tabela 10 mostra as médias dos resultados obtidos na caracterização físico-química das amostras do índice de atividade antioxidante do milho roxo (IAA). Na análise do sabugo foi observada interação entre variedades de milho e doses de nitrogênio; por sua vez, apenas as doses de N afetaram o IAA nos grãos de milho.

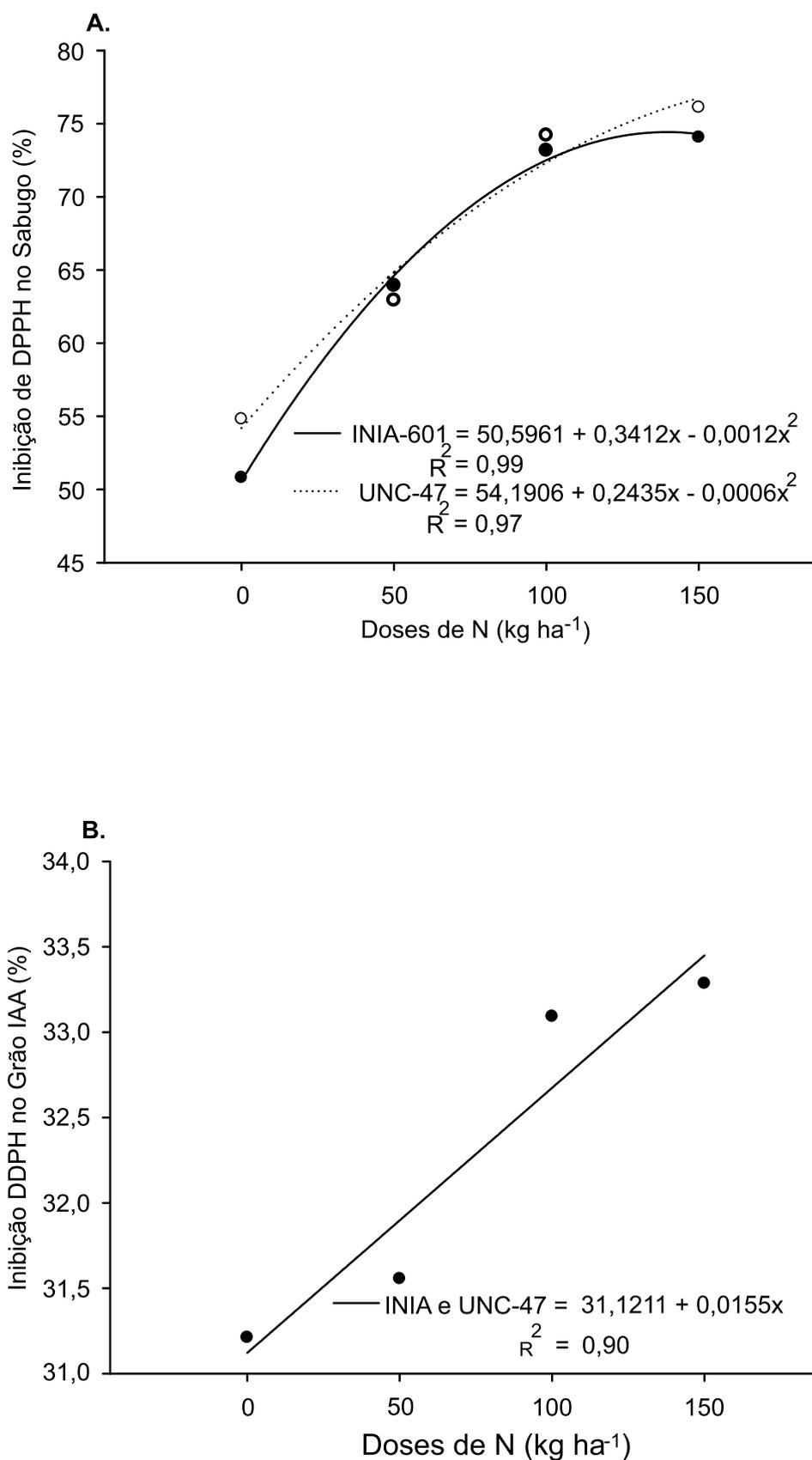
**Tabela 10:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para a variável índice de atividade antioxidante do sabugo (IAA-Sabugo) e índice de atividade antioxidante do grão (IAA-Grão) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	IAA- Sabugo	IAA- Grão
Blocos	3	0,53172	199,29691
Variedades de milho (VM)	1	18,45281**	2,4255 <sup>ns</sup>
Doses de Nitrogênio (DN)	3	858,32999**	8,90284**
VM x DN	3	8,69137**	0,20847 <sup>ns</sup>
Resíduo	21	0,58625	1,51218
Média		66,26	32,29
CV (%)		1,56	3,81

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) Pelo teste F. <sup>ns</sup> não significativo.

Na Figura 11, o IAA foi representado em termos de inibição da DPPH, em %, que é definido como o mecanismo de sequestrar o radical DPPH com as conformações estruturais dos compostos antioxidantes (IBRAHIM et al., 2012; MONROY et al., 2016; LAO; GIUSTI, 2018). Em termos do índice de atividade antioxidante das variedades do milho roxo INIA-601 e UNC-47 e das doses de N (0-50-100-150 kg ha<sup>-1</sup>), o parâmetro de inibição da DPPH % é um indicador que mostra a quantidade dos antioxidantes que podem conter a amostra, em resumo, quanto maior o valor da inibição da DPPH (%), maior a atividade antioxidante.

É bom expressar os resultados em termos de inibição da DPPH (%) para permitir fazer uma comparação direta entre as atividades antioxidantes de diferentes compostos. Nestes resultados (Figura 11A e 11B), todas as avaliações realizadas mostraram altos níveis de inibição da DPPH %, portanto, extratos antioxidantes altos devem ser considerados. O argumento é corroborado por Reynertson; Basile; Kennelly (2005), com base nos resultados encontrados com extratos vegetais brasileiros, afirmam que, como regra geral, extratos com misturas de compostos orgânicos (etanol, metanol, acetona e água) apresentaram maiores valores de inibição da DPPH (%) são aqueles que contém maior atividade antioxidante (IAA).



