**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Caracterização de proteínas de reserva de mutantes de endosperma
de milho de alta lisina**

Alejandro Alberto Toro

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia, Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2006**

Alejandro Alberto Toro
Licenciado em Genética

Caracterização de proteínas de reserva de mutantes de endosperma de milho de alta lisina

Orientador:
Prof. Dr. **RICARDO ANTUNES DE AZEVEDO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor
em Agronomia. Área de concentração: Genética e
Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2006**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Alberto Toro, Alejandro

Caracterização de proteínas de reserva de mutantes de endosperma de milho de alta lisina / Alejandro Alberto Toro. - - Piracicaba, 2006.
250 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Aminoácido 2. Cromatografia líquida de alta eficiência 3. Eletroforese em gel
4. Endosperma 5. Grão 6. Milho 7. Mutação vegetal 8. Proteína de planta I. Título

CDD 633.15

Dedico este trabajo

A mi papá Lorenzo y mi mamá Carmen por el amor y la confianza depositadas...

A mis hermanos Daniel e Vanesa por el cariño y la fuerza transmitida a la distancia ...

A mi esposa Elizabeth por el amor infinito y el apoyo constante ...

A mi hijo Franco por bendecir nuestra vida con amor e alegría ...

A mis futuros hijos ...

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Ricardo Antunes de Azevedo pela ajuda profissional, pela confiança depositada e por enriquecer a minha carreira profissional.

A Cláudia M. Bellato pela co-orientação e dedicação constante para a realização dos géis.

A professora Siu M. Tsai por permitir a realização de parte do trabalho de pesquisa no Laboratório de Biologia Celular do CENA.

Ao conselho de Pós-graduação do Departamento de Genética e Melhoramento de Plantas por permitir a realização do curso de doutorado.

Aos amigos de sempre: Luis Arguello, José Luis Romero, Alejandro Safarov e Guillermo Salvatierra.

Aos colegas de trabalho: Berta Berdejo, Geórgia Pompeu, Priscilla L. Gratão, Karime García, Salete Gaziola, Lyndel W. Meinhardt, José A. Carmezini, Carlos A. Moldes, Vanderlei A. Varisi, Fabrício de Souza Delite e Rui A. Gómez Júnior.

A “Los muchachos de la Fiaca Blues Band”: Alejandro Dutka, Fabrício Antonini, Walter Painemal, Damián Méndez e Orlando Zenteno.

Agustín Zsogon pelas conversações descontraídas sobre ciência e críticas de trabalhos científicos.

A FAPESP pelo financiamento do Projeto de pesquisa.

Ao CNPq pela ajuda econômica fornecida durante os quatro anos de trabalho.

SUMÁRIO

RESUMO.....	9
ABSTRACT	11
LISTA DE FIGURAS	13
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	21
2 DESENVOLVIMENTO	23
2.1 Revisão de Literatura	23
2.1.1 Aminoácidos.....	23
2.1.2 Contribuição nutricional do milho	24
2.1.3 Via metabólica do ácido aspártico.....	25
2.1.4 Regulação da via metabólica do ácido aspártico	27
2.1.5 Aspartato quinase	29
2.1.6 Aspartato quinase/homoserina desidrogenase	30
2.1.7 Síntese de lisina	31
2.1.8 Catabolismo de lisina	32
2.1.9 Mutantes bioquímicos.....	35
2.1.10 Plantas transgênicas	37
2.1.11 Metabolismo da lisina: Genes e proteínas.....	40
2.1.12 Fator de transcrição Opaco2.....	43
2.1.13 Proteínas de reserva da semente de milho	48
2.1.14 Mutantes de milho	50
2.2 Material e Métodos.....	56
2.2.1 Material Vegetal	56
2.2.2 Transmitância do infravermelho-próximo	57
2.2.3 Extração de aminoácidos solúveis	57
2.2.4 Extração de proteínas de reserva	58
2.2.5 Determinação de proteínas	58
2.2.6 Electroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio	59
2.2.7 Extração de aminoácidos das frações protéicas	60

2.2.8 Identificação de aminoácidos das frações protéicas.....	60
2.2.9 Determinação de lisina nas frações protéicas	61
2.2.10 Electroforese bi-dimensional.....	62
2.2.10.1 Primeira dimensão: Focalização isoelétrica	62
2.2.10.2 Equilíbrio das fitas da primeira dimensão	63
2.2.10.3 Segunda dimensão: SDS-PAGE.....	63
2.2.10.4 Coloração	63
2.2.10.5 Fotodocumentação e análise dos géis.....	64
2.2.11 Análise estatística	64
2.3 Resultados.....	65
2.3.1 Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha	65
2.3.2 Aminoácidos solúveis da semente.....	68
2.3.3 Proteínas de reserva da semente	69
2.3.4 Perfil SDS-PAGE das proteínas de reserva da semente	71
2.3.5 Quantidade de aminoácidos nas frações protéicas da semente.....	78
2.3.6 Quantidades de LYS nas frações protéicas da semente	86
2.3.7 Quantidades de aminoácidos solúveis no endosperma de milho	87
2.3.8 Proteínas de reserva do endosperma.....	88
2.3.9 Perfil SDS-PAGE das proteínas de reserva do endosperma de milho	90
2.3.10 Quantidades de aminoácidos nas frações protéicas do endosperma.....	100
2.3.11 Quantidade de proteínas de reserva do embrião.....	109
2.3.12 Análise das proteínas de reserva de embrião por SDS-PAGE	110
2.3.13 Perfil bidimensional das proteínas de reserva do endosperma	121
2.3.13.1 Fração Globulina.....	121
2.3.13.2 Fração Albumina.....	123
2.3.13.3 Fração Glutelina.....	124
3 CONCLUSÕES.....	143
REFERÊNCIAS	145
ANEXO	167

RESUMO

Caracterização de proteínas de reserva de mutantes de endosperma de milho de alta lisina

A semente de milho representa uma importante fonte de proteínas para alimentação humana e de animais monogástricos. Porém, como membros da família dos cereais não apresentam proteínas com um balanço nutricional adequado, devido principalmente ao baixo conteúdo de lisina. As proteínas de reserva da semente de milho são classificadas como fração não-zeína (albumina, globulina e glutelina) e zeína. Mutantes de endosperma de milho, como *o2* apresentam quantidades maiores de lisina na semente. Porém, muitos mutantes considerados “alta lisina” não foram ainda caracterizados bioquimicamente. Uma série de mutantes, *opaco* (*o1*, *o2*, *o5*, *o7*, *o10*, *o11* e *o13*) e *floury* (*fl1* e *fl2*), foram estudadas para determinar as quantidades de proteínas de reserva, o perfil electroforético das proteínas e o conteúdo de LYS na semente, endosperma e embrião. Foi observado que os mutantes apresentaram redução no conteúdo de zeína e aumentos da fração não-zeína com variações dependendo do mutante, do background genético e do tecido analisado. A análise da semente determinou aumentos principalmente da fração albumina e globulina nos mutantes, exceto para *o5* com aumentos apenas da fração glutelina. No endosperma foi observado aumento principalmente de albumina em *o2*, *o7* e *o5*; e globulina em *fl2*, *o10*, *o11* e *o13*. No embrião foram registrados os níveis maiores de albumina e globulina da semente, porém a quantidade de proteínas de reserva foi similar entre os genótipos. As quantidades de lisina presentes nas frações protéicas foram sempre maiores nos mutantes, porém para *o10*, *o11* e *o13* diferenças significativas, foram observadas principalmente para LYS na fração glutelina. O perfil SDS-PAGE revelou a presença de numerosas bandas protéicas variando entre 100kDa e 10kDa, sendo que a fração não-zeína revelou maior heterogeneidade no número de bandas. Bandas protéicas de maior intensidade foram observadas nos mutantes. Análise 2D-PAGE de proteínas de reserva do endosperma de mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2*, revelou padrões similares de distribuição de proteínas, aumentos de intensidade de spots protéicos e a presença de spots restrita ao perfil dos mutantes. Os resultados sugerem que os mutantes *opacos* e *floury* avaliados apresentam quantidades maiores de LYS na semente quando comparados aos genótipos selvagens que lhes deram origem. A futura análise dos spots que apresentaram alterações altamente significativas permitirá uma maior compreensão dos efeitos específicos dessas mutações sobre a regulação da biossíntese das proteínas de reserva e do acúmulo de lisina no grão.

Palavras-chave: Proteínas de reserva; Endosperma; Lisina; Mutante *opaco*.

ABSTRACT

Storage proteins characterization of high-lysine maize endosperm mutants

The maize seed is an important source of proteins for humans and monogastric animals. However, such as all cereals, maize storage proteins is nutritionally poor mainly due to the low content of lysine. Maize seed storage proteins can be classified as non-zeins (albumins, globulins and glutelins) and zein. Some storage proteins mutants such as the *o2* mutants exhibit higher contents of lysine. However, many of these high-lysine mutants have not yet been biochemically characterized. The opaque mutants *o1*, *o2*, *o5*, *o7*, *o10*, *o11*, *o13* and floury mutants *f1* and *f2* were analyzed for storage proteins contents, eletrophoretic profile and lysine content in the seeds, endosperm, and embryo. It was observed that the mutants exhibited reduction in the zein fraction and increase in the non-zein fraction which varied according to the mutant, genetic background and tissue analyzed. The whole seed analysis revealed increases mainly in albumins and globulins, with the exception of the *o5* mutants which exhibited a higher increase in the glutelin fraction. In the endosperm it was observed increase in the albumin fraction in *o2*, *o7* and *o5* and in the globulin fraction in *f2*, *o10* and *o13*. Higher concentrations of albumin and globulin were observed in the embryo, but with similar concentrations of total proteins among the mutants. The lysine content was higher always higher in the storage proteins of the mutants, however, in *o10*, *o11* and *o13* significant differences for lysine content were observed mainly in the glutelin fraction. SDS-PAGE analysis revealed the presence of several band varying from 10kDa to 100kDa, with a higher heterogeneity among the non-zein fraction. Bands with higher intensity have been observed in the mutants. 2D-PAGE analysis revealed that the *o1*, *o2*, *f1* and *f2* mutants exhibited similar band patterns with increases in similar spots and mutant specific bands. The results suggest that the opaque and floury mutants exhibited higher lysine content when compared to their respective wild-type counterparts. Future analysis of the protein spots that exhibited significant variations will allow a better understanding of the specific effects of each mutation on the regulation of storage protein synthesis and lysine accumulation in the seeds.

KeyWords:Storage proteins; Endosperm; Lysine; Opaque mutant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Via Metabólica do ácido aspártico.....	28
Figura 2 - Processo de degradação da lisina. 1) Lisina Oxoglutarato Reductase (LOR); 2) Sacaropina Desidrogenase (SDH); 3) Ácido Aminoadípico Semialdeído Desidrogenase (AADH); 4) Ácido Aminoadípico Aminotransferase (AAA); 5) Transaminase de α -aminoácidos. Abreviações: α -kA, α -ketoácidos; α -AA, α -aminoácidos. (Arruda et al., 2000).....	34
Figura 3 - Regulação pós-traducional da enzima bifuncional LOR-SDH. Papel regulatório do Ca^{+2} e da fosforilação (promovida por Caseína Quinase-CK) provavelmente dependente dos níveis de lisina no citosol. LCP- proteínas que incorporam lisina. (Arruda et al., 2000).....	36
Figura 4 - Estrutura dos genes <i>lor-sdh</i> de milho e <i>Arabidopsis</i> (Arruda et al., 2000).....	42
Figura 5 A - Perfil SDS-PAGE (8-18%) da fração albumina e globulina de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) o2; 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P-padrão molecular New England BioLab Coloração com nitrato de prata.....	72
Figura 5 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina e globulina de sementes de milho.....	73
Figura 6 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. Coloração com nitrato de prata. P-padrão molecular SIGMA (MW-SDS-70L).....	74

Figura 7 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....75

Figura 8 A - Perfil SDS-PAGE (8-18%) da fração glutelina de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) o2; 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P-padrão molecular New England BioLab Coloração com nitrato de prata.....76

Figura 8 B - Análise SDS-PAGE* da fração glutelina de sementes de milho.....77

Figura 9 A - Perfil SDS-PAGE da fração globulina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....92

Figura 9 B - Análise SDS-PAGE* da fração globulina de endosperma de milho.....93

Figura 10 A - Perfil SDS-PAGE da fração albumina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....94

Figura 10 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina de endosperma de milho.....95

Figura 11 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....96

Figura 12 A - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....97

Figura 12 B - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata. Quantidade de proteína: 500ng.....98

Figura 13 A - Perfil SDS-PAGE da fração glutelina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....98

Figura 13 B - Análise SDS-PAGE* fração glutelina de endosperma de milho.....99

Figura 14 A - Perfil SDS-PAGE da fração globulina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....112

Figura 14 B - Análise SDS-PAGE* da fração globulina de endosperma de milho.....113

Figura 15 A - Perfil SDS-PAGE da fração albumina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....114

Figura 15 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina de embrião de milho.....116

- Figura 16 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....117
- Figura 17 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....118
- Figura 18 A - Perfil SDS-PAGE da fração glutelina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata.....119
- Figura 18 B - Análise SDS-PAGE* da fração glutelina de embrião de milho.....120
- Figura 19 - Perfil 2D-PAGE da fração globulina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) o1, C) o2, D) fl1 e E) fl2. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL.....126
- Figura 20 - Perfil 2D-PAGE da fração albumina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) o1, C) o2, D) fl1 e E) fl2. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL.....128
- Figura 21 - Perfil 2D-PAGE da fração glutelina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) o1, C) o2, D) fl1 e E) fl2. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL.....131

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Componentes da semente de milho.....	25
Tabela 2 A - Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha (%) e peso da semente (g) para diferentes regiões da espiga.....	66
Tabela 2 B - Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha (%) e peso da semente (g). Valores médios considerando as regiões distal, mediana e proximal da espiga.....	67
Tabela 3 – Quantidade de aminoácidos solúveis (nmol/ml) em semente de milho. Teste de Dunnett ($\alpha=0,05$).....	69
Tabela 4 - Quantidades de proteína de reserva em semente de milho.....	71
Tabela 5 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de Sementes de milho Oh43+. Teste de Dunnett ($\alpha = ,05$).....	80
Tabela 6 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho W22+. Teste de Dunnett ($\alpha = 05$).....	82
Tabela 7 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho B37+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	84
Tabela 8 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho B7977+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	85
Tabela 9 – Quantidades de LYS (mol%)* nas proteínas de reserva da semente de milho. Teste de Dunnett ($\alpha= 0,05$).....	87

Tabela 10 – Quantidade de aminoácidos solúveis (nmol/ml) em endosperma de milho. Teste de Dunnett ($\alpha=0,05$).....	88
Tabela 11 - Quantidade de proteína de reserva de endosperma de milho.....	90
Tabela 12 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho Oh43+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	104
Tabela 13 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho W22+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	106
Tabela 14 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho B37+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	107
Tabela 15 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho B7977+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$).....	108
Tabela 16 - Quantidade de proteína de reserva do embrião de milho.....	109
Tabela 17 - Comparação de spots* da fração globulina de endosperma de milho Oh43+.....	127
Tabela 18 - Comparação de spots* da fração albumina de endosperma de milho Oh43+.....	129
Tabela 19 - Comparação de spots* da fração glutelina de endosperma de milho Oh43+.....	132
Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL).....	168
Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL).....	173
Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL).....	181

Tabela 23 – Análise de spots* de albumina de endosperma de <i>f11</i> (pH3-10 NL).....	187
Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de <i>f12</i> (pH3-10 NL).....	191
Tabela 25 – Análise de spots* de globulina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)...	199
Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de <i>o1</i> (pH3-10 NL).....	203
Tabela 27 – Análise de spots* de globulina de endosperma de <i>o2</i> (pH3-10 NL).....	210
Tabela 28 – Análise de spots* de globulina de endosperma de <i>f11</i> (pH3-10 NL).....	213
Tabela 29 – Análise de spots* de globulina de endosperma de <i>f12</i> (pH3-10 NL).....	217
Tabela 30 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de <i>o1</i> (pH3-10 NL).....	221
Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de <i>o2</i> (pH3-10 NL).....	227
Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de <i>f11</i> (pH3-10 NL).....	232
Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de <i>f12</i> (pH3-10 NL).....	239

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do milho (*Zea mays*) é praticado em todas as superfícies aptas para a agricultura no planeta. Existem tipos diferentes de milho, como o dentado, o duro, o macio ou farináceo, o doce e o pipoca. Além de suas virtudes como alimento (produção de farinha, flocos, pastas, etc.), o milho tem uso como ingrediente básico para produtos processados industrialmente como amido, óleo e proteínas.

Em países da Ásia, África e América Latina, a maior parte do milho produzido é usada como alimento e representa a base alimentar da grande maioria da população. Entretanto em países desenvolvidos industrialmente, o uso principal do milho é para alimentação animal e apenas 10% para consumo humano.

Normalmente os grãos de milho contém cerca de 70-75% de carboidratos, 9-11% de proteínas e 3-5% de lipídios. Mais da metade das proteínas do milho consiste da fração zeína, outra importante proteína de armazenamento é a fração glutelina. A albumina e globulina se apresentam principalmente no embrião. Estas são proteínas de boa qualidade, entretanto a zeína é de pobre qualidade nutricional. Portanto e apesar de conter quantidades adequadas de proteínas a qualidade nutricional do milho é baixa, devido a que sua principal fração protéica é deficiente em LYS e TRP.

Em virtude desta característica numerosos esforços para melhorar a qualidade nutricional do milho foram realizados através de programas de melhoramento.

Os mutantes de endosperma de milho, *opaco-2* (*o2*) (MERTZ et al., 1964) e *floury-2* (*fl2*) (NELSON et al., 1965), caracterizam-se por conter quantidades maiores de LYS nas sementes quando comparadas às linhagens selvagens que lhes deram origem (SODEK; WILSON, 1971; MISRA et al., 1975). Isto é consequência primária da repressão na síntese da fração zeína, com aumento relativo de albumina, globulina e glutelina. Recentemente, foi observado que *o2* apresenta uma diminuição severa na atividade da enzima lisina oxoglutarato redutase–sacaropina desidrogenase (LOR-SDH) (BROCHETTO-BRAGA et al., 1992) envolvida diretamente na degradação da LYS.

Além do baixo conteúdo de LYS e TRP existe um excesso de resíduos de leucina (LEU) nas proteínas do milho comum. Quando ratos foram alimentados com milho foi observada uma taxa de crescimento mais lenta do que quando os ratos foram alimentados com a variedade *o2* (ANGELIS, 1986).

Do ponto de vista nutricional, o valor nutritivo de uma proteína está estritamente relacionado à proporção de aminoácidos que a compõe, sendo necessário que as quantidades de aminoácidos associados às proteínas estejam próximas aos requeridos pelo organismo. Portanto, é relevante integrar as informações relativas à qualidade e quantidade de proteínas ingeridas com o valor energético total da dieta (ANGELIS, 1986).

É preciso ressaltar que as avaliações das características do milho selvagem e mutante devem ser realizadas no contexto do “*background*” genético dos materiais e procedimentos usados no desenvolvimento das variedades mutantes.

Existem vários mutantes de endosperma de milho que têm sido caracterizados como “alta lisina” baseada principalmente nas características fenotípicas das mutações. Tais mutantes, *opaco* (*o1*, *o5*, *o6*, *o7*, *o9*, *o10*, *o11*, *o13*, *o14*) e *floury* (*fl1*, *fl2*, *fl3*), apesar de terem sido mapeados e serem genes distintos, não foram caracterizados bioquimicamente (MOTTO et al., 1988), sendo que apenas os mutantes *o6*, *o7* e *o9* foram superficialmente caracterizados agronomicamente e no caso particular do *o7* um estudo das proteínas de reserva foi realizado (DI FONZO et al., 1980).

Neste contexto, destaca-se a importância de se caracterizar mutantes de endosperma de milho (*opaco* e *floury*) para quantidade e qualidade das proteínas de reserva, mediante o uso das técnicas de electroforese em gel de poliacrilamida bidimensional (2D-PAGE) e cromatografia líquida de alta performance (HPLC).

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 Revisão de Literatura

2.1.1 Aminoácidos

Dos 20 aminoácidos normalmente incorporados às proteínas, somente 11 podem ser sintetizados por animais monogástricos e os 9 restantes, os quais são chamados de essenciais, devem ser ministrados através da dieta. As plantas e a maioria das bactérias e fungos têm a capacidade de sintetizar todos os aminoácidos, sendo a LYS, THR, MET e ILE produzidos a partir de uma via que tem como precursor comum o ASP (AZEVEDO et al., 1997).

Do ponto de vista nutricional, o valor nutritivo de uma proteína está estreitamente relacionado à proporção de aminoácidos que a compõem. Os seguintes aminoácidos são essenciais para o humano adulto: ILE, LEU, LYS, MET, PHE, THR e TRP. Para as crianças é necessário, além dos já citados, a HIS (LAJOLO; TIRAPEGUI, 1998). Por outro lado, quando a ingestão de carboidratos é baixa, ocorre a redução da quantidade de proteína utilizada pelo organismo para fins anabólicos e esta quantidade de proteína é desviada para a produção de energia. Torna-se relevante, portanto, integrar as informações relativas à qualidade e quantidade da proteína ingerida com as do valor energético total da dieta (ANGELIS, 1986).

Em geral, as proteínas de origem animal têm valor biológico mais elevado que as de origem vegetal e ainda, a digestibilidade das proteínas vegetais é baixa, quando comparada às de origem animal (SGARBIERI, 1987). Principalmente nos cereais as prolaminas, as quais são armazenadas em estruturas empacotadas altamente densas chamadas corpos protéicos (HERMAN; LARKINS, 1999).

No milho as prolamina, são chamadas de zeína, e representam a principal proteína de reserva da semente, porém são moléculas que contem elevados níveis de aminoácidos hidrofóbicos e quase ausência de LYS e TRP. O mutante o2 de milho (MERTZ et al., 1964) apresenta quantidades muito baixas de zeína e LEU, consequentemente aumento no conteúdo de LYS e TRP da semente (SODEK; WILSON, 1971)

Em termos protéicos, entretanto, não só a falta, mas também o excesso de um ou mais aminoácidos pode ser prejudicial. Assim, o valor de uma proteína pode ser limitado não apenas pela deficiência de aminoácidos como também pelo seu excesso, parecendo ser esse o caso do milho que tem elevados níveis de LEU (OLIVEIRA et al., 1982).

Entre os casos patológicos pelo desequilíbrio dos aminoácidos e consequentemente de deficiência protéica cita-se na literatura clínica infantil uma correlação com distúrbios mentais envolvendo PHE, HIS e VAL, assim como alterações morfológicas no sistema nervoso (GUERRA MOLINA et al., 2001). A falta de LYS e TRP associada aos níveis elevados de LEU do milho comum, causa um crescimento lento em ratos comparado aos animais alimentados com grãos do mutante o2, ainda quando o milho comum foi suplementado com LYS e TRP até o teor contido no o2. Porém, quando o2 é suplementado com LEU com os níveis presente no milho comum, o ritmo de crescimento dos animais diminui até o nível do milho selvagem suplementado com LYS e TRP, indicando que o excesso de LEU foi prejudicial para o crescimento (ANGELIS, 1986).

No caso de animais ruminantes (poligástricos) as diferentes fontes protéicas apresentam valor biológico equivalente, pois após a ingestão e fermentação, ocorre a produção das proteínas dos microorganismos, as quais de fato representam a fonte protéica para o animal.

2.1.2 Contribuição nutricional do milho

A contribuição nutricional do milho varia com o tipo de milho usado (Tabela 1). Assim a composição de milho das variedades “dent” e “flint” resultam similares, entretanto as variedades de milho doce (“sweet”) e “high-oil” contem níveis elevados de óleo. Entretanto, o conteúdo de nutrientes do milho em geral é similar com outros cereais. A maioria das variedades dos cereais apresenta 70-75% de carboidratos, 9-11% de proteínas e aproximadamente 3-5% de lipídeos (BAJAJ, 1990). O conteúdo de ash de milho é aproximadamente 1,4% e a quantidade de fibra dietética total é próxima a 9% (NYMAN et al., 1984).

Tabela 1 – Componentes da semente de milho

Componentes	%	Milho Flint	Milho Dent	Milho Doce	Milho Pipoca	Milho High-oil
% Peso seco						
Proteína	8-13	11,1	10,0	12,1	11,6	8,8
Lípidos	1,2- 19,5	4,9	4,5	9,1	4,0	19,5
Fibra cru	2-5,5	2,1	3,5	2,2	2,4	2,0
Minerais	1,1-3,9	1,7	2,0	2,0	1,6	1,6
Carboidratos solúveis		80,2	80,0	74,5	78,2	
i. Amido	64-78					
ii. Açúcares totais	1,3-5					

Fonte de dados: Bajaj et al. (1990)

O grão de milho representa uma das melhores fontes de energia metabolizável entre os diversos tipos de grão utilizados como fonte de alimento, sendo que 90% da energia é assimiladas (digestível) quando testado em ratos (EGGUM et al., 1985). Praticamente, toda a energia é contribuída pelos carboidratos e lipídeos.

2.1.3 Via metabólica do ácido aspártico

A via metabólica do ácido aspártico se inicia com o ASP, o primeiro composto estável com quatro carbonos, proveniente do Ciclo de Krebs, que representará base do esqueleto dos aminoácidos formados na via.

A primeira reação enzimática ocorre pela fosforilação do aspartato formando o β -aspartil fosfato, reação catalisada pela enzima Aspartato Quinase (AK). Seguidamente o β -aspartil fosfato é convertido a β -aspartil semialdeído, pela ação da enzima Aspartato Semialdeído Desidrogenase.

Até esse ponto a via é comum para os quatro aminoácidos nela formados e a partir daí se ramifica em dois caminhos. Um deles origina a LYS e o outro os aminoácidos THR, ILE e MET.

O último caminho por sua vez, se ramifica em outros dois, um deles leva a síntese de MET e o outro leva a formação de THR e ILE.

Na via de síntese de LYS o β -aspartil semialdeído é convertido a 2,3-dihidropicolinato pela enzima Dihidrodipicolinato Sintase (DHDPS), e depois a piperidina-2,6-dicarboxilato pela Dihidrodipicolinato Redutase. Após esta etapa, a enzima Piperidina Descarboxilase Acilase forma o N-acil-2-amino-6-oxopimelato. Em seguida são adicionados nitrogênios ao esqueleto de carbono, pela enzima Acildiaminopimelato Aminotranferase e logo pela Diacilaminopimelato Deacilase. Modificações finais são realizadas pelas enzimas Diaminopimelato Epimerase e Diaminopimelato Descarboxilase, originando o aminoácido lisina.

A partir do β -aspartil semialdeído a via se divide no ramo que origina a THR e outro para formar ILE. Primeiramente, este composto é reduzido a homoserina pela ação da enzima Homoserina Desidrogenase (HSDH) sendo depois fosforilado a O-fosfohomoserina pela enzima Homoserina Quinase (HK). A última reação, catalisada pela enzima Treonina Sintase (TS), dá origem a THR.

A própria THR serve como substrato para a reação da enzima Treonina Desidratase (TDH), sendo convertida a 2-oxobutirato. A enzima Acetolato Sintase, forma o 2-acetohidroxibutirato que seguidamente é convertido em 2',3-dihidroximetilvalerato pela ação da enzima Acetohidroxato Redutoisomerase. Este composto é desidratado a 2-oxo-metilvalerato pela enzima Dehidroxato Desidratase. Finalmente a ação da enzima Aminotransferase de cadeia ramificada, dá origem a ILE.

Da síntese da O-fosfohomoserina, segue uma ramificação que leva a formação de MET. A primeira enzima envolvida exclusivamente na síntese de MET é a Cistationina- γ -Sintase, que leva a formação de cistationina. Este composto é transformado na sequência em homocisteína pela enzima Cistationina- β -liase e em seguida em MET pela enzima Metionina Sintase. A partir da MET origina-se o composto S-adenosilmetionina (SAM) pela ação da enzima Metionina Adenosiltransferase.

As enzimas Lisina Oxoglutarato Redutase (LOR) e Sacaropina Desidrogenase (SDH) estão representadas na via metabólica do ácido aspártico por participarem na degradação da LYS. Esta via foi estudada em bactérias, fungos, plantas e animais e quatro vias catabólicas diferentes foram encontradas nos diferentes organismos estudados. Para mamíferos e plantas, foi determinado que a via de catabolismo mais importante envolve a

formação do ácido α -aminoadípico (NIGAN; CONNEL, 1963). A LYS é condensada com o α -cetoglutarato para a formação de sacaropina, reação catalisada pela LOR. A sacaropina é então degradada a α -aminoadípico- γ -semialdeído e ácido glutâmico pela ação da SDH.

A maioria das enzimas envolvidas na síntese de LYS e THR foi localizada nos cloroplastos. A análise de seqüências de DNA confirmaram que estas enzimas são sintetizadas com peptídeos trânsitos que direcionam a proteína primária dentro do cloroplasto (KANEKO et al., 1990; FRISCH et al., 1991; WEISEMANN; MATTHEWS, 1993; GHISLAIN et al., 1994; MUEHLBAUER et al., 1994; DANTE et al., 1999).

A reação ocorrendo dentro de dita organela tem senso biológico devido a algumas reações bioquímicas requer energia que é grandemente produzida no cloroplasto. No entanto, algumas das enzimas da via metabólica do ASP, particularmente aquelas envolvidas na síntese de MET e SAM, estão localizadas no citoplasma (GALILI, 1995).

2.1.4 Regulação da via metabólica do ácido aspártico

Os aminoácidos essenciais, LYS, THR, MET e ILE são sintetizados nas plantas por um processo complexo que apresenta o ASP como precursor comum. A rota metabólica do aspartato tem sido objeto de inúmeras revisões (LEA et al., 1985; AZEVEDO et al., 1997).

A regulação da via metabólica do ASP se faz em determinados pontos chaves, através da regulação das enzimas que catalisam estes pontos.

Figura 1 - Via Metabólica do ácido aspártico

Em vias metabólicas multienzimáticas, na qual o produto de uma enzima se torna o substrato da próxima, a primeira enzima da seqüência normalmente atua como reguladora da velocidade de todo o sistema, sendo chamada de enzima reguladora.

A regulação das enzimas é realizada por ativação/inibição dos produtos finais, diretos ou indiretos, da atividade da enzima; processo chamado de retroalimentação positiva/retroalimentação negativa, originada da palavra inglesa "*feedback*".

2.1.5 Aspartato quinase

A aspartato quinase (AK) é a primeira enzima da rota catalisando a conversão de aspartato em β -aspartil fosfato. Em plantas, a AK tem sido identificada, parcialmente purificada e bioquimicamente caracterizada em várias espécies de cereais de importância econômica (AZEVEDO et al., 1997).

A AK foi primeiramente estudada em bactérias, sendo purificadas três diferentes isoenzimas e caracterizadas em nível bioquímico e molecular em *Escherichia coli* (STADTMAN et al., 1961) na cepa K12 (SAINT-GIRONS; MARGARITA, 1978), e em *Saccharomyces cerevisiae*, através de estudos de retroinibição da atividade da AK (STADTMAN et al., 1961). A AK foi extraída pela primeira vez em plantas, a partir, de hipocótilos de milho por BRYAN et al. (1970). A enzima mostrou susceptibilidade à inibição por LYS e foi estimulada pela ALA, VAL e ILE.

Em plantas, a AK foi estudada em milho (DOTSON et al., 1990; AZEVEDO et al., 1992a; AZEVEDO et al., 1992b; BRENECKE et al., 1996), cevada (AARNES, 1977; BRIGHT et al., 1982a; ARRUDA et al., 1984), cenoura (DAVIES e MIFLIN, 1978; MATTHEWS; WIDHOLM, 1979a; RELTON et al., 1988), soja (MATTHEWS; WIDHOLM, 1979b) e arroz (SHAW; KHU, 1984; TEIXEIRA et al., 1998; LUGLI et al., 2000).

A regulação da atividade da enzima tem sido relatada ocorrer por retroinibição, utilizando LYS (BRYAN et al., 1970) e THR (DAVIES; MIFLIN, 1977). Foram caracterizadas distintas isoenzimas de AK mostrando serem retroinibidas por LYS e THR (DAVIES; MIFLIN, 1978) ou sinergisticamente por LYS e SAM (ROGNES et al., 1980). Recentemente, em milho foram descobertos dois picos de atividade de AK, o primeiro deles referentes às isoenzimas sensíveis a THR e o segundo a isoenzima sensível a LYS. Este último, mediante ensaios de atividade na presença de LYS e SAM, foi desmembrado em duas isoformas sensíveis a LYS. (AZEVEDO et al., 1992a). Pela retroinibição da atividade da AK, os aminoácidos LYS e THR podem regular sua própria síntese desde que ambas derivem do produto da atividade da AK, o β -aspartil fosfato.

A distribuição das isoenzimas de AK sensíveis a THR e LYS variou de acordo com o tecido e estado do desenvolvimento da planta (LEA et al., 1979). A AK sensível à LYS é normalmente predominante em tecidos em crescimento contínuo e representa 80% do total de atividade da enzima, diferente da isoenzima susceptível a retroinibição por THR observada em cultura de calos e cotilédones de soja (MATTHEWS; WIDHOLM, 1979), raiz de cenoura (SAKANO; KOMAMINE, 1978) e sementes de *Coix lacryma jobi* (LUGLI; AZEVEDO, 1994 e 1995) representando entre 60-70 % da atividade total de AK.

Numerosos trabalhos relataram o papel regulador do Ca^{+2} e calmodulina na atividade da AK em espinafre (KOCHHAR et al., 1986; KOCHHAR et al., 1987). No entanto, Bonner et al. (1986), trabalhando com AK de cenoura e posteriormente em milho, Azevedo et al. (1992c), observaram que a atividade das isoenzimas não foi afetada pelos antagonistas de Ca^{+2} ou inibidores de calmodulina.

2.1.6 Aspartato quinase/homoserina desidrogenase

Homoserina desidrogenase (HSDH), catalisa a redução de aspartato semialdeído (ASA) para homoserina por NADPH, com NADH podendo servir também como substrato e esta localizada principalmente no cloroplasto. Estudos de localização intracelular, baseados em gradiente de sacarose, demonstraram que em milho as isoformas de HSDH se encontram nos cloroplastos (BRYAN et al., 1977).

Pelo menos dois tipos de isoenzimas para HSDH estão presentes em plantas, uma HSDH sensível a THR (GREGO et al., 1980; KRISHNASWAMY; BRYAN, 1983; 1986) e outra resistente a THR (AARNES; ROGNES, 1974; SAINIS et al., 1981).

Em *E. coli* foram identificadas duas enzimas bifuncionais, codificadas pelos genes *thrA* (AKI-HSDHI) e *metL* (AKII-HSDHII). A AKIII é codificada pelo gene *lysC* e não contém atividade de HSDH. A AKI-HSDHI é inibida por THR, entretanto a AKII-HSDHII é inibida por MET (PATTE et al., 1996). Em *Saccharomyces cerevisiae*, as atividades HSDH e AK (RAFALSKI; FALCO, 1988) residem sobre proteínas separadas codificadas por genes diferentes.

Numerosos trabalhos confirmam a existência de um polipeptídeo bifuncional AK-HSDH em plantas; em ervilha (AARNES; ROGNES, 1974), cenoura (WILSON et al., 1991), cultura de calos de milho (AZEVEDO et al., 1992b) e arroz (TEIXEIRA et al., 1998).

Clones de cDNA codificando para a AK-HSDH sensível a THR, foram isolados a partir de cenoura (WEISMANN; MATTHEWS, 1993), milho (MUEHLBAUER et al., 1994) e soja (MATTHEWS et al., 1992). Embora, muitas plantas apresentam mais do que um gene *ak-hsdh*, em *A. thaliana* um simples gene foi identificado (GHISLAIN et al., 1994). Zhu-Shimoni et al. (1997); mediante técnicas de hibridação "*in situ*" observaram maior quantidade de transcritos em folhas jovens, mas apenas detectados em folhas maduras. Os mRNAs foram também detectáveis em órgãos florais e em raízes, embora em níveis inferiores.

2.1.7 Síntese de lisina

A DHDPs, primeira enzima da via de síntese de LYS pode ser fortemente inibida por este aminoácido (KUMPAISAL et al., 1987). Embora, não tenha sido identificado isoformas para DHDPs, esta enzima desempenha o papel mais importante na regulação da síntese de LYS.

Na maioria das bactérias e em plantas superiores, LYS, THR, MET e ILE são sintetizadas através da via do ASP (GALILI, 1995). Duas enzimas da via, AK e DHDPs, são retroinibidas por LYS. A DHDPs é a primeira enzima do ramo da via que leva exclusivamente a síntese de LYS. A atividade da DHDPs é considerada o ponto crítico na regulação da síntese de LYS em plantas (AZEVEDO et al., 1997).

A DHDPs foi purificada a partir de trigo (KUMPAISAL et al., 1987), tabaco (GHISLAIN et al., 1990), milho (FRISCH et al., 1991), ervilha (DEREPPE et al., 1992) e *Coix lacryma-jobi* (DANTE et al., 1999).

Clones de cDNAs foram obtidos a partir de várias espécies de plantas, trigo (KANEKO et al., 1990); milho (FRISCH et al., 1991); Arabidopsis (VAUTERIM e JACOBS, 1994); e *Coix lacryma-jobi* (DANTE et al., 1999).

Sodek (1976) trabalhando com o ácido aspártico [$4\text{-}^{14}\text{C}$] e ácido diaminopimélico [$1,(7)\text{-}^{14}\text{C}$], demonstrou que a LYS em plantas superiores é sintetizada através da via do ácido diaminopimélico. Por micro-injeção direta no endosperma imaturo de milho (Maya o2), foi observado que o ^{14}C do ASP marcou para LYS, entre outros aminoácidos, entretanto o ^{14}C do ácido diaminopimélico foi convertido diretamente a LYS. Estes resultados revelaram que a síntese de LYS junto com outros aminoácidos ocorre também em endosperma.

Galili (1995) observou que em plantas a DHDPS é aproximadamente 10-vezes mais sensíveis à inibição por LYS do que AK e aproximadamente 100-vezes mais sensível à inibição por LYS do que a DHDPS de *E. coli*.

2.1.8 Catabolismo de lisina

A LYS é um dos aminoácidos essenciais para o desenvolvimento de humanos e animais monogástricos. É por causa de sua relevância nutricional que numerosos laboratórios têm focalizado compreender os mecanismos que regulam a síntese e o acúmulo de LYS nas sementes dos cereais, principalmente no milho. Isto envolve processos complexos de síntese, incorporação em proteínas e degradação (ARRUDA et al., 2000).

O catabolismo da LYS em plantas (Figura 2) é iniciado com as enzimas LOR e SDH, as quais apresentam domínios separados em um polipeptídeo bifuncional LOR-SDH. A LOR condensa LYS e ácido α -cetoglutarico para formar sacaropina. A sacaropina seguidamente é hidrolizada, pela ação da SDH, originando α -aminoadípico- δ -semialdeído e ácido glutâmico. Estes dois passos podem ser vistos como uma típica reação de transaminação, o grupo amino da LYS é transferido ao ácido α -cetoglutarico formando ácido glutâmico. Uma segunda molécula de ácido glutâmico é formada em uma reação catalisada pela enzima ácido α -aminoadípico aminotransferase (AAA), no qual o grupo α -amino da LYS é transferido desde o ácido α -aminoadípico para o ácido α -cetoglutarico (ARRUDA et al., 2000).

Em monocotiledôneas, como milho (ARRUDA et al., 1982, 1983; ARRUDA; SILVA, 1983) e arroz (GAZIOLA et al., 1997), e em dicotiledôneas, como *Arabidopsis* (TANG et al., 1997), tabaco (KARCHI et al., 1994) e soja (MIRON et al., 1997), o catabolismo da LYS é realizado pela via da sacaropina, mas o papel fisiológico do catabolismo da LYS deve diferir entre as duas famílias de plantas.

Os primeiros estudos relacionados ao catabolismo da LYS em plantas superiores, envolveram a incorporação e metabolismo de aminoácidos marcados com isótopos ^{14}C de carbono, injetados em tecidos de plantas. Em plantas de trigo foi observada a incorporação do ^{14}C em ácido α -aminoadípico e GLU (NIGAN 1963; LAWRENCE; GRANT, 1964). Posteriormente, em plantas de milho observou-se a incorporação de ^{14}C em sacaropina e ácido diaminopimélico (SODEK; WILSON, 1970). Análises comparativos determinaram que

no milho o ^{14}C injetado foi transferido para GLU e para PRO, entretanto em o_2 foi incorporado em GLU, mas não se observou a formação de PRO (BRANDT, 1975).

Silva; Arruda (1979) observaram que a síntese de LYS ocorre no endosperma, mas que à maioria foi sintetizada em outros tecidos da planta e transportada para o endosperma, implicando a necessidade de degradação desse aminoácido nas etapas primárias do desenvolvimento da semente.

A primeira evidência enzimática do catabolismo da LYS em plantas foi obtida durante o desenvolvimento do endosperma de milho, sendo a atividade da enzima específica para LYS, α -cetoglutarato e NADPH (ARRUDA et al.1982). Durante o desenvolvimento do grão aumenta a atividade LOR atingindo o máximo com 20 DAP para logo diminuir progressivamente com a maturidade da semente. Isto se correlaciona com o acúmulo máximo de nitrogênio e com a síntese de zeína no endosperma (ARRUDA; SILVA, 1983). Posteriormente, Brochetto-Braga et al. (1992), observaram que em o_2 a quantidade de zeína foi 2-vezes menor e a atividade enzimática 3-vezes menor comparada ao controle. Recentemente foi purificada a atividade bifuncional LOR-SDH em milho (GONÇALVEZ-BUTRUILLE et al., 1996) e observado que em o_2 a atividade da enzima esta reduzida devido às baixas quantidades do polipeptídio como consequência do baixo acúmulo de transcritos *lor-sdh* (KEMPER et al., 1999). Como consequência os genes codificando para LOR poderiam estar sob o controle do produto do gene O_2 .

Portanto, no milho aumentos na síntese de zeína promovidas pelo O_2 , incrementariam concomitantemente a atividade de LOR-SDH (Figura 3), o que resultaria na degradação da LYS em excesso nas células do endosperma (ARRUDA et al., 2000).

Figura 2 - Processo de degradação da lisina. 1) Lisina Oxoglutarato Reductase (LOR); 2) Sacaropina Desidrogenase (SDH); 3) Ácido Aminoadípico Semialdeído Desidrogenase (AADH); 4) Ácido Aminoadípico Aminotransferase (AAA); 5) Transaminase de α -aminoácidos. Abreviações: α -kA, α -ketoácidos; α -AA, α -aminoácidos. (Arruda et al., 2000)

O papel regulador do Ca^{+2} nas enzimas envolvidas no metabolismo da LYS foi proposto por Kemper et al. (1998). Os autores verificaram que no milho a atividade de LOR, mas não SDH, foi regulada pelo Ca^{+2} . Em arroz, foi observado um mecanismo de regulação similar (GAZIOLA et al., 2000). De fato, um sítio de união para Ca^{+2} , está presente nas seqüências de aminoácidos das proteínas LOR de milho e *Arabidopsis* (TANG et al., 1999).

Por tanto, no endosperma o₂ é caracterizado pelos níveis elevados de LYS e as baixas atividades de LOR e SDH comparado às linhas selvagens, sugerindo que a degradação da LYS representa um passo importante na regulação da quantidade de LYS final encontrada no endosperma.

2.1.9 Mutantes bioquímicos

Mutantes bioquímicos para AK resistentes a combinações tóxicas de aminoácidos ou análogos de aminoácidos foram selecionados em milho (HIBBERD; GREEN, 1980, 1982; AZEVEDO et al., 1990), cevada (BRIGHT et al., 1982a, 1982b), cenoura (MATTHEWS et al., 1980) e *Pennisetum americanum* (BOYES; VASIL, 1987). Na maioria dos casos foi observado que as mutações produzem uma alteração na capacidade de união do aminoácido à enzima alvo (HIBBERD e GREEN, 1980; 1982; MATTHEWS et al., 1980; BRIGHT et al., 1982). Hibberd et al. (1980), selecionaram linhas celulares de milho resistentes à LYS+THR (LT). A atividade de AK foi 8-vezes menos sensível a retroinibição por LYS.

Hibberd e Green (1982) obtiveram mutantes que apresentaram níveis 100-vezes maiores de THR solúvel em relação aos grãos das plantas. Recentemente, dois mutantes

LT de milho foram observados a serem controlados por *loci* não alélicos, *ask1* e *ask2* (FRISCH; GENGENBACH, 1986). Posteriormente, Azevedo *et al.* (1990), determinaram aumentos de 144-vezes nos níveis de THR em endospermas de milho *ask1/o2*. O gene *ask1* foi localizado no braço curto de cromossomo VII, próximo do gene *o2*. No entanto, *ask1* é um gene estrutural que codifica uma AKII alterada, sendo desconhecido como poderia exercer um efeito de posição sobre *o2*. Os autores sugerem que *o2* poderia controlar a expressão do gene *ask1*. Recentemente, Wang *et al.* (2001), informaram a *Ask2* como o QTL responsável pelo incremento de aminoácidos solúveis em endosperma de mutantes de milho Oh545o2.

Embora, linhagens de milho com AK resistentes a retroinibição para níveis elevados de LYS e THR foram obtidas, estes não acumularam LYS ou MET nas proteínas do endosperma.

Azevedo e Arruda (1995) selecionaram plantas resistentes a AEC que foi condicionada por um gene dominante simples no mutante AEC-1 e um gene recessivo no mutante AEC-5. Embora, um pequeno mais consistente incremento nos níveis de LYS solúvel tenha sido observado no endosperma, não foi tão pronunciado quanto o observado em folhas de tabaco (NEGRUTIU *et al.*, 1984). Possivelmente a AK das linhagens mutantes permaneceram sensíveis a retroinibição por LYS, conseqüentemente a disponibilidade do substrato para a DHDPs poderia estar limitada e, portanto prevenindo a acumulação de LYS.

Avanços na biotecnologia têm demonstrado que os níveis dos aminoácidos LYS e THR podem ser modificados com a obtenção de plantas transgênicas expressando formas das enzimas AK e DHDPs de bactérias pouco sensíveis à inibição pela LYS. Desta forma, os níveis destes aminoácidos aumentariam e, portanto teoricamente haveria maior disponibilidade para serem incorporados nos processos de síntese de proteínas durante o desenvolvimento da semente.

2.1.10 Plantas transgênicas

Embora plantas mutantes tenham contribuído para o entendimento dos processos que regulam a síntese de LYS e THR, tais mutantes apresentam limitações conseqüentes dos procedimentos de seleção pelo quais são obtidos. Como conseqüência da sensibilidade de AK e DHDPs a inibição pela síntese destes aminoácidos, mutantes

isolados resistentes a LT ou AEC possuem enzimas alteradas estruturalmente, mas não enzimas com expressão ou compartimentalização alteradas (GALILI et al., 1995). Ditas limitações foram salvas pela expressão de genes bacterianos codificando enzimas AK e DHDPS em plantas transgênicas.

Para obter plantas transgênicas, seqüências dos genes bacterianos codificando para a AK e DHDPS foram ligados ao promotor constitutivo 35S do vírus do mosaico da couve-flor (35SCAMV). Alguns transgenes incluem o DNA codificando o peptídio trânsito para dirigir a enzima bacteriana para o cloroplasto.

Uma análise global permite afirmar que a expressão da AK bacteriana resultou em aumento considerável na produção de THR, entretanto, a expressão de DHDPS bacteriana causou aumento na produção de LYS.

Plantas transgênicas contendo o gene *lysC* (codifica uma AK pouco sensível a LYS) de *E.coli* foram obtidas em tabaco (SHAUL; GALILLI, 1992b), em canola (FALCO et al., 1995) em cevada (BRINCH-PEDERSEN et al. 1996) e em *Arabidopsis* (TZCHORI et al., 1996). Nas plantas de tabaco houve aumento de 20-vezes no conteúdo de LYS nas folhas; mas não houve alterações nas plantas de *arabidopsis*; enquanto que em canola incremento de 20-vezes de THR na semente; e nas sementes de cevada não houve mudanças nos níveis de aminoácidos em relação às sementes não transgênicas.

Plantas transgênicas para DHDPS foram obtidas contendo o gene *dapA* de *E. coli*, em tabaco (SHAUL; GALILLI, 1992a), cevada (BRINCH-PEDERSEN et al. 1996) e *arbidopsis* (TZCHORI et al. 1996) ou utilizando o gene *dapA* de *Corynebacterium*, em canola (FALCO et al., 1995). Foram registrados níveis elevados de LYS de até 100-vezes nas folhas de tabaco, nas plantas de *arabidopsis* e nas sementes de canola e cevada, no entanto, houve paralelamente aumento de ácido α -aminoadípico, indicando que quantidades consideráveis de LYS estariam sendo degradadas (FALCO et al., 1995).

Plantas transgênicas contendo dois transgenes foram também criadas utilizando-se combinações de genes bacterianos *dapA* e *lysC-M4* que codificam para AK e DHDPS, em canola (FALCO et al., 1995) e soja (FALCO et al., 1995). Não houve aumento de LYS ou THR nas sementes de canola modificada; entretanto nas sementes de soja transgênicas a LYS aumento 5-vezes, mas paralelamente houve também aumento de sacaropina, indicando que a LYS estaria sendo degradada.

Contudo, as plantas transgênicas apesar de elevar o conteúdo de LYS na semente apresentaram alterações como diminuição da área foliar, esterilidade parcial e retardo no florescimento.

Zhu-Shimoni *et al.* (1997), observaram a atividade do promotor AK/HSDH (Arabidopsis)-GUS durante o desenvolvimento de sementes de tabaco. No endosperma pigmentação azul foi observada com 8-10 DAA, no embrião a partir de 18-20DAA, primeiro detectado no hipocótilo e depois cobriu todo o embrião. Durante a maturação da semente, a expressão GUS no embrião ficou limitada no ápice radicular e tecidos vasculares; notavelmente o endosperma apresentou elevada pigmentação GUS. A análise da expressão de AK/HSDH-GUS foi similar ao padrão de expressão do gene *ak-hsdh* endógeno de tabaco, sugerindo que a sua expressão seja regulada em nível transcricional. Ainda, durante a germinação a expressão do transgene no escuro foi localizada no hipocótilo e a posterior exposição à luz revelou pigmentação azul no endosperma, indicando que a atividade do promotor do gene *ak-hsdh* é regulada pela luz.

Vauterin *et al.* (1999), estudaram as propriedades de transcrição do promotor *dhdps* de Arabidopsis fusionado a GUS. A expressão do promotor em Arabidopsis e *Nicotiana tabacum* foi observada em tecidos de rápido crescimento (meristema e semente) onde a síntese de proteína é elevada e síntese *in situ* é necessária para o metabolismo da LYS. A relação entre a transcrição do gene *dhdps* e a necessidade de LYS em tecidos específicos indica que a expressão da enzima é regulada ao nível do RNA. Foi observado que há ativação transcricional elevada de *dhdps* em tecidos onde o metabolismo (*turnover*) de LYS é elevado. Isto sugere que a regulação transcricional de *dhdps* exerce um controle primário na síntese de LYS a instâncias da retroinibição pelo produto final sobre DHDPS. Assim, o controle por retroinibição da enzima DHDPS pela LYS seria um mecanismo de regulação secundária restrita ao nível celular com o objetivo de prevenir o acúmulo de LYS nas organelas de modo de prevenir o acúmulo de níveis tóxicos deste aminoácido fortemente básico.

Como verificado, em plantas a LYS regula sua própria síntese por retroinibição da DHDPS e em sementes de tabaco o acúmulo de LYS estimula a atividade da LOR; no entanto muito pouco é conhecido sobre outros mecanismos reguladores como a repressão de genes ou mecanismos de transdução de sinal intracelular que estariam envolvidos na síntese ou degradação deste aminoácido essencial.

Karchi et al. (1995), analisaram a atividade da LOR em sementes imaturas de *N. tabacum* cv Samsun e na versão transgênica AE26 (codificando DHDPs-bacteriana). Na semente não transgênica o nível basal de atividade da LOR foi aumentado pela injeção de LYS exógena, entretanto na semente transgênica a atividade foi estimulada pela alta produção de LYS endógena. Finalmente, determinaram que a atividade da LOR estimulada pela LYS opera através de uma cascata de sinalização intracelular envolvendo Ca^{+2} e fosforilação de proteínas.

2.1.11 Metabolismo da lisina: Genes e proteínas

Ghislain et al. (1994), isolaram o gene de *A. thaliana* que codifica para a AK (ATP: L-aspartato 4-fosfotransferase) a partir de uma biblioteca de DNA genômico, usando o gene *ak-hsdh* de cenoura como sonda hibridizante. A região codificando a apoproteína é interrompida por 15 íntrons. Foi identificada uma sequência para direcionamento ao cloroplasto *upstream* da região codificante o que explicaria a localização no cloroplasto da enzima. Análise da sequência 5' revelou a presença de elementos promotores conservados, como sequência similares ao sítio de união de O2 e de GCN4 de levedura.

O gene *ak-hsdh* de *Arabidopsis*, como já descrito em cenoura (WEISEMANN; MATTHEWS, 1993), esta estruturado em 4-domínios, na região 5' localiza-se o peptídeo trânsito e o domínio AK; uma região interdomínio; e na região 3' o domínio HSDH (GHISLAIN et al. 1994).

Dante et al. (1999), clonaram e caracterizaram o gene *DapA* que codifica para DHDPs, a partir de plântulas de *Coix lacryma-jobi* cv Adlay. O gene *DapA*, foi observado estar presente em cópia simples e estruturado em três éxons interrompidos por dois íntrons. Detalhes da estrutura na região 5' revelaram uma sequência de união para GCN4 *upstream* ao sítio de início da transdução. A análise da expressão do gene *DapA* mostrou aumento nos níveis de mRNA dhdp em coleoptiles, embriões imaturos e endospermas. Plântulas crescidas no escuro apresentaram níveis diminuídos de mRNA.

Clones e cDNAs codificando a enzima bifuncional LOR-SDH foram isoladas a partir de *Arabidopsis* (TANG et al., 1997; EPELBAUM et al., 1997) e milho (KEMPER et al., 1999).

Tang et al. (1997), identificaram e caracterizaram um cDNA de *Arabidopsis* que codifica para uma enzima SDH monofuncional (designado cAt-SDH) e um cDNA LOR-SDH

(designado cAt-LOR-SDH). A proteína estaria conformada de um domínio LOR, um domínio intermediário e o domínio SDH, como foram também observados para outros polipeptídeos bifuncionais, como AK-HSDH (GHISLAIN et al., 1994; GALILI, 1995). Finalmente, foi observado que SDH e LOR-SDH são codificados por um simples gene em *Arabidopsis*.

Kemper et al. (1999), isolaram um clone de cDNA (ZLORSDH) que codifica para a enzima bifuncional LOR-SDH de endosperma de milho. Foi observado banda simples quando hibridizado o mRNA ZLORSDH com DNA genômico de milho, sorgo e Coix, sugerindo a presença de um gene em copia simples na família *Andropogoneae* sp. A análise de seqüências de aminoácidos do polipeptídeo LOR-SDH de milho, mostrou uma estrutura em domínios similar a observada para LOR-SDH de *Arabidopsis* (DANTE et al., 1997).

A análise de seqüência dos genes *lor-sdh* de milho e *Arabidopsis* contém seqüências TATA e CCAAT no contexto do promotor e também na região interna (Figura 4). Isto permitiria um promotor para a produção de transcritos codificando o polipeptídeo bifuncional e o outro para a produção de transcritos SDH monofuncionais. Ainda, seqüências de união para GCN4 podem ser encontradas em regiões promotoras localizadas *upstream* e internamente no gene de milho, mas somente na região promotora interna do gene de *Arabidopsis*. Sítios de união para O2 estão presentes nas regiões promotoras *upstream* e interna do gene *lor-sdh* de *Arabidopsis*, mas somente na seqüência promotora *upstream* do gene *lor-sdh* de milho. Possivelmente, ambas as seqüências O2 e GCN4, estão envolvidas na regulação transcricional dos genes *lor-sdh* de milho e *Arabidopsis*, e, portanto, a ausência de uma seqüência O2 no promotor interno de milho deveria explicar porque esta espécie expressa apenas o polipeptídeo bifuncional, entretanto *Arabidopsis* expressa a enzima LOR-SDH e a enzima SDH monofuncional a partir do mesmo gene (ARRUDA et al., 2000).

Mauri et al. (1993), demonstrou que O2 pode substituir a proteína GCN4 em células transgênicas de levedura. Foi observado que a seqüência protegida pela união de O2 é também o sítio de união do fator transcricional GCN4.

De grande interesse, resulta a presença destas duas seqüências na região promotora dos genes que codificam para *ak-hsdh* de cenoura (WEISEMANN; MATTHEWS, 1993) e *Arabidopsis* (GHISLAIN et al., 1994), e DHDPs de *Coix lacryma jobi* (DANTE et al., 1999).

Trabalhos anteriores informaram que a regulação transcricional mediada pela proteína O2 em vários genes codificando proteínas de endosperma envolveu também a união da proteína GCN4 a mesma seqüência na região promotora (LHOMER et al., 1991; MADDALONI et al., 1996; YUNES et al., 1998).

Zhu-Shimoni et al. (1997), utilizaram um transgene contendo a região promotora AK-HSDH (seqüência GCN4 deletada) fusionada a GUS e transformaram plantas de tabaco. A análise funcional do transgene revelou diminuição na atividade da enzima AK-HSDH. Posteriormente, Yunes et al. (1998), verificou a união da proteína quimérica β -Gal::O2 de milho a seqüência para o sítio de união de GCN4 no promotor do gene 22kDa α -coixina. Entretanto, Dante et al. (1999), não observaram a união de O2 (β -Gal::O2) de milho com a sítio de união para GCN4 do gene *dhdps* de Coix.

Estas seqüências reguladoras são muito similares ao sítio de união a GCN4 existentes na maioria dos genes de levedura que codificam as enzimas envolvidas na biossíntese dos aminoácidos e donde GCN4 atua regulando a expressão das enzimas em resposta as necessidades de aminoácidos (HINNEBUSCH, 1988).

Figura 4 - Estrutura dos genes *lor-sdh* de milho e *Arabidopsis*. (Arruda et al., 2000)

Estudos de expressão transitória do promotor *C-hordeína*, sugerem que a sequência *GCN4 box* poderia regular a expressão do gene desta proteína de reserva de cevada em resposta ao nitrogênio (MULLER; KUNDSEN, 1993).

Grant e Bevan (1994) sugerem que o NH_3 produzido pela desaminação de ASN para formar ASP seria o sinal que induz a expressão dos genes das proteínas de reserva. Usando o gene quimérico para o promotor da asparraginase de pepino fusionado a GUS, observaram coloração azul nas células do endosperma de tabaco e o máximo de expressão foi alcançado dias prévios ao início da expressão dos genes que codificam para as proteínas de reserva. Este período é também caracterizado pela conversão rápida de ASN em ASP (KARCHI et al., 1993). É possível que a indução dos genes que codifica para as proteínas de reserva da semente bem como os genes que codificam para as enzimas envolvidas na síntese de aminoácidos, seja regulada pelos níveis de NH_3 . Recentemente, Hernández-Sebastià et al. (2005), informaram que os níveis de ASN em soja atuam como um sinal metabólico do status de nitrogênio da semente controlando o acúmulo de produtos de armazenamento durante o desenvolvimento de sementes em linhas de soja para baixa e elevada proteína.

2.1.12 Fator de transcrição *Opaco2*

No milho, o *Opaco2* (O2) atua regulando a expressão de certos membros da família de genes que codificam para as proteínas de reserva zeína (prolamina) na semente.

A sequência codificante (seis exons) de O2 (HARTING et al., 1989; SCHMIDT et al., 1990) é interrompida por cinco íntrons é precedida por uma sequência *leader* muito longa contendo três ATGs upstream ao ATG de início da transcrição. A sequência de aminoácidos deduzida a partir do cDNA revelou uma proteína de 437 aminoácidos com forte homologia com a família de fatores de transcrição, presentes em fungos e mamíferos, com domínio de união ao DNA do tipo “basic leucine zipper” (bZIP-zíper básico de leucina) (LANDSCHULZ et al., 1988). Dito domínio é bipartido, consiste de repetições periódicas de LEU cada sete aminoácidos (o zíper) que constituem a interface de dimerização (SASSONE-CORSI et al., 1988; KOUZARIDES; ZIFF, 1988; SCHUERMANN et al., 1989). O exon-5 contém o domínio de dimerização (MADDALONI et al., 1989) e o exon-4 o motivo básico, responsável pelo reconhecimento específico da sequência de DNA alvo (TURNER;

TJIAN, 1989; NEUBERG et al., 1989) onde foi observado a presença invariável de um resíduo ASN e outro de ARG.

Em O2, o motivo de dimerização está representado pela seqüência L₁-L₂-L₃-L₄-A-L₅-L₆, uma simples ALA interrompe a repetição de sete LEU e os traços representam seis aminoácidos. Foi observado entre diferentes bZIP que aminoácidos neutros ou hidrofóbicos podem às vezes substituir LEU, sendo portanto possível que a ALA nesta posição seja parte de um motivo de dimerização altamente conservado no milho.

Foi determinado que durante o desenvolvimento do endosperma as quantidades de O2 permanecem constantes embora as quantidades de O2 mRNA incrementa dramaticamente entre 15-30DAP (SCHMIDT, 1993).

A mutação *o2* resulta na redução da expressão de genes que codificam para polipeptídios da fração zeína, sendo a classe zeína 22kDa a mais severamente afetada (MULLER et al., 1995) e em menor extensão a zeína de 19kDa (SOAVE; SALAMINI, 1984; MOTTO et al., 1989).

Consistente com estes efeitos fenotípicos, somente os genes zeína 22kDa e 19kDa contém sítios de união para O2 nos promotores (SCHMIDT et al., 1992; CORD-NETO et al., 1995; VICENTE-CARBAJOSA et al., 1997).

A proteína O2 reconhece uma seqüência palindrômica imperfeita 5'-TCCACGTAGA-3', denominada caixa opaco2 (*O2-box*), presente na região promotora de genes zeína-22kDa. Esta seqüência esta inserida dentro da caixa prolamina (*prolamin box*) existindo três sítios de união para O2 denominados Z1, Z2 e Z3, em associação com outra seqüência reguladora -300, o motivo endosperma (*endosperm motif*), seqüência que da especificidade para expressão do gene no endosperma. Próximo ao extremo 3' da caixa prolamina foi observada uma seqüência muito similar ao sítio de união do fator GCN4 (MAURI et al., 1993).

Um segundo tipo de fator de transcrição b-ZIP em milho, chamado OHP1 (*O2-heterodimerizing protein1*), foi também observado a unir-se a O2-box, tanto na forma de um homodímero como em complexo heterodimérico associado a O2 (PYSH et al., 1999).

A proteína PBF (*prolamin box-binding factor*) pertence a classe de proteínas Cys₂-Cys₂ zinc-finger, em plantas foi observada a unir-se especificamente a promotores da família de genes zeína-22kDa e *in vitro* a interagir com O2. Este fator *trans* específico do endosperma, se une com elevada afinidade ao motivo endosperma, numa seqüência de 7pb altamente conservada (5'-TGTAAG-3'), observada nos promotores dos genes para

proteínas de reserva na semente da maioria dos cereais (VICENTE-CARBAJOSA et al., 1997).

A síntese de polipeptídios da fração zeína nas células do endosperma se inicia aproximadamente 10-12DAP e alcançam um platô em 35-40DAP. De modo similar, os transcritos O2 aparecem 11DAP e permanecem constantes por aproximadamente 25 dias (GALLUSCI et al., 1994). A participação de várias proteínas na regulação da expressão dos genes da zeína poderia estar sendo controlada por mecanismos que operam pós-transducionalmente e em resposta a diferentes condições fisiológicas e ambientais.

Ciceri et al. (1997), demonstraram que O2 é fosforilado e as várias isoformas correspondem a diferentes graus de fosforilação do polipeptídeo. Apenas as formas hipofosforiladas e não fosforiladas de O2 podem-se unir com elevada afinidade as seqüências O2-box. Portanto, O2 se apresentaria formando um pool de polipeptídeos com diferente graus de fosforilação e a união a seqüência O2-box seria modulada por um mecanismo de fosforilação/desfosforilação influenciado pelas variações nas condições ambientais.

Ciceri et al. (1999), demonstrou que os transcritos de O2 e PBF compreendem oscilações pronunciadas durante o ciclo dia-noite. Ao meio dia apresentaram os níveis mais elevados dos mensageiros e a meia noite os níveis mais baixos. Entretanto, o transcrito OHP1 permanece constante durante o ciclo dia-noite. Contudo, a semente não está diretamente envolvida na percepção da luz, mas responderia a fluxos de nutrientes para o endosperma durante o dia. Ainda, O2 não regula sua própria transcrição de modo que as variações nos níveis dos transcritos e o padrão de fosforilação da proteína estariam controlados por um ritmo circadiano. Foi proposto que a atividade de O2 regulando genes durante o desenvolvimento do endosperma poderia ser sensível a sinais luminosos que seriam captados em outras partes da planta e então transmitidos às sementes durante o desenvolvimento.

Análises da seqüência de aminoácidos de O2 revelaram a presença de seqüências alvo para três quinases de serina-treonina: proteína quinase C, proteína quinase A e caseína quinase II (CKII). A adição dos grupos fosfatos ao polipeptídeo O2, foi proposta a ser realizada pela proteína CKII (CICERI et al., 1997) devido a sua localização citoplasmática e nuclear em plantas (ZHANG et al., 1993), sua presença em endosperma de milho (GRASSER et al., 1989), e sua participação modulando a atividade dos fatores de transcrição em plantas (KLIMCZAK et al., 1995). Na proteína O2 a seqüência consenso

para união de CKII (KREBS et al., 1988) foi observada em oitos locais, seis dos quais poderiam ter relevância biológica por estar enquadrados no domínio N-terminal relacionada à sua atividade como fator *trans* e próximos ao sinal de localização nuclear (NLS-B) (CICERI et al., 1997).

As proteínas de b32 e zeína 22kDa aparecem grandemente diminuídas em o2. Recentemente a traves de estudos de expressão transitória (LOHMER et al., 1991) foi sugerido que o promotor b32 poderia ser especificamente ativado pela proteína O2.

Foi sugerido um papel para b32 na defesa contra patógenos como consequência da alta susceptibilidade ao ataque de fungos (LOESCH et al., 1975) e de insetos (GUPTA et al., 1970) nos grão de o2.

Bass et al. (1992), determinaram que a proteína b32 é um membro de uma classe grande e amplamente distribuídas de proteínas tóxicas de plantas que inativam ribossomos (RIPs). As RIPs são RNA N-glicosidases que removem uma simples base de um loop altamente conservado no 28S rRNA requerido para a união do fator de elongação 1 α (EF-1 α). Ensaio *in vitro* mostraram que os ribossomos de milho e trigo foram resistentes a b32 de milho, mas foram inibidos pela RIPgelonina de dicotiledôneas. Os autores observaram também atividade de RIP durante o desenvolvimento da semente e na germinação.

Não é bem conhecido a função biológica das RIPs, mas elas apresentam características de agentes de defesa constitutivos, acumulam em níveis elevados na semente e não tem efeito aparente sobre processos endógenos. Bass et al. (1992), sugere que no milho a síntese coordenada das RIPs e da zeína baixo o controle do O2 suprem as plântulas em crescimento de nutrientes e dão proteção contra a invasão de patógenos ao endosperma.

Gallusci et al. (1996), mostraram que o fator O2 regula também a expressão da enzima citoplasmática ortofosfato diquinase (cyPPDK) no endosperma de milho. O padrão de expressão do gene para enzima cyPPDK foi similar ao observado para o gene *lor-sdh*. A cyPPDK esta localizada principalmente nas células do endosperma em contato com a aleurona e em menor quantidade nas células do endosperma central. Dita localização é também a região de expressão ativa de genes da zeína e de O2 (VARAGONA et al., 1991; DOLFINI et al., 1992). Esta observação se correlaciona com a hipótese de controle transcricional do gene *lor-sdh* pelo fator O2 e reforça a idéia de um controle geral do metabolismo de aminoácidos e síntese de proteínas pelo O2.

Maddaloni et al. (1996), demonstrou que a proteína O2 pode ativar a expressão do gene repórter CAT (*cloranfenicol acetil transferase*) sob o controle do promotor *cyPPDK1*. A sequência de união de O2 no promotor *cyPPDK1* mostrou elevada homologia com o sítio de união de O2 no promotor do gene *b32* (LHOMER et al., 1991).

Em vista da informação armazenada, parece possível sugerir que O2 atuaria de modo a coordenar a expressão não apenas de certos genes da família α -zeína e *b32* ou mesmo *b70* associado ao acúmulo ordenado de polipeptídios da fração zeína nos corpúsculos protéicos (MOROCCO et al., 1991), mas também coordenando genes envolvidos na distribuição do carbono entre proteínas e amido. A enzima *cyPPDK* atuaria como fornecedor de fosfoenolpiruvato (PEP) para a conversão em aminoácidos durante o desenvolvimento da semente, de modo a manter a síntese de proteínas de reservas. O PEP é chave na interface entre o metabolismo do carbono e nitrogênio, e o composto comum nas vias de síntese dos aminoácidos aromáticos. Além disso, o PEP pode ser usado pela PEP-carboxilase para recapturar CO₂ durante o processo da respiração, gerando então oxalacetato, que em princípio pode sofrer transaminação para formar aspartato (ASP).

O papel específico de o2 regulando a expressão de genes da fração zeína foi demonstrado por Kodrzycki et al. (1989). Claramente foi observado que o2 afeta o início da transcrição da família de genes zeína-22kDa. Estes dados e a constatação de que O2 contem um domínio bZIP de união a DNA (HARTING et al., 1989; SCHMIDTH et al., 1990) sugerem que O2 regula a expressão da zeína pela interação direta com promotores de genes zeína.

Evidencia direta foi obtida por Schmidth et al. (1990), trabalhando com um peptídeo de O2, fragmento contendo apenas o motivo b-ZIP, observou que dito fragmento foi suficiente para unir-se a região promotora do gene zeína-22kDa. Entretanto, experimentos *in vitro* não observaram a união de O2 a fragmentos promotores dos genes da classe zeína-19kDa.

Outra prova consistente desta interação foi demonstrado que o defeito em um mutante o2-676 no domínio de união ao DNA, o códon para ARG do domínio básico foi mutado para uma LYS (AUKERMAN et al., 1991) impede a O2 reconhecer o sítio alvo de DNA. Existem apenas dois aminoácidos invariáveis em todas as proteínas desta classe; uma é a ARG e o outro uma ASN localizada também no domínio básico. A ASN foi hipotetizado prover flexibilidade a estrutura α -hélice do domínio básico o que permite a α -

hélice encaixar na cavidade maior de DNA no sitio alvo (VINSON et al., 1989). De fato, para O₂, a união ao DNA foi impedida quando substituída a ASN seja com ASP ou GLN (AUKERMAN et al., 1991).

2.1.13 Proteínas de reserva da semente de milho

Atualmente as proteínas de reserva da semente de milho estão sendo intensamente estudadas por bioquímicos, biólogos moleculares e geneticistas, na tentativa de melhorar a qualidade nutricional do grão. A atenção é devida primariamente à elevada proporção de zeína no conteúdo total de proteínas e o baixo conteúdo de LYS e TRP.

As proteínas das sementes de milho podem ser classificadas em grupos baseados na suas características de solubilidade, seguindo o protocolo descrito por Osborne (1924), e modificado por Landry e Moureaux (1970). Deste modo, podem ser fracionadas quatro classes principais de proteínas a partir do grão: albumina (solúvel em água), globulina (solúvel em soluções salinas), prolamina (solúveis em álcool) e glutelina (solúveis em álcali diluído).

A fração albumina e globulina representam aproximadamente 6% das proteínas totais, entretanto, glutelina respondem por 30-40% do total. A fração prolamina, conhecida tradicionalmente como zeína, é a mais abundante e pode representar 60% ou até mais do total de proteínas (MOTTO et al., 1996).

Na semente as frações zeína e glutelina se localizam quase que totalmente no endosperma, já a albumina e globulina embora distribuídas em todo o grão, estão estocadas principalmente no embrião e em baixas quantidades no endosperma.

A zeína é formada por uma mistura de proteínas hidrofóbicas que se caracterizam pela ausência de LYS e TRP na sua composição, níveis inadequados de THR e VAL, além de um balance insatisfatório entre LEU e ILE. Enquanto a fração albumina, globulina e glutelina apresentam proteínas contendo quantidades adequadas de aminoácidos essenciais, especialmente LYS e TRP. Em vista da qualidade de aminoácidos das frações protéicas elas geralmente são divididas na fração zeína e fração não-zeína.

A zeína apresenta uma seqüência de aminoácidos característica, diferente de outras prolaminas entre os cereais, como também diferente de outras proteínas do endosperma. Contem níveis baixos de PRO e GLN e níveis elevados de ALA e LEU. A sua principal função é prover nitrogênio durante a germinação e estágios primários do crescimento da

plântula, além de atuar como depósito de nitrogênio durante o desenvolvimento da semente (TSAI et al. 1978; 1980).

A fração não-zeína são consideradas proteínas estruturais e de função metabólica, primeiro pela sua ampla distribuição no grão, em segundo lugar pela sua composição de aminoácidos e mais recentemente a observação da albumina b32 pertencer a classe de proteínas RIPs (RNA N-glicosidases) (BASS et al. 1992).

A família zeína consiste de uma mistura de polipeptídios que podem ser identificados por SDS-PAGE, como 28kDa, 22kDa, 19kDa, 16kDa, 14kDa e 10kDa. Os polipeptídios foram divididos em classes: γ -zeína (27kDa), α -zeína (22kDa e 19kDa), β -zeína (16kDa e 14kDa) e δ -zeína (10kDa) (ESEN, 1990). As α -zeína representa a classe mais abundante 75-80% e são codificadas por famílias multigênicas (PARKS et al. 1980; MARKS et al. 1985); β -zeína constituem 10% e os polipeptídios são ricos em resíduos de MET (PEDERSEN et al. 1986); γ -zeína representa 10-15% (PRAT et al. 1987); a δ -zeína é a menor fração e esta representada apenas por um polipeptídio de 10kDa (KIRIHARA et al. 1988) com numerosos resíduos de MET e CYS na sua composição (ALTANBACH; SIMPSON, 1990).

As proteínas de reserva são sintetizadas em polirribossomos unidos a membrana do retículo endoplasmático rugoso (RER) durante o desenvolvimento do endosperma. Os polipeptídios da fração zeína são trans-locados dentro do lume do RER e empacotados em corpúsculos protéicos. No milho normal ocorre à deposição ordenada das diferentes classes zeína, formando uma estrutura esférica de 1 μ m de diâmetro contendo uma região central composta predominantemente de α -zeína e em menor proporção δ -zeína, e outra periférica de β -zeína e γ -zeína cobrindo a região central (LENDING; LARKINS, 1992). Entretanto, as proteínas das frações não-zeína percorreriam o sistema de endomembranas e seriam então depositadas em vacúolos em um padrão altamente ordenado (HERMAN; LARKINS, 1999).

A síntese de zeína no endosperma de milho inicia-se aproximadamente 10DAP, sendo detectáveis as α -zeína e δ -zeína dias antes a aparição das β -zeína e γ -zeína (KODRZYCKI et al. 1989). O acúmulo de mRNA e de polipeptídios da fração zeína alcançam um nível máximo entre 25-28DAP, após do qual as quantidades de zeína mRNAs diminui gradualmente (BROCHETTO-BRAGA et al., 1992).

Os genes que codificam para os polipeptídios da fração zeína foram localizados em clusters com certo grau de ligação nos cromossomos IV, VII e X de milho. Sete genes correspondentes a zeína 10kDa e 19kDa foram localizados no braço curto do cromossomo VII e ligados ao locus regulador *O2*. Outros nove genes, correspondentes a zeína 19kDa e 22kDa localizam-se no braço curto e longo do cromossomo IV, associados ao locus regulador *FL2*. Um terceiro locus correspondendo a zeína 22 kDa, esta no cromossomo X em associação ao locus regulador *O7*. Um gene para a zeína 15kDa foi observado no cromossomo VII, entretanto o gene para a zeína 10kDa foi localizado no braço curto do cromossomo VII (MOTTO et al., 1996).

A fração glutelina foi pouco estudada, em grande parte devido aos procedimentos tradicionais de extração de proteínas (OSBORNE, 1924) que não eram muito eficientes e portanto esta fração resultava de uma mistura de todas as outras frações (MOSSÉ et al. 1966). Mais recentemente o uso de agentes redutores e SDS facilitaram a extração desta fração e o seu estudo. Numerosas bandas foram observadas por focalização isoeletrica (WILSON et al. 1981).

A fração albumina apresenta um perfil complexo de numerosas bandas (PAULIS; WALL, 1985; DIERKS-VENTLING, 1982) esperado para proteínas com função de enzimas. A albumina esta presente desde os estágios primários do desenvolvimento da semente e seu acúmulo é crescente até metade do desenvolvimento, após seus níveis declinam no endosperma (DI FONZO et al., 1977), mas não apresenta mudanças no embrião (DIERKS-VENTLING, 1983). A diminuição nos níveis de albumina no endosperma corresponde com a perda de atividade de muitas enzimas. O declínio no endosperma deve-se a perda crescente de água durante os estágios posteriores do desenvolvimento do grão.

A fração globulina é rica em aminoácidos básicos e quando comparada à albumina resulta em menor heterogeneidade no diagrama electroforético. O acúmulo da globulina se inicia vários dias após a polinização. No endosperma incrementa regularmente (DIERKS-VENTLING, 1982), enquanto aquela localizada no embrião aumenta até metade do desenvolvimento do grão para depois começar a diminuir (DIERKS-VENTLING, 1983). O nível máximo de globulina coincide com a maturidade da semente.

2.1.14 Mutantes de milho

Várias mutações nos genes de endospermas de milho foram observadas alterando a síntese de proteínas de reservas da semente (MERTZ et al., 1964).

Os genes mutantes mais importantes para melhorar a qualidade das proteínas de milho são *opaco2* (MERTZ et al., 1964) e *floury2* (NELSON et al., 1965).

O gene *o2* afeta um locus do cromossomo VII que controla a transcrição de gene que codificam para proteínas de reserva nas sementes de milho (KODRZYCKI et al., 1989) e é segregado mendelianamente como um simples gene recessivo. Entretanto o gene *fl2* é semidominante e localizado no cromossomo IV (KODRZYCKI et al., 1989).

Embora, *o2* altere favoravelmente o espectro de aminoácidos nos grãos de milho comparado ao milho normal, ele apresenta várias deficiências que limitam seu uso comercial. No referente à produção de grãos *o2* apresenta queda da produção, correlacionado com uma diminuição no peso de 10% a 15%. Os teores de umidade relativa são maiores o que implica na necessidade de secagem adicional após a colheita. Os grãos são farináceos de tonalidade cinza e aparência opaca o que contrasta com a semente brilhante e transparente do milho flint ou dent. Consequentemente, as sementes *o2* são mais susceptíveis a infecção por *Sitophilus oryzae* (perda de peso do grão), *Cephalosporium acremonium* e *Fusarium moniliforme* (podridão da semente). Para outras características da planta a informação disponível não sugere qualquer relação significativa do gene *o2* no referente a mudanças na longitude da espiga, diâmetro da espiga, número de linhas de grão por espiga e número de grãos por linha da espiga (SINGH; ASNANI, 1975).

É preciso ressaltar que a avaliação das características entre o milho selvagem e mutante, deve ser visada no contexto do background genético dos materiais e procedimentos usados no desenvolvimento das variedades mutantes de milho, seja *opaco* ou *floury*.

Através da microscopia eletrônica foi observado diferenças nos componentes intracelulares no endosperma do milho selvagem e *o2*. Normalmente existe um malhado constituído de glutelina é imerso nesta matriz numerosos corpúsculos protéicos, esféricos com aproximadamente 1µm de diâmetro, constituídos de zeína (LENDING; LARKINS, 1992). Em contraste, em *o2* são muito pequenos e sempre cobertos pela grande quantidade de glutelina (WALL; PAULIS, 1975).

Mertz et al. (1964), foi o primeiro a determinar que *o2* produz uma mudança na proporção de proteínas no endosperma, melhorando a qualidade nutricional da semente. Isto resultou na diminuição nas quantidades de zeína com aumento proporcional da fração não-zeína. Foi constatada que a maior fração foi a glutelina. O aumento nas quantidades de LYS foi atribuído ao aumento da fração glutelina.

Sodek e Wilson (1971) trabalhando com sementes de milho e R802*fl2*, observaram aumento da fração não-zeína. O gene *o2* provocou pouca variação nas quantidades de glutelina, enquanto *fl2* causou incremento de glutelina, mas teve pouco efeito nas quantidades de zeína. A composição de aminoácidos das proteínas em *o2* e *fl2* revelou quantidades maiores de LYS na fração glutelina. Em R802*fl2* registrou 5,5% de LYS, entretanto o *o2* quantidades similares ao controle (4,7% de LYS).

Misra et al. (1975), analisaram a composição de aminoácidos em Oh43*o2*, *fl2* e duplo mutante *o2/fl2*. A análise revelou níveis maiores de LYS nos mutantes. No endosperma *o2* os níveis de LYS aumentaram 2-vezes. O efeito do gene *fl2* mostrou mudanças nos níveis de aminoácidos na mesma direção como os observados em *o2*, mas o efeito foi menor. O duplo mutante *o2/fl2* foi similar a *fl2* para os níveis de LYS.

Outras análises, realizadas em W22*o7* e *o2/o7* por Misra et al. (1975) determinaram que *o7* apresentou níveis maiores de LYS do que Oh43*o2*. O duplo mutante *o2/o7* não mostrou efeito aditivo para as quantidades de LYS. Os resultados sugerem que *o7* e *fl2* não produzem um efeito aditivo sobre os níveis de LYS quando combinados com *o2*; embora os mutantes apresentassem aumento nas quantidades de albumina, globulina e glutelina com redução da zeína. A análise de aminoácidos das frações revelou níveis maiores de LYS em albumina, globulina e glutelina, mas quantidades baixas na fração zeína. A composição de aminoácidos destas frações protéicas foi similar entre genótipos, sugerindo que as mutações foram responsáveis pelas mudanças nas proporções das diferentes frações.

Di Fonzo et al. (1980), estudando a interação entre os genes mutantes *o2* e *fl2*, e entre *o2* e *o7* no milho W64A e W22, respectivamente. Os resultados indicaram que três doses do alelo recessivo *o2*, inibem a ação de *fl2* e persiste o fenótipo de *o2* para as quantidades de zeína. Quando avaliados *o2* e *o7* foi observado que estes alelos em condição homozigota reduzem as quantidades de zeína com um leve incremento de albumina, globulina e glutelina. Porém, no duplo mutante *o2o7*, há redução aditiva da síntese de zeína. Assim, *o2* é aparentemente epistático sobre *fl2* no controle da síntese de zeína, entretanto junto à *o7* pareceriam atuar independentemente.

Habben et al. (1993) observou em W64A*o2*, 490ug de LYS comparada com 350ug do W64A. Mediante análise de SDS-PAGE de proteínas do endosperma indicaram que várias proteínas dentro da fração não-zeína foram mais abundantes no mutante do que no genótipo normal.

Yau et al. (1999), trabalhando com o2 de milho T224, MO17 e B73 observaram níveis maiores de LYS, aumento nas quantidades de albumina, globulina, glutelina e redução da zeína. Exceto quando comparados B73 e B73o2, com quantidades similares.

Outra mutação recessiva, denominada o5 foi observada produzindo redução específica da classe zeína 20kDa (MOTTO et al., 1996).

Plotnikov e Bakaldina (1996) observaram que nos grão o2 há redução do conteúdo de zeína mRNA, sendo de 15% para 19kDa e 90% para 22kDa; comparado com o genótipo normal. Paralelamente, houve aumento de 60-70% da atividade RNase no grão o2. Aparentemente, a estabilidade diferencial dos mRNAs representam um fator importante na modulação pós-transcricional da expressão de genes que codificam para a fração zeína durante o desenvolvimento da semente de milho.

Outras proteínas são também afetadas pela mutação o2, por exemplo, a atividade ribonuclease é 2-vezes a 6-vezes maiores no endosperma mutante, além da falta de uma albumina de 32kDa (b32) que foi observado seguir um padrão de acúmulo coordenado com o acúmulo de zeína no endosperma normal (SOAVE et al., 1981). A mutação o2 também afeta o catabolismo da LYS, causando uma diminuição na degradação de LYS no endosperma (SODEK; WILSON, 1970; BROCHETTO-BRAGA et al., 1992).

Damerval e Guilloux (1998) analisaram o efeito da mutação o2 na expressão de proteínas durante o desenvolvimento das sementes de milho W64A, F2, F7, W22, B37 e OH43 e observaram proteínas com redução no nível de expressão, como a acetohidroxiácido sintase (AHAS) que catalisa o primeiro passo na biossíntese de aminoácidos derivados da THR e a enzima ortofosfato diquinase localizada no citoplasma (cyPPDK). Com níveis elevados de expressão foram identificadas a aspartato proteínases, que participa na degradação das proteínas de reserva durante o início da germinação; duas isoformas de gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, envolvidas na glicólise no citoplasma; UDP-glucuronosil transferase (UDPGT) que catalisa a degradação de metabólitos tóxicos produzidos durante os processos de amadurecimento das sementes; e sorbitol desidrogenase responsável pela conversão de frutose em sorbitol que em princípio pode ser convertida à glicose pela enzima aldosa redutase.

O mutante *fl2* parece atuar por um mecanismo diferente de aquele do mutante o2, este gene afeta cada grupo de zeína de modo equivalente e o efeito é altamente dependente da doses gênica (DI FONZO et al., 1980).

Em contraste a estrutura esférica e ordenada do corpúsculo protéico observado no milho normal, no mutante *fl2* os corpúsculos são irregulares e os polipeptídios da fração zeína estão desorganizados (LENDING; LARKINS, 1992).

Outras características da mutação é a presença de quantidades reduzidas de polissomos unidos a membranas (JONES, 1978) e de zeína mRNA (BURR; BURR, 1982), quando comparados ao endosperma normal.

Uma associação foi observada entre o mutante *fl2* e a elevada produção de uma proteína solúvel b70 (BOSTON et al., 1991) que se apresenta em duas isoformas b70I e b70II (MOROCCO et al., 1991). Ambas apresentam níveis de expressão 10-vezes maiores em *fl2*. A b70 esta associada com os corpúsculos protéicos e a membrana do RER. Embora, a função biológica desta proteína é desconhecida é similar à proteína HSP70 (*heat shock protein*). Foi também purificada uma proteína b70III, similar em tamanho, mas levemente mais acídica (MOROCCO et al., 1991). As características das b70 associadas aos corpúsculos protéicos são típicas das chaperonas HSPs e provem evidência para a presença no endosperma de uma proteína chaperona localizada no citoplasma. Os níveis da proteína b70III não foram alterados pelo gene *fl2*, por tanto o efeito da mutação *fl2* de reprimir o acúmulo de zeína poderia ser devido a alterações no transporte dos polipeptídios para o lúmen do RER ou durante o processo de ensablado dos polipeptídios para a formação dos corpúsculos protéicos, envolvendo a ação da b70I e b70II (MOROCCO et al., 1991). Recentemente, Coleman et al. (1995), informaram que o gene codificando para um membro de 24kDa da família de genes α -zeína 22kDa de milho apresentava na sequência N-terminal a substituição de ALA por VAL no peptídeo sinal, e na sétima estruturas α -hélice a substituição de ALA par THR, além da inserção de HIS da proteína. Os defeitos estruturais associados a esta α -zeína explicariam muito dos efeitos fenotípicos da mutação *fl2*.

Li e Larkin (1996) determinaram que a proteína dissulfeto isomerase (PDI) do milho é codificada por um simples gene localizado no braço curto do cromossomo IV. Estas proteínas estão associadas às cisternas e corpúsculos do RE. Durante o desenvolvimento do endosperma, os níveis de PDI mRNA aumentaram entre 10-14DAP. Foi observado que no mutante *fl2* houve aumento na expressão de PDI, existindo uma correlação positiva entre os níveis de mRNAs e proteínas com a dosagem de alelos *fl2*. O aumento de PDI é observado no RE, paralelamente a um aumento das proteínas BiP associadas a PDI,

ambas estão ligadas aos corpúsculos protéicos do RE. As BiPs são membros da família de chaperonas HSP70 e controlariam a oligomerização e conformação espacial das proteínas no lúmen do RE, removendo também aquelas proteínas que não estiverem na conformação espacial adequada. Ainda, a indução da PDI no mutante *f12* reflete o seu papel funcional como chaperona e atuaria em conjunto com as proteínas BiPs durante os diferentes estágios do processamento das proteínas da fração zeína para a construção dos corpúsculos protéicos.

Recentemente foram seqüenciados os 23 membros da família de genes α -zeína 22kDa de milho e observado que 22 destes membros estão ordenados em tandem no cromossomo 4S formando um cluster denso de genes. A cópia 23 desta família de genes esta também localizada neste cromossomo a 20cM de proximidade do centrômero e parece corresponder ao alelo normal da mutação *f12*. (SONG et al., 2001).

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Material Vegetal

Foram utilizadas sementes de milho, *Zea mays* ($2n=2x=20$), dos mutantes opacos e flourey.

As sementes foram cedidas pelo Maize Genetics COOP Stock Center (Urbana, Illinois-USA). Ditos mutantes foram introgrididos em background genéticos diferentes constituindo linhas altamente homozigotas.

Os genótipos selvagens usados como controle das linhas mutantes foram Oh43+, W22+, B37+, e B7977+ [B79xB77].

Os mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2*, foram introgrididos no genótipo Oh43+; os mutantes *o10*, *o11* e *o13* no genótipo W22+; o mutante *o7* no genótipo B37+; e o mutante *o5* no genótipo B7977+.

As plantas foram cultivadas em casa-de-vegetação, durante o verão de 2002 a 2003 no Departamento de Genética da ESALQ-USP. Cada genótipo foi semeado em 10 vasos contendo cada vaso duas plantas seguindo um delineamento inteiramente ao acaso.

Adubadas antes do florescimento com 1g/planta de $K(NO_3)$ e $NH_4(SO_4)$, aplicando na raiz cada 15 dias. Posteriormente as plantas passaram a ser adubadas com fertilizante foliar (Green-Top, Nutriplant) contendo NPK e micronutrientes em igual intervalo de tempo.

Para obter as sementes, as plantas de milho foram auto-fecundadas, as sementes coletadas e estocadas em câmara adequada para posteriores análises.

Prévio a preparação das amostras para análise, as sementes foram separadas em dois grupos. O primeiro grupo consistiu de sementes inteiras, e as sementes do segundo grupo foram utilizadas para isolar o endosperma e o embrião.

Para a separação de ambos os tecidos, as sementes foram imersas em água a temperatura ambiente por 20 minutos com agitação leve, posteriormente removida a cobertura externa da semente e separado o endosperma do embrião.

Cada material de estudo foi composto de três repetições de 30 sementes cada. Posteriormente foi moído até obter uma farinha fina em presença de nitrogênio líquido e armazenado em freezer $-80^{\circ}C$.

2.2.2 Transmitância do infravermelho-próximo

As sementes de milho foram analisadas por transmitância de infravermelho-próximo através do analisador de sementes *Infratec 1255 Food and Feed Analyser*. A medida deste aparelho é baseada no fato que os principais constituintes do grão, tais como proteínas e outros compostos, absorvem radiação magnética na região infravermelho-próximo (*near-infrared region*) do espectro (800 – 1100 nm). Através de análise não destrutiva, este instrumento fornece a porcentagem de proteínas, óleo, lisina e metionina a partir de uma média de leitura de 23 sementes.

Foram feitas análise para cada semente mutante e comparada ao controle. Foram realizadas três repetições para cada genótipo.

A análise pelo infravermelho foi realizada apenas para conhecer as características gerais dos genótipos avaliados através dos caracteres agronômicos citados.

2.2.3 Extração de aminoácidos solúveis

A extração de aminoácidos foi a partir de 0,2g de farinha de semente ou endosperma de acordo com BIELESKY; TURNER (1966).

Foi utilizada MCW, uma solução contendo 12mL de metanol, 5mL de clorofórmio e 3mL de água destilada. A cada amostra foi adicionado 4mL da solução.

Agitou-se vigorosamente e centrifugou-se a 2500 rpm, 30 min a 4°C.

Recuperou-se o sobrenadante e misturou-se com 1mL de clorofórmio e 1,5mL de água destilada.

Agitou-se vigorosamente e centrifugou-se a 2500 rpm por 30 min.

Recuperou-se o sobrenadante e determinou-se as quantidades de aminoácidos solúveis.

A partir de cada amostra foi retirada uma alíquota para diluição em água milli-Q ajustando um volume final de 1mL. À esta solução foi acrescentado 500µL de tampão citrato 0,2M (pH 5), uma solução de 0,2mL de ninidrina 5% e 1mL de 0,0002M de KCN. Posteriormente, as amostras foram aquecidas em banho-maria por 30 min e resfriadas por 10 minutos para finalmente acrescentar 1mL de etanol 60%.

As quantidades de aminoácidos foram ajustadas a 500 nmol/ml para serem utilizados no HPLC.

A leitura dos aminoácidos foi realizada pela absorbância da solução em 570 nm, sendo o teor de aminoácidos de cada fração protéica calculado utilizando-se a curva-padrão obtida com leucina.

2.2.4 Extração de proteínas de reserva

As frações protéicas foram extraídas de maneira seqüencial de acordo com LANDRY et al., (2000), com pequenas modificações.

Foram utilizados 0,2mg de farinha liofilizada previamente pré-tratada 15 min com 1mL de hexano para remover lipídios.

Para a extração da fração globulinas foi utilizada 2mL de uma solução 0,5M de NaCl por 30 min a 4°C com agitação periódica. Posteriormente centrifugado a 14000 rpm por 5 min e o sobrenadante foi armazenado em alíquotas a -70°C para posterior análise.

A fração albumina foi extraída submetendo-se o pellet à nova extração com 1,5mL de água milli-Q por 15 min a 4°C com agitação periódica. Após a centrifugação a 14000 rpm por 5 min, o sobrenadante foi alíquotado e mantido a -70°C para análise posterior.

A fração zeína1 foi obtida pelo tratamento do pellet com 2mL de uma solução de 55% de isopropanol e 0,2% de DTT por 30 min a temperatura ambiente com agitação periódica. Após a centrifugação a 14000 rpm por 5 min, o sobrenadante foi alíquotado e mantido a -70°C para análise posterior.

A fração zeína2 foi extraída pela adição ao pellet de uma solução de 0,5M de NaCl pH 10 e 0,2% de DTT por 15 min a temperatura ambiente com agitação periódica. Após a centrifugação a 14000 rpm por 5 min, o sobrenadante obtido foi alíquotado e mantido a -70°C para análise posterior.

A fração glutelina foi obtida submetendo-se o pellet a uma solução de SDS 0.5% (p/v), pH 10 e 0,2% DTT por 30 min a temperatura ambiente. Após a centrifugação a 14000 rpm por 5 min, o sobrenadante foi armazenado a -70°C para análise posterior.

Após cada extração foi adicionado às alíquotas, contendo as proteínas, 0,1% de PMSF para prevenir a ação de proteases.

2.2.5 Determinação de proteínas

Para a quantificação de proteínas foi utilizado o método de BRADFORD (1976) utilizando BSA como padrão de curva de calibração.

Isto permitiu determinar a concentração média de proteína por grão para cada genótipo e controlar a concentração das mesmas para aplicação nos géis.

Uma solução na concentração de 1mg/mL de BSA foi preparada para leitura em espectrofotômetro a 595nm.

As concentrações de BSA seguem uma ordem crescente de: 0,1mg/mL (100µL BSA + 900µL de água deionizada) até 1mg/mL (1000µL BSA + 0µL de água deionizada).

Para SDS-PAGE a concentração de proteínas foi ajustada a 50 µg/mL, entretanto para 2D-PAGE foi de 50 µg/mL.

2.2.6 Electroforese em gel de poliacrilamida-dodecil sulfato de sódio

O procedimento foi conduzido como descrito por Laemmli (1970). Após a extração das proteínas, amostras com concentrações conhecidas de cada fração serão aplicadas aos géis de SDS. Os géis foram elaborados com gradiente de acrilamida de 8-18%.

Foi utilizada uma concentração de 30% de acrilamida, 10% de dodecil sulfato de sódio (SDS), 1,5M de Tris (running gel buffer), 10% de persulfato de amônio (APS), 20µL de Temed e completado com água Milli-Q para um volume de 60mL para prepara dois géis.

Posterior a polimerização do gel SDS-PAGE 8-18%, foi adicionado à solução do gel de empacotamento (stacking gel) formada por 30% de acrilamida, 0,5M de Tris – HCl pH 6,8, 10% de SDS, 30µL de Temed e completanto com água para um volume final de 40mL para prepara dois géis.

Marcadores de peso molecular contendo α -lactoalbumina (14,20kDa), tripsinogênio (24kDa), anidrase carbonica (29kDa), gliceraldeido 3-fosfato desidrogenase (36kDa), ovoalbumina (45kDa) e BSA (66kDa), foram aplicados em cada gel para determinar a massa molecular das proteínas de milho. O padrão molecular BenchMarker da Invitrogen foi utilizado.

A eletroforese foi conduzida a 40Vh por 5h e posteriormente aumentado para 100Vh por 12h a uma temperatura de 10°C em tampão de corrida contendo 0,3% de tris base, 1,44% de GLY e 0,1% de SDS.

Os géis foram corados com uma solução de nitrato de prata, conforme Blum et al. (1987). Posteriormente, foram documentados e avaliados pelo programa Melanie versão 3 (GeneBio).

2.2.7 Extração de aminoácidos das frações protéicas

Cada fração protéica foi submetida à digestão ácida com uma solução 6N HCl a uma temperatura de 105°C pelo período de 22 h para promover a ruptura das uniões peptídicas e consequentemente a liberação dos aminoácidos.

A quantidade de HCL foi determinada considerando que para 10mg de proteína corresponde 4mL de HCL.

A partir de cada amostra foi retirada uma alíquota para diluição em água milli-Q ajustando um volume final de 1mL. À esta solução foi acrescentado 500µL de tampão citrato 0,2M (pH 5), uma solução de 0,2mL de 5% de ninidrina e 1mL de 0,0002M de KCN. Posteriormente, as amostras foram aquecidas a banho-maria por 30 min e resfriadas por 10 min para finalmente acrescentar 1mL de etanol 60%.

Após determinada às quantidades de aminoácidos foi ajustado a uma concentração de 500nmol/mL para serem utilizados

A leitura dos aminoácidos foi realizada pela absorbância da solução em 570 nm, sendo o teor de aminoácidos de cada fração protéica calculado utilizando-se a curva-padrão obtida com leucina.

2.2.8 Identificação de aminoácidos das frações protéicas

Os aminoácidos foram analisados pelo HPLC de fase reversa. Foi utilizada uma coluna Spherisorb ODS-2 C18 e a eluição foi feita em um gradiente linear formado pelas soluções de metanol 65% e tampão fosfato pH 7,5 (50mM de acetato de sódio, 50mM de fosfato disódico, 1,5mL de ácido acético, 20mL de tetraidrofuram, 20mL de metanol) num fluxo de 0,8mL/min.

O gradiente foi ajustado para incrementar a proporção de metanol de 20% a 28% entre 0 min a 5 min, de 28% a 58% entre 5 min a 35 min, de 58% a 75% entre 35 min a 40 min, 75% a 95% entre 40 min a 56 min, 95% a 96% entre 56 min a 60 min e 96% a 100% entre 60 min a 64 min.

O fluído da coluna foi monitorado por um detector fluorescente Shimadzu (model RF350) operando com um comprimento de onda de excitação de 250nm e um comprimento de onda de emissão de 480nm. Para a derivatização dos aminoácidos foram misturados: 10µL de aminoácidos com 30µL do reagente OPA. Após 2 min foi aplicado 10µL da solução no HPLC.

O padrão de aminoácidos no HPLC foi calibrado para uma concentração de cada aminoácido de 120nmol/mL. Foi considerada a média de três leituras por aminoácido para determinar o tempo de retenção de cada espécie de aminoácido.

Neste protocolo não foi possível identificar PRO por não formar um derivado com OPA.

Os aminoácidos identificados foram: ASP, GLU, ASN, SER, GLN, HIS, GLY, THR, ARG, ALA, TYR, MET, VAL, PHE, ILE, LEU e LYS.

2.2.9 Determinação de lisina nas frações protéicas

A LYS é um aminoácido essencial na alimentação humana e de animais ruminantes, mas apresenta-se em quantidades limitadas nos cereais, especialmente no milho. A sua determinação de modo prático e rápido é de suma importância.

Na quantificação dos aminoácidos pelo HPLC o complexo formado OPA-aminoácido resulta numa união que se torna instável, principalmente com a LYS, com o decorrer do tempo.

Portanto, nas análises anteriores considerando-se o tempo de separação dos aminoácidos em 64 min, poderíamos estar subestimando as quantidades de LYS presentes nas proteínas da semente de milho, lembrando que é a última espécie a ser identificada pelo HPLC.

Em razão disto, utilizamos um protocolo que permite apenas a identificação do pico da LYS no cromatograma a partir de uma mistura de aminoácidos em aproximadamente 20 min de corrida.

Do mesmo modo que citado acima, foi utilizada uma coluna Spherisorb ODS-2 C18 e a eluição foi feita em um gradiente linear formado pelas soluções de metanol 65% e tampão fosfato pH 7,5 (50mM de acetato de sódio, 50mM de fosfato disódico, 1,5mL de ácido acético, 20mL de tetraidrofuram, 20mL de metanol) num fluxo de 0,8mL/min.

O gradiente foi ajustado para incrementar a proporção de metanol de 75% a 100% entre 0 min e 20 min, sendo que o pico da LYS aparece com um tempo de retenção próximo a 20 min.

O fluído da coluna foi monitorado por um detector fluorescente Shimadzu (model RF350) operando com um comprimento de onda de excitação de 250nm e um comprimento de onda de emissão de 480nm.

Para a derivatização da LYS foi misturado: 10 μ L da amostra com 30 μ L do reagente OPA. Após 2 min foi aplicado 10 μ L da solução no HPLC.

O padrão de aminoácidos no HPLC foi calibrado para uma concentração de LYS de 120nmol/mL. Foi considerada a média de três leituras.

2.2.10 Electroforese bi-dimensional

O procedimento para a eletroforese bi-dimensional (IEF e 2D-PAGE) foi conduzido conforme protocolo de BELLATO et al (2004).

Para a separação das proteínas na primeira dimensão, considerando a carga elétrica, foram utilizadas fitas Immobiline DryStrip Gel 130 x 3 x 0,5 mm de gradiente não linear de pH 3-10 da Amersham Pharmacia Biotech UK.

Para a separação das proteínas na segunda dimensão pelos seus pesos moleculares em SDS-PAGE, os mesmos foram montados em cubas electroforéticas Protean-II xi (BioRad) para géis grandes de 20 cm x 20 cm.

2.2.10.1 Primeira dimensão: Focalização isoeletrica

Após a extração das proteínas, amostras com uma concentrações de 50ug/mL de cada fração foram preparadas para a eletroforese isoeletrica (IEF) na faixa de pH3-10NL (gradiente não linear de pH).

Para as frações albumina e globulina, as soluções utilizadas foram: 9M uréia, 70 mM DTT, 6% Chaps, 0,8% de IPG buffer e 0,5% azul de bromofenol. Para a fração glutelina foi utilizado 75 mM DTT.

As condições para a focalização foram: 20°C/50 μ A/fita com período de rehidratação de 8 h, seguido de S1: 30 V-6 h; S2: 150 V-1 h; S3: 350 V-1 h; S4: 500 V-1 h; S5: 1000 V-1 h; S6: 3000 V-1 h, e S7: 5000 V- 10 h até atingir 55 kVh para glutelina, 57 kVh para albumina e 60 kVh para globulina.

Marcadores de peso molecular utilizados foram BenchMarker da Invitrogen. A solução foi formada pela mistura de 20 μ L de Bench Marker Invitrogen e 35 μ L de 1X SDS tampão da amostra. Não ferver e armazenar a -20°C. Adicionar 5 μ L da solução por gel grande.

2.2.10.2 Equilíbrio das fitas da primeira dimensão

Após a separação das proteínas pelo seu ponto isoelétrico, as fitas foram submetidas a uma solução de equilíbrio prévio a serem colocadas para separação na segunda dimensão.

Solução de Equilíbrio 1: (3mL/fita): 50mM Tris-HCl pH8.4, 6M uréia, 30% glicerol, 2% SDS e 2% DTT a temperatura ambiente durante 12 min.

Solução de Equilíbrio 2: (3L/fita): 50mM Tris-HCl pH8,4, 6M Uréia, 30% Glicerol, 2% SDS, 2,5% iodoacetamida e 700µL de 0,5% BPB a temperatura ambiente durante 10 min.

Uma vez equilibrada a fita foi colocado no extremo superior do SDS-PAGE e posteriormente seladas com 0,5% de agarose.

2.2.10.3 Segunda dimensão: SDS-PAGE

A segunda dimensão foi realizada em gel de 8-18% SDS-PAGE para a fração albumina e globulina e 8-16% para a fração glutelina.

A eletroforese foi conduzida a 40Vh por 5 h e posteriormente aumentado para 100Vh por 12 h a uma temperatura de 10°C em tampão de corrida contendo 0,3% de tris base, 1,44% de GLY e 0,1% de SDS.

2.2.10.4 Coloração

A coloração dos géis foi realizada com uma solução de nitrato de prata conforme protocolo de BELLATO et al (2004).

Lavou-se os géis com água milli-Q.

Incuba-se a noite toda em uma solução 50% de metanol e 10% de ácido acético.

Posteriormente transferiu-se e Incubouse em 30% de etanol por 15 min.

Adicionou-se 1,6 mL tiossulfato 5% por 1,5 min.

Seguidamente, lavou-se com água milli-Q.

Foi adicionado 1,2 g de nitrato de prata em 600 mL de água milli-Q por 25 min.

Seguidamente foi lavado com água milli-Q.

Após a lavagem foi adicionado 400 mL de solução reveladora (24 g de carbonato de sódio; 8 mL tiossulfato 5%; 0,2 mL de formaldeído 37%).

Retirou-se a solução reveladora.

Foi adicionado 400 mL de 10% de ácido acético por 10 min.

Lavou-se novamente com água milli-Q.

Finalmente os géis foram armazenados em 15% de metanol.

2.2.10.5 Fotodocumentação e análise dos géis

Todos os géis de 2D-PAGE foram escaneados utilizando o Digital Imaging System da BioRad no CENA-USP e o da Amersham Biosciences GE no Laboratório de Genética Bioquímica de Plantas do Departamento de Genética da ESALQ-USP.

Posteriormente, os géis foram mantidos empacotados em saco plástico numa solução de 1mL de 50% glicerol e 15% metanol.

A análise dos dados foram obtidas através do programa Melanie-3 (GeneBio) e Image Master Platinum (Amersham Pharmacia Biotech), e representam aqueles spots dos genótipos mutantes que tiveram expressão diferencial quando comparados a expressão dos spots do genótipo Oh43+.

A expressão foi considerada diferencial quando o spot é novo (quando não houve expressão do respectivo no perfil do Oh43+) ou apresentou um volume 1,5 vezes maior que o respectivo do perfil do Oh43+ conforme o estudo realizado por WILKINS et al. (2001).

A área, densidade e volume de cada 'spot' protéico de cada perfil foram analisados. A intensidade dos 'spots' (volume), ou seja, a densidade ótica do 'spot', foi normalizado como a porcentagem do volume total do 'spot' e utilizado para quantificar os 'spots' protéicos dos géis corridos e processados em paralelo para cada genótipo.

2.2.11 Análise estatística

Os dados derivados da determinação de aminoácidos foram analisados pelo procedimento de análise de variância e as médias comparadas utilizando-se as diferenças mínimas significativas através do teste de Dunnett para os níveis de probabilidade de 5%. Isto permite uma comparação direta entre o genótipo controle e seus mutantes respectivos. O experimento foi realizado seguindo um delineamento inteiramente casualizado em casa de vegetação com três repetições por genótipo.

2.3 Resultados

2.3.1 Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha

Com o intuito de determinar as variações na quantidade de LYS e MET nas sementes, como também outros caracteres de interesse agrônômico, óleo e proteínas, entre as regiões proximais, media e distal de espigas de milho, as sementes dos diferentes genótipos foram submetidas às análises por luz infravermelha. Deve-se aclarar que os valores são representados como percentual e o peso das sementes foi calculado por separado.

Como observado na Tabela 2 A, entre as regiões da espiga não foram observadas variações para quantidade de LYS, MET, proteína e óleo nas sementes dos genótipos avaliados. Quando comparados os mutantes e controles foi observado variações maiores para a quantidade de óleo.

Os mutantes de OH43+ apresentaram as quantidades mais baixas de óleo, sendo que *fl2* registrou uma redução de 5-vezes. Os mutantes W22+ apresentaram quantidades maiores (exceto *o10*), destacando-se *o11* por apresentar aumento próximo a 3-vezes. O mutante *o7* e *o5* apresentaram valores próximos a B37+ e B7977+, respectivamente.

Nos mutantes de Oh43+, as quantidades de MET e LYS registraram poucas variações, sendo que *o2* apresentou os valores máximos de LYS. No grupo W22+ foram registradas as maiores variações no conteúdo de LYS e MET, com quantidades maiores em *o11* e *o13*.

Para o conteúdo de proteínas, os genótipos controles apresentaram as maiores quantidades, com apenas duas exceções, *o1* com valores similares a Oh43+ e *o11* com quantidades superiores a W22+.

Para peso das sementes foram constatadas variações entre as regiões da espiga, entretanto a região distal teve a tendência de concentrar as sementes com os pesos mais baixos, mas houve algumas exceções. Contudo, as sementes dos controles apresentaram os pesos mais elevados, exceto para *o5*.

Tabela 2 A - Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha (%) e peso da semente (g) para diferentes regiões da espiga

Genótipo	Região	Oleo*	Lys*	Met*	Proteína*	Peso **
Oh43+	Distal	5,08	0,25	0,08	8,91	5,20
	Media	7,48	0,25	0,08	8,62	4,61
	Proximal	6,66	0,26	0,09	8,20	5,44
o1	Distal	3,68	0,26	0,07	7,83	5,70
	Media	3,45	0,26	0,09	8,62	5,27
	Proximal	3,58	0,26	0,08	8,04	5,38
o2	Distal	2,30	0,29	0,07	7,18	3,82
	Media	1,86	0,28	0,09	7,13	4,09
	Proximal	2,73	0,31	0,10	7,47	3,75
fl1	Distal	3,67	0,22	0,07	7,52	4,35
	Media	3,64	0,22	0,07	7,26	5,42
	Proximal	4,10	0,20	0,08	7,68	3,75
fl2	Distal	0,90	0,19	0,06	6,57	4,91
	Media	0,91	0,25	0,07	6,36	4,70
	Proximal	1,23	0,23	0,08	6,71	4,50
W22+	Distal	5,14	0,22	0,07	7,96	5,57
	Media	5,44	0,22	0,07	7,44	5,62
	Proximal	5,86	0,25	0,07	7,54	6,09
o10	Distal	3,50	0,29	0,10	7,41	1,89
	Media	3,49	0,22	0,08	6,94	2,68
	Proximal	3,25	0,22	0,08	6,28	2,03
o11	Distal	14,69	0,59	0,13	9,90	2,37
	Media	12,99	0,55	0,10	8,93	3,07
	Proximal	12,32	0,43	0,10	7,98	3,13
o13	Distal	7,93	0,35	0,09	8,13	5,52
	Media	6,45	0,30	0,08	7,61	5,42
	Proximal	7,86	0,35	0,08	7,59	7,59
B37+	Distal	1,98	0,33	0,07	8,62	5,44
	Media	1,30	0,30	0,07	8,13	5,26
	Proximal	1,41	0,28	0,07	7,98	6,09
o7	Distal	2,92	0,27	0,07	6,91	3,33
	Media	2,45	0,29	0,06	6,01	3,87
	Proximal	2,11	0,28	0,06	5,98	4,38
B7977+	Distal	5,84	0,22	0,06	7,01	4,61
	Media	4,29	0,24	0,06	6,28	5,43
	Proximal	4,60	0,26	0,06	6,44	5,12
o5	Distal	3,67	0,24	0,07	7,88	6,72
	Media	3,80	0,24	0,09	6,90	7,00
	Proximal	3,41	0,24	0,06	6,56	7,95

*Valor médio de três repetições, cada repetição composta de 23 sementes.

**Peso em gramas das sementes analisadas por separado.

Tabela 2 B - Caracterização de sementes de milho por luz infravermelha (%) e peso da semente (g). Valores médios considerando as regiões distal, mediana e proximal da espiga

Genótipos	Oleo*	CV%	LYS*	CV%	MET	CV%	Proteína*	CV%	Peso**	CV%
Oh43+	6,41	19,04	0,25	2,29	0,08	5,67	8,58	3,40	5,08	6,86
o1	3,57	3,23	0,26	0,00	0,08	10,25	8,16	4,09	5,45	3,35
o2	2,30	18,94	0,29	5,22	0,09	14,37	7,26	2,06	3,89	3,77
fl1	3,80	6,77	0,21	5,40	0,07	6,44	7,49	2,31	4,51	15,33
fl2	1,01	18,52	0,22	13,72	0,07	11,71	6,55	2,20	4,70	3,56
W22+	5,48	6,60	0,23	7,52	0,07	0,00	7,65	2,95	5,76	4,07
o10	3,41	4,15	0,24	16,63	0,11	13,64	6,88	6,74	2,20	15,65
o11	13,33	9,16	0,52	15,93	0,11	12,82	8,94	8,77	2,86	12,08
o13	7,41	11,26	0,33	8,68	0,08	5,66	7,78	3,21	6,18	16,19
B37+	1,56	23,35	0,30	8,32	0,07	0,00	8,24	3,32	5,60	6,37
o7	2,49	16,31	0,28	3,57	0,06	7,46	6,30	6,85	6,30	6,80
B7977+	4,91	16,74	0,24	8,33	0,06	0,00	6,58	4,76	6,58	5,14
o5	3,63	5,48	0,24	0,00	0,07	17,12	7,11	7,88	7,22	7,29

*Valor médio considerando as três regiões da espiga.

**Valor médio em gramas do peso das sementes.

Quando considerados os valores médios (as três regiões da espiga) houve mutantes que mereceram destaque (Tabela 2 B). Para as quantidades de LYS foi observada diferença entre mutantes e os controles, exceto para B7977+ e o5 com valores similares. No grupo Oh43+, as sementes o2 apresentaram quantidades maiores de LYS; para o grupo W22+, os mutantes o11 e o13; e o7 registrou quantidades menores de LYS comparado a B37.

Para MET os mutantes apresentaram quantidades similares ao controle, exceto para o10 e o11 com incremento de 57% de MET com relação a W22+.

Os mutantes fl2 e o7 apresentaram redução de 23% de proteína. Entretanto, o11 e o5 registraram aumentos de 17% e 8% de proteínas, respectivamente.

O peso da semente no mutante o2 registrou redução de 23% do peso, enquanto que sementes o10 e o11 perda de 60% do peso. Nos mutantes o7 e o5 foi registrado incremento de pelo menos 10% do peso da semente.

Os resultados sugerem que os genes mutantes causaram modificações na composição bioquímica da semente, com diminuição principalmente do peso da semente e do teor de óleo. Para os níveis de LYS, o efeito foi dependente do gene mutante considerado observando-se aumentos nas sementes o11, o13 e o2 com relação aos controles respectivos.

Os dados obtidos pela análise através da luz infravermelha contribuíram para conhecer as características gerais dos mutantes e genótipos controles respectivos.

Foi determinado que as sementes de milho retiradas a partir da região média da espiga seriam utilizadas para a posterior extração de proteínas de reserva e aminoácidos e estudos posteriores de perfil protéico SDS-PAGE e 2D-PAGE. Isto foi determinado porque as variações para peso da semente e quantidade de LYS foram os menores.

2.3.2 Aminoácidos solúveis da semente

Foi observado que os mutantes apresentaram quantidades maiores de aminoácidos solúveis na semente (Tabela 3). Todos os mutantes de Oh43+, exceto o1, registraram quantidades maiores de aminoácidos, destacando-se o2 com 74% de aumento na semente.

Os mutantes da linha W22+, também apresentaram quantidades maiores de aminoácidos, sendo que o13 apresentou o valor máximo, significando 70% de aumento de aminoácido na semente.

Nos mutante o7 e o5 foram observados aumentos discretos de 28% e 43% nas quantidades de aminoácidos, respectivamente.

Os resultados indicam claramente que na semente dos mutantes houve aumentos consistentes de aminoácidos solúveis, sendo observados os valores máximos na semente o2 e o13.

Tabela 3 – Quantidade de aminoácidos solúveis (nmol/ml) em semente de milho. Teste de Dunnett ($\alpha=0,05$)

Genótipos Aminoácidos	
Oh43+	335,87
o1	377,96
o2	573,51**
fl1	482,23**
fl2	467,13**
Média	447,34
CV %	6,86
W22+	372,23
o10	608,37**
o11	602,88**
o13	631,40**
Média	553,72
CV %	4,18
B37+	472,56
o7	608,36**
Média	540,46
CV %	10,07
B7977+	405,37
o5	579,92**
Média	492,64
CV %	2,75

*Significância em favor do controle.

** Significância em favor do mutante.

2.3.3 Proteínas de reserva da semente

Após a extração das proteínas, as frações albumina e globulina foram misturadas para posteriores análises. Os valores foram expressos tanto em quantidades absolutas (mg proteína/g semente) como em quantidades relativas (%). As discussões dos resultados foram realizadas em base aos valores relativos.

Em geral, diferenças observadas nos valores absolutos acompanharam as diferenças em valores relativos entre os diferentes genótipos avaliados, entretanto com algumas exceções, principalmente entre B7977+ e o5.

A quantidade de proteína de reserva (Tabela 3) foi geralmente menor nos mutantes, com exceção de *f11*. A semente o7 apresentou a maior redução entre os mutantes, aproximadamente 43%; nos outros mutantes os valores variaram entre 25% e 28%.

A maior fração protéica correspondeu com a zeína representando mais de 50% nos genótipos controles, entretanto nas sementes mutantes entre 30% e 40%, o que representou uma redução de 40% a 20%.

Na fração não-zeína, a glutelina foi a mais representativa, sendo que as sementes mutantes registraram quantidades maiores as observadas nos controles.

As sementes mutantes apresentaram quantidades maiores de globulina e albumina, sendo os mutantes de melhor desempenho foram o2 com aumento de 100% e o11 com aumento de 79%.

A quantidade de zeína1 foi reduzida nas sementes mutantes, assim o2 e *f12* registraram redução de 64% e 58%, respectivamente; no mutante o10, o11, o13 e o7 a redução variou entre 46% e 41%, entretanto o5 teve redução de 34%.

As quantidades de zeína2 mostraram pouca variação entre os genótipos avaliados, observando-se na maioria das sementes mutantes quantidades similares aos dos genótipos selvagens respectivos.

A última fração a ser extraída, a glutelina, registrou aumento nas sementes dos mutantes. Destacaram-se o5 com o maior aumento, aproximadamente 35%, e os mutantes o10, o11 e o7 com 25% e 22% de aumento, respectivamente.

Tabela 4 - Quantidades de proteína de reserva em semente de milho

Proteínas de reserva de semente de milho									
Genótipo	Glob & Alb*		Zeína1		Zeína2		Glutelina		Total mg/g
	mg/g**	%***	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	
Oh43+	2,04	14,04	4,69	32,27	2,95	20,25	4,86	33,43	14,55
o1	2,55	18,39	3,11	22,42	2,85	20,58	5,35	38,60	13,86
o2	3,03	29,31	1,19	11,51	2,04	19,75	4,07	39,43	10,33
fl1	3,03	20,15	2,95	19,64	3,26	21,69	5,79	38,52	15,02
fl2	3,33	24,19	1,88	13,66	3,02	21,91	5,54	40,23	13,78
W22+	2,38	15,28	5,01	32,21	3,50	22,52	4,67	30,00	15,56
o10	2,89	24,89	1,57	13,51	2,28	19,60	4,88	42,00	11,62
o11	3,09	27,36	1,80	15,95	2,26	19,96	4,15	36,73	11,30
o13	2,72	24,25	1,95	17,40	2,32	20,71	4,22	37,63	11,20
B37+	2,50	13,75	6,12	33,65	3,50	19,22	6,07	33,39	18,19
o7	2,08	20,23	2,01	19,59	2,00	19,51	4,18	40,66	10,27
B79 77+	2,62	16,96	5,11	33,03	2,99	19,31	4,75	30,71	15,47
o5	2,25	19,53	2,49	21,61	2,00	17,37	4,79	41,49	11,54

*Fração albumina e globulina misturadas e avaliadas como uma fração.

**Valor médio expressado em mg proteína/g farinha, corresponde a três repetições.

***Valor percentual de cada fração protéica do total de proteínas de reserva.

Os resultados sugerem que os genes mutantes afetaram negativamente a síntese de zeína, principalmente da zeína1 e conseqüentemente aumentos principalmente albumina e globulina. Porém, isto significou também uma redução na quantidade de proteínas de reserva da semente quando comparados aos controles respectivos.

Por tanto, os genes mutantes provocaram mudanças nas proporções relativas de cada fração favorecendo as frações que contem maior quantidade de LYS na sua composição.

2.3.4 Perfil SDS-PAGE das proteínas de reserva da semente

A análise do perfil SDS-PAGE foram focalizadas apenas nas frações albumina, globulina e glutelina. Entre os diferentes genótipos foi observado um padrão similar de distribuição das proteínas para os pesos moleculares em cada fração protéica.

Nas análises serão consideradas a presença e ausência de bandas (expressão diferenciada) como também bandas protéicas com maior (expressão induzida) ou menor

intensidade (expressão reprimida), respeitando as comparações entre as sementes mutantes e os genótipos selvagens.

A Figura 5 A e B ilustram o perfil protéico e a análise das bandas da fração globulina e albumina da semente. Esta fração mostrou um perfil de bandas protéicas que se distribuem entre 14kDa e 66kDa.

Nos mutantes de Oh43+ foi observado um perfil de bandas heterogêneo, além de um número maior de bandas protéicas quando comparados a Oh43+. O perfil SDSPAGE revelou duas proteínas de 6,50kDa e 23,90kDa com expressão induzida nos quatro mutantes. Também, *o1* mostrou outras três proteínas de 25kDa, 46kDa e 50kDa, em *o2* houve outras de 46kDa e 50kDa e em *fl2* foram também observados duas de 25kDa e 50kDa. Os quatro mutantes apresentaram também expressão diferenciada de proteínas de 17kDa, 32kDa, 38kDa e 40kDa, ainda *o1*, *fl1* e *fl2* proteínas de 22kDa e 36kDa; e *o1* e *o2* uma proteína de 42kDa. Apenas em *o2* foi registrado expressão reprimida de uma proteína de 22,50kDa.

Figura 5 A - Perfil SDS-PAGE (8-18%) da fração albumina e globulina de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) *o2*; 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P-padrão molecular New England BioLab Coloração com nitrato de prata

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B7977+	o5
66,00	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-
50,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
47,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
46,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42,00	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-
40,00	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-
38,00	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-
36,00	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
32,00	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+
25,00	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
24,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23,90	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+
23,50	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
23,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
22,00	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-
18,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,00	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14,40	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
6,50	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Figura 5 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina e globulina de sementes de milho. *Banda protéica exclusiva do mutante (verde); Banda protéica de maior intensidade (roxo); e Banda protéica de intensidade reduzida (amarela)

O perfil de proteínas revelou pouca variabilidade entre os mutantes e W22+, tanto na intensidade como também no número de bandas. Foi observado A expressão diferencial de duas proteínas de 17kDa e 23,50kDa em *o11*; e de 17kDa e 22kDa em *o13*. Outras duas proteínas de 50kDa e 46kDa tiveram expressão reprimida nos mutantes, como assim também três proteínas de 15kDa, 18kDa e 22,50kDa em *o10*, e uma de 22,50kDa em *o11*.

No caso de B37+ e *o7* o perfil das bandas foi muito similar, observando-se no mutante apenas a expressão diferencial de uma proteína de 23,90kDa.

Quando comparados *o5* e B7977+, foram observadas duas proteínas de 23,90kDa e 47kDa com expressão restrita ao mutante e outras quatro proteínas de 6,50kDa, 15kDa, 18kDa e 46kDa com expressão reprimida no mutante.

O gel SDS-PAGE da fração zeína será apresentado em duas classes separadas, sendo as classes zeína1 (Figuras 6) e a classe zeína2 (Figura 7). O perfil protéico da classe zeína1 revelou maior variabilidade na intensidade das bandas, entretanto a classe zeína2 apresentou menor variabilidade entre os diferentes genótipos. A distribuição das proteínas

na classe zeína1 foi entre 8kDa e 27kDa, entretanto na classe zeína2 foi entre 8kDa e 90kDa. Porém, as principais proteínas estiveram distribuídas entre 20kDa e 27kDa.

Figura 6 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) o1; 3) (o2); 4) fl1; 5) fl2; 6) W22+; 7) o10; 8) o11; 9) o13; 10) B37+; 11) o7; 12) B7977+; 13) o5. Coloração com nitrato de prata. P-padrão molecular SIGMA (MW-SDS-70L)

Os polipeptídios da classe zeína1 com expressão reprimida estiveram distribuídos principalmente entre 19kDa e 27kDa, mas também num grupo de proteínas de baixa concentração entre 8kDa e 14kDa. Entretanto, na zeína2 as proteínas com expressão reprimida correspondem com bandas presentes em baixas concentrações, entre 10kDa e 15kDa, entanto que pouco efeito foi observado nas proteínas de maior concentração.

Deve-se destacar que o padrão de bandas entre 27kDa e 19kDa é característico da fração zeína. Na zeína1, a classe principal de bandas corresponde à classe α -zeína (19kDa e 22kDa) e um grupo pequeno de polipeptídios da classe δ -zeína (10kDa e 14kDa), entretanto na zeína2 a classe principal corresponde à γ -zeína (27kDa) e uma pequena classe β -zeína de 15kDa.

Figura 7 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

Na fração glutelina foi constatado um perfil de bandas bem heterogêneo para presença, ausência e diferenças de intensidade das bandas. Foi registrado o maior número de bandas quando comparado com o perfil das outras frações protéicas. As proteínas da fração glutelina estiveram distribuídas entre 4kDa e 100kDa.

As Figuras 8 A e B ilustram o perfil e a análise das bandas protéicas dos mutantes e Oh43+. Foi observada uma proteína de 32kDa e 33kDa com expressão induzida nos mutantes, exceto *o1*, com ausência da proteína de 33kDa. Uma proteínas de 5,50kDa teve expressão restrita aos mutantes; especificamente nos mutantes *o1*, *fl1* e *fl2* uma proteína de 22,50kDa, em *o1* uma proteína de 4kDa e em *fl2* duas proteínas de 4kDa e 19kDa.

Ausência de proteínas também foi constatada para alguns mutantes, o maior número foi observado em *o1* com cinco proteínas de 66kDa, 60kDa, 38kDa, 36kDa e 33kDa, entretanto apenas uma banda de 4kDa não foi observada em *o2* e *fl1*.

O perfil e a análise das bandas protéicas dos mutantes e W22+ podem ser visualizados na Figura 8 A e B. Nos mutantes *o11* e *o13* foi observado expressão induzida

da proteína de 35,5kDa, em *o11* de 35kDa e 6kDa, em *o13* de 28kDa e 22kDa e em *o10* duas proteínas de 22kDa e 6,50kDa. Houve expressão diferenciada de uma proteína de 47kDa em *o13*, de 26kDa em *o13* e *o10*, de 12kDa em *o11* e *o10*, e uma proteína de 4kDa em *o11*.

Figura 8 A - Perfil SDS-PAGE (8-18%) da fração glutelina de sementes de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) *o2*; 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P-padrão molecular New England BioLab Coloração com nitrato de prata

Entretanto, ausência de bandas protéicas nos mutantes quando comparados com W22+ foram também observados, assim em *o10* e *o13* faltou uma proteína de 50kDa e outra de 10kDa; para *o13* outras de 38kDa, 36kDa e 30kDa; para *o10* e *o11* uma proteína de 34,50kDa, para *o13* e *o11* uma de 29kDa, para *o13* e *o10* outra de 10kDa, para *o13* uma com 6kDa e finalmente em *o10* duas proteínas de 5,50kDa e 4,50kDa.

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B7977+	o5
66,00	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
60,00	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
56,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
50,00	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
47,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
45,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
44,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
40,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-
38,00	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
36,00	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
35,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34,50	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
33,00	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
32,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
30,00	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
29,00	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
28,00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
27,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
27,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
26,00	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-
25,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22,50	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
22,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
20,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
19,00	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-
16,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
14,00	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
12,00	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
10,00	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-
8,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,00	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
5,50	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-
5,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4,50	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
4,00	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+

Figura 8 B - Análise SDS-PAGE* da fração glutelina de sementes de milho. *Banda protéica exclusiva do mutante (verde); Banda protéica de maior intensidade (roxo); Banda protéica de intensidade reduzida (amarela)

O perfil e a análise das bandas protéicas de o7 e B37+ podem ser visualizados na Figura 8 A e B. O mutante o7 apresentou proteínas de 47kDa e 6,50kDa com expressão induzida. Outras quatro proteínas de 47kDa, 44kDa, 40kDa, e 4,50kDa, foram observadas unicamente nas sementes o7. Enquanto que no mutante o5 (Figura 8 A e B) unicamente duas proteínas de 34,50kDa e 4kDa foram observadas como expressas diferencialmente no

mutante. A ausência de nove proteínas também foi constatado, sendo de 66kDa, 56kDa, 55kDa, 38kDa, 36kDa, 33kDa, 32kDa, 27,50kDa e 27kDa.

2.3.5 Quantidade de aminoácidos nas frações protéicas da semente

Foi observada variação na composição de aminoácidos para cada fração protéica. A fração não-zeína apresentou principalmente níveis elevados de ASP, GLU e ASN, assim como as maiores quantidades de LYS. Na fração zeína as maiores quantidades corresponderam a ALA, LEU, ARG, HIS e MET, observando-se baixas quantidades ou ausência total de LYS.

Na fração albumina e globulina foram observadas quantidades elevadas de ASP, GLU, HIS, ALA e LEU, no entanto, houve diminuição nas quantidades de TRH, TYR, MET e LYS (Tabela 5).

Os mutantes *o1*, *o2*, *f11* e *f12* foram caracterizados pelo aumento de ASP, GLU, ASN e LYS, mas diminuição de SER, ARG, ALA, MET, VAL, PHE e LEU quando comparados com Oh43+ (Tabela 5). A quantidade de GLN foi maior apenas em *o1* e *f12*. A quantidade de LYS na semente dos mutantes representou aumentos de 185% em *o1*, de 295% em *o2*, de 127% em *f11* e de 90% em *f12*. Houve também, redução de 60%-68% nos níveis de MET nos mutantes. Os níveis de ILE foram muito variáveis, em *o1* houve redução de 21%, em *o2* e *f11* aumento de 11% e 13%, respectivamente.

Foi constatado nos mutantes *o10*, *o11* e *o13* aumento de ASP, LEU e LYS, mas quantidades menores de HIS e MET comparados com W22+ (Tabela 6). Entretanto, os mutantes *o11* e *o13* registraram aumentos de ARG, PHE e ILE; *o11* de GLU; *o10* de SER e GLN; e *o13* de VAL. Também houve redução de ASP, GLU, ASN, GLN e HIS em *o13*, de SER, HIS e ALA em *o11*, e de ALA e VAL em *o10*. As quantidades de LYS na semente dos mutantes representaram aumentos de aproximadamente 300% em *o10*, de 148% em *o11* e de 200% em *o13*. Porém, houve redução de MET nos mutantes, sendo de 58% em *o10* e de 88% em *o11*. Os mutantes *o11* e *o13* registraram aumentos de ILE, embora somente em *o11* o incremento foi superior a 70%.

No mutante *o7* foi observado aumento para ASP e LYS, mas redução de GLU, ASN, HIS, ARG, TYR, VAL e ILE, comparado com B37+ (Tabela 7). Aumento 94% de LYS foi observado em *o7*. Porém houve redução de 16% de ILE. Não foi detectado valores para THR.

A semente de *o5* teve aumentos de ASN, SER, GLN, HIS, THR e LYS, entretanto redução de GLU, ARG, TYR, MET e VAL, comparado com B7977+ (Tabela 8).

O mutante *o5* registrou aumento de 100% de LYS e 120% de THR; mas redução de 53% de MET.

A fração zeína foi caracterizada por apresentar quantidades elevadas de SER, HIS, ALA e LEU; entretanto as mais baixas corresponderam a GLN, THR, ILE e LYS.

Na zeína1 aminoácidos de maior concentração corresponderam com SER, HIS e LEU; no entanto os aminoácidos de menor concentração como GLN, GLY, TYR e LYS. Os mutantes *o1*, *o2*, *f11* e *f12* registraram concentrações maiores de ASP, GLU, ASN, SER, THR, VAL e LEU, entretanto quantidades menores de GLN, TYR e PHE (Tabela 5). Nos mutantes foram registradas quantidades baixas de LYS, sendo que a apenas em *o1* isto significou 100% de aumento comparado aos valores em OH43+. Entretanto, para os níveis de MET, foi verificada redução significativa de 41% em *o1* e de 58% em *f11*. Para *o2* houve 34% de aumento de MET.

Os mutantes *o10*, *o11* e *o13* registraram quantidades maiores de SER, HIS e THR, entretanto quantidades menores de GLU, GLN, ALA, TYR, VAL, PHE, ILE e LEU (Tabela 6). As quantidades de LYS foram muito baixas e apenas detectadas para *o10* e *o11*. As quantidades de MET foram variáveis representando aumento de 15% em *o13*, mas redução de 65% em *o10* e de 75% em *o11*. Todos os mutantes tiveram redução significativa de ILE de pelo menos 51%.

No mutante *o7* foram observadas quantidades maiores de SER, HIS, ARG, TYR, ILE e LYS; mas redução de ASP, GLU, ASN, GLN, ALA, VAL, PHE e LEU, quando comparado a B37+ (Tabela 7).

Tabela 5 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho Oh43+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de aminoácidos																		
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	X***
Albumina e Globulina																		
Oh43+	8,01	12,07	6,57	3,44	2,29	7,41	...	...	7,81	14,30	2,90	3,80	8,39	5,82	5,08	10,97	2,13	...
o1	10,46**	13,39**	8,00**	3,85	3,30**	9,25**	...	1,20	4,69*	12,66*	2,63	1,53*	7,03*	4,36*	4,01*	8,52*	6,07**	...
o2	8,74**	13,82**	7,19	2,87*	2,81	7,33	...	...	6,17*	11,53*	2,55	1,50*	7,13*	5,35*	5,62**	10,01	8,42**	...
fl1	10,52**	15,60**	7,35**	1,81*	2,60	7,28	...	0,83	5,72*	10,14*	2,41	1,53*	8,69	5,25*	5,78**	9,65*	4,83**	...
fl2	10,81**	15,02**	8,25**	2,64*	3,17**	6,74*	...	1,28	6,33*	12,25*	2,80	1,20*	7,51*	5,25*	4,91	8,50*	4,05**	...
CV%	2,48	1,94	3,85	7,18	8,68	2,92	...	11,04	4,65	2,78	8,73	11,20	2,72	3,19	4,29	11,35	7,21	...
Zeina1																		
Oh43+	2,79	2,72	4,51	10,59	2,15	9,50	5,14	5,65	1,82	8,09	2,89	3,15	2,64	5,25	3,46	10,33	0,49	18,83
o1	7,41**	3,96**	11,64**	14,73**	0,59*	13,50**	2,41*	6,59**	1,27*	8,39	0,80*	1,85*	3,81**	4,84*	2,86*	13,60**	1,05**	0,68*
o2	4,91**	2,70	4,07*	10,24	2,68**	12,98**	5,61	5,93**	2,62**	7,08*	4,02**	4,21**	2,81*	4,07*	3,46	9,26*	0,87	12,47*
fl1	6,18**	3,73**	8,06**	16,63**	1,22*	7,03*	6,86**	8,09**	1,56	9,13**	1,36*	1,31**	4,14**	3,89*	2,62*	12,18**	0,18*	5,83*
fl2	7,25**	4,34**	7,66**	12,24**	0,84*	8,36*	2,71*	5,13*	1,77	15,10**	1,60*	2,81	4,26**	4,72*	3,18	16,85**	0,19*	0,98*
CV%	1,95	6,92	2,28	2,08	13,86	2,83	4,70	2,00	6,69	2,17	4,68	4,87	5,28	2,88	5,39	2,39	20,63	2,28
Zeina2																		
Oh43+	2,84	4,65	4,94	1,58	...	10,94	...	0,14	5,21	34,12	1,93	0,71	7,06	1,69	2,05	5,28	...	6,15
o1	2,48	3,77	4,07	2,72**	...	11,74	...	0,20**	20,04**	27,20	1,90	3,10**	3,30*	3,67**	4,55**	5,71	...	5,56
o2	2,26	3,61	4,54	...	...	13,56	...	0,24**	12,50**	28,28	3,19**	6,86**	3,70*	4,08**	4,17**	6,78**	...	6,23
fl1	3,30	4,72	6,25	1,56	...	12,19	...	0,08*	8,19**	28,74	2,82**	5,15**	4,09*	5,23**	4,84**	5,14	...	7,71**
fl2	3,32**	4,27	5,35	2,82*	...	11,29	...	0,09*	4,76	33,61	3,41**	4,00**	4,30*	4,12**	4,28**	6,58**	...	7,83**
CV%	11,72	12,79	11,78	14,64	...	9,81	...	13,06	9,14	10,07	5,06	7,27	14,88	7,56	8,98	8,54	...	10,84
Glutelina																		
Oh43+	6,07	3,45	7,24	9,66	3,18	8,63	5,21	4,14	3,82	7,39	3,12	5,15	6,07	5,33	3,98	10,02	2,56	5,01
o1	15,31**	5,08**	12,43**	5,97*	0,80*	7,67*	1,75*	2,03*	2,83*	9,35**	2,31*	2,56*	4,84*	4,92	3,20*	13,47**	4,98**	0,92*
o2	16,42**	6,16**	11,49**	5,96*	1,16*	9,18	0,93*	1,60*	3,24*	8,24**	2,37*	2,00*	5,29*	5,06	3,74	11,59**	5,35**	0,23*
fl1	7,47**	4,98**	11,38**	8,37*	1,54*	10,53**	5,68	6,11**	2,13*	7,88	1,95*	4,03*	3,70*	4,84	3,79	11,06**	4,02**	0,55*
fl2	4,97*	5,35**	10,66**	8,39*	2,08*	11,46**	3,55*	3,41*	4,54**	7,77	2,94	4,30*	4,15*	4,90	4,54	11,01**	4,96**	1,02*
CV%	3,19	4,08	10,36	5,23	12,23	2,79	12,69	8,33	6,77	3,53	5,46	9,25	4,44	5,88	6,83	2,61	6,29	6,62

(*) Significância em favor de Oh43+ ou (**) em favor do mutante. (***) Pico com tempo de retenção similar a GABA. (...) Valores não detectados.

Embora as quantidades de LYS em o7 e B37+ foram baixas o mutante teve um incremento significativo de 42%. Ainda o mutante registrou aumento de 41% de ILE.

No mutante o5 foi observado maior concentração de ASP, ASN, HIS, THR, ARG e LYS; entretanto houve quantidades menores de GLU, SER, GLN, ALA, TYR, PHE e ILE, quando comparados com B7977+ (Tabela 8). Embora pequena a diferença, o aumento de 10% de LYS no mutante teve significância estatística. Também foi registrado 39% de aumento de ILE no mutante.

A zeína2 foi caracterizada por apresentar maior concentração de HIS, ARG, ALA e TYR; entretanto baixas quantidades de ASP, SER, THR e GLN.

Nos mutantes o1, o2, f11 e f12 foram observadas quantidades maiores de TYR, MET; PHE e ILE, entretanto redução de ALA e VAL, comparado a OH43+ (Tabela 5). Os mutantes apresentaram valores muito elevados de MET e de ILE, aumentos de 300% e 100%, respectivamente.

Os mutantes o10, o11 e o13 mostraram quantidades maiores de HIS, ARG, PHE e ILE, mas diminuição de ASN, ALA e LEU, quando comparado a W22+ (Tabela 6). Para ILE as quantidades foram maiores nos mutantes significando aumentos expressivos de 167% em o10 e 128% em o13. O mesmo foi constatado para THR, aumento de 170% e 100%, mas em o10 e o11. Apenas o10 e o11 tiveram aumentos significativos de 24% e 12% de MET, respectivamente, enquanto que o13 uma redução expressiva de 62%.

Em o7 foram registradas quantidades maiores de ASN, HIS, ARG, MET, VAL, PHE, ILE e LEU, porém diminuição de GLU, SER, ALA e TYR, quando comparado a B37+ (Tabela 9). Em ambos os genótipos não foram detectados níveis de GLY e LYS, ainda especificamente no mutante o7 ausência de GLN. As proteínas da fração zeína2 em o7 mostraram quantidades significativas altas de MET e ILE, na ordem de 140% e 119%, respectivamente.

Nas proteínas da fração zeína2 de o5 foram determinados quantidades maiores de ASN, HIS, THR, ALA e VAL, como também diminuição de ASP, ARG, MET, PHE, ILE e LEU, quando comparado a B7977+ (Tabela 8). O mutante teve aumento significativo de 400% de THR, entretanto redução de 55% e 77% de MET e ILE, respectivamente.

Tabela 6 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho W22+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de aminoácidos																		
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	X***
Albumina e Globulina																		
W22+	11,53	15,70	7,85	2,71	2,87	8,64	...	1,04	7,32	12,57	2,52	3,19	6,87	3,88	3,55	7,66	2,08	...
o10	12,35**	15,52	7,87	3,72**	3,56**	8,46	...	...	...	9,32*	2,53	1,33*	6,21*	3,45	3,52	8,52**	8,64**	...
o11	12,82**	16,67**	7,50	2,05*	3,01	8,20*	...	...	5,83**	10,81*	2,35	0,37*	7,16	4,58**	4,13**	9,36**	5,17**	...
o13	7,42*	11,86*	6,74*	2,76	1,71*	7,57*	...	...	6,13**	12,90	2,73	3,81	8,73**	5,15**	6,16**	9,83**	6,49**	...
CV%	1,91	2,38	3,61	7,62	9,25	1,83	...	...	6,05	2,55	4,96	6,95	4,44	4,93	4,86	2,78	11,48	...
Zeina1																		
W22+	2,82	10,15	6,03	11,25	4,70	10,22	...	...	3,09	10,71	2,88	8,66	5,78	6,15	4,76	17,47	...	0,06
o10	4,77**	2,79*	2,77*	13,09**	3,04*	15,22**	3,31	4,79**	11,91**	4,92*	2,09*	3,00*	2,54*	2,52*	2,45*	14,17*	1,98	4,64**
o11	2,79*	3,90*	6,77**	13,29**	2,40*	13,90**	2,20	3,47**	2,02*	8,93*	1,94*	2,19*	5,32	4,17*	2,35*	14,43*	1,38	8,56**
o13	5,28**	2,23*	4,02*	16,17**	3,47*	14,50**	...	5,77**	2,14*	7,83*	1,71*	9,95**	2,37*	3,64*	2,56*	14,90*	...	3,46**
CV%	5,96	13,58	6,17	2,43	10,64	3,73	7,92	8,61	4,96	4,30	8,12	2,81	5,21	5,84	8,53	3,81	...	6,65
Zeina2																		
W22+	2,63	4,98	5,65	1,84	0,46	10,62	...	0,10	4,50	39,33	2,20	3,86	6,75	1,59	1,74	7,90	...	5,35
o10	2,84	3,83*	4,55*	1,85	...	11,33	...	0,27**	8,81**	27,50*	2,54	4,79**	9,99**	3,94**	4,63**	6,59*	...	6,55**
o11	4,02**	6,17**	5,58	1,98	0,55	12,77**	...	0,20**	7,66**	38,00*	2,19	1,45*	3,75*	2,17**	2,27**	5,01*	...	6,23**
o13	2,01*	4,67	4,78*	3,07**	...	12,21**	...	0,06*	7,09**	32,48*	3,41**	4,31**	3,40*	3,97**	3,97**	7,97	...	6,60**
CV%	4,28	2,8	3,91	7,73	5,06	2,79	...	0,16	7,01	1,03	8,48	5,27	6,55	6,35	2,23	2,33	...	1,75
Glutelina																		
W22+	6,97	3,79	7,70	12,60	1,20	10,57	4,92	4,13	3,44	7,59	2,80	3,42	4,62	4,37	3,41	9,97	2,25	6,27
o10	10,05**	6,20**	12,77**	9,79*	1,22	12,19**	...	3,13*	3,89	8,00*	2,70	1,69*	4,78	4,24	3,30	11,69**	3,87**	0,49*
o11	6,68	4,34**	8,37**	5,45*	1,81	15,06**	2,08*	4,88**	3,94	7,49	2,98	2,28*	4,16*	4,05	3,36	10,11	8,73**	4,13*
o13	7,25	4,21**	8,20	6,13*	0,99*	8,82*	3,79*	4,69*	4,67**	7,36	2,98	1,51*	4,12*	4,59	4,46**	9,98	10,78**	5,49*
CV%	3,19	4,08	10,36	5,23	12,33	2,79	12,69	8,33	6,77	3,53	5,46	9,25	5,44	5,88	6,84	2,61	6,29	6,24

(*) Significância em favor de W22+ ou (**) em favor do mutante. (***) Pico com tempo de retenção similar a GABA (...) Valores não detectados.

Para a fração glutelina foi observado variações nas quantidades de aminoácidos entre os diferentes genótipos avaliados. Esta fração protéica foi caracterizada por apresentar quantidades maiores de ASP, ASN, SER, HIS e LEU, entretanto os aminoácidos de menores quantidades foram GLN, GLY e THR.

Os mutantes *o1*, *o2*, *f11* e *f12* registraram quantidades maiores de ASP, GLU, ASN, LEU e LYS; porém quantidades menores de SER, GLN, GLY, THR, ARG, TYR, MET e VAL, quando comparado a Oh43+ (Tabela 5). O valor de LYS determinado nos mutantes representou aumentos de 95% em *o1*; de 100% em *o2*; de 57% em *f11*; e de 93% em *f12*, em relação a Oh43+. Para MET e THR as quantidades nos mutantes foram menores as do controle, exceto *o2* que apresentou aumento de 48% de THR.