**Figura 11:** Índice do atividade antioxidante do sabugo de duas variedades de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A) e Índice do atividade antioxidante do grão de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (B) (os valores são as medias de dois genótipos, INIA-601 e UNC-47). Pato Branco-PR, 2020.

Para os estratos de cultivares de milho roxo (INIA-601 e UNC-47), neste estudo, o valor máximo de atividade antioxidante no sabugo (IAA-Sabugo) ocorreu nas doses de 142 e 203 kg N ha<sup>-1</sup>, sendo, respectivamente, de 74,85% e 78,89% para as variedades INIA-601 e UNC-47 (Figura 11A). Para o IAA-Grão não houve diferença entre as variedades e o valor máximo de DPPH foi de 33,45%, sendo que por cada kg de N ha<sup>-1</sup> aplicado em campo corresponde a 0,0155 de aumento de índice de atividade antioxidante (IAA) nos grãos de milho roxo (Figura 11B). Esses valores são corroborados por Guillén-Sánchez; Mori-Arismendi; Paucar-Menacho, (2010) e se justificam pelo fato de que a espiga contém pigmento chamado antocianina, que é encontrado em maior quantidade no sabugo e, em menor proporção no pericarpo do grão.

Pode-se demonstrar, neste estudo que o milho roxo pode conter uma boa atividade antioxidante (IAA), mas também implica que um suprimento elevado de N pode aumentar a taxa de atividade antioxidante e, portanto, facilita a inibição da DPPH.

#### 4.2.2 Fenólicos Totais do Sabugo e do Grão

A Tabela 11, para extração dos fenólicos totais (TF), sabugo e do grão de milho roxo, indica que há diferenças altamente significativas. Para a variável (TF-Grão) houve efeito apenas para doses de N (0, 50, 100, 150 kg ha<sup>-1</sup>). Para a variável (TF-Sabugo), existem diferenças significativas nas doses (0, 50, 100, 150 kg ha<sup>-1</sup>) e nas variedades descritas neste estudo, enquanto os coeficientes de interação variedades x doses, não apresentou significância para nenhuma das variáveis.

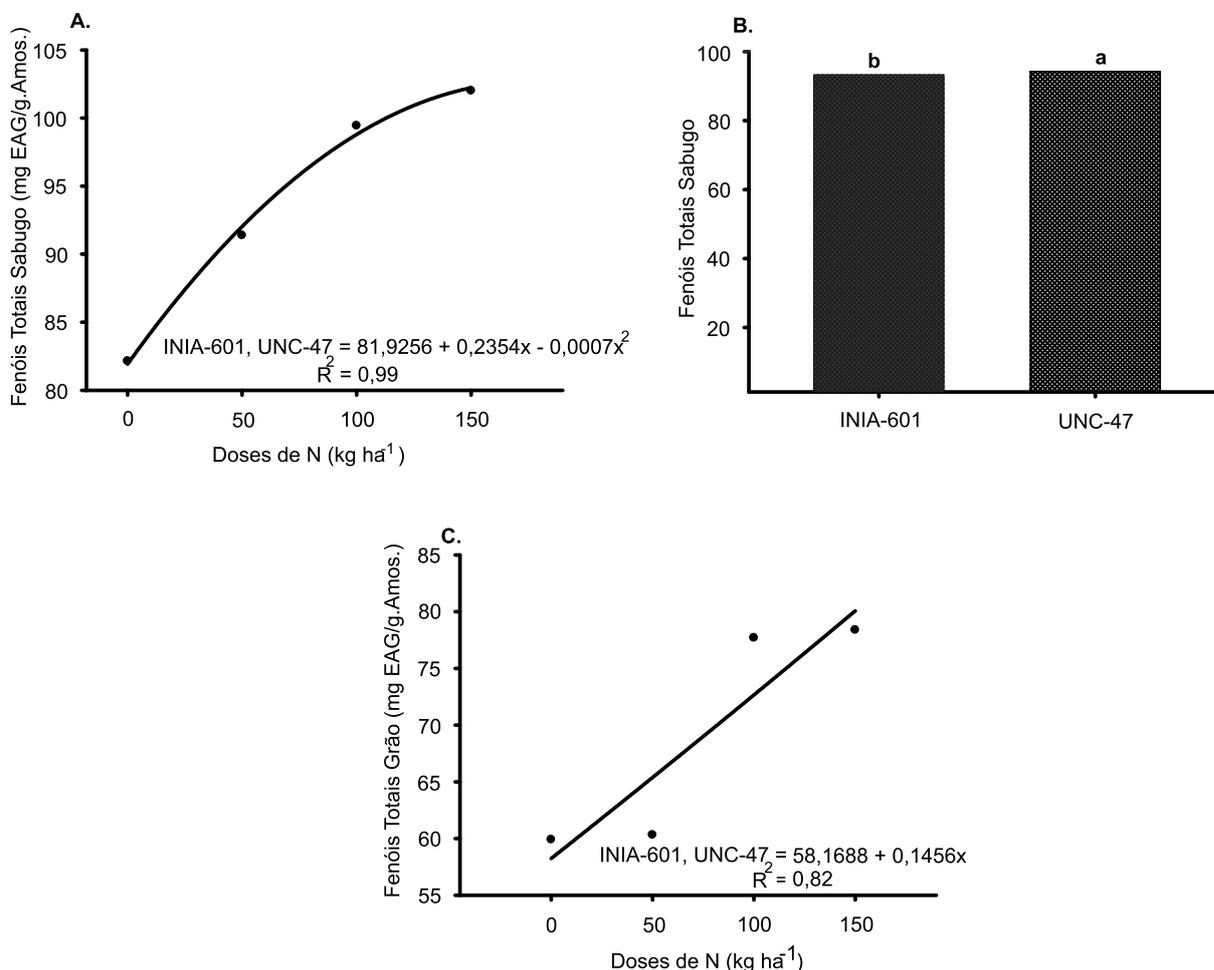
**Tabela 11:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL), e coeficiente de variação (CV) para a variável quantidade de fenóis totais no sabugo (TF- sabugo) e fenóis totais nos grãos (TF- Grão) de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	TF-Sabugo	TF-Grão
Blocos	3	0,00942	1,91525
Variedades de milho (VM)	1	7,81113**	4,92195 <sup>ns</sup>
Doses de Nitrogênio (DN)	3	642,34575**	858,32999**
VM x DN	3	0,07854 <sup>ns</sup>	7,781888 <sup>ns</sup>
Resíduo	21	0,08628	161,28472
Média		93,74	69,09
CV (%)		0,31	18,38

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) Pelo teste F. <sup>ns</sup> não significativo.

Os resultados, expressos na Figura 12, mostraram diferenças no TF-sabugo em relação as doses de N e as variedades de milho. Conforme a equação de

regressão, o máximo valor de TF-sabugo seria obtido com a dose de 168 kg ha<sup>-1</sup> (Figura 12A). Por sua vez, a variedade UNC-47 apresentou maiores valores em relação a INIA-601 (Figura 14B). E para (TF-grão) houve diferença significativa só nas doses (Figura 12C), cujos valores variam entre 58,17 a 80,01 mg EAG/g amostra.



**Figura 12:** Fenóis totais do sabugo de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio (A), (média de duas variedades) e entre duas variedades de milho roxo (B) (medias de quatro doses de N) e fenóis totais nos grãos de milho em função de doses crescentes de nitrogênio (C) (média de duas variedades). Pato Branco-PR, 2020.

Com a aplicação de 168 kg ha<sup>-1</sup> de N é observado o maior teor de compostos fenólicos, 103,56 mg EAG/g, nas variedades INIA-601 e UNC-47, enquanto que na ausência de N foi obtido 81,92 mg EAG/g, com relação à sabugo de milho roxo (Figura 12A). Por outro lado, em doses de 100 kg de N ha<sup>-1</sup>, obteve 72,73 mg EAG/g nas mesmas variedades, as melhores médias para o TF-grão foram com as doses 150 kg ha<sup>-1</sup> que corresponde a 80 mg EAG/g (Figura 12C). Além disso, aplicando teste de comparação de médias, mostra que para a variável fenóis totais no sabugo as variedades diferem significativamente ao 5% (Figura 12B).

Além disso Quispe Jacobo; Arroyo Condorena; Gorriti Gutiérrez (2011), analisaram as características morfológicas e físico-químicas de três cultivares comerciais de milho roxo (CT, PM-581 e TJ), no município de Joya, Arequipa-Peru, os dados de fenólicos totais foram 33,38 e 36,22 mg EAG/g para cultivares (CT e TJ). O cultivar PM-581 tem o melhor resultado 40,58 mg EAG/g mostrando valores inferiores aos encontrados nesta pesquisa.

#### 4.2.3 Antocianinas Monoméricas Totais do Sabugo e Grão

A Tabela 12, para a determinação de antocianinas monomérica totais (AMT), de sabugo e de grãos de milho roxo, indica que há interação entre variedades de milho e doses de N.

**Tabela 12:** Quadrados médios da análise de variância incluindo as fontes de variação, graus de liberdade (GL) e coeficiente de variação (CV) para a variável antocianinas monoméricas totais (AMT) no sabugo e nos grãos de milho roxo. UTFPR, Pato Branco, 2020

Fontes da Variação	GL	AMT-Sabugo.	AMT-Grão.
Blocos	3	12,25	111,125
Variedades de milho (VM)	1	78804,5**	40,5 <sup>ns</sup>
Doses de Nitrogênio (DN)	3	6206,1667**	2612,875**
VM x DN	3	990,83333**	471,41667**
Resíduo	21	3,67857	38,76786
Média		421,36	131,19
CV (%)		0,46	4,75

\*\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $p < 0.05$ ) Pelo teste F. <sup>ns</sup> não significativo.