Nas sementes *o10*, *o11* e *o13* foram observados quantidades maiores de GLU, ASN e LYS, entretanto quantidades menores de SER, GLY, MET e VAL, quando comparado a Oh43+ (Tabela 6). Os níveis de LYS representaram incrementos de 72% em *o10* e acima de 250% em *o11* e *o13*. Os mutantes apresentaram redução de MET, sendo de 33% em *o11*, de 50% em *o10* e de 55% em *o13*. Para ILE, apenas *o13* registrou aumentos significativos de 31%. Os mutantes *o10* e *o13* registraram redução de 24% e 14% de THR, respectivamente; entretanto *o11* um incremento de 18%.

Comparando-se *o7* e B37+, nas proteínas da fração glutelina, o mutante apresentou quantidades maiores de ASP, GLU, ASN, GLN, ARG, ALA, TYR, VAL, ILE, LEU e LYS; entretanto quantidades menores de SER, GLY, THR, MET e PHE (Tabela 7). As quantidades de LYS observadas representaram aumentos de 21% na fração glutelina do mutante. Também, aumentos de 22% de ILE, mas diminuição de 36% de MET e de 74% de THR.

Na fração glutelina de *o5* foram observados quantidades maiores de ASP, GLU, ASN, SER, GLY e LYS; entretanto diminuição de GLN, HIS, THR e TYR. Quando comparado a B7977+ (Tabela 8). Na fração glutelina de *o5* a LYS teve 52,00% de aumento em relação aos valores registrados em B7977+. Porém, o mutante registrou redução significativa THR e de MET e ILE, mesmo que nestes últimos não representou significância estatística.

Tabela 7 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho B37+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

	Quantidade de aminoácidos																	
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	X***
Albumina e Globulina																		
B37+	11,46	16,74	8,37	3,19	2,81	8,63	...	0,61	9,47	11,29	2,47	0,46	6,61	4,52	4,24	7,77	1,36	...
o7	14,04**	15,64*	8,25*	3,52	3,15	7,55*	...	nd	6,82*	11,09	2,38*	0,49	5,95*	4,51	3,56*	8,70	2,64**	...
CV%	2,06	1,59	4,37	8,43	5,57	2,40	...	...	2,77	3,68	3,41	20,25	1,68	4,64	4,61	12,31	10,55	...
Zeina1																		
B37+	4,45	17,47	7,48	1,48	2,97	9,98	...	...	2,86	12,28	1,30	3,71	5,96	5,86	4,33	20,38	1,10	1,34
o7	2,75*	13,12*	5,50*	9,19**	2,02*	12,27**	1,85	1,57	3,53**	8,28*	2,82**	3,53	5,50*	4,65*	6,13**	12,46*	1,56**	3,26**
CV%	3,49	0,88	2,35	1,13	12,44	1,33	...	...	4,96	1,51	1,67	2,96	0,89	1,94	1,06	0,69	6,65	1,68
Zeina2																		
B37+	3,19	6,54	5,69	2,06	0,80	11,84	...	0,11	5,36	40,52	7,84	0,79	3,86	1,68	1,95	5,32	...	2,47
o7	2,66	4,73*	7,20**	2,03*	...	13,69**	...	0,14	6,56**	30,44*	7,67*	1,90**	6,56**	3,75**	4,27**	7,25**	...	3,16**
CV%	9,25	4,40	6,67	2,23	...	1,88	...	27,87	3,46	1,05	0,71	3,69	16,38	7,17	3,47	2,64	...	1,46
Glutelina																		
B37+	6,35	3,69	6,96	12,76	1,09	10,15	5,63	5,29	4,81	6,16	2,52	4,42	3,51	3,91	3,54	7,77	6,87	4,59
o7	7,21**	4,21**	8,95**	9,24*	2,42**	9,79	0,79*	1,39*	6,27**	7,69**	2,91**	2,81*	5,29**	4,65*	4,33**	10,93**	8,31**	2,79*
CV%	4,65	4,90	4,50	1,34	10,27	2,70	12,71	10,06	6,32	4,76	4,25	4,99	2,35	5,15	7,31	1,59	7,91	7,72

(*) Significância em favor de B37+ ou (**) em favor do mutante. *** Pico com tempo de retenção similar a GABA. (...) Valores não detectados.

Tabela 8 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de sementes de milho B7977+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de aminoácidos																		
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys	X***
Albumina e Globulina																		
B7977+	10,98	16,86	7,27	2,97	3,03	8,68	...	0,82	7,40	11,51	2,48	1,99	6,94	4,52	4,28	8,87	1,39	...
o5	11,09	12,25*	8,12**	3,54**	3,88**	9,74**	...	1,90**	3,65*	12,52	2,42*	0,94*	6,43*	4,46	4,26	8,81	2,82**	...
CV%	1,53	0,81	3,08	5,20	7,51	2,49	...	17,33	2,46	3,79	1,93	11,43	2,68	5,38	2,54	3,22	29,04	...
Zeina1																		
B7977+	2,82	5,11	5,03	22,00	2,32	12,60	...	1,33	3,20	11,82	2,77	3,84	3,53	5,29	3,59	13,01	2,29	1,44
o5	5,91**	3,02*	8,32**	16,18*	1,08*	14,19**	...	5,22**	5,94**	7,99*	1,58*	4,05*	3,43	4,06*	2,17*	13,17	2,53**	1,13
CV%	2,05	5,68	6,58	3,14	11,33	3,02	...	14,88	5,77	3,16	5,53	25,44	2,60	1,15	2,24	2,06	2,66	16,73
Zeina2																		
B7977+	3,72	5,18	5,49	...	...	11,79	...	0,22	8,02	32,89	6,24	3,88	3,56	2,90	4,94	7,70	...	3,48
o5	3,00*	5,22	5,65**	1,46	...	13,40**	...	1,31**	5,58*	41,90**	7,53	1,75*	3,89**	1,49*	1,16*	5,19*	...	1,98*
CV%	5,77	3,73	0,68	10,74	...	1,42	...	3,98	3,66	0,87	10,11	7,97	3,15	4,27	2,38	2,65	...	...
Glutelina																		
B7977+	4,84	4,03	9,00	9,11	2,50	13,99	2,12	5,47	3,59	7,11	2,84	3,75	4,11	4,55	4,32	10,39	4,63	3,68
o5	9,92**	4,91**	10,46**	14,47**	0,87*	7,60*	4,25**	4,49*	2,16	7,43	2,05*	2,12	4,27	3,96	2,64	10,11	7,04**	1,25*
CV%	2,09	1,51	2,30	2,83	5,42	3,82	18,97	7,75	9,00	5,98	9,25	9,87	3,77	7,45	4,54	2,21	13,13	12,05

(*) Significância em favor de B7977+ ou (**) em favor do mutante. (***) Pico com tempo de retenção similar a GABA. (...) Valores não detectados.

2.3.6 Quantidades de LYS nas frações protéicas da semente

O passo a seguir foi o apurar a quantificação de LYS pelo HPLC através da utilização de parâmetros que permitam isolar e diminuir o tempo de aparição da LYS para 15 min (Ver Material e Métodos).

A albumina, globulina e glutelina dos mutantes originados de Oh43+ e W22+ foram analisadas. Os resultados estão ilustrados na Tabela 9 e foram comparados com os valores de LYS da Tabela 5 e da Tabela 6.

As quantidades de LYS presentes na fração albumina e globulina da semente de *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* foram maiores às encontradas no genótipo Oh43+ (Tabela 9). Nos mutantes a quantidade de LYS observada representou aumento de 139% em *o1*, 297% em *o2*, 138% em *fl1* e 133% em *fl2*. Quando comparando com os valores de LYS da Tabela 5, observamos 47% de ganho de LYS em *fl2*, entretanto *o2* e *fl1* um pequeno ganho, de 1% e 8,50%, respectivamente; mas *o1* registrou perda de 24% de LYS.

Para os mutantes *o10*, *o11* e *o13* as quantidades de LYS na fração albumina e globulina foram maiores a observada em W22+ (Tabela 9). As quantidades de LYS significaram aumentos de 273% em *o10*, de 154,70% em *o11* e de 195,70% em *o13*. Comparando estes valores de LYS com a Tabela 6 não foi observado ganho nas quantidades de LYS, aliás, *o10* teve perda de 25% de LYS.

Na fração glutelina houve também um aumento nas quantidades de LYS nos mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* quando comparados a Oh43+. A quantidade de LYS observada na fração glutelina dos mutantes indicou um aumento de 90,64% em *o1*, de 193% em *o2*, de 98% em *fl1* e de 103% em *fl2*. Comparando com os valores de LYS na Tabela 5, foi registrado ganho de 92% em *o2*, de 72,50% em *fl1* e de 11% em *fl2*, exceto em *o1* com perda de 4,59% de LYS.

As quantidades de LYS da fração glutelina nos mutantes *o10*, *o11* e *o13* foram maiores as observada em W22+ (Tabela 9). Isto corresponde com aumentos de LYS de 110% em *o10*, de 294% em *o11* e de 367% em *o13*. Comparando ditos valores com aqueles da Tabela 6 foi verificado ganho de LYS de 53,21% em *o10* e 24,48% em *13*, mas para *o11* não houve diferenças.

Tabela 9 – Quantidades de LYS (mol%)* nas proteínas de reserva da semente de milho. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de lisina		
Genótipo	Albumina e Globulina	Glutelina
Oh43+	2,3	2,99
o1	5,50**	5,70**
o2	9,13**	8,76**
fl1	5,47**	5,93**
fl2	5,36**	6,08**
CV%	9,14	12,08
W22+	2,56	2,23
o10	9,55**	4,69**
o11	6,52**	8,79**
o13	7,57**	10,28**
CV%	10,47**	8,85

(*) Valor médio de três repetições.

(**) Diferenças significativas para $\alpha = 0,05$.

2.3.7 Quantidades de aminoácidos solúveis no endosperma de milho

Foram determinadas quantidades maiores de aminoácidos solúveis no endosperma da maioria dos mutantes opaco e floury de milho (Tabela 10).

Os mutantes de Oh43+, com exceção de o1, apresentaram quantidades maiores de aminoácidos no endosperma, representando 100% de aumento de aminoácidos.

Os mutantes o11 e o13 apresentaram quantidades superiores de aminoácidos quando comparados a W22+, entretanto apenas para o11 isto representou um aumento significativo de 44%. O mutante o10 registrou uma redução nas quantidades de aminoácidos, mas não significativa com relação ao controle.

No mutante o5 também foi observado 46% aumentos de aminoácidos comparados com B7977+. Apenas o7 registrou redução significativa de 21% de aminoácidos solúveis com relação a B37+.

Tabela 10 – Quantidade de aminoácidos solúveis (nmol/ml) em endosperma de milho. Teste de Dunnett ($\alpha=0,05$)

Genótipos Aminoácidos	
Oh43+	141,41
o1	114,45
o2	272,84**
fl1	290,45**
fl2	293,78**
Média	222,58
CV %	6,70
W22+	240,64
o10	235,48
o11	347,36**
o13	277,43**
Média	327,43
CV %	4,28
B37+	348,86
o7	275,85*
Média	312,36
CV %	5,33
B7977+	252,53
o5	368,85**
Média	310,71
CV %	5,77

*Significância em favor do controle.

** Significância em favor do mutante

2.3.8 Proteínas de reserva do endosperma

Sendo o endosperma o tecido de reserva de nutrientes necessários para o desenvolvimento do embrião, analisamos o perfil protéico de todas as frações protéicas após ter retirado o embrião. Também, foi realizada a análise das frações protéicas explorando-se ainda mais o seu estudo, pois foram mantidas separadas a fração albumina e globulina.

A Tabela 11 detalha os valores obtidos para quantidades absolutas (mg proteína/g endosperma) e quantidades relativas (%) de proteínas de reserva. Em geral as diferenças observadas em valores absolutos foram acompanhadas por diferenças similares nos valores relativos das proteínas de reserva.

Os genótipos controles apresentaram quantidades próximas a 70% de zeína, já nas sementes mutantes ditos valores variaram de 50%-36% o que representou uma redução de 48%-24% no endosperma.

Para a fração não-zeína, as maiores quantidades foram registradas para glutelina, sendo que os mutantes registraram quantidades bem maiores as observadas nos controles.

As quantidades de proteína de reserva foram maiores no endosperma dos genótipos controle. Isto representou uma redução nos mutantes na ordem de 27% até 70%. O mutante *fl2*, *o2* e *o13* registraram redução máxima, entanto que em *o7* e *o5* a redução foi de 45% e de 55%, respectivamente. O único mutante apresentar proteínas com quantidades próximas a controle foi *o1* com redução de apenas 27%.

Na Tabela 11 estão listados os resultados obtidos para a fração globulina. Os genótipos mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* apresentaram quantidades maiores desta fração quando comparados com Oh43+; destacando *o2* que apresentou aproximadamente 190% de aumento. Os mutantes de W22+ apresentaram também aumentos de globulina de 200%. Finalmente, os mutantes *o7* e *o5* apresentaram aumentos de globulina de 69% e 77%, respectivamente, em relação a B37+ e B7977+.

Na Tabela 11 listados os resultados obtidos para a fração albumina. Nas sementes mutantes foi observada maior quantidade de albumina comparada ao controle. Os mutantes *fl2* e *o2* apresentaram aumento de 250% comparado a Oh43+. Entre os mutantes de W22+, o mutante *o11* registrou aumento de 219%. Os mutantes *o7* e *o5* registraram também aumento de 95% e 133%, comparados a B37+ e B7977+, respectivamente.

Na Tabela 11 estão listados os resultados obtidos para as quantidades de zeína. A zeína representou a maior fração protéica do endosperma, sendo que nos genótipos selvagens apresentaram tanto como 71% de zeína.

Os mutantes de Oh43+ tiveram quantidades menores de zeína com redução que oscilou entre 15% e 50%, sendo que *o2* registrou uma redução de 50%. As quantidades de zeína nos mutantes de W22+ registraram redução que variou entre 31% e 43%, com destaque para *o11* com 43% de redução de zeína no endosperma. Redução de 26% e 24% desta fração foi observada em *o7* e *o5*, com relação aos controles respectivos.

Tabela 11 - Quantidade de proteína de reserva de endosperma de milho

Proteínas de reserva de endosperma de milho											
Genótipo	Globulina		Albumina		Zeína1		Zeína2		Glutelina		Total
	mg/g*	%**	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g
Oh43+	0,48	2,80	0,41	2,38	8,97	52,40	2,99	17,44	4,28	24,98	17,12
o1	0,58	4,67	0,50	4,04	5,37	43,12	2,01	16,17	3,98	32,00	12,45
o2	0,40	8,24	0,41	8,49	0,95	19,66	0,80	16,60	2,27	47,01	4,83
fl1	0,32	5,98	0,31	5,85	1,15	21,45	1,10	20,55	2,47	46,18	5,35
fl2	0,35	7,65	0,40	8,71	1,02	22,40	0,84	18,32	1,96	42,91	4,57
W22+	0,44	2,58	0,42	2,46	8,58	50,40	3,00	17,60	4,59	26,96	17,02
o10	0,61	8,51	0,56	7,85	1,50	20,97	1,53	21,41	2,94	41,26	7,13
o11	0,39	7,72	0,36	7,12	1,05	20,91	0,96	19,17	2,26	45,09	5,01
o13	0,43	8,75	0,35	7,09	1,10	22,48	0,91	18,63	2,10	43,05	4,87
B37+	0,53	3,00	0,79	4,42	8,37	46,87	3,22	18,06	4,94	27,65	17,86
o7	0,48	5,07	0,82	8,63	2,67	28,22	1,90	20,09	3,59	37,97	9,46
B7977+	0,53	3,28	0,60	3,71	8,24	50,61	2,57	15,80	4,33	26,60	16,29
o5	0,43	5,83	0,64	8,66	2,51	34,20	1,19	16,20	2,58	35,12	7,34

*Valor médio expressado em mg proteína/g farinha, corresponde a três repetições.

**Valor percentual de cada fração protéica do total de proteínas de reserva.

A Tabela 11 detalha os resultados obtidos para as quantidades de glutelina presentes nas sementes de milho. Esta fração representou 27%-47% do total de proteínas de reserva. Nos mutantes de Oh43+ foi registrado o acúmulo máximo de glutelina, e representou 88% em o2. Os mutantes o10, o11 e o13 apresentaram aumentos de 53%-67% de glutelina com relação a W22+. Finalmente, o7 e o5 registraram 37% e 32% aumentos de glutelina, comparados a B37+ e B7977+, respectivamente.

2.3.9 Perfil SDS-PAGE das proteínas de reserva do endosperma de milho

Após determina as quantidades de proteínas de reserva do endosperma foi avaliado o perfil das proteínas em SDS-PAGE.

Foram observadas diferenças no perfil das proteínas entre os genótipos mutantes e os controles respectivos para ausência, presença e intensidade de bandas, entretanto, isto foi mais acentuado no perfil das frações globulina e albumina.

No perfil da fração globulina foi detectada diferenças para o número e para a intensidade das bandas, observando-se numerosas bandas de baixa intensidade nos mutantes. As bandas protéicas estiveram distribuídas entre 9kDa e 100kDa.

Como ilustrado na Figura 9 A e B houve variação no perfil protéico entre Oh43+ e mutantes quanto à presença, ausência e intensidade das bandas. Expressão induzida com foram observadas para uma proteína de 35kDa em *fl1* e outra de 46kDa em *fl2*. Proteínas de 38kDa e 32kDa foram expressas unicamente em *o2*, *fl1* e *fl2*; outra proteína de 33kDa em *fl1* e *fl2* e outra de 11kDa em *fl1*. Houve duas proteínas com expressão reprimida, 35kDa em *o1* e 13kDa em *fl2*. Finalmente, foi observada a ausência de uma proteína de 35kDa em *o2* e *fl2*, mas que esteve presente nos restantes genótipos do grupo.

O perfil protéico dos mutantes de W22+ mostrou também diferenças quanto à presença, ausência e intensidade das bandas (Figura 9 A e B). Expressão induzida foi observada para uma proteína de 35kDa nos quatro mutantes; outras de 15kDa e 13kDa foram observadas em *o13* e *o10*, respectivamente. A presença de proteínas com expressão restrita aos mutantes revelou uma proteína de 26kDa em *o10*, *o11* e *o13*, outra de 68kDa e 65kDa em *o11* e *o13*, e outra de 38kDa e 11kDa em *o13* e *o11*, respectivamente. Bandas com expressão reprimida foram também observadas em *o10* (100kDa, 90kDa, 75kDa, 72kDa e 46kDa) e *o11* (27kDa, 19kDa e 9kDa). Por último, foi constatado a ausência de proteínas nos mutantes, principalmente em *o10* foram sete (80kDa, 70kDa, 50kDa, 40kDa, 36kDa, 34kDa e 9kDa), em *o11* foram quatro (36kDa, 25,50kDa, 24,50kDa e 15kDa) e em *o13* foram apenas duas proteínas (25,50kDa e 24,50kDa).

No perfil protéico de *o7* e B37+ foram observadas poucas variações quando comparados (Figura 9 A e B). Foi constatada uma proteína de 25,50kDa restrita a *o7*. Outras duas proteínas de 72kDa e 19kDa apresentaram expressão reprimida no mutante.

O perfil protéico entre B7977+ e *o5* é ilustrado na Figura 9 A e B. O mutante *o5* apresentou três proteínas de 46kDa, 35kDa e 9kDa com expressão reprimida.

Outras cinco proteínas de 70kDa, 50kDa, 34kDa, 33kDa e 15kDa estiveram presentes unicamente no endosperma mutante.

Figura 9 A - Perfil SDS-PAGE da fração globulina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

Na fração albumina foi observada um número maior de proteínas com expressão restrita aos genótipos mutantes (Figura 10 A e B). As bandas protéicas na fração albumina mostraram distribuição entre 8kDa e 91kDa

O perfil protéico dos mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* mostraram varias proteínas com expressão restrita aos mutantes. Expressão induzida de uma proteína de 20kDa foi observada nos quatro mutantes, entretanto em *o2* e *fl2* outra proteína de 23kDa.

Numerosas proteínas foram expressas de modo diferencial, três proteínas de 66kDa, 44kDa e 14kDa nos quatro mutantes; em *o2*, *fl1* e *fl2* uma proteína de 36kDa; em *o2* e *fl2* outra de 35kDa; e em *o2* duas proteínas com 38kDa e 37,50kDa. Apenas duas proteínas de 37kDa e 13kDa foram reprimidas em *o1* e *fl2*, respectivamente. Também foi verificado em *o2* e *fl2* ausência de uma proteína de 37kDa.

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B77/79+	o5
100,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
72,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+
68,00	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
65,00	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
60,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
49,00	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
46,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+
38,00	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
37,00	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
36,00	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-
35,00	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
34,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
33,00	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
32,00	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
30,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,00	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
25,50	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-
24,50	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
24,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
15,00	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
13,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11,00	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-
10,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
9,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Figura 9 B - Análise SDS-PAGE* da fração globulina de endosperma de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde); Banda de maior intensidade (roxo); e Banda com intensidade reduzida (amarela)

Nos mutantes *o10*, *o11* e *o13* destacaram-se principalmente bandas protéicas com expressão restrita ao endosperma dos mutantes (Figura 10 A e B). Houve expressão induzida de duas proteínas de 23kDa e 17kDa em *o11*. Numerosas proteínas foram expressas diferencialmente, três proteínas de 66kDa, 26,50kDa e 16,50kDa nos quatro mutantes; em *o10* e *o11* uma proteína de 40kDa; outras de 37,50kDa, 23kDa e 8kDa em *o11* e *o13*. Apenas *o10* registrou uma proteína de 20kDa com expressão reprimida.

Finalmente, foi observado ausência de proteínas de 67kDa, 38kDa, 26kDa, 25kDa, 24,50kDa, 22kDa, 17kDa e 9kDa em *o10* e de 39kDa, 26kDa, 25kDa, 22kDa, 17kDa e 14kDa em *o13*, embora às mesmas proteínas estivessem presentes nos restantes genótipos deste grupo.

Figura 10 A - Perfil SDS-PAGE da fração albumina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

A comparação entre o perfil protéico de B37+ e *o7* revelou apenas a presença de três proteínas de 41kDa, 25kDa e 17kDa expressas diferencialmente no endosperma mutante (Figura 10 A e B).

Em B7977+ e *o5* o perfil SDS-PAGE mostrou poucas diferenças para presença, ausência e intensidade das bandas. (Figura 10 A e B). Foi observada expressão induzida para uma proteína de 37kDa. Além de cinco proteínas de 67kDa, 66kDa, 44kDa, 41kDa e 16,50kDa expressas apenas no mutante.

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B77/79+	o5
91,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
67,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+
66,00	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
44,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
41,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+
40,00	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-
39,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38,00	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
37,50	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
37,00	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
36,00	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35,00	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
27,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,50	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
26,00	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	+	+
25,00	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
24,50	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+
23,00	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+
22,00	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
20,00	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
17,00	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-	-
16,50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14,00	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
13,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
8,00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-

Figura 10 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina de endosperma de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde); Banda de maior intensidade (roxo); Banda com intensidade reduzida (amarela)

O perfil protéico da zeína foi dividido em zeína1 (Figuras 11) e zeína2 (Figura 12). As proteínas na fração zeína1 estiveram distribuídas entre 9kDa e 70kDa. Foram observadas quatro bandas protéicas principais entre 22kDa e 27kDa, e outras bandas protéicas menores de baixa concentração entre 10kDa e 16kDa.

Nos mutantes de Oh43+, foi observada expressão reprimida de duas proteínas, entre 20kDa e 22kDa. No endosperma *fl2* foram reprimidas claramente cinco proteínas entre 20kDa e 27kDa. Também nos mutantes de W22+ foram registradas proteínas com expressão reprimida, principalmente em *o11* e *o13* entre 22kDa e 27kDa. Nos mutantes *o7*

e *o5* apesar de repressão da proteína 22kDa, o perfil foi muito similar a B37+ e B7977+, respectivamente.

As proteínas na fração zeína2 estiveram distribuídas entre 10kDa e 100kDa (Figura 12 A). O perfil zeína2 apresentou as principais bandas distribuídas entre 23kDa-27kDa, sendo que quando documentados géis com 500ng de proteína (Figura 12 B) foi possível observar duas bandas nítidas com 26kDa e 27kDa, ausentes aparentemente em *o2* e *o5*. O perfil da zeína2 resulta mais heterogêneo para um conjunto de bandas protéicas de baixa concentração distribuídas entre 30kDa e 100kDa. Contudo, o perfil zeína2 não mostrou diferenças muito contrastantes entre mutantes e genótipos controles. Assim, as principais proteínas da classe zeína1, foram majoritariamente afetadas pelos genes mutantes do que as proteínas da classe zeína2.

Figura 11 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

A Figura 13 A e B ilustram o perfil protéico da fração glutelina e as análises quanto à presença, ausência e intensidade das bandas. As bandas protéicas estiveram distribuídas entre 8kDa e 100kDa.

Os mutantes *o2* e *fl1* tiveram duas proteínas de 15kDa e 12kDa com expressão induzida. Foram também constatados a presença de proteínas com expressão restrita ao endosperma de *fl1* e *fl2* (21kDa) e *o2* e *fl1* (8kDa). Expressão reprimida de algumas proteínas foi constatada nos mutantes, sendo três proteínas de 25kDa, 24kDa e 23kDa em *o2* e *fl2*, uma proteína de 22kDa em *o2* e duas proteínas de 17kDa e 16kDa em *o1*. Apenas uma proteína de 23kDa esteve ausente em *o1* e *fl1*, mas presente em Oh43+, *o2* e *fl2*.

Figura 12 A - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

Figura 12 B - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata. Quantidade de proteína: 500ng

Figura 13 A - Perfil SDS-PAGE da fração glutelina de endosperma de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B77/79+	o5
100,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
99,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
85,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27,00	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+
26,00	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
25,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
23,00	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	-
22,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21,00	-	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+	-
18,00	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-
17,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
16,50	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
16,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13,00	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
12,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
9,00	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
8,00	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-

Figura 13 B - Análise SDS-PAGE* fração glutelina de endosperma de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde); Banda de maior intensidade (roxo); Banda com intensidade reduzida (amarela)

O perfil SDS-PAGE de W22+ e mutantes mostrou diferenças para presença, ausência e intensidade de bandas (Figura 13 A e B). Unicamente no mutante *o11* foram observadas duas proteínas de 27kDa e 26kDa com expressão induzida. No mutante *o11* houve repressão de uma proteína de 21kDa e em *o10* duas proteínas de 16,50kDa e 13kDa. Foi observado ausências de duas proteínas de 27kDa e 26kDa em *o10* e *o13*, de 23kDa em *o13*, de 16kDa, 12kDa e 8kDa em *o10*.

O perfil SDS-PAGE de B37+ e *o7* apresentaram diferenças para presença, ausência e intensidade de bandas (Figura 13 A e B). O mutante *o7* apresentou duas proteínas de 23kDa e 16,50kDa com expressão diferencial e quatro proteínas de 27kDa, 26kDa, 22kDa e 21kDa com expressão reprimida.

No perfil SDS-PAGE de B7977+ e o5 foram constatados que uma proteína de 75kDa foi induzida em o5 e a expressão diferenciada de uma proteína de 16kDa, além da expressão reprimida de quatro proteínas de 100kDa, 99kDa, 90kDa e 12kDa.

2.3.10 Quantidades de aminoácidos nas frações protéicas do endosperma

Houve diferenças nas quantidades de aminoácidos dentro de cada fração protéica, quando comparados os genótipos mutantes e selvagens. No endosperma os aminoácidos de maior concentração Nas proteínas de reserva corresponderam a GLU, HIS, ALA e LEU, entretanto os de menor concentração corresponderam a GLN, GLY, THR, MET e LYS.

A fração albumina de endosperma de milho foi caracterizada por apresentar quantidade elevadas de ASP, GLU e HIS, entretanto os menos representativos foram GLN, THR e MET.

Nos mutantes o1, o2, f11 e f12 houve aumentos nas quantidades de ASP e LYS, mas diminuição de GLU, GLN, GLY, THR (exceto f12), ALA, MET (exceto f12), PHE e LEU (Tabela 12). A quantidade significativa de LYS registradas dentro desta fração protéica representou aumentos de 40% em o1 e f11, de 50% em f12 e de 60% em o2. Nos mutantes houve redução de 53%-78% de THR e de 9%-30% de MET, exceto para f12 que registrou quantidades maiores as observadas em Oh43+.

Nos mutantes de W22+ foi observado aumento nos níveis de LEU e LYS, no entanto redução de GLN e MET (Tabela 13). Apesar dos mutantes apresentarem maiores quantidades de LYS, apenas o13 evidencio diferenças estatísticas significativas. Os incrementos de LYS nos mutantes foram de 31% em o10 e o11, e de 39% em o13. No entanto, MET e ILE mostraram baixas quantidades nos mutantes, redução de 18% e de 14%, respectivamente. Para THR, entretanto, as quantidades foram similares entre os genótipos, exceto para o10 que registrou 59% de redução.

As comparações entre o7 e B37+ determinaram na fração albumina do mutante aumento nas quantidades de ASN e LYS, e diminuição de GLN e LEU (Tabela 14). As quantidades significativas de LYS na fração albumina de o7 representou um aumento de 20% com relação aos níveis do controle. Embora o7 registrou quantidades maiores de MET e ILE, estatisticamente tanto THR, MET e ILE, não apresentaram diferenças significativas quando comparado a B37+.

Na fração albumina o5 registrou quantidades maiores de THR e LYS, mas quantidades menores de GLN comparado a B7977+ (Tabela 15). A quantidade de LYS na fração albumina de o5 significou um aumento de 24% com relação a B7977+. As quantidades de MET e ILE foram similares entre o5 e B7977+, entretanto THR registrou um incremento de 31%.

Foi observado diferenças nas quantidades de aminoácidos da fração globulina entre os mutantes e controles.

A globulina de endosperma de milho caracterizou-se por apresentar quantidades maiores de ASP, GLU e HIS, mas quantidades menores de SER, GLN, THR e MET.

Foi constatado que os mutantes o1, o2, f11 e f12 apresentaram quantidades maiores de ASP e LYS, mas níveis menores de SER e GLN (Tabela 12). Os níveis de LYS nos mutantes representaram aumentos de 39% em o1, de 48% em o2, de 43% em f11 e de 42% em f12, comparado aos níveis de LYS na fração globulina de Oh43+.

Nos mutantes o10, o11 e o13 apresentaram quantidades maiores essencialmente de LYS, mas quantidades baixas de THR (Tabela 13). As quantidades de LYS registradas nos mutantes significaram um incremento entre 30% e 34%, embora não teve significância estatística. Para MET e ILE as quantidades foram similares entre os genótipos, no entanto THR foi reduzida em 42% em o10; em 28% em o11; e em 32% em o13.

Na fração globulina de o7 foi constatada quantidades maiores de THR e LYS, mas quantidades menores de ALA (Tabela 14). O mutante registrou incremento de 40% de LYS e 18% de THR na fração globulina comparada a B37+.

O mutante o5 mostrou aumentos nas quantidades de ASN, TYR e LYS, porém quantidades menores de GLN e THR (Tabela 15). O mutante apresentou aumento significativo de LYS, aproximadamente 21,00%, entretanto 16% de redução de THR, mas não houve diferenças significativas para as quantidades de MET e ILE, comparado com B7977+.

A fração zeína foi caracterizada por apresentar quantidades elevadas de GLU, HIS, ALA e LEU, mas quantidades baixas de GLN, GLY, THR e MET. De fato, não foi detectada LYS nesta fração protéica. A composição da zeína1 nos mutantes de Oh43+ revelou aumento de ASN, HIS e MET, mas diminuição de GLN, GLY, THR e LEU (Tabela 12). Na zeína2 os mutantes apresentaram quantidades maiores de ASP, THR e ILE, mas diminuição nas quantidades de GLN e LEU comparado a Oh43+.

Comparando-se ambas as classes de zeína deve-se destacar, entre os produtos da via do aspartato, maior quantidade de MET e ILE na classe zeína1, e de THR na classe zeína2.

Na zeína1 os mutantes de W22+ apresentaram quantidades maiores de GLU, mas diminuição de GLY, ARG, THR e LEU (Tabela 13).

Para a fração zeína2 os mutantes registraram quantidades maiores de THR, mas quantidades menores de GLN, MET e LEU comparado a W22+.

Comparando ambas as classes de zeína deve-se destacar, entre os produtos da via do aspartato, maior quantidade de ILE na classe zeína1, e de MET e THR na classe zeína2.

Na composição da zeína1, o mutante o7 mostrou quantidades maiores de TYR, MET, PHE e ILE, mas redução nos níveis de ALA e LEU (Tabela 14).

Na composição da zeína2, o mutante registrou aumentos nas quantidades de ASN, ALA, TYR, MET e PHE, mas redução nas quantidades de GLU, GLN, HIS, GLY, THR, ARG e ILE comparado aos valores verificados em B37+.

Comparando ambas as classes de zeína para os produtos da via do aspartato, foram observadas quantidades maiores de ILE na classe zeína2, entretanto quantidades similares de MET e THR em ambas as classes zeína.

O mutante o5 mostrou níveis maiores de GLN, THR, TYR, VAL e PHE, entretanto diminuição de MET e LEU, na composição da classe zeína1.

Entretanto, para a classe zeína2, o mutante registrou quantidades maiores de ASP e quantidades menores de GLN e LEU, comparado a B7977+.

Para os produtos da via do aspartato, ambas as classes de zeína apresentaram quantidades similares de MET e ILE, mas zeína2 registrou quantidades maiores de THR.

A fração glutelina de endosperma de milho foi caracterizada por apresentar quantidades maiores de GLU, HIS, ALA e LEU, porém quantidades menores de GLN, GLY, THR e MET.

Na fração glutelina dos mutantes de Oh43+ foi observado aumento nas quantidades de LYS; mas diminuição nos níveis de GLN, GLY e THR (Tabela 12).

Os mutantes apresentaram aumentos de LYS de 40% em o1 e f11, de 52% em f12, e de 61% em o2. Para os aminoácidos derivados da via do aspartato MET, THR e ILE as quantidades foram similares entre mutantes e Oh43+, exceto para o2 com redução os níveis de THR.

A fração glutelina de *o10*, *o11* e *o13* apresentaram quantidades maiores de ILE e LYS, mas quantidades menores de GLN e LEU (Tabela 13). A LYS representou incrementos significativos de 37% em *o10*, de 33% em *o11*, e de 43% em *o13*, respectivamente, comparado aos valores de LYS registrados em W22+. Entretanto, não houve diferenças para as quantidades de MET e THR.

Na fração glutelina de *o7* foi observado aumento na quantidade de HIS, ARG, MET e LYS, mas diminuição nas quantidades de LEU (Tabela 14).

A quantidade de LYS em *o7* representou um incremento significativo de 20% em relação aos valores de B37+. No mutante houve também aumento significativo de MET, aproximadamente 17%; entretanto THR e ILE não foram estatisticamente diferentes do controle.

Na fração glutelina de *o5* apenas houve aumentos nas quantidades de ALA, mas diminuição de GLN, GLY, THR e ILE, comparado com B7977+ (Tabela 15). Embora *o5* apresentou quantidades maiores de LYS, aumento de 16%, não foi estatisticamente significante.

Para MET as quantidades foram similares, entretanto para THR e ILE o mutante registrou 48% e 13% de redução, respectivamente, com relação aos valores observados no genótipo controle.

Tabela 12 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho Oh43+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

(continua)

Quantidade de aminoácidos																	
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
Albumina																	
Oh43+	6,83	10,07	4,48	1,26	1,14	36,26	0,89	1,77	2,49	8,96	3,02	0,48	5,19	3,38	4,14	8,37	1,30
o1	8,31 **	9,07	4,35	1,13	0,40*	38,83	0,41	0,31*	2,10	10,71*	2,91	0,25*	3,88*	2,95*	3,88	7,41	3,06 **
o2	11,10 **	8,70*	2,98*	0,64*	...	38,51	...	0,21*	3,98	8,07*	2,42	0,25*	5,05	2,42*	3,73	6,64*	5,26 **
fl1	10,16 **	8,94	4,61	1,13	...	38,67	...	0,54*	2,03	10,94*	0,58*	0,40*	5,17	2,38*	3,97	6,86*	3,59 **
fl2	8,79 **	5,80*	2,43*	3,09 **	...	30,33 *	...	2,52 **	7,97 **	11,76*	6,86 **	1,45 **	4,10	1,64*	2,80	6,19*	4,23 **
CV%	4,56	4,21	4,38	11,04	...	3,55	...	9,73	13,29	2,89	7,10	3,90	7,23	3,33	9,66	3,89	3,97
Globulina																	
Oh43+	8,62	9,56	4,61	2,04	0,67	37,24	0,49	0,49	4,73	9,61	2,56	0,44	5,68	2,82	4,03	5,23	1,24
o1	9,37	8,68	4,85	2,20	...	38,30	0,44	0,59	4,19	8,49*	2,45	0,70	5,49	2,35	4,46	4,61	2,85**
o2	9,73**	10,70	4,83	2,11	...	32,67*	0,77**	0,30	5,18	9,09	2,35	0,66	5,86	3,21	4,33	5,16	3,60**
fl1	10,07**	10,10	4,17	1,20	0,93**	37,16	0,24*	0,23	3,89*	8,83	2,25	0,54	5,29	2,62	4,30	5,03	3,17**
fl2	10,20**	8,77	3,79	1,12*	0,53*	37,92	0,83**	0,62	3,53*	10,12	2,59	0,34	5,38	2,91	3,76	4,53	3,10**
CV%	2,49	9,20	7,41	14,39	8,32	1,92	11,80	29,79	4,42	3,25	6,58	16,26	4,92	8,58	10,71	5,23	8,47
Zeina1																	
Oh43+	5,19	20,18	4,26	1,67	0,65	11,07	0,80	1,24	1,50	13,36	3,73	0,85	5,02	5,96	4,88	19,70	...
o1	2,92*	14,6*	5,86**	1,50	0,29*	16,33**	0,98**	0,84*	0,73*	14,98	3,81	2,28**	3,40*	5,38	8,96**	17,14	...
o2	4,03	20,88	5,01	2,07	0,38*	15,62**	0,08*	0,46*	1,39	12,29	4,24	0,88	5,74	6,16	5,06	15,72*	...
fl1	4,85	17,00	5,75**	1,50	0,32*	14,42**	0,29*	0,38*	1,39	16,47**	4,87**	1,57**	5,96**	6,62	5,40	13,22*	...
fl2	4,52	21,37	5,40**	1,00*	0,35*	13,82**	...	0,29*	1,30	13,15	4,20	1,60**	5,03	6,58	5,19	16,21	...
CV%	8,51	7,26	5,98	10,98	12,89	4,71	7,73	7,58	10,54	4,63	7,13	6,83	4,95	5,75	6,59	6,67	...
Zeina2																	
Oh43+	2,03	14,30	3,61	0,74	4,30	38,69	0,69	0,76	2,28	8,38	2,87	0,92	6,18	1,64	2,53	10,16	...
o1	2,29	18,40	4,53	1,06	1,64*	36,92	0,66	1,06**	3,17	7,96	2,37	0,71	6,76	1,68	3,42	7,41*	...
o2	3,83**	15,50	4,31	4,53**	1,92*	35,44	0,53*	0,61	3,60	6,14	2,50	0,68	7,08	2,48**	3,47**	6,90*	...
fl1	3,15**	15,81	4,92	0,80	1,60*	38,62	1,00**	1,44**	3,04	7,03	2,75	0,94	6,60	1,53	3,59**	7,21*	...
fl2	3,51**	16,59	4,46	0,34	2,81*	39,63	0,83**	1,48**	2,96	6,08	2,84	0,81	5,95	1,93	3,37	6,42*	...
CV%	7,99	9,05	10,15	14,52	4,30	3,47	5,34	7,42	12,28	13,60	6,72	16,17	4,74	5,90	7,99	2,38	...

Tabela 12 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho Oh43+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

(conclusão)																	
Quantidade de aminoácidos																	
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
Glutelina																	
Oh43+	5,51	16,15	4,75	1,84	0,94	18,24	1,05	0,75	2,15	10,29	4,70	0,93	7,00	5,08	4,81	13,69	1,16
o1	6,06	15,91	4,79	1,94	0,38*	18,23	0,43*	0,63	2,79	11,49	3,70*	1,09	6,68	4,75	5,01	13,36	2,79**
o2	6,51**	13,98	4,41	1,80	0,63*	21,06	0,40*	0,35*	3,41**	10,76	3,42*	1,36	7,60	4,39*	5,43	10,61*	4,88**
fl1	4,63*	11,82*	3,52	1,37	0,35+	31,90**	0,29*	0,66	2,97	10,26	2,77*	1,33	6,09	3,57*	5,03	10,48*	2,95**
fl2	6,12	15,01	4,28	2,31	0,48*	17,12	0,42*	0,68	2,82	10,59	4,34	1,35	7,90	4,60	5,36	12,90	3,74**
CV%	3,31	7,18	16,47	14,06	13,24	5,82	8,55	8,50	10,24	6,73	4,95	13,47	5,88	3,69	6,78	4,33	10,18

(*) Significância em favor de Oh43+ ou (**) em favor do mutante. (...) Valores não detectados.

Tabela 13 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho W22+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de aminoácidos																	
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
Albumina																	
W22+	10,60	13,32	4,96	2,87	2,12	22,97	...	1,30	4,70	9,04	3,52	1,11	5,52	3,55	6,49	5,13	3,27
o10	9,77	11,91	6,47**	2,69	1,91	25,26	...	0,53*	4,04	8,91	3,14	0,76*	5,64	2,79	4,72*	7,06**	4,44
o11	17,16**	12,28	4,25	2,10	1,19*	21,14	...	1,07	3,81	8,53	3,16	0,77*	4,93	3,54	4,76*	7,02**	4,33
o13	8,53	9,59*	4,52	3,14	1,39*	24,06	...	1,40	3,83	10,56**	4,61**	0,78*	6,05	4,34	4,87	7,21**	5,14**
CV%	5,46	6,48	7,20	10,86	5,01	3,75	...	8,45	14,00	3,73	7,21	5,24	14,62	16,53	8,21	6,60	9,76
Globulina																	
W22+	10,48	12,57	3,97	2,01	0,36	26,18	0,34	1,24	5,94	8,96	2,79	0,55	7,22	3,02	4,75	6,18	2,49
o10	11,39	12,27	4,07	2,02	0,94	25,55	1,20**	0,50*	5,33	9,03	2,75	0,31*	6,76	2,99	4,54	5,55	4,83
o11	16,08**	11,43	3,63	2,00	1,05**	23,69	0,29	0,66*	5,07	8,66	2,21*	0,60	7,09	3,16	3,99	5,39	5,02
o13	9,11*	12,59	4,60	1,91	1,32**	25,39	0,78**	0,64*	5,37	8,80	3,01	0,48	7,47	3,23	4,52	6,21	4,60
CV%	4,14	3,96	4,55	12,53	18,02	3,18	8,87	12,79	7,67	7,01	3,55	11,17	3,13	5,26	4,81	7,19	14,90
Zeina1																	
W22+	3,82	18,05	5,66	1,92	0,67	12,41	0,90	0,72	2,26	13,73	3,47	0,95	6,57	5,09	4,96	18,88	...
o10	4,13	22,48**	5,02	1,58	0,60	15,08**	0,32*	0,82	1,25*	10,92*	4,64**	0,72	6,05	6,00	5,02	15,41*	...
o11	5,14**	21,49**	4,95	1,33	0,51	14,77	0,00	0,45*	1,20*	12,74	4,15	0,75	6,47	5,65	4,89	15,55*	...
o13	4,80	22,01**	4,77	1,56	0,64	14,83	0,57*	0,47*	1,01*	11,72	4,15	0,59*	6,76	5,42	5,26	15,48*	...
CV%	7,46	2,79	11,73	14,01	14,59	5,11	16,85	7,78	13,58	4,78	5,32	8,74	8,46	6,97	9,50	3,04	...
Zeina2																	
W22+	2,51	18,64	4,03	6,32	1,68	23,19	0,79	0,77	2,83	7,00	3,47	1,57	9,30	2,54	4,21	11,11	...
o10	2,18	18,03	4,76	5,81	1,37	24,73	1,32**	2,57**	3,85	5,74	4,32	1,51	9,76	2,42	3,37	8,29*	...
o11	3,93	20,61	4,99	5,75	0,49*	25,52	0,96	1,73**	3,44	5,47	2,78	1,01*	9,32	2,49	3,76	7,82*	...
o13	4,86**	20,53	4,63	5,14	0,50*	28,87	0,00	1,29	4,09	7,56	3,47	0,92*	3,91*	1,98	3,99	8,13*	...
CV%	17,91	6,80	7,13	11,50	13,69	9,60	13,94	14,60	15,12	13,69	13,17	6,35	4,48	14,98	12,01	7,58	...
Glutelina																	
W22+	5,32	17,96	4,49	2,21	0,57	16,59	0,54	1,11	2,38	11,69	4,14	1,57	5,76	5,08	4,35	14,66	1,64
o10	4,87	16,26	4,28	3,14	0,26*	15,88	0,45	2,02**	2,37	10,13	5,44**	1,21	5,70	5,97	5,28**	13,18*	3,60**
o11	6,64**	16,04*	5,08**	2,25	0,21*	17,84**	0,00	0,74	3,02	10,54	3,93	1,36	7,01**	4,54	5,19**	12,35*	3,28**
o13	5,66	17,30	4,26	1,93	0,41	16,96	0,28	0,58	2,14	11,62	3,65	1,37	6,36	4,49	4,75	14,08	4,19**
CV%	6,35	2,91	1,85	12,60	13,46	2,01	8,44	16,52	14,60	4,11	6,84	10,93	4,62	6,54	3,05	2,31	3,09

(*) Significância em favor de W22+ ou (**) em favor do mutante. (...) Valores não detectados.

Tabela 14 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho B37+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Quantidade de aminoácidos																	
Genótipo	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
Albumina																	
B37+	11,74	8,23	1,97	2,69	1,47	29,49	...	2,26	4,19	4,80	2,97	0,85	5,36	2,87	1,72	16,90	2,47
o7	11,74	7,83	2,87**	1,93	0,64*	30,11	...	2,77	3,02	4,82	2,92	1,27	5,85	2,80	2,62	14,95*	3,85**
CV%	1,04	8,64	8,52	12,76	12,58	5,91	...	8,53	16,19	14,20	17,04	17,52	9,99	19,03	21,89	1,19	5,73
Globulina																	
B37+	15,81	10,26	3,14	2,68	1,45	26,29	...	0,27	4,04	10,54	2,61	0,58	6,55	3,80	3,57	5,89	2,50
o7	14,71	10,91	5,29	2,76	0,67	25,75	...	0,39**	5,25	7,14*	3,14	0,55	6,11	2,94	3,43	5,06	5,91**
CV%	2,00	6,44	12,32	7,85	18,97	3,56	...	4,79	8,68	5,49	6,40	10,70	2,45	12,84	10,26	10,70	5,25
Zeina1																	
B37+	5,60	17,29	4,47	3,10	0,80	14,95	0,52	0,38	2,99	15,15	2,73	1,43	6,14	3,31	3,60	17,55	...
o7	4,03	19,13	4,70	1,68	0,31*	16,27	0,35	0,32	3,03	12,96*	4,30**	2,01**	6,45	4,13**	4,21**	16,13*	...
CV%	8,31	2,49	13,19	13,91	12,99	7,09	18,10	7,18	2,91	1,87	7,70	2,34	5,20	3,67	1,66	1,01	...
Zeina2																	
B37+	3,11	23,16	2,57	1,72	0,73	21,84	1,31	0,88	6,34	9,62	1,62	1,75	7,01	2,00	5,77	10,58	...
o7	4,28	20,35*	5,00**	1,78	0,33*	17,30*	0,37*	0,34*	3,22*	13,78**	4,57**	2,14**	6,86	4,40**	4,48*	10,79	...
CV%	8,75	2,11	12,49	16,42	12,89	3,17	7,62	5,01	2,47	3,68	19,67	3,93	5,60	5,24	3,32	3,84	...
Glutelina																	
B37+	4,96	17,41	5,39	1,61	0,40	15,69	0,45	0,26	1,69	9,54	3,90	1,51	7,23	5,21	4,75	18,28	1,70
o7	6,50	13,65	4,49	2,08	0,56	19,80**	0,41	0,67	3,20**	9,19	3,72	2,13**	7,14	4,24	5,40	14,28*	2,55**
CV%	6,40	6,42	8,17	15,05	7,62	2,39	7,75	29,19	5,77	5,70	6,93	5,66	11,56	6,18	5,20	4,71	8,44

(*) Significância em favor de B37+ ou (**) em favor do mutante. (...) Valores não detectados.

Tabela 15 - Valores médios de aminoácidos (mol%) das proteínas de reserva de endosperma de milho B7977+. Teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$)

Genótipo	Quantidade de aminoácidos																
	Asp	Glu	Asn	Ser	Gln	His	Gly	Thr	Arg	Ala	Tyr	Met	Val	Phe	Ile	Leu	Lys
Albumina																	
B7977+	11,08	15,58	1,75	1,39	2,29	24,76	...	0,83	4,37	6,00	2,00	1,06	5,77	1,86	2,26	16,50	2,51
o5	11,75	11,94	2,13	1,80	1,18*	26,93	...	1,57**	3,38	5,09	2,46	1,39	5,81	1,96	2,08	16,36	4,16**
CV%	2,07	8,78	19,10	6,17	11,24	6,31	...	12,28	14,45	5,99	21,76	8,97	10,71	9,47	10,15	9,93	3,33
Globulina																	
B7977+	10,98	12,19	4,13	1,52	0,95	22,64	...	1,18	5,57	9,86	2,53	0,66	7,14	4,08	6,06	7,12	3,40
o5	10,19	12,54	4,71**	2,87	0,36*	20,01	...	0,86*	5,60	8,60	3,81**	0,53	7,67	4,13	5,52	7,36	5,22**
CV%	4,54	13,64	2,99	17,89	7,55	4,08	...	3,96	13,27	3,27	8,92	7,21	3,25	2,03	14,50	2,14	5,86
Zeina1																	
B7977+	4,55	19,13	4,71	1,12	0,57	13,52	0,31	0,20	1,75	13,95	4,19	1,37	5,46	5,02	5,06	19,10	...
o5	4,95	20,70	5,26	1,27	0,88**	12,82	0,43	0,49**	1,99	12,40	4,85**	0,21*	6,75**	6,04**	4,92	16,05*	...
CV%	3,93	3,40	8,66	11,83	3,08	6,58	8,55	9,35	16,32	4,71	2,02	6,45	2,80	3,52	9,70	1,58	...
Zeina2																	
B7977+	3,19	21,66	3,79	3,24	1,03	22,21	0,73	0,82	3,92	5,17	2,65	0,55	7,40	2,82	5,65	15,16	...
o5	4,96**	21,13	5,62	4,55	0,72*	23,31	0,69	1,08	5,38	6,36	3,85	0,79	7,29	2,68	4,33	7,26*	...
CV%	5,56	0,65	11,17	15,29	7,77	4,60	7,10	10,51	9,20	10,33	9,85	12,29	8,14	7,31	11,07	8,40	...
Glutelina																	
B7977+	5,96	15,65	3,46	3,28	1,55	16,42	1,41	1,11	3,01	10,15	3,68	1,44	7,36	5,16	6,23	12,46	1,66
o5	6,69	16,14	5,22	2,25	0,23*	19,24	0,35*	0,39*	3,07	11,01**	3,61	1,14	7,40	4,08	4,75*	12,13	2,30
CV%	2,21	6,88	9,87	14,83	2,86	9,73	1,70	9,51	7,17	0,33	9,11	14,80	3,06	9,90	5,24	0,69	11,70

(*) Significância em favor de B7977+ ou (**) em favor do mutante. (...) Valores não detectados.

2.3.11 Quantidade de proteínas de reserva do embrião

O embrião é caracterizado por apresentar proteínas de maior qualidade com relação ao endosperma devido principalmente ao baixo conteúdo de zeína. Portanto, estudos foram conduzidos para determinar em que proporções ocorrem às frações protéicas e as variações nos perfis protéicos SDS-PAGE.

A quantidade de proteínas de reserva foi similar entre mutantes e os genótipos controles. Foi constatado que a principal fração protéica do embrião corresponde à globulina, representando entre 54% e 70% do total de proteínas de reserva; seguido pela albumina que variaram entre 18% e 34%. A glutelina e a zeína, foram às proteínas de menor concentração no embrião, representando 6% do total de proteínas. Embora os mutantes apresentassem quantidades menores de zeína às diferenças foram pequenas quando comparado aos controles.

Tabela 16 - Quantidade de proteína de reserva do embrião de milho

Proteínas de reserva de embrião de milho											
Genótipo	Globulina		Albumina		Zeína1		Zeína2		Glutelina		Total
	mg/g*	%**	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g	%	mg/g
Oh43+	6,28	63,02	2,16	21,71	0,58	5,83	0,24	2,41	0,70	7,03	9,97
o1	7,83	69,77	2,05	18,24	0,41	3,64	0,23	2,08	0,70	6,28	11,22
o2	8,05	64,94	2,89	23,34	0,41	3,31	0,27	2,20	0,77	6,21	12,40
fl1	6,89	64,87	2,29	21,55	0,47	4,46	0,22	2,07	0,75	7,06	10,62
fl2	7,54	66,13	2,50	21,91	0,41	3,62	0,25	2,22	0,70	6,11	11,40
W22+	5,66	56,60	2,89	28,92	0,51	5,13	0,22	2,16	0,72	7,19	10,01
o10	6,85	61,38	2,86	25,59	0,48	4,27	0,21	1,88	0,77	6,87	11,17
o11	6,78	59,23	3,24	28,31	0,47	4,11	0,26	2,31	0,69	6,05	11,45
o13	7,51	61,98	3,21	26,51	0,41	3,37	0,24	1,94	0,75	6,19	12,12
B37+	6,73	59,65	3,16	28,02	0,52	4,61	0,22	1,95	0,65	5,77	11,27
o7	7,32	61,37	3,10	26,02	0,50	4,16	0,27	2,26	0,74	6,18	11,93
B7977+	5,72	55,48	3,30	31,99	0,45	4,35	0,21	2,03	0,63	6,15	10,32
o5	6,89	60,69	3,13	27,52	0,41	3,58	0,22	1,97	0,71	6,24	11,36

*Valor médio expressado em mg proteína/g farinha. Corresponde a três repetições.

**Valor percentual de cada fração protéica do total de proteínas de reserva.

Foi verificado que as quantidades de albumina, globulina e glutelina do embrião foram similares entre os mutantes e os controles. No embrião o5 houve 14% de redução de

albumina. Também foi observado redução de glutelina, sendo de 13% em *fl2* e 16% em *o11* e *o13*.

A quantidade de zeína entre os diferentes genótipos mostrou pouca variação, entre mutantes e os genótipos selvagens.

2.3.12 Análise das proteínas de reserva de embrião por SDS-PAGE

Posterior a quantificação das proteínas as pesquisas foram direcionadas para determinar o perfil SDS-PAGE. Comparativamente, no embrião foi observado um número maior de bandas na fração albumina, globulina e glutelina do que as registradas no endosperma. Os pesos moleculares das proteínas variaram entre 8kDa e 160kDa.

Para a fração globulina os perfis protéicos foram similares entre genótipos selvagens e os mutantes (Figura 14 A e B), com bandas distribuídas entre 8kDa e 105kDa. A maior heterogeneidade de bandas no perfil SDS-PAGE foi observado entre os mutantes do background Oh43+ e W22+.

A Figura 14 A e B ilustram o perfil protéico e as análises quanto à presença, ausência e intensidade das bandas para Oh43+ e mutantes. Nos quatro mutantes foi observada expressão induzida de uma proteína de 10kDa; em *o2* e *fl2* para proteínas de 100kDa, 63kDa, 58kDa, 55kDa, 50kDa, 49kDa, 45kDa, 43kDa, 40kDa, 39kDa, 38kDa, 34kDa, 33kDa e 15kDa; e também para *o2* e *fl1* proteínas de 16kDa e 15kDa. Expressão diferenciada ao embrião dos quatro mutantes foi observada para proteínas com 31kDa, 26kDa, 20kDa e 16,50kDa, além de uma banda de 28kDa restrita a *o2*, *fl1* e *fl2*. Também foi verificada a ausência de três proteínas em *o1* (28kDa, 23kDa e 18,50kDa) e outra em *fl1* (18,50kDa).

A Figura 14 A e B ilustram o perfil protéico e as análises quanto à presença, ausência e intensidade das bandas de W22+ e mutantes. Proteínas com expressão induzida foram observadas unicamente em *o10* (100kDa, 50kDa 49kDa, 15,50kDa e 15kDa). As proteínas com expressão limitada aos mutantes tiveram ampla distribuição. Uma proteína de 95kDa coincidiu nos três mutantes, entretanto uma proteína de 90kDa foi observada apenas em *o10*, outra de 29 kDa em *o10* e *o13*, também em *o10* e *o11* uma proteína de 25kDa, em *o11* e *o13* uma proteína de 23,50kDa, e em *o13* uma de 18,50kDa. Houve também proteínas com expressão reprimida nos mutantes, em *o13* duas proteínas de 70kDa e 65kDa e em *o10* e *o11* uma proteína de 10kDa. Ainda, foi constatado a ausência de algumas proteínas entre os mutantes, três proteínas em *o11* e *o13* (90kDa, 23kDa e 17,50kDa), duas em *o11*

(29kDa e 20kDa), uma em *o10* e *o13* (28kDa), uma apenas em *o13* (25kDa), e uma proteína em *o10* e *o11* (16,50kDa).

A Figura 14 A e B ilustram o perfil protéico e as análises quanto à presença, ausência e intensidade das bandas do mutante *o7* e B37+. O mutante mostrou uma proteína de 100kDa com expressão induzida; outras três proteínas de 90kDa, 25kDa e 23kDa foram expressas apenas no mutante; e uma proteína de 10kDa com expressão reprimida.

O perfil protéico de *o5* e B7977+, revelou 11 proteínas de 100kDa, 58kDa, 55kDa, 50kDa, 49kDa, 40kDa, 33kDa, 16kDa, 15,50kDa, 15kDa e 10kDa de maior intensidade no mutante *o5* quando comparado a B7977+.

Na fração albumina as proteína se distribuíram entre 8kDa e 160kDa e foi à fração que apresentou a maior variabilidade de bandas entre os genótipos avaliados (Figura 15 A e B).

O perfil protéico dos mutantes de Oh43+ revelou expressão induzida de duas proteínas de 32kDa e 9kDa nos quatro mutantes, também para uma proteína de 160kDa em *o2*, *f11* e *f12* e outra de 15kDa em *f11* e *f12*. Expressão diferenciada foi constatada para cinco proteínas de 33,50kDa, 26kDa, 20kDa, 16,50kDa, 13kDa e 10kDa nos mutantes. Apenas *o1* apresentou três bandas protéicas com expressão reduzida (80kDa, 75kDa e 50kDa), quando comparadas ao controle. A ausência de bandas entre os mutantes também foi constatado, assim o mutante *o1* não apresentou uma banda de 160kDa; *o1* e *f12* uma banda de 19kDa; e *o1*, *o2* e *f12* uma banda de 16kDa.

Nos mutantes de W22+ foi observada expressão induzida para proteínas de 40kDa e 34kDa; particularmente em *o10* e *o11* para proteínas de 75kDa, 50kDa e 39kDa; em *o11* e *o13* para 10kDa e 15kDa; em *o10* e *o13* para 28kDa; e em *o13* para uma proteína de 9kDa. Expressão diferencial foi observada para duas proteínas de 60kDa e 49kDa nos quatro mutantes; em *o13* duas proteínas de 35kDa e 8kDa; em *o11* três de 26,50kDa, 25kDa e 23kDa; e em *o10* e *o13* uma proteína de 22kDa. Apenas em *o11* foi observada uma proteína de 20kDa com expressão reprimida. Ausência de várias proteínas foi verificada no embrião dos mutantes, três em *o10* (69kDa, 10kDa e 9kDa); duas em *o11* (28kDa e 22kDa); seis em *o10* e *o13* (27kDa, 26,50kDa, 25kDa, 23kDa, 19kDa e 16,50kDa); outras duas em *o11* e *o13* (25,50kDa e 16kDa); e duas proteínas em *o10* e *o11* (17kDa e 8kDa).

Figura 14 A - Perfil SDS-PAGE da fração globulina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

kDa	Oh43+	o1	o2	f11	f12	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B79/77+	o5
105,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
95,00	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
90,00	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
89,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
85,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
65,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
63,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
59,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
58,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39,00	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29,00	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
28,00	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
27,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25,00	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-
24,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23,50	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-
23,00	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+
20,00	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	-
18,50	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
18,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
17,50	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+
17,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
16,50	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
16,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Figura 14 B - Análise SDS-PAGE* da fração globulina de endosperma de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde); Banda de maior intensidade (roxo); Banda com intensidade reduzida (amarela)

Figura 15 A - Perfil SDS-PAGE da fração albumina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

O mutante *o7* apresentou dez bandas protéicas com expressão induzida (70kDa, 50kDa, 40kDa, 32kDa, 24kDa, 18kDa, 15kDa, 11kDa, 10kDa e 9kDa), e também quatro proteínas (69kDa, 25kDa, 23kDa, 20kDa e 19kDa) expressas apenas no mutante (Figura 15 A e B).

O perfil SDS-PAGE de *o5* não registrou proteínas com expressão induzida quando comparadas com o perfil do genótipo controle (Figura 15 A e B). Porém, foram observadas proteínas de 33kDa, 28kDa, 23kDa e 19kDa expressas apenas no embrião do mutante. Bandas protéicas com expressão reprimida também foram constatadas para 160kDa, 100kDa, 32kDa e 18kDa.

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B79/77+	o5
160,00	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
140,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
139,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
130,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
105,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
95,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
93,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
69,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
67,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
63,00	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
60,00	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49,00	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
45,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
39,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
33,50	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-
33,00	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+
32,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28,00	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+
27,50	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
27,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26,50	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
26,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25,50	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
25,00	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
24,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23,00	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	+
22,00	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-
20,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
19,00	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+
18,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,00	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
16,50	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
16,00	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Figura 15 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina de embrião de milho

kDa	Oh43+	o1	o2	f11	f12	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B79/77+	o5
15,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10,00	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
9,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
8,00	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Figura 15 B - Análise SDS-PAGE* da fração albumina de embrião de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde) Banda de maior intensidade (roxo); Banda com intensidade reduzida (amarela)

As Figuras 16 e 17 ilustram os perfis protéicos da fração zeína. As principais bandas protéicas estiveram distribuídas entre 10kDa e 27kDa para zeína1, entretanto para zeína2 a distribuição foi entre 20kDa e 27kDa.

Na classe zeína1 os mutantes apresentaram expressão reprimida da proteína de 22kDa, além das proteínas distribuídas entre 10kDa e 16kDa presentes em baixas concentrações. Entretanto, na classe zeína2 o perfil protéico foi similar entre os genótipos.

O mutante *f12* apresentou a maior redução na intensidade das proteínas, e ainda *o2*, *f11* e *f12* tiveram ausência da proteína de 10kDa, presente em Oh43+ e *o1*.

As Figuras 18 A e B ilustram os perfis protéicos da fração glutelina e as análise quanto à presença, ausência e intensidade das bandas entre os genótipos.

Na fração glutelina as proteínas se distribuíram entre 8kDa e 100kDa. O perfil protéico apresentou variabilidade no número e intensidade das bandas quando comparados os mutantes e os controles respectivos.

Aumentos de intensidade das proteínas nos mutantes *o1*, *o2*, *f11* e *f12* foram observados para as proteínas de 56kDa, 55kDa, 37kDa, 18kDa, 17,50kDa, 17kDa e 8kDa quando comparados com o perfil de Oh43+.

A presença de proteínas nos quatro mutantes foi verificada para 28kDa, 26kDa, 24kDa, 13kDa, 10kDa e 9kDa; e duas proteínas com expressão limitada a *o2* de 68kDa e 22kDa. Apenas uma proteína de 25kDa teve expressão reprimida nos quatro mutantes quando comparados com Oh43+. Ausência de bandas nos mutantes foi também verificado, em *o1*, *f11* e *f12* três proteínas de 68kDa, 64kDa e 22kDa e em *o2* uma proteína de 22kDa.

Figura 16 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína1 de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

O mutante *o10* apresentou duas proteínas de 25kDa e 23kDa com expressão induzida quando comparada com o controle (Figura 18 A e B).

As proteínas com expressão limitada ao embrião dos mutantes foram três de 37,50kDa, 23,50kDa e 13kDa; e outras duas de 16,75kDa e 16,50kDa especificamente em *o10*. Proteínas com expressão reprimida foram também constatadas, duas de 45kDa e 23kDa em *o11* e *o13* e uma proteína de 37kDa em *o11*.

Figura 17 - Perfil SDS-PAGE da fração zeína2 de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

Foi constatada também a ausência de algumas proteínas nos mutantes, assim em *o11* e *o13* foram cinco proteínas (80kDa, 16,75kDa, 16,50kDa, 11kDa e 10kDa); em *o13* uma de 68kDa; em *o10* e *o11* uma de 54kDa; em *o10* e *o13* uma de 28kDa; em *o11* duas de 27kDa e 9kDa; e em *o10* duas proteínas de 16kDa e 15,50kDa.

A Figura 18 A e B ilustram o perfil protéico e a análise quanto à presença, ausência e intensidade das bandas em *o7* e B37+.

Figura 18 A - Perfil SDS-PAGE da fração glutelina de embrião de milho. 1) Oh43+; 2) *o1*; 3) (*o2*); 4) *fl1*; 5) *fl2*; 6) W22+; 7) *o10*; 8) *o11*; 9) *o13*; 10) B37+; 11) *o7*; 12) B7977+; 13) *o5*. P padrão molecular Invitrogen. Coloração com nitrato de prata

No embrião *o7* foram constatadas quatro proteínas de 70kDa, 25kDa, 23kDa e 13kDa com expressão induzida. Três bandas protéicas de 42kDa, 22kDa e 15,50kDa foram expressas apenas no mutante. Duas proteínas de 45kDa e 16kDa apresentaram expressão reduzida em *o7*.

O perfil protéico de *o5* e B7977+ e as análises quanto à presença, ausência e intensidade das bandas são ilustrados na Figura 18 A e B, respectivamente.

Quando comparado o perfil de bandas de *o5* e B7977 houve duas proteínas de 27kDa e 19kDa com expressão limitada ao embrião mutante.

Outras cinco bandas protéicas de 50kDa, 45kDa, 25kDa, 23kDa e 16kDa mostraram expressão induzida.

kDa	Oh43+	o1	o2	fl1	fl2	W22+	o10	o11	o13	B37+	o7	B79/77+	o5
100,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
90,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
80,00	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
75,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
68,00	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
66,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
64,00	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+
62,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
55,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54,00	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+
50,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
42,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
39,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37,50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
37,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
32,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
31,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28,00	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
27,00	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
26,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24,00	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23,50	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
23,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22,00	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
19,00	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
18,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,50	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16,75	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
16,50	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
16,00	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
15,50	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
15,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13,00	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
11,00	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
10,00	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
9,00	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
8,00	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Figura 18 B - Análise SDS-PAGE* da fração glutelina de embrião de milho. *Banda exclusiva do mutante (verde), Banda de maior intensidade (roxo); Banda com intensidade reduzida (amarela)

2.3.13 Perfil bidimensional das proteínas de reserva do endosperma

Na semente de milho o endosperma representa o tecido de reserva de nutrientes e é responsável pela germinação e primeiras etapas do desenvolvimento da plântula, portanto foi conduzido e analisado o perfil protéico bidimensional das frações albumina, globulina e glutelina do endosperma após ter retirado o embrião.

Os estudos foram focalizados para o grupo de mutantes originados a partir de OH43+.

Embora no perfil das frações protéicas o número de spots obtido foi muito grande nos diferentes genótipos, apenas umas poucas proteínas caracterizaram os mutantes com relação ao controle. Com tudo, deve-se ressaltar que as comparações de spots, mutantes *versus* controle, visaram incluir nas análises aqueles spots que fossem nítidos e de maior concentração.

Foi observado que o perfil protéico 2D-PAGE das frações teve concordância na distribuição de tamanhos das proteína, entre 10kDa e 100kDa, com o perfil obtido através de SDS-PAGE.

A análise de cada spot foi feita de acordo com Wilkins et al. (2001). A área, densidade e percentagem de volume (%Vol) de cada spot protéico de cada perfil foram analisadas.

As Tabelas (Ver anexo) apresentam os dados referentes à área, densidade e volume de cada spot dos perfis das frações protéicas de cada genótipo.

Proteínas foram consideradas expressas diferencialmente quando a média da %Vol do spot dos mutantes era pelo menos 1,50 vezes maior ou menor do que o respectivo spot do tipo selvagem, Oh43+.

Presença e ausência de spots de proteínas foram observadas quando os perfis de cada mutante foram comparados ao do Oh43+.

2.3.13.1 Fração Globulina

A Figura 20 ilustra os perfis protéicos das amostras da fração globulina do grupo Oh43+ e *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2*, respectivamente, revelando que os mesmos foram muito similares entre si. Entretanto, o perfil protéico revelou várias proteínas exclusivas dos mutantes e não observadas no controle.

A distribuição das proteínas da fração globulina foi entre 107kDa e 9kDa, entretanto os valores de *pI* na faixa de 3,31-9,65 (Tabela 20-24 em Anexos).

Os spots protéicos desta fração foram mais abundantes na faixa de 100kDa e 30kDa. Ainda, os mutantes *fl1*, *fl2* e Oh43+ apresentaram proteínas em elevadas quantidades na faixa de 30kDa a 20kDa e valores de *pI* de 8,50-9,65 que nem sempre permitiu a visualização individual das proteínas.

A Tabela 17 lista comparativamente as proteínas com os valores de PM e *pI* dos genótipos avaliados. O perfil dos mutantes registrou um total de 25 proteínas com valores de %Vol $\leq 1,5$ de intensidade que corresponderam com 20 proteínas em Oh43+. Ainda, os mutantes revelaram 18 proteínas não observadas no perfil protéico do genótipo controle.

Das 25 proteínas de maior intensidade nos mutantes, listadas na Tabela 17, em *o1* foram determinadas onze proteínas (54kDa, 41kDa, 43kDa, 34kDa, 32kDa, 30kDa, 25kDa, 13kDa, 11kDa, 10kDa e 8kDa); em *o2* reveladas cinco proteínas (81kDa, 72kDa, 68kDa, 54kDa e 19kDa); em *fl1* registradas nove proteínas (81kDa, 72kDa, 68kDa, 67kDa, 54kDa, 44kDa, 40kDa, 30kDa e 18kDa); e em *fl2* constatadas seis proteínas (81kDa, 72kDa, 60kDa, 43kDa, 40kDa e 13kDa).

As proteínas presentes apenas no perfil dos mutantes mostraram variações em tamanho e número de proteínas, assim em *o1* foram sete proteínas (23kDa, 15kDa, 13kDa, 12kDa, 11kDa e 10kDa); em *o2* apenas uma proteína (24kDa); em *fl1* constatadas sete proteínas (29kDa, 28kDa, 23kDa, 20kDa, 16kDa e 11kDa); e em *fl2* foram cinco proteínas (54kDa, 45kDa, 44kDa, 21kDa e 11kDa).

Foi verificado que os genes mutantes afetaram em comum a expressão de algumas proteínas: I) 81kDa e 72kDa (*o2*, *fl1* e *fl2*); II) 68kDa (*o2* e *fl1*); III) 54kDa (*o1*, *o2* e *fl1*); IV) 40kDa (*fl1* e *fl2*); V) 30kDa (*o1* e *fl1*); e VI) 13kDa (*o1* e *fl2*). Se considerado apenas as proteínas presentes no perfil dos mutantes houve coincidência para: I) 23kDa (*o1* e *fl1*) e II) 11kDa (*o1*, *fl1* e *fl2*).

Nos resultados obtidos na análise de 2D-PAGE da fração globulina houve o aumento na expressão de certas proteínas e a síntese de novas proteínas, sugerindo que os genes mutantes promoveram estas mudanças.

2.3.13.2 Fração Albumina

A Figura 20 ilustra os perfis protéicos das amostras da fração albumina do grupo Oh43+ e *o1*, *o2*, *f11* e *f12*, respectivamente, revelando que os mesmos foram muito similares entre si. Entretanto, o perfil protéico revelou várias proteínas exclusivas dos mutantes e não observadas no controle.

Os PM das proteínas ficaram distribuídos entre 120kDa e 9kDa e o pI entre 8,0 e 4,2 (Tabela 25-29 em Anexos). Os spots protéicos desta fração foram mais abundantes na faixa de 100kDa e 25kDa.

A Tabela 18 lista comparativamente as proteínas com os valores de PM e pI dos genótipos avaliados. O perfil da albumina dos mutantes registrou um total de 52 proteínas de maior intensidade que corresponderam com 43 proteínas em Oh43+; um número maior de proteínas se comparado com a fração globulina. Ainda, os mutantes revelaram 31 proteínas que não foram observados no perfil protéico do genótipo controle, exceto para *f11*.

Das 52 proteínas de maior intensidade nos mutantes, listadas na Tabela 18, em *o1* foram determinadas 10 proteínas (66kDa, 62kDa, 45kDa, 44kDa, 43kDa, 40kDa, 39kDa, 27kDa, 26kDa, 25kDa, 16kDa e 15kDa, 14kDa, 13kDa e 12kDa); em *o2* foram 16 proteínas (105kDa, 70kDa, 62kDa, 53kDa, 52kDa, 42kDa, 39kDa, 35kDa); em *f11* foram observadas 15 proteínas (105kDa, 88kDa, 73kDa, 72kDa, 60kDa, 58kDa, 48kDa, 42kDa, 26kDa e 23kDa); e em *f12* foram também 10 proteínas (105kDa, 70kDa, 53kDa, 52kDa, 42kDa, 39kDa e 35kDa).