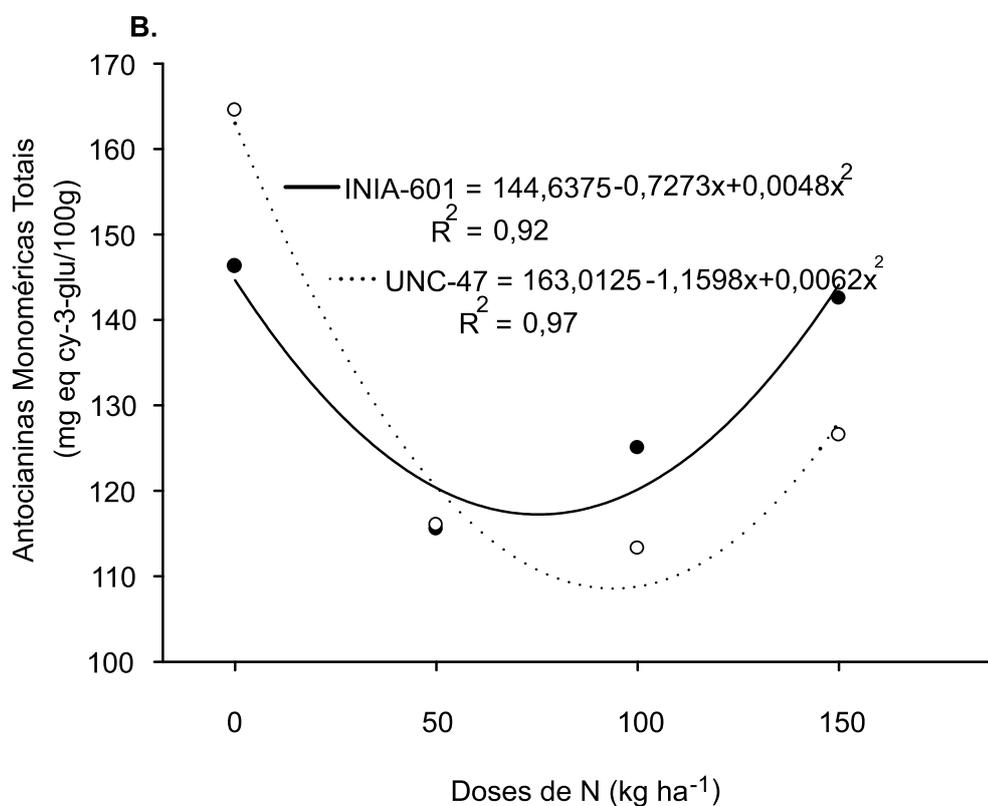
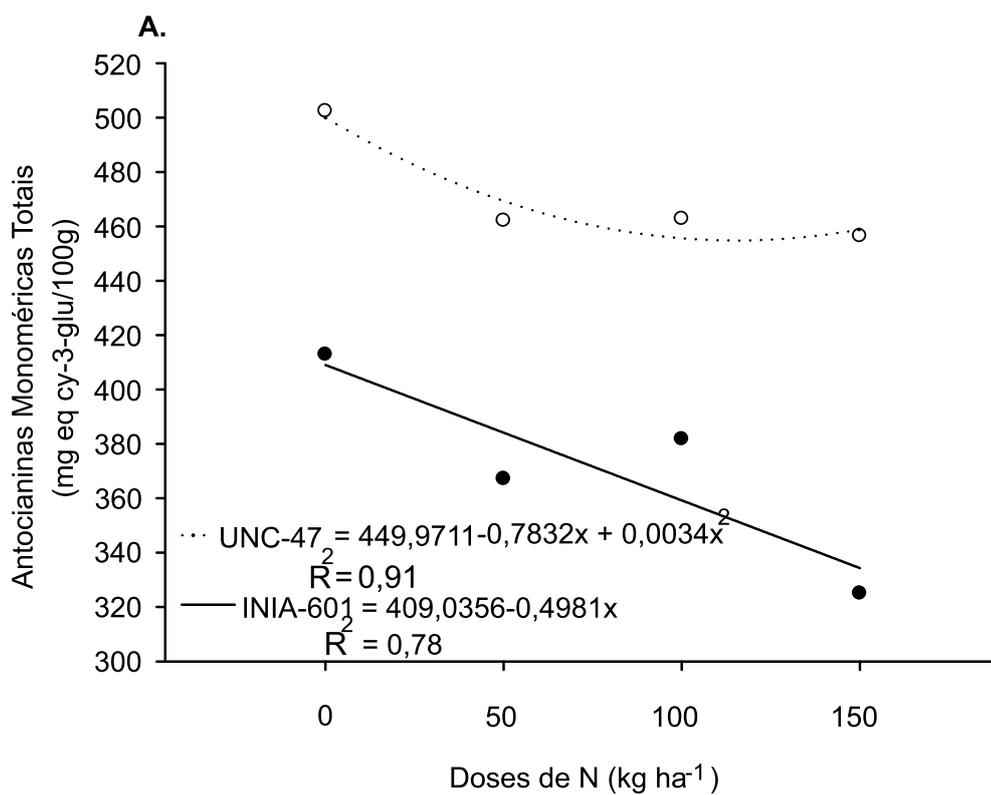
Para obter uma quantificação confiável, o coeficiente de absorvância foi calculado usando a equação apresentada no item 3.5.2, usando-se como padrão a cianidina-3-glucosídeo mg/100 g (cy-3-glu)/g, por apresentar alto teor principalmente no sabugo e grãos do milho roxo. O uso da equação derivada do mesmo autor gerou um coeficiente de 26.900.

A partir do coeficiente de absorvância molar obtido, os resultados foram calculados e apresentados na Figura 13. Comparando-se os dados é possível observar que o cultivar UNC-47 com as doses de N crescentes apresentaram teores decrescentes de antocianinas monoméricas totais que foram de 502,37; 462,12 e 462,78; 456,47, sendo que a MET foi obtida com a dose de 115 kg de N ha<sup>-1</sup> para a qual se alcançou AMT de 449,97 de cy-3-glu/g. Além disso, para variedade de INIA-601 os dados apresentados de 412,87; 367,11; 381,78; 324,97, mostram que para cada kg de N aplicado dinamiza em 0,4981 de cy-3-glu/g de amostra do milho roxo (Figura 13A). Para a variável AMT-Grão, o comportamento foi similar, exceto que as quantidades de AMT foram menores e, portanto, gerou um MET de 75,76 e 93,5 kg

de  $N\ ha^{-1}$  reduzindo em 144,64 e 163,11 de AMT expressados em  $cy\text{-}3\text{-}glu/g$  seguindo a mesma sequência das variedades, conforme mostrado na (Figura 13B). Os valores encontrados foram inferiores ao relatados por Sánchez-Moreno; Larrauri; Saura-Calixto, (1998), que encontrou 504 de  $cy\text{-}3\text{-}glu/g$  no pericarpo, mas também foi menor do que Cevallos-Casals; Cisneros-Zevallos, (2004), que foi cerca de 1640 de  $cy\text{-}3\text{-}glu/g$ .

O comportamento das análises físico-químicas do milho roxo em função das doses de nitrogênio aplicadas em campo, pode ser representado por diferentes equações para a variável AMT- sabugo com o cultivar UNC-47 quadrática tendo como resultado um ( $R^2=0,91$ ) e para INIA-601 uma linear com um ( $R^2=0,78$ ) (Figura 13A). Fato que para variável (AMT- grão), foram equações quadráticas para as duas variedades com valores diferentes ( $R^2=0,97$ ) e ( $R^2=0,92$ ) (Figura 13B), na mesma ordem das variedades antes mencionados. Os resultados encontrados neste trabalho, não corroboram com as de Gorriti et al. (2009), onde apresentam quantidades de antocianinas no valor de 11,56 e 37,127 de  $cy\text{-}3\text{-}glu/g$  de sabugo e apresentou uma regressão linear e altamente significativa de ( $R^2=0,9974$ ). Além disso, na investigação feita por Monroy et al. (2016), o qual teve o objetivo de determinar (AMT), no extrato de espiga de milho roxo e pericarpo, mediante a metodologia de fluido supercrítico em leitura fixa, utilizando solventes como dióxido de carbono, etanol e água, onde obteve médias de 63,79 e 63,09 mg de  $cy\text{-}3\text{-}glu/g$ , para os extratos de espiga e pericarpo, respectivamente.

Segundo Quiñones; Barrera (2015), testando a composição de antocianinas de 5 cultivares do milho colorido, caracterizando os extratos metabólicos de seus grãos, encontraram valores de 21 e 168 mg de cianidina-3-o-glicosídeo ( $cy\text{-}3\text{-}glu/g$ ) do grão seco, identificando nove tipos de antocianinas e quatro delas presentes nos cultivares (cianidina 3-rutinósido, cianidina 3-(6"-malonil)-glucósido, pelargonidina 3-(6"-malonil)-glucósido 502 e peonidina 3-(6"-malonil)-glucósido).



**Figura 13:** Antocianinas monoméricas totais sabugo (A) e Antocianinas monoméricas totais grão (B), de milho roxo em função de doses crescentes de nitrogênio. Pato Branco-PR, 2020.

Com base nos resultados descritos no presente trabalho, pode-se observar grande variação de concentração de antocianinas monoméricas totais (AMT) em grão e sabugo de milho roxo, o que, provavelmente está relacionado com as características agronômicas, genéticas e químicas dos cultivares estudados (INIA-601 e UNC-47). Também pode-se verificar que, a fertilização acrescentada de N para a variável em estudo pode reduzir o teor de antocianinas monoméricas totais, demonstrando uma diminuição na qualidade físico-química do grão e sabugo do milho roxo sob fertilização excessiva por N.

Desta maneira, considerando-se as informações encontradas na literatura Guillén-Sánchez; Mori-Arismendi; Paucar-Menacho, (2010); Lao; Giusti, (2018), o composto majoritário das antocianinas nas amostras de milho roxo é a cianidina-3-o-glicosídeo (cy-3-glu) /g, não foram encontrados resultados em relação a doses com quantidade de antioxidante.

## 5 CONCLUSÕES

Os parâmetros agronômicos, componentes de rendimento e produtividade das variedades INIA-601 e UNC-47 de milho roxo, são significativamente influenciados pelas doses de N.

A altura das plantas de milho respondeu linearmente às doses de N e a altura de inserção de espiga teve seu maior valor próximo à dose máxima testada. Essa última variável também foi maior para a variedade UNC-74.

Para o diâmetro da espiga a dose de máxima eficiência técnica foi de 125 e 127 kg N ha<sup>-1</sup> para as variedades UNC-47 e INIA-601, respectivamente. O comprimento de espiga, o número de grãos por fileira, o número de grãos por espiga, o número de fileiras por espiga e a massa de mil grãos tiveram resposta linear em relação às doses de N testadas para ambas às variedades de milho roxo.

As variedades de milho roxo atingiram produtividades máximas de 7836 e 7977 kg ha<sup>-1</sup> para INIA-601 e UNC-47, respectivamente, com a dose de 150 kg N ha<sup>-1</sup>, representando um incremento médio de cerca de 25 kg ha<sup>-1</sup> para cada kg de N aplicado.

O aumento de adubação nitrogenada aumentou o acúmulo de antioxidantes e fenólicos totais, evidenciando que esta pode interferir nas atividades enzimáticas envolvidas em sua síntese do sabugo e do grão de milho roxo.

Em relação a concentração de antocianinas monoméricas totais (AMT) em grão e sabugo de milho roxo, o adubo aplicado em campo tem efeitos da forma antagônica, tendendo a diminuir a síntese dos pigmentos antocianínicos.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL FILHO, J. P. R. DO et al. Espaçamento, densidade populacional e adubação nitrogenada na cultura do milho. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, p. 467–473, 2005.
- ANANGA, A. et al. Production of Anthocyanins in Grape Cell Cultures: A Potential Source of Raw Material for Pharmaceutical, Food, and Cosmetic Industries. In: **The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive**. [s.l.] InTech, 2013. p. 247–287.
- ANTUNES, L. E. C.; PERES, N. A. Strawberry production in Brazil and South America. **International Journal of Fruit Science**, v. 13, n. 1–2, p. 156–161, 2013.
- ASSMANN, J. M. et al. Phosphorus and potassium cycling in a long-term no-till integrated soybean-beef cattle production system under different grazing intensities in subtropics. **Nutrient cycling in agroecosystems**, v. 108, n. 1, p. 21–33, 2017.
- ASSOCIATION, I. F. I. **Fertilizers and their use: a pocket guide for extension officers**. [s.l.] Food & Agriculture Org., 2000.
- BADUI DERGAL, S.; CEJUDO GÓMEZ, HÚ. R. TÚ. **Química de los alimentos**. [s.l.] Pearson educación, 2006.
- BALBINOT JR, A. A. et al. Formas de uso do solo no inverno e sua relação com a infestação de plantas daninhas em milho (*Zea mays*) cultivado em sucessão. **Planta daninha**, v. 26, n. 3, p. 569–576, 2008.
- BERGAMASCHI, H.; MATZENAUER, R. **O milho e o clima**, 2014. (Nota técnica).
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199, 1958.
- BONDET, V.; BRAND-WILLIAMS, W.; BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. **LWT-Food Science and Technology**, v. 30, n. 6, p. 609–615, 1997.
- BONILLA MORALES, N. **Cultivo de maíz (Zea mays): manual de recomendaciones técnicas**. [s.l.] Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria, 2008.
- BOULTON, R. The copigmentation of anthocyanins and its role in the color of red wine: A critical review. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 52, n. 2, p. 67–87, 2001.
- CABRAL, E. et al. Verde , Nitrogenada E Fosfatada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 2, p. 118–127, 2009.
- CAIRES, E. F.; MILLA, R. Adubação nitrogenada em cobertura para o cultivo de milho com alto potencial produtivo em sistema de plantio direto de longa duração. **Bragantia**, v. 75, n. 1, p. 87, 2016.
- CARMO, M. S. DO et al. Doses e fontes de nitrogênio no desenvolvimento e