As proteínas presentes somente nos mutantes mostraram variações em tamanho e quantidade de proteínas, em *o1* foram oito proteínas (77kDa, 54kDa, 49kDa, 27kDa, 16kDa, 12kDa e 11kDa); em *o2* corresponderam treze proteínas (65kDa, 64kDa, 53kDa, 48kDa, 45kDa, 44kDa, 26kDa, 15kDa e 11kDa); e em *f12* foram dez proteínas (69kDa, 54kDa, 51kDa, 49kDa, 48kDa, 45kDa, 40kDa, 26kDa, 14kDa e 13kDa). Não foram observados proteínas com expressão restrita ao mutante *f11*.

Entretanto, foi verificado que os genes mutantes afetaram em comum certas proteínas; por exemplo: 105kDa (*o2*, *f11* e *f12*); II) 70kDa, 53kDa e 52kDa (*o2* e *f12*), 39kDa (*o1*, *o2* e *f12*) e 35kDa (*o2* e *f12*). Se considerados as proteínas presentes apenas nos mutantes, houve coincidência para: I) 26kDa (*o2* e *f12*); II) 16kDa (*o1* e *f12*); e III) 12kDa (*o1* e *o2*).

Os resultados mostraram que nos mutantes houve mudanças na composição das proteínas da fração albumina, promovido pelo aumento de expressão de certas proteínas, como também a síntese de novas proteínas.

Comparado com o perfil da globulina constatou-se nesta classe de proteínas de reserva um número maior de proteínas induzidas pelos genes mutantes.

2.3.13.3 Fração Glutelina

A Figura 21 ilustra os perfis protéicos das amostras da fração glutelina do grupo Oh43+ e *o1*, *o2*, *f11* e *f12*, respectivamente, revelando que os mesmos foram muito similares entre si.

A distribuição das proteínas da fração glutelina foi entre 121kDa e 6kDa, entretanto os valores de pI na faixa de 3,3-9,5 (ver Tabela 30-34 em Anexos).

Os spots protéicos desta fração foram mais abundantes na faixa de 90kDa e 20kDa. Ainda, os genótipos apresentaram proteínas de elevadas quantidades, principalmente na faixa de 30kDa a 20kDa e valores de pI de 8,0-9,5 que nem sempre permitiu a visualização individual das proteínas.

A Tabela 19 lista comparativamente as proteínas com os valores de PM e pI dos genótipos avaliados. O perfil dos mutantes registrou um total de 51 proteínas com maior intensidade que se correspondeu com 37 proteínas em Oh43+. Ainda, os mutantes revelaram 37 proteínas que não foram observados no perfil protéico do genótipo controle.

Das 37 proteínas de maior intensidade nos mutantes, para o endosperma *o1* corresponderam dez proteínas (109kDa, 81kDa, 65kDa, 64kDa, 53kDa e 34kDa); para *o2* foram reveladas dezesseis proteínas (109kDa, 72kDa, 70kDa, 71kDa, 56kDa, 55kDa, 52kDa, 49kDa, 27kDa e 26kDa); em *f11* foram registradas quinze proteínas (78kDa, 70kDa, 65kDa, 63kDa, 61kDa, 60kDa, 59kDa, 57kDa, 56kDa, 55kDa, 54kDa, 47Da, 45kDa, 40kDa e 26kDa); e em *f12* constatadas dez proteínas (109kDa, 90kDa, 70kDa, 56kDa, 52kDa, 30kDa, 27kDa, 26kDa e 25kDa).

As proteínas presentes apenas no perfil dos mutantes mostraram variações de tamanho e na quantidade de proteínas entre mutantes, assim em *o1* foram observadas sete proteínas (60kDa, 55kDa, 53kDa, 60kDa, 29kDa e 31kDa); em *o2* foram oito proteínas (70kDa, 36kDa, 33kDa, 12kDa e 11kDa); em *f11* constatadas seis proteínas (38kDa, 37kDa,

29kDa e 23kDa); e em *fl2* foram quinze proteínas (97kDa, 88kDa, 73kDa, 72kDa, 71kDa, 70kDa, 58kDa, 53kDa e 51kDa).

Entretanto, foi verificado que os genes mutantes afetaram proteínas em comum (Tabela 19), por exemplo: I) 109kDa (*o1*, *o2* e *fl2*); II) 70kDa e 26kDa (*o2*, *fl1* e *fl2*); III) 66kDa (*o1* e *fl1*); IV) 57kDa (*fl1* e *fl2*); e 52kDa e 27kDa (*o2* e *fl2*). Se considerados as proteínas presentes apenas nos mutantes verificou-se coincidência para uma proteína de 53kDa em *o1* (ID119) e *fl2* (ID130).

Foi observado nos mutantes aumentos nas quantidades de certas proteínas da fração glutelina como também a síntese aparente de novas proteínas. Provavelmente os genes mutantes promoveram o aumento na expressão de certas proteínas e principalmente na síntese de novas proteínas.

Comparado às análises do perfil da globulina e albumina, a fração glutelina apresentou um número maior de proteínas com expressão restrita ao endosperma dos mutantes.

Os resultados decorrentes da análise 2D-PAGE sugerem que genes mutantes *opaco* e *floury*, provocaram aumentos nas quantidades de algumas proteínas dentro da fração não zeína. Ainda, haver a possibilidade de estes genes mutantes promoverem a síntese de novo de proteínas.

Por outro lado, foi observado que estes genes não alélicos afetaram o aumento na expressão de proteínas com similar PM e pI, sugerindo a existência de mecanismos alternativos que colaboram regulando a expressão dos genes que codificam para as proteínas de reserva da semente de milho.

Deve-se aclarar que os valores de pI teóricos devem ser confirmados com valores obtidos após o sequenciamento e identificação dos spots protéicos (valores de pI observados). Ditos spots foram retirados do gel e processado por degradação com tripsina para serem identificados via espectrometria de massa.

Figura 19 - Perfil 2D-PAGE da fração globulina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) o1, C) o2, D) *f1* e E) *f2*. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL

Tabela 17 - Comparação de spots* da fração globulina de endosperma de milho Oh43+

Spots da fração globulina														
Oh43+			o1			o2			fl1			fl2		
Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw
20	5,63	81				13	5,65	81	20	5,63	81	25	5,63	81
29	5,57	72				18	5,57	72	36	5,54	72	36	5,55	72
34	5,74	68				20	5,72	68	42	5,71	68			
38	5,95	67							43	5,92	67			
54	6,19	60										62	6,15	60
65	5,80	54	92	5,83	54	45	5,77	54	68	5,77	54			
85	7,13	44							92	7,21	44			
88	7,83	41	150	8,17	41									
89	8,04	43	148	8,43	43							103	8,27	43
107	7,59	40							96	7,67	40	118	7,86	40
109	5,09	34	185	5,14	34									
124	4,84	32	208	4,91	32									
125	3,68	30	213	3,68	30				128	4,85	30			
137	5,56	25	228	5,66	25									
154	4,04	19				100	4,02	19						
155	8,16	18							163	8,43	18			
162	5,53	13	273	5,62	13							170	5,58	13
163	5,27	11	276	5,37	11									
167	6,66	10	286	6,79	10									
168	6,68	8	289	6,87	8									

Spots limitados ao perfil dos mutante														
o1			o2			fl1			fl2					
Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw			
												95	8,07	45
												94	7,76	44
									134	4,09	29			
									136	3,94	28			
									137	4,07	28			
						99	8,7	24						
			251	7,92	23				153	7,81	23			
												162	8,78	21
									164	7,66	20			
									168	7,71	16			
			267	4,04	15									
			274	4,98	13									
			275	5,11	13									
			280	7,71	12									
			282	4,74	11				181	4,61	11	171	4,61	11
			288	6,83	10									

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Figura 20 - Perfil 2D-PAGE da fração albumina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) *o1*, C) *o2*, D) *fl1* e E) *fl2*. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL

Tabela 18 - Comparação de spots* da fração albumina de endosperma de milho Oh43+

(continua)

Spots da fração albumina														
Oh43+			o1			o2			fl1			fl2		
Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw
4	6,87	105										13	7,02	105
5	6,99	105				19	6,94	105				12	7,17	105
6	6,52	105				7	6,45	105	5	5,10	105	9	6,63	105
7	6,42	105				9	6,35	105						
11	6,30	105				8	6,25	105						
24	5,90	89							20	5,72	88			
46	5,81	74							42	5,79	73			
47	5,68	73							40	5,64	72			
51	6,97	70				75	6,85	70				74	7,08	70
52	7,04	70				78	6,98	70						
53	7,13	70				83	7,05	70						
54	7,21	70				84	7,13	70						
62	5,86	65	50	5,91	66									
73	6,02	62				105	6,00	62						
74	6,67	62	55	6,63	62									
79	5,82	60							75	5,36	60			
82	5,36	58							86	5,21	58			
84	5,24	58							81	5,62	58			
93	7,00	53				135	6,88	53				151	7,10	53
96	7,12	52				136	7,01	52				152	7,23	52
101	5,89	48							115	5,65	48			
112	7,88	45	157	7,06	45									
117	5,70	44	148	5,78	44									
118	7,37	42							136	7,13	42			
119	7,60	43										214	7,74	43
120	5,62	43	160	5,69	43									
121	7,14	42				167	7,03	42						
123	7,44	42							139	7,2	42			
125	7,22	42										210	7,35	42
127	6,70	40	174	6,64	40									
129	7,54	40	182	6,94	40									
131	6,63	39	183	6,62	39	178	6,52	39				225	6,66	39
141	7,72	35				187	7,73	34				244	7,83	34
165	4,89	27	231	4,97	27									
168	5,85	26							167	5,56	26			
172	7,08	26	250	6,77	26									
181	5,49	25	264	5,57	25									
188	6,38	23							178	6,07	23			
196	4,69	16	291	4,75	16									
197	6,74	15	296	6,64	15									
198	4,49	14	299	4,54	14									
199	5,60	13	305	5,65	13									
202	5,04	12	310	5,14	12									

Tabela 18 - Comparação de spots* da fração albumina de endosperma de milho Oh43+

(conclusão)											
Spots limitados ao perfil dos mutantes											
o1			o2			f11			f12		
Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw	Spot ID	pI	Mw
									176	7,87	48
									146	7,79	54
109	7,78	54							171	7,65	49
									80	7,48	69
			147	7,03	44						
320	6,99	11	143	6,87	44						
			122	6,86	53						
131	6,81	49	232	5,79	15						
			81	6,78	64						
130	6,75	49	117	6,74	53						
			134	6,74	48						
			82	6,70	64						
			141	6,69	45						
318	6,68	12	237	6,66	11						
			72	6,60	65						
			132	6,60	48						
237	5,94	27									
302	5,88	16							328	5,81	14
32	5,78	77									
			212	5,68	26				159	5,74	51
									293	5,70	26
									329	5,13	13
									234	5,08	40
									194	4,83	45

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Figura 21 - Perfil 2D-PAGE da fração glutelina de endosperma de milho: A) Oh43+, B) *o1*, C) *o2*, D) *f11* e E) *f12*. Colorado com nitrato de prata. EIF foi conduzido entre pH 3,00 - 10,00 NL.

[illegible]

Tabela 19 - Comparação de spots* da fração glutelina de endosperma de milho Oh43+

(conclusão)											
Spots limitados ao perfil dos mutantes											
o1			o2			f11			f12		
Spot ID	p/	PM	Spot ID	p/	PM	Spot ID	p/	PM	Spot ID	p/	PM
									24	5,77	97
									23	5,34	97
									22	5,67	97
									21	5,43	97
									20	5,55	97
									30	7,98	88
									54	7,49	73
									52	4,51	73
									56	7,39	72
									68	7,50	71
									64	7,39	71
									69	7,66	70
			86	8,21	70						
			85	8,40	70						
115	6,33	60									
									115	4,19	58
120	6,40	55									
119	7,06	53							130	6,93	53
									132	6,53	51
						211	7,84	38			
						210	8,30	38			
						206	7,98	38			
						212	8,00	37			
			221	6,30	36						
			228	6,56	33						
173	4,23	31									
172	4,08	31									
174	4,18	29									
						217	6,18	29			
						244	6,19	23			
			273	4,20	22						
			282	7,48	12						
			288	4,51	11						
			286	4,10	11						
203	5,85	11									

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

2.4 Discussão

Os cereais representam à fonte principal de proteínas de origem vegetal na alimentação humana e também dos animais monogástricos. Nos países da América Latina, África e Ásia o milho representa o cereal de maior consumo da população e nos países desenvolvido grande parte é utilizada na alimentação de animais.

Com tudo o milho é considerado pobre nutricionalmente, apresentando baixas quantidades principalmente de LYS e em menor medida TRP e THR nas proteínas da semente. Portanto, é de vital importância poder melhorar a qualidade nutricional do grão. As estratégias para se lograr uma boa qualidade poderiam surgir do melhoramento tradicional e da biotecnologia, no entanto existe uma forte correlação genética negativa entre qualidade de proteína e produtividade, sendo então preciso determinar *a priori* quais seriam os possíveis caracteres responsáveis pelo aumento na qualidade das proteínas.

Na década dos 60 foi descoberta uma serie de mutantes naturais, principalmente *o2* (MERTZ et al., 1964) e *fl2*, (NELSON et al., 1965) que continham na semente quantidades elevadas de LYS quando comparadas aos genótipos selvagens que lhes deram origem. No entanto, apenas para *o2* extensos estudos bioquímicos e moleculares foram feitos, nos restantes mutantes opacos e floury muito ainda resta por se estudar.

Em razão desta necessidade realizamos uma série de análises bioquímicas para caracterizar as proteínas de reserva de mutantes opaco e floury com o intuito de descobrir quais componentes protéicos poderiam colaborar no aumento de LYS na semente quando comparados os mutantes com os controles respectivos. Analisamos a semente como um todo e posteriormente separamos o endosperma do embrião para serem estudados por separado.

Primeiramente, foi realizado um estudo descritivo para alguns caracteres agronômicos das sementes pela análise de luz infravermelha (Tabela 2A e 2B) para conhecer as propriedades dos diferentes genótipos. Os resultados mostraram que os mutantes apresentam alterações na composição bioquímica da semente, com diminuição principalmente da quantidade de proteína e do teor de óleo, mas também do peso da semente. Para os níveis de LYS, o efeito foi dependente do gene mutante considerado observando-se as quantidades maiores de LYS nas sementes *o11*, *o13* e *o2*. Para teor de óleo, os mutantes em geral causaram uma redução quando comparado com os controles. Foi observado que quando aumentou o teor de óleo e diminuiu o peso da semente houve

aumento na quantidade de LYS na semente, entretanto houve algumas exceções (Tabela 2 B).

Um outro aspecto a ser avaliado foi à quantidade de aminoácidos solúveis na semente e endosperma de milho (Tabela 3 e Tabela 10). Em ambos, os mutantes apresentaram quantidades maiores de aminoácidos. Os resultados estão de acordo com trabalhos anteriormente publicados que informaram dita característica para endosperma de mutante R802o2 (SODEK; WILSON, 1971) e mais recentemente na semente de Oh545o2 (WANG; LARKINS, 2001). Porém, para o mutante *fl2* os valores informados foram inferiores aos registrados no controle (SODEK; WILSON, 1971). As diferenças nas quantidades de aminoácidos solúveis quando afetado pelo mesmo gene são explicadas no contexto do background genético onde o gene foi inserido. De fato, nos trabalhos acima citados, quando houve aumentos na quantidade de aminoácidos solúveis na semente dos mutantes houve geralmente aumentos nos níveis de LYS solúvel na semente.

Aumentos de aminoácidos solúveis, e em particular de LYS na semente, poderiam ser correlacionados com aumentos nas quantidades de LYS incorporado nas proteínas de reserva. A maior disponibilidade de LYS para ser incorporada na síntese de proteínas durante o desenvolvimento da semente, considerando a baixa demanda de aminoácidos para a síntese de zeína, poderia de fato contribuir para a síntese de proteínas com níveis elevados de LYS na sua composição e que normalmente se apresentariam em baixas concentrações como consequência da abundância das proteínas da família zeína. De fato, no milho normal a síntese de zeína promovidas pelo fator O₂, incrementaria concomitantemente a atividade de LOR-SDH (Figura 3), o que resultaria na degradação da LYS em excesso nas células do endosperma (ARRUDA et al., 2000).

Comparando-se os valores de aminoácidos do endosperma e da semente, observa-se que de modo geral aumentos nas quantidades de aminoácidos na semente se correlacionam com incrementos também no endosperma, mas apenas para o10 e o7 isto não foi verificado, embora os níveis de aminoácidos do endosperma o10 fossem próximos de W22+. É provável que a diferença esteja nas quantidades de aminoácidos presentes no embrião dos mutantes.

Os genes mutantes afetaram também o acúmulo das frações protéicas. O efeito foi negativo para o acúmulo de zeína, principalmente da zeína1 e consequentemente aumento na quantidade da fração não-zeína (Tabela 4 e Tabela11). Dentro desta última os maiores aumentos corresponderam à albumina e globulina. Em vista da redução no conteúdo de

zeína nos mutantes, na ordem de 35% a 60%, sugere que o efeito principal do gene mutante é bloquear a síntese de genes da fração zeína. Porém, como resultado do aumento significativo da fração albumina e globulina (Tabela 11) de alguma maneira nos mutantes a sua síntese foram também potenciados. Numeroso trabalho tem relatado que no mutante *o2* e *fl2* (SODEK e WILSON, 1971; DIERKS-VENTLING, 1982; LANDRY et al., 2000; AZEVEDO et al., 2003; 2004a e 2004b), nos mutantes *o7* (MA e NELSON, 1975) e nos mutantes *o1* e *o11* (BALCONI et al., 1998) há redução no conteúdo de zeína e consequentemente aumento da fração não-zeína. Porém, a variação na quantidade para cada fração depende fortemente do gene mutante e do background genético onde foi inserida a mutação. As frações zeína1 e zeína2 caracterizam-se por apresentar apenas traços de LYS (SODEK e WILSON, 1971), enquanto que as frações globulina, albumina e glutelina apresentam um melhor balanço do conteúdo de aminoácidos essenciais, principalmente de LYS (AZEVEDO et al., 2003), entre outros aminoácidos essenciais.

O embrião de milho apresenta uma melhor qualidade de proteínas, basicamente pelo aumento nas quantidades da fração albumina e globulina e diminuição severa da fração zeína, comparado ao endosperma, o que de fato naturalmente contribui para o aumento de LYS na semente de milho. Isto se deve ao papel metabólico associado às proteínas da fração albumina e globulina (DIERKS-VENTLING, 1982; PAULIS et al., 1985). Entretanto, não foram observadas diferenças marcantes nas quantidades relativas de albumina, globulina e glutelina entre o embrião dos mutantes e das linhas controles. Ainda, a quantidade total de proteína de reserva do embrião foi similar entre mutantes e controles (Tabela 16). No entanto, como observado no embrião *o5* e *o7* comparados a B7977+ e B37+ foram observados uma leve redução da fração globulina.

A análise da composição de aminoácidos da fração protéica não-zeína tanto na semente (Tabela 5–8) como no endosperma (Tabela 12-15) sugere que nos mutante houve aumento de LYS e redução nos níveis principalmente de MET, e em menor extensão de THR. Os aminoácidos MET, THR, ILE e LYS são sintetizados a partir do ASP como precursor comum, mas por vias enzimáticas diferentes, que competem por os assimilados provenientes do metabolismo do ASP (Figura 1) em sintonia com as necessidades da planta e de mecanismos de regulação da atividade das enzimas por retro-inibição do produto de síntese (LEA et al., 1985).

Quando considerados os aminoácidos da fração albumina e globulina foi observado aumento de LYS em todos os mutantes e em geral uma redução nas quantidades de MET e

THR para os mutantes do background Oh43+ e W22+, ou de THR e ILE no mutante o7, ou apenas de MET no mutante o5. Quando analisada a fração glutelina foi observado um padrão similar, os aumentos nos níveis de LYS foram acompanhados por redução nos níveis de MET e THR nos mutantes, entretanto para o5 unicamente foi registrado redução nas quantidades de THR.

A família zeína consiste de uma mistura de polipeptídios que podem ser identificados por SDS-PAGE em classes: γ -zeína (27kDa), α -zeína (22kDa e 19kDa), β -zeína (16kDa e 14kDa) e δ -zeína (10kDa) (ESEN, 1990). Sendo que as α -zeína representa a classe mais abundante 75-80% e são codificadas por famílias multigênicas (PARKS et al. 1980; MARKS et al. 1985); as classes menos abundantes forma relatadas a conter quantidades elevada de MET (PEDERSEN et al. 1986; ALTANBACH e SIMPSON, 1990). Uma das características da fração zeína é a presença de quantidades muito pequenas de LYS na sua constituição básica, de fato verificamos a existência de este aminoácido para níveis muito baixos na fração zeína1 quando as proteínas foram extraídas da semente (Tabela 5-8), como observado também por Sodek e Wilson, (1971). Entretanto, na fração zeína2 não foi detectada a presença deste aminoácido em nenhum dos genótipos estudados. Outro aminoácido com quantidades reduzidas na semente dos mutantes foi ALA, normalmente o aminoácido predominante desta fração protéica de milho. Na zeína em geral foi observado aumento nas quantidades de MET e THR.

Os resultados sugerem que a LYS esta concentrada nos polipeptídios da fração protéica não-zeína da semente e com níveis maiores nos mutantes de milho, opaco e floury. Considerando a análise nas proteínas da semente o maior aporte de LYS foi realizado pela fração albumina e globulina nos mutantes o1, o2, fl1 e fl2; pela fração glutelina em o7 e o5, entretanto nos mutantes de W22+ o aporte de LYS por estas frações protéicas foi similar (Tabela 5-8). Enquanto, nas proteínas extraídas do endosperma as maiores quantidades de LYS são fornecidas pela fração albumina nos mutantes do background OH43+ e W22+, e pela fração globulina em o7 e o5 (Tabela 12-15). Portanto, os resultados sugerem que a fração não-zeína contribuiriam para o aumento de resíduos de LYS nas proteínas de reserva da semente dos mutantes de milho aqui estudados.

Testamos um protocolo que permite identificar apenas a LYS pelo HPLC em 15 minutos. Os resultados obtidos através do uso deste protocolo permitiram recuperar quantidades maiores de LYS com relação ao protocolo de 64 minutos que identifica todos os aminoácidos (Tabela 9 comparada a Tabela 5 e 8), porém houve algumas exceções. Como

consequência do complexo LYS-OPA ser instável dito protocolo é sugerido quando o interesse é apenas a comparação dos níveis de LYS na semente de mutantes de milho.

No caso particular da análise de aminoácidos das proteínas de reserva da semente foi constatado a presença de um pico com tempo de retenção similar ao GABA, porem resulta difícil fazer tal afirmação considerando que se trata de um “aminoácido” normalmente presente no pool de aminoácidos solúveis em plantas, considerados um importante regulador do pH intracelular e como receptor de nitrogênio no metabolismo de GLU (SHELP et al., 1999).

Para relacionar o aumento de LYS com as quantidades de proteínas de reserva, realizamos estudos mediante a análise SDS-PAGE de cada fração protéica na tentativa de identificar proteínas com níveis de expressão induzido pelos genes mutantes que permitam discriminar ainda mais o efeito dos genes mutantes. As análises foram realizadas para as proteínas extraídas da semente (Figura 5-8), endosperma (Figura 9-14) e embrião (Figura 14-18). Foram observadas diferenças no perfil das proteínas entre os genótipos mutantes e os controles respectivos para ausência, presença e intensidade de bandas, entretanto, isto foi mais acentuado no perfil das frações globulina e albumina e menos evidente na glutelina.

O perfil observado para a fração zeína revelou numerosas bandas que estiveram distribuídas entre 10kDa e 90kDa. Isto esta em acordo com trabalhos recentes onde identificaram proteínas na fração zeína mediante o uso de anticorpos específicos para uma faixa de 50kDa e 10kDa (HUNTER et al., 2002). De modo geral as principais proteínas da fração zeína, entre 22kDa α -zeína e 27kDa γ -zeína, foram afetadas nos mutantes. Não foi observada a banda correspondente a 19kDa α -zeína em nenhum genótipo. Em geral a classe zeína1 foi mais afetada pelos genes mutantes do que as proteínas da classe zeína2. Isto é consequência da presença de um sítio de união para o fator de transcrição O2 na seqüência promotora do gene que codifica para a α -zeína 22Kda (Figura 4) (ARRUDA et al., 2000).

Tanto na fração globulina como albumina o perfil protéico foi muito heterogêneo para tamanhos das proteínas o que é esperado para proteínas que apresentam funções metabólicas (PAULIS et al., 1985; DIERKS-VENTLING, 1982). Isto foi constante tanto em SDS-PAGE de semente (Figura 5) como em endosperma (Figura 9 e 10) e embrião (Figura 14 e 15), sendo neste último bem mais evidente.

A fração glutelina foi também bastante heterogênea para tamanho das proteínas, em todos os tecidos da semente, porém a maior concentração foi observada no endosperma

(Figura 13). Esta fração está conformada por proteínas estruturais, por tanto se devem apresentar também em quantidades elevadas e com grandes variações de tamanho das bandas protéicas (WILSON et al., 1981).

A técnica de SDS-PAGE revelou dados sobre as bandas protéicas quanto ao seu peso molecular e informação quanto a sua expressão, maior (expressão induzida) ou menor (expressão reprimida) intensidade das bandas ou mesmo para presença (expressão diferenciada) ou ausência de bandas (expressão bloqueada). Tanto na semente, endosperma ou embrião foi constatado variabilidade entre mutantes e genótipos controles. As diferenças não apenas se deram por proteínas com expressão induzida ou expressão diferenciada, mas também pela ausência de proteínas nos mutantes. Dierk-Ventling, (1982) observou que em sementes *o2* houve aumento de uma proteína de 70kDa na fração albumina e outras três de 47kDa, 52kDa e 58kDa na fração globulina. Por outro lado, alguns trabalhos focalizaram a atenção no conteúdo de LYS nas proteínas do citoesqueleto associado a enzimas que metabolizam carboidratos e observaram proteínas de 40kDa, 47,50kDa, 50kDa e 55kDa como candidatas. Das análises SDS-PAGE, observamos também uma proteína de 40kDa expressa diferencialmente nos mutantes na fração albumina e globulina (Gráfico 5 A e B), outra proteína de 46kDa na fração globulina, porém associada a *fl2* (Figura 9 B) e duas proteínas de 50kDa e 55kDa no perfil globulina associadas a *o2* e *fl2* (figura 14 B) e no perfil glutelina associado a *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* (Figura 18 B) do embrião. Do estudo comparativo dos perfis eletroforéticos pode-se constatar que existe a possibilidade dos genes mutantes promoverem a síntese de proteínas que não estariam presentes ou em quantidades não detectáveis nos genótipos controles.

Finalmente foi realizado o perfil 2D-PAGE das proteínas da fração não-zeína para os mutantes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* seguindo o mesmo critério de análise do perfil SDS-PAGE. Os resultados obtidos na análise de 2D-PAGE da fração globulina, albumina e glutelina sugerem que os genes mutantes promoveram o aumento na expressão de certas proteínas e a síntese aparente de novas proteínas em cada fração protéica quando comparados ao perfil de Oh43+.

No perfil 2D-PAGE da fração globulina constatou-se o maior número de proteínas induzidas pelos genes mutantes, sendo onze proteínas em *o1*; foram cinco proteínas em *o2*; nove proteínas em *fl1* e seis proteínas em *fl2*. Para a fração albumina, tanto *o1* como *fl2* apresentaram dez proteínas, *o2* registrou dezesseis proteínas e *fl1* foram quinze proteínas.

Para a glutelina, em *o1* corresponderam dez proteínas; para *o2* foram reveladas dezesseis proteínas, para *f11* foram registradas quinze proteínas; e em *f12* constatadas dez proteínas.

Quando considerados apenas as proteínas com expressão diferencial no perfil 2D-PAGE dos mutantes, observamos na fração globulina sete proteínas em *o1*, apenas uma proteína em *o2*, e finalmente seis proteínas em *f11* e cinco proteínas em *f12* (Tabela 25). Para a fração albumina em *o1* foram observadas sete proteínas, em *o2* foram oito proteínas; em *f11* constatadas seis proteínas; e em *f12* foram quinze proteínas (Tabela 26). Finalmente na fração glutelina foi constatada trinta e sete proteínas em *o1*, dezesseis proteínas em *o2*, quinze proteínas em *f11* e dez proteínas em *f12* (Tabela 27).

Portanto, comparado às análises do perfil da globulina (Figura 19) e albumina (Figura 20) com a fração glutelina (Figura 21) constatou-se nesta última um número maior de proteínas induzidas com relação à fração globulina, entretanto foi similar a fração albumina; porém a fração glutelina apresentou um número maior de proteínas com expressão restrita ao endosperma dos mutantes.

Embora fossem publicados trabalho de análise bi-dimensional em milho; apeans um avaliou os efeitos de *o2* na expressão de proteínas durante o desenvolvimento do endosperma (15DAP-35DAP), porém analisando o perfil a partir de proteína total (DAMERVAL; LE GUILLOUX, 1998), outros foram direcionados para obter mapas proteômicos de sementes imaturas (MÉCHIN et al., 2004) ou para desvendar as isoformas da família zeína (CONSOLI e DAMERVAL, 2001; AZEVEDO et al., 2003; 2004a; 2004b) da semente de milho. Entretanto, a partir dos mapas proteômicos foi possível determinaram: 1) a distribuição dos spots protéicos entre 10kDa e 100kDa; 2) numerosos spots com similar PM e diferentes *pI* pudessem pertencer a uma mesma proteína; 3) do total de 634 spots detectados aproximadamente 20%-38% não tiveram relação com funções protéicas conhecidas ou a identidade de seqüência foi muito baixa quando comparada à seqüência num banco de dados (MÉCHIN et al., 2004); e 4) numerosas isoformas conformam a família de proteínas da fração zeína, existindo ampla variabilidade em quantidade de polipeptídios em linhas diferentes de milho (AZEVEDO et al., 2003; 2004a; 2004b).

Similar distribuição de PM foi observada nos perfil electroforético tanto uni-dimensional como bi-dimensional para a fração albumina (Figura 19), globulina (Figura 20) e glutelina (Figura 21) de Oh43+, *o1*, *o2*, *f11* e *f12*; como também de spots com mesmo PM, mas diferentes valores de *pI* quando observados o padrão de distribuição nos géis. Porém,

por tratar-se de sementes imaturas Méchin et al., (2004) não relataram spots para proteínas de reserva.

Por outro lado, foi observado que os genes *o1*, *o2*, *fl1* e *fl2* relatado não alélicos (MOTTO et al., 1986), induziram a expressão de proteínas com similar PM e pI, dentro de cada fração protéica, observado tanto no perfil SDS-PAGE como 2D-PAGE, sugerindo que os mesmos, apesar de terem origens diferentes, poderiam afetar direta (*o2*) ou indiretamente (*fl2*) a expressão de genes de proteínas de reserva, tanto a nível da transcrição como da transdução. De fato o fator O2 atua reuulando transcrição dos genes zeína porem não há evidencias diretas do controle de outros genes que codificam para a fração não-zeína de proteínas de reserva da semente de milho. Apenas, Lohmer et al., (1991) relataram no mutante *o2* redução nas quantidades da albumina b32 e relataram a presença de uma sequencia de união para O2 no gene de esta proteína. Análises mais recentes permitiram a identificação de outras proteínas sendo reguladas pelo O2, sugerindo um papel associadas às funções metabólicas do carbono e nitrogênio, enzimas envolvidas na síntese de aminoácidos produtos da via do ácido aspártico e na degradação de LYS (BROCHETTO-BRAGA et al., 1992; AZEVEDO et al., 2003; 2004a; 2004b), de enzimas que participam na síntese de açúcares (DAMERVAL; LE GUILLOUX, 1998) ou mesmo para enzimas que participam no metabolismo de carboidratos associados à citoesqueleto (AZAMA et al., 2003), e na formação de pigmentos de antocianina (DAMERVAL; LE GUILLOUX, 1998).

Ainda na análise dos perfis electroforéticos a ausência de bandas ou spots protéicos no perfil dos mutantes foi também observada quando compardos a Oh43+. Até o momento não há evidencia que O2 possa atuar como um inibidor trascricional. Isto também foi observado por Damerval e Le Guilloux (1998), relatando proteínas com redução no nível de expressão, como a acetohidroxiacido sintase (AHAS) que catalisa o primeiro passo na biossíntese de aminoácidos derivados da THR e a enzima ortofosfato diquinase localizada no citoplasma (cyPPDK).

Entretanto pouco se conhece dos outros mutantes opacos e floury aqui estudados, e mais intrigantes ainda resulta o efeito na síntese de proteínas de reserva observado no mutante *fl2* considerando que aparentemente a origem da mutação estaria associada a defeitos no gene que codifica para uma proteína da família α -zeína 22kDa (SONG et al., 2001) e, portanto, não é corretamente procesada durante o processo de trafico protéico e armazenamento da zeína. Isto poderia sugerir a presença de outros mecanismos envolvidos

e que normalmente atuam colaborando na regulação de diferentes rotas metabólicas no desenvolvimento da semente de milho.

Os spots com expressão induzida pelo gene mutante foram processados com tripsina para posterior identificação por espectrometria de massa das proteínas. Deve-se aclarar que os valores de peso molecular (PM) e ponto isoelétrico (pI) teóricos devem ser confirmados com valores obtidos após o sequenciamento e identificação dos spots protéicos (valores de pI observados).

3 CONCLUSÕES

A semente dos mutantes apresentou redução de proteínas, do teor de óleo e do peso da semente.

Nos mutantes houve redução não conteúdo de zeína e aumentos nas quantidades de albumina, globulina e glutelina.

Na semente dos mutantes *o1*, *o2*, *f11* e *f12* foram constatados aumentos principalmente da fração albumina e globulina.

Na semente dos mutantes *o10*, *o11* e *o13* foi constatado aumentos principalmente de globulina.

As quantidades de LYS foram maiores na semente dos mutantes, nos mutantes *o1*, *o2*, *f11*, *f12* e *o7* relacionado ao aumento de albumina, globulina e glutelina, no mutante *o5* devido a aumentos de albumina e globulina, e nos mutantes *o10*, *o11* e *o13* diferenças significativas foram observadas principalmente para as quantidades de LYS na fração glutelina.

O perfil SDS-PAGE das frações protéicas revelou nos mutantes numerosas bandas protéicas de maior intensidade quando comparada aos genótipos controles e também numerosas proteínas com expressão restrita ao perfil do endosperma mutante.

A análise 2D-PAGE das proteínas albumina, globulina e glutelina do endosperma *o1*, *o2*, *f11* e *f12*, revelou a presença de vários spots protéicos de maior intensidade e também de proteínas presentes apenas no perfil dos mutantes quando comparado ao perfil Oh43+

REFERÊNCIAS

AARNES, H. Lysine-Sensitive Aspartate Kinase and 2 Molecular-forms of Homoserine Dehydrogenase from barley seedlings. **Plant Science Letters**, Clare, v. 9, n 2, p. 137-145, 1977.

AARNES, H.; ROGNES, S.E. Threonine-sensitive aspartate kinase and homoserine dehydrogenase from *Pisum sativum*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 13, p. 2717-2724, 1974.

ANGELIS, R.C. Fisiologia da nutrição. São Paulo: Nobel, 1986, 320p.

ALTENBACH, D.E.; SIMPSON, R.B. Manipulation of methionine-rich protein gene in plant seeds. **Trends in Biotechnology**, Oxford, v. 8, p.156-160, 1990.

ARRUDA, P.; KEMPER, A.L.; PAPES, F.; LEITE, A. Regulation of lysine catabolism in higher plants. **Trends in Plant Science**, London, v. 5, n 8, p. 324-330, 2000.

ARRUDA, P.; DA SILVA, W.J. Lysine-ketoglutarate reductase activity in maize: its possible role in lysine metabolism of developing endosperm. **Phytochemistry**, Oxford, v. 22, n 12, p. 2687-2689, 1983.

ARRUDA, P.; BRIGHT, S.W.J.; KUEH, J.S.H.; LEA, P.J.; ROGNES S.E. Regulation of aspartate kinase isoenzymes in barley mutants resistant to lysine plus threonine - construction and analysis of combinations of the It1a, It1b, and It2 mutant-genes. **Plant Physiology**, Rockville, v. 76, n 2, p. 442-446, 1984.

ARRUDA, P.; SODEK, L.; DA SILVA, W.J. Lysine-ketoglutarate reductase activity in developing maize endosperm. **Plant Physiology**, Rockville, v. 69, p. 988-989, 1982.

AUKERMAN, M.J.; SCHMIDT, R.J.; BURR, B.; BURR, F.A. An arginine to lysine substitution in the bZIP domain of an opaque-2 mutant in maize abolishes specific DNA binding. **Genes & Development**, Plainview, v. 5, p. 310-320, 1991.

AZAMA, K.; SHUNNOSUKE, A.; SUGIMOTO, H.; DAVIES, E. Lysine-containing in maize endosperm: a major contribution from cytoskeleton-associated carbohydrate-metabolizing enzymes. **Planta**, New York, v. 217, p. 628-638, 2003.

AZEVEDO, R.A.; ARANA, J.L.; ARRUDA, P. Biochemical genetics of the interaction of the lysine plus threonine resistant mutant *ltr*1* with opaque-2 maize mutant. **Plant Science**, Clare, v. 70, p. 81-90, 1990.

AZEVEDO, R.A.; ARRUDA, P. Dominant and recessive mutations conferring resistance to s-2-aminoethyl-l-cysteine in maize. **Journal of Plant Physiology**, Germany, v. 145, p. 321-326, 1995.

AZEVEDO, R.A.; ARRUDA, P.; TURNER, W.L.; LEA, J.P. The biosynthesis and metabolism of the aspartate derived amino acids in higher plants. **Phytochemistry**, Oxford, v. 46, n 3, p. 395- 419, 1997.

AZEVEDO, R.A.; BLACKWELL, R.D.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Three aspartate kinase isoenzymes from maize. **Phytochemistry**, Oxford, vol.31, n 11, p. 3725- 3730, 1992a.

AZEVEDO, R.A.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Aspartate kinase regulation in maize: Evidence for co-purification of threonine-sensitive aspartate kinase and homoserine dehydrogenase. **Phytochemistry**, Oxford, v.31, n 11, p. 3731- 3734, 1992b.

AZEVEDO, R.A.; SMITH, R.J.; LEA, P.J. Aspartate kinase regulation in maize: regulation by calcium and calmodulin. **Phytochemistry**, Oxford, v. 31, n 11, p. 3735-3737, 1992c.

AZEVEDO, R.A.; DAMERVAL, C.; LANDRY, J.; LEA, P.J.; BELLATO, C.M.; MEINHARDT, L.W.; LE GUILLOUX, M.; DELHAYE, S.; TORO, A.A.; GAZIOLA, S.A.; BERDEJO, B.D.A. Regulation of maize lysine metabolism and endosperm protein synthesis by opaque and floury mutations. **European Journal of Biochemistry**, New York, v. 270, p. 4898-4908, 2003.

AZEVEDO, R.A; LEA, P.J.; DAMERVAL, C.; LANDRY, J.; BELLATO, C.M.; MEINHARDT, L.W.; LE GUILLOUX, M.; DELHAYE, S.; VARISI, V.A.; GAZIOLA, S.A.; GRATÃO, P.L.; TORO, A.A. Genetic control of lysine metabolism in maize endosperm mutants. **Functional Plant Biology**, Melbourne, v. 31, p. 339-348, 2004.

AZEVEDO, R.A; DAMERVAL, C.; LEA, P.J.; LANDRY, J.; BELLATO, C.M.; MEINHARDT, L.W.; LE GUILLOUX, M.; DELHAYE, S.; TORO, A.A.; GAZIOLA, S.A.; VARISI, V.A.; GRATÃO, P.L. Regulation of Lysine Metabolism and Endosperm Protein Synthesis by *Opaque-5* and *Opaque-7* Maize Mutations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, p. 4865-4871, 2004.

BAJAJ, S. Biotechnology in nutrition improvement of wheat, In: Bajaj Y.P.S (Ed) **Biotechnology in agriculture and forestry**, New York, Springer Verlag, 1990. v. Wheat 13, p. 615-643.

BALCONI, C.; BERARDO, N.; REALI, A.; MOTTO, M. Variation in protein fraction and nitrogen metabolism of developing normal and opaque endosperm mutants of maize. **Maydica**, Bergamo, v. 43, n 3, p. 195-203, 1998.

BASS, H.W.; WEBSTER, C.; OBRIAN, G.R.; ROBERTS, J.K.M.; BOSTON, R. A Maize Ribosome-Inactivating Protein Is Controlled by the Transcriptional Activator *Opaque-2*. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, 225-234, 1992.

BELLATO, M.C.; GARCIA, A.K.M.; MESTRINELLI, F.; TSAI, S.M.; MACHADO, M.A.; MEINHARDT, L.W. The induction of differentially expressed proteins of *Xylella fastidiosa* with citrus extract. **Brazilian Journal of Microbiology**, Campinas, v. 35, p. 235-242, 2004.

BIELESKY, R.L.; TURNER, N.A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layer electrophoreses and chromatography. **Anlytical Biochemistry**, San Diego, v. 17, n 2, p. 278-293, 1966.

BLUM, H.; BEIER, H.; GROSS, H.J. Improved silver staining of plant-proteins, RNA and DNA in polyacrylamide gel. **Electrophoresis**, Berlin, v. 8, p. 93-99, 1987.

BOSTON, R.S.; FONTES, E.B.P.; SHANK, B.B; WROBEL, R.L. Increased Expression of the Maize Immunoglobulin binding Protein Homolog b-70 in Three Zein Regulatory Mutants. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 497-505, 1991.

BOYES, C.J.; VASIL, L.K. In vitro selection for tolerance to S-(2-aminoethyl)-L-cysteine and overproduction of lysine by embryogenic calli and regenerated plants of *Pennisetum americanum* (L) K. Shum. **Plant Science**, Clare, v. 50, p. 195-203, 1987.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, San Diego, v.72, p. 248-259, 1976.

BRANDT, A.B. In vivo incorporation of lysine-C¹⁴ into the endosperm proteins of wild type and high lysine barley. **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 52, p. 288-291, 1975.

BRENNECKE, K.A.; SOUZA NETO, J.A.; LUGLI, J.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Aspartate kinase in the maize mutants *Ask1-LT19* and *Opaque-2*. **Phytochemistry**, Oxford, v. 41, p. 707-712, 1996.

BRIGHT, S.W.J.; MIFLIN, B.J.; ROGNES, S.E. Threonine accumulation in the seed of a barley mutant with an altered aspartate kinase. **Biochemical Genetics**, New York, v. 20, p. 229-243, 1982a.

BRIGHT, S.W.J.; MIFLIN, B.J.; ROGNES, S.E. Two genes for threonine accumulation in barley seeds. **Nature**, London, v. 299, p. 278-279, 1982b.

BRINCH-PEDERSEN, H.; GALILI, G.; KNUDSEN, S.; HOLM, P.B. Engineering of the aspartate family biosynthetic pathway in barley (*Hordeum vulgare* L.) by transformation with heterologous genes encoding feed-back-insensitive aspartate kinase and dihydrodipicolinate synthase. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 32, p. 611-620, 1996.

BROCHETTO-BRAGA, M.R., LEITE, A.; ARRUDA, P. Partial purification and characterization of lysine-ketoglutarate reductase in normal and opaque-2 maize endosperms. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p 1139-1147, 1992.

BRYAN, J.K. Differential regulation of maize homoserine dehydrogenase under physiological conditions. **Plant Physiology**, Rockville, v. 92, p. 785-791, 1990.

BRYAN, P.A.; CAWLEY, R.D.; BRUNNER, C.E.; BRYAN, J.K. Isolation and characterization of a lysine-sensitive aspartatokinase from a multicelular plant. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, San Diego, v.41, n 5, p. 1211-1217, 1970.

BRYAN, J.K.; LOCHNER, N.R. Quantitative estimates of the distribution of homoserine dehydrogenase isozyme in maize tissues. **Plant Physiology**, Rockville, v. 68, p. 1400-1405, 1981.

BURR, F. A.; BURR, B. Three mutations in *zea mays* affecting zein accumulation: a comparison of zein polypeptides, in vitro synthesis and processing, mRNA levels, and genomic organization. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 94, p. 201-206, 1982.

CICERI, P.; LOCATELLI, F.; GENGA, A.; VIOTTI, A.; SCHMIDT, R.J. The activity of the maize opaque2 transcriptional activator is regulated diurnally. **Plant Physiology**, Rockville, v. 121, p. 1321-1327, 1999.

CICERI, P.; GIANAZZA, E.; LAZZARI, B.; LIPPOLI, G.; GENGA, A.; HOSCHEK G.; SCHMIDT, R. J.; VIOTTI, A. Phosphorylation of opaque2 changes diurnally and impacts its dna binding activity. **Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 97-108, 1997.

CONSOLI, L.; DAMERVAL, C. Quantification of individual zein isoforms resolved by two-dimensional electrophoresis genetics variability in 45 maize inbred lines. **Electrophoresis**, Berlin, v. 22, p. 2983-2989, 2001.

CORD NETO, G.; YUNES, J.A.; VETTORE, A.L.; DA SILVA, W.J.; ARRUDA, P.; LEITE, A. The involvement of *Opaque2* in β -prolamin gene regulation in maize and *Coix* suggests a more general role for this transcriptional activator. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 27, p. 1015-1029, 1995.

DAMERVAL, C.; LE GUILLOUX, M. Characterization of novel proteins affected by $\alpha 2$ mutation and expressed during maize endosperm development. **Molecular and General Genetic**, New York, v. 257, n 3, p. 354-361, 1998.

DANTE, R.A.; CORD NETO, G.; LEITE, A.; YUNES, J.A.; ARRUDA, P. The *DapA* gene encoding the lysine biosynthetic enzyme dihydrodipicolinate synthase from *Coix lacryma-jobi*: cloning, characterization, and expression analysis. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 41, p. 551-561, 1999.

DA SILVA, W.J.; ARRUDA, P. Evidence for the genetic control of lysine catabolism in maize endosperm. **Phytochemistry**, Oxford, v. 18, p. 1803-1805, 1979.

DAVIES, H.M.; MIFLIN, B.J. Aspartate kinase from carrot cell suspension culture. **Plant Science Letter**, Clare, v. 9, p. 323-332, 1977.

DAVIES, H.M.; MIFLIN, B.J. Regulatory Isoenzymes of Aspartate Kinase and the Control of Lysine and Threonine Biosynthesis in Carrot Cell Suspension Culture. **Plant Physiology**, Rockville, v. 62, p. 536-542, 1978.

DEREPPE, C.; BOLD, G.; GHISALBA, O.; EBERT, E.; SCHAR, H.-P. Purification and characterization of dihydrodipicolinate synthase from pea. **Plant Physiology**, Rockville, v. 98, p. 813-821, 1992.

DIERKS-VENTLING, C. Storage protein characteristics of praline requiring mutants of *Zea mays* (L.). **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 51, p. 145-149, 1982.

DIERKS-VENTLING, C. Lysine biosynthesis and utilization during seed development of normal and opaque-2 *Zea mays* L. **Planta**, New York, v. 157, p. 233-238, 1983.

DI FONZO, N.; FIRNASSARI, E.; SALMINI, F.; SOAVE, C. SDS'protein subunits in normal, opaque-2 and floury-2 maize endosperm. **Maydica**, Bergamo, v. 22, p. 77-88, 1977.

DI FONZO, N.; FORNASARI, E.; SALAMINI, F.; REGGIANI, R.; SOAVE, C. Interaction of maize mutants floury-2 and opaque-7 with opaque 2 in the synthesis of endosperm proteins. **The Journal of Heredity**, Oxford, v. 71, p397-402, 1980.

DOLFINI, S.F.; LANDONI, M.; TONELLI, C.; BERNARD, L.; VIOTTI, A. Spatial regulation in the expression of structural and regulatory storage-protein genes in *Zea mays* endosperm. **Developmental Genetics**, New York, v.13, p. 264-276, 1992.

DOTSON, S. B.; FRISCH, D. A.; SOMERS, D. A.; GENGENBACH, B. G. Lysine-insensitive aspartate kinase in two threonine-overproducing mutants of maize. **Planta**, New York, v. 182, p. 546-552, 1990.

EGGUM, B.O; DUMANOVIC; J.; MISEVIC, D.; DENIS, M. Nutritive quality and energy yield of high oil, opaque-2 and waxy maize hybrids compared to normal maize. **Qualitas Plantarum-Plant Foods For Human Nutrition**, Netherlands, v. 35, p. 165-174, 1985.

EPELBAUM, S.; McDEVITT, R.; FALCO, S.C. Lysine-ketoglutarate reductase and saccharopine dehydrogenase from *Arabidopsis thaliana*: Nucleotide sequence and characterization. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, vol. 35, p. 735-748, 1997.

ESEN, A. An immunodominant site of γ -zein is in the region of tandem hexapeptide repeats. **Journal of Protein Chemistry**, New York, v. 9, p. 453-460, 1990.

FALCO, S.C.; GUIDA, T.; LOCKE, M.; MAUVAIS, J.; SANDERS, C.; WARD, R.T.; WEBBER, P. Transgenic Canola and Soybean Seeds with Increased Lysine. **BioTechnology**, New York, v. 13, p. 577-582, 1995.

FRISCH, D.A.; GENGENBACH, B.G.; THOMMEY, A.M.; SELLENER, J.M.; SOMERS, D.A.; MYERS, D.E. Isolation and Characterization of Dihydrodipicolinate Synthase from maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 96, p. 444-452, 1991.

GALILI, G. Regulation of Lysine and Threonine Synthesis. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 899-906, 1995.

GALLUSCI, P.; VAROTT, S.; MATSUOKO, M.; MADDALONI, M.; THOMPSON, R.D. Regulation of cytosolic pyruvate, orthophosphate dikinase expression in developing maize endosperm. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 31, p. 45-55, 1996.

GAZIOLA, S.A.; TEIXEIRA, C.M.G.; LUGLI, J.; SODEK, L.; AZEVEDO, R.A. The enzymology of lysine catabolism in rice seeds: Isolation, characterization and regulatory properties of lysine 2-oxoglutarate reductase/saccharopine dehydrogenase bifunctional polypeptide. **European Journal of Biochemistry**, New York, v. 247, p. 364-371, 1997.

GAZIOLA, S.A.; SODEK, L.; ARRUDA, P.; LEA, P.J.; AZEVEDO, R.A. Degradation of lysine in rice seeds: Effect of calcium, ionic strength, S-adenosylmethionine and S-2-aminoethyl-L-cysteine on the lysine 2-oxoglutarate reductase-saccharopine dehydrogenase bifunctional enzyme. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v. 110, p. 164-171, 2000.

GUERRA-MOLINA, S.M.; GAZIOLA, S.A.; LEA, J.P.; AZEVEDO, R.A. Manipulação de Cereais para acúmulo de lisina em sementes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 205-211, 2001.

GHISLAIN, M.; FRANKARD, V.; VANDENBOSSCHE, D.; MATHEWS, B.; JACOBS, M. Molecular analysis of the aspartate kinase-homoserine dehydrogenase gene from *Arabidopsis thaliana*. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 24, p. 835-851, 1994.

GONÇALVES-BUTRUILLE, M.; SZAJNER, P.; TORIGOI, E.; LEITE, A.; ARRUDA, P. Purification and characterization of the bifunctional enzyme lysine ketoglutarate reductase-saccharopine dehydrogenase from maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 110, p. 765-771, 1995.

GRANT, M.; BEVAN, M.W. Asparaginase gene expression is regulated in a complex spatial and temporal pattern in nitrogensink tissues. **The Plant Journal**, Washington D.C., v. 5, p. 695-704, 1994.

GUPTA, S.C.; ASNANI, V.L.; KHARE, B.P. Effect of the opaque-2 gene in maize (*Zea mays* L.) on the extent of infestation by *Sitophilus oryzae* L. **Journal of Stored Products Research**, Oxford, v. 6, p. 191-194, 1970.

HABBEN, J.E.; KIRLEIS, A.W.; LARKINS, B.A. The origem of lysine-containing proteins in the *opaque-2* maize endosperm. **Plant Molecular Biology**, Netherlands, v. 23, p. 825-838, 1993.

HARTINGS, H., MADDALONI, M.; LAZZARONI, N., DI FONZO, N.; MOTTO, M.; SALAMINI, F.; THOMPSON, R. The O2 gene which regulates zein deposition in maize endosperm encodes a protein with structural homologies to trscriptional activators. **EMBO Journal**, Oxford, v. 8, p. 2795-2801, 1989.

HERMAN, E.M.; LARKINS, B.A. Protein storage bodies and vacuoles. **Plant Cell**, Rockville, v. 11, p. 601-613, 1999).

HERNÁNDEZ-SEBASTIÀ, C.; MARSOLAIS, F.; SARAVITZ, C.; ISRAEL, D.; DEWEY, R.E.; HUBER, S.C. Free amino acid profiles suggest a possible role for asparagines in the control of storage-product accumulation in developing seeds of low- and high-protein soybean lines. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 56, n. 417, p. 1951-1963, 2005.

HIBBERD, K.A.; WALTER, T.; GREEN, C.E.; GENGENBACH, B.G. Selection and characterization of a feedback insensitive tissue culture of maize. **Planta**, New York, v. 148, p. 183-187, 1980.

HIBBERD, K.A.; GREEN, C.E. Inheritance and expression of lysine plus threonine resistance selected in maize tissue culture. **Proceeding of National of the Academy of Science USA**, Washington, D.C., v. 79, p. 559-563, 1982.

HINNEBUSCH, A.G. Mechanisms of gene regulation in the general control of amino acid biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiological Review**, Washington, D.C., v. 52, p. 248-273, 1988.

HUNTER, B.G.; BEATTY, M.K.; SINGLETARY, G.W.; HAMAKER, B.R.; DILKES, B.P.; LARKINS, B.A.; JUNG, R. Maize Opaque Endosperm Mutations Create Extensive Changes in Patterns of Gene Expression. **Plant Cell**, Rockville, v. 14, p. 2591-2612, oct. 2002.

JONES, R.A. Effects of floury-2 locus on zein accumulation and RNA metabolism during maize endosperm development. **Biochemical Genetics**, New York, v. 16, p. 27-38, 1978.

KANEKO, T.; HASHIMOTO, T.; KUMPAISAL, R.; YAMADA, Y. Molecular cloning of wheat dihydropicolinate synthase. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 265, p. 17451-17455, 1990.

KARCHI, H.; SHAUL, O.; GALILLI, G. Seed specific expression of a bacterial desintetized aspartate kinase increases the production of seed threonine and methionine in transgenic tobacco. **Plant Journal**, Washington, D.C., v. 3, p. 721-727, 1993.

KARCHI, H.; SHAUL, O.; GALILLI, G. Lysine synthesis and catabolism are coordinately regulated during tobacco seed development. **Proceeding of National of the Academy of Science USA**, Washington, D.C., v. 91, p. 2577-2581, 1994.

KARCHI, H.; MIRON, D.; BEN-YAACOV, S.; GALILI, G. The Lysine-Dependent Stimulation of Lysine Catabolism in Tobacco Seed Requires Calcium and Protein Phosphorylation. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 1963-1970, 1995.

KEMPER, E.L.; CORD NETO, G.; CAPELLA, A.N.; GONÇALVES-BUTRUILLE, M.; AZEVEDO, R.A.; ARRUDA, P. Structure and regulation of the bifunctional enzyme lysine-oxoglutarate reductase-saccharopine dehydrogenase in maize. **European Journal of Biochemistry**, New York, v. 253, p. 720-729, 1998.

KEMPER, E.L.; CORD NETO, G.; PAPES, F.; MARTINEZ MORAES, K.C.; LEITE, A.; ARRUDA, P. The role of opaque2 in the control of lysine-degrading activities in developing maize endosperm. **Plant Cell**, Rockville, v. 11, p. 1981-1993, 1999.

KIRIHARA, J.A.; PETRI, J.B.; MESSING, J. Isolation and sequence of a gene encoding a methionine-rich 10-kD zein protein from maize. **Gene**, Amsterdam, v. 71, p. 359-370, 1988.

KLIMCZAK, L.J.; COLLINGE, M.A.; FARINI, D.; GIULIANO, G.; WALKER, J.C.; CASHMORE, A.R. Reconstitution of Arabidopsis casein kinase II from recombinant subunits and phosphorylation of transcription factor GBF-1. **Plant Cell**, Rockville, v. 7, p. 105-115, 1995.

KOCHHAR, S., KOCHHAR, V.K.; SANE, P.V. Isolation, characterization and regulation of isoenzymes of aspartate kinase differentially sensitive to calmodulin from spinach leaves. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 880, p. 220-225, 1986.

KOCHHAR, S.; PATIL, T.N.; KOCHHAR, V.K.; SANE, P.V. Detection of aspartate kinase in rat liver and its activation by Ca^{++} and calmodulin. **Biochemistry International**, Marrickville, v. 14, p. 319-325, 1987.

KODRZYCKI, R.; BOSTON, R.S.; LARKINS, B.A. The *opaque-2* mutation of maize differentially reduces zein gene transcription. **Plant Cell**, Rockville, v. 1, p. 105-114, 1989.

KOUZARIDES, T.; ZIFF, E. The role of the leucine zipper in the fos-jun interaction. **Nature**, London, v. 336, p. 646-651, 1988.

KRISHNASWAMY, S.; BRYAN, J.K. Characterization of ligand-induced states of maize homoserine dehydrogenase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 227, p. 210-224, 1983.

KRISHNASWAMY, S.; BRYAN, J.K. Use of monoclonal antibodies for the purification and characterization of the threonine-sensitive isozyme of maize homoserine dehydrogenase. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 246, p. 250-262, 1986.

KUMPAISAL, R.; HASHIMOTO, T.; YAMADA, Y. Purification and characterization of dihydrodipicolinate synthase from wheat suspension cultures. **Plant Physiology**, Rockville, v. 85, p. 145-151, 1987.

KWON, T.; SASAHARA, T.; ABE, T. Lysine accumulation in transgenic tobacco expressing dihydrodipicolinate synthase of *Escherichia coli*. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 146, p. 615-621, 1995.

LAJOLO, F.M; TIRAPEGUI, J. Proteínas e aminoácidos. In: **Ciências Nutricionais**. São Paulo, Sarvier, 1998. 403p.

LANDRY, J.; MOUREAUX. Hétérogénéité des glutélines du grain de maïs: extration sélective et composition en acides aminés des trois fractions isolés. **Bulletin de La Societe de Chimie Biologique**, Paris, v. 52, p. 1021-1037, 1970.

LANDRY, J.; DELHAYE, S.; DAMERVAL, C. Improved method for isolating and quantitating alpha-amino nitrogen as nonprotein, true protein, salt-soluble proteins, zeins, and true glutelins in maize endosperm. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 77, n. 5, p. 620-626, 2000.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LANDSCHULZ, W.H.; JOHNSON, P.F.; McKNIGHT; S.L. The leucine zipper: a hypothetical structure common to a new class of DNA binding proteins. **Science**, Washington, v. 240, p. 1759-1764, 1988.

LEA, P.J.; MILLS, W.R.; MIFLIN, B.J. The isolation of a lysine-sensitive aspartate kinase from pea leaves and its involvement in homoserine biosynthesis in isolated chloroplast. **FEBBS Letters**, v. 98, p. 165-168, 1979.

LEA, P.J.; WALLSGROVE, R.M.; MIFLIN, B.J. The biosynthesis of amino acids in plants. In: BARRET G.C.(Ed.) **Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids**. London, Springer Verlag, 1985, p. 197-226.

LENDING, C.R.; LARKINS, B.A. Effect of the floury-2 locus on protein body formation during maize endosperm development. **Protoplasma**, Leipzig, v. 171, n 3-4, p. 123-133, 1992.

LOESCH, P.J.; FOLEY, D.C.; COX, D.F. Comparative resistance of *opaque-2* and normal inbred lines of maize to ear-rotting pathogens. **Crop Science**, Madison, v. 16, p. 841-842, 1976.

LOHMER, S.; MADDALONI, M.; MOTTO, M.; DI FONZO, N.; HARTINGS, H.; SALAMINI, F.; THOMPSON, R.D. The maize regulatory locus Opaque-2 encodes a DNA-binding protein which activates the transcription of the b-32 gene. **EMBO Journal**, Oxford, v. 10, p. 617-624, 1991.

LUGLI, J.; GAZIOLA, S.A.; AZEVEDO, R.A. Effects of calcium, S-adenosylmethionine, S-(2-aminoethyl)-L-cysteine, methionine, valine and salt concentration on rice aspartate kinase isoenzymes. **Plant Science**, Clare, v. 150, p. 51-58, 2000.

MA, Y.; NELSON, O. E. Amino acid composition and storage proteins in two new high-lysine mutants in maize. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 52, p. 412-419, 1975.

MADDALONI, M.; DONINI, G.; BALCONI, C.; RIZZI, E.; GALLUSCI, P.; FORLANI, F.; LOHMER, S.; THOMPSON, R.; SALAMINI, F.; MOTTO, M. The transcriptional activator Opaque-2 controls the expression of a cytosolic form of a pyruvate orthophosphate dikinase-1 in maize endosperm. **Molecular and General Genetic**, New York, v. 250, n 5, p. 647-654, 1996.

MARKS, M.D.; LINDELL, J.S.; LARKINS, B.A. Nucleotide sequence analysis of zein mRNAs from maize endosperm. **Journal Biological Chemistry**, Bethesda, v. 260, p. 16451-16459, 1985.

MAROCCO, A.; SANTUCCI, A.; CERIOLI, S.; DI FONZO, N.; THOMPSON, R.; SALAMINI, F. 3 high- lysine mutations control the level of atp-binding hsp70-like proteins in the maize endosperm. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, n 5, p. 507-515, 1991.

MATTHEWS, B.F.; SHYE, S.C.H.; WIDHOLM, J.M. Mechanism of resistance of a selected carrot cell suspension culture to S-(aminoethyl)-L-cysteine. **Zeitschrift Fur Pflanzenphysiologie**, Germany, v. 96, p. 453-463, 1980.

MATTHEWS, B.F.; WIDHOLM, J.M. Expression of aspartokinase, dihydronicotinamide synthase and homoserine dehydrogenase during growth of carrot (*Daucus carota* cultivar Danvars) cell suspension culture on lysine-supplemented and threonine supplement media. **Zeitschrift Naturforsch**, Wiesbaden, v. 34, p. 1177-1185, 1979a.

MATTHEWS, B.F.; WIDHOLM, J.M. Enzyme Expression in Soybean Cotyledon, Callus, and Cell-Suspension Culture. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 57, n 4, p. 299-304, 1979b.

MAURI, I.; MASSIMO, M.; LOHMER, S.; SALAMINI, E.; THOMPSON, R.; MARTEGANI, E. Functional expression of the transcriptional activator *Opaque-2* of *Zea mays* in transformed yeast. **Molecular and General Genetic**, New York, v. 241, p. 319-326, 1993.

MÉCHIN, V.; BALLIAU, T.; CHÂTEAU, S.; DAVANTURE, M.; LANGELLA, O.; NÉGRONI, L.; PRIOUL, J-L.; THÉVENOT, C.; ZIVY, M.; DAMERVAL, C. A two-dimensional proteome map of maize endosperm. **Phytochemistry**, Oxford, v. 65, p. 1609-1818, 2004.

MERTZ, E.T.; BATES, L.S.; NELSON, O.E. Mutant gene that changes protein composition and increase lysine content of maize endosperm. **Science**, Washington D.C, v. 145, p. 279-280, 1964.

MIRON, D.; BEN-YAACOV, S.; RECHES, D.; SCHUPPER, A.; GALILI, G. Purification and characterization of bifunctional lysine-ketoglutarate reductase/saccharopine dehydrogenase from developing soybean seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 123, p. 655-663, 2000.

MISRA, P.S.; MERTZ, E.T.; GLOVER, D.V. Characteristic of proteins in single and double endosperm mutants of maize. In: BAUMAN, L.F.; MERTZ, E.T.; CABALLO, A.; SPRAGUE, E.W. (Ed) High Quality Protein Maize, Dowden, 1975, p. 291-305.

MOSSÉ, J.; BAUDET, J.; LANDRY, J.; MOUREAUX, T. Etude compare sur les proportions et les compositions en acides aminés des fractions protéiques de grains de maïs normaux et mutants. **Comptes Rendus Hebdomadaires Des Seances De L Academie Des Sciences Serie D 263**, Paris, p. 788-791, 1966

MOTTO, M.; MADDALONI, M.; PONZIANI, G.; BREMBILLA, M.; MAROTTA, R.; DI FONZO, N.; SOAVE, C.; THOMPSON, R.; SALAMINI, F. Molecular cloning of the *o2-m5* allele of *Zea mays* using transposon marking. **Molecular and General Genetic**, New York, v. 212, p. 488-494, 1988.

MUEHLBAUER, G.J.; SOMERS, D.A.; MATTHEWS, B.J.; GENGENBACH, B.G. Molecular genetics of the maize (*zea mays* L) aspartate kinase-homoserine dehydrogenase gene family. **Plant Physiology**, Rockville, v. 106, p. 1303-1312, 1994.

MULLER, M.; MUTH, J.R.; GALLUSCI, P.; KNUDSEN, S.; MADDALONI, M.; MOTTO, M.; SCHMITZ, M.; SALAMINI, F.; VON WETTSTEIN, D.; THOMPSON, R.D. Regulation of storage protein synthesis in cereal seeds: developmental and nutritional aspects. **Journal of Plant Physiology**, Bethesda, v. 145, p. 606-613, 1995.

NEGRUTIU, I.; CATTOIR-REYNEARTS, A.; VERBRUGGEN, I.; JACOBS, M. Lysine overproducer mutants with an altered dihydropicolinate synthase from protoplast culture of *Nicotiana sylvestris*. **Theoretical Applied and Genetics**, New York, v. 68, p. 11-20, 1984.

NELSON, O.E.; MERTZ, E.T.; BATES, L.S. Second mutant gene affecting the amino acid pattern of maize endosperm proteins. **Science**, Washington D.C., v. 150, p.1469-1470, 1965.

NEUBERG, M.; SCHUERMANN, M.; HUNTER, J.B.; MULLER, R. Two functionally different regions in Fos are required for the sequence-specific DNA interaction of the Fos/Jun protein complex. **Nature**, London, v. 338, p. 589-590, 1989.

NIGAM, S.N.; MACCONNEL W.B. Studies on wheat plants using carbon-14 compounds. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 41, p. 1367-1371, 1963.

NYMAN, M.; SILJESTROM, M.; PEDERSEN, B.; BACH KNUDSEN, K.E.; ASP, N.G.; JOHNSON, C.G.; EGGUM, B.O. Dietary fibre content and composition in six cereals at different extraction rates. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 61, p. 14-19, 1984.

OLIVEIRA, J.E.D.; SANTOS A.C.; WILSON, E.D. **Nutrição básica**. São Paulo: Sarvier, 1986, 286 p.

OSBORNE, T.B.; MENDEL, L.B. Nutritive properties of proteins of the maize kernel. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 18, p. 1-6, 1914.

OTTOBONI, L.M.M.; STEFFERSON, D.M. Localization of zein genes in maize. **Biochemical Genetics**, New York, v. 25, p. 123-142, 1987.

PARKS, W.D.; LEWIS, E.D. RUBENSTEIN, I. Heterogeneity of zein mRNAs and protein in maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 65, p. 98-106, 1980.

PATTE, J.C.; LE-BRAS, G.; COHEN, G.N. Regulation by methionine of the synthesis of a third aspartate kinase and a second homoserine dehydrogenase in *Escherichia coli* K12. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 136, p. 245-257, 1967.

PAULIS, J.W.; WALL, JS. Fractionation and characterization of alcohol-soluble reduced endosperm glutelina proteins. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 54, p. 1223-1228, 1985.

PEDERSEN, K.; ARGOS, P.; NARAVANNA, S.V.L.; LARKINS, B.A. Sequence analysis and characterization of a maize gene encoding a high sulfur zein protein of Mr 15,000. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 261, p. 6279-6284, 1986.

PERL, A.; SHAUL, O.; GALILI, G. Regulation of lysine synthesis in transgenic potato plants expressing a bacterial dihydrodipicolinate synthase in their chloroplasts. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 19, p. 815-823, 1992.

PLOTNIKOV, V. K.; BAKALDINA, N. B. Differential stability of zein mRNA in developing corn kernel. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 31, p. 507-515, 1996.

PRAT, S.; PEREZ-GRAU, L.; PUIGDOMENECH, P. Multiple variability in the sequence of a family of maize endosperm proteins. **Gene**, Amsterdam, v. 52, p. 41-49, 1987.

RAFALSKI, J.A.; FALCO, S.C. Structure of the yeast HOM3 gene which encodes aspartokinase. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 263, p. 2146-2151, 1988.

RELTON, J.M.; BONNER, P.R.L.; WALLSGROVE, R.M.; LEA, P.J. Physical and kinetic properties of lysine-sensitive aspartate kinase purified from carrot cell suspension culture. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 953, p. 48-60, 1988.

ROGNES, S.E.; LEA, P.J.; MIFLIN, B.J. S-adenosilmetionine: A novel regulator of aspartate kinase. **Nature**, London, v. 287, p. 357-359, 1980.

SGARBIERI, V.C. Alimentação e nutrição: fator de saúde e desenvolvimento. Campinas: UNICAMP, 1987. 387 p.

SAINIS, J.K.; MAYNE, R.G.; WALLSGROVE, R.M.; LEA, P.J.; MIFLIN, B.J. Localisation and characterization of homoserine dehydrogenase isolated from baley and pea leaves. **Planta**, Berlin, v. 152, p. 491-496, 1981.

SAINT-GIRONS, I.; MARGARITA, D. Fine estrutura analysis of the threonine operon in *Escherichia coli* K12. **Molecular and General Genetic**, New York, v. 162, p. 101-108, 1978.

SAKANO, K.; KOMAMINE, A. Change in the Proportion of Two Aspartokinases in Carrot Root Tissue in Response to *in Vitro* Culture. **Plant Physiology**, Rockville, v. 61, p. 115-118, 1978.

SASSONE-CORSI, P.; RANSONE, L.J., LAMPH, W.W.; VERMA, I.M. Direct interaction between fos and jus nuclear oncoproteins: role of the "leucine zipper" domain. **Nature**, London, v. 336, p. 692-695, 1988.

SHAUL, O.; GALILLI, G. Increased lysine synthesis in transgenic tobacco plants expressing a bacterial dihydropicolinate synthase in their chloroplasts. **Plant Journal**, Washington, D.C., v. 2, p. 203-209, 1992a.

SHAUL, O.; GALILLI, G. Threonine overproduction in transgenic tobacco plants expressing a mutant desensitized aspartate kinase of *Escherichia coli*. **Plant Physiology**, Rockville, v. 100, p. 1157-1163, 1992b.

SHAW, J.F.; KU, C.-Y. Regulation and properties of rice (*Oryza sativa* cultivar Shingshu) aspartokinase. **Botanical Bulletin of Academia Sinica**, Taipei, v. 25, p. 45-58, 1984.

SCHMIDT, R.J.; BURR, F.A.; AUKERMAN, M.J.; BURR, B. Maize regulatory gene opaque-2 encodes a protein with a "leucine zipper" motif that binds to zein DNA. **Proceeding of National of the Academy of Science USA**, Washington, D.C., v. 87, p. 46-50, 1990.

SCHMIDT, R.J.; KETUDAT, M.; AUKERMAN, M. J.; HOSCHEK, G. Opaque-2 is a transcriptional activator that recognizes a specific target site in 22-kd zein genes. **Plant Cell**, Rockville, v. 4, p. 689-700, 1992.

SHERMA, J. Thin-layer chromatography in food and agricultural analysis. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 880, p. 129-147, 2000.

SCHUERMANN, M.; NEUBERG, M.; HUNTER, J.B.; JENUWEIN, T.; RYSECK, R.P.; BRAVO, R.; MULLER, R. The leucine repeat motif in Fos protein mediates complex formation with Jun/AP-1 and is required for transformation. **Cell**, Cambridge, v. 56, p. 507-516, 1989.

SOAVE, C.; TARDANI, I.; DI FONZO, N.; SALAMINI, F. Regulation of zein level in maize endosperm by a protein under control of the *opaque-2* and *opaque-6* loci. **Cell**, Cambridge, v. 27, p. 403-410, 1981.

SODEK, L. Biosynthesis of lysine and other amino acids in the developing maize endosperm. **Phytochemistry**, Cambridge, v. 15, p. 1903-1906, 1976.

SODEK, L.; WILSON, C.M. Incorporation of leucine-C14 and Lysine-C14 into protein in the developing endosperm of normal and opaque-2 corn. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 140, p. 29-38, 1970.

SODEK, L.; WILSON, C.M. Amino acid composition of proteins isolated from normal, opaque-2, and floury-2 corn endosperm by a modified osborne procedure. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 19, n 6, p. 1144-1150, 1971.

SONG, R.; LLACA, V.; LINTON, E.; MESSING, J. Sequence, Regulation, and Evolution of the Maize 22-kD α Zein Gene Family. **Genome Research**, Woodbury, v. 11, p. 1817-1825, 2001.

STADTMAN, E.R.; COHEN, G.N.; LE-BRAS; ROBINSON-SZULMAJSTER, H. Feedback inhibition and repression of aspartokinase activity in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 236, p. 2033-2038, 1961.