produtividade da cultura de milho doce (*Zea mays* convar. *saccharata* var. *rugosa*) = Sources and doses of nitrogen en the desenvolvimento of culture endproductivity of sweet corn ... **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 223–231, 2012.

CASAGRANDE, J. R. R.; FORNASIERI FILHO, D. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, p. 33–40, 2002.

CASTAGNINI, J. M. et al. Vacuum impregnation and air drying temperature effect on individual anthocyanins and antiradical capacity of blueberry juice included into an apple matrix. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1289–1296, dez. 2015.

CASTAÑEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v. 113, n. 4, p. 859–871, abr. 2009.

CAVIGLIONE, J. H. et al. Cartas climáticas do Estado do Paraná. **Londrina: Iapar**, 2000.

CEVALLOS-CASALS, B. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Stability of anthocyanin-based aqueous extracts of Andean purple corn and red-fleshed sweet potato compared to synthetic and natural colorants. **Food Chemistry**, v. 86, n. 1, p. 69–77, jun. 2004.

CHAITTIANAN, R.; SUTTHANUT, K.; RATTANATHONGKOM, A. Purple corn silk: A potential anti-obesity agent with inhibition on adipogenesis and induction on lipolysis and apoptosis in adipocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 201, n. March, p. 9–16, abr. 2017.

COELHO, A. M. et al. **Eficiência agrônômica do cloreto de amônio e bicarbonato de amônio como fontes de nitrogênio para a cultura do milho**. Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). **Anais...In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO**, 26.; SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A ..., 2006

COMPANIA NACIONAL DE ABASTECIMIENTO-CONAB. **Acompahamento da Safra Brasileira de Graos**. V. 6-SAF ed. BRASÍLIA: [s.n.].

CRUZ, S. C. S. et al. Adubação nitrogenada para o milho cultivado em sistema plantio direto, no Estado de Alagoas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 12, n. 1, p. 62–68, 2008.

DA SILVA, D. A. CULTURA ANTECESSORA E ADUBAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DO MILHO, EM UM SISTEMA PLANTIO DIRETO. **Silva**, v. 633, p. S586c, 2004.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. [s.l.] Artmed Editora, 2018.

DANIEL, D. **Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora**. [s.l.: s.n.].

DE OLIVEIRA, P. R. et al. 12080-Variedades de milhos crioulos cultivados e desenvolvidos por agricultores familiares do oeste de Santa Catarina como fonte de

compostos antioxidantes. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n. 2, 2011.

DERAS, H. Guía técnica el cultivo del maíz. **Obtenido de <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/granos%20basicos/GuiaTecnica%20Maiz>**, v. 202014, 2014.

DO MAR, G. D. et al. Produção do milho safrinha em função de doses e épocas de aplicação de nitrogênio. **Bragantia**, v. 62, n. 2, 2003.

DUETE, R. R. C. et al. Viabilidade econômica de doses e parcelamentos da adubação nitrogenada na cultura do milho em LATOSSOLO VERMELHO eutrófico. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 175–181, 2008.

DUETE, R. R. C. et al. Viabilidade econômica de doses e parcelamentos da adubação nitrogenada na cultura do milho em LATOSSOLO VERMELHO Eutrófico. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 31, n. 1, p. 161–171, 19 mar. 2009.

FERNÁNDEZ FERNÁNDES, N. A. Estudio de la extracción y pre purificación de antiocianinas del Maiz Morado (*Zea Mays L.*). 1995.

FERREIRA GOMES, R. et al. Efeito de doses e da época de aplicação de nitrogênio nos caracteres agronômicos da cultura do milho sob plantio direto. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 31, n. 5, 2007.

FLESCHHUT, J. et al. Stability and biotransformation of various dietary anthocyanins in vitro. **European Journal of Nutrition**, v. 45, n. 1, p. 7–18, 18 fev. 2006.

FRANKEL, E. N. et al. Interfacial Phenomena in the Evaluation of Antioxidants: Bulk Oils vs Emulsions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 5, p. 1054–1059, 1 maio 1994.

FRIES, A. M.; TAPIA, M. E. **Guía de campo de los cultivos andinos**. [s.l.] FAO, ANPE-PERÚ, 2007.

GALINDO, F. S. et al. Technical and economic feasibility of irrigated wheat as a function of nitrogen doses, sources, and inoculation with *Azospirillum brasilense*. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 39, n. 1, p. 51, 16 fev. 2018.

GARCÍA ALONSO, F. J. Evaluación in vitro e in vivo de la fucionalidad de un producto rico en antioxidantes. 2008.

GIORDANO, D. et al. Influence of Agricultural Management on Phytochemicals of Colored Corn Genotypes (*Zea mays L.*). Part 1: Nitrogen Fertilization. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 17, p. 4300–4308, 2 maio 2018.

GIRALDO, A. C. Cultivos transgênicos: entre los riesgos biológicos y los beneficios ambientales y económicos. **Acta Biológica Colombiana**, v. 16, n. 3, p. 231–251, 2011.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. **Current protocols in food analytical chemistry**, n. 1, p. F1-2, 2001.