TANG, G.; MIRON, D.; ZHU-SHIMONI, J.X.; GALILI, G. Regulation of lysine catabolism through lysine-ketoglutarate reductase and saccharopine dehydrogenase in *Arabidopsis*. **Plant Cell**, Rockville, v. 9, p. 1305-1316, 1997.

TEIXEIRA, C.M.G.; GAZIOLA, S.A.; LUGLI, J.; AZEVEDO, R.A. Isolation, partial purification and characterization of isoenzymes of aspartate kinase from rice seeds. **Journal of Plant Physiology**, Stuttgart, v. 153, p. 281-289, 1998.

TSAI, C.Y.; HUBBER, M.D.; WARREN, H.L. Relationship of the kernel sink for N to maize productivity. **Crop Science**, Madison, v. 18, p. 399-404, 1978.

TSAI, C.Y.; HUBBER, M.D.; WARREN, H.L. A proposed role of zein and glutelina as N sinks in maize. **Plant Physiology**, Rockville, v. 66, p. 330-333, 1980.

TZCHORI, I. B.-T.; PERL, A.; GALILI, G. Lysine and threonine metabolism are subject to complex patterns of regulation in *Arabidopsis*. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 32, p. 727-734, 1996.

TURNER, R.; TJIAN, R. Leucine repeats and an adjacent DNA binding domain mediate the formation of functional cFos-cJun heterodimers. **Science**, Washington D.C., v. 43, p. 1689-1694, 1989.

VARAGONA, M.J.; SCHMIDT, R.J.; RAIKHEL, N.V. Monocot regulatory protein Opaque-2 is localized in the nucleus of maize endosperm and transformed tobacco plants. **Plant Cell**, Rockville, v. 3, p. 105-113, 1991.

VAUTERIM, M.; JACOBS, M. Isolation of a poplar and *Arabidopsis thaliana* dihydrodipicolinate synthase cDNA clone. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 25, p. 545-550, 1994.

VAUTERIM, M.; FRANKARD, V.; JACOBS, M. The *Arabidopsis thaliana dhds* gene encoding dihydrodipicolinate synthase, key enzyme of lysine biosynthesis, is expressed in a cell-specific manner. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 39, p. 695-708, 1999.

VICENTE-CARBAJOSA, J.; MOOSE, S.P.; PARSON, R.L.; SCHMIDT, R.J. A maize zinc-finger protein binds the prolamin box in zein gene promoters and interacts with the basic leucine zipper transcriptional activator Opaque2. **Proceeding of National of the Academy of Science USA**, Washington, D.C., v. 94, p. 7685-7690, 1997.

WANG, X.; LARKINS, A. Genetic analysis of amino acid accumulation in opaque-2 maize endosperm. **Plant Physiology**, Rockville, v. 125, p. 1766-1777, 2001.

WEISEMANN, J.M.; MATTHEWS, B.F. Identification and expression of a cDNA from *Daucus carota* encoding a bifunctional aspartokinase-homoserine dehydrogenase. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 22, p. 301-312, 1993.

WILKINS, J.C.; HOMER, K.A.; BEIGHTON, D. Altered protein expression of *Streptococcus oralis* cultured at low pH revealed by two-dimensional gel electrophoresis. **Applied Environmental Microbiology**, Londo, v. 67, p. 3396-3405, 2001.

VINSON, C.R.; SIGLER, P.B.; McKNIGHT, S.L. Scissor-grip model for DNA recognition by a family of leucine zipper proteins. **Science**, Washington D.C., v. 246, p. 911-916, 1989.

WILSON, B.J.; GRAY, A.A.; MATTHEWS, B.F. Bifunctional protein in carrot contains both aspartokinase and homoserine dehydrogenase activities. **Plant Physiology**, Rockville, v. 97, p. 1323-1328, 1991.

WILSON, C.M.; SHEWRY, P.R.; MIJLIN, B.J. Maize endosperm proteins compared by sodium dodecyl sulfate gel electroforese and isoelectrofocussing. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 58, p. 275-281, 1981.

YAU, J.C.; BOCKHOLT, A.J.; SMITH, J.D.; ROONEY, L.W.; WANISKA, R.D. Maize endosperm proteins that contribute to endosperm lysine content. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 76, n 5, p. 668-672, 1999.

YUNES, J.A.; CORD NETO, G.; SILVA, M.J.; LEITE, A.; OTTOBONI, L.M.M.; ARRUDA, P. The transcriptional activator Opaque2 recognizes two different target sequence in the 22 kDa prolamin genes. **Plant Cell**, Rockville, v. 6, p. 237-249, 1994.

YUNES, J.A.; VETTORE, A.L.; SILVA, M.J.; LEITE, A.; ARRUDA, P. Cooperative DNA binding and sequence discrimination by the Opaque2 bZIP factor. **Plant Cell**, Rockville, v. 10, p. 1941-1955, 1998.

ZHANG, S.Q.; JIN, C.D.; ROUX, S.J. Casein kinase II-type protein-kinase from pea cytoplasm and its inactivation by alkaline-phosphatase in-vitro. **Plant Physiology**, Rockville, v. 103, n.3, p. 955-962, 1993.

ZHU-SHIMONI, J.X.; LEV YADUM, S.; MATTHEWS, B.; GALILLI, G. Expression of an aspartate kinase homoserine dehydrogenase gene is subject to specific spatial and temporal regulation in vegetative tissue, flowers, and developing seeds. **Plant Physiology**, Rockville, v. 113, p. 695-706, 1997.

ANEXO

Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	259	111	5,20	112	27903	0,098	2389,4	0,393	0,084	1,187
2	495	121	6,59	107	32511	0,087	2386,5	0,458	0,084	1,309
3	524	125	6,76	105	22831	0,144	2945,0	0,321	0,104	1,227
4	544	125	6,87	105	27903	0,139	3371,2	0,393	0,119	0,736
5	564	126	6,99	105	37887	0,318	8389,6	0,533	0,295	0,920
6	485	127	6,53	105	37119	0,185	5170,7	0,523	0,182	0,927
7	467	127	6,42	105	38655	0,300	8997,4	0,544	0,317	0,629
8	504	127	6,64	105	25313	0,144	3282,9	0,356	0,116	1,227
9	412	130	6,10	103	30207	0,219	5476,7	0,425	0,193	0,693
10	427	128	6,19	104	34047	0,191	5287,5	0,479	0,186	0,934
11	447	127	6,30	105	37119	0,231	6814,9	0,523	0,240	0,778
12	239	132	5,09	102	40191	0,422	14941,4	0,566	0,526	0,619
13	192	142	4,84	98	40959	0,260	9239,9	0,577	0,325	0,709
14	204	143	4,91	98	37887	0,214	7165,4	0,533	0,252	0,807
15	141	145	4,57	97	39423	0,624	20622,2	0,555	0,726	0,604
16	230	149	5,04	95	44031	0,202	7490,7	0,620	0,264	1,167
17	222	149	5,00	95	41727	0,196	7214,2	0,588	0,254	1,068
18	238	148	5,09	95	39423	0,214	7209,8	0,555	0,254	0,848
19	643	152	7,45	94	21609	0,144	3052,6	0,304	0,107	1,227
20	624	154	7,34	93	25711	0,144	3358,7	0,362	0,118	1,227
21	657	154	7,54	93	21759	0,144	2924,6	0,306	0,103	1,227
22	209	165	4,93	89	42495	0,693	24539,1	0,598	0,863	0,626
23	358	165	5,78	89	27135	0,196	4641,3	0,382	0,163	0,680
24	379	165	5,90	89	42495	0,243	8379,3	0,598	0,295	0,963
25	424	176	6,17	85	27135	0,144	3310,6	0,382	0,116	1,227
26	260	182	5,21	82	43263	0,491	17288,0	0,609	0,608	0,857
27	276	180	5,30	83	27478	0,231	5753,2	0,387	0,202	1,159
28	237	181	5,08	83	43263	0,387	14764,0	0,609	0,520	0,921
29	249	181	5,15	83	44799	0,312	12686,6	0,631	0,446	0,985
30	608	182	7,25	82	28376	0,144	3588,7	0,400	0,126	1,227
31	226	186	5,02	81	44031	0,427	17600,0	0,620	0,619	0,928
32	216	185	4,97	81	41727	0,144	5448,7	0,588	0,192	1,227
33	389	186	5,96	81	24831	0,144	2933,5	0,350	0,103	1,227
34	249	187	5,15	81	44031	0,347	14216,9	0,620	0,500	0,907
35	433	187	6,22	81	34047	0,144	4078,0	0,479	0,143	1,227
36	238	188	5,09	80	44799	0,306	12370,1	0,631	0,435	0,740
37	413	188	6,10	80	38655	0,196	6300,4	0,544	0,222	1,068
38	276	196	5,30	78	35828	0,295	8839,6	0,504	0,311	0,890
39	285	196	5,35	78	33279	0,168	5011,0	0,469	0,176	1,125
40	329	196	5,61	78	27903	0,144	3479,1	0,393	0,122	1,227
41	368	197	5,84	77	40191	0,144	4898,6	0,566	0,172	1,227
42	159	205	4,66	75	44799	0,797	26535,2	0,631	0,934	0,635
43	391	206	5,97	74	34047	0,144	4082,4	0,479	0,144	1,227
44	420	206	6,14	74	28671	0,144	3678,8	0,404	0,129	1,227
45	178	211	4,77	73	52479	1,600	71574,3	0,739	2,519	0,579

Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)										
SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
45	178	211	4,77	73	52479	1,600	71574,3	0,739	2,519	0,579
46	364	208	5,82	74	26956	0,144	3665,0	0,380	0,129	1,227
47	342	209	5,69	73	31743	0,202	5459,0	0,447	0,192	0,748
48	573	212	7,04	72	36251	0,243	7450,2	0,510	0,262	0,963
49	343	214	5,69	72	32511	0,266	7298,4	0,458	0,257	0,803
50	547	219	6,89	70	33279	0,520	15454,4	0,469	0,544	0,823
51	561	219	6,97	70	42495	0,468	17721,3	0,598	0,624	0,812
52	573	220	7,04	70	45957	0,526	21667,2	0,647	0,762	0,806
53	588	221	7,13	70	43263	0,838	31571,5	0,609	1,111	0,775
54	602	221	7,21	70	40191	0,485	16550,2	0,566	0,582	0,858
55	237	220	5,08	70	34815	0,144	4561,5	0,490	0,161	1,227
56	253	221	5,17	70	42495	0,416	14425,4	0,598	0,508	0,840
57	270	221	5,26	70	40191	0,347	12109,9	0,566	0,426	0,793
58	282	220	5,33	70	36352	0,144	4645,8	0,512	0,163	1,227
59	587	229	7,13	67	35583	0,144	4943,0	0,501	0,174	1,227
60	344	237	5,70	65	45567	0,687	26693,6	0,642	0,939	0,806
61	321	238	5,56	65	48639	0,606	25351,0	0,685	0,892	0,839
62	372	236	5,86	65	32511	0,144	4406,2	0,458	0,155	1,227
63	301	238	5,45	65	44799	0,144	6056,4	0,631	0,213	1,227
64	611	243	7,27	63	25224	0,266	6094,8	0,355	0,214	1,012
65	454	249	6,34	62	39423	0,705	21711,9	0,555	0,764	0,873
66	247	248	5,14	62	44799	0,508	19177,7	0,631	0,675	0,870
67	264	248	5,23	62	48639	0,479	19760,3	0,685	0,695	0,794
68	301	248	5,45	62	45567	0,497	19325,5	0,642	0,680	0,922
69	325	246	5,59	62	34815	0,144	4809,9	0,490	0,169	1,227
70	624	246	7,34	62	23295	0,087	1991,7	0,328	0,070	0,793
71	639	248	7,43	62	24006	0,682	15463,7	0,338	0,544	0,515
72	346	246	5,71	62	34815	0,116	3791,2	0,490	0,133	0,887
73	399	247	6,02	62	32511	0,144	4069,1	0,458	0,143	1,227
74	509	247	6,67	62	32511	0,144	4144,5	0,458	0,146	1,227
75	232	249	5,06	62	37119	0,358	11926,5	0,523	0,420	0,937
76	283	249	5,34	62	39423	0,243	8942,7	0,555	0,315	0,898
77	375	248	5,88	62	33279	0,144	4424,0	0,469	0,156	1,227
78	668	251	7,61	61	24232	0,243	5223,6	0,341	0,184	0,992
79	365	255	5,82	60	44031	0,370	13384,5	0,620	0,471	0,803
80	338	256	5,66	60	34815	0,144	4699,0	0,490	0,165	1,227
81	380	259	5,91	59	30207	0,144	3905,0	0,425	0,137	1,227
82	287	262	5,36	58	41727	0,277	10233,5	0,588	0,360	0,916
83	648	260	7,48	59	22527	0,104	2151,3	0,317	0,076	1,029
84	265	262	5,24	58	45567	0,404	15629,0	0,642	0,550	0,926
85	340	261	5,68	59	30207	0,144	3976,0	0,425	0,140	1,227
86	248	262	5,14	58	37887	0,300	10377,0	0,533	0,365	0,869
87	616	264	7,30	58	21759	0,121	2448,5	0,306	0,086	0,846
88	93	268	4,31	57	41471	0,520	17335,1	0,584	0,610	0,861
89	518	266	6,72	57	21759	0,081	1688,5	0,306	0,059	1,174
90	342	272	5,69	56	26367	0,144	3421,5	0,371	0,120	1,227

Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	610	272	7,26	56	20223	0,081	1577,7	0,285	0,056	1,174
92	522	278	6,74	54	21759	0,150	3059,2	0,306	0,108	1,048
93	566	285	7,00	53	27135	0,144	3323,9	0,382	0,117	1,227
94	600	290	7,20	52	27008	0,520	11932,2	0,380	0,420	0,698
95	286	288	5,36	52	31743	0,144	4237,7	0,447	0,149	1,227
96	586	288	7,12	52	40191	0,191	6684,8	0,566	0,235	1,170
97	304	293	5,46	51	27903	0,144	3687,6	0,393	0,130	1,227
98	135	307	4,54	48	47613	3,870	158406,0	0,670	5,574	0,637
99	531	300	6,80	49	20223	0,116	2167,6	0,285	0,076	1,107
100	518	305	6,72	48	23434	0,243	5024,7	0,330	0,177	0,992
101	376	309	5,89	48	46335	0,618	21126,4	0,652	0,743	0,881
102	291	307	5,39	48	24831	0,006	143,4	0,350	0,005	0,000
103	518	317	6,72	46	23103	0,254	5245,1	0,325	0,185	0,904
104	564	320	6,99	45	28671	0,387	9742,5	0,404	0,343	0,759
105	589	320	7,14	45	43263	0,347	12482,5	0,609	0,439	0,857
106	606	319	7,24	46	50175	0,583	23260,2	0,706	0,818	0,711
107	188	318	4,82	46	27135	0,144	3519,1	0,382	0,124	1,227
108	547	316	6,89	46	22527	0,006	130,1	0,317	0,005	0,000
109	675	322	7,66	45	51711	0,791	31298,0	0,728	1,101	0,903
110	689	320	7,76	45	31550	0,312	8496,8	0,444	0,299	0,688
111	640	322	7,44	45	33279	0,491	14369,1	0,469	0,506	0,868
112	707	321	7,89	45	51711	0,485	20294,1	0,728	0,714	0,722
113	717	320	7,96	45	46335	0,300	11889,6	0,652	0,418	1,012
114	507	327	6,66	44	24785	0,416	9560,6	0,349	0,336	1,012
115	605	327	7,23	44	53247	0,670	31173,9	0,750	1,097	0,795
116	258	329	5,19	44	26367	0,144	3532,4	0,371	0,124	1,227
117	344	329	5,70	44	24831	0,144	3190,8	0,350	0,112	1,227
118	630	337	7,38	42	48639	0,531	20971,3	0,685	0,738	0,880
119	666	334	7,60	43	22527	0,144	2973,4	0,317	0,105	1,227
120	331	335	5,62	43	27135	0,144	3501,3	0,382	0,123	1,227
121	591	336	7,15	42	35509	0,300	9138,1	0,500	0,322	0,993
122	503	337	6,63	42	24420	0,185	3991,9	0,344	0,140	0,936
123	641	339	7,44	42	47103	0,416	16177,6	0,663	0,569	0,917
124	210	339	4,94	42	33279	0,312	8512,3	0,469	0,300	0,851
125	604	338	7,22	42	35867	0,144	4818,5	0,505	0,170	1,227
126	467	346	6,42	41	23295	0,191	4058,7	0,328	0,143	0,865
127	514	348	6,70	40	48285	0,468	17603,4	0,680	0,619	0,801
128	697	347	7,82	40	21121	0,162	3172,1	0,297	0,112	0,642
129	657	349	7,54	40	27135	0,144	3452,5	0,382	0,121	0,767
130	409	351	6,08	40	37119	0,520	14278,9	0,523	0,502	0,920
131	503	355	6,63	39	32013	0,144	4144,0	0,451	0,146	1,227
132	354	359	5,76	38	37887	0,497	14162,1	0,533	0,498	0,922
133	612	359	7,27	38	43263	0,572	19499,9	0,609	0,686	0,960
134	159	360	4,66	38	27135	0,116	2961,6	0,382	0,104	0,755
135	334	361	5,64	38	27135	0,191	4560,0	0,382	0,160	0,956

Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	452	381	6,33	35	54858	1,375	56834,9	0,772	2,000	0,598
137	507	380	6,66	35	43263	0,751	25662,8	0,609	0,903	0,804
138	707	381	7,89	35	44287	0,739	22443,4	0,624	0,790	0,867
139	398	381	6,02	35	34815	0,479	13567,7	0,490	0,477	0,890
140	555	381	6,94	35	26367	0,404	9236,8	0,371	0,325	0,715
141	684	380	7,73	35	25599	0,260	5873,0	0,360	0,207	0,806
142	354	381	5,76	35	23295	0,526	11126,3	0,328	0,392	0,843
143	610	383	7,26	35	50175	0,745	29968,7	0,706	1,055	0,945
144	662	382	7,57	35	28671	0,364	8663,1	0,404	0,305	0,976
145	318	389	5,55	34	23295	0,144	2951,3	0,328	0,104	1,227
146	419	398	6,14	32	47103	0,699	25001,9	0,663	0,880	0,768
147	493	397	6,57	33	34815	0,462	12174,8	0,490	0,428	0,933
148	660	402	7,56	32	36352	0,572	16017,7	0,512	0,564	0,877
149	78	408	4,23	31	43649	1,109	36476,8	0,615	1,284	0,789
150	267	411	5,25	31	41727	0,589	17525,9	0,588	0,617	0,865
151	375	413	5,88	31	47103	0,734	26031,0	0,663	0,916	0,851
152	183	417	4,79	30	28671	0,335	8726,7	0,404	0,307	0,613
153	446	417	6,30	30	22527	0,254	5037,5	0,317	0,177	0,397
154	593	423	7,16	30	20991	0,156	3042,9	0,296	0,107	0,624
155	430	430	6,20	29	22527	0,237	4798,0	0,317	0,169	0,703
156	133	433	4,52	29	30975	0,352	9476,3	0,436	0,333	0,753
157	155	435	4,64	29	26367	0,144	3514,6	0,371	0,124	1,227
158	740	442	8,12	29	52156	1,375	57343,7	0,734	2,018	0,752
159	679	441	7,69	29	49975	0,843	30533,8	0,704	1,074	0,849
160	655	439	7,52	29	20723	0,144	2866,3	0,292	0,101	1,227
161	742	462	8,13	27	59247	2,437	119297,0	0,834	4,198	0,683
162	690	461	7,77	28	46335	0,716	26718,6	0,652	0,940	0,873
163	646	461	7,47	28	36352	0,630	18680,7	0,512	0,657	0,768
164	722	462	7,99	27	55426	1,040	49606,0	0,780	1,746	0,762
165	202	462	4,89	27	30975	0,341	8825,8	0,436	0,311	0,798
166	346	468	5,71	27	31743	0,387	9986,5	0,447	0,351	0,827
167	451	474	6,33	27	40191	0,699	22016,5	0,566	0,775	0,852
168	370	481	5,85	26	50175	1,612	65291,4	0,706	2,297	0,663
169	270	479	5,26	26	35583	1,115	32156,7	0,501	1,132	0,709
170	311	481	5,51	26	44799	0,965	34979,6	0,631	1,231	0,738
171	633	484	7,40	26	51711	1,080	47962,4	0,728	1,688	0,861
172	580	484	7,08	26	36352	0,716	19980,4	0,512	0,703	0,787
173	658	484	7,54	26	27903	0,416	10202,3	0,393	0,359	0,827
174	676	481	7,67	26	20223	0,012	233,6	0,285	0,008	12,566
175	752	486	8,20	26	29006	0,393	9726,9	0,408	0,342	0,905
176	345	488	5,70	26	40191	0,554	18142,6	0,566	0,638	0,815
177	280	490	5,32	26	27903	0,347	8813,9	0,393	0,310	0,945
178	260	491	5,21	25	23295	0,144	3133,1	0,328	0,110	1,227
179	221	495	5,00	25	33279	0,439	11982,6	0,469	0,422	0,843
180	170	497	4,72	25	24063	0,144	3252,9	0,339	0,114	1,227

Tabela 20 – Análise de spots* de albumina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

										(conclusão)
SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
181	309	498	5,49	25	21759	0,144	2977,9	0,306	0,105	1,227
182	669	503	7,62	24	35583	0,537	14278,8	0,501	0,502	0,799
183	729	502	8,04	24	33562	0,231	6786,0	0,473	0,239	0,778
184	697	503	7,82	24	21041	0,144	2790,9	0,296	0,098	1,227
185	742	515	8,13	23	54687	1,814	76762,2	0,770	2,701	0,824
186	324	512	5,58	23	37119	0,641	19020,8	0,523	0,669	0,887
187	283	518	5,34	23	37119	0,826	23805,6	0,523	0,838	0,791
188	460	520	6,38	23	45567	0,699	23919,5	0,642	0,842	0,852
189	139	522	4,56	22	37119	0,520	15077,4	0,523	0,531	0,698
190	662	537	7,57	21	23056	0,497	9673,4	0,325	0,340	0,839
191	640	538	7,44	21	17285	0,358	5942,9	0,243	0,209	1,001
192	730	537	8,05	21	22527	0,029	632,8	0,317	0,022	1,143
193	649	549	7,49	20	21426	0,520	10084,8	0,302	0,355	0,920
194	658	577	7,54	18	27519	0,497	11460,3	0,387	0,403	1,009
195	283	583	5,34	17	40287	0,624	18645,2	0,567	0,656	0,838
196	163	603	4,69	16	22527	0,046	996,6	0,317	0,035	1,134
197	522	620	6,74	15	27730	0,589	12575,0	0,390	0,442	0,950
198	127	635	4,49	14	29106	0,358	9111,0	0,410	0,321	0,944
199	328	645	5,60	13	19455	0,162	2995,6	0,274	0,105	0,696
200	188	651	4,82	13	19622	0,318	5915,8	0,276	0,208	0,920
201	646	667	7,47	12	18687	0,087	1517,0	0,263	0,053	0,929
202	229	673	5,04	12	20991	0,069	1375,1	0,296	0,048	1,157
203	441	685	6,27	11	50064	2,680	97210,3	0,705	3,421	0,616
204	633	686	7,40	11	34931	0,809	23307,6	0,492	0,820	0,707
205	695	727	7,80	9	31676	0,589	14035,8	0,446	0,494	0,950
206	656	738	7,53	9	19466	0,202	3736,4	0,274	0,131	0,909

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	447	119	6,60	105	42919	1,657	45445,9	0,335	0,126	1,000
2	382	119	6,18	105	25957	1,049	24411,7	0,203	0,068	1,086
3	414	119	6,39	105	40606	1,933	57977,8	0,317	0,161	0,844
4	432	119	6,50	105	54741	1,878	62405,9	0,427	0,174	0,883
5	397	119	6,27	105	34953	1,160	34247,4	0,273	0,095	1,031
6	219	129	5,12	100	52428	1,712	73121,8	0,409	0,203	1,034
7	147	130	4,65	99	49858	2,761	107540,0	0,389	0,299	0,836
8	228	130	5,17	99	53713	2,154	91047,4	0,419	0,253	1,013
9	241	130	5,26	99	42919	1,270	48312,7	0,335	0,134	0,953
10	355	145	6,00	92	50116	2,264	67530,0	0,391	0,188	1,041
11	293	149	5,60	90	33667	1,160	31039,7	0,263	0,086	1,200
12	392	152	6,24	89	24415	1,049	20849,3	0,191	0,058	1,327
13	155	157	4,70	86	41891	3,590	130262,0	0,327	0,362	0,732
14	242	160	5,27	85	48830	3,148	124784,0	0,381	0,347	0,936
15	253	159	5,34	86	34953	0,884	28470,9	0,273	0,079	1,396
16	309	159	5,70	86	36751	0,939	29776,6	0,287	0,083	1,145
17	322	159	5,79	86	35980	1,270	38604,5	0,281	0,107	1,216
18	228	163	5,17	84	51657	3,369	136535,0	0,403	0,380	0,907
19	217	164	5,10	83	52942	2,540	110619,0	0,413	0,308	0,756
20	248	162	5,30	84	45232	1,049	38022,9	0,353	0,106	1,177
21	209	163	5,05	84	43690	1,270	48142,2	0,341	0,134	0,953
22	343	168	5,92	82	55512	3,645	141659,0	0,433	0,394	0,959
23	324	168	5,80	82	47031	2,375	89159,6	0,367	0,248	0,986
24	565	172	6,91	80	33667	1,215	30656,5	0,263	0,085	1,048
25	267	172	5,43	80	33667	1,325	39626,5	0,263	0,110	1,178
26	276	174	5,49	79	49601	2,651	97221,1	0,387	0,270	0,978
27	431	175	6,50	79	25957	0,939	19330,6	0,203	0,054	0,704
28	373	178	6,12	78	34953	2,375	70936,1	0,273	0,197	0,860
29	175	183	4,83	76	52685	27,778	1181996,0	0,411	3,288	0,543
30	363	180	6,05	77	53970	2,209	84546,9	0,421	0,235	0,944
31	390	180	6,23	77	41120	2,319	63087,4	0,321	0,175	1,067
32	321	181	5,78	77	51914	3,866	153893,0	0,405	0,428	0,926
33	712	182	7,75	76	22616	2,927	53904,7	0,177	0,150	0,871
34	304	182	5,67	76	39835	2,154	67231,5	0,311	0,187	1,045
35	340	181	5,90	77	41891	2,264	72412,0	0,327	0,201	0,921
36	270	182	5,45	76	34438	1,270	36461,5	0,269	0,101	1,129
37	286	182	5,55	76	39064	1,491	45857,0	0,305	0,128	1,119
38	367	184	6,08	75	45746	1,325	45899,7	0,357	0,128	0,906
39	692	184	7,45	75	22359	1,381	26185,8	0,175	0,073	1,227
40	245	190	5,28	73	52685	2,816	102103,0	0,411	0,284	1,040
41	263	190	5,40	73	44975	1,436	52314,8	0,351	0,146	0,922
42	230	191	5,19	73	40093	0,884	30245,0	0,313	0,084	1,078
43	270	193	5,45	72	53199	3,203	120157,0	0,415	0,334	0,797
44	601	198	7,01	70	27499	0,828	20153,8	0,215	0,056	1,103
45	551	201	6,87	69	28784	0,663	15456,0	0,225	0,043	0,916

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	285	204	5,55	68	46260	1,767	65258,6	0,361	0,182	1,067
47	303	205	5,66	68	53199	3,093	133370,0	0,415	0,371	1,041
48	321	205	5,78	68	53970	4,473	192299,0	0,421	0,535	0,899
49	371	204	6,11	68	35209	1,491	41059,8	0,275	0,114	1,119
50	341	205	5,91	68	46003	2,264	77365,3	0,359	0,215	0,836
51	385	209	6,20	66	28527	0,994	23318,8	0,223	0,065	1,154
52	418	210	6,41	66	42148	3,424	93204,5	0,329	0,259	0,886
53	266	210	5,42	66	36494	0,994	32558,3	0,285	0,091	1,374
54	558	210	6,89	66	22873	0,939	18394,0	0,179	0,051	1,090
55	460	213	6,63	65	55255	2,927	100329,0	0,431	0,279	0,835
56	436	213	6,53	65	35980	1,602	44863,6	0,281	0,125	1,002
57	224	214	5,15	65	39578	1,215	42834,3	0,309	0,119	1,128
58	369	215	6,09	64	39835	2,982	88975,0	0,311	0,248	0,943
59	595	214	6,99	65	37266	2,099	60319,8	0,291	0,168	0,879
60	241	215	5,26	64	49858	3,700	157342,0	0,389	0,438	0,694
61	256	215	5,36	64	55769	3,203	154915,0	0,435	0,431	0,797
62	272	216	5,46	64	48830	3,590	154163,0	0,381	0,429	0,859
63	342	217	5,92	64	52685	4,197	183556,0	0,411	0,511	1,044
64	298	217	5,63	64	41634	1,602	58559,8	0,325	0,163	0,967
65	306	217	5,68	64	42919	1,933	68948,8	0,335	0,192	1,100
66	317	216	5,75	64	52428	1,933	85341,7	0,409	0,237	0,938
67	288	217	5,56	64	57054	2,816	135627,0	0,445	0,377	0,853
68	325	216	5,81	64	48316	1,657	68835,1	0,377	0,191	1,000
69	360	216	6,03	64	32639	1,325	38817,3	0,255	0,108	0,995
70	551	218	6,87	63	22873	1,049	20650,6	0,179	0,057	0,819
71	575	219	6,94	63	24929	1,160	24582,1	0,195	0,068	0,932
72	519	221	6,79	62	20560	1,988	36504,2	0,161	0,102	0,770
73	398	222	6,28	62	29812	2,430	58928,6	0,233	0,164	0,941
74	467	223	6,65	62	40349	1,270	40563,2	0,315	0,113	1,096
75	224	223	5,15	62	35209	1,546	47971,8	0,275	0,133	1,086
76	258	224	5,37	61	54741	5,081	234636,0	0,427	0,653	0,791
77	276	224	5,49	61	53199	2,043	93942,4	0,415	0,261	0,991
78	435	223	6,52	62	34181	2,319	63839,2	0,267	0,178	0,963
79	444	223	6,58	62	38807	1,491	47659,4	0,303	0,133	0,900
80	486	224	6,70	61	51914	2,540	78727,6	0,405	0,219	1,109
81	594	224	6,99	61	46003	3,203	92722,0	0,359	0,258	1,013
82	240	223	5,25	62	50372	2,706	115558,0	0,393	0,321	0,684
83	459	223	6,63	62	39064	1,270	40222,6	0,305	0,112	1,129
84	473	224	6,67	61	50372	1,657	63584,0	0,393	0,177	1,063
85	505	226	6,75	61	24672	1,878	37838,3	0,193	0,105	0,911
86	546	224	6,86	61	23387	1,160	22453,2	0,183	0,062	1,077
87	287	225	5,56	61	40606	1,546	54003,9	0,317	0,150	1,160
88	321	225	5,78	61	51143	2,043	81254,1	0,399	0,226	0,940
89	355	225	6,00	61	43947	1,491	48170,4	0,343	0,134	1,164
90	558	226	6,89	61	22102	1,436	27633,8	0,173	0,077	0,697

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	577	226	6,94	61	34438	1,933	47943,5	0,269	0,133	0,909
92	226	230	5,16	60	30069	1,381	36588,9	0,235	0,102	1,227
93	241	232	5,26	59	32639	1,381	39399,3	0,255	0,110	1,227
94	321	233	5,78	59	50116	2,209	84717,0	0,391	0,236	0,855
95	573	236	6,93	58	26214	1,381	28101,8	0,205	0,078	1,227
96	523	237	6,80	57	19018	1,105	18294,7	0,148	0,051	0,953
97	544	238	6,86	57	21074	1,105	18649,7	0,165	0,052	0,887
98	471	240	6,66	57	41634	2,872	73802,9	0,325	0,205	0,932
99	240	240	5,25	57	32639	1,381	39640,7	0,255	0,110	1,227
100	262	240	5,40	57	38293	1,933	63626,7	0,299	0,177	0,802
101	280	240	5,51	57	34953	1,381	41727,1	0,273	0,116	1,227
102	286	240	5,55	57	33924	1,381	38079,3	0,265	0,106	1,227
103	440	241	6,55	56	28527	1,491	34857,7	0,223	0,097	1,020
104	463	244	6,64	55	40349	1,878	53663,3	0,315	0,149	0,864
105	506	244	6,76	55	20818	1,657	28456,9	0,163	0,079	0,830
106	295	248	5,61	54	45746	2,485	90266,4	0,357	0,251	0,806
107	273	249	5,47	54	40349	1,381	48795,5	0,315	0,136	1,227
108	690	249	7,42	54	50629	2,651	101962,0	0,395	0,284	0,934
109	714	251	7,78	54	53970	4,694	189630,0	0,421	0,528	0,840
110	436	250	6,53	54	24672	1,381	28258,0	0,193	0,079	1,227
111	288	252	5,56	53	50886	1,878	74484,0	0,397	0,207	0,911
112	394	252	6,25	53	24415	1,381	27647,8	0,191	0,077	1,227
113	446	253	6,59	53	21588	1,381	25121,4	0,169	0,070	1,227
114	535	254	6,83	53	33410	1,491	36092,4	0,261	0,100	0,957
115	172	255	4,81	52	49601	8,118	323881,0	0,387	0,901	0,584
116	245	258	5,28	52	52685	2,706	104857,0	0,411	0,292	0,999
117	261	258	5,39	52	46774	1,933	74186,2	0,365	0,206	1,073
118	235	258	5,22	52	34953	1,602	49902,2	0,273	0,139	1,202
119	275	259	5,48	51	49344	2,099	83908,1	0,385	0,233	0,916
120	325	258	5,81	52	39321	1,270	42692,0	0,307	0,119	1,021
121	219	259	5,12	51	31611	1,381	39456,1	0,247	0,110	1,227
122	296	260	5,62	51	47802	2,043	77180,7	0,373	0,215	0,991
123	307	261	5,69	51	40606	2,761	95262,7	0,317	0,265	0,807
124	349	266	5,96	50	55255	5,633	244415,0	0,431	0,680	0,933
125	397	264	6,27	50	22359	0,884	17513,9	0,175	0,049	1,026
126	319	266	5,77	50	40606	2,043	67203,2	0,317	0,187	0,791
127	384	266	6,19	50	22616	1,215	24184,7	0,177	0,067	1,080
128	467	266	6,65	50	42919	1,602	50001,4	0,335	0,139	1,202
129	327	267	5,82	49	40606	1,270	42649,7	0,317	0,119	1,216
130	505	269	6,75	49	50886	3,700	147592,0	0,397	0,411	0,886
131	527	270	6,81	49	53713	4,805	220869,0	0,419	0,614	0,796
132	486	269	6,70	49	46517	2,927	90777,4	0,363	0,253	0,850
133	570	268	6,92	49	39578	1,822	51775,6	0,309	0,144	1,012
134	714	268	7,78	49	31868	2,099	53833,4	0,249	0,150	0,871
135	515	270	6,78	49	43177	1,381	49235,2	0,337	0,137	1,227

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	550	270	6,87	49	37008	1,546	46211,7	0,289	0,129	0,675
137	226	272	5,16	48	41891	2,264	78600,2	0,327	0,219	0,968
138	238	272	5,24	48	32896	1,381	41002,9	0,257	0,114	1,227
139	257	273	5,36	48	33667	1,767	54245,0	0,263	0,151	0,877
140	265	273	5,42	48	30583	1,381	37866,5	0,239	0,105	1,227
141	129	281	4,53	46	51914	14,303	584364,0	0,405	1,626	0,827
142	349	275	5,96	47	40093	1,215	39953,0	0,313	0,111	1,164
143	467	277	6,65	47	41891	1,105	36858,9	0,327	0,103	1,143
144	247	278	5,30	47	38293	1,546	49830,9	0,299	0,139	0,911
145	283	277	5,53	47	33153	0,387	11950,4	0,259	0,033	1,129
146	207	279	5,04	46	36494	1,160	37440,9	0,285	0,104	1,111
147	536	282	6,83	46	52171	5,412	248375,0	0,407	0,691	0,730
148	320	281	5,77	46	57054	3,148	129226,0	0,445	0,359	0,828
149	508	280	6,76	46	42662	1,381	49093,3	0,333	0,137	1,227
150	310	281	5,71	46	46517	1,270	47191,1	0,363	0,131	1,096
151	459	284	6,63	45	43690	4,142	143376,0	0,341	0,399	0,793
152	291	281	5,58	46	31354	0,828	23971,7	0,245	0,067	1,145
153	630	282	7,08	46	43177	1,105	40350,4	0,337	0,112	1,282
154	268	285	5,43	45	50116	2,982	107043,0	0,391	0,298	0,985
155	246	284	5,29	45	38807	1,767	57353,1	0,303	0,160	0,831
156	567	291	6,92	44	53970	22,974	1036901,0	0,421	2,884	0,660
157	623	290	7,06	44	47288	9,223	370080,0	0,369	1,029	0,650
158	205	286	5,02	45	52685	3,258	137571,0	0,411	0,383	0,930
159	596	287	6,99	45	47288	3,866	170399,0	0,369	0,474	0,715
160	307	287	5,69	45	49601	2,319	87782,9	0,387	0,244	0,943
161	490	287	6,71	45	47288	3,258	110349,0	0,369	0,307	0,987
162	527	288	6,81	44	53713	4,142	183797,0	0,419	0,511	0,940
163	222	287	5,14	45	32639	1,160	35340,1	0,255	0,098	1,111
164	452	290	6,61	44	45232	1,602	60532,6	0,353	0,168	1,202
165	506	290	6,76	44	46003	2,816	103650,0	0,359	0,288	0,992
166	535	293	6,83	43	50886	3,037	138735,0	0,397	0,386	0,960
167	211	292	5,06	43	46260	1,712	68565,9	0,361	0,191	1,008
168	177	294	4,84	43	43690	2,430	86718,5	0,341	0,241	0,768
169	218	294	5,11	43	45746	1,657	59255,0	0,357	0,165	1,000
170	429	296	6,48	43	42919	4,087	130802,0	0,335	0,364	0,881
171	376	298	6,14	42	52171	4,528	176559,0	0,407	0,491	0,956
172	589	297	6,97	42	47545	2,651	111598,0	0,371	0,310	1,026
173	408	298	6,35	42	37008	2,706	75222,0	0,289	0,209	0,999
174	463	299	6,64	42	50116	5,743	235913,0	0,391	0,656	0,775
175	331	299	5,84	42	36237	1,381	42422,4	0,283	0,118	1,227
176	503	300	6,75	42	29555	1,381	35595,6	0,231	0,099	1,227
177	512	301	6,77	41	36237	1,381	41045,6	0,283	0,114	1,227
178	541	302	6,85	41	37008	1,546	48184,6	0,289	0,134	1,057
179	550	302	6,87	41	33153	1,436	41925,5	0,259	0,117	0,867
180	159	304	4,72	41	50886	3,148	119589,0	0,397	0,333	0,995

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
181	326	308	5,81	40	52428	5,412	211544,0	0,409	0,588	0,787
182	578	306	6,94	40	53457	2,485	102501,0	0,417	0,285	0,917
183	454	307	6,62	40	49344	3,700	148287,0	0,385	0,413	0,872
184	609	307	7,03	40	30583	1,933	52484,9	0,239	0,146	0,909
185	426	308	6,46	40	27242	1,381	32189,3	0,213	0,090	1,227
186	464	309	6,64	40	46260	1,767	67487,3	0,361	0,188	0,772
187	306	309	5,68	40	31354	1,049	28868,2	0,245	0,080	0,787
188	520	310	6,79	40	33924	1,657	45260,9	0,265	0,126	1,063
189	560	311	6,90	39	33410	1,381	37241,8	0,261	0,104	1,109
190	581	312	6,95	39	38550	0,663	23248,0	0,301	0,065	1,508
191	405	314	6,33	39	29298	1,878	46964,2	0,229	0,131	0,985
192	196	318	4,97	38	41378	2,375	74186,2	0,323	0,206	0,770
193	394	317	6,25	38	30840	1,436	37540,1	0,241	0,104	1,238
194	348	319	5,96	38	44204	3,479	109143,0	0,345	0,304	0,993
195	463	319	6,64	38	36237	1,546	47844,0	0,283	0,133	0,993
196	365	326	6,07	37	42919	3,148	91444,8	0,335	0,254	0,898
197	414	326	6,39	37	48059	6,075	232096,0	0,375	0,646	0,829
198	456	328	6,62	36	42919	5,302	180987,0	0,335	0,503	0,815
199	226	328	5,16	36	30326	2,872	73873,8	0,237	0,206	0,949
200	258	328	5,37	36	34953	2,043	58772,6	0,273	0,163	1,072
201	323	328	5,79	36	40093	2,319	76300,9	0,313	0,212	0,824
202	494	330	6,72	36	40349	4,031	120072,0	0,315	0,334	0,950
203	327	332	5,82	35	44461	3,700	134662,0	0,347	0,375	0,685
204	541	332	6,85	35	50116	7,455	293210,0	0,391	0,816	0,681
205	582	335	6,96	35	44718	3,258	105027,0	0,349	0,292	0,811
206	601	336	7,01	35	46260	2,485	92722,0	0,361	0,258	0,917
207	620	337	7,06	35	45746	7,014	281075,0	0,357	0,782	0,728
208	471	335	6,66	35	30840	1,381	32927,4	0,241	0,092	1,227
209	297	339	5,62	34	40093	2,872	82630,9	0,313	0,230	0,949
210	386	343	6,20	33	46517	6,958	252193,0	0,363	0,702	0,887
211	222	343	5,14	33	52428	3,037	116197,0	0,409	0,323	1,070
212	269	343	5,44	33	27756	1,381	33622,8	0,217	0,094	1,227
213	329	344	5,83	33	41378	3,037	99591,3	0,323	0,277	1,004
214	447	345	6,60	33	37523	3,093	91685,8	0,293	0,255	0,960
215	507	350	6,76	32	23644	1,325	27832,2	0,185	0,077	1,035
216	580	350	6,95	32	33667	2,319	59453,7	0,263	0,165	0,817
217	258	354	5,37	32	56283	5,688	251526,0	0,439	0,700	0,833
218	83	358	4,23	31	54998	11,984	535555,0	0,429	1,490	0,680
219	220	355	5,12	31	41120	2,099	70766,0	0,321	0,197	1,018
220	201	356	5,00	31	36237	0,884	28768,9	0,283	0,080	0,991
221	132	358	4,55	31	40606	4,805	171492,0	0,317	0,477	0,932
222	237	357	5,23	31	30583	0,939	25816,7	0,239	0,072	0,941
223	300	358	5,64	31	44204	4,363	137117,0	0,345	0,381	0,781
224	150	361	4,67	31	47288	5,357	220174,0	0,369	0,612	0,798
225	346	359	5,94	31	49858	6,351	262000,0	0,389	0,729	0,947

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
226	182	362	4,87	31	39064	3,755	132874,0	0,305	0,370	0,885
227	393	368	6,25	30	35209	4,197	112393,0	0,275	0,313	0,751
228	598	387	7,00	28	42919	8,173	295524,0	0,335	0,822	0,675
229	577	385	6,94	29	28784	1,602	39470,2	0,225	0,110	1,028
230	660	391	7,16	28	34181	0,607	17755,2	0,267	0,049	0,887
231	197	395	4,97	28	52428	4,860	186963,0	0,409	0,520	0,943
232	309	393	5,70	28	26985	0,497	11851,0	0,211	0,033	0,755
233	223	397	5,14	27	37008	2,099	61299,2	0,289	0,171	1,018
234	567	399	6,92	27	27242	1,712	39825,2	0,213	0,111	1,099
235	260	399	5,38	27	33924	1,491	38278,0	0,265	0,106	0,900
236	643	403	7,12	27	48316	5,799	249113,0	0,377	0,693	0,611
237	345	406	5,94	27	47031	6,130	241620,0	0,367	0,672	0,827
238	663	405	7,17	27	48573	4,087	167121,0	0,379	0,465	0,756
239	410	408	6,36	27	42148	5,964	206549,0	0,329	0,575	0,814
240	259	407	5,38	27	38293	1,381	44083,3	0,299	0,123	1,227
241	212	408	5,07	27	34696	1,491	45317,8	0,271	0,126	1,088
242	380	407	6,16	27	22102	0,663	13866,5	0,173	0,039	0,555
243	255	414	5,35	26	46260	9,057	353176,0	0,361	0,982	0,719
244	217	413	5,10	26	40093	1,491	51250,8	0,313	0,143	1,020
245	291	415	5,58	26	48316	9,057	381488,0	0,377	1,061	0,772
246	242	413	5,27	26	35723	1,270	40974,7	0,279	0,114	0,953
247	340	417	5,90	26	45232	12,536	488291,0	0,353	1,358	0,652
248	229	414	5,18	26	38807	2,485	79891,9	0,303	0,222	0,982
249	557	421	6,89	26	46774	13,751	503521,0	0,365	1,401	0,747
250	513	421	6,77	26	42148	8,284	300562,0	0,329	0,836	0,895
251	572	422	6,93	25	49344	5,523	244514,0	0,385	0,680	0,789
252	264	424	5,41	25	47802	6,517	258083,0	0,373	0,718	0,722
253	536	420	6,83	26	40349	1,933	64251,0	0,315	0,179	1,014
254	416	420	6,40	26	29812	1,491	38490,8	0,233	0,107	0,957
255	598	422	7,00	25	49858	3,700	151111,0	0,389	0,420	0,662
256	241	422	5,26	25	26728	1,325	33083,5	0,209	0,092	1,178
257	482	421	6,69	26	25957	0,607	14505,1	0,203	0,040	0,976
258	184	422	4,89	25	34953	1,160	35155,7	0,273	0,098	0,772
259	640	424	7,11	25	37523	2,264	73263,6	0,293	0,204	1,124
260	213	426	5,08	25	52171	4,639	194726,0	0,407	0,542	0,900
261	170	426	4,80	25	40093	2,264	72256,0	0,313	0,201	0,798
262	458	424	6,63	25	25186	0,884	19699,6	0,197	0,055	0,958
263	498	429	6,73	25	38550	2,872	90791,9	0,301	0,253	0,786
264	289	429	5,57	25	52428	3,148	126799,0	0,409	0,353	0,953
265	446	430	6,59	25	25443	0,828	18862,3	0,199	0,052	0,857
266	582	437	6,96	24	53970	1,381	66876,8	0,421	0,186	1,227
267	631	438	7,08	24	53199	4,363	190624,0	0,415	0,530	0,792
268	722	439	7,89	24	56540	6,627	314031,0	0,441	0,874	0,762
269	600	439	7,00	24	47545	4,473	169363,0	0,371	0,471	0,812
270	650	441	7,13	24	48573	5,302	214369,0	0,379	0,596	0,862
271	416	448	6,40	23	49087	6,572	259459,0	0,383	0,722	0,717
272	697	446	7,52	24	51657	5,578	235232,0	0,403	0,654	0,807

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
273	707	445	7,67	24	48573	2,540	101238,0	0,379	0,282	0,984
274	145	450	4,63	23	49087	4,087	168100,0	0,383	0,468	0,833
275	631	455	7,08	23	28013	1,988	48042,7	0,219	0,134	0,914
276	480	456	6,69	23	24929	1,381	27818,1	0,195	0,077	1,227
277	648	462	7,13	22	43433	8,173	290841,0	0,339	0,809	0,765
278	261	461	5,39	23	29041	1,381	33693,8	0,227	0,094	1,227
279	552	465	6,88	22	21331	1,822	31706,9	0,167	0,088	0,838
280	573	465	6,93	22	34181	4,473	117942,0	0,267	0,328	0,899
281	628	467	7,08	22	35209	2,651	75534,3	0,275	0,210	0,838
282	740	469	8,16	22	28013	1,381	33835,7	0,219	0,094	1,227
283	565	474	6,91	22	39578	5,633	167972,0	0,309	0,467	0,876
284	634	478	7,09	21	28527	2,872	73277,4	0,223	0,204	1,012
285	323	506	5,79	19	36494	2,540	71716,4	0,285	0,200	0,984
286	461	507	6,64	19	17220	1,381	21303,8	0,134	0,059	1,227
287	221	512	5,13	19	31097	1,381	37767,0	0,243	0,105	1,227
288	572	514	6,93	19	46260	1,381	50115,1	0,361	0,139	1,227
289	266	520	5,42	18	51143	5,854	244373,0	0,399	0,680	0,911
290	348	522	5,96	18	21331	3,921	61795,4	0,167	0,172	0,508
291	163	524	4,75	18	50629	4,915	190823,0	0,395	0,531	0,880
292	136	526	4,58	18	35723	2,706	81438,4	0,279	0,227	0,999
293	325	529	5,81	18	26471	4,915	90849,1	0,207	0,253	0,880
294	574	528	6,93	18	34438	1,381	40634,1	0,269	0,113	1,227
295	359	536	6,03	17	21331	4,308	67572,8	0,167	0,188	0,713
296	461	548	6,64	17	45232	6,848	251058,0	0,353	0,698	0,831
297	508	546	6,76	17	17476	1,381	21360,4	0,136	0,059	1,227
298	277	552	5,49	17	42662	4,970	139175,0	0,333	0,387	0,965
299	131	554	4,54	16	53713	7,787	326833,0	0,419	0,909	0,841
300	258	552	5,37	17	44461	4,749	132930,0	0,347	0,370	0,801
301	399	551	6,29	17	19789	1,381	23659,7	0,154	0,066	1,227
302	337	556	5,88	16	47545	9,167	349074,0	0,371	0,971	0,792
303	230	573	5,19	15	27242	7,676	181612,0	0,213	0,505	0,588
304	185	575	4,89	15	34438	6,240	167489,0	0,269	0,466	0,778
305	301	575	5,65	15	49344	7,234	296573,0	0,385	0,825	0,854
306	212	582	5,07	15	25700	2,264	50881,6	0,201	0,142	0,567
307	489	590	6,71	15	21588	3,645	60603,9	0,169	0,169	0,644
308	403	603	6,31	14	30583	9,333	239036,0	0,239	0,665	0,448
309	560	601	6,90	14	38550	5,467	138735,0	0,301	0,386	0,947
310	223	605	5,14	14	43690	7,400	258438,0	0,341	0,719	0,838
307	489	590	6,71	15	21588	3,645	60603,9	0,169	0,169	0,644
308	403	603	6,31	14	30583	9,333	239036,0	0,239	0,665	0,448
309	560	601	6,90	14	38550	5,467	138735,0	0,301	0,386	0,947
310	223	605	5,14	14	43690	7,400	258438,0	0,341	0,719	0,838
311	401	619	6,30	13	38807	25,293	824948,0	0,303	2,295	0,521
312	545	620	6,86	13	29555	7,290	165730,0	0,231	0,461	0,723
313	653	621	7,14	13	37008	7,345	200829,0	0,289	0,559	0,877
314	432	623	6,50	13	21331	1,933	36021,8	0,167	0,100	1,014
315	440	623	6,55	13	19789	1,822	30827,0	0,154	0,086	1,012

Tabela 21 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(conclusão)										
SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
316	472	626	6,67	13	38807	5,191	126955,0	0,303	0,353	0,689
317	526	623	6,81	13	18247	0,497	8260,4	0,142	0,023	0,868
318	478	647	6,68	12	51401	11,487	465765,0	0,401	1,296	0,755
319	451	655	6,61	12	16191	1,105	16463,7	0,126	0,046	0,536
320	597	673	6,99	11	51143	10,658	438006,0	0,399	1,218	0,810
321	675	698	7,20	10	43947	8,726	320078,0	0,343	0,890	0,761

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	334	139	5,20	120	64028	0,087	5541,1	0,417	0,080	1,309
2	676	152	7,06	114	63940	0,289	18432,9	0,416	0,266	0,555
3	652	151	6,93	114	63930	0,179	11430,5	0,416	0,165	0,682
4	316	168	5,15	107	64561	1,184	75953,6	0,420	1,096	0,608
5	573	167	6,50	107	64674	0,318	20436,2	0,421	0,295	0,904
6	588	168	6,58	107	64268	0,202	12953,2	0,418	0,187	0,938
7	564	172	6,45	105	64868	0,508	32768,6	0,422	0,473	0,912
8	529	172	6,26	105	64826	0,462	29756,0	0,422	0,429	0,919
9	546	173	6,35	105	64999	0,520	33547,5	0,423	0,484	0,978
10	496	171	6,08	106	64112	0,139	8864,7	0,417	0,128	0,615
11	511	172	6,16	105	64640	0,144	9301,5	0,421	0,134	1,227
12	583	174	6,55	105	64209	0,214	13693,7	0,418	0,198	0,892
13	597	174	6,63	105	63993	0,087	5539,0	0,417	0,080	0,929
14	719	177	7,29	103	63926	0,254	16226,1	0,416	0,234	0,465
15	610	177	6,70	103	64134	0,491	31407,7	0,417	0,453	0,898
16	736	177	7,38	103	63921	0,295	18799,7	0,416	0,271	0,550
17	632	179	6,82	102	64740	0,566	36395,6	0,421	0,525	0,938
18	677	179	7,06	102	64379	0,560	35906,5	0,419	0,518	0,640
19	655	180	6,94	102	65008	0,635	41016,3	0,423	0,592	0,945
20	705	180	7,21	102	63867	0,266	16956,0	0,416	0,245	0,429
21	290	179	5,08	102	63972	0,046	2955,1	0,416	0,043	0,958
22	263	181	5,00	102	64147	0,196	12566,4	0,418	0,181	0,985
23	276	183	5,04	101	64054	0,335	21409,2	0,417	0,309	0,970
24	216	188	4,79	99	64071	0,277	17733,5	0,417	0,256	0,876
25	717	189	7,28	99	63947	0,087	5533,8	0,416	0,080	0,500
26	303	192	5,11	97	64210	0,219	14053,1	0,418	0,203	0,944
27	221	192	4,84	97	64186	0,260	16650,1	0,418	0,240	0,962
28	314	193	5,14	97	64134	0,162	10354,4	0,417	0,149	0,911
29	683	203	7,09	93	63860	0,289	18412,9	0,416	0,266	0,445
30	700	204	7,19	93	63820	0,202	12890,0	0,415	0,186	0,439
31	717	204	7,28	93	64265	0,560	35845,3	0,418	0,517	0,823
32	289	217	5,07	88	64476	0,572	36667,1	0,420	0,529	0,791
33	536	219	6,30	88	63970	0,375	23939,2	0,416	0,345	0,634
34	588	219	6,58	88	63892	0,283	18041,2	0,416	0,260	0,484
35	463	221	5,90	87	64657	0,503	32208,5	0,421	0,465	0,785
36	442	221	5,79	87	64008	0,196	12540,9	0,417	0,181	0,891
37	571	222	6,49	86	63865	0,289	18412,7	0,416	0,266	0,608
38	638	230	6,85	84	63833	0,295	18779,8	0,415	0,271	0,446
39	653	231	6,93	83	63767	0,081	5152,1	0,415	0,074	0,356
40	229	235	4,90	82	63923	0,271	17337,8	0,416	0,250	0,417
41	507	235	6,14	82	63954	0,058	3688,2	0,416	0,053	0,965
42	328	240	5,18	81	64808	0,895	57752,5	0,422	0,833	0,837
43	316	237	5,15	82	64390	0,144	9276,8	0,419	0,134	1,227
44	339	240	5,23	81	64519	0,427	27483,7	0,420	0,396	0,895
45	299	245	5,10	79	64851	0,739	47695,9	0,422	0,688	0,867

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	312	245	5,14	79	64656	0,462	29773,9	0,421	0,429	0,900
47	696	250	7,16	77	63907	0,277	17676,0	0,416	0,255	0,625
48	639	253	6,85	77	63863	0,254	16204,9	0,416	0,234	0,532
49	605	255	6,67	76	63779	0,116	7356,6	0,415	0,106	0,553
50	674	256	7,04	76	63869	0,191	12154,4	0,416	0,175	0,763
51	429	256	5,72	76	64105	0,375	23996,8	0,417	0,346	0,747
52	450	257	5,83	75	64297	0,370	23635,7	0,419	0,341	1,008
53	656	256	6,95	76	63780	0,058	3681,8	0,415	0,053	0,476
54	366	262	5,37	74	64066	0,295	18818,4	0,417	0,271	0,664
55	353	262	5,30	74	64018	0,156	9962,2	0,417	0,144	0,782
56	703	263	7,20	74	63857	0,087	5527,3	0,416	0,080	1,011
57	722	264	7,30	73	63949	0,219	14007,4	0,416	0,202	0,652
58	620	267	6,75	72	63777	0,144	9203,8	0,415	0,133	0,813
59	544	274	6,34	70	63915	0,399	25417,7	0,416	0,367	0,433
60	252	275	4,97	70	65187	1,282	82964,9	0,424	1,197	0,671
61	475	275	5,96	70	64564	0,503	32183,6	0,420	0,464	0,860
62	297	274	5,10	70	63987	0,121	7752,0	0,416	0,112	1,077
63	503	276	6,12	70	64310	0,427	27332,1	0,419	0,394	0,928
64	711	276	7,25	70	64205	0,739	47287,5	0,418	0,682	0,542
65	425	276	5,69	70	64378	0,329	21112,6	0,419	0,305	1,040
66	447	276	5,81	70	63857	0,173	11054,4	0,416	0,159	0,629
67	847	278	7,98	69	64187	0,144	9254,0	0,418	0,133	1,227
68	879	279	8,16	69	64192	0,185	11840,2	0,418	0,171	0,734
69	427	282	5,70	68	64390	0,225	14437,7	0,419	0,208	0,834
70	331	289	5,19	66	64519	0,497	31860,8	0,420	0,460	0,954
71	571	292	6,49	66	64148	0,705	45091,2	0,418	0,650	0,387
72	593	293	6,61	65	64554	0,809	52024,1	0,420	0,750	0,549
73	315	288	5,15	67	64010	0,087	5539,9	0,417	0,080	1,309
74	348	288	5,28	67	64148	0,185	11832,5	0,418	0,171	1,134
75	639	298	6,85	64	65127	1,675	108701,0	0,424	1,568	0,783
76	360	293	5,34	65	64666	0,520	33363,3	0,421	0,481	0,808
77	555	293	6,40	65	63861	0,162	10321,4	0,416	0,149	0,359
78	658	300	6,96	64	65112	1,646	106944,0	0,424	1,543	0,758
79	345	293	5,26	65	63976	0,110	7011,2	0,416	0,101	1,086
80	380	292	5,45	66	63797	0,023	1473,8	0,415	0,021	2,793
81	626	298	6,78	64	65009	0,976	63316,2	0,423	0,913	0,580
82	610	297	6,70	64	64882	0,306	19837,2	0,422	0,286	0,967
83	675	306	7,05	62	65110	1,843	119560,0	0,424	1,725	0,801
84	689	306	7,13	62	65063	1,121	72619,1	0,423	1,048	0,897
85	750	304	7,46	63	64044	0,549	35076,9	0,417	0,506	0,443
86	704	303	7,21	63	64657	0,173	11182,7	0,421	0,161	1,164
87	715	303	7,27	63	64489	0,144	9298,8	0,420	0,134	1,227
88	382	310	5,46	61	64071	0,312	19940,6	0,417	0,288	0,759
89	403	312	5,57	61	64394	0,537	34436,7	0,419	0,497	0,756
90	428	311	5,71	61	64442	0,468	29972,9	0,419	0,432	0,868

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	594	310	6,61	61	63998	0,144	9229,2	0,417	0,133	1,227
92	705	311	7,21	61	64813	0,144	9346,9	0,422	0,135	1,227
93	719	311	7,29	61	64400	0,150	9658,4	0,419	0,139	0,982
94	533	322	6,28	58	64629	0,716	45998,9	0,421	0,664	0,850
95	582	322	6,55	58	64281	0,393	25157,6	0,418	0,363	0,866
96	310	322	5,13	58	63990	0,144	9233,4	0,417	0,133	1,227
97	325	325	5,17	58	64600	0,456	29370,1	0,420	0,424	0,955
98	343	324	5,25	58	64866	0,503	32437,5	0,422	0,468	0,748
99	364	327	5,36	57	64500	0,433	27843,6	0,420	0,402	0,920
100	384	328	5,47	57	64728	0,508	32741,7	0,421	0,472	0,815
101	448	328	5,82	57	64541	0,520	33308,1	0,420	0,480	0,965
102	420	328	5,67	57	64003	0,196	12553,9	0,417	0,181	1,043
103	427	329	5,70	57	64016	0,185	11814,8	0,417	0,170	0,927
104	717	330	7,28	56	64151	0,491	31438,6	0,418	0,453	0,633
105	482	330	6,00	56	64177	0,404	25823,9	0,418	0,373	0,911
106	582	329	6,55	57	64437	0,381	24450,9	0,419	0,353	0,873
107	735	333	7,38	56	64134	0,503	32159,7	0,417	0,464	0,648
108	343	333	5,25	56	64957	0,705	45533,7	0,423	0,657	0,692
109	703	332	7,20	56	63969	0,075	4799,2	0,416	0,069	0,805
110	325	333	5,17	56	64639	0,514	33095,1	0,421	0,477	0,789
111	640	332	6,86	56	64032	0,110	7022,5	0,417	0,101	0,334
112	367	334	5,38	56	64761	0,526	33895,4	0,422	0,489	0,806
113	391	334	5,51	56	64130	0,144	9243,1	0,417	0,133	1,227
114	659	340	6,96	54	64087	0,416	26603,1	0,417	0,384	0,650
115	426	341	5,70	54	63996	0,231	14748,6	0,417	0,213	1,016
116	560	343	6,43	54	64028	0,416	26576,8	0,417	0,383	0,772
117	618	344	6,74	53	64570	0,491	31533,5	0,420	0,455	0,813
118	758	342	7,50	54	64247	0,144	9262,3	0,418	0,134	1,227
119	511	343	6,16	54	63753	0,029	1840,5	0,415	0,027	0,982
120	550	344	6,37	53	63937	0,248	15861,1	0,416	0,229	0,689
121	599	344	6,64	53	64446	0,589	37791,6	0,419	0,545	0,621
122	640	348	6,86	53	64006	0,491	31375,7	0,417	0,453	0,441
123	738	345	7,39	53	64183	0,335	21424,6	0,418	0,309	0,829
124	591	350	6,59	52	64484	0,427	27428,7	0,420	0,396	0,793
125	425	350	5,69	52	63938	0,219	14001,3	0,416	0,202	0,965
126	174	351	4,40	52	64398	0,266	17049,1	0,419	0,246	0,984
127	701	354	7,19	52	63968	0,144	9224,7	0,416	0,133	1,227
128	602	357	6,65	51	64119	0,225	14418,0	0,417	0,208	0,614
129	373	359	5,41	51	64056	0,393	25073,1	0,417	0,362	0,840
130	697	362	7,17	50	63910	0,139	8849,2	0,416	0,128	1,178
131	553	369	6,39	49	64057	0,687	43893,1	0,417	0,633	0,702
132	593	378	6,61	48	64166	0,872	55748,5	0,418	0,804	0,203
133	393	376	5,52	48	63692	0,023	1471,0	0,415	0,021	1,715
134	618	380	6,74	48	64516	0,537	34501,2	0,420	0,498	0,766
135	643	381	6,88	48	64982	0,791	51158,4	0,423	0,738	0,758

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	668	383	7,01	47	65125	0,838	54227,9	0,424	0,782	0,802
137	252	383	4,97	47	64234	0,514	32884,8	0,418	0,474	0,724
138	687	385	7,12	47	64552	0,612	39343,9	0,420	0,568	0,823
139	371	388	5,40	47	63755	0,058	3679,5	0,415	0,053	0,873
140	456	399	5,86	45	64787	0,658	42310,1	0,422	0,610	0,772
141	608	399	6,69	45	64157	0,456	29186,8	0,418	0,421	0,921
142	426	399	5,70	45	63850	0,404	25765,0	0,416	0,372	0,528
143	641	406	6,87	44	64598	0,918	59058,8	0,420	0,852	0,880
144	560	402	6,43	45	63703	0,329	20954,5	0,415	0,302	0,486
145	576	403	6,51	45	63803	0,289	18410,0	0,415	0,266	0,641
146	592	404	6,60	45	64473	0,479	30735,8	0,420	0,443	0,902
147	672	408	7,03	44	64774	0,768	49537,1	0,422	0,715	0,854
148	701	406	7,19	44	64053	0,404	25850,4	0,417	0,373	0,586
149	734	406	7,37	44	63931	0,682	43505,9	0,416	0,628	0,316
150	622	407	6,76	44	64187	0,370	23665,1	0,418	0,341	0,790
151	690	405	7,13	45	64049	0,139	8869,8	0,417	0,128	0,781
152	539	416	6,31	43	63567	0,052	3302,5	0,414	0,048	0,558
153	591	417	6,59	43	63937	0,271	17329,0	0,416	0,250	1,005
154	688	420	7,12	43	64763	0,664	42850,3	0,422	0,618	0,892
155	582	421	6,55	43	63843	0,341	21741,3	0,416	0,314	0,811
156	809	420	7,78	43	64439	0,248	15954,8	0,419	0,230	0,877
157	826	421	7,87	43	64216	0,144	9259,6	0,418	0,134	1,227
158	289	424	5,07	42	64182	0,422	26936,4	0,418	0,389	0,839
159	422	423	5,68	42	63641	0,133	8448,4	0,414	0,122	1,129
160	645	424	6,89	42	63884	0,046	2951,0	0,416	0,043	0,857
161	416	426	5,64	42	63801	0,191	12140,4	0,415	0,175	0,904
162	581	428	6,54	42	63954	0,358	22870,0	0,416	0,330	0,820
163	760	429	7,51	42	64972	0,520	33579,1	0,423	0,484	0,659
164	688	430	7,12	42	64787	0,601	38784,8	0,422	0,559	0,905
165	799	429	7,72	42	64993	0,404	26157,4	0,423	0,377	0,834
166	624	435	6,77	41	64188	0,745	47633,1	0,418	0,687	0,724
167	671	437	7,03	41	64749	0,635	40917,1	0,421	0,590	0,797
168	572	435	6,49	41	63971	0,329	21007,0	0,416	0,303	0,977
169	712	437	7,25	41	65221	0,762	49397,0	0,425	0,713	0,768
170	642	440	6,87	40	64126	0,728	46531,9	0,417	0,671	0,744
171	685	441	7,10	40	64583	0,474	30472,8	0,420	0,440	0,810
172	724	441	7,32	40	65130	0,739	47895,4	0,424	0,691	0,813
173	541	441	6,32	40	63646	0,387	24594,2	0,414	0,355	0,688
174	752	442	7,47	40	64245	0,554	35550,8	0,418	0,513	0,597
175	489	443	6,04	40	63945	0,347	22063,9	0,416	0,318	0,679
176	587	445	6,57	40	64946	0,739	47594,5	0,423	0,687	0,780
177	433	453	5,74	39	63650	0,023	1470,1	0,414	0,021	2,156
178	577	458	6,52	38	64546	0,670	42922,9	0,420	0,619	0,665
179	739	457	7,40	38	63872	0,248	15835,6	0,416	0,228	0,806
180	415	457	5,64	38	64105	0,144	9228,8	0,417	0,133	1,227
181	630	464	6,81	38	63590	0,064	4038,0	0,414	0,058	0,922

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
182	672	467	7,03	37	64054	0,612	39093,7	0,417	0,564	0,699
183	717	467	7,28	37	63891	0,370	23575,7	0,416	0,340	0,471
184	695	470	7,16	37	65096	0,895	57827,0	0,424	0,834	0,888
185	586	474	6,57	37	63635	0,277	17619,0	0,414	0,254	0,602
186	626	487	6,78	35	63632	0,358	22759,0	0,414	0,328	0,655
187	801	499	7,73	34	65190	0,878	56864,0	0,424	0,820	0,850
188	773	498	7,58	34	63932	0,254	16223,9	0,416	0,234	0,754
189	831	498	7,90	34	64175	0,283	18117,8	0,418	0,261	0,772
190	498	507	6,09	33	65046	0,855	55189,0	0,423	0,796	0,925
191	564	509	6,45	33	64170	0,624	39840,2	0,418	0,575	0,732
192	743	516	7,42	32	64105	0,445	28420,6	0,417	0,410	0,966
193	345	517	5,26	32	64059	0,375	23952,6	0,417	0,346	0,879
194	264	525	5,00	32	63818	0,144	9204,9	0,415	0,133	1,227
195	454	528	5,85	31	64007	0,358	22816,1	0,417	0,329	0,922
196	508	538	6,14	31	63695	0,110	6981,7	0,415	0,101	0,766
197	672	540	7,03	30	63771	0,248	15814,1	0,415	0,228	0,650
198	220	540	4,83	30	63790	0,173	11044,1	0,415	0,159	1,000
199	767	565	7,55	28	65106	0,768	49717,7	0,424	0,717	0,887
200	882	567	8,17	28	65056	0,381	24719,7	0,423	0,357	0,943
201	884	580	8,18	27	65412	2,195	143213,0	0,426	2,066	0,708
202	425	577	5,69	27	63993	0,387	24667,1	0,417	0,356	0,535
203	855	581	8,03	27	65356	2,178	141705,0	0,425	2,044	0,679
204	727	580	7,33	27	64151	0,537	34380,9	0,418	0,496	0,434
205	775	582	7,59	27	64673	1,173	75485,0	0,421	1,089	0,746
206	818	582	7,83	27	65024	0,913	59133,4	0,423	0,853	0,545
207	801	586	7,73	27	64695	0,202	13040,0	0,421	0,188	0,551
208	348	588	5,28	26	64169	0,514	32826,8	0,418	0,474	0,909
209	525	591	6,24	26	64799	0,710	45627,2	0,422	0,658	0,927
210	887	594	8,20	26	64528	0,468	30101,0	0,420	0,434	0,839
211	390	598	5,50	26	64460	0,791	50713,6	0,420	0,732	0,669
212	423	599	5,68	26	64905	0,751	48363,3	0,422	0,698	0,867
213	449	599	5,82	26	65035	0,786	50714,4	0,423	0,732	0,907
214	254	602	4,97	25	63741	0,144	9196,9	0,415	0,133	1,227
215	711	608	7,25	25	65233	1,236	80272,3	0,425	1,158	0,756
216	655	608	6,94	25	64869	0,907	58385,4	0,422	0,842	0,839
217	762	608	7,52	25	64246	0,410	26292,8	0,418	0,379	0,403
218	301	609	5,11	25	63610	0,144	9174,2	0,414	0,132	1,227
219	369	617	5,39	24	63652	0,243	15419,4	0,414	0,222	0,781
220	403	632	5,57	23	64429	0,786	50315,8	0,419	0,726	0,864
221	836	630	7,92	23	63937	0,208	13285,0	0,416	0,192	0,617
222	531	640	6,27	22	64875	0,682	43784,1	0,422	0,632	0,879
223	888	640	8,21	22	64364	0,560	35967,2	0,419	0,519	0,744
224	226	641	4,88	22	64974	0,658	42525,1	0,423	0,613	0,803
225	363	641	5,36	22	63643	0,144	9180,7	0,414	0,132	1,227
226	863	656	8,07	21	65233	1,334	86586,7	0,425	1,249	0,764
227	833	655	7,91	21	64018	0,202	12930,1	0,417	0,187	0,686

Tabela 22 – Análise de spots* de albumina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
228	830	680	7,89	20	63857	0,144	9211,9	0,416	0,133	1,227
229	362	728	5,35	17	64421	0,537	34450,1	0,419	0,497	0,862
230	214	764	4,77	15	64334	0,526	33683,3	0,419	0,486	0,832
231	585	767	6,56	15	63739	0,537	34181,3	0,415	0,493	0,862
232	443	769	5,79	15	64134	0,537	34321,5	0,417	0,495	0,693
233	410	788	5,61	14	63814	0,399	25386,3	0,415	0,366	0,682
234	518	817	6,20	12	63860	0,768	48968,5	0,416	0,706	0,863
235	513	835	6,17	12	64863	2,097	135313,0	0,422	1,952	0,622
236	700	833	7,19	12	64064	0,514	32866,5	0,417	0,474	0,825
237	603	860	6,66	11	64246	0,855	54736,3	0,418	0,790	0,713
238	228	881	4,90	10	63869	0,497	31661,4	0,416	0,457	0,891
239	772	882	7,58	10	64246	0,890	56921,6	0,418	0,821	0,759

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 23 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	229	147	5,20	113	26367	0,196	4557,0	0,444	0,191	0,693
2	209	171	5,10	104	30207	0,156	4165,2	0,508	0,175	0,619
3	218	173	5,15	103	28671	0,144	3687,6	0,483	0,155	0,834
4	474	174	6,44	103	26367	0,121	2790,1	0,444	0,117	0,814
5	208	176	5,10	102	27903	0,214	5222,4	0,470	0,219	0,740
6	403	178	6,02	101	39423	0,185	6186,5	0,664	0,260	0,877
7	441	177	6,24	101	40191	0,237	7850,0	0,676	0,330	0,686
8	373	178	5,84	101	30207	0,052	1468,3	0,508	0,062	1,767
9	388	179	5,93	101	38655	0,214	7192,0	0,651	0,302	0,848
10	421	178	6,13	101	40191	0,214	7626,7	0,676	0,320	0,892
11	461	180	6,36	100	40959	0,191	6693,7	0,689	0,281	0,706
12	158	180	4,85	100	32511	0,173	4883,8	0,547	0,205	0,612
13	172	183	4,92	99	28671	0,179	4472,8	0,483	0,188	0,805
14	521	184	6,72	99	37887	0,277	8468,0	0,638	0,356	0,838
15	542	185	6,84	98	40959	0,352	12373,1	0,689	0,520	0,807
16	556	186	6,92	98	32511	0,098	2935,0	0,547	0,123	1,187
17	344	188	5,67	97	25599	0,052	1228,7	0,431	0,052	1,767
18	357	190	5,75	97	28671	0,110	2760,5	0,483	0,116	0,787
19	176	212	4,94	89	37119	0,474	14289,3	0,625	0,600	0,594
20	352	221	5,72	86	42495	0,347	12407,1	0,715	0,521	0,593
21	333	221	5,61	86	30207	0,133	3449,6	0,508	0,145	0,723
22	373	222	5,84	86	25599	0,139	3060,7	0,431	0,129	0,695
23	205	235	5,08	82	40191	0,260	9262,1	0,676	0,389	0,772
24	218	236	5,15	82	40959	0,323	12512,1	0,689	0,525	0,769
25	232	236	5,21	82	42495	0,225	7851,4	0,715	0,330	0,630
26	397	236	5,98	82	25599	0,104	2377,6	0,431	0,100	0,698
27	180	239	4,96	81	38655	0,139	4702,0	0,651	0,197	1,143
28	190	240	5,01	80	40959	0,271	10804,3	0,689	0,454	0,858
29	228	240	5,20	80	39423	0,271	10010,2	0,664	0,420	1,005
30	204	241	5,08	80	40191	0,323	12396,7	0,676	0,520	0,847
31	217	241	5,14	80	40191	0,318	12355,4	0,676	0,519	0,799
32	302	242	5,46	80	20991	0,139	2617,1	0,353	0,110	1,178
33	316	243	5,51	80	21759	0,127	2463,3	0,366	0,103	1,080
34	124	256	4,67	76	28671	0,243	6170,2	0,483	0,259	0,898
35	302	255	5,46	76	22527	0,202	4141,5	0,379	0,174	1,014
36	252	257	5,28	76	25599	0,358	8377,7	0,431	0,352	0,420
37	319	257	5,52	76	25599	0,173	4054,3	0,431	0,170	0,942
38	340	257	5,65	76	37119	0,219	6900,7	0,625	0,290	0,871
39	141	264	4,76	74	47103	1,219	50880,9	0,793	2,136	0,474
40	338	273	5,64	71	29439	0,237	6306,2	0,496	0,265	0,686
41	779	275	8,24	71	52479	0,866	34315,9	0,883	1,441	0,629
42	364	273	5,79	71	41727	0,335	12031,5	0,702	0,505	0,727
43	392	273	5,95	71	36352	0,283	8216,6	0,612	0,345	0,953
44	717	273	7,87	71	28671	0,196	4925,2	0,483	0,207	0,932
45	458	274	6,34	71	20223	0,208	3708,3	0,340	0,156	1,043

Tabela 23 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	313	275	5,49	71	34047	0,179	5448,7	0,573	0,229	0,805
47	485	276	6,50	71	20991	0,150	2877,3	0,353	0,121	0,922
48	315	279	5,50	70	31743	0,173	4635,4	0,534	0,195	0,762
49	367	280	5,81	70	28671	0,150	3839,9	0,483	0,161	0,867
50	492	283	6,54	69	24063	0,214	4432,8	0,405	0,186	0,754
51	222	284	5,17	68	31743	0,185	5161,8	0,534	0,217	0,857
52	250	286	5,28	68	37887	0,341	10724,4	0,638	0,450	0,768
53	238	286	5,23	68	32511	0,173	4857,2	0,547	0,204	1,000
54	546	291	6,86	67	43263	0,549	19707,0	0,728	0,827	0,853
55	250	291	5,28	67	30975	0,185	4855,7	0,521	0,204	0,698
56	502	295	6,60	66	40959	0,618	22883,1	0,689	0,961	0,807
57	530	296	6,77	66	49407	0,814	35114,3	0,832	1,474	0,800
58	489	294	6,53	66	37119	0,399	13280,9	0,625	0,558	0,948
59	518	296	6,70	66	44031	0,913	36332,7	0,741	1,525	0,905
60	546	300	6,86	65	49407	1,132	52726,3	0,832	2,214	0,812
61	572	300	7,02	65	47871	1,057	45072,8	0,806	1,892	0,854
62	586	300	7,10	65	44799	0,520	19411,3	0,754	0,815	0,920
63	560	302	6,95	64	48639	0,786	36233,7	0,819	1,521	0,864
64	604	301	7,20	64	36352	0,456	14670,8	0,612	0,616	0,847
65	713	304	7,85	64	31743	0,543	15260,7	0,534	0,641	0,729
66	293	306	5,42	63	28671	0,300	7338,3	0,483	0,308	0,688
67	315	308	5,50	63	24063	0,191	4072,0	0,405	0,171	1,012
68	490	309	6,53	62	24063	0,312	6729,1	0,405	0,283	0,754
69	197	316	5,04	61	26367	0,208	5034,6	0,444	0,211	0,987
70	231	318	5,21	60	40959	0,451	16275,2	0,689	0,683	0,746
71	213	318	5,12	60	38655	0,283	9826,9	0,651	0,413	0,741
72	253	319	5,29	60	31743	0,323	8577,4	0,534	0,360	0,702
73	386	318	5,92	60	27903	0,121	3180,5	0,470	0,134	1,031
74	293	320	5,42	60	24063	0,156	3424,4	0,405	0,144	0,900
75	273	322	5,36	60	40959	0,335	11925,1	0,689	0,501	0,797
76	316	320	5,51	60	30207	0,116	3108,0	0,508	0,130	0,982
77	421	322	6,13	60	37119	0,427	13155,2	0,625	0,552	0,756
78	477	325	6,46	59	34815	0,312	9053,5	0,586	0,380	0,714
79	443	325	6,26	59	24831	0,127	2889,2	0,418	0,121	0,976
80	597	327	7,16	58	27903	0,370	9591,7	0,470	0,403	0,952
81	335	328	5,62	58	40959	0,462	16832,6	0,689	0,707	0,755
82	352	328	5,72	58	27903	0,225	5944,0	0,470	0,250	0,991
83	370	327	5,82	58	34815	0,248	7773,1	0,586	0,326	0,821
84	313	328	5,49	58	30207	0,225	6378,7	0,508	0,268	0,759
85	610	331	7,24	58	32511	0,658	18874,4	0,547	0,792	0,732
86	231	331	5,21	58	40191	0,491	17137,2	0,676	0,720	0,633
87	212	330	5,12	58	33279	0,208	6041,6	0,560	0,254	0,669
88	256	331	5,30	58	39423	0,387	13317,9	0,664	0,559	0,781
89	626	333	7,33	57	30207	0,329	8494,6	0,508	0,357	0,828
90	53	334	4,32	57	34815	0,347	10144,7	0,586	0,426	0,871

Tabela 23 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f11* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	313	337	5,49	56	30975	0,156	4426,9	0,521	0,186	1,047
92	640	338	7,42	56	30207	0,456	11476,9	0,508	0,482	0,670
93	350	338	5,71	56	28671	0,156	4001,1	0,483	0,168	1,047
94	393	339	5,96	56	23295	0,277	5633,4	0,392	0,237	0,580
95	454	339	6,32	56	22527	0,208	4267,2	0,379	0,179	0,602
96	474	339	6,44	56	23295	0,231	4636,8	0,392	0,195	0,730
97	489	340	6,53	56	25599	0,248	5701,5	0,431	0,239	0,706
98	507	341	6,63	56	28671	0,185	4789,2	0,483	0,201	0,877
99	527	342	6,75	55	25599	0,248	5524,0	0,431	0,232	0,877
100	635	346	7,39	55	25599	0,387	8810,9	0,431	0,370	0,718
101	311	351	5,49	54	25599	0,185	4336,7	0,431	0,182	0,813
102	584	352	7,09	53	23295	0,156	3215,9	0,392	0,135	0,848
103	318	354	5,52	53	23295	0,191	4120,8	0,392	0,173	0,956
104	231	354	5,21	53	20991	0,133	2518,0	0,353	0,106	0,767
105	259	357	5,31	52	22527	0,300	6220,4	0,379	0,261	0,743
106	789	362	8,30	51	27903	0,387	8531,5	0,470	0,358	0,733
107	257	368	5,30	50	21759	0,266	5461,9	0,366	0,229	0,938
108	135	372	4,73	50	24831	0,786	17797,8	0,418	0,747	0,445
109	517	377	6,69	49	24063	0,150	3298,7	0,405	0,139	1,008
110	530	377	6,77	49	31743	0,144	4295,4	0,534	0,180	0,834
111	550	379	6,89	48	37119	0,566	17418,0	0,625	0,731	0,739
112	567	383	6,99	48	28671	0,439	11095,4	0,483	0,466	0,814
113	257	385	5,30	47	22527	0,225	4573,3	0,379	0,192	0,759
114	217	387	5,14	47	25599	0,358	8315,6	0,431	0,349	0,777
115	341	396	5,65	45	45567	0,676	27285,0	0,767	1,146	0,564
116	313	397	5,49	45	30975	0,352	9782,4	0,521	0,411	0,548
117	485	399	6,50	45	26367	0,144	3603,3	0,444	0,151	1,036
118	616	405	7,28	44	33279	0,589	17463,8	0,560	0,733	0,730
119	513	407	6,67	44	27903	0,243	6276,7	0,470	0,264	0,766
120	527	408	6,75	43	34815	0,225	7199,4	0,586	0,302	0,894
121	554	410	6,91	43	37887	0,375	12609,6	0,638	0,529	0,732
122	223	412	5,17	43	20991	0,341	6585,6	0,353	0,277	0,857
123	309	415	5,48	42	26367	0,144	3567,9	0,444	0,150	1,036
124	172	418	4,92	42	31743	0,335	8837,6	0,534	0,371	0,701
125	683	421	7,67	41	37119	0,352	11197,6	0,625	0,470	0,765
126	297	422	5,44	41	24831	0,208	4440,2	0,418	0,186	0,669
127	601	423	7,19	41	25599	0,433	9878,5	0,431	0,415	0,844
128	641	426	7,42	41	40959	0,814	28895,1	0,689	1,213	0,679
129	703	424	7,79	41	36352	0,404	12732,3	0,612	0,535	0,911
130	179	424	4,95	41	22527	0,191	4005,5	0,379	0,168	0,796
131	674	425	7,62	41	40959	0,526	18791,7	0,689	0,789	0,727
132	714	426	7,85	41	35583	0,277	8632,1	0,599	0,362	0,876
133	513	434	6,67	39	24831	0,283	6539,8	0,418	0,275	0,999
134	555	434	6,92	39	34815	0,503	14855,6	0,586	0,624	0,872
135	527	434	6,75	39	25599	0,179	4299,8	0,431	0,181	0,898

Tabela 23 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(conclusão)										
SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	591	435	7,13	39	44799	0,578	22296,1	0,754	0,936	0,789
137	119	436	4,65	39	24063	0,277	5912,9	0,405	0,248	0,876
138	568	439	6,99	39	34815	0,393	12441,0	0,586	0,522	0,972
139	603	441	7,20	38	47871	0,728	30678,4	0,806	1,288	0,636
140	627	440	7,34	39	36352	0,445	14681,2	0,612	0,616	0,727
141	709	442	7,82	38	29439	0,791	19853,1	0,496	0,834	0,715
142	640	440	7,42	39	36352	0,468	14846,7	0,612	0,623	0,741
143	372	441	5,84	38	29439	0,156	4169,7	0,496	0,175	0,782
144	479	444	6,47	38	33279	0,329	9182,1	0,560	0,386	0,590
145	319	450	5,52	37	25599	0,393	8408,7	0,431	0,353	0,853
146	468	453	6,40	37	24831	0,208	4684,2	0,418	0,197	0,770
147	575	466	7,03	35	38655	0,757	22066,7	0,651	0,927	0,631
148	645	494	7,45	32	17919	0,144	2463,3	0,302	0,103	1,036
149	671	495	7,60	32	37119	0,578	17061,7	0,625	0,716	0,704
150	37	496	4,24	31	31743	0,520	14185,7	0,534	0,596	0,698
151	713	496	7,85	31	23295	0,248	5297,8	0,392	0,222	0,785
152	380	501	5,88	31	44031	0,762	27599,9	0,741	1,159	0,673
153	455	502	6,33	31	21759	0,208	4076,5	0,366	0,171	0,785
154	225	510	5,18	30	20223	0,289	5348,0	0,340	0,225	0,563
155	618	513	7,29	30	23295	0,289	5995,7	0,392	0,252	1,069
156	334	519	5,61	30	42495	0,531	18119,0	0,715	0,761	0,541
157	639	558	7,41	28	32511	0,526	14156,1	0,547	0,594	0,832
158	719	566	7,88	27	36352	0,993	29229,1	0,612	1,227	0,760
159	304	567	5,46	27	26367	0,260	6192,4	0,444	0,260	0,643
160	328	574	5,58	27	25599	0,329	7447,7	0,431	0,313	0,665
161	404	577	6,03	27	30207	0,514	13008,7	0,508	0,546	0,663
162	719	582	7,88	26	56319	2,928	142041,0	0,948	5,964	0,574
163	683	579	7,67	26	30207	0,589	14913,1	0,508	0,626	0,739
164	221	579	5,16	26	21759	0,399	7975,5	0,366	0,335	0,593
165	772	582	8,20	26	54015	1,340	59216,0	0,909	2,486	0,607
166	270	582	5,34	26	34815	0,947	28139,4	0,586	1,181	0,586
167	326	586	5,56	26	49407	1,681	66089,9	0,832	2,775	0,641
168	301	587	5,45	26	40959	0,855	28736,9	0,689	1,207	0,640
169	234	586	5,22	26	22527	0,254	5436,8	0,379	0,228	0,803
170	213	589	5,12	26	20991	0,439	8442,7	0,353	0,354	0,653
171	538	597	6,82	25	39423	1,225	36820,3	0,664	1,546	0,743
172	589	599	7,12	25	54015	2,432	97138,0	0,909	4,079	0,660
173	638	601	7,41	25	34047	0,664	19430,4	0,573	0,816	0,738
174	723	604	7,91	25	27903	0,410	10262,9	0,470	0,431	0,828
175	278	610	5,37	25	21759	0,341	6576,7	0,366	0,276	0,780
176	704	616	7,79	24	21759	0,375	7188,9	0,366	0,302	0,697
177	96	619	4,53	24	19455	0,381	6476,1	0,327	0,272	0,674
178	411	625	6,07	24	52479	1,571	54475,2	0,883	2,287	0,646
179	771	626	8,19	24	31743	0,820	21288,9	0,534	0,894	0,700
180	728	626	7,94	24	20991	0,439	8132,2	0,353	0,341	0,873
181	711	640	7,84	22	46335	1,311	43766,9	0,780	1,838	0,645
182	231	694	5,21	17	25599	0,503	11156,0	0,431	0,468	0,725
183	315	730	5,50	14	35583	0,820	22854,8	0,599	0,960	0,606

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	276	151	5,10	110	64056	1,173	74749,9	0,301	0,847	0,671
2	529	157	6,68	108	63510	0,144	9135,8	0,299	0,104	1,227
3	429	160	6,06	107	63752	0,121	7709,2	0,300	0,087	0,906
4	448	163	6,18	105	64126	0,243	15449,1	0,302	0,175	0,720
5	236	164	4,88	105	64333	0,341	21774,2	0,303	0,247	0,768
6	465	164	6,28	105	64334	0,370	23569,0	0,303	0,267	0,894
7	484	165	6,40	105	64509	0,347	22141,3	0,303	0,251	0,945
8	501	165	6,51	105	64569	0,410	26199,8	0,304	0,297	0,750
9	520	166	6,63	104	64358	0,329	20963,5	0,303	0,238	0,828
10	539	166	6,75	104	63610	0,219	13912,9	0,299	0,158	0,565
11	248	166	4,94	104	63985	0,144	9213,3	0,301	0,104	1,227
12	606	168	7,17	104	64287	0,589	37543,5	0,302	0,426	0,976
13	583	169	7,02	103	64033	0,410	26049,8	0,301	0,295	1,014
14	628	166	7,30	104	63315	0,064	4018,7	0,298	0,046	0,768
15	562	169	6,89	103	63415	0,081	5120,5	0,298	0,058	0,943
16	403	169	5,90	103	63462	0,173	10967,1	0,299	0,124	1,000
17	418	171	5,99	102	63446	0,144	9131,8	0,298	0,104	1,227
18	270	173	5,07	102	64640	0,474	30458,1	0,304	0,345	0,822
19	280	173	5,13	102	64316	0,248	15879,5	0,303	0,180	0,986
20	258	174	5,00	101	64484	0,300	19278,0	0,303	0,218	0,869
21	361	181	5,63	99	63443	0,144	9144,5	0,298	0,104	1,227
22	189	185	4,61	98	63457	0,121	7687,5	0,299	0,087	0,522
23	253	192	4,97	95	64550	0,520	33342,4	0,304	0,378	0,798
24	226	195	4,82	94	64482	0,606	38831,0	0,303	0,440	0,815
25	391	200	5,82	92	63891	0,370	23464,8	0,301	0,266	0,865
26	411	203	5,95	91	64436	0,364	23255,2	0,303	0,264	0,833
27	280	213	5,13	88	65048	0,306	19853,5	0,306	0,225	0,675
28	290	213	5,19	88	65142	0,809	52495,4	0,306	0,595	0,823
29	206	212	4,71	89	64241	0,612	39150,1	0,302	0,444	0,847
30	302	213	5,26	88	64990	0,508	32877,1	0,306	0,373	0,766
31	193	213	4,64	88	64324	0,635	40560,5	0,303	0,460	0,829
32	270	216	5,07	87	65146	0,959	62185,1	0,306	0,705	0,330
33	312	214	5,33	88	64413	0,237	15209,0	0,303	0,172	0,691
34	235	215	4,87	88	63990	0,110	7013,8	0,301	0,079	0,699
35	253	214	4,97	88	64363	0,052	3342,5	0,303	0,038	0,832
36	459	219	6,25	86	63715	0,312	19735,4	0,300	0,224	0,985
37	322	229	5,39	83	64301	0,323	20711,3	0,303	0,235	0,882
38	353	227	5,58	84	63630	0,092	5875,9	0,299	0,067	0,820
39	363	229	5,64	83	63709	0,225	14321,6	0,300	0,162	0,725
40	313	231	5,33	83	64366	0,393	25160,0	0,303	0,285	0,899
41	648	231	7,43	83	63748	0,323	20500,0	0,300	0,232	0,800
42	246	230	4,93	83	64217	0,144	9253,3	0,302	0,105	1,227
43	381	231	5,76	83	63668	0,219	13940,4	0,300	0,158	0,897
44	399	232	5,87	83	63877	0,306	19448,3	0,301	0,220	0,728
45	225	243	4,81	79	65312	4,193	270881,0	0,307	3,070	0,668

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	267	242	5,05	80	64240	0,162	10366,6	0,302	0,117	0,750
47	294	247	5,21	78	64093	0,462	29483,0	0,302	0,334	0,857
48	356	247	5,60	78	63679	0,271	17259,1	0,300	0,196	0,842
49	399	247	5,87	78	63856	0,554	35267,6	0,300	0,400	0,597
50	372	247	5,70	78	64155	0,168	10696,2	0,302	0,121	0,889
51	425	250	6,03	77	64440	0,578	36887,6	0,303	0,418	0,696
52	186	251	4,60	77	63820	0,254	16183,9	0,300	0,183	0,840
53	376	252	5,73	77	64053	0,231	14737,6	0,301	0,167	0,764
54	454	254	6,21	76	64019	0,479	30466,1	0,301	0,345	0,860
55	720	251	7,83	77	63159	0,035	2187,9	0,297	0,025	1,110
56	283	254	5,14	76	64552	0,202	13017,3	0,304	0,148	1,100
57	304	255	5,28	76	64802	0,387	24977,1	0,305	0,283	0,921
58	268	259	5,06	75	64385	0,728	46758,7	0,303	0,530	0,912
59	293	258	5,21	75	64933	0,682	44025,6	0,305	0,499	0,916
60	318	260	5,36	75	64880	0,745	48027,1	0,305	0,544	0,851
61	514	256	6,59	76	63531	0,081	5130,9	0,299	0,058	1,174
62	544	256	6,78	76	63789	0,144	9180,3	0,300	0,104	0,944
63	769	258	8,10	75	63604	0,422	26705,5	0,299	0,303	0,756
64	335	262	5,47	74	64110	0,381	24344,6	0,302	0,276	0,959
65	429	262	6,06	74	63905	0,202	12870,9	0,301	0,146	0,734
66	305	262	5,28	74	64735	0,266	17151,6	0,305	0,194	0,878
67	234	266	4,87	73	64316	0,231	14832,2	0,303	0,168	1,159
68	523	265	6,65	73	63744	0,144	9178,7	0,300	0,104	1,227
69	216	268	4,76	73	64129	0,329	21075,2	0,302	0,239	0,679
70	357	267	5,61	73	63697	0,144	9186,6	0,300	0,104	0,724
71	561	274	6,88	71	64818	0,497	32087,9	0,305	0,364	0,641
72	519	271	6,62	72	63797	0,202	12875,4	0,300	0,146	1,073
73	545	272	6,78	72	64460	0,289	18574,8	0,303	0,211	0,627
74	593	275	7,09	71	65013	1,126	72961,7	0,306	0,827	0,833
75	528	271	6,68	72	64029	0,144	9230,6	0,301	0,105	1,227
76	577	275	6,99	71	64935	0,364	23581,2	0,305	0,267	0,503
77	610	277	7,19	70	65030	1,167	75666,7	0,306	0,858	0,773
78	626	280	7,29	70	64964	0,924	59890,8	0,306	0,679	0,764
79	641	281	7,39	69	64875	0,375	24286,0	0,305	0,275	0,468
80	656	282	7,48	69	64517	0,618	39764,8	0,304	0,451	0,757
81	354	280	5,59	70	63877	0,116	7371,8	0,301	0,084	1,058
82	254	286	4,98	68	64581	0,237	15273,4	0,304	0,173	0,662
83	275	285	5,09	68	64646	0,144	9307,8	0,304	0,105	1,227
84	290	287	5,19	68	64860	0,526	33989,3	0,305	0,385	0,975
85	305	288	5,28	68	65050	0,722	46692,4	0,306	0,529	0,824
86	215	289	4,76	67	64161	0,474	30280,0	0,302	0,343	0,910
87	320	291	5,38	67	64858	0,560	36146,0	0,305	0,410	0,928
88	432	289	6,08	67	63567	0,035	2201,2	0,299	0,025	0,967
89	337	292	5,48	67	64927	0,618	39828,0	0,305	0,451	0,881
90	485	293	6,41	66	64504	0,624	39953,0	0,303	0,453	0,928

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	548	292	6,80	67	64246	0,254	16274,4	0,302	0,184	0,880
92	534	293	6,72	66	64172	0,312	19947,1	0,302	0,226	0,985
93	640	292	7,38	67	64347	0,144	9277,8	0,303	0,105	1,227
94	369	294	5,68	66	64268	0,514	32924,8	0,302	0,373	0,851
95	377	295	5,73	66	64189	0,358	22927,4	0,302	0,260	0,994
96	576	294	6,98	66	64169	0,116	7405,8	0,302	0,084	0,755
97	288	297	5,18	66	65016	0,739	47870,0	0,306	0,543	0,844
98	302	298	5,26	65	65192	0,803	52104,3	0,307	0,591	0,769
99	612	295	7,20	66	64478	0,075	4831,1	0,303	0,055	0,368
100	396	298	5,85	65	64695	0,572	36721,9	0,304	0,416	0,791
101	596	296	7,10	66	64232	0,035	2223,6	0,302	0,025	0,754
102	323	300	5,39	65	65003	0,531	34360,4	0,306	0,389	0,892
103	342	301	5,51	65	64622	0,520	33414,8	0,304	0,379	0,698
104	363	302	5,64	64	64418	0,451	28928,4	0,303	0,328	0,771
105	253	300	4,97	65	64548	0,162	10427,7	0,304	0,118	0,493
106	486	300	6,42	65	63776	0,144	9198,0	0,300	0,104	1,227
107	379	304	5,75	64	64238	0,439	28091,5	0,302	0,318	0,886
108	665	303	7,54	64	63843	0,150	9580,2	0,300	0,109	0,496
109	222	304	4,80	64	64060	0,075	4803,5	0,301	0,054	0,461
110	416	305	5,98	64	63863	0,185	11782,9	0,300	0,134	0,813
111	432	307	6,08	63	63761	0,341	21689,5	0,300	0,246	0,516
112	469	305	6,31	64	63539	0,144	9164,5	0,299	0,104	1,227
113	503	306	6,52	63	64086	0,347	22112,3	0,302	0,251	0,986
114	682	309	7,63	63	63918	0,630	40135,8	0,301	0,455	0,618
115	535	306	6,72	63	64165	0,283	18093,8	0,302	0,205	0,953
116	270	307	5,07	63	64331	0,144	9265,4	0,303	0,105	1,227
117	283	308	5,14	63	64322	0,144	9266,3	0,303	0,105	1,227
118	375	309	5,72	63	63833	0,144	9201,6	0,300	0,104	1,227
119	544	312	6,78	62	64036	0,410	26178,2	0,301	0,297	0,890
120	414	312	5,96	62	63628	0,075	4771,8	0,299	0,054	0,666
121	270	316	5,07	61	64368	0,219	14104,9	0,303	0,160	0,699
122	285	316	5,16	61	64429	0,254	16333,1	0,303	0,185	0,555
123	708	319	7,77	61	63810	0,560	35579,2	0,300	0,403	0,463
124	182	317	4,57	61	63975	0,422	26863,8	0,301	0,304	0,631
125	462	318	6,26	61	63907	0,503	31971,7	0,301	0,362	0,889
126	487	317	6,42	61	63579	0,040	2568,5	0,299	0,029	0,838
127	502	319	6,52	61	63877	0,439	27967,7	0,301	0,317	0,919
128	681	318	7,62	61	63560	0,144	9166,1	0,299	0,104	1,227
129	513	320	6,58	60	63878	0,225	14361,4	0,301	0,163	0,834
130	535	320	6,72	60	63998	0,248	15858,1	0,301	0,180	0,572
131	551	321	6,82	60	64033	0,156	9961,0	0,301	0,113	0,740
132	569	322	6,94	60	64170	0,410	26175,9	0,302	0,297	0,924
133	653	326	7,46	59	63824	0,312	19811,3	0,300	0,225	0,887
134	356	325	5,60	59	63558	0,087	5502,5	0,299	0,062	0,381
135	145	330	4,37	58	65055	0,797	51354,5	0,306	0,582	0,876

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	180	327	4,56	59	63638	0,144	9180,1	0,299	0,104	1,227
137	542	328	6,77	59	63713	0,144	9185,0	0,300	0,104	1,227
138	381	330	5,76	58	63411	0,046	2927,7	0,298	0,033	0,671
139	289	332	5,18	58	64092	0,075	4809,9	0,302	0,055	0,805
140	312	336	5,33	57	64798	0,658	42437,7	0,305	0,481	0,859
141	324	337	5,40	57	64521	0,474	30428,3	0,304	0,345	0,810
142	645	339	7,41	56	63408	0,202	12795,2	0,298	0,145	0,734
143	346	340	5,54	56	63773	0,243	15437,1	0,300	0,175	0,802
144	505	343	6,53	56	63533	0,347	21979,9	0,299	0,249	0,605
145	236	349	4,88	54	64363	0,335	21502,8	0,303	0,244	0,507
146	220	352	4,79	54	64616	0,970	62394,1	0,304	0,707	0,766
147	273	357	5,08	53	64493	0,497	31952,2	0,303	0,362	0,641
148	293	356	5,21	53	64504	0,566	36414,4	0,303	0,413	0,710
149	322	357	5,39	53	64333	0,595	38128,4	0,303	0,432	0,664
150	570	353	6,94	54	63624	0,040	2569,2	0,299	0,029	0,750
151	595	356	7,10	53	64200	0,422	26951,7	0,302	0,305	0,882
152	617	357	7,24	53	64534	0,953	60943,2	0,304	0,691	0,729
153	578	359	6,99	53	63824	0,266	16924,2	0,300	0,192	0,577
154	636	359	7,35	53	63838	0,370	23514,5	0,300	0,267	0,833
155	465	358	6,28	53	63358	0,196	12423,3	0,298	0,141	0,559
156	256	359	4,99	53	64124	0,110	7032,3	0,302	0,080	0,766
157	347	360	5,54	52	63813	0,202	12875,1	0,300	0,146	0,396
158	236	367	4,88	51	64327	0,260	16673,8	0,303	0,189	0,709
159	379	369	5,75	51	64425	0,635	40714,9	0,303	0,461	0,566
160	404	371	5,90	50	64847	0,734	47213,3	0,305	0,535	0,777
161	559	375	6,87	50	63908	0,375	23927,6	0,301	0,271	1,024
162	414	376	5,96	50	64236	0,341	21793,5	0,302	0,247	0,768
163	298	378	5,24	49	64380	0,624	39938,6	0,303	0,453	0,761
164	445	377	6,16	49	63479	0,191	12082,5	0,299	0,137	0,647
165	256	377	4,99	49	64148	0,144	9253,4	0,302	0,105	1,227
166	512	378	6,58	49	63622	0,243	15420,8	0,299	0,175	0,802
167	591	382	7,07	48	64261	0,687	44002,9	0,302	0,499	0,838
168	641	380	7,39	49	64066	0,687	43896,9	0,301	0,498	0,499
169	528	379	6,68	49	63803	0,214	13618,4	0,300	0,154	0,791
170	543	379	6,77	49	64149	0,312	19950,2	0,302	0,226	0,887
171	687	381	7,65	49	64588	0,780	50005,0	0,304	0,567	0,777
172	574	383	6,97	48	64090	0,214	13671,7	0,302	0,155	0,489
173	621	383	7,26	48	64325	0,491	31416,9	0,303	0,356	0,911
174	560	383	6,88	48	63991	0,347	22135,6	0,301	0,251	0,907
175	364	384	5,65	48	63802	0,370	23523,8	0,300	0,267	0,815
176	727	384	7,87	48	64044	0,583	37184,7	0,301	0,421	0,895
177	295	386	5,22	48	63977	0,375	23966,7	0,301	0,272	0,838
178	547	385	6,80	48	64064	0,208	13286,4	0,301	0,151	0,838
179	375	385	5,72	48	63851	0,289	18379,9	0,300	0,208	0,838
180	282	386	5,14	48	63895	0,144	9213,5	0,301	0,104	0,838

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
181	315	386	5,34	48	63875	0,196	12527,3	0,301	0,142	0,514
182	259	389	5,00	47	64881	0,814	52486,3	0,305	0,595	0,754
183	405	391	5,91	47	63506	0,069	4398,1	0,299	0,050	0,838
184	367	393	5,67	47	64183	0,422	26923,1	0,302	0,305	1,003
185	636	394	7,35	46	64232	0,231	14815,4	0,302	0,168	0,815
186	270	397	5,07	46	64070	0,381	24363,6	0,301	0,276	0,873
187	541	394	6,76	46	64077	0,139	8868,9	0,301	0,101	0,781
188	331	398	5,44	46	63615	0,179	11369,0	0,299	0,129	0,696
189	439	398	6,12	46	63508	0,139	8793,9	0,299	0,100	1,035
190	673	398	7,58	46	64443	0,422	27089,2	0,303	0,307	0,810
191	712	402	7,79	45	65011	0,965	62274,5	0,306	0,706	0,843
192	724	397	7,85	46	63934	0,087	5534,8	0,301	0,063	0,552
193	761	400	8,05	45	64311	0,595	38038,7	0,303	0,431	0,687
194	227	403	4,83	45	65016	0,687	44531,3	0,306	0,505	0,675
195	566	400	6,92	45	64198	0,399	25460,6	0,302	0,289	0,739
196	244	402	4,92	45	64686	0,375	24183,8	0,304	0,274	0,758
197	313	400	5,33	45	63575	0,075	4765,0	0,299	0,054	0,601
198	482	401	6,39	45	63616	0,196	12476,7	0,299	0,141	0,693
199	748	403	7,98	45	64786	0,716	46001,6	0,305	0,521	0,693
200	202	403	4,69	45	64497	0,069	4459,8	0,303	0,051	0,572
201	785	405	8,18	45	63564	0,468	29637,1	0,299	0,336	0,670
202	213	404	4,75	45	64850	0,144	9350,6	0,305	0,106	1,227
203	561	406	6,88	45	64251	0,427	27304,2	0,302	0,309	0,767
204	575	408	6,97	44	64287	0,653	41791,5	0,302	0,474	0,517
205	604	405	7,15	45	64065	0,312	19924,9	0,301	0,226	0,943
206	621	408	7,26	44	64616	0,554	35644,7	0,304	0,404	0,889
207	663	408	7,52	44	65053	0,676	43687,6	0,306	0,495	0,805
208	525	409	6,66	44	64157	0,312	19945,5	0,302	0,226	0,857
209	593	410	7,09	44	63996	0,318	20292,6	0,301	0,230	0,904
210	635	411	7,35	44	64446	0,422	27079,4	0,303	0,307	0,746
211	675	413	7,59	43	64946	0,693	44753,5	0,306	0,507	0,791
212	211	414	4,74	43	64311	0,375	24058,2	0,303	0,273	0,983
213	438	415	6,11	43	64291	0,635	40544,6	0,302	0,460	0,917
214	702	416	7,74	43	64441	0,606	38908,6	0,303	0,441	0,805
215	649	415	7,44	43	64216	0,144	9251,8	0,302	0,105	0,813
216	226	416	4,82	43	63745	0,144	9195,3	0,300	0,104	1,227
217	471	419	6,32	43	63915	0,612	38960,1	0,301	0,442	0,813
218	493	417	6,46	43	63779	0,364	23124,7	0,300	0,262	0,820
219	538	419	6,74	43	64939	0,739	47679,3	0,306	0,540	0,684
220	589	417	7,06	43	63848	0,318	20242,7	0,300	0,229	0,920
221	241	418	4,90	43	64159	0,306	19560,3	0,302	0,222	0,909
222	385	419	5,78	43	64348	0,618	39448,0	0,303	0,447	0,845
223	281	419	5,13	43	63331	0,139	8770,7	0,298	0,099	0,679
224	366	420	5,66	42	63369	0,052	3291,8	0,298	0,037	0,965
225	525	428	6,66	41	64155	0,433	27641,6	0,302	0,313	0,875
226	601	427	7,14	41	63462	0,052	3295,8	0,299	0,037	0,755
227	334	430	5,46	41	63290	0,185	11676,5	0,298	0,132	0,795

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
228	666	430	7,54	41	63594	0,254	16122,8	0,299	0,183	0,941
229	536	431	6,73	41	64031	0,237	15124,4	0,301	0,171	0,989
230	621	432	7,26	41	63552	0,329	20870,3	0,299	0,237	0,862
231	643	435	7,40	40	64797	0,734	47151,6	0,305	0,534	0,930
232	577	432	6,99	41	63216	0,040	2554,8	0,297	0,029	0,750
233	662	435	7,52	40	63765	0,225	14327,4	0,300	0,162	0,759
234	273	439	5,08	40	64299	0,658	42025,1	0,303	0,476	0,849
235	251	439	4,96	40	63614	0,399	25310,8	0,299	0,287	0,805
236	213	437	4,75	40	63434	0,058	3661,9	0,298	0,042	0,764
237	677	439	7,60	40	63391	0,191	12051,0	0,298	0,137	0,820
238	460	440	6,25	39	63255	0,352	22252,5	0,298	0,252	0,444
239	305	441	5,28	39	63223	0,069	4379,1	0,297	0,050	1,006
240	537	444	6,73	39	63811	0,474	30072,5	0,300	0,341	0,750
241	557	447	6,86	38	62996	0,040	2546,0	0,296	0,029	1,069
242	348	459	5,55	37	63358	0,474	29914,1	0,298	0,339	0,611
243	274	468	5,09	36	63809	0,427	27168,8	0,300	0,308	0,793
244	719	470	7,83	35	63747	0,578	36607,7	0,300	0,415	0,859
245	749	472	7,99	35	64879	0,918	59011,5	0,305	0,669	0,792
246	390	475	5,81	35	63510	0,595	37643,3	0,299	0,427	0,578
247	405	477	5,91	35	63210	0,277	17477,6	0,297	0,198	0,934
248	786	476	8,19	35	63088	0,162	10193,3	0,297	0,116	0,560
249	154	479	4,42	34	63359	0,358	22647,4	0,298	0,257	0,646
250	229	482	4,84	34	63971	0,641	40831,2	0,301	0,463	0,744
251	304	481	5,28	34	64543	0,647	41381,6	0,304	0,469	0,869
252	212	481	4,74	34	63541	0,214	13555,3	0,299	0,154	0,726
253	448	483	6,18	34	64803	0,976	62701,5	0,305	0,711	0,822
254	689	484	7,67	34	64169	0,722	45966,4	0,302	0,521	0,754
255	252	481	4,97	34	63435	0,139	8784,7	0,298	0,100	0,883
256	271	483	5,07	34	63451	0,231	14637,7	0,299	0,166	0,704
257	514	484	6,59	34	64172	0,687	43726,2	0,302	0,496	0,897
258	559	484	6,87	34	62898	0,168	10526,7	0,296	0,119	0,802
259	592	485	7,08	34	62954	0,208	13078,0	0,296	0,148	0,558
260	350	489	5,56	33	63249	0,468	29509,8	0,298	0,334	0,514
261	717	487	7,82	33	62984	0,104	6543,5	0,296	0,074	0,257
262	402	497	5,89	32	64706	0,913	58482,3	0,304	0,663	0,751
263	136	502	4,32	32	64939	1,028	66189,3	0,306	0,750	0,770
264	211	506	4,74	31	63498	0,393	24903,7	0,299	0,282	0,733
265	176	505	4,54	31	63489	0,196	12455,0	0,299	0,141	0,343
266	262	505	5,02	31	63273	0,179	11316,4	0,298	0,128	0,592
267	688	505	7,66	31	62990	0,150	9447,2	0,296	0,107	0,797
268	473	508	6,33	31	63372	0,433	27314,5	0,298	0,310	0,862
269	619	507	7,25	31	62920	0,127	7984,5	0,296	0,090	0,780
270	115	508	4,20	31	63716	0,237	15036,5	0,300	0,170	0,674

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
271	190	509	4,62	31	63708	0,479	30460,8	0,300	0,345	0,626
272	457	511	6,23	31	63278	0,387	24391,0	0,298	0,276	0,840
273	236	518	4,88	30	63635	0,433	27450,0	0,299	0,311	0,926
274	683	528	7,63	29	63473	0,543	34311,2	0,299	0,389	0,729
275	307	527	5,29	29	63393	0,266	16806,9	0,298	0,190	0,725
276	540	529	6,75	29	62775	0,196	12316,7	0,295	0,140	0,911
277	712	535	7,79	28	64629	0,838	53659,0	0,304	0,608	0,791
278	248	536	4,94	28	64102	0,647	41153,7	0,302	0,466	0,922
279	374	540	5,71	28	64270	0,687	43812,1	0,302	0,497	0,872
280	176	542	4,54	28	63301	0,231	14604,8	0,298	0,166	0,674
281	677	545	7,60	27	63419	0,965	61008,6	0,298	0,691	0,532
282	163	544	4,47	27	63269	0,219	13862,6	0,298	0,157	0,565
283	305	548	5,28	27	64641	0,762	48964,0	0,304	0,555	0,838
284	399	549	5,87	27	63530	0,271	17190,2	0,299	0,195	0,740
285	720	552	7,83	27	63996	0,699	44475,7	0,301	0,504	0,711
286	758	555	8,04	26	64437	0,878	56205,8	0,303	0,637	0,821
287	267	555	5,05	26	63881	0,612	38991,1	0,301	0,442	0,847
288	313	558	5,33	26	64757	0,728	46891,9	0,305	0,531	0,854
289	788	559	8,20	26	64950	1,190	76683,1	0,306	0,869	0,861
290	300	559	5,25	26	64716	0,716	46170,8	0,304	0,523	0,787
291	343	559	5,52	26	64810	1,040	67039,9	0,305	0,760	0,689
292	432	557	6,08	26	63260	0,427	26971,1	0,298	0,306	0,782
293	372	562	5,70	26	64870	0,774	49912,2	0,305	0,566	0,749
294	476	562	6,35	26	64277	0,705	44878,8	0,302	0,509	0,826
295	497	559	6,48	26	62892	0,081	5079,8	0,296	0,058	0,943
296	398	566	5,86	25	64964	1,201	77540,1	0,306	0,879	0,786
297	181	563	4,57	26	63061	0,064	4003,2	0,297	0,045	0,659
298	223	567	4,80	25	63975	0,647	41106,4	0,301	0,466	0,895
299	326	566	5,41	25	64196	0,075	4808,7	0,302	0,055	0,688
300	658	570	7,49	25	65024	1,265	81646,0	0,306	0,925	0,780
301	602	573	7,14	25	64610	1,017	65056,7	0,304	0,737	0,888
302	266	573	5,04	25	63791	0,531	33720,6	0,300	0,382	0,986
303	430	570	6,06	25	63047	0,052	3274,9	0,297	0,037	0,965
304	339	574	5,49	25	63075	0,144	9097,6	0,297	0,103	1,227
305	546	576	6,79	25	63207	0,566	35660,5	0,297	0,404	0,783
306	705	576	7,75	25	63613	0,566	35853,4	0,299	0,406	0,319
307	580	582	7,00	24	63350	0,566	35705,9	0,298	0,405	0,701
308	320	584	5,38	24	63027	0,144	9092,4	0,297	0,103	1,227
309	353	590	5,58	23	64101	0,838	53268,0	0,302	0,604	0,783
310	690	592	7,67	23	62947	0,196	12344,5	0,296	0,140	0,727
311	317	596	5,36	23	63702	0,647	40958,0	0,300	0,464	0,962
312	716	596	7,81	23	63047	0,364	22887,1	0,297	0,259	0,820

Tabela 24 – Análise de spots* de albumina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(conclusão)										
SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
313	753	597	8,01	23	62880	0,058	3628,9	0,296	0,041	0,764
314	156	600	4,43	23	63116	0,300	18917,2	0,297	0,214	0,840
315	782	605	8,17	22	63469	0,716	45281,6	0,299	0,513	0,654
316	199	608	4,67	22	64200	0,705	44838,3	0,302	0,508	0,883
317	427	607	6,05	22	63095	0,543	34123,9	0,297	0,387	0,533
318	178	609	4,55	22	63074	0,116	7275,7	0,297	0,082	0,613
319	482	611	6,39	22	64955	1,017	65429,6	0,306	0,742	0,810
320	536	610	6,73	22	62764	0,214	13401,0	0,295	0,152	0,583
321	787	628	8,19	20	64554	0,890	56866,7	0,304	0,645	0,749
322	670	630	7,56	20	63153	0,595	37450,0	0,297	0,424	0,813
323	316	687	5,35	17	64471	0,924	59007,3	0,303	0,669	0,843
324	218	695	4,78	16	63370	0,387	24438,1	0,298	0,277	0,921
325	191	699	4,62	16	62853	0,144	9066,7	0,296	0,103	1,227
326	191	733	4,62	14	63420	0,635	40122,2	0,298	0,455	0,810
327	533	738	6,71	14	63766	0,658	41700,3	0,300	0,473	0,816
328	390	739	5,81	14	64133	0,739	47086,5	0,302	0,534	0,772
329	281	758	5,13	13	63735	0,976	61740,0	0,300	0,700	0,807
330	277	795	5,11	11	63133	0,907	57030,2	0,297	0,646	0,860
331	704	856	7,75	9	63955	0,682	43266,7	0,301	0,490	0,890
332	664	865	7,53	9	62863	0,144	9066,9	0,296	0,103	1,227

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 25 – Análise de spots* de globulina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	443	144	6,200	102	63477	0,208	13117,1	0,573	0,237	1,043
2	227	151	4,584	99	64907	0,295	18999,6	0,586	0,344	0,992
3	238	152	4,667	98	65028	0,503	32451,4	0,587	0,587	0,821
4	372	153	5,669	98	63262	0,185	11663,4	0,571	0,211	0,857
5	387	154	5,781	97	63381	0,202	12778,9	0,572	0,231	0,889
6	402	155	5,893	97	63692	0,306	19387,4	0,575	0,351	0,835
7	419	155	6,020	97	63933	0,219	13934,5	0,577	0,252	0,965
8	436	155	6,148	97	64013	0,214	13570,4	0,578	0,245	0,892
9	454	155	6,281	97	64307	0,225	14318,4	0,581	0,259	0,795
10	473	155	6,420	97	63710	0,196	12424	0,575	0,225	1,043
11	188	160	4,293	95	64518	0,399	25537,1	0,582	0,462	0,865
12	551	159	6,991	95	63800	0,277	17561,7	0,576	0,318	0,860
13	196	160	4,352	95	64310	0,306	19619,3	0,581	0,355	0,886
14	228	163	4,592	93	64433	0,277	17724,1	0,582	0,320	1,026
15	214	170	4,487	90	64735	0,404	26059,7	0,584	0,471	0,846
16	225	172	4,569	89	65003	0,399	25750,3	0,587	0,466	0,948
17	235	172	4,644	89	64970	0,358	23088,1	0,586	0,417	0,960
18	247	172	4,734	89	63964	0,185	11791,7	0,577	0,213	1,067
19	347	191	5,482	82	63584	0,092	5858,11	0,574	0,106	1,222
20	367	191	5,632	82	63689	0,202	12784,3	0,575	0,231	1,014
21	233	204	4,629	77	64986	0,410	26522,7	0,587	0,480	0,976
22	245	203	4,719	77	64904	0,375	24238,7	0,586	0,438	0,893
23	255	205	4,794	77	64645	0,335	21555,6	0,584	0,390	0,953
24	211	210	4,465	75	64819	0,393	25339,5	0,585	0,458	0,972
25	221	211	4,539	74	65147	0,531	34476,7	0,588	0,623	0,897
26	337	208	5,407	76	64051	0,225	14332,9	0,578	0,259	0,940
27	233	211	4,629	74	65008	0,451	29161,3	0,587	0,527	0,865
28	244	210	4,711	75	64824	0,295	18997,4	0,585	0,344	0,853
29	364	217	5,609	72	63819	0,254	16115,1	0,576	0,291	1,061
30	273	224	4,928	70	64695	0,537	34456,9	0,584	0,623	0,919
31	180	229	4,241	68	65254	0,445	28860,3	0,589	0,522	0,931
32	171	231	4,181	68	65100	0,537	34793,7	0,588	0,629	0,919
33	682	232	7,951	67	63671	0,445	28232,8	0,575	0,511	0,854
34	382	232	5,744	67	63814	0,225	14298,6	0,576	0,259	0,991
35	702	233	8,097	67	63702	0,318	20157,9	0,575	0,365	0,904
36	297	235	5,108	67	63880	0,370	23533	0,577	0,426	1,008
37	335	237	5,392	66	64817	0,508	32660	0,585	0,591	0,912
38	410	233	5,953	67	63259	0,035	2191,23	0,571	0,040	2,094
39	182	239	4,254	65	65160	0,358	23156,3	0,588	0,419	0,886
40	388	240	5,789	65	63727	0,196	12459,1	0,575	0,225	0,985
41	249	246	4,749	63	64770	0,549	35292,9	0,585	0,638	0,869
42	207	248	4,435	63	64684	0,531	34243,6	0,584	0,619	0,767
43	235	246	4,644	63	64651	0,422	27128,5	0,584	0,491	0,965
44	262	247	4,846	63	64695	0,578	37152,2	0,584	0,672	0,914
45	276	248	4,951	63	64884	0,687	44180,4	0,586	0,799	0,887

Tabela 25 – Análise de spots* de globulina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	543	250	6,933	62	64278	0,416	26643	0,580	0,482	0,903
47	559	251	7,050	62	64140	0,393	25089,7	0,579	0,454	0,885
48	572	251	7,145	62	63905	0,289	18389,8	0,577	0,333	0,954
49	597	250	7,328	62	63748	0,214	13583,6	0,575	0,246	0,940
50	597	258	7,328	60	64305	0,323	20642,9	0,580	0,373	0,882
51	296	263	5,100	58	64694	0,572	36749,9	0,584	0,665	0,905
52	316	264	5,250	58	64969	0,803	51689,8	0,586	0,935	0,883
53	339	263	5,422	58	64951	0,549	35357	0,586	0,639	0,842
54	441	266	6,185	57	64541	0,335	21456	0,583	0,388	0,914
55	488	267	6,530	57	63427	0,225	14243,3	0,573	0,258	1,069
56	228	274	4,592	55	64500	0,266	17076	0,582	0,309	0,984
57	244	275	4,711	55	64724	0,433	27876,1	0,584	0,504	0,804
58	260	274	4,831	55	65013	0,433	27951	0,587	0,505	0,907
59	275	276	4,943	55	64926	0,341	22005,7	0,586	0,398	1,012
60	296	277	5,100	55	65219	0,589	38186,7	0,589	0,691	0,933
61	327	279	5,332	54	64776	0,560	36059,9	0,585	0,652	0,823
62	357	278	5,557	54	65196	0,768	49534,1	0,589	0,896	0,823
63	491	276	6,552	55	63432	0,202	12778,3	0,573	0,231	1,014
64	227	281	4,584	54	64484	0,375	24083,1	0,582	0,435	0,893
65	390	279	5,804	54	63615	0,116	7337,65	0,574	0,133	1,282
66	244	283	4,711	53	64740	0,393	25281,5	0,584	0,457	0,899
67	261	283	4,839	53	65158	0,543	35172,5	0,588	0,636	0,929
68	283	283	5,003	53	64957	0,468	30192	0,586	0,546	0,979
69	333	290	5,377	51	64126	0,237	15108	0,579	0,273	0,877
70	370	289	5,654	52	63859	0,219	13937,1	0,576	0,252	0,916
71	98	300	3,700	49	64471	0,549	35090,3	0,582	0,635	0,897
72	334	297	5,385	50	63691	0,133	8438,51	0,575	0,153	1,021
73	341	305	5,437	48	64165	0,312	19896,8	0,579	0,360	0,985
74	546	322	6,955	45	63949	0,335	21313,5	0,577	0,385	0,829
75	300	323	5,130	45	64211	0,375	23940,5	0,580	0,433	0,893
76	567	323	7,108	45	64660	0,508	32475,1	0,584	0,587	0,899
77	287	329	5,033	44	64424	0,410	26222,5	0,582	0,474	0,890
78	265	330	4,869	44	64027	0,191	12172,1	0,578	0,220	1,037
79	312	331	5,220	44	64397	0,277	17756,9	0,581	0,321	0,916
80	252	334	4,771	43	64435	0,479	30738,1	0,582	0,556	1,003
81	363	333	5,602	43	64755	0,260	16641,7	0,585	0,301	0,821
82	330	338	5,355	43	63768	0,266	16883,9	0,576	0,305	0,984
83	363	338	5,602	43	64963	0,474	30508,8	0,586	0,552	0,910
84	544	337	6,940	43	64407	0,231	14803,5	0,581	0,268	1,016
85	570	344	7,130	42	65367	0,630	40764,2	0,590	0,737	0,836
86	628	341	7,555	42	63681	0,069	4409,79	0,575	0,080	1,508
87	544	344	6,940	42	64731	0,318	20428,9	0,584	0,369	0,866
88	666	347	7,834	41	63324	0,069	4385,98	0,572	0,079	1,508
89	694	353	8,039	40	63371	0,069	4387,84	0,572	0,079	1,508
90	323	355	5,302	40	63400	0,156	9861,35	0,572	0,178	1,198
91	583	357	7,226	40	65215	0,433	28027,4	0,589	0,507	0,907
92	209	362	4,450	39	64276	0,410	26171,5	0,580	0,473	0,828
93	335	359	5,392	39	63553	0,185	11708,5	0,574	0,212	1,134

Tabela 25 – Análise de spots* de globulina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	650	364	7,716	39	65440	1,225	79567,5	0,591	1,439	0,845
95	681	363	7,944	39	65371	1,051	68042,6	0,590	1,230	0,764
96	326	364	5,325	39	63860	0,283	17976,9	0,576	0,325	1,048
97	584	366	7,233	38	65325	0,606	39452,5	0,590	0,713	0,864
98	609	369	7,416	38	65361	0,745	48475,3	0,590	0,877	0,864
99	570	370	7,130	38	64655	0,312	20070	0,584	0,363	0,985
100	618	372	7,482	37	65323	0,572	37143,9	0,590	0,672	0,965
101	492	376	6,559	37	65353	0,682	44160,4	0,590	0,799	0,799
102	397	376	5,856	37	64903	0,578	37059,4	0,586	0,670	0,886
103	451	374	6,259	37	63815	0,243	15418,9	0,576	0,279	1,013
104	427	376	6,080	37	63996	0,243	15447	0,578	0,279	1,013
105	341	386	5,437	36	64669	0,497	31788	0,584	0,575	0,954
106	483	390	6,493	35	64594	0,520	33260,7	0,583	0,601	0,850
107	633	388	7,592	35	63906	0,150	9580,14	0,577	0,173	1,154
108	591	401	7,284	34	65142	0,687	44320,1	0,588	0,801	0,852
109	294	398	5,085	34	63158	0,046	2917,27	0,570	0,053	1,571
110	436	409	6,148	33	65360	1,103	71541	0,590	1,294	0,784
111	387	409	5,781	33	64644	0,664	42630	0,584	0,771	0,779
112	481	411	6,478	32	64859	0,774	49739,6	0,585	0,899	0,760
113	532	414	6,852	32	64560	0,531	34072,8	0,583	0,616	0,841
114	586	416	7,248	32	65298	0,786	50877,1	0,589	0,920	0,841
115	346	418	5,474	32	63650	0,300	19044,1	0,575	0,344	0,949
116	298	418	5,115	32	63283	0,168	10572,4	0,571	0,191	1,202
117	681	423	7,944	31	65285	1,097	70936,1	0,589	1,283	0,797
118	307	429	5,183	30	63399	0,185	11689,4	0,572	0,211	1,067
119	405	432	5,916	30	65127	0,751	48415,1	0,588	0,875	0,775
120	469	433	6,390	30	64308	0,526	33544,2	0,581	0,607	0,832
121	229	433	4,599	30	63677	0,300	19058,1	0,575	0,345	0,949
122	345	432	5,467	30	63551	0,219	13900,3	0,574	0,251	0,871
123	549	436	6,977	30	63703	0,329	20894,8	0,575	0,378	0,936
124	261	442	4,839	29	63321	0,087	5479,95	0,572	0,099	1,309
125	86	450	3,680	28	63435	0,092	5858,18	0,573	0,106	1,396
126	308	451	5,190	28	63405	0,185	11691	0,572	0,211	1,134
127	362	453	5,594	28	65189	0,826	53328,5	0,588	0,964	0,803
128	417	455	6,006	28	64056	0,300	19116,3	0,578	0,346	0,908
129	651	478	7,724	26	65417	1,115	72461,6	0,591	1,310	0,793
130	201	487	4,390	25	63755	0,364	23090	0,576	0,418	0,993
131	661	491	7,797	25	65289	1,328	86381,9	0,589	1,562	0,769
132	690	492	8,010	25	65285	1,588	103294	0,589	1,868	0,782
133	716	493	8,200	25	65332	2,455	159945	0,590	2,892	0,740
134	334	490	5,385	25	64245	0,381	24320,6	0,580	0,440	0,907
135	559	490	7,050	25	63897	0,485	30874,8	0,577	0,558	0,932
136	618	491	7,482	25	65107	0,890	57481,1	0,588	1,039	0,804
137	357	493	5,557	25	64410	0,358	22921,6	0,581	0,414	0,886
138	266	496	4,876	25	64497	0,641	41116,6	0,582	0,743	0,861
139	435	499	6,140	24	65193	0,797	51458,6	0,589	0,930	0,845
140	300	506	5,130	24	65018	1,236	79539,1	0,587	1,438	0,780

Tabela 25 – Análise de spots* de globulina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	(conclusão)
										Circularity
141	259	505	4,824	24	64193	0,306	19574,4	0,579	0,354	0,886
142	358	509	5,564	23	65343	1,369	88892	0,590	1,607	0,792
143	176	507	4,214	23	64056	0,433	27586,8	0,578	0,499	0,907
144	333	507	5,377	23	64926	0,682	43877,6	0,586	0,793	0,822
145	268	511	4,891	23	63930	0,335	21326,6	0,577	0,386	1,013
146	605	515	7,387	23	65410	1,392	90653,3	0,590	1,639	0,723
147	554	515	7,013	23	64851	0,895	57599,9	0,585	1,042	0,849
148	660	515	7,790	23	64836	0,705	45433,4	0,585	0,822	0,804
149	219	519	4,524	22	64012	0,404	25746,5	0,578	0,466	0,878
150	660	536	7,790	21	63425	0,116	7318,5	0,573	0,132	1,282
151	442	540	6,193	20	64873	0,658	42248,8	0,586	0,764	0,874
152	311	542	5,213	20	64256	0,641	40883,4	0,580	0,739	0,827
153	275	550	4,943	19	64326	0,670	42789,3	0,581	0,774	0,889
154	150	556	4,043	19	63409	0,312	19728	0,572	0,357	0,985
155	710	564	8,156	18	65188	1,265	81796,7	0,588	1,479	0,761
156	169	616	4,168	14	63262	0,248	15673,3	0,571	0,283	1,037
157	276	631	4,951	13	65048	1,080	69587,4	0,587	1,258	0,792
158	357	633	5,557	13	64692	0,970	62136,7	0,584	1,124	0,809
159	136	644	3,951	13	64770	0,941	60331,1	0,585	1,091	0,893
160	492	652	6,559	12	65211	1,167	75334,7	0,589	1,362	0,757
161	425	653	6,065	12	64324	0,797	50902,9	0,581	0,920	0,832
162	353	663	5,527	12	63710	0,087	5516,37	0,575	0,100	1,309
163	319	676	5,272	11	63598	0,208	13198,7	0,574	0,239	1,043
164	193	681	4,330	11	63614	0,318	20167,9	0,574	0,365	0,866
165	418	719	6,013	9	65184	2,085	134789	0,588	2,437	0,782
166	591	720	7,284	9	64640	1,259	80591,1	0,584	1,457	0,834
167	506	726	6,662	9	63162	0,035	2187,9	0,570	0,040	2,094
168	508	744	6,676	8	63163	0,069	4374,32	0,570	0,079	1,508
169	652	770	7,731	7	65020	1,577	101537	0,587	1,836	0,784
170	193	785	4,330	7	64335	1,011	64594,9	0,581	1,168	0,843
171	196	805	4,352	6	64923	0,826	53272,1	0,586	0,963	0,811
172	189	811	4,300	6	64923	1,167	75203,7	0,586	1,360	0,779

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	512	141	6,27	101	62082	0,191	11698,4	0,337	0,119	1,100
2	532	143	6,40	100	61743	0,208	12748,3	0,335	0,130	1,043
3	456	148	5,91	98	62387	0,289	17790,4	0,339	0,181	0,912
4	474	148	6,02	98	62830	0,254	15709,1	0,341	0,160	0,941
5	493	148	6,15	98	63095	0,312	19399,8	0,343	0,197	0,851
6	532	149	6,40	98	62343	0,312	19199,8	0,339	0,195	0,887
7	438	148	5,79	98	61382	0,208	12673,7	0,333	0,129	0,914
8	511	149	6,26	98	62944	0,329	20417,5	0,342	0,208	0,814
9	631	155	7,18	95	63401	0,589	36544,2	0,344	0,372	0,760
10	606	154	6,98	96	61865	0,260	15927,6	0,336	0,162	1,085
11	713	169	7,83	90	60114	0,185	11077,7	0,327	0,113	1,067
12	677	171	7,54	90	60811	0,347	20941,6	0,330	0,213	0,986
13	693	172	7,67	89	61268	0,347	21023,6	0,333	0,214	0,945
14	254	175	4,60	88	61434	0,202	12317,7	0,334	0,125	1,014
15	266	175	4,68	88	61616	0,127	7777,32	0,335	0,079	1,164
16	423	191	5,69	83	63585	0,323	20114,2	0,345	0,205	0,833
17	402	191	5,56	83	62411	0,289	17823	0,339	0,181	0,873
18	238	193	4,50	82	62895	0,248	15473	0,342	0,157	0,837
19	280	212	4,77	76	64807	0,341	21964,9	0,352	0,223	0,930
20	292	210	4,85	77	64429	0,196	12518,9	0,350	0,127	0,932
21	267	213	4,68	76	64519	0,364	23275,4	0,351	0,237	0,790
22	365	212	5,32	76	61719	0,185	11319,4	0,335	0,115	1,005
23	382	212	5,43	76	61147	0,087	5278,49	0,332	0,054	1,309
24	671	214	7,50	76	60611	0,202	12177,4	0,329	0,124	1,100
25	712	215	7,82	76	60317	0,185	11099	0,328	0,113	1,067
26	253	218	4,59	75	64933	0,520	33389,5	0,353	0,340	0,861
27	241	218	4,52	75	64230	0,271	17253,9	0,349	0,175	0,958
28	266	219	4,68	74	64801	0,214	13717	0,352	0,139	0,720
29	409	221	5,60	74	64434	0,520	32659,2	0,350	0,332	0,823
30	355	222	5,25	74	62648	0,358	22188,6	0,340	0,226	0,820
31	382	222	5,43	74	63243	0,352	21906,5	0,344	0,223	0,922
32	390	221	5,48	74	62681	0,110	6809,18	0,341	0,069	1,218
33	699	224	7,72	73	61945	0,387	23535,7	0,337	0,239	0,872
34	678	223	7,55	73	60766	0,202	12199,7	0,330	0,124	1,014
35	306	232	4,94	71	63638	0,387	24174,7	0,346	0,246	0,921
36	318	232	5,01	71	63738	0,277	17471,3	0,346	0,178	0,876
37	435	236	5,77	70	63568	0,300	18742,7	0,345	0,191	0,949
38	465	236	5,97	70	62093	0,243	14898,4	0,337	0,152	0,963
39	856	237	8,95	69	60756	0,375	22623,2	0,330	0,230	0,893
40	799	239	8,50	69	59826	0,110	6554,73	0,325	0,067	1,086
41	825	240	8,71	69	60324	0,266	15960,5	0,328	0,162	0,984
42	380	241	5,42	68	63209	0,150	9392,8	0,343	0,096	0,797
43	406	242	5,58	68	62875	0,358	22262	0,342	0,226	0,852
44	891	242	9,23	68	60634	0,260	15578,6	0,329	0,158	0,962
45	357	244	5,27	67	62082	0,323	20000,8	0,337	0,203	0,978
46	383	245	5,44	67	63389	0,144	9055,38	0,344	0,092	0,886

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *o1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	440	246	5,80	67	61917	0,202	12422	0,336	0,126	1,014
48	711	248	7,81	66	60444	0,173	10436,9	0,328	0,106	1,164
49	568	252	6,68	65	62374	0,358	22209,9	0,339	0,226	0,977
50	613	256	7,04	64	63977	0,630	39965,8	0,348	0,406	0,897
51	302	254	4,91	65	63933	0,168	10543,6	0,347	0,107	1,028
52	409	254	5,60	65	60870	0,092	5610,39	0,331	0,057	1,222
53	286	255	4,81	65	64565	0,219	14000,4	0,351	0,142	0,916
54	636	257	7,22	64	64165	0,526	33545,4	0,349	0,341	0,727
55	270	256	4,70	64	63370	0,179	11257,8	0,344	0,114	1,034
56	585	258	6,82	64	62927	0,416	25957,2	0,342	0,264	0,903
57	599	258	6,93	64	63346	0,422	26535,3	0,344	0,270	0,965
58	679	258	7,56	64	62948	0,387	24154,9	0,342	0,246	0,872
59	282	259	4,78	64	64307	0,219	13878,9	0,349	0,141	0,871
60	315	260	5,00	63	64933	0,572	36390,9	0,353	0,370	0,815
61	653	260	7,35	63	63973	0,514	32610,8	0,348	0,332	0,814
62	299	259	4,89	64	64018	0,219	13922,2	0,348	0,142	0,916
63	334	260	5,12	63	62685	0,312	19355,5	0,341	0,197	0,851
64	211	260	4,33	63	62768	0,248	15435,7	0,341	0,157	1,037
65	748	264	8,10	62	60861	0,237	14338,1	0,331	0,146	1,041
66	636	265	7,22	62	64109	0,514	32680	0,348	0,332	0,799
67	667	266	7,46	62	63500	0,318	20036,1	0,345	0,204	1,004
68	681	268	7,57	61	63552	0,479	30139,7	0,345	0,307	0,848
69	652	269	7,35	61	63885	0,606	38179,1	0,347	0,388	0,815
70	362	272	5,30	61	64596	0,271	17232,8	0,351	0,175	0,821
71	387	273	5,46	60	64165	0,479	30231,1	0,349	0,307	0,921
72	336	275	5,13	60	64000	0,722	45407,7	0,348	0,462	0,870
73	443	274	5,82	60	61832	0,381	23346,2	0,336	0,237	0,892
74	499	273	6,19	60	61923	0,381	23339,8	0,336	0,237	0,907
75	317	273	5,01	60	62273	0,173	10725,9	0,338	0,109	1,164
76	354	276	5,25	60	64711	0,381	24293,3	0,352	0,247	0,907
77	101	282	3,67	58	61265	0,208	12673,3	0,333	0,129	0,914
78	506	285	6,23	58	61926	0,318	19485,7	0,336	0,198	0,904
79	613	285	7,04	58	61945	0,341	20909,2	0,337	0,213	0,811
80	677	285	7,54	58	61778	0,260	16007,9	0,336	0,163	0,962
81	692	286	7,66	57	62279	0,503	31052,2	0,338	0,316	0,965
82	409	288	5,60	57	65017	0,999	63620,5	0,353	0,647	0,765
83	517	285	6,30	58	61374	0,219	13400,8	0,333	0,136	1,041
84	375	288	5,38	57	64394	0,526	33439,1	0,350	0,340	0,899
85	555	287	6,58	57	61369	0,260	15822	0,333	0,161	0,876
86	712	288	7,82	57	62079	0,393	24210,7	0,337	0,246	0,972
87	279	289	4,76	57	65023	0,514	33101,7	0,353	0,337	0,880
88	297	289	4,88	57	65453	0,716	46404,7	0,356	0,472	0,818
89	263	289	4,66	57	63982	0,451	28561	0,348	0,290	0,865
90	247	290	4,56	56	62599	0,306	19082,4	0,340	0,194	0,967
91	317	290	5,01	56	65263	0,503	32482,2	0,355	0,330	0,806
92	444	291	5,83	56	64188	0,462	29126,2	0,349	0,296	0,817
93	476	289	6,04	57	61527	0,243	14834,7	0,334	0,151	1,013

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	731	290	7,97	56	61547	0,271	16627,2	0,334	0,169	1,005
95	337	292	5,14	56	65535	0,578	37399,5	0,356	0,380	0,914
96	682	293	7,58	56	61976	0,289	17744	0,337	0,180	0,954
97	280	297	4,77	55	64955	0,335	21611,5	0,353	0,220	0,739
98	263	297	4,66	55	63528	0,306	19243,1	0,345	0,196	0,967
99	297	298	4,88	55	65366	0,537	34774,9	0,355	0,354	0,701
100	320	297	5,03	55	65269	0,347	22406,6	0,355	0,228	0,907
101	738	299	8,02	54	62304	0,375	23189,8	0,338	0,236	0,983
102	478	299	6,05	54	60798	0,231	13980,2	0,330	0,142	1,096
103	428	300	5,73	54	61237	0,191	11609,2	0,333	0,118	1,012
104	532	300	6,40	54	61071	0,202	12291,1	0,332	0,125	1,100
105	718	302	7,87	54	62443	0,364	22431,9	0,339	0,228	0,993
106	387	301	5,46	54	62490	0,214	13225,7	0,340	0,135	1,072
107	573	302	6,72	54	61446	0,248	15142,3	0,334	0,154	1,037
108	592	302	6,87	54	61821	0,295	18005,3	0,336	0,183	0,931
109	567	307	6,68	53	61632	0,260	15881,6	0,335	0,162	0,917
110	771	307	8,28	53	61350	0,300	18310,4	0,333	0,186	0,908
111	383	309	5,44	52	62331	0,208	12843,3	0,339	0,131	1,043
112	591	310	6,86	52	60736	0,202	12214,2	0,330	0,124	1,014
113	352	316	5,23	51	63296	0,491	30687,6	0,344	0,312	0,943
114	109	317	3,72	51	62937	0,554	34265,3	0,342	0,348	0,878
115	900	321	9,30	50	62809	0,722	44437,8	0,341	0,452	0,815
116	390	319	5,48	50	62586	0,277	17189,2	0,340	0,175	0,876
117	325	321	5,06	50	63928	0,445	27991,9	0,347	0,285	0,931
118	351	335	5,23	48	63176	0,364	22669	0,343	0,231	0,866
119	321	338	5,03	48	63605	0,520	32589,6	0,346	0,331	0,951
120	621	338	7,10	48	62551	0,583	35967,7	0,340	0,366	0,857
121	645	340	7,29	47	62998	0,422	26245,7	0,342	0,267	0,915
122	346	342	5,20	47	63202	0,433	27017	0,343	0,275	0,862
123	660	340	7,41	47	61917	0,277	17053,7	0,336	0,173	0,916
124	353	348	5,24	46	62328	0,318	19647	0,339	0,200	0,786
125	210	348	4,32	46	62427	0,312	19337,1	0,339	0,197	0,903
126	302	351	4,91	46	63464	0,416	26056,7	0,345	0,265	0,903
127	323	350	5,05	46	63165	0,329	20545,2	0,343	0,209	0,898
128	183	351	4,16	46	61912	0,306	18807,8	0,336	0,191	0,801
129	196	351	4,24	46	63124	0,410	25605,3	0,343	0,260	0,858
130	281	354	4,78	45	64479	0,514	32643,4	0,350	0,332	0,954
131	288	354	4,82	45	64514	0,537	34240,8	0,351	0,348	0,919
132	310	355	4,96	45	62875	0,381	23729,1	0,342	0,241	0,907
133	420	355	5,68	45	65040	1,045	66496,3	0,353	0,676	0,743
134	261	355	4,65	45	62661	0,231	14356,2	0,340	0,146	1,039
135	269	355	4,70	45	63041	0,358	22442,1	0,343	0,228	0,977
136	461	354	5,94	45	61555	0,352	21487,2	0,334	0,219	0,961
137	617	356	7,07	45	63424	0,399	24905,1	0,345	0,253	0,986
138	382	356	5,43	45	63323	0,503	31355,6	0,344	0,319	0,832
139	581	355	6,79	45	61762	0,260	15924,1	0,336	0,162	1,031
140	679	359	7,56	45	62599	0,445	27571,4	0,340	0,280	0,713

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *o1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
141	649	364	7,32	44	64668	0,959	61193,7	0,351	0,622	0,838
142	706	359	7,77	45	62576	0,358	22208,5	0,340	0,226	0,977
143	597	362	6,91	44	62462	0,375	23226,4	0,339	0,236	0,983
144	566	362	6,67	44	62169	0,289	17783	0,338	0,181	1,019
145	618	363	7,08	44	63915	0,427	26978,9	0,347	0,274	0,581
146	675	366	7,53	44	62596	0,277	17165	0,340	0,175	0,978
147	215	368	4,35	44	61309	0,231	14081	0,333	0,143	1,016
148	790	374	8,43	43	63409	0,734	45715,4	0,345	0,465	0,860
149	372	373	5,36	43	61227	0,191	11598,8	0,333	0,118	1,012
150	756	375	8,17	43	62564	0,375	23284,2	0,340	0,237	0,983
151	804	375	8,54	43	61464	0,283	17312,2	0,334	0,176	0,894
152	291	376	4,84	43	62772	0,312	19380,5	0,341	0,197	0,985
153	243	376	4,53	43	61555	0,237	14481,6	0,334	0,147	0,989
154	384	378	5,44	42	62625	0,445	27434,1	0,340	0,279	0,931
155	665	379	7,45	42	64345	0,422	26820,8	0,350	0,273	0,915
156	312	382	4,98	42	62738	0,537	33165,1	0,341	0,337	0,890
157	553	383	6,57	42	62380	0,358	22125,5	0,339	0,225	0,886
158	289	384	4,83	42	61912	0,254	15660	0,336	0,159	0,856
159	375	383	5,38	42	62041	0,295	18107,4	0,337	0,184	0,931
160	242	386	4,52	41	63285	0,427	26662,8	0,344	0,271	0,731
161	742	388	8,05	41	64240	0,803	51025,9	0,349	0,519	0,808
162	779	388	8,35	41	63696	0,826	51780,3	0,346	0,527	0,783
163	664	387	7,44	41	64524	0,422	27009,3	0,351	0,275	0,882
164	544	390	6,49	41	62255	0,318	19551,9	0,338	0,199	0,866
165	649	392	7,32	41	64464	0,745	47479,4	0,350	0,483	0,841
166	692	393	7,66	41	64801	0,936	59926,8	0,352	0,609	0,887
167	602	391	6,95	41	63564	0,503	31540,7	0,345	0,321	0,919
168	620	394	7,09	41	63576	0,658	41385	0,345	0,421	0,911
169	454	395	5,90	40	63721	0,693	43202,3	0,346	0,439	0,762
170	704	397	7,76	40	64674	0,583	37282	0,351	0,379	0,895
171	491	395	6,13	40	61816	0,404	24756,1	0,336	0,252	0,846
172	511	395	6,26	40	61648	0,318	19445,3	0,335	0,198	0,920
173	562	399	6,64	40	64137	0,641	40340,6	0,348	0,410	0,773
174	663	398	7,43	40	64278	0,503	31950,1	0,349	0,325	0,932
175	206	398	4,30	40	60896	0,352	21310,7	0,331	0,217	0,961
176	397	408	5,53	39	63030	0,583	36075,7	0,342	0,367	0,831
177	183	408	4,16	39	62105	0,144	8904,75	0,337	0,091	1,227
178	618	409	7,08	39	61840	0,271	16683,6	0,336	0,170	0,958
179	670	411	7,49	39	62415	0,439	27152,1	0,339	0,276	0,953
180	719	412	7,87	38	62642	0,537	33221	0,340	0,338	0,824
181	547	412	6,52	38	62632	0,445	27419,9	0,340	0,279	0,854
182	374	414	5,38	38	60824	0,381	23012,9	0,330	0,234	0,907
183	696	414	7,69	38	61622	0,323	19765,4	0,335	0,201	0,978
184	366	421	5,33	37	60589	0,266	16036,6	0,329	0,163	0,984
185	338	424	5,14	37	63019	0,595	36726,9	0,342	0,374	0,913
186	671	427	7,50	37	63194	0,653	40630,5	0,343	0,413	0,930
187	498	433	6,18	36	64616	1,542	97857,2	0,351	0,995	0,687