GONZÁLEZ-CORTÉS, N. et al. Características y propiedades del maíz (*Zea mays L.*)

criollo cultivado en Aguascalientes, México. **Revista mexicana de ciencias agrícolas**, v. 7, n. 3, p. 669–680, 2016.

GORRITI, A. et al. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays* L. Maíz morado. **Ciencia e investigación**, v. 12, n. 2, p. 64–74, 2009.

GUEVARA, M. P. Densidad de siembra y comportamiento agronómico de tres variedades de maíz morado (*Zea mays* L.). **Revista ECIPerú**, v. 14, n. 1, p. 21, 2017.

GUILLÉN-SÁNCHEZ, J.; MORI-ARISMENDI, S.; PAUCAR-MENACHO, L. M. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigrovioláceo. **Scientia Agropecuaria**, v. 5, n. 4, p. 211–217, 30 mar. 2010.

HE, Z. et al. Preheated milk proteins improve the stability of grape skin anthocyanins extracts. **Food Chemistry**, v. 210, p. 221–227, nov. 2016.

HIDALGO, A.; BRANDOLINI, A. Nitrogen fertilisation effects on technological parameters and carotenoid, tocol and phenolic acid content of einkorn (*Triticum monococcum* L. subsp. *monococcum*): A two-year evaluation. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 18–24, 2017.

HWANG, Y. P. et al. Purple sweet potato anthocyanins attenuate hepatic lipid accumulation through activating adenosine monophosphate-activated protein kinase in human HepG2 cells and obese mice. **Nutrition Research**, v. 31, n. 12, p. 896–906, dez. 2011.

IBRAHIM, M. H. et al. **Involvement of Nitrogen on Flavonoids, Glutathione, Anthocyanin, Ascorbic Acid and Antioxidant Activities of Malaysian Medicinal Plant *Labisia pumila* Blume (Kacip Fatimah)** *International Journal of Molecular Sciences*, 2012.

INIA. VARIEDAD MEJORADA DE MAIZ MORADO PARA LA SIERRA NORTE DEL PERU. In: **INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA (INIA)-Ayacucho**. PERU: [s.n.]. p. 2.

IRANI, N. G.; HERNANDEZ, J. M.; GROTEWOLD, E. Chapter three Regulation of anthocyanin pigmentation. In: ROMEO, J. T. B. T.-R. A. IN P. (Ed.). **Integrative Phytochemistry: from Ethnobotany to Molecular Ecology**. [s.l.] Elsevier, 2003. v. 37p. 59–78.

KHARADZE, M. et al. Anthocyanins and antioxidant activity of red wines made from endemic grape varieties. **Annals of Agrarian Science**, v. 16, n. 2, p. 181–184, jun. 2018.

KNEZ HRNČIČ, M. et al. Hop Compounds: Extraction Techniques, Chemical Analyses, Antioxidative, Antimicrobial, and Anticarcinogenic Effects. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 257, 24 jan. 2019.

KUSKOSKI, E. M. et al. Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos. **Food Science and Technology**, v. 24, n. 4, p. 691–693, 2004.

LAO, F.; GIUSTI, M. M. Extraction of purple corn (*Zea mays* L.) cob pigments and

phenolic compounds using food-friendly solvents. **Journal of Cereal Science**, v. 80, p. 87–93, mar. 2018.

LÓPEZ, M. E. S.; COSIO, R. B. Análisis del desarrollo sostenible del cultivo del maíz transgénico en México. **Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa**, v. 2, n. 3, 2016.

MANRIQUE CHÁVEZ, A. Maíz Morado Peruano. 2000.

MARTÍNEZ-BALLESTA, M. C. et al. Minerals in plant food: effect of agricultural practices and role in human health. A review. **Agronomy for sustainable development**, v. 30, n. 2, p. 295–309, 2010.

MÁXIMO, P. J. D. M. et al. Adubação Nitrogenada Em Cobertura Em Dois Cultivares De Milho No Cariri-Ce. **Journal of Neotropical Agriculture**, v. 6, n. 1, p. 23–28, 2019.

MAZEWSKI, C.; LIANG, K.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Inhibitory potential of anthocyanin-rich purple and red corn extracts on human colorectal cancer cell proliferation in vitro. **Journal of Functional Foods**, v. 34, n. 1, p. 254–265, jul. 2017.

MENDOZA, M. R. et al. Conociendo la cadena productiva del maíz morado en Ayacucho. **Solid Perú, Ayacucho, Perú**, 2007.

MERCADANTE, A. Z.; BOBBIO, F. O. **Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties**. [s.l.] CRC Press: Boca Raton, Fla, 2008.

MONROY, Y. M. et al. Extraction of bioactive compounds from cob and pericarp of purple corn ( *Zea mays* L.) by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol, and water as solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 250–259, jan. 2016.

MORTATE, R. K. et al. Resposta do milho (*Zea mays* L.) à adubação foliar e via solo de nitrogênio. **JOURNAL OF NEOTROPICAL AGRICULTURE**, v. 5, n. 1, p. 1–6, 2018.

NETZEL, M. et al. Native Australian fruits — a novel source of antioxidants for food. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 3, p. 339–346, 2007.

NITSCHKE, P. R. et al. Atlas Climático do Estado do Paraná. **Londrina, PR: IAPAR**, 2019.

OHLAND, R. A. A. Adubos verdes e nitrogênio em cobertura na cultura do milho (*Zea mays* L.) em plantio direto. **Dourados, UFMS**, 2001.

ORÉ GALLEGOS, V. V. Fertilización potásica y nivel nutricional en el rendimiento de maíz morado PMV-581 (*Zea mays* L.), bajo riego por goteo. 2015.

PAJUELO, A.; BERNALDINA, E. Efecto de la aplicación de humatos de potasio y de la fertilización nitrogenada en el rendimiento de maíz morado cv. Prosemillas (*Zea mays* L.) bajo RLAF: goteo. 2016.