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
188	186	430	4,18	37	60237	0,144	8670,97	0,327	0,088	1,227
189	231	431	4,45	36	60920	0,341	20615,9	0,331	0,210	1,030
190	441	433	5,81	36	64193	1,040	65557,5	0,349	0,667	0,709
191	393	433	5,50	36	62427	0,601	37068,7	0,339	0,377	0,894
192	558	437	6,60	36	62796	0,404	25047,8	0,341	0,255	0,878
193	547	437	6,52	36	63015	0,566	35252,3	0,342	0,359	0,817
194	583	437	6,80	36	61719	0,381	23304,9	0,335	0,237	0,907
195	608	442	7,00	35	61565	0,508	31041,8	0,334	0,316	0,943
196	669	444	7,48	35	64045	0,901	56605,1	0,348	0,576	0,814
197	302	443	4,91	35	61524	0,387	23552,3	0,334	0,240	0,886
198	347	445	5,20	35	60813	0,225	13624,4	0,330	0,139	1,130
199	402	445	5,56	35	60907	0,248	15064	0,331	0,153	0,966
200	750	452	8,12	34	62685	0,618	38150	0,341	0,388	0,797
201	779	454	8,35	34	63928	1,427	89746	0,347	0,913	0,697
202	468	459	5,99	34	64193	1,034	65085,5	0,349	0,662	0,835
203	357	458	5,27	34	60703	0,295	17787,7	0,330	0,181	1,040
204	404	460	5,57	34	61990	0,560	34300,8	0,337	0,349	0,959
205	535	461	6,42	33	61406	0,393	23863,6	0,334	0,243	0,972
206	267	467	4,68	33	61491	0,243	14820,8	0,334	0,151	0,898
207	721	468	7,89	33	61743	0,456	27890,9	0,335	0,284	0,847
208	302	476	4,91	32	64183	1,063	66329	0,349	0,675	0,839
209	263	476	4,66	32	61110	0,277	16840,2	0,332	0,171	1,078
210	359	484	5,28	31	62184	0,705	43163,7	0,338	0,439	0,859
211	418	485	5,66	31	64370	1,057	66680,6	0,350	0,678	0,784
212	475	484	6,03	31	61585	0,399	24250,1	0,335	0,247	0,865
213	103	487	3,68	31	64429	1,034	65302,8	0,350	0,664	0,809
214	493	486	6,15	31	60456	0,347	20812,2	0,328	0,212	0,945
215	214	492	4,35	30	60454	0,191	11497,3	0,328	0,117	1,100
216	649	495	7,32	30	61464	0,439	26660,1	0,334	0,271	0,919
217	159	500	4,02	30	62210	0,641	39326,1	0,338	0,400	0,914
218	184	500	4,17	30	60844	0,231	14016,7	0,331	0,143	0,965
219	745	515	8,08	28	64365	1,277	80952,6	0,350	0,823	0,805
220	650	512	7,33	28	60299	0,196	11796,3	0,328	0,120	1,068
221	704	527	7,76	27	63655	1,121	70275,2	0,346	0,715	0,780
222	824	531	8,70	26	64068	2,674	170134	0,348	1,730	0,755
223	852	532	8,92	26	63968	2,472	156908	0,348	1,596	0,770
224	753	529	8,14	27	63828	1,427	90380,8	0,347	0,919	0,804
225	794	531	8,46	26	63951	2,513	159424	0,347	1,621	0,772
226	236	528	4,48	27	62371	0,728	44515,1	0,339	0,453	0,800
227	386	527	5,46	27	61372	0,352	21456	0,333	0,218	0,838
228	417	530	5,66	27	64045	0,866	54613,3	0,348	0,555	0,757
229	895	532	9,26	26	63819	1,230	77809,6	0,347	0,791	0,798
230	495	536	6,16	26	64174	0,930	58501,2	0,349	0,595	0,882
231	306	539	4,94	26	63977	0,861	54489,1	0,348	0,554	0,796
232	704	536	7,76	26	62493	0,191	11752,4	0,340	0,120	1,100

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *o1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
233	414	546	5,64	25	64464	1,785	113563	0,350	1,155	0,764
234	355	545	5,25	25	64459	0,716	45618,9	0,350	0,464	0,703
235	259	547	4,63	25	61892	0,347	21248,2	0,336	0,216	1,003
236	385	548	5,45	25	62976	0,410	25574,2	0,342	0,260	0,858
237	296	548	4,87	25	63568	0,214	13474,9	0,345	0,137	1,072
238	344	551	5,18	25	64514	0,624	39761,8	0,351	0,404	0,889
239	691	555	7,65	24	64146	2,437	153954	0,349	1,566	0,692
240	151	550	3,97	25	60014	0,168	10029,9	0,326	0,102	1,125
241	275	553	4,74	24	62058	0,254	15694,4	0,337	0,160	1,009
242	315	554	5,00	24	63630	0,514	32377,4	0,346	0,329	0,922
243	634	557	7,20	24	63924	1,282	80215,9	0,347	0,816	0,849
244	202	557	4,27	24	61103	0,468	28325,7	0,332	0,288	0,899
245	346	560	5,20	24	61449	0,266	16222,6	0,334	0,165	0,803
246	613	562	7,04	24	61756	0,543	33109,6	0,336	0,337	0,899
247	537	562	6,44	24	59777	0,300	17864,1	0,325	0,182	1,012
248	258	566	4,63	23	62477	0,508	31294,4	0,339	0,318	0,870
249	879	566	9,13	23	61876	0,364	22377,6	0,336	0,228	0,866
250	945	571	9,65	23	60448	0,803	48195,2	0,328	0,490	0,860
251	725	572	7,92	23	62902	0,647	39892	0,342	0,406	0,834
252	791	573	8,44	23	62237	0,745	45803,6	0,338	0,466	0,673
253	893	572	9,24	23	61953	0,520	31924,7	0,337	0,325	0,920
254	869	577	9,06	22	61246	0,295	17949,1	0,333	0,183	0,890
255	502	581	6,21	22	63785	0,849	52789,5	0,347	0,537	0,855
256	124	583	3,81	22	60595	0,358	21584,6	0,329	0,220	0,922
257	364	587	5,31	22	61426	0,601	36450	0,334	0,371	0,922
258	878	598	9,13	21	61464	0,485	29637,7	0,334	0,301	0,932
259	320	600	5,03	21	60560	0,462	27761	0,329	0,282	1,003
260	170	609	4,08	20	61805	0,572	34865,8	0,336	0,355	0,905
261	830	616	8,75	20	63354	2,819	177078	0,344	1,801	0,765
262	805	615	8,55	20	62474	0,861	53294,5	0,339	0,542	0,778
263	705	615	7,76	20	61826	0,947	57882,3	0,336	0,589	0,877
264	810	663	8,59	17	59703	0,144	8598,71	0,324	0,087	1,227
265	714	675	7,83	16	62021	1,542	93558,6	0,337	0,951	0,843
266	196	683	4,24	15	60479	0,606	36377	0,329	0,370	0,875
267	163	685	4,04	15	61614	0,936	56798,6	0,335	0,578	0,826
268	271	685	4,71	15	60642	0,300	18115,5	0,329	0,184	0,949
269	440	689	5,80	15	60309	0,439	26313,4	0,328	0,268	0,919
270	320	694	5,03	15	64127	1,317	82255,9	0,348	0,837	0,799
271	564	713	6,65	14	62421	1,248	76170,5	0,339	0,775	0,748
272	159	715	4,02	14	64179	1,652	102926	0,349	1,047	0,858

Tabela 26 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	(conclusão)
										Circularity
273	411	723	5,62	13	64230	1,681	105334	0,349	1,071	0,793
274	312	727	4,98	13	62356	0,739	45427,3	0,339	0,462	0,901
275	333	731	5,11	13	62148	0,583	35852,7	0,338	0,365	0,924
276	373	741	5,37	12	63051	1,103	67972,2	0,343	0,691	0,871
277	226	755	4,42	12	60940	0,676	40838,4	0,331	0,415	0,908
278	497	761	6,17	12	61379	1,069	64925	0,333	0,660	0,871
279	608	762	7,00	12	60045	0,144	8649,51	0,326	0,088	1,227
280	698	771	7,71	11	61340	0,751	45534,8	0,333	0,463	0,835
281	491	782	6,13	11	63520	2,732	171380	0,345	1,743	0,784
282	275	783	4,74	11	63385	1,334	82674,9	0,344	0,841	0,849
283	676	791	7,53	10	62219	1,288	78914,5	0,338	0,803	0,853
284	334	793	5,12	10	61509	1,167	70992,5	0,334	0,722	0,830
285	835	793	8,79	10	60458	0,762	45791,5	0,328	0,466	0,796
286	581	794	6,79	10	61321	0,866	52417,8	0,333	0,533	0,830
287	42	806	3,31	10	60028	0,214	12797,8	0,326	0,130	1,072
288	587	813	6,83	10	62415	0,624	38326,8	0,339	0,390	0,782
289	592	823	6,87	9	62480	0,768	47289,4	0,339	0,481	0,854
290	755	847	8,16	9	63726	1,438	89515	0,346	0,910	0,752
291	144	868	3,93	8	61268	1,190	72141	0,333	0,734	0,795
292	102	898	3,67	7	60094	0,491	29372,1	0,326	0,299	0,852
293	223	903	4,40	7	64944	2,449	155697	0,353	1,583	0,724
294	137	906	3,88	7	60167	0,237	14193,7	0,327	0,144	0,989

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 27 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	518	160	6,40	100	64458	0,087	5566,3	0,940	0,188	1,309
2	457	163	5,97	99	64625	0,214	13719,1	0,942	0,463	1,072
3	490	164	6,20	98	65124	0,283	18268,2	0,949	0,616	0,840
4	508	164	6,33	98	64958	0,271	17493,1	0,947	0,590	0,897
5	443	164	5,87	98	64163	0,179	11453,6	0,935	0,386	1,099
6	474	164	6,09	98	64739	0,248	15977,2	0,944	0,539	0,877
7	589	169	7,06	96	65085	0,716	46139	0,949	1,556	0,679
8	569	170	6,87	95	64662	0,214	13760,7	0,943	0,464	0,892
9	607	170	7,23	95	64196	0,191	12207,4	0,936	0,412	0,956
10	270	184	4,63	89	64369	0,208	13342,7	0,938	0,450	0,987
11	281	185	4,71	88	64439	0,271	17422	0,939	0,587	1,005
12	642	187	7,55	88	64184	0,173	11091,5	0,936	0,374	1,063
13	412	204	5,64	81	65023	0,225	14528,8	0,948	0,490	0,991
14	290	219	4,78	75	65274	0,508	32919,6	0,952	1,110	0,899
15	302	218	4,86	75	64852	0,277	17865,3	0,945	0,602	0,876
16	278	223	4,69	73	65117	0,347	22445,7	0,949	0,757	0,892
17	267	224	4,61	73	65314	0,427	27739,8	0,952	0,935	0,793
18	401	229	5,57	71	65125	0,347	22335,5	0,949	0,753	0,857
19	314	237	4,95	68	64494	0,219	14093,3	0,940	0,475	0,965
20	422	243	5,72	66	64892	0,283	18214	0,946	0,614	0,935
21	448	243	5,90	66	64202	0,144	9242,67	0,936	0,312	1,227
22	218	248	4,26	65	65220	0,451	29184,6	0,951	0,984	0,896
23	374	246	5,37	66	64813	0,208	13384,1	0,945	0,451	1,104
24	209	248	4,20	65	64811	0,295	18988,3	0,945	0,640	0,890
25	376	250	5,39	64	64813	0,208	13399,7	0,945	0,452	1,104
26	309	255	4,91	63	64291	0,214	13690,4	0,937	0,462	1,135
27	294	256	4,80	62	64655	0,341	21916,4	0,943	0,739	0,969
28	577	258	6,95	62	64521	0,248	15963,8	0,941	0,538	0,986
29	590	259	7,07	61	64641	0,295	18965,1	0,942	0,639	0,890
30	306	260	4,89	61	64472	0,248	15965,7	0,940	0,538	0,986
31	318	262	4,98	61	64853	0,364	23430,2	0,945	0,790	0,993
32	578	265	6,96	60	64555	0,254	16355,4	0,941	0,551	0,941
33	605	267	7,21	59	64854	0,578	37279,8	0,945	1,257	0,914
34	591	267	7,08	59	64914	0,537	34699	0,946	1,170	0,839
35	618	266	7,33	59	64460	0,277	17826,1	0,940	0,601	0,876
36	632	269	7,46	58	64143	0,196	12574,6	0,935	0,424	0,985
37	336	273	5,10	57	64486	0,271	17449,5	0,940	0,588	1,005
38	359	273	5,27	57	65016	0,254	16411,2	0,948	0,553	1,061
39	379	274	5,41	57	65164	0,347	22414,1	0,950	0,756	0,857
40	476	274	6,10	57	64507	0,295	18899,1	0,940	0,637	1,040
41	353	276	5,22	57	65016	0,243	15688,1	0,948	0,529	1,013
42	398	286	5,55	54	65335	0,393	25446,5	0,953	0,858	0,934
43	305	289	4,88	53	65472	0,774	50360	0,955	1,698	0,874
44	288	288	4,76	53	65168	0,630	40774,8	0,950	1,375	0,860
45	430	288	5,77	53	65155	0,404	26111,4	0,950	0,880	0,911

Tabela 27 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
46	321	289	5,00	53	65247	0,641	41540,9	0,951	1,401	0,851
47	338	289	5,12	53	65352	0,410	26603,1	0,953	0,897	0,976
48	378	297	5,40	51	64319	0,144	9262,7	0,938	0,312	1,227
49	533	298	6,54	51	64452	0,283	18142,9	0,940	0,612	1,048
50	139	305	3,70	49	64327	0,358	22932,5	0,938	0,773	0,977
51	374	305	5,37	49	64348	0,173	11116,2	0,938	0,375	1,063
52	327	311	5,04	48	64897	0,277	17892,1	0,946	0,603	0,978
53	381	312	5,42	48	64348	0,208	13335,8	0,938	0,450	1,104
54	346	327	5,17	46	64217	0,295	18859,6	0,936	0,636	0,974
55	578	327	6,96	46	64838	0,370	23819,2	0,945	0,803	0,914
56	598	329	7,14	46	65234	0,630	40657,8	0,951	1,371	0,812
57	340	330	5,13	46	64198	0,214	13677,4	0,936	0,461	1,072
58	325	334	5,03	45	64577	0,295	18936,3	0,941	0,638	0,931
59	294	337	4,80	45	64737	0,543	34959,7	0,944	1,179	0,860
60	407	341	5,61	44	65452	0,653	42287	0,954	1,426	0,809
61	601	345	7,17	44	65149	0,635	41003,4	0,950	1,382	0,766
62	575	344	6,93	44	64424	0,404	25913,5	0,939	0,874	0,962
63	532	346	6,53	43	64192	0,243	15503,4	0,936	0,523	0,898
64	254	363	4,52	41	64255	0,300	19213,7	0,937	0,648	0,949
65	374	363	5,37	41	64053	0,219	14006,5	0,934	0,472	1,165
66	365	365	5,31	41	64086	0,179	11431,9	0,934	0,385	1,099
67	683	373	7,93	40	64905	0,572	36816,3	0,946	1,241	0,877
68	717	372	8,17	40	64930	0,595	38276,4	0,947	1,291	0,848
69	639	376	7,53	40	65328	0,468	30346,7	0,952	1,023	0,965
70	527	376	6,48	40	64885	0,375	24168,2	0,946	0,815	0,893
71	436	377	5,82	40	64563	0,312	19999,6	0,941	0,674	0,943
72	648	379	7,61	39	65248	0,491	31843,6	0,951	1,074	0,868
73	384	388	5,45	38	64115	0,260	16597,7	0,935	0,560	0,962
74	516	394	6,39	38	64145	0,306	19539,8	0,935	0,659	0,967
75	368	395	5,33	38	64002	0,225	14373,3	0,933	0,485	1,130
76	336	397	5,10	37	64062	0,260	16587,5	0,934	0,559	0,859
77	620	407	7,35	36	65114	0,583	37619,6	0,949	1,268	0,831
78	447	427	5,89	34	65368	0,999	64669,1	0,953	2,180	0,765
79	717	424	8,17	35	65298	0,918	59336,6	0,952	2,001	0,766
80	272	433	4,65	34	63852	0,191	12150,2	0,931	0,410	1,170
81	450	448	5,92	32	63988	0,254	16197,8	0,933	0,546	1,009
82	403	451	5,58	32	65119	0,520	33506,3	0,949	1,130	0,890
83	685	475	7,95	30	65196	0,653	42185,2	0,950	1,422	0,787
84	779	477	8,58	30	65313	0,716	46502,4	0,952	1,568	0,840
85	779	490	8,58	29	65430	2,033	132711	0,954	4,475	0,768
86	375	486	5,38	29	64276	0,329	21050,8	0,937	0,710	0,898
87	400	486	5,56	29	64729	0,422	27080,2	0,944	0,913	0,915
88	757	489	8,44	29	65302	0,976	63486,9	0,952	2,141	0,814
89	730	488	8,26	29	64716	0,647	41685,9	0,943	1,406	0,802
90	468	490	6,04	29	65076	0,670	43161	0,949	1,455	0,808
91	305	496	4,88	28	64466	0,427	27422,9	0,940	0,925	0,850
92	398	501	5,55	28	65329	0,884	57218	0,952	1,929	0,791
93	341	501	5,14	28	64404	0,653	41790	0,939	1,409	0,866

Tabela 27 – Análise de spots* de globulina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	373	503	5,37	27	65170	0,653	42152,3	0,950	1,421	0,866
95	586	508	7,03	27	64612	0,589	37800,8	0,942	1,275	0,904
96	636	510	7,50	27	65407	1,074	69707,4	0,954	2,350	0,748
97	474	529	6,09	25	64392	0,364	23283,3	0,939	0,785	0,900
98	353	541	5,22	25	63985	0,329	20997,8	0,933	0,708	0,936
99	797	549	8,70	24	64698	0,543	34969,2	0,943	1,179	0,860
100	184	558	4,02	23	64412	0,462	29614,4	0,939	0,998	1,003
101	762	568	8,47	22	64806	0,993	63946,5	0,945	2,156	0,728
102	313	627	4,94	17	64587	0,780	50005,7	0,942	1,686	0,857
103	521	641	6,43	16	63953	0,474	30190,7	0,932	1,018	0,910
104	457	701	5,97	12	64687	1,230	79058	0,943	2,666	0,783
105	542	731	6,62	10	64014	0,474	30225,1	0,933	1,019	0,838
106	689	757	7,99	9	64072	0,682	43535	0,934	1,468	0,879

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 28 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	564	150	6,40	103	63966	0,202	12902,0	0,533	0,135	1,014
2	515	155	6,10	101	64171	0,381	24387,4	0,534	0,255	0,859
3	553	156	6,33	101	64238	0,306	19606,8	0,535	0,205	0,835
4	495	157	5,97	100	64154	0,462	29556,3	0,534	0,309	0,829
5	534	156	6,21	101	64422	0,491	31490,6	0,537	0,329	0,708
6	716	157	7,55	100	63746	0,202	12872,3	0,531	0,135	1,014
7	733	158	7,68	100	63855	0,260	16559,4	0,532	0,173	1,031
8	564	158	6,40	100	64136	0,173	11085,1	0,534	0,116	1,063
9	649	166	7,04	97	65140	0,491	31692,1	0,543	0,332	0,868
10	514	165	6,09	97	64394	0,375	24059,7	0,536	0,252	0,859
11	535	165	6,22	97	64853	0,491	31553,8	0,540	0,330	0,763
12	554	165	6,34	97	64525	0,312	20011,9	0,537	0,209	0,851
13	495	165	5,97	97	64406	0,410	26275,6	0,536	0,275	0,828
14	747	180	7,78	92	63645	0,271	17258,5	0,530	0,181	0,821
15	714	183	7,53	91	64135	0,589	37636,7	0,534	0,394	0,933
16	732	180	7,67	92	63747	0,312	19856,1	0,531	0,208	0,866
17	697	183	7,41	91	63755	0,243	15443,6	0,531	0,162	1,067
18	220	184	4,26	90	64504	0,682	43702,0	0,537	0,457	0,686
19	440	197	5,63	86	64058	0,329	21025,4	0,533	0,220	0,936
20	440	210	5,63	81	64595	0,329	21134,0	0,538	0,221	0,898
21	379	212	5,25	81	64316	0,387	24798,0	0,536	0,259	0,906
22	248	215	4,44	80	64921	0,549	35438,8	0,541	0,371	0,782
23	490	219	5,94	79	63778	0,173	11034,6	0,531	0,115	1,063
24	174	227	3,99	76	64073	0,214	13662,6	0,534	0,143	1,135
25	651	229	7,06	75	63818	0,300	19123,9	0,531	0,200	1,060
26	635	229	6,94	75	63728	0,237	15068,1	0,531	0,158	0,940
27	283	232	4,65	75	65080	0,364	23556,6	0,542	0,246	0,900
28	296	231	4,73	75	65317	0,277	18006,1	0,544	0,188	0,978
29	184	233	4,05	74	64200	0,300	19249,7	0,535	0,201	1,060
30	379	233	5,25	74	64405	0,341	21880,0	0,536	0,229	0,987
31	309	234	4,82	74	65159	0,375	24364,4	0,543	0,255	1,024
32	720	234	7,58	74	63913	0,225	14368,8	0,532	0,150	0,894
33	279	239	4,63	73	65297	0,653	42469,1	0,544	0,444	0,866
34	297	238	4,74	73	65317	0,399	25888,8	0,544	0,271	0,912
35	261	241	4,52	72	65433	0,861	55949,1	0,545	0,585	0,735
36	425	241	5,54	72	64997	0,687	44308,0	0,541	0,464	0,806
37	398	243	5,37	71	64375	0,358	22989,3	0,536	0,240	0,901
38	380	244	5,26	71	64479	0,387	24861,9	0,537	0,260	0,957
39	944	251	9,27	69	64860	0,780	50181,8	0,540	0,525	0,766
40	333	254	4,96	68	64498	0,474	30441,7	0,537	0,318	0,910
41	321	254	4,89	68	64517	0,312	20043,7	0,537	0,210	1,031
42	453	257	5,71	68	64415	0,300	19282,1	0,536	0,202	0,949
43	487	257	5,92	68	64181	0,266	17021,0	0,535	0,178	0,938
44	399	265	5,37	65	64564	0,583	37535,9	0,538	0,393	0,924
45	378	265	5,24	65	64412	0,370	23771,2	0,536	0,249	1,008
46	655	267	7,09	65	65160	0,653	42261,3	0,543	0,442	0,787
47	590	267	6,60	65	64181	0,387	24768,1	0,535	0,259	0,957

Tabela 28 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
48	206	271	4,18	64	65503	1,889	122732,0	0,546	1,284	0,667
49	637	273	6,95	63	64912	0,762	49207,4	0,541	0,515	0,930
50	687	276	7,33	63	64587	0,612	39419,2	0,538	0,412	0,710
51	671	278	7,21	62	64890	0,647	41810,1	0,540	0,437	0,859
52	768	275	7,94	63	63813	0,214	13622,7	0,531	0,143	1,072
53	656	276	7,10	63	64976	0,497	32184,3	0,541	0,337	0,850
54	302	278	4,77	62	64985	0,508	32880,5	0,541	0,344	0,870
55	320	279	4,88	62	64788	0,572	36935,9	0,540	0,386	0,829
56	286	279	4,67	62	64666	0,451	29063,9	0,539	0,304	0,910
57	706	279	7,47	62	64407	0,347	22260,7	0,536	0,233	0,986
58	329	284	4,94	61	65154	0,589	38154,9	0,543	0,399	0,865
59	520	293	6,13	59	64192	0,462	29586,6	0,535	0,310	0,887
60	402	296	5,39	58	65083	0,832	53803,6	0,542	0,563	0,797
61	377	297	5,24	58	65261	1,149	74542,8	0,544	0,780	0,768
62	464	294	5,78	58	64113	0,312	19962,1	0,534	0,209	0,943
63	352	298	5,08	57	64754	0,762	49156,3	0,539	0,514	0,847
64	576	304	6,49	56	64079	0,341	21783,5	0,534	0,228	0,877
65	521	306	6,13	56	64104	0,514	32874,8	0,534	0,344	0,940
66	762	308	7,90	55	64061	0,375	24004,7	0,534	0,251	0,929
67	425	310	5,54	55	65338	1,300	84217,1	0,544	0,881	0,692
68	463	311	5,77	55	64435	0,716	45991,4	0,537	0,481	0,898
69	354	315	5,09	54	65377	1,219	79055,3	0,544	0,827	0,831
70	379	315	5,25	54	65058	1,161	75193,1	0,542	0,787	0,877
71	740	311	7,73	55	63883	0,191	12163,5	0,532	0,127	1,100
72	274	314	4,60	54	64784	0,566	36518,5	0,540	0,382	0,710
73	314	314	4,85	54	65316	0,589	38315,4	0,544	0,401	0,631
74	293	315	4,72	54	65103	0,491	31826,3	0,542	0,333	0,730
75	335	318	4,98	53	65216	1,132	73499,2	0,543	0,769	0,848
76	596	317	6,64	53	64111	0,520	33227,1	0,534	0,348	0,798
77	614	317	6,78	53	64267	0,433	27732,5	0,535	0,290	0,976
78	314	320	4,85	53	65310	0,578	37640,6	0,544	0,394	0,642
79	295	322	4,73	52	65045	0,468	30333,4	0,542	0,317	0,868
80	274	323	4,60	52	64731	0,514	33196,4	0,539	0,347	0,720
81	440	324	5,63	52	64176	0,375	24027,8	0,534	0,251	0,983
82	586	324	6,57	52	64051	0,404	25826,9	0,533	0,270	0,911
83	399	326	5,37	51	64322	0,266	17055,3	0,536	0,178	0,895
84	961	333	9,40	50	65431	2,045	132526,0	0,545	1,386	0,679
85	399	336	5,37	50	64205	0,341	21839,1	0,535	0,228	0,892
86	341	344	5,01	49	64443	0,451	28949,5	0,537	0,303	0,896
87	123	345	3,70	49	64422	0,474	30405,2	0,537	0,318	0,910
88	406	345	5,42	49	64295	0,295	18884,7	0,535	0,198	1,040
89	667	352	7,18	48	64587	0,595	38198,4	0,538	0,400	0,746
90	964	356	9,42	47	64393	0,635	40808,1	0,536	0,427	0,906
91	365	362	5,16	47	64371	0,329	21143,0	0,536	0,221	1,088
92	671	374	7,21	45	65251	1,190	77004,8	0,543	0,806	0,757
93	202	378	4,15	44	64616	0,658	42372,6	0,538	0,443	0,732
94	435	381	5,60	44	65351	1,513	97962,5	0,544	1,025	0,772
95	301	380	4,77	44	64818	0,739	47734,9	0,540	0,499	0,792

Tabela 28 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
96	812	384	8,27	44	64608	0,751	48252,4	0,538	0,505	0,826
97	689	391	7,34	43	64963	0,578	37292,1	0,541	0,390	0,926
98	763	400	7,90	41	65042	1,080	69791,4	0,542	0,730	0,768
99	800	400	8,18	41	64915	0,814	52528,7	0,541	0,550	0,800
100	308	400	4,81	41	64112	0,433	27715,9	0,534	0,290	0,940
101	689	400	7,34	41	65190	0,618	40125,9	0,543	0,420	0,892
102	400	405	5,38	41	64283	0,439	28131,6	0,535	0,294	0,953
103	329	406	4,94	41	64159	0,560	35833,5	0,534	0,375	0,860
104	712	407	7,52	41	65447	0,710	46225,3	0,545	0,484	0,891
105	384	408	5,28	40	64329	0,508	32600,7	0,536	0,341	0,943
106	727	409	7,63	40	65434	0,918	59756,8	0,545	0,625	0,830
107	669	408	7,19	40	64734	0,312	20120,1	0,539	0,210	0,985
108	685	410	7,31	40	64756	0,543	35051,7	0,539	0,367	0,871
109	248	414	4,44	40	64485	0,786	50399,8	0,537	0,527	0,864
110	584	415	6,55	40	65163	1,213	78314,2	0,543	0,819	0,756
111	471	420	5,82	39	64834	1,167	74993,6	0,540	0,785	0,675
112	209	425	4,19	38	64069	0,341	21775,4	0,534	0,228	0,987
113	570	432	6,45	38	64499	0,566	36351,8	0,537	0,380	0,783
114	410	435	5,44	37	64695	0,826	53112,4	0,539	0,556	0,862
115	189	435	4,08	37	64145	0,497	31772,6	0,534	0,332	0,879
116	352	449	5,08	36	64059	0,526	33588,1	0,533	0,351	0,899
117	518	455	6,11	35	65208	1,109	71804,5	0,543	0,751	0,720
118	693	455	7,37	35	65344	1,392	90225,9	0,544	0,944	0,715
119	568	455	6,43	35	64409	0,624	40027,1	0,536	0,419	0,782
120	628	457	6,88	35	64176	0,566	36213,2	0,534	0,379	0,842
121	237	459	4,37	35	63924	0,520	33161,6	0,532	0,347	0,861
122	801	464	8,19	34	65379	1,623	105085,0	0,544	1,099	0,740
123	414	471	5,47	33	64139	0,462	29568,7	0,534	0,309	0,857
124	743	479	7,75	33	63903	0,404	25789,8	0,532	0,270	0,962
125	482	483	5,89	32	65063	1,421	91506,9	0,542	0,957	0,743
126	414	485	5,47	32	64164	0,976	62402,0	0,534	0,653	0,754
127	276	494	4,61	31	64242	0,503	32189,8	0,535	0,337	0,889
128	315	502	4,85	30	64910	1,121	72088,0	0,541	0,754	0,797
129	274	506	4,60	30	64096	0,352	22529,0	0,534	0,236	0,872
130	372	511	5,21	30	64483	0,716	45973,6	0,537	0,481	0,840
131	431	511	5,57	30	65345	1,380	89511,3	0,544	0,936	0,763
132	111	518	3,68	29	65340	1,941	125521,0	0,544	1,313	0,740
133	219	521	4,26	29	64481	0,878	56372,7	0,537	0,590	0,767
134	191	521	4,09	29	64203	0,456	29247,8	0,535	0,306	0,847
135	767	525	7,93	28	65010	1,121	72368,5	0,541	0,757	0,672
136	165	529	3,94	28	64459	0,786	50459,2	0,537	0,528	0,897
137	188	530	4,07	28	64227	0,474	30364,5	0,535	0,318	0,942
138	837	540	8,46	27	65480	5,302	346341,0	0,545	3,623	0,726
139	941	543	9,25	26	65501	5,210	340183,0	0,546	3,559	0,607
140	208	553	4,19	25	63953	0,601	38355,2	0,533	0,401	0,922

Tabela 28 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
141	239	555	4,38	25	64366	0,797	51087,6	0,536	0,534	0,854
142	430	556	5,57	25	65046	1,444	93197,8	0,542	0,975	0,693
143	511	558	6,07	25	65087	1,317	84951,8	0,542	0,889	0,720
144	714	566	7,53	24	65523	2,357	153291,0	0,546	1,604	0,604
145	656	567	7,10	24	64409	1,750	111982,0	0,536	1,171	0,812
146	321	567	4,89	24	64893	0,999	64550,2	0,540	0,675	0,873
147	359	572	5,13	24	65371	1,479	96173,1	0,544	1,006	0,863
148	427	573	5,55	24	65535	2,721	177208,0	0,546	1,854	0,668
149	631	575	6,91	23	63869	0,289	18407,6	0,532	0,193	1,019
150	318	579	4,87	23	64954	0,965	62385,0	0,541	0,653	0,663
151	158	579	3,90	23	63933	0,318	20279,1	0,532	0,212	1,004
152	962	580	9,41	23	64253	0,520	33311,4	0,535	0,348	0,773
153	750	581	7,81	23	63828	0,358	22811,9	0,532	0,239	0,937
154	813	581	8,28	23	64038	0,393	25106,7	0,533	0,263	0,822
155	205	584	4,17	23	64054	0,641	40979,2	0,533	0,429	0,851
156	961	590	9,40	22	64287	0,653	41864,9	0,535	0,438	0,774
157	266	593	4,55	22	64315	0,682	43691,4	0,536	0,457	0,879
158	521	602	6,13	21	64879	1,300	83558,4	0,540	0,874	0,773
159	862	605	8,65	21	64216	0,647	41458,4	0,535	0,434	0,811
160	933	605	9,19	21	64199	0,508	32582,9	0,535	0,341	0,870
161	371	614	5,20	20	64317	1,380	88311,3	0,536	0,924	0,805
162	135	612	3,77	20	63912	0,427	27278,4	0,532	0,285	0,978
163	832	623	8,43	19	65389	3,985	259180,0	0,545	2,711	0,715
164	731	622	7,66	20	63738	0,583	37123,3	0,531	0,388	0,924
165	929	623	9,16	19	64489	0,606	39033,5	0,537	0,408	0,902
166	329	627	4,94	19	64284	0,976	62459,6	0,535	0,653	0,861
167	175	641	4,00	18	64443	0,890	57029,5	0,537	0,597	0,843
168	737	682	7,71	16	63762	0,618	39344,3	0,531	0,412	0,881
169	970	711	9,47	14	64532	1,473	94593,1	0,537	0,990	0,776
170	196	712	4,12	14	63971	0,762	48645,7	0,533	0,509	0,796
171	327	718	4,93	14	64564	1,375	88144,0	0,538	0,922	0,766
172	580	730	6,52	13	64303	1,103	70642,0	0,536	0,739	0,722
173	161	746	3,92	12	64514	1,773	113726,0	0,537	1,190	0,759
174	422	750	5,52	12	64958	1,525	98258,1	0,541	1,028	0,758
175	376	763	5,23	11	64856	1,583	101816,0	0,540	1,065	0,828
176	224	782	4,29	11	64104	0,826	52814,1	0,534	0,552	0,885
177	723	780	7,60	11	63716	0,277	17649,8	0,531	0,185	1,026
178	703	796	7,45	10	64122	1,259	80486,2	0,534	0,842	0,834
179	844	796	8,52	10	64236	1,357	86842,6	0,535	0,908	0,846
180	496	808	5,98	10	65202	3,275	211747,0	0,543	2,215	0,691
181	276	811	4,61	9	64738	1,277	82158,6	0,539	0,859	0,822
182	603	829	6,69	9	64254	1,155	73955,3	0,535	0,774	0,795
183	983	846	9,57	8	64146	1,121	71673,9	0,534	0,750	0,885
184	777	851	8,01	8	64012	0,341	21781,8	0,533	0,228	1,030
185	144	901	3,82	7	64371	0,993	63788,6	0,536	0,667	0,848
186	210	931	4,20	6	65124	2,518	162901,0	0,542	1,704	0,642

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 29 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f12* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	276	158	4,67	107	64408	0,479	30736,8	0,567	0,474	0,663
2	524	176	6,42	100	64205	0,214	13684,9	0,565	0,211	0,961
3	444	183	5,86	97	65047	0,658	42475,1	0,572	0,655	0,885
4	459	183	5,96	97	65191	0,526	34005,7	0,574	0,525	0,678
5	478	183	6,10	97	65178	0,543	35106,4	0,574	0,542	0,833
6	495	183	6,22	97	65186	0,572	36910,9	0,574	0,569	0,597
7	513	183	6,34	97	64938	0,410	26391,2	0,571	0,407	0,890
8	260	185	4,56	96	64978	1,323	85178,2	0,572	1,314	0,539
9	427	183	5,74	97	64644	0,358	23052,8	0,569	0,356	0,886
10	560	186	6,70	96	64141	0,254	16266,9	0,564	0,251	0,941
11	584	187	6,88	96	64490	0,347	22223,7	0,567	0,343	0,907
12	606	187	7,05	96	64993	0,537	34558,6	0,572	0,533	0,775
13	209	195	4,21	93	64705	0,399	25645,5	0,569	0,396	0,834
14	402	195	5,56	93	64346	0,335	21486,2	0,566	0,331	0,862
15	416	195	5,66	93	64588	0,289	18565,5	0,568	0,286	0,873
16	220	197	4,28	92	64454	0,318	20417,4	0,567	0,315	0,832
17	163	206	3,93	89	64061	0,352	22527,5	0,564	0,348	0,844
18	247	206	4,47	89	64467	0,196	12632,8	0,567	0,195	1,068
19	257	207	4,54	88	64472	0,214	13737,2	0,567	0,212	0,991
20	170	211	3,98	87	64291	0,572	36620,7	0,566	0,565	0,671
21	231	213	4,36	86	64231	0,283	18140,5	0,565	0,280	0,894
22	275	215	4,67	86	64134	0,191	12199,8	0,564	0,188	0,956
23	230	224	4,35	83	64925	0,855	55081,5	0,571	0,850	0,730
24	392	227	5,49	82	64312	0,283	18149,6	0,566	0,280	0,894
25	412	227	5,63	82	65071	0,462	29768,2	0,573	0,459	0,765
26	174	238	4,00	78	64225	0,358	22925,6	0,565	0,354	0,886
27	455	237	5,93	79	64436	0,283	18141,5	0,567	0,280	0,855
28	441	239	5,84	78	64046	0,196	12553,9	0,564	0,194	0,932
29	181	243	4,04	77	64253	0,295	18879,0	0,565	0,291	0,838
30	271	248	4,64	75	65462	0,820	53535,6	0,576	0,826	0,734
31	258	249	4,55	75	65417	0,843	55001,3	0,576	0,849	0,862
32	285	249	4,74	75	65364	0,352	22916,8	0,575	0,354	1,002
33	245	251	4,45	74	65445	0,630	41006,8	0,576	0,633	0,897
34	235	252	4,38	74	65198	0,266	17203,0	0,574	0,265	0,984
35	381	258	5,41	72	64773	0,491	31578,2	0,570	0,487	0,802
36	401	258	5,55	72	65038	0,578	37221,7	0,572	0,574	0,776
37	309	265	4,91	70	64343	0,364	23345,8	0,566	0,360	0,937
38	804	268	8,56	69	64456	0,503	32260,4	0,567	0,498	0,832
39	838	268	8,82	69	64959	0,838	53888,0	0,572	0,831	0,661
40	298	267	4,83	70	64402	0,237	15201,4	0,567	0,235	0,940
41	196	273	4,13	68	65471	2,189	141881,0	0,576	2,189	0,547
42	424	272	5,72	68	64950	0,497	32011,2	0,572	0,494	0,812
43	452	272	5,91	68	64615	0,399	25617,5	0,569	0,395	0,834
44	372	276	5,35	67	64415	0,202	12958,0	0,567	0,200	0,938
45	164	276	3,94	67	64037	0,104	6653,0	0,563	0,103	1,115
46	377	279	5,38	67	64453	0,173	11143,1	0,567	0,172	1,063

Tabela 29 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	428	283	5,74	65	64439	0,323	20761,8	0,567	0,320	0,882
48	261	288	4,57	64	64440	0,352	22639,4	0,567	0,349	0,872
49	582	290	6,86	64	64781	0,699	45116,9	0,570	0,696	0,768
50	276	289	4,67	64	64992	0,583	37635,9	0,572	0,581	0,784
51	567	290	6,75	64	64452	0,566	36386,8	0,567	0,561	0,842
52	600	292	7,00	63	65059	0,855	55451,0	0,572	0,856	0,819
53	616	293	7,12	63	65056	1,242	80548,3	0,572	1,243	0,847
54	293	290	4,79	64	64701	0,439	28291,6	0,569	0,436	0,873
55	659	291	7,45	63	64281	0,237	15183,0	0,566	0,234	0,989
56	306	294	4,88	63	64853	0,456	29435,7	0,571	0,454	0,908
57	632	297	7,25	62	65007	0,982	63592,5	0,572	0,981	0,830
58	646	295	7,35	62	64804	0,601	38785,9	0,570	0,598	0,951
59	328	295	5,04	62	64275	0,312	19983,7	0,566	0,308	0,943
60	658	299	7,45	61	64573	0,410	26397,4	0,568	0,407	0,976
61	670	300	7,54	61	64220	0,196	12592,9	0,565	0,194	1,134
62	485	307	6,15	60	64974	0,734	47273,8	0,572	0,729	0,713
63	536	308	6,51	59	64243	0,451	28849,9	0,565	0,445	0,836
64	351	310	5,20	59	64565	0,670	43046,0	0,568	0,664	0,864
65	379	309	5,40	59	64175	0,289	18506,7	0,565	0,286	0,973
66	329	310	5,05	59	64249	0,456	29253,6	0,565	0,451	0,921
67	186	317	4,07	57	64464	0,370	23718,2	0,567	0,366	0,879
68	267	320	4,61	57	64801	0,549	35429,4	0,570	0,547	0,869
69	252	319	4,50	57	64459	0,271	17468,1	0,567	0,270	0,821
70	286	321	4,74	56	65320	0,635	41212,3	0,575	0,636	0,745
71	307	322	4,89	56	64578	0,572	36796,0	0,568	0,568	0,851
72	379	322	5,40	56	64544	0,485	31205,5	0,568	0,481	0,858
73	398	322	5,53	56	65197	0,653	42182,5	0,574	0,651	0,787
74	331	324	5,06	56	65106	0,664	42960,4	0,573	0,663	0,857
75	433	327	5,78	55	64657	0,468	30123,9	0,569	0,465	0,899
76	715	330	7,88	54	64996	0,774	49855,8	0,572	0,769	0,799
77	268	330	4,62	54	64902	0,485	31340,4	0,571	0,484	0,830
78	285	330	4,74	54	65352	0,606	39398,4	0,575	0,608	0,739
79	313	331	4,93	54	64928	0,445	28742,2	0,571	0,443	0,825
80	538	334	6,53	53	64058	0,214	13669,3	0,564	0,211	0,940
81	573	334	6,80	53	64200	0,341	21792,8	0,565	0,336	0,892
82	556	334	6,66	53	64097	0,312	19945,2	0,564	0,308	0,851
83	548	341	6,60	52	64145	0,312	19959,6	0,564	0,308	0,903
84	376	345	5,38	51	64246	0,271	17393,2	0,565	0,268	0,958
85	125	351	3,70	50	64752	0,774	49673,4	0,570	0,766	0,808
86	383	355	5,43	49	64274	0,370	23689,6	0,566	0,365	0,968
87	321	355	4,99	49	64251	0,300	19260,7	0,565	0,297	0,755
88	603	366	7,02	48	64297	0,393	25176,0	0,566	0,388	0,853
89	627	367	7,21	48	64589	0,445	28572,0	0,568	0,441	0,931
90	196	379	4,13	46	64681	0,913	58701,1	0,569	0,906	0,787

Tabela 29 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f12* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
91	318	386	4,97	45	64170	0,451	28828,8	0,565	0,445	0,943
92	271	389	4,64	45	64653	0,693	44601,8	0,569	0,688	0,813
93	299	388	4,84	45	64172	0,335	21451,4	0,565	0,331	0,953
94	699	391	7,76	44	65126	0,959	62054,9	0,573	0,957	0,866
95	739	389	8,07	45	64917	0,352	22750,4	0,571	0,351	0,838
96	408	392	5,60	44	65373	1,167	75549,7	0,575	1,166	0,722
97	550	391	6,62	44	64489	0,399	25589,7	0,567	0,395	0,948
98	370	393	5,34	44	64204	0,248	15896,4	0,565	0,245	1,037
99	601	395	7,01	44	64853	0,572	36897,6	0,571	0,569	0,840
100	382	395	5,42	44	64475	0,497	31892,7	0,567	0,492	0,879
101	631	396	7,24	44	65145	0,762	49226,7	0,573	0,759	0,894
102	741	396	8,08	44	65026	0,416	26953,0	0,572	0,416	0,903
103	766	402	8,27	43	65120	0,537	34839,4	0,573	0,538	0,950
104	778	403	8,36	43	64798	0,375	24238,1	0,570	0,374	0,944
105	735	403	8,04	43	64690	0,312	20122,8	0,569	0,310	0,851
106	788	404	8,44	43	64427	0,168	10772,0	0,567	0,166	1,095
107	282	408	4,72	42	64152	0,375	24030,8	0,564	0,371	0,929
108	365	407	5,30	42	63989	0,289	18454,7	0,563	0,285	0,873
109	721	410	7,93	42	65395	1,236	80198,1	0,575	1,237	0,796
110	755	409	8,19	42	65362	1,022	66345,2	0,575	1,024	0,807
111	377	409	5,38	42	64186	0,352	22561,5	0,565	0,348	0,872
112	233	417	4,37	41	64835	0,641	41302,8	0,570	0,637	0,861
113	586	417	6,89	41	64369	0,370	23725,0	0,566	0,366	0,968
114	671	419	7,55	41	65460	0,959	62328,2	0,576	0,962	0,858
115	631	419	7,24	41	64829	0,554	35735,2	0,570	0,551	0,906
116	368	418	5,32	41	64025	0,283	18084,1	0,563	0,279	0,953
117	685	424	7,65	40	65439	0,734	47748,9	0,576	0,737	0,828
118	712	425	7,86	40	65119	0,826	53413,3	0,573	0,824	0,885
119	203	429	4,18	40	64296	0,503	32201,9	0,566	0,497	0,832
120	544	430	6,57	39	65132	0,855	55172,4	0,573	0,851	0,754
121	289	429	4,76	40	63966	0,335	21391,8	0,563	0,330	0,995
122	442	430	5,84	39	64613	0,641	41180,2	0,569	0,635	0,827
123	474	430	6,07	39	64259	0,451	28870,9	0,565	0,445	0,797
124	497	429	6,23	40	64139	0,387	24764,0	0,564	0,382	0,810
125	189	438	4,09	39	64228	0,462	29574,6	0,565	0,456	0,857
126	532	439	6,48	38	64511	0,462	29673,4	0,568	0,458	0,933
127	388	442	5,46	38	64392	0,560	35886,8	0,567	0,554	0,798
128	655	448	7,42	37	64415	0,416	26654,8	0,567	0,411	0,903
129	331	457	5,06	36	64081	0,329	21039,6	0,564	0,325	0,898
130	751	460	8,16	36	64145	0,485	31003,6	0,564	0,478	0,932
131	752	478	8,17	34	65147	1,409	91079,9	0,573	1,405	0,779
132	730	477	8,00	34	64137	0,595	38034,2	0,564	0,587	0,874
133	255	493	4,53	33	64027	0,416	26557,5	0,563	0,410	0,870

Tabela 29 – Análise de spots* de globulina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	(conclusão)
										Circularity
134	452	495	5,91	33	64938	1,092	70184,0	0,571	1,083	0,744
135	703	496	7,79	32	64428	0,676	43292,0	0,567	0,668	0,837
136	289	505	4,76	32	64029	0,485	30988,1	0,563	0,478	0,830
137	408	513	5,60	31	64955	1,017	65370,9	0,572	1,009	0,785
138	462	522	5,98	30	63888	0,358	22823,9	0,562	0,352	0,977
139	118	522	3,68	30	63946	0,462	29503,5	0,563	0,455	0,857
140	189	527	4,09	29	63999	0,601	38387,7	0,563	0,592	0,846
141	169	529	3,97	29	64181	0,451	28852,4	0,565	0,445	0,978
142	723	543	7,94	28	65002	0,913	58780,6	0,572	0,907	0,797
143	806	543	8,58	28	64422	0,387	24850,8	0,567	0,383	0,886
144	806	557	8,58	26	65068	1,658	107441,0	0,573	1,658	0,777
145	788	558	8,44	26	64979	0,722	46737,8	0,572	0,721	0,905
146	228	557	4,34	26	64041	0,243	15509,9	0,564	0,239	1,067
147	378	558	5,39	26	64110	0,474	30267,7	0,564	0,467	0,879
148	405	565	5,58	25	64314	0,387	24810,8	0,566	0,383	0,921
149	480	569	6,11	25	64710	0,716	46017,1	0,569	0,710	0,721
150	294	569	4,80	25	64128	0,462	29564,0	0,564	0,456	0,857
151	342	579	5,14	24	64795	1,502	96614,9	0,570	1,491	0,752
152	404	580	5,57	24	65238	1,779	115316,0	0,574	1,779	0,756
153	377	579	5,38	24	64909	0,866	55852,2	0,571	0,862	0,872
154	284	580	4,73	24	64325	0,664	42582,3	0,566	0,657	0,882
155	306	580	4,88	24	64049	0,479	30640,3	0,564	0,473	0,954
156	677	586	7,59	23	65213	1,767	114157,0	0,574	1,761	0,744
157	623	584	7,18	24	64596	0,589	37876,7	0,568	0,584	0,825
158	200	586	4,16	23	64005	0,410	26184,4	0,563	0,404	0,890
159	615	591	7,12	23	64480	0,335	21508,2	0,567	0,332	0,877
160	598	593	6,99	23	63873	0,191	12152,3	0,562	0,187	1,100
161	356	606	5,24	22	63901	0,323	20632,7	0,562	0,318	0,936
162	832	609	8,78	21	64629	1,017	65330,4	0,569	1,008	0,829
163	490	616	6,18	21	65139	1,213	78213,9	0,573	1,207	0,676
164	178	624	4,02	20	64518	0,895	57401,9	0,568	0,886	0,740
165	792	626	8,47	20	64747	1,144	73545,8	0,570	1,135	0,742
166	313	700	4,93	15	64441	0,768	49250,6	0,567	0,760	0,802
167	199	706	4,15	15	63870	0,347	22099,2	0,562	0,341	0,945
168	552	737	6,63	13	64224	1,005	64231,9	0,565	0,991	0,776
169	169	741	3,97	13	64115	0,814	52021,1	0,564	0,803	0,772
170	404	745	5,57	13	64261	1,253	80054,3	0,565	1,235	0,813
171	267	764	4,61	12	63838	0,433	27616,6	0,562	0,426	0,844
172	807	812	8,59	10	63855	0,451	28727,6	0,562	0,443	0,910
173	577	850	6,83	8	63748	0,445	28319,8	0,561	0,437	0,931
174	739	876	8,07	8	64175	1,022	65280,0	0,565	1,007	0,807
175	861	894	9,00	7	63996	0,797	50906,6	0,563	0,785	0,720
176	223	896	4,30	6	64158	0,838	53585,6	0,565	0,827	0,822

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 30 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	773	290	5,08	129	49749	0,303	13866,0	0,326	0,028	0,963
2	772	327	5,08	123	55097	0,426	21074,5	0,361	0,043	0,713
3	784	329	5,12	123	56866	0,520	27218,7	0,372	0,055	0,810
4	826	360	5,27	118	55716	0,744	38942,2	0,365	0,079	0,799
5	843	359	5,32	118	53411	0,520	25274,3	0,350	0,051	0,746
6	813	398	5,22	112	56833	2,854	146445,0	0,372	0,297	0,762
7	786	396	5,13	113	55800	2,168	103392,0	0,365	0,209	0,675
8	833	404	5,29	112	60219	1,777	97820,1	0,394	0,198	0,822
9	859	407	5,38	111	61098	2,652	147301,0	0,400	0,298	0,795
10	632	405	4,60	111	50930	1,033	44450,4	0,333	0,090	0,624
11	884	406	5,46	111	56695	0,853	44159,2	0,371	0,089	0,749
12	1286	406	6,83	111	45183	0,592	24207,8	0,296	0,049	0,879
13	1328	410	6,97	111	48892	1,235	53330,0	0,320	0,108	0,816
14	993	421	5,83	109	62258	4,306	251814,0	0,408	0,510	0,793
15	1376	415	7,13	110	55618	1,611	79259,1	0,364	0,161	0,797
16	1425	417	7,30	110	60751	2,334	121277,0	0,398	0,246	0,628
17	966	420	5,74	109	61212	2,059	118134,0	0,401	0,239	0,804
18	1025	423	5,94	109	61918	3,902	227802,0	0,405	0,461	0,739
19	1096	423	6,18	109	62313	5,065	293695,0	0,408	0,595	0,690
20	1476	421	7,47	109	61718	2,153	121078,0	0,404	0,245	0,749
21	1142	426	6,34	108	62254	4,617	268937,0	0,408	0,545	0,652
22	1527	421	7,64	109	56879	1,488	75881,8	0,372	0,154	0,751
23	1185	423	6,48	109	60775	1,864	100600,0	0,398	0,204	0,809
24	1505	419	7,57	109	53570	0,723	36726,4	0,351	0,074	0,859
25	580	447	4,42	106	51693	0,889	41536,0	0,338	0,084	0,537
26	555	509	4,33	98	64430	12,398	707676,0	0,422	1,433	0,622
27	704	547	4,84	93	59681	3,316	189382,0	0,391	0,384	0,752
28	746	548	4,99	93	61422	3,128	185970,0	0,402	0,377	0,609
29	767	546	5,06	93	61879	2,579	153726,0	0,405	0,311	0,629
30	686	544	4,78	93	57404	1,944	106544,0	0,376	0,216	0,792
31	727	551	4,92	93	60684	3,902	229459,0	0,397	0,465	0,639
32	788	545	5,13	93	60505	1,821	104412,0	0,396	0,211	0,735
33	809	550	5,21	93	58937	1,821	102238,0	0,386	0,207	0,675
34	1603	546	7,90	93	52785	0,932	41843,4	0,346	0,085	0,769
35	1649	551	8,05	93	51808	0,889	40298,1	0,339	0,082	0,698
36	454	579	3,98	89	60790	4,877	266239,0	0,398	0,539	0,590
37	1006	595	5,88	88	60135	2,637	142397,0	0,394	0,288	0,700
38	818	595	5,24	88	55609	2,059	107165,0	0,364	0,217	0,753
39	852	596	5,35	87	56323	2,377	124172,0	0,369	0,252	0,757
40	969	591	5,75	88	51956	0,983	48329,6	0,340	0,098	0,887
41	1095	598	6,18	87	50611	1,221	55383,9	0,331	0,112	0,764
42	1620	603	7,95	87	50617	0,983	43236,5	0,331	0,088	0,520
43	1308	635	6,90	83	59934	3,815	216776,0	0,392	0,439	0,723
44	1260	632	6,74	83	59638	1,069	60566,7	0,390	0,123	0,799
45	1360	629	7,08	84	54900	0,643	32185,2	0,359	0,065	0,682
46	969	634	5,75	83	60234	2,478	136997,0	0,394	0,277	0,772

Tabela 30 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de Oh43+ (Ph3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	1250	633	6,70	83	59647	1,416	81583,7	0,390	0,165	0,874
48	931	635	5,62	83	58498	2,464	135491,0	0,383	0,274	0,631
49	1221	632	6,61	83	50131	0,715	34327,0	0,328	0,070	0,738
50	1149	632	6,36	83	45779	0,441	19241,0	0,300	0,039	0,961
51	1202	633	6,54	83	52145	0,946	46568,0	0,341	0,094	0,793
52	1003	641	5,87	83	60348	2,500	137667,0	0,395	0,279	0,723
53	1354	643	7,06	82	58726	1,712	96161,8	0,384	0,195	0,814
54	775	649	5,09	82	57137	1,792	97288,4	0,374	0,197	0,681
55	1250	650	6,70	82	57117	1,958	103875,0	0,374	0,210	0,704
56	1185	654	6,48	81	58522	2,052	106763,0	0,383	0,216	0,782
57	1303	649	6,88	82	55055	0,629	32369,7	0,360	0,066	0,796
58	809	656	5,21	81	58679	2,052	112997,0	0,384	0,229	0,686
59	722	663	4,91	80	59247	2,673	150860,0	0,388	0,306	0,707
60	746	664	4,99	80	58836	3,360	187194,0	0,385	0,379	0,663
61	839	662	5,31	80	61493	2,955	169978,0	0,403	0,344	0,702
62	877	664	5,44	80	54940	1,048	52723,1	0,360	0,107	0,739
63	1239	668	6,67	80	51364	0,874	42140,3	0,336	0,085	0,801
64	1313	672	6,92	79	52765	0,657	33206,1	0,345	0,067	0,736
65	1729	703	8,32	76	56812	1,474	73910,3	0,372	0,150	0,794
66	1590	704	7,85	76	52340	1,207	56491,5	0,343	0,114	0,769
67	842	712	5,32	75	53963	2,926	150403,0	0,353	0,305	0,857
68	880	714	5,45	75	60916	3,381	190947,0	0,399	0,387	0,728
69	933	713	5,63	75	62289	4,487	264363,0	0,408	0,535	0,634
70	971	712	5,76	75	62919	3,006	177129,0	0,412	0,359	0,647
71	1010	722	5,89	74	59428	3,995	219374,0	0,389	0,444	0,573
72	1104	724	6,21	74	58011	2,536	132398,0	0,380	0,268	0,683
73	1593	726	7,86	74	61316	2,189	115211,0	0,401	0,233	0,774
74	724	734	4,91	73	57677	2,623	143666,0	0,378	0,291	0,830
75	936	731	5,64	74	61132	3,425	188980,0	0,400	0,383	0,761
76	975	735	5,77	73	62799	3,439	198856,0	0,411	0,403	0,750
77	695	731	4,81	74	51156	1,048	51640,7	0,335	0,105	0,822
78	1483	748	7,49	72	62237	7,463	433690,0	0,407	0,878	0,734
79	764	744	5,05	72	59929	4,465	255531,0	0,392	0,518	0,812
80	805	744	5,19	72	63055	5,599	329664,0	0,413	0,668	0,734
81	1218	735	6,60	73	54518	1,207	62154,4	0,357	0,126	0,738
82	1180	738	6,47	73	56913	1,221	64401,2	0,373	0,130	0,778
83	1551	752	7,72	72	62652	5,708	335378,0	0,410	0,679	0,695
84	1447	745	7,37	72	57941	3,439	187081,0	0,379	0,379	0,750
85	847	754	5,34	71	60089	7,030	394962,0	0,393	0,800	0,750
86	1118	744	6,26	72	55015	1,329	70916,5	0,360	0,144	0,839
87	1409	750	7,24	72	60780	2,782	161732,0	0,398	0,328	0,840
88	1607	753	7,91	72	62542	5,542	316605,0	0,409	0,641	0,760
89	610	756	4,52	71	55669	2,529	132394,0	0,364	0,268	0,740
90	1224	752	6,62	72	58964	2,500	137328,0	0,386	0,278	0,755
91	592	754	4,46	71	50951	1,604	77113,1	0,334	0,156	0,857
92	1649	755	8,05	71	54819	1,192	61001,4	0,359	0,124	0,736
93	628	757	4,58	71	53178	1,322	67811,2	0,348	0,137	0,824

Tabela 30 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	899	762	5,51	71	61242	4,588	265704,0	0,401	0,538	0,580
95	946	765	5,67	70	61116	2,406	141462,0	0,400	0,287	0,690
96	994	769	5,84	70	62814	5,361	318224,0	0,411	0,645	0,476
97	1097	779	6,19	69	59739	7,160	402783,0	0,391	0,816	0,712
98	799	776	5,17	70	62500	2,738	160563,0	0,409	0,325	0,773
99	729	773	4,93	70	55635	1,770	95894,7	0,364	0,194	0,819
100	767	778	5,06	69	59778	2,897	166354,0	0,391	0,337	0,745
101	844	782	5,33	69	60949	3,800	220611,0	0,399	0,447	0,701
102	897	785	5,51	69	59351	4,545	256861,0	0,389	0,520	0,745
103	944	787	5,67	69	61396	2,811	163221,0	0,402	0,331	0,704
104	1173	785	6,44	69	52852	0,925	46443,2	0,346	0,094	0,752
105	696	793	4,82	68	54861	3,035	161412,0	0,359	0,327	0,760
106	990	792	5,82	68	62874	4,393	261463,0	0,412	0,530	0,558
107	1261	793	6,74	68	50738	1,048	49887,0	0,332	0,101	0,647
108	806	798	5,20	68	57133	1,886	99656,1	0,374	0,202	0,729
109	727	800	4,92	67	55440	2,131	114123,0	0,363	0,231	0,759
110	849	802	5,34	67	57876	1,792	96993,0	0,379	0,196	0,688
111	1365	809	7,09	67	60310	4,140	231626,0	0,395	0,469	0,762
112	766	804	5,06	67	53060	1,380	71075,5	0,347	0,144	0,722
113	1178	803	6,46	67	53215	1,091	55942,3	0,348	0,113	0,674
114	1319	808	6,94	67	56728	1,763	96081,6	0,371	0,195	0,732
115	1397	816	7,20	66	59648	4,263	237500,0	0,390	0,481	0,752
116	1277	809	6,80	67	53823	1,199	62117,6	0,352	0,126	0,811
117	1449	816	7,38	66	60538	3,786	217456,0	0,396	0,440	0,716
118	1707	810	8,25	67	55511	1,113	55974,6	0,363	0,113	0,953
119	1480	821	7,48	66	59657	2,442	136880,0	0,391	0,277	0,744
120	1666	815	8,11	66	54539	1,055	53120,8	0,357	0,108	0,828
121	868	824	5,41	65	54915	1,467	76372,6	0,359	0,155	0,816
122	1505	832	7,57	65	62399	3,880	233042,0	0,408	0,472	0,781
123	1092	827	6,17	65	50955	0,983	47211,5	0,334	0,096	0,897
124	1541	832	7,69	65	59000	2,933	162420,0	0,386	0,329	0,657
125	1174	830	6,45	65	48339	0,831	38260,2	0,316	0,077	0,857
126	1263	835	6,75	64	55598	2,247	113948,0	0,364	0,231	0,720
127	1585	832	7,84	65	55286	1,026	53094,3	0,362	0,108	0,856
128	964	834	5,73	65	56527	0,831	43618,8	0,370	0,088	0,823
129	1450	837	7,38	64	61323	2,363	135012,0	0,401	0,273	0,692
130	1347	840	7,03	64	58849	1,893	105764,0	0,385	0,214	0,697
131	812	844	5,22	64	52569	2,319	115280,0	0,344	0,234	0,786
132	1397	843	7,20	64	57644	2,160	117622,0	0,377	0,238	0,795
133	763	844	5,05	64	48612	0,968	44175,3	0,318	0,089	0,820
134	970	851	5,75	63	59114	1,922	109113,0	0,387	0,221	0,798
135	867	855	5,41	63	59215	3,237	181660,0	0,388	0,368	0,827
136	920	855	5,59	63	54628	1,799	94429,9	0,358	0,191	0,801

Tabela 30 – Análise de spots de glutelina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
137	1188	854	6,49	63	49176	0,925	43595,1	0,322	0,088	0,901
138	1501	863	7,55	62	61763	4,082	234452,0	0,404	0,475	0,548
139	1454	863	7,40	62	58932	3,468	189833,0	0,386	0,385	0,710
140	1546	861	7,71	62	53947	1,228	62623,1	0,353	0,127	0,808
141	596	867	4,47	62	44534	0,686	29039,9	0,292	0,059	0,816
142	1260	869	6,74	62	48159	1,019	46708,8	0,315	0,095	0,761
143	1777	876	8,48	61	58758	1,922	104432,0	0,385	0,212	0,738
144	919	878	5,58	61	54585	2,428	123382,0	0,357	0,250	0,830
145	978	877	5,78	61	57246	1,214	66724,9	0,375	0,135	0,856
146	954	893	5,70	60	54523	1,221	64181,6	0,357	0,130	0,833
147	612	896	4,53	60	53158	1,431	71079,2	0,348	0,144	0,864
148	1220	897	6,60	60	51316	1,337	63234,0	0,336	0,128	0,680
149	1004	898	5,87	60	53338	1,301	65019,4	0,349	0,132	0,829
150	1951	913	9,07	58	61608	6,828	362814,0	0,403	0,735	0,763
151	1102	908	6,20	59	49954	0,860	40845,8	0,327	0,083	0,725
152	944	913	5,67	58	56271	1,857	98172,5	0,368	0,199	0,783
153	627	910	4,58	59	48858	0,181	8620,6	0,320	0,017	1,227
154	1185	918	6,48	58	54469	1,257	64354,9	0,357	0,130	0,838
155	727	931	4,92	57	59652	8,005	447628,0	0,390	0,907	0,695
156	693	926	4,81	57	54438	1,886	98307,4	0,356	0,199	0,742
157	777	937	5,10	57	62396	8,041	479081,0	0,408	0,970	0,716
158	829	942	5,28	56	62396	8,005	469114,0	0,408	0,950	0,660
159	923	937	5,60	57	55455	0,939	49813,8	0,363	0,101	0,685
160	1950	941	9,07	56	53560	2,428	118675,0	0,351	0,240	0,702
161	888	945	5,48	56	57559	2,189	121139,0	0,377	0,245	0,661
162	943	949	5,66	56	58276	1,553	87157,0	0,381	0,177	0,759
163	1017	953	5,91	55	61485	2,290	126270,0	0,402	0,256	0,624
164	728	959	4,93	55	51375	2,319	113705,0	0,336	0,230	0,675
165	967	967	5,74	55	61895	5,224	300827,0	0,405	0,609	0,678
166	915	962	5,57	55	53633	0,896	45265,3	0,351	0,092	0,767
167	1016	971	5,91	54	63512	5,144	313736,0	0,416	0,635	0,727
168	1052	970	6,03	54	61514	2,522	144052,0	0,403	0,292	0,659
169	1133	976	6,31	54	59073	3,454	183413,0	0,387	0,372	0,717
170	1525	983	7,63	53	58088	1,214	64120,1	0,380	0,130	0,791
171	1413	995	7,26	53	62868	6,257	371803,0	0,412	0,753	0,666
172	819	985	5,24	53	48119	0,636	29389,3	0,315	0,060	0,943
173	1644	985	8,04	53	52177	0,491	24851,8	0,342	0,050	0,972
174	1238	988	6,66	53	56404	1,524	79878,1	0,369	0,162	0,791
175	1488	995	7,51	53	62920	4,487	273017,0	0,412	0,553	0,675
176	1359	995	7,07	53	57340	3,533	189880,0	0,375	0,385	0,781
177	1337	993	7,00	53	55709	1,994	105621,0	0,365	0,214	0,760
178	1902	990	8,90	53	48960	0,556	25717,7	0,320	0,052	0,814
179	1866	991	8,78	53	48865	1,149	54713,6	0,320	0,111	0,645
180	1524	1004	7,63	52	62971	3,613	222223,0	0,412	0,450	0,718

Tabela 30 – Análise de spots de glutelina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
181	1017	1002	5,91	52	59215	2,312	126323	0,388	0,256	0,703
182	1588	1005	7,85	52	59299	2,717	151749	0,388	0,307	0,810
183	1204	1000	6,55	52	46655	0,506	22585,7	0,305	0,046	0,878
184	1556	1005	7,74	52	60457	2,587	143983	0,396	0,292	0,757
185	1909	1003	8,93	52	52617	2,529	122696	0,344	0,249	0,703
186	1486	1013	7,50	51	62928	3,786	232509	0,412	0,471	0,664
187	1335	1012	6,99	51	54492	1,113	58410,1	0,357	0,118	0,652
188	1403	1021	7,22	51	62645	3,598	204651	0,410	0,415	0,747
189	676	1021	4,75	51	56482	2,428	128515	0,370	0,260	0,804
190	1357	1021	7,07	51	52843	1,510	76506,6	0,346	0,155	0,877
191	718	1025	4,89	51	54474	1,720	88898,6	0,357	0,180	0,662
192	1745	1041	8,38	50	63030	8,829	519217	0,413	1,052	0,710
193	1715	1039	8,27	50	63136	5,549	341495	0,413	0,692	0,710
194	1836	1034	8,68	50	61209	4,321	254093	0,401	0,515	0,707
195	1861	1035	8,77	50	59010	3,930	210743	0,386	0,427	0,698
196	1635	1033	8,01	50	62337	5,896	333166	0,408	0,675	0,657
197	1472	1034	7,46	50	60427	2,095	120537	0,396	0,244	0,736
198	1419	1058	7,28	49	57474	1,763	93089,9	0,376	0,189	0,879
199	1661	1074	8,09	48	60303	8,930	509131	0,395	1,031	0,766
200	1624	1074	7,97	48	63063	9,378	568506	0,413	1,152	0,767
201	1740	1065	8,36	48	61913	2,854	168947	0,405	0,342	0,656
202	825	1064	5,26	48	51047	1,546	74655,1	0,334	0,151	0,789
203	1522	1065	7,62	48	56326	2,059	108966	0,369	0,221	0,825
204	613	1063	4,53	48	46032	0,708	31075,3	0,301	0,063	0,908
205	805	1070	5,19	48	47094	1,055	46335,8	0,308	0,094	0,871
206	1695	1079	8,21	47	62659	4,270	255232	0,410	0,517	0,708
207	1581	1077	7,82	47	56559	2,355	127600	0,370	0,258	0,729
208	561	1077	4,35	47	47009	1,192	51557,3	0,308	0,104	0,861
209	988	1077	5,82	47	45360	1,012	43364,3	0,297	0,088	0,598
210	1116	1083	6,25	47	59402	3,902	197719	0,389	0,400	0,727
211	1551	1079	7,72	47	54945	1,842	97201,5	0,360	0,197	0,843
212	1333	1100	6,99	46	58218	2,153	111540	0,381	0,226	0,544
213	1453	1106	7,39	46	62357	5,404	304279	0,408	0,616	0,691
214	1759	1115	8,42	45	63343	7,247	432663	0,415	0,876	0,720
215	1571	1113	7,79	45	63311	7,485	438327	0,414	0,888	0,677
216	1840	1112	8,70	45	58489	3,822	203079	0,383	0,411	0,710
217	1669	1118	8,12	45	63348	10,484	637332	0,415	1,291	0,614
218	1792	1113	8,53	45	60905	3,468	200579	0,399	0,406	0,723
219	1309	1117	6,90	45	57432	2,319	119923	0,376	0,243	0,665
220	825	1141	5,26	44	54388	2,825	133769	0,356	0,271	0,743
221	886	1148	5,47	43	59435	2,709	147370	0,389	0,299	0,740
222	932	1142	5,63	44	48475	0,181	8486,12	0,317	0,017	1,227
223	1576	1149	7,81	43	46015	0,881	38157,2	0,301	0,077	0,883
224	1378	1174	7,14	42	56499	2,904	145259	0,370	0,294	0,827
225	1928	1185	8,99	41	61853	7,059	395690	0,405	0,801	0,749

Tabela 30 – Análise de spots de glutelina de endosperma de Oh43+ (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
226	1207	1197	6,56	41	54008	3,22235	148508	0,35354	0,30081	0,731087
227	1705	1207	8,24	40	55950	1,8496	91576,4	0,36625	0,18549	0,823938
228	917	1214	5,57	40	44429	1,62563	66706,7	0,29084	0,13512	0,563608
229	608	1250	4,51	38	45599	1,16322	49817,7	0,29849	0,10091	0,881808
230	572	1264	4,39	37	48156	1,9941	87751,5	0,31523	0,17774	0,843009
231	1591	1266	7,86	37	51623	2,37702	107775	0,33793	0,2183	0,860533
232	368	1300	3,69	36	57517	3,179	160016	0,37651	0,32412	0,639693
233	470	1424	4,04	30	39216	0,18063	6835,31	0,25671	0,01385	1,22718
234	432	1428	3,91	30	37058	0,18063	6382,25	0,24258	0,01293	1,22718
235	648	1436	4,65	30	41284	0,6358	25235,9	0,27025	0,05112	0,841885
236	1645	1458	8,04	29	56972	3,22235	161202	0,37294	0,32652	0,791621
237	960	1461	5,72	29	43070	0,83088	33250,2	0,28194	0,06735	0,823171
238	1003	1490	5,87	28	48022	1,86405	79609,3	0,31436	0,16125	0,794026
239	865	1502	5,40	28	42762	0,58523	24002,2	0,27992	0,04862	0,930676
240	735	1519	4,95	27	53018	2,1964	106603	0,34706	0,21593	0,803074
241	1658	1550	8,08	26	63676	27,2816	1680491	0,41683	3,40389	0,756626
242	957	1524	5,71	27	61634	2,61545	135207	0,40346	0,27387	0,761036
243	1000	1527	5,86	27	60726	3,89427	212165	0,39752	0,42975	0,773841
244	1995	1538	9,22	26	52270	2,3698	111702	0,34216	0,22626	0,704576
245	634	1578	4,60	25	45304	1,16322	48018,7	0,29656	0,09726	0,828575
246	2017	1604	9,29	24	64445	16,249	996248	0,42186	2,01793	0,651458
247	1819	1614	8,63	24	64021	19,2185	1197667	0,41909	2,42591	0,696236
248	1685	1615	8,17	24	64071	9,98495	629007	0,41941	1,27407	0,756083
249	1961	1636	9,10	23	64648	30,8724	1938324	0,42319	3,92614	0,745233
250	412	1613	3,84	24	54703	5,2598	248265	0,35809	0,50287	0,692098
251	1492	1613	7,52	24	55421	7,4562	365162	0,36279	0,73965	0,619995
252	1633	1614	8,00	24	63504	5,62105	318911	0,4157	0,64597	0,504462
253	1649	1635	8,05	23	63650	5,28148	310274	0,41666	0,62847	0,651661
254	1826	1678	8,65	22	64039	15,6855	951992	0,4192	1,92829	0,683128
255	1997	1685	9,22	22	57021	4,26997	216062	0,37326	0,43764	0,744167
256	1671	1718	8,13	21	64103	21,0464	1308287	0,41962	2,64998	0,679026
257	1429	1707	7,31	21	41751	1,6473	63547,1	0,2733	0,12872	0,879656
258	1925	1722	8,98	21	62317	11,3866	671445	0,40793	1,36003	0,807292
259	1473	1712	7,46	21	42145	1,69065	67417,4	0,27588	0,13656	0,564999
260	1613	1724	7,93	21	60625	7,81745	442839	0,39686	0,89699	0,739941
261	1823	1729	8,64	21	62824	15,8516	948889	0,41125	1,92201	0,773717
262	1970	1722	9,13	21	56801	3,11397	161582	0,37182	0,32729	0,758796
263	2049	1717	9,40	21	46798	1,66175	71959,6	0,30634	0,14576	0,768816
264	1646	1752	8,04	20	58331	2,47817	121958	0,38184	0,24703	0,612329
265	1843	1755	8,71	20	50661	1,02595	48864,9	0,33163	0,09898	0,54979
266	1674	1858	8,14	18	62094	12,8533	721708	0,40647	1,46184	0,694177
267	1670	1902	8,12	17	47045	2,89	119407	0,30796	0,24186	0,782614
268	256	2032	3,30	14	46286	2,49262	103081	0,30299	0,2088	0,6372
269	251	2120	3,28	13	42726	2,1675	86454,5	0,27969	0,17512	0,722344
270	383	2195	3,74	9	37121	2,42037	76599,1	0,243	0,15515	0,719613
271	1396	2222	7,20	8	54713	10,7147	515257	0,35816	1,04367	0,728502