PANCHE, A. N.; DIWAN, A. D.; CHANDRA, S. R. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, v. 5, p. e47, 2016.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. **Food Research International**, v. 39, n. 7, p. 791–800, 2006.

PINEDO TACO, R.; RODRÍGUEZ SOTO, G.; VALVERDE REYES, N. Niveles de fertilización en dos variedades de maíz morado (*Zea mays* L.) en la localidad de Canaán-Ayacucho. **APORTE SANTIAGUINO**, v. 10, n. 1, p. 39, 26 dez. 2017.

PORTUGAL, J. R. et al. **Inoculação com *Azospirillum brasilense* via foliar associada a doses de nitrogênio em cobertura na cultura do milho**. Anais do 29º Congresso Nacional de Milho e Sorgo. **Anais...**Instituto Agrônômico Campinas, 2012

POSSAMAI, J. M.; DE SOUZA, C. M.; GALVÃO, J. C. C. Sistemas de preparo do solo para o cultivo do milho safrinha. **Bragantia**, v. 60, n. 2, p. 79–82, 2001.

QUIÑONES, R.; BARRERA, E. C. Composición de antocianinas monoméricas de cinco fenotipos de maíz coloreado (*Zea mays* L.) de la región central colombiana. **Revista de la Facultad de Ciencias**, v. 4, n. 1, p. 38–51, 2015.

QUISPE JACOBO, F.; ARROYO CONDORENA, K.; GORRITI GUTIÉRREZ, A. Características morfológicas y químicas de 3 cultivares de maíz morado (*Zea mays* L.) en Arequipa-Perú. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 77, n. 3, p. 205–217, 2011.

REQUIS, F. **Manejo Agronómico del maíz morado en los valles interandinos del Perú** INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACION AGRARIA (INIA)-Ayacucho. [s.l: s.n.]. Disponível em: <[http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/124/6/Requis-Manejo\\_agronómico\\_maíz\\_morado.pdf](http://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/inia/124/6/Requis-Manejo_agronómico_maíz_morado.pdf)>.

REYNERTSON, K. A.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Antioxidant potential of seven myrtaceous fruits. **Ethnobotany Research and Applications**, v. 3, p. 25–36, 2005.

ROCHA, W. S. et al. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 4, p. 1215–1221, dez. 2011.

RUFINO, M. et al. Metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, n. 2, p. 270–276, 1 fev. 1998.

SANDINI, I. E. Milho, feijão e nitrogênio no sistema de produção integração lavoura-pecuária. 2009.

SANTOS, A. DA S. DOS et al. Variedades crioulas de milho para a realidade da agricultura familiar no semiárido sergipano. 2016.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food Chemistry**, v. 112, n. 3, p. 654–658, 2009.

SEVILLA, R.; VALDEZ, A. Estudio de factibilidad del cultivo de maíz morado. **Fondo de Promoción y Exportación (FOPEX)**. Lima, Perú, v. 46, 1985.

SIERRA EXPORTADORA. Perfil Comercial: Antocianina de Maíz Morado. p. 35, 2012.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. B. T.-M. IN E. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In: **Oxidants and Antioxidants Part A**. [s.l.] Academic Press, 1999. v. 299p. 152–178.

SOARES, R. J. DA S. et al. Produtividade de massa verde de milho transgênico em função do arranjo populacional na região do Cariri, CE. **Interações (Campo Grande)**, v. 18, n. 2, p. 117, 30 maio 2017.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de nutrição**, 2002.

SOMAVAT, P.; KUMAR, D.; SINGH, V. Techno-economic feasibility analysis of blue and purple corn processing for anthocyanin extraction and ethanol production using modified dry grind process. **Industrial Crops and Products**, v. 115, n. November 2017, p. 78–87, maio 2018.

SOUZA, J. A. et al. Adubação nitrogenada na cultura do milho safrinha irrigado em plantio direto. **Bragantia**, v. 70, n. 2, p. 447–454, 2011.

SUCUPIRA, N. R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **Journal of Health Sciences**, v. 14, n. 4, 2015.

SUI, X. et al. Anthocyanins in Food. In: **Encyclopedia of Food Chemistry**. [s.l.] Elsevier, 2019. v. 7p. 10–17.

TAKASU, A. T. et al. Produtividade da Cultura do Milho em Resposta à Adubação Potássica. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 13, n. 2, p. 154–161, 30 ago. 2014.

TEIXEIRA, F. F. et al. Boas práticas na manutenção de germoplasma e variedades crioulas de milho. **Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico**, 2005.

THIES, J. E.; SINGLETON, P. W.; BOHLOOL, B. B. Phenology, growth, and yield of field-grown soybean and bush bean as a function of varying modes of N nutrition. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 27, n. 4, p. 575–583, 1995.

TSAI, P.; HUANG, H.-P.; HUANG, T. RELATIONSHIP BETWEEN ANTHOCYANIN PATTERNS AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN MULBERRY WINE DURING STORAGE. **Journal of Food Quality**, v. 27, n. 6, p. 497–505, dez. 2004.

VELOSO, M. E. DA C. et al. Doses de nitrogênio na cultura do milho, em solos de várzea, sob sistema de drenagem subterrânea. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 5, n. 03, 2010.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; STRINGUETA, P. C. Pigmentos naturais bioativos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 1, p. 157–166, 2009.

WROBEL, F. DE L. et al. **Teores de nutrientes nos componentes estruturais da planta de milho e exportação de nutrientes do solo a partir da colheita como**

**forragem ou grãosXXIX Congresso nacional de milho e sorgo, 2012.**

YAMADA, T.; SPTIPP, S. R. A. Estratégias de manejo para alta produtividade do milho. **Informações Agronômicas**, n. 113, p. 1–36, 2006.

YÁNEZ, C. et al. Inventario Tecnológico del Programa de Maíz. **INIAP-EESC. Quito-Ecuador**, p. 2–25, 2005.