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	1297	526	7,12	113	55920	2,131	106325,0	0,504	0,275	0,753
2	1340	523	7,15	113	44727	0,253	10228,1	0,403	0,026	0,889
3	1205	526	6,90	113	48669	0,925	40735,9	0,439	0,105	0,708
4	1250	528	7,06	112	53494	1,272	62197,0	0,482	0,161	0,717
5	708	544	5,15	110	58345	2,334	129815,0	0,526	0,335	0,831
6	686	545	5,07	110	58069	1,922	108126,0	0,524	0,279	0,812
7	726	543	5,21	110	56747	1,524	83099,1	0,512	0,215	0,849
8	665	546	5,00	110	57663	2,615	143395,0	0,520	0,370	0,815
9	982	550	6,11	109	61148	4,357	247091,0	0,551	0,638	0,538
10	642	547	4,91	110	54146	1,561	79440,9	0,488	0,205	0,843
11	938	552	5,96	109	60277	6,719	378512,0	0,544	0,978	0,698
12	624	547	4,85	110	52983	1,279	62765,8	0,478	0,162	0,924
13	856	550	5,67	109	58327	3,533	191587,0	0,526	0,495	0,657
14	604	549	4,78	109	52209	1,170	55870,5	0,471	0,144	0,866
15	897	550	5,81	109	59457	3,808	216078,0	0,536	0,558	0,660
16	1025	549	6,26	109	58668	2,074	114265,0	0,529	0,295	0,777
17	817	553	5,53	109	57247	3,902	210506,0	0,516	0,544	0,654
18	782	559	5,41	108	57586	2,283	125044,0	0,519	0,323	0,781
19	753	560	5,31	108	53251	1,113	57790,8	0,480	0,149	0,687
20	892	564	5,80	107	58993	3,013	166033,0	0,532	0,429	0,520
21	815	568	5,52	107	57031	3,042	165920,0	0,514	0,429	0,615
22	853	567	5,66	107	57269	2,796	151580,0	0,517	0,392	0,556
23	782	575	5,41	106	55790	1,553	82968,5	0,503	0,214	0,616
24	743	589	5,27	104	56161	1,828	100060,0	0,507	0,258	0,751
25	773	589	5,38	104	58448	1,192	64528,4	0,527	0,167	0,684
26	873	612	5,73	101	48718	0,491	22206,8	0,439	0,057	0,899
27	767	630	5,36	99	56655	1,004	50272,5	0,511	0,130	0,860
28	802	629	5,48	99	52857	1,048	50947,1	0,477	0,132	0,834
29	736	633	5,25	99	50736	0,636	31376,8	0,458	0,081	0,976
30	708	633	5,15	99	46554	0,383	16866,8	0,420	0,044	0,925
31	424	697	4,15	91	59800	7,991	428290,0	0,539	1,106	0,404
32	426	714	4,15	90	55829	2,789	139162,0	0,504	0,360	0,515
33	636	735	4,89	87	59932	5,809	312802,0	0,541	0,808	0,650
34	616	739	4,82	87	58847	5,050	270402,0	0,531	0,699	0,535
35	595	738	4,75	87	56820	5,773	309370,0	0,512	0,799	0,658
36	579	737	4,69	87	55766	4,248	221336,0	0,503	0,572	0,697
37	656	732	4,96	88	58990	2,420	134666,0	0,532	0,348	0,735
38	562	737	4,63	87	53757	3,475	172806,0	0,485	0,446	0,744
39	684	733	5,06	87	57347	2,630	136313,0	0,517	0,352	0,801
40	878	753	5,75	85	46783	0,766	33270,4	0,422	0,086	0,746
41	772	765	5,37	84	50056	1,048	49832,2	0,451	0,129	0,921
42	329	775	3,81	83	60151	7,304	394664,0	0,543	1,020	0,656
43	675	781	5,03	82	54739	2,153	110609,0	0,494	0,286	0,798
44	709	781	5,15	82	53985	1,907	96362,2	0,487	0,249	0,866
45	432	795	4,17	81	58227	7,398	393737,0	0,525	1,017	0,513
46	1143	802	6,68	80	58256	2,847	142575,0	0,525	0,368	0,771

Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	1097	800	6,52	81	51018	2,218	103730,0	0,460	0,268	0,771
48	1193	800	6,86	81	49496	1,842	84600,6	0,446	0,219	0,836
49	878	817	5,75	79	51111	1,431	67691,8	0,461	0,175	0,719
50	827	823	5,57	78	57578	2,254	113139,0	0,519	0,292	0,741
51	937	824	5,95	78	48294	1,655	69657,5	0,436	0,180	0,851
52	1093	821	6,50	79	49149	0,853	39992,8	0,443	0,103	0,831
53	780	825	5,40	78	51283	1,806	87957,3	0,463	0,227	0,750
54	1029	823	6,28	78	49809	1,077	50605,0	0,449	0,131	0,778
55	678	853	5,04	76	51600	1,084	52441,0	0,465	0,135	0,783
56	642	853	4,91	76	47225	0,506	22266,4	0,426	0,058	0,816
57	592	872	4,74	74	56533	3,114	163916,0	0,510	0,423	0,650
58	619	873	4,83	74	55902	3,641	196267,0	0,504	0,507	0,735
59	667	871	5,00	74	57021	2,348	124533,0	0,514	0,322	0,777
60	700	871	5,12	74	59006	2,868	157144,0	0,532	0,406	0,723
61	734	870	5,24	74	52200	1,720	85444,9	0,471	0,221	0,840
62	1406	872	7,41	74	48567	0,903	41592,6	0,438	0,107	0,824
63	836	909	5,60	71	60367	9,161	496291,0	0,544	1,282	0,783
64	893	905	5,80	71	54821	4,870	245465,0	0,494	0,634	0,772
65	1315	910	7,13	70	56853	6,351	330378,0	0,513	0,853	0,712
66	1371	910	7,27	70	57810	6,105	321493,0	0,521	0,831	0,710
67	1420	909	7,47	71	55206	5,599	280024,0	0,498	0,723	0,737
68	785	912	5,42	70	58889	6,430	356988,0	0,531	0,922	0,779
69	1247	909	7,05	71	53659	4,638	229548,0	0,484	0,593	0,766
70	961	907	6,04	71	52636	1,951	95713,7	0,475	0,247	0,716
71	741	913	5,26	70	55910	5,159	274277,0	0,504	0,709	0,833
72	1180	911	6,81	70	50087	2,912	137988,0	0,452	0,356	0,768
73	1030	914	6,28	70	48865	0,903	42480,2	0,441	0,110	0,847
74	1069	944	6,42	68	56080	2,941	144491,0	0,506	0,373	0,737
75	879	948	5,75	67	58761	1,951	105508,0	0,530	0,273	0,741
76	603	952	4,78	67	54922	1,965	103298,0	0,495	0,267	0,846
77	635	959	4,89	66	58679	3,035	166796,0	0,529	0,431	0,827
78	669	961	5,01	66	62772	3,771	222570,0	0,566	0,575	0,639
79	1477	959	7,69	66	45946	1,192	51191,0	0,414	0,132	0,814
80	705	965	5,14	66	58181	2,457	138651,0	0,525	0,358	0,737
81	1525	962	7,88	66	45285	0,809	34677,4	0,408	0,090	0,811
82	1277	966	7,11	66	50662	1,279	61626,7	0,457	0,159	0,790
83	751	975	5,30	65	58204	5,715	321948,0	0,525	0,832	0,699
84	1204	968	6,90	66	53707	1,431	73134,1	0,484	0,189	0,757
85	1237	967	7,01	66	50729	1,221	58411,0	0,458	0,151	0,903
86	948	978	5,99	65	56612	5,607	295418,0	0,511	0,763	0,702
87	500	980	4,41	65	57831	5,628	301533,0	0,522	0,779	0,692
88	800	979	5,47	65	58388	4,118	230966,0	0,527	0,597	0,794
89	475	978	4,33	65	55636	3,439	179523,0	0,502	0,464	0,789
90	866	981	5,70	65	61930	5,607	325107,0	0,559	0,840	0,741
91	635	985	4,89	64	58603	4,335	244433,0	0,529	0,631	0,757
92	669	988	5,01	64	62553	4,855	282331,0	0,564	0,729	0,649
93	707	990	5,14	64	59132	3,280	181681,0	0,533	0,469	0,721

Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	1331	995	7,14	64	57812	5,173	272587,0	0,521	0,704	0,742
95	1110	994	6,56	64	51557	2,298	111482,0	0,465	0,288	0,720
96	1188	991	6,84	64	51577	0,932	46735,7	0,465	0,121	0,934
97	1289	995	7,12	64	55119	3,078	161547,0	0,497	0,417	0,805
98	1239	995	7,02	64	49671	1,380	66438,4	0,448	0,172	0,775
99	1035	997	6,30	63	53698	1,994	94377,5	0,484	0,244	0,834
100	1370	995	7,27	64	49102	1,785	82309,6	0,443	0,213	0,733
101	1405	998	7,41	63	48211	0,853	39448,6	0,435	0,102	0,787
102	577	1014	4,69	62	55552	7,825	413718,0	0,501	1,069	0,461
103	1331	1028	7,14	61	57861	4,060	218578,0	0,522	0,565	0,811
104	1289	1031	7,12	61	55465	3,605	189028,0	0,500	0,488	0,729
105	1372	1027	7,28	61	50807	1,488	71555,8	0,458	0,185	0,779
106	1605	1028	8,20	61	47468	1,185	52394,5	0,428	0,135	0,930
107	1242	1029	7,03	61	47459	0,954	43911,7	0,428	0,113	0,713
108	777	1040	5,39	60	53402	2,717	137732,0	0,482	0,356	0,729
109	836	1043	5,60	60	53594	3,836	195385,0	0,483	0,505	0,555
110	882	1043	5,76	60	48155	1,561	72235,2	0,434	0,187	0,843
111	957	1044	6,02	60	46113	2,897	127490,0	0,416	0,329	0,597
112	682	1044	5,06	60	49342	1,604	76781,6	0,445	0,198	0,769
113	725	1045	5,21	60	55707	3,222	169745,0	0,502	0,439	0,755
114	1452	1042	7,59	60	52391	1,091	50929,8	0,473	0,132	0,835
115	1043	1046	6,33	60	50210	2,305	105975,0	0,453	0,274	0,763
116	1113	1050	6,57	59	47885	2,326	106047,0	0,432	0,274	0,857
117	855	1089	5,67	57	50245	1,488	71264,5	0,453	0,184	0,828
118	778	1092	5,39	56	52243	2,081	101641,0	0,471	0,263	0,819
119	1039	1092	6,31	56	51208	1,033	50680,4	0,462	0,131	0,712
120	1064	1115	6,40	55	53877	1,828	92318,8	0,486	0,238	0,640
121	1357	1115	7,22	55	51246	1,655	76227,6	0,462	0,197	0,710
122	574	1139	4,68	53	53252	1,965	99286,6	0,480	0,256	0,816
123	781	1136	5,40	53	54077	2,211	113605,0	0,488	0,293	0,834
124	608	1141	4,79	53	59167	3,302	184568,0	0,534	0,477	0,800
125	701	1145	5,12	53	62371	4,378	255803,0	0,563	0,661	0,742
126	648	1147	4,94	53	63246	6,640	394170,0	0,570	1,018	0,808
127	745	1143	5,28	53	56088	2,406	129338,0	0,506	0,334	0,661
128	908	1149	5,85	53	62799	7,803	445807,0	0,566	1,152	0,742
129	1252	1149	7,06	53	55394	2,904	147781,0	0,500	0,382	0,832
130	991	1149	6,14	53	53687	2,767	137300,0	0,484	0,355	0,805
131	1354	1150	7,21	53	56784	3,035	164041,0	0,512	0,424	0,792
132	833	1152	5,59	52	57071	3,100	167510,0	0,515	0,433	0,779
133	1317	1150	7,14	53	55837	1,517	77736,1	0,504	0,201	0,863
134	1190	1151	6,85	53	49092	1,568	73406,2	0,443	0,190	0,820
135	1093	1159	6,50	52	51770	1,178	59027,6	0,467	0,152	0,768
136	1320	1172	7,14	51	58394	4,537	249841,0	0,527	0,645	0,769

Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o1 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
137	1247	1173	7,05	51	56510	3,735	197106,0	0,510	0,509	0,808
138	1636	1176	8,32	51	56871	4,342	229174,0	0,513	0,592	0,736
139	1578	1174	8,09	51	52427	3,201	151503,0	0,473	0,391	0,707
140	608	1182	4,79	51	52890	2,680	134443,0	0,477	0,347	0,827
141	1063	1178	6,40	51	47711	0,831	37606,4	0,430	0,097	0,810
142	1176	1200	6,80	49	52057	3,071	146115,0	0,470	0,377	0,724
143	1245	1201	7,04	49	55060	2,847	148353,0	0,497	0,383	0,787
144	745	1202	5,28	49	48373	2,081	94472,9	0,436	0,244	0,785
145	1305	1203	7,13	49	54382	1,835	93833,5	0,490	0,242	0,802
146	1620	1220	8,26	48	59929	6,683	371612,0	0,541	0,960	0,712
147	1545	1226	7,96	48	61022	9,450	532014,0	0,550	1,374	0,719
148	1353	1238	7,20	47	53242	4,480	217083,0	0,480	0,561	0,815
149	1449	1249	7,58	47	60067	12,615	711829,0	0,542	1,839	0,764
150	565	1238	4,64	47	53228	2,363	113951,0	0,480	0,294	0,795
151	513	1248	4,46	47	45894	1,293	56328,6	0,414	0,146	0,652
152	1570	1252	8,06	46	54868	1,972	104594,0	0,495	0,270	0,895
153	1393	1262	7,36	46	57882	5,751	298674,0	0,522	0,772	0,713
154	1511	1270	7,83	45	61037	4,386	245960,0	0,550	0,635	0,757
155	979	1272	6,10	45	54902	2,774	132756,0	0,495	0,343	0,715
156	1184	1273	6,83	45	44606	0,896	37632,2	0,402	0,097	0,840
157	1387	1292	7,34	44	57359	3,858	204924,0	0,517	0,529	0,786
158	1584	1305	8,11	44	57312	5,961	316975,0	0,517	0,819	0,711
159	1483	1307	7,72	43	60871	6,820	388457,0	0,549	1,004	0,792
160	1288	1304	7,12	44	56580	3,389	167351,0	0,510	0,432	0,769
161	1180	1307	6,81	43	45581	2,471	102213,0	0,411	0,264	0,787
162	1082	1305	6,47	44	38888	0,925	34201,9	0,351	0,088	0,891
163	1396	1309	7,37	43	57486	3,222	174080,0	0,518	0,450	0,731
164	1160	1317	6,74	43	48589	1,864	82839,9	0,438	0,214	0,809
165	1724	1343	8,67	42	49195	1,712	76192,3	0,444	0,197	0,814
166	749	1357	5,29	41	54875	3,157	151418,0	0,495	0,391	0,759
167	1227	1382	6,98	40	45704	1,720	73170,6	0,412	0,189	0,817
168	1532	1408	7,91	38	45119	1,048	42127,2	0,407	0,109	0,814
169	1413	1455	7,44	36	40169	0,788	29989,5	0,362	0,077	0,738
170	466	1505	4,29	34	46125	2,233	95369,9	0,416	0,246	0,822
171	269	1532	3,60	33	58110	3,808	196287,0	0,524	0,507	0,704
172	404	1576	4,08	31	55880	4,776	246640,0	0,504	0,637	0,805
173	458	1576	4,27	31	53448	4,082	206531,0	0,482	0,534	0,778
174	433	1641	4,18	29	54089	4,638	214274,0	0,488	0,554	0,644
175	366	1655	3,94	29	44068	1,272	52188,2	0,397	0,135	0,736
176	1468	1676	7,66	28	46479	2,030	82230,9	0,419	0,212	0,819
177	902	1690	5,83	28	39697	1,394	50077,9	0,358	0,129	0,824
178	1474	1721	7,68	27	63560	10,715	664117,0	0,573	1,716	0,731
179	1746	1727	8,75	27	62138	10,447	603494,0	0,560	1,559	0,706
180	682	1724	5,06	27	42969	5,173	203293,0	0,388	0,525	0,724

Tabela 31 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o1 (pH -10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
181	1288	1733	7,12	27	51610	9,486	407487,0	0,465	1,053	0,670
182	843	1736	5,62	27	49476	1,763	79968,1	0,446	0,207	0,838
183	899	1747	5,82	26	59681	5,216	269701,0	0,538	0,697	0,772
184	1485	1754	7,72	26	63582	13,265	806801,0	0,573	2,084	0,616
185	1884	1794	9,30	25	64035	10,180	607780,0	0,578	1,570	0,766
186	1816	1796	9,03	25	64086	17,037	1058492,0	0,578	2,734	0,557
187	1647	1801	8,36	25	63756	9,385	583685,0	0,575	1,508	0,684
188	1501	1808	7,79	24	63673	8,887	550617,0	0,574	1,422	0,804
189	1338	1804	7,15	24	49487	5,375	235867,0	0,446	0,609	0,518
190	1451	1802	7,59	25	55156	3,157	145727,0	0,497	0,376	0,664
191	313	1818	3,76	24	52365	4,696	216686,0	0,472	0,560	0,663
192	1461	1821	7,63	24	55896	3,396	173678,0	0,504	0,449	0,750
193	1815	1825	9,03	23	63488	16,581	1002725,0	0,573	2,590	0,503
194	1654	1855	8,39	22	60730	6,813	382133,0	0,548	0,987	0,769
195	1483	1888	7,72	20	63049	7,846	467987,0	0,569	1,209	0,734
196	1778	1896	8,88	20	57844	8,157	427595,0	0,522	1,105	0,736
197	1643	1900	8,35	20	57343	8,229	449395,0	0,517	1,161	0,808
198	1293	1896	7,12	20	46741	4,913	189266,0	0,422	0,489	0,731
199	1435	1904	7,53	20	57206	6,503	324511,0	0,516	0,838	0,738
200	1471	1931	7,67	19	62835	9,089	505542,0	0,567	1,306	0,748
201	1495	2070	7,76	14	55950	6,965	319071,0	0,505	0,824	0,776
202	1500	2107	7,78	13	51876	4,523	181860,0	0,468	0,470	0,817
203	908	2191	5,85	11	39429	1,561	54092,3	0,356	0,140	0,722
204	1262	2326	7,10	8	52147	6,437	290547,0	0,470	0,751	0,728

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	438	340	4,75	111	35324	0,968	30523,4	0,219	0,049	0,962
2	962	350	7,42	109	56293	2,742	130190,0	0,350	0,211	0,619
3	541	351	5,28	109	53085	1,935	88769,3	0,330	0,144	0,920
4	558	351	5,36	109	52427	2,048	92570,2	0,326	0,150	0,758
5	897	350	7,09	109	46028	0,839	35787,6	0,286	0,058	0,854
6	931	350	7,27	109	48315	1,516	65452,4	0,300	0,106	0,700
7	528	351	5,21	109	41572	0,323	13086,7	0,258	0,021	1,282
8	575	352	5,45	108	39710	0,258	9943,3	0,247	0,016	1,396
9	629	361	5,72	107	60403	4,435	245769,0	0,375	0,398	0,819
10	615	363	5,65	106	58580	3,677	198705,0	0,364	0,322	0,872
11	648	360	5,82	107	61663	2,661	150533,0	0,383	0,244	0,798
12	717	365	6,17	106	61368	7,742	429495,0	0,381	0,696	0,725
13	745	365	6,32	106	61251	6,661	365513,0	0,380	0,592	0,682
14	689	365	6,03	106	60125	7,355	397348,0	0,373	0,644	0,705
15	774	365	6,47	106	57521	4,532	233227,0	0,357	0,378	0,706
16	666	366	5,91	106	58315	3,839	205035,0	0,362	0,332	0,781
17	790	365	6,55	106	54368	2,258	110996,0	0,338	0,180	0,786
18	819	364	6,69	106	51296	2,242	106302,0	0,319	0,172	0,725
19	805	365	6,62	106	50921	1,758	83461,6	0,316	0,135	0,789
20	628	373	5,72	104	60402	4,581	258646,0	0,375	0,419	0,810
21	645	373	5,81	104	61620	3,935	218237,0	0,383	0,354	0,882
22	565	380	5,40	103	53483	4,113	197735,0	0,332	0,320	0,855
23	586	380	5,51	103	56718	4,403	219675,0	0,352	0,356	0,859
24	545	380	5,30	103	46885	2,726	118860,0	0,291	0,193	0,825
25	607	382	5,61	103	57707	3,871	201653,0	0,358	0,327	0,892
26	636	408	5,76	98	55638	2,629	130611,0	0,346	0,212	0,815
27	603	408	5,59	98	53114	2,532	120717,0	0,330	0,196	0,767
28	618	410	5,67	98	58056	4,048	206470,0	0,361	0,334	0,832
29	654	407	5,85	98	46606	0,806	34811,4	0,289	0,056	0,954
30	581	410	5,48	98	45473	1,048	45503,2	0,282	0,074	0,914
31	347	450	4,30	91	63356	9,710	523956,0	0,393	0,849	0,519
32	1046	454	7,85	90	42792	0,629	25071,2	0,266	0,041	0,940
33	1077	457	8,01	90	45455	0,935	39965,0	0,282	0,065	0,914
34	342	462	4,28	89	58677	4,129	209124,0	0,364	0,339	0,367
35	1081	464	8,03	89	41977	0,790	31715,7	0,261	0,051	0,999
36	492	473	5,03	87	61693	4,226	238537,0	0,383	0,386	0,734
37	474	481	4,93	86	61069	8,113	454333,0	0,379	0,736	0,658
38	506	474	5,10	87	61550	2,806	159430,0	0,382	0,258	0,721
39	454	480	4,83	86	60705	4,210	232418,0	0,377	0,377	0,731
40	520	475	5,17	87	58213	1,935	106431,0	0,362	0,172	0,835
41	534	476	5,24	87	54153	1,871	94911,0	0,336	0,154	0,967
42	435	483	4,74	86	53415	1,532	75849,5	0,332	0,123	1,004
43	278	505	3,96	83	63180	8,419	449824,0	0,392	0,729	0,589
44	577	502	5,46	83	50889	1,645	77228,4	0,316	0,125	0,791
45	629	499	5,72	83	44285	0,403	17365,0	0,275	0,028	1,227
46	603	502	5,59	83	50223	1,597	72023,1	0,312	0,117	0,917

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	553	507	5,34	82	57499	4,484	226292,0	0,357	0,367	0,862
48	531	510	5,22	82	54966	2,694	135494,0	0,341	0,220	0,835
49	336	512	4,25	82	46848	0,790	35061,2	0,291	0,057	0,894
50	352	514	4,33	81	49333	2,839	126544,0	0,306	0,205	0,785
51	624	528	5,70	79	52017	1,419	69106,1	0,323	0,112	0,870
52	850	533	6,85	79	60754	3,161	174784,0	0,377	0,283	0,886
53	881	532	7,01	79	53893	1,774	88028,2	0,335	0,143	0,868
54	818	533	6,69	79	56300	2,065	106163,0	0,350	0,172	0,891
55	787	533	6,53	79	47901	1,065	48479,8	0,297	0,079	0,892
56	630	545	5,73	77	58179	2,323	125098,0	0,361	0,203	0,881
57	655	545	5,86	77	49577	1,339	62435,8	0,308	0,101	0,954
58	711	547	6,14	77	51086	1,758	81446,8	0,317	0,132	0,886
59	773	549	6,46	76	56002	2,000	101826,0	0,348	0,165	0,909
60	816	548	6,68	77	53427	1,290	64652,3	0,332	0,105	0,967
61	973	553	7,48	76	52931	2,032	97923,1	0,329	0,159	0,863
62	503	553	5,08	76	46433	0,403	17789,5	0,288	0,029	1,227
63	531	553	5,22	76	49529	0,403	19227,8	0,308	0,031	1,227
64	955	557	7,39	75	53172	1,113	57355,0	0,330	0,093	0,834
65	464	570	4,88	74	62377	5,323	304109,0	0,387	0,493	0,797
66	973	568	7,48	74	59474	4,177	233937,0	0,369	0,379	0,818
67	950	566	7,36	74	54728	2,226	116439,0	0,340	0,189	0,783
68	485	572	4,99	73	61430	6,177	355480,0	0,382	0,576	0,849
69	504	571	5,09	73	57265	3,516	192688,0	0,356	0,312	0,817
70	523	570	5,18	74	58855	3,726	202941,0	0,366	0,329	0,849
71	545	572	5,30	73	62739	3,968	231079,0	0,390	0,374	0,807
72	998	570	7,61	74	57995	2,565	139135,0	0,360	0,225	0,911
73	443	572	4,78	73	58909	2,403	131252,0	0,366	0,213	0,889
74	572	571	5,43	73	55026	2,258	112676,0	0,342	0,183	0,875
75	1038	574	7,81	73	49832	1,097	52113,4	0,309	0,084	0,781
76	632	602	5,74	70	62093	8,968	535060,0	0,386	0,867	0,802
77	606	602	5,61	70	62249	7,758	462148,0	0,387	0,749	0,805
78	968	601	7,46	70	61728	8,129	484164,0	0,383	0,784	0,775
79	1012	601	7,68	70	61899	8,758	516186,0	0,384	0,836	0,794
80	546	596	5,30	70	56280	2,629	143646,0	0,350	0,233	0,924
81	1049	600	7,87	70	61816	7,177	412195,0	0,384	0,668	0,796
82	578	600	5,46	70	61342	5,081	298698,0	0,381	0,484	0,805
83	1080	600	8,03	70	59096	4,452	247974,0	0,367	0,402	0,779
84	918	602	7,20	70	61299	5,839	327894,0	0,381	0,531	0,846
85	1153	598	8,40	70	50865	1,677	82155,6	0,316	0,133	0,894
86	1115	600	8,21	70	53775	2,774	143124,0	0,334	0,232	0,898
87	660	603	5,88	69	57875	3,597	191484,0	0,359	0,310	0,878
88	872	604	6,97	69	58733	4,710	253366,0	0,365	0,410	0,796
89	721	604	6,19	69	56816	2,613	137186,0	0,353	0,222	0,788
90	793	605	6,56	69	54663	2,726	140393,0	0,339	0,227	0,833
91	829	605	6,75	69	52564	1,887	95976,1	0,326	0,155	0,882
92	469	619	4,91	67	59175	2,903	155837,0	0,368	0,252	0,821
93	447	618	4,80	68	51437	1,258	62183,6	0,319	0,101	0,910
94	1200	635	8,64	66	59266	15,548	854228,0	0,368	1,384	0,715

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
95	494	625	5,04	67	60751	1,952	107000,0	0,377	0,173	0,768
96	705	623	6,11	67	50717	0,871	41360,4	0,315	0,067	0,903
97	523	629	5,18	66	63063	3,226	192385,0	0,392	0,312	0,750
98	732	627	6,25	66	54901	2,194	114449,0	0,341	0,185	0,752
99	798	631	6,59	66	59494	4,774	258099,0	0,369	0,418	0,761
100	618	634	5,67	66	62105	8,145	481137,0	0,386	0,779	0,806
101	551	636	5,33	65	62468	4,113	248492,0	0,388	0,403	0,821
102	642	636	5,79	65	61950	3,677	217193,0	0,385	0,352	0,814
103	441	639	4,77	65	55059	4,032	214783,0	0,342	0,348	0,639
104	582	641	5,49	65	61823	7,016	415304,0	0,384	0,673	0,783
105	1114	632	8,20	66	48820	0,403	19379,7	0,303	0,031	1,227
106	464	639	4,88	65	59918	3,855	223930,0	0,372	0,363	0,871
107	389	642	4,51	65	59036	3,210	177939,0	0,367	0,288	0,761
108	492	642	5,03	65	62784	5,016	305853,0	0,390	0,496	0,800
109	373	639	4,43	65	54469	1,516	78065,8	0,338	0,126	1,007
110	911	645	7,16	64	58704	3,274	179678,0	0,365	0,291	0,841
111	943	642	7,33	65	55376	1,565	81839,0	0,344	0,133	0,775
112	712	648	6,15	64	60881	4,984	286905,0	0,378	0,465	0,769
113	886	646	7,04	64	59297	2,484	137488,0	0,368	0,223	0,804
114	521	648	5,17	64	62753	3,113	187022,0	0,390	0,303	0,751
115	553	648	5,34	64	62468	3,435	206804,0	0,388	0,335	0,767
116	613	652	5,64	64	62171	3,823	230225,0	0,386	0,373	0,830
117	644	656	5,80	63	62020	4,452	266987,0	0,385	0,433	0,828
118	980	659	7,52	63	61385	4,129	246474,0	0,381	0,399	0,897
119	949	659	7,36	63	60063	3,177	184985,0	0,373	0,300	0,745
120	1009	658	7,66	63	51875	1,613	80087,9	0,322	0,130	0,776
121	871	658	6,96	63	55597	0,855	45838,7	0,345	0,074	0,925
122	1034	659	7,79	63	54977	1,339	69319,3	0,341	0,112	0,921
123	771	661	6,45	63	56119	1,806	98093,9	0,349	0,159	0,719
124	821	661	6,70	63	55817	1,871	99944,3	0,347	0,162	0,889
125	913	663	7,17	62	57248	0,403	22669,5	0,356	0,037	1,227
126	616	669	5,66	62	57179	3,710	199736,0	0,355	0,324	0,740
127	641	671	5,79	61	55166	2,565	136967,0	0,343	0,222	0,766
128	717	674	6,17	61	56916	4,726	250958,0	0,353	0,407	0,772
129	979	681	7,51	60	61496	6,226	364883,0	0,382	0,591	0,819
130	833	675	6,77	61	54117	1,323	69331,1	0,336	0,112	0,705
131	1157	678	8,42	61	50710	2,194	104783,0	0,315	0,170	0,897
132	914	681	7,18	60	57564	2,806	154741,0	0,358	0,251	0,887
133	426	679	4,69	61	48938	1,226	58839,7	0,304	0,095	1,044
134	949	682	7,36	60	60302	4,113	235031,0	0,375	0,381	0,836
135	409	681	4,61	60	48935	1,548	72975,3	0,304	0,118	0,918
136	1009	681	7,66	60	52401	1,919	95533,0	0,325	0,155	0,862
137	603	683	5,59	60	54863	2,387	127206,0	0,341	0,206	0,791
138	534	683	5,24	60	52457	2,177	110577,0	0,326	0,179	0,805

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
139	564	685	5,39	60	59518	3,677	205909,0	0,370	0,334	0,789
140	639	688	5,78	60	59688	3,210	182407,0	0,371	0,296	0,784
141	825	699	6,73	59	57948	4,952	267552,0	0,360	0,433	0,795
142	775	696	6,47	59	56330	2,532	134581,0	0,350	0,218	0,782
143	721	696	6,19	59	54682	2,032	107132,0	0,340	0,174	0,831
144	1306	704	9,18	58	53388	4,694	236293,0	0,332	0,383	0,793
145	1274	704	9,02	58	51100	3,177	149790,0	0,317	0,243	0,816
146	638	719	5,77	56	58506	3,194	177101,0	0,363	0,287	0,883
147	601	721	5,58	56	52794	2,274	115113,0	0,328	0,186	0,895
148	768	721	6,43	56	54978	2,097	107359,0	0,341	0,174	0,764
149	1177	737	8,52	55	53989	5,677	296329,0	0,335	0,480	0,842
150	790	739	6,55	54	61070	6,403	355965,0	0,379	0,577	0,805
151	849	738	6,85	55	53638	2,952	146804,0	0,333	0,238	0,758
152	997	737	7,60	55	52820	1,968	99026,4	0,328	0,160	0,783
153	504	748	5,09	54	62947	9,935	594481,0	0,391	0,963	0,804
154	723	741	6,20	54	55914	5,274	276646,0	0,347	0,448	0,618
155	386	742	4,49	54	59841	1,968	110044,0	0,372	0,178	0,883
156	445	744	4,79	54	59896	3,484	200613,0	0,372	0,325	0,895
157	401	743	4,57	54	58734	2,194	122341,0	0,365	0,198	0,864
158	646	742	5,81	54	54363	1,887	98669,5	0,338	0,160	0,882
159	470	747	4,91	54	62462	4,258	256842,0	0,388	0,416	0,843
160	537	749	5,26	54	62803	6,919	415834,0	0,390	0,674	0,777
161	602	743	5,59	54	55034	1,468	78803,1	0,342	0,128	0,792
162	1076	746	8,01	54	51480	2,452	121388,0	0,320	0,197	0,749
163	573	751	5,44	53	57481	2,129	119513,0	0,357	0,194	0,796
164	614	757	5,65	53	59888	3,903	218031,0	0,372	0,353	0,815
165	638	757	5,77	53	59797	3,871	214030,0	0,371	0,347	0,758
166	992	754	7,58	53	59954	2,597	141237,0	0,372	0,229	0,783
167	680	760	5,99	52	60918	6,952	380467,0	0,378	0,616	0,540
168	917	768	7,19	52	61530	6,452	380759,0	0,382	0,617	0,756
169	968	769	7,46	52	62019	7,500	450665,0	0,385	0,730	0,719
170	739	761	6,29	52	55065	1,839	96540,4	0,342	0,156	0,826
171	873	769	6,97	52	59639	6,887	382726,0	0,370	0,620	0,764
172	1046	768	7,85	52	53432	4,081	213401,0	0,332	0,346	0,886
173	1144	773	8,35	51	61429	7,613	441158,0	0,382	0,715	0,789
174	499	769	5,06	52	61233	4,048	235889,0	0,380	0,382	0,679
175	838	775	6,79	51	54314	6,290	329799,0	0,337	0,534	0,752
176	1015	774	7,70	51	59860	4,242	243278,0	0,372	0,394	0,755
177	1179	776	8,53	51	62910	7,500	450302,0	0,391	0,730	0,777
178	465	772	4,89	51	60699	2,871	168949,0	0,377	0,274	0,812
179	533	772	5,23	51	58751	3,000	167822,0	0,365	0,272	0,683
180	437	773	4,75	51	55645	1,710	91948,2	0,346	0,149	0,911
181	1207	780	8,68	51	55168	2,968	154576,0	0,343	0,250	0,858
182	495	782	5,04	50	58226	2,710	143484,0	0,362	0,232	0,791

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
183	786	783	6,53	50	56107	2,081	109830,0	0,348	0,178	0,750
184	870	793	6,96	50	60953	6,016	350962,0	0,379	0,569	0,845
185	965	793	7,44	50	61774	11,806	669208,0	0,384	1,084	0,731
186	820	790	6,70	50	54856	2,323	124134,0	0,341	0,201	0,868
187	915	796	7,18	49	61389	5,435	314687,0	0,381	0,510	0,838
188	460	789	4,86	50	53557	1,048	55028,4	0,333	0,089	0,929
189	575	792	5,45	50	54679	2,323	119288,0	0,340	0,193	0,868
190	431	790	4,72	50	50273	0,403	19911,3	0,312	0,032	1,227
191	379	804	4,46	49	52364	2,387	116866,0	0,325	0,189	0,852
192	599	805	5,57	48	50750	1,726	84731,6	0,315	0,137	0,807
193	532	807	5,23	48	53797	2,065	106542,0	0,334	0,173	0,867
194	432	810	4,72	48	55753	1,774	94312,4	0,346	0,153	0,854
195	393	818	4,53	47	59440	3,210	178421,0	0,369	0,289	0,842
196	1013	826	7,68	47	61201	5,903	345454,0	0,380	0,560	0,826
197	568	826	5,41	47	55525	1,935	101614,0	0,345	0,165	0,716
198	449	833	4,81	46	52798	3,839	196028,0	0,328	0,318	0,840
199	521	832	5,17	46	56000	2,000	106149,0	0,348	0,172	0,818
200	943	837	7,33	46	57765	3,774	209367,0	0,359	0,339	0,788
201	642	841	5,79	45	51135	2,968	142745,0	0,318	0,231	0,682
202	730	845	6,24	45	60608	5,500	289761,0	0,376	0,469	0,871
203	867	840	6,94	46	53808	1,306	67458,4	0,334	0,109	0,979
204	1020	854	7,72	44	62276	9,194	560325,0	0,387	0,908	0,800
205	941	857	7,32	44	61027	4,661	271710,0	0,379	0,440	0,726
206	352	853	4,33	44	45161	0,403	17803,9	0,280	0,029	1,227
207	867	858	6,94	44	56582	2,016	107729,0	0,351	0,175	0,682
208	387	864	4,50	44	52470	0,935	47271,6	0,326	0,077	0,877
209	868	869	6,94	43	56310	2,516	133886,0	0,350	0,217	0,795
210	850	871	6,85	43	58666	2,613	141441,0	0,364	0,229	0,845
211	1255	879	8,92	42	56891	3,419	173811,0	0,353	0,282	0,785
212	612	881	5,64	42	52244	3,871	186887,0	0,324	0,303	0,702
213	1026	889	7,75	42	54603	2,532	129739,0	0,339	0,210	0,774
214	575	891	5,45	42	58877	4,113	211467,0	0,366	0,343	0,785
215	354	890	4,34	42	43334	0,403	17013,3	0,269	0,028	1,227
216	536	891	5,25	42	45196	0,403	17894,6	0,281	0,029	1,227
217	385	892	4,49	42	45113	0,403	18036,0	0,280	0,029	1,227
218	900	911	7,11	40	55520	3,790	194776,0	0,345	0,316	0,792
219	1113	923	8,20	39	55945	3,726	194539,0	0,347	0,315	0,856
220	387	968	4,50	36	61836	5,774	328303,0	0,384	0,532	0,781
221	742	965	6,30	36	42590	0,403	16572,5	0,265	0,027	1,227
222	357	978	4,35	36	59193	6,113	340995,0	0,368	0,552	0,840
223	786	983	6,53	35	43443	0,403	17307,3	0,270	0,028	1,227
224	380	992	4,46	35	57071	3,242	179027,0	0,354	0,290	0,782
225	226	994	3,71	35	50143	2,565	117083,0	0,311	0,190	0,697

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH 3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
226	785	997	6,52	34	43868	1,113	46669,8	0,272	0,076	0,865
227	387	1016	4,50	33	60411	3,871	225005,0	0,375	0,365	0,882
228	793	1028	6,56	33	43861	2,226	90231,9	0,272	0,146	0,811
229	323	1030	4,18	32	56814	3,226	172636,0	0,353	0,280	0,884
230	348	1032	4,31	32	56639	6,774	373047,0	0,352	0,604	0,787
231	576	1033	5,45	32	42968	0,403	16995,2	0,267	0,028	1,227
232	395	1051	4,54	31	57218	5,145	282401,0	0,355	0,458	0,878
233	1011	1055	7,67	31	47513	2,919	130067,0	0,295	0,211	0,811
234	413	1054	4,63	31	54792	2,000	105100,0	0,340	0,170	0,729
235	267	1074	3,91	30	48777	2,129	97015,2	0,303	0,157	0,894
236	290	1074	4,02	30	51974	1,548	77329,0	0,323	0,125	0,878
237	339	1076	4,26	30	52214	3,226	164754,0	0,324	0,267	0,620
238	783	1078	6,51	30	51223	3,016	137729,0	0,318	0,223	0,666
239	526	1083	5,20	30	50296	1,984	95006,2	0,312	0,154	0,811
240	410	1093	4,61	29	56265	4,387	232278,0	0,349	0,376	0,862
241	785	1094	6,52	29	56889	5,355	277857,0	0,353	0,450	0,784
242	1072	1094	7,99	29	53526	4,081	201055,0	0,332	0,326	0,869
243	626	1098	5,71	29	57498	3,468	185425,0	0,357	0,300	0,774
244	1078	1137	8,02	27	63635	24,339	1485191,0	0,395	2,406	0,749
245	1112	1134	8,19	27	62124	14,581	859978,0	0,386	1,393	0,692
246	475	1120	4,94	28	51339	2,081	102735,0	0,319	0,166	0,697
247	521	1125	5,17	27	58844	5,065	274921,0	0,365	0,445	0,776
248	936	1137	7,29	27	49596	14,274	661853,0	0,308	1,072	0,774
249	564	1131	5,39	27	48535	1,548	72697,4	0,301	0,118	0,862
250	625	1144	5,70	27	60704	8,790	490809,0	0,377	0,795	0,754
251	454	1139	4,83	27	47701	0,403	19001,9	0,296	0,031	1,227
252	509	1140	5,11	27	51752	1,161	58104,5	0,321	0,094	0,840
253	473	1146	4,93	26	51619	1,613	80795,0	0,321	0,131	0,809
254	582	1151	5,49	26	47829	2,113	98602,4	0,297	0,160	0,790
255	653	1156	5,85	26	58926	6,452	340671,0	0,366	0,552	0,745
256	1318	1172	9,24	25	63888	16,290	953658,0	0,397	1,545	0,541
257	510	1163	5,12	26	45778	1,758	77109,5	0,284	0,125	0,836
258	558	1169	5,36	25	42334	0,403	16783,1	0,263	0,027	1,227
259	1197	1183	8,62	25	62151	24,226	1410311,0	0,386	2,285	0,545
260	935	1178	7,29	25	44149	0,403	17091,2	0,274	0,028	1,227
261	255	1187	3,85	25	59720	8,355	447780,0	0,371	0,725	0,582
262	1105	1186	8,15	25	63210	13,355	802945,0	0,393	1,301	0,596
263	403	1186	4,58	25	47977	1,790	80844,4	0,298	0,131	0,752
264	969	1189	7,46	24	51118	4,645	222366,0	0,317	0,360	0,667
265	1289	1201	9,09	24	63942	19,919	1207107,0	0,397	1,956	0,670
266	1199	1220	8,63	23	63294	19,355	1143231,0	0,393	1,852	0,568
267	790	1225	6,55	23	56172	3,468	172957,0	0,349	0,280	0,813
268	1311	1225	9,21	23	54723	3,903	198299,0	0,340	0,321	0,644
269	1086	1243	8,06	22	63380	10,323	620750,0	0,394	1,006	0,657

Tabela 32 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de o2 (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
270	1153	1248	8,40	22	59359	4,177	236390,0	0,369	0,383	0,834
271	1198	1252	8,63	22	60679	14,355	816946,0	0,377	1,324	0,545
272	1349	1249	9,40	22	58846	5,371	293456,0	0,365	0,475	0,679
273	326	1251	4,20	22	57251	5,226	261986,0	0,356	0,424	0,718
274	938	1250	7,30	22	45395	5,403	227163,0	0,282	0,368	0,689
275	1258	1251	8,94	22	58553	6,516	356591,0	0,364	0,578	0,698
276	1049	1254	7,87	22	58540	5,500	300353,0	0,364	0,487	0,780
277	1090	1262	8,08	21	63083	6,565	383985,0	0,392	0,622	0,592
278	1092	1365	8,09	16	61298	12,661	722289,0	0,381	1,170	0,665
279	1093	1394	8,09	14	60185	11,113	617573,0	0,374	1,001	0,732
280	698	1424	6,08	13	41786	0,403	16539,5	0,260	0,027	1,227
281	862	1459	6,91	12	35956	1,032	35238,0	0,223	0,057	0,654
282	973	1461	7,48	12	44938	2,274	95308,8	0,279	0,154	0,820
283	146	1467	3,32	12	54756	4,210	204276,0	0,340	0,331	0,724
284	643	1466	5,80	12	56700	3,194	165995,0	0,352	0,269	0,662
285	485	1467	4,99	12	41168	0,839	33265,5	0,256	0,054	0,967
286	307	1491	4,10	11	49593	3,258	150034,0	0,308	0,243	0,702
287	465	1489	4,89	11	49301	2,661	119519,0	0,306	0,194	0,806
288	390	1491	4,51	11	45411	0,403	17987,9	0,282	0,029	1,227
289	142	1523	3,30	10	45197	2,452	103667,0	0,281	0,168	0,709
290	621	1556	5,68	8	43289	4,694	191271,0	0,269	0,310	0,719
291	235	1571	3,75	7	49574	2,903	132633,0	0,308	0,215	0,534

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	1271	477	7,13	118	38203	0,954	34835,4	0,345	0,096	0,768
2	1326	477	7,36	118	34248	0,383	11337,0	0,310	0,031	0,728
3	1184	480	6,82	118	34214	0,181	6018,3	0,309	0,017	1,227
4	1230	480	6,98	118	38464	0,181	6698,4	0,348	0,018	1,227
5	1280	492	7,17	116	34730	1,257	40571,7	0,314	0,111	0,622
6	1238	492	7,01	116	34748	0,181	6059,0	0,314	0,017	1,227
7	1326	492	7,36	116	30908	0,181	5239,7	0,279	0,014	1,227
8	1088	543	6,47	110	31878	0,542	16067,9	0,288	0,044	0,875
9	1124	544	6,60	110	32038	0,629	18645,1	0,290	0,051	0,806
10	1025	570	6,26	107	35995	0,751	25644,6	0,325	0,070	0,951
11	1062	570	6,38	107	38458	1,264	45234,4	0,348	0,124	0,695
12	1097	572	6,50	107	37157	1,004	35864,1	0,336	0,098	0,829
13	668	580	5,08	106	40756	1,770	67050,1	0,369	0,184	0,842
14	1241	578	7,02	106	41980	1,582	62442,0	0,380	0,171	0,758
15	1286	577	7,19	106	41268	1,416	52701,3	0,373	0,145	0,726
16	647	581	5,01	106	39912	1,575	58104,1	0,361	0,159	0,794
17	686	582	5,14	106	41269	1,792	69120,0	0,373	0,190	0,749
18	705	582	5,20	106	40696	1,358	51720,5	0,368	0,142	0,779
19	1147	577	6,68	106	39076	1,026	36823,2	0,353	0,101	0,814
20	1194	578	6,85	106	40741	1,286	49965,4	0,368	0,137	0,820
21	629	581	4,95	106	38331	1,329	43933,1	0,347	0,121	0,810
22	1341	581	7,43	106	34809	0,607	20167,8	0,315	0,055	0,722
23	849	589	5,68	105	45170	1,618	65529,6	0,408	0,180	0,800
24	881	590	5,78	105	45981	1,337	55899,8	0,416	0,153	0,800
25	819	592	5,58	104	45434	1,438	61581,6	0,411	0,169	0,746
26	1100	596	6,52	104	40977	2,319	88059,4	0,371	0,242	0,750
27	1240	594	7,02	104	41102	1,597	61378,4	0,372	0,168	0,693
28	1318	594	7,33	104	34939	1,012	33787,5	0,316	0,093	0,748
29	1027	598	6,26	104	40652	1,272	50043,9	0,368	0,137	0,848
30	1134	596	6,64	104	35420	1,091	37087,0	0,320	0,102	0,538
31	1189	596	6,84	104	37330	1,431	49663,0	0,338	0,136	0,632
32	959	600	6,04	104	46042	1,980	84489,6	0,416	0,232	0,771
33	1283	597	7,18	104	38152	1,474	54003,2	0,345	0,148	0,706
34	920	602	5,91	103	47292	2,717	120755,0	0,428	0,331	0,798
35	812	606	5,55	103	47112	4,060	173903,0	0,426	0,477	0,794
36	1060	599	6,37	104	43165	1,235	49915,0	0,390	0,137	0,694
37	879	606	5,77	103	47150	3,547	156247,0	0,426	0,429	0,822
38	782	604	5,45	103	40564	2,117	80277,3	0,367	0,220	0,754
39	843	607	5,66	103	47486	3,237	140176,0	0,429	0,385	0,802
40	434	749	4,30	88	37518	3,121	104372,0	0,339	0,286	0,651
41	1370	750	7,55	88	26227	0,181	4440,9	0,237	0,012	1,227
42	1404	753	7,69	88	32277	0,867	24855,3	0,292	0,068	0,845
43	1443	755	7,86	87	32950	0,737	22382,3	0,298	0,061	0,840
44	1448	781	7,88	85	33055	1,178	35383,3	0,299	0,097	0,760
45	653	794	5,03	84	44952	2,131	87865,8	0,406	0,241	0,790
46	613	796	4,89	84	44110	3,121	128064,0	0,399	0,351	0,821

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	632	797	4,96	84	45508	3,324	140284,0	0,412	0,385	0,821
48	596	797	4,84	84	45760	2,500	98668,9	0,414	0,271	0,774
49	551	801	4,69	83	38560	2,211	78297,7	0,349	0,215	0,761
50	569	801	4,75	83	40786	2,442	93857,5	0,369	0,258	0,773
51	1427	818	7,79	82	30599	1,293	36102,3	0,277	0,099	0,729
52	812	830	5,55	81	34990	0,715	23482,3	0,316	0,064	0,978
53	726	831	5,27	80	30349	1,105	31876,6	0,274	0,087	0,847
54	861	832	5,72	80	36622	1,149	39313,2	0,331	0,108	0,880
55	340	832	3,99	80	30430	0,643	18019,0	0,275	0,049	0,789
56	697	848	5,17	79	33413	0,816	25892,7	0,302	0,071	0,866
57	670	849	5,08	79	35866	0,867	29298,0	0,324	0,080	0,947
58	441	858	4,33	78	35956	2,312	74332,8	0,325	0,204	0,621
59	1184	860	6,82	78	31468	0,614	17778,6	0,285	0,049	0,788
60	1029	875	6,27	77	36992	0,990	34437,3	0,335	0,095	0,660
61	1075	875	6,43	77	42274	1,748	68577,6	0,382	0,188	0,854
62	1124	876	6,60	77	43990	1,741	68187,7	0,398	0,187	0,861
63	1175	874	6,79	77	37957	1,221	41637,8	0,343	0,114	0,771
64	1229	877	6,98	77	31257	0,470	14251,5	0,283	0,039	0,893
65	478	900	4,45	75	50552	15,266	699101,0	0,457	1,919	0,575
66	690	898	5,15	75	32079	1,105	32689,1	0,290	0,090	0,737
67	725	896	5,27	75	34732	0,881	29030,0	0,314	0,080	0,883
68	811	898	5,55	75	42972	1,633	65469,7	0,389	0,180	0,747
69	1133	897	6,63	75	32412	0,853	26252,1	0,293	0,072	0,758
70	858	899	5,71	75	40498	1,409	53315,2	0,366	0,146	0,791
71	916	899	5,90	75	33888	1,467	46655,0	0,306	0,128	0,841
72	765	898	5,40	75	36563	1,329	46095,7	0,331	0,127	0,710
73	1005	899	6,19	75	38563	1,561	56521,6	0,349	0,155	0,670
74	1066	898	6,39	75	40932	1,069	41433,2	0,370	0,114	0,737
75	918	916	5,90	73	32635	1,293	39411,8	0,295	0,108	0,824
76	481	933	4,46	72	50893	9,797	450085,0	0,460	1,235	0,393
77	642	930	4,99	72	43178	1,488	60421,3	0,390	0,166	0,727
78	670	929	5,08	72	42742	0,932	36794,7	0,387	0,101	0,707
79	613	932	4,89	72	41212	0,918	35571,5	0,373	0,098	0,766
80	1401	934	7,68	72	37086	0,650	22584,4	0,335	0,062	0,932
81	1476	937	8,00	72	31289	1,098	32592,9	0,283	0,089	0,757
82	688	939	5,14	72	48794	1,712	76155,5	0,441	0,209	0,814
83	1355	938	7,48	72	32444	1,351	41675,1	0,293	0,114	0,782
84	657	940	5,04	71	45052	0,961	41581,1	0,407	0,114	0,823
85	1517	942	8,17	71	31497	1,214	36271,6	0,285	0,100	0,836
86	719	940	5,25	71	37689	0,506	18527,0	0,341	0,051	0,701
87	1184	947	6,82	71	32799	0,462	14363,7	0,297	0,039	0,846
88	546	951	4,67	71	37030	1,683	58833,3	0,335	0,161	0,697
89	579	952	4,78	71	36494	1,727	58900,7	0,330	0,162	0,769
90	612	954	4,89	70	35952	1,192	40938,6	0,325	0,112	0,753
91	1403	965	7,69	70	42577	1,481	57499,7	0,385	0,158	0,807
92	1353	964	7,48	70	33249	0,650	20487,9	0,301	0,056	0,798
93	819	994	5,58	67	50361	5,505	263345,0	0,455	0,723	0,750
94	1084	985	6,46	68	38344	1,792	64150,4	0,347	0,176	0,862

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
95	771	996	5,42	67	48184	5,094	229699,0	0,436	0,630	0,710
96	872	993	5,75	67	45207	3,923	164909,0	0,409	0,453	0,721
97	1230	990	6,98	68	45051	1,958	77819,5	0,407	0,214	0,804
98	727	995	5,27	67	44032	2,572	108124,0	0,398	0,297	0,840
99	1019	993	6,24	67	39733	3,165	115601,0	0,359	0,317	0,767
100	686	992	5,14	68	37840	1,358	48741,2	0,342	0,134	0,813
101	1292	992	7,22	68	44253	1,828	70869,0	0,400	0,195	0,702
102	932	995	5,95	67	43193	1,510	60593,0	0,391	0,166	0,783
103	1154	1001	6,71	67	41393	3,591	133731,0	0,374	0,367	0,826
104	1081	1004	6,45	67	39371	2,536	96937,9	0,356	0,266	0,705
105	1412	1006	7,73	67	45223	2,623	112701,0	0,409	0,309	0,817
106	1371	1010	7,55	66	47246	4,032	173311,0	0,427	0,476	0,817
107	1440	1006	7,84	67	42170	1,691	67367,2	0,381	0,185	0,860
108	1230	1010	6,98	66	49643	3,273	150337,0	0,449	0,413	0,798
109	1293	1014	7,22	66	47949	2,298	103938,0	0,434	0,285	0,818
110	1027	1024	6,26	65	41555	2,240	86248,7	0,376	0,237	0,768
111	627	1040	4,94	64	49545	2,883	134635,0	0,448	0,370	0,785
112	655	1042	5,03	64	50996	2,500	123555,0	0,461	0,339	0,809
113	594	1041	4,83	64	45222	2,037	86275,8	0,409	0,237	0,837
114	692	1043	5,16	64	49199	2,565	119478,0	0,445	0,328	0,843
115	733	1047	5,29	64	48476	2,449	110686,0	0,438	0,304	0,787
116	794	1048	5,49	64	48400	3,627	168862,0	0,438	0,463	0,762
117	850	1047	5,68	64	49949	2,818	134300,0	0,452	0,369	0,660
118	489	1060	4,48	63	35318	3,923	122370,0	0,319	0,336	0,747
119	1084	1062	6,46	63	39253	0,968	36246,8	0,355	0,099	0,884
120	1136	1064	6,65	62	35522	0,881	27859,7	0,321	0,076	0,849
121	1499	1066	8,09	62	38173	1,431	51055,4	0,345	0,140	0,748
122	917	1070	5,90	62	44320	2,883	121637,0	0,401	0,334	0,774
123	792	1072	5,49	62	49171	4,617	216533,0	0,445	0,594	0,706
124	586	1072	4,81	62	44396	2,269	93148,9	0,401	0,256	0,763
125	694	1075	5,16	62	49540	2,919	139223,0	0,448	0,382	0,759
126	848	1073	5,67	62	49479	3,360	161355,0	0,447	0,443	0,648
127	652	1076	5,02	62	50556	2,811	138220,0	0,457	0,379	0,794
128	737	1074	5,30	62	47411	2,522	115349,0	0,429	0,317	0,785
129	621	1074	4,92	62	49214	2,009	95527,3	0,445	0,262	0,698
130	1462	1075	7,94	62	37479	1,040	37259,1	0,339	0,102	0,759
131	1180	1078	6,80	62	44649	2,139	85419,9	0,404	0,234	0,807
132	1216	1077	6,93	62	44306	2,110	83847,2	0,401	0,230	0,802
133	1091	1078	6,48	62	39750	1,416	54639,5	0,359	0,150	0,726
134	1257	1077	7,08	62	42275	1,163	46132,9	0,382	0,127	0,861
135	1134	1078	6,64	62	37683	0,997	36069,9	0,341	0,099	0,910
136	1319	1100	7,33	60	46737	4,783	200734,0	0,423	0,551	0,697
137	1396	1099	7,66	60	39594	1,676	62493,3	0,358	0,172	0,877
138	1271	1101	7,13	60	46739	2,529	113322,0	0,423	0,311	0,783
139	1163	1101	6,74	60	36626	0,975	34036,0	0,331	0,093	0,857
140	1224	1102	6,96	60	43681	1,792	75449,5	0,395	0,207	0,723

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f11* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
141	1079	1105	6,44	60	35459	1,380	47266,3	0,321	0,130	0,879
142	1276	1134	7,15	58	46050	5,672	237010,0	0,416	0,650	0,739
143	1319	1136	7,33	58	46094	6,062	244249,0	0,417	0,670	0,778
144	1368	1132	7,54	58	36248	1,813	61869,8	0,328	0,170	0,862
145	1232	1135	6,99	58	42140	2,724	109599,0	0,381	0,301	0,867
146	820	1144	5,58	57	43486	3,670	144907,0	0,393	0,398	0,674
147	1572	1144	8,40	57	30296	0,968	27688,4	0,274	0,076	0,838
148	865	1147	5,73	57	33359	2,066	64686,8	0,302	0,178	0,658
149	1004	1145	6,19	57	32325	0,802	24541,4	0,292	0,067	0,782
150	667	1152	5,07	57	38405	1,604	57409,6	0,347	0,158	0,842
151	707	1151	5,21	57	41871	1,813	72026,0	0,379	0,198	0,862
152	1445	1152	7,87	57	35832	2,623	88765,9	0,324	0,244	0,843
153	1369	1203	7,54	54	36233	2,825	88274,2	0,328	0,242	0,712
154	927	1215	5,93	53	34260	1,358	42890,1	0,310	0,118	0,796
155	1006	1215	6,19	53	36626	0,983	33614,7	0,331	0,092	0,873
156	1557	1228	8,34	52	33480	2,341	76171,8	0,303	0,209	0,739
157	639	1257	4,98	51	51565	7,319	359577,0	0,466	0,987	0,812
158	572	1252	4,76	51	44917	2,746	114231,0	0,406	0,314	0,855
159	605	1255	4,87	51	49700	4,862	228912,0	0,449	0,628	0,798
160	678	1259	5,11	51	51263	4,884	238671,0	0,464	0,655	0,828
161	869	1257	5,74	51	47630	2,695	113733,0	0,431	0,312	0,610
162	1341	1257	7,43	51	41184	1,257	46930,3	0,372	0,129	0,846
163	804	1268	5,53	50	50955	7,687	360598,0	0,461	0,990	0,708
164	1404	1262	7,69	50	41696	1,712	66895,6	0,377	0,184	0,847
165	742	1269	5,32	50	45781	4,508	196983,0	0,414	0,541	0,679
166	1091	1268	6,48	50	37275	1,394	48886,4	0,337	0,134	0,800
167	1164	1272	6,75	50	41648	2,435	92808,6	0,377	0,255	0,858
168	869	1276	5,74	50	53123	6,293	313387,0	0,480	0,860	0,652
169	1234	1271	7,00	50	49138	1,235	57121,2	0,444	0,157	0,709
170	951	1275	6,01	50	45572	2,225	94361,9	0,412	0,259	0,806
171	1298	1282	7,24	49	51150	2,991	143338,0	0,463	0,393	0,735
172	1402	1287	7,68	49	51295	2,529	117834,0	0,464	0,323	0,720
173	1344	1286	7,44	49	50313	2,529	120647,0	0,455	0,331	0,837
174	1048	1285	6,33	49	40133	1,098	42018,5	0,363	0,115	0,672
175	1091	1287	6,48	49	38485	0,867	32546,2	0,348	0,089	0,570
176	1159	1291	6,73	49	44605	2,912	124728,0	0,403	0,342	0,664
177	1230	1291	6,98	49	51622	3,757	188078,0	0,467	0,516	0,732
178	1298	1303	7,24	48	51511	2,847	137818,0	0,466	0,378	0,744
179	1599	1311	8,52	48	47492	4,689	200992,0	0,429	0,552	0,735
180	1153	1307	6,71	48	43873	3,222	130080,0	0,397	0,357	0,781
181	1024	1305	6,25	48	37899	0,715	26030,0	0,343	0,071	0,917
182	1079	1308	6,44	48	38151	2,449	88776,1	0,345	0,244	0,713
183	1229	1309	6,98	48	50862	1,907	92023,5	0,460	0,253	0,732
184	1225	1333	6,97	47	43027	1,329	55470,6	0,389	0,152	0,796

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f1* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
185	1285	1337	7,19	46	43937	1,886	78371,6	0,397	0,215	0,872
186	1235	1359	7,00	45	47414	2,522	112790,0	0,429	0,310	0,857
187	1334	1363	7,40	45	46967	1,972	89076,4	0,425	0,244	0,825
188	1428	1373	7,79	45	52422	7,767	393134,0	0,474	1,079	0,775
189	546	1362	4,67	45	36161	1,734	57786,7	0,327	0,159	0,778
190	1267	1369	7,12	45	44658	2,904	124653,0	0,404	0,342	0,759
191	1379	1370	7,59	45	50142	4,111	198063,0	0,453	0,544	0,838
192	1042	1400	6,31	43	39086	4,769	170207,0	0,353	0,467	0,766
193	934	1399	5,96	43	49809	3,266	147128,0	0,450	0,404	0,686
194	1461	1409	7,93	43	53784	6,842	358578,0	0,486	0,984	0,773
195	834	1398	5,63	43	40631	1,257	48156,5	0,367	0,132	0,794
196	1547	1407	8,30	43	52922	3,865	194373,0	0,479	0,533	0,778
197	1146	1405	6,68	43	44162	3,446	140918,0	0,399	0,387	0,801
198	1583	1407	8,45	43	46047	2,261	94512,2	0,416	0,259	0,704
199	1261	1410	7,10	43	52958	6,098	297994,0	0,479	0,818	0,822
200	1385	1411	7,61	43	53734	5,896	306117,0	0,486	0,840	0,792
201	1110	1428	6,55	42	40824	1,611	58808,2	0,369	0,161	0,889
202	1402	1454	7,68	41	45419	2,536	109709,0	0,411	0,301	0,727
203	1197	1486	6,87	39	39787	2,081	76348,0	0,360	0,210	0,743
204	719	1486	5,25	39	41678	2,225	81814,0	0,377	0,225	0,800
205	668	1486	5,08	39	29631	1,091	30386,4	0,268	0,083	0,788
206	1472	1511	7,98	38	42244	1,611	63183,8	0,382	0,173	0,781
207	1509	1512	8,14	38	46075	2,009	87888,0	0,417	0,241	0,763
208	1017	1514	6,23	38	44069	2,529	100270,0	0,399	0,275	0,752
209	908	1514	5,87	38	29884	0,961	26732,7	0,270	0,073	0,867
210	1548	1521	8,30	38	38960	3,461	119065,0	0,352	0,327	0,771
211	1440	1519	7,84	38	40581	1,900	69917,4	0,367	0,192	0,611
212	1476	1539	8,00	37	38207	1,633	59001,7	0,345	0,162	0,847
213	1348	1578	7,45	36	30955	1,286	36465,7	0,280	0,100	0,907
214	252	1650	3,70	33	21537	1,416	27693,6	0,195	0,076	0,726
215	378	1726	4,12	30	29285	1,098	30563,9	0,265	0,084	0,884
216	1449	1757	7,88	29	46742	1,915	84328,3	0,423	0,231	0,816
217	1001	1779	6,18	29	36754	1,712	57332,2	0,332	0,157	0,837
218	786	1810	5,47	28	30790	0,556	16431,5	0,278	0,045	0,837
219	1438	1831	7,84	27	59622	16,090	917307,0	0,539	2,518	0,598
220	1571	1845	8,40	27	58996	16,885	949481,0	0,533	2,606	0,782
221	1509	1847	8,14	27	59523	15,938	911535,0	0,538	2,502	0,747
222	1638	1845	8,68	27	54622	10,021	513674,0	0,494	1,410	0,736
223	1227	1838	6,97	27	55097	9,277	454964,0	0,498	1,249	0,664
224	836	1836	5,63	27	39899	1,785	65134,0	0,361	0,179	0,848
225	1746	1850	9,14	27	57981	9,443	500384,0	0,524	1,373	0,806
226	1428	1864	7,79	26	60298	16,733	965559,0	0,545	2,650	0,540
227	1229	1863	6,98	26	56305	10,729	565911,0	0,509	1,553	0,633

Tabela 33 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f11* (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
228	926	1865	5,93	26	40272	4,624	168419,0	0,364	0,462	0,569
229	1046	1866	6,33	26	37428	3,027	104823,0	0,338	0,288	0,672
230	777	1874	5,44	26	42442	3,403	132859,0	0,384	0,365	0,787
231	690	1870	5,15	26	36278	1,004	33481,8	0,328	0,092	0,788
232	627	1881	4,94	26	41301	5,072	193327,0	0,373	0,531	0,662
233	822	1888	5,59	26	49973	5,159	238359,0	0,452	0,654	0,772
234	1027	1889	6,26	26	38841	4,140	149217,0	0,351	0,410	0,657
235	706	1889	5,20	26	39062	2,904	102381,0	0,353	0,281	0,787
236	1525	1909	8,20	25	59078	8,656	475025,0	0,534	1,304	0,777
237	579	1898	4,78	25	34976	2,233	73349,7	0,316	0,201	0,722
238	1464	1912	7,95	25	59782	7,456	433495,0	0,541	1,190	0,754
239	1621	1914	8,61	25	59415	12,680	692322,0	0,537	1,900	0,765
240	1246	1910	7,04	25	56871	8,367	431636,0	0,514	1,185	0,727
241	1414	1917	7,73	25	58662	11,517	634773,0	0,530	1,742	0,756
242	1784	1908	9,30	25	55894	4,082	195281,0	0,505	0,536	0,728
243	1616	1955	8,59	23	55657	5,845	292348,0	0,503	0,802	0,600
244	1005	1966	6,19	23	46407	3,324	127611,0	0,420	0,350	0,740
245	1428	1997	7,79	22	62966	15,975	970041,0	0,569	2,662	0,706
246	1571	1996	8,40	22	61992	11,365	660242,0	0,561	1,812	0,728
247	1498	1998	8,09	22	61264	10,057	600736,0	0,554	1,649	0,708
248	1225	2000	6,97	22	56172	16,842	847762,0	0,508	2,327	0,674
249	1374	1998	7,56	22	60261	6,315	333868,0	0,545	0,916	0,770
250	1634	2001	8,67	22	61334	6,828	372760,0	0,555	1,023	0,773
251	1731	2000	9,08	22	55446	4,754	227552,0	0,501	0,625	0,784
252	1152	2015	6,70	21	54528	11,986	592003,0	0,493	1,625	0,667
253	1460	2058	7,93	20	60607	6,286	352514,0	0,548	0,968	0,512
254	1530	2074	8,23	19	57913	8,692	455267,0	0,524	1,250	0,771
255	1355	2068	7,48	19	44944	3,670	150251,0	0,406	0,412	0,696
256	1293	2073	7,22	19	40702	3,461	125276,0	0,368	0,344	0,679
257	1466	2087	7,95	19	58945	5,433	299084,0	0,533	0,821	0,497
258	1066	2102	6,39	18	26522	2,926	61128,5	0,240	0,168	0,731

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f2* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
1	639	515	5,30	116	21414	0,968	18328,4	0,252	0,084	0,760
2	497	549	4,79	112	27485	0,484	11871,6	0,323	0,054	0,613
3	629	565	5,26	110	43042	1,857	70837,8	0,506	0,324	0,827
4	649	566	5,34	110	43808	1,958	76334,6	0,515	0,349	0,813
5	610	567	5,20	109	34314	0,903	26874,8	0,404	0,123	0,880
6	670	567	5,41	109	31995	0,845	23176,8	0,376	0,106	0,815
7	1241	571	7,43	109	39219	1,279	36704,3	0,461	0,168	0,861
8	1156	571	7,13	109	21869	0,954	18452,7	0,257	0,084	0,838
9	1200	572	7,29	109	26780	0,390	9581,0	0,315	0,044	0,817
10	791	589	5,84	107	36832	2,052	65405,2	0,433	0,299	0,884
11	770	587	5,76	107	30261	0,816	22639,0	0,356	0,103	0,903
12	835	591	5,99	107	42711	2,991	104190,0	0,502	0,476	0,711
13	920	592	6,30	106	50212	2,269	83443,1	0,590	0,381	0,758
14	440	590	4,58	107	21082	2,269	38493,5	0,248	0,176	0,545
15	963	592	6,45	106	39984	1,539	49730,1	0,470	0,227	0,815
16	874	593	6,13	106	47031	2,522	94600,9	0,553	0,432	0,798
17	684	618	5,46	103	26341	1,286	29763,1	0,310	0,136	0,770
18	655	618	5,36	103	23565	0,759	16785,1	0,277	0,077	0,930
19	712	622	5,56	103	28038	0,484	12511,9	0,330	0,057	0,853
20	710	672	5,55	97	42830	1,994	71562,3	0,504	0,327	0,779
21	677	672	5,43	97	36273	1,792	56548,4	0,427	0,258	0,862
22	742	673	5,67	97	44289	2,059	70200,1	0,521	0,321	0,673
23	650	672	5,34	97	31618	1,250	36197,8	0,372	0,165	0,789
24	772	675	5,77	97	27740	1,445	32861,5	0,326	0,150	0,804
25	559	709	5,01	93	20568	1,207	22608,8	0,242	0,103	0,851
26	585	712	5,10	93	22627	1,170	23391,4	0,266	0,107	0,845
27	366	733	4,31	91	22261	3,613	65768,2	0,262	0,300	0,555
28	1323	759	7,72	88	23185	0,824	16535,1	0,273	0,076	0,967
29	1359	761	7,85	88	29916	0,983	24406,9	0,352	0,111	0,921
30	1394	762	7,98	88	29426	0,701	17404,0	0,346	0,079	0,928
31	579	786	5,08	86	50965	7,391	346937,0	0,599	1,584	0,690
32	542	786	4,95	86	50655	6,185	286890,0	0,596	1,310	0,753
33	515	787	4,85	86	48024	3,482	142205,0	0,565	0,649	0,749
34	616	790	5,22	85	51456	3,569	169105,0	0,605	0,772	0,739
35	636	792	5,29	85	50725	3,822	165292,0	0,597	0,755	0,802
36	659	795	5,37	85	45559	3,035	120783,0	0,536	0,552	0,798
37	538	815	4,94	83	39814	1,850	66328,7	0,468	0,303	0,818
38	710	827	5,55	82	26658	1,257	29456,2	0,313	0,135	0,819
39	615	843	5,21	80	32048	1,250	35696,7	0,377	0,163	0,765
40	639	846	5,30	80	37966	1,770	57123,4	0,446	0,261	0,875
41	376	851	4,35	80	35793	2,168	61035,1	0,421	0,279	0,532
42	926	877	6,32	77	19858	1,077	18143,0	0,234	0,083	0,876
43	414	883	4,49	77	39399	3,063	99067,3	0,463	0,452	0,604
44	1032	882	6,69	77	23056	1,091	23102,3	0,271	0,106	0,695
45	1078	884	6,86	77	23701	1,149	22014,5	0,279	0,101	0,802
46	761	905	5,73	75	22580	1,980	38685,1	0,266	0,177	0,598

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
47	808	904	5,90	75	20038	1,431	25459,0	0,236	0,116	0,748
48	961	906	6,44	75	29322	1,358	33433,8	0,345	0,153	0,821
49	1027	905	6,68	75	26809	0,946	23215,8	0,315	0,106	0,841
50	421	914	4,51	74	29168	1,951	52093,7	0,343	0,238	0,531
51	611	927	5,20	73	27196	1,214	29195,3	0,320	0,133	0,898
52	419	928	4,51	73	33428	0,946	28696,8	0,393	0,131	0,864
53	436	931	4,57	73	38804	1,402	46204,6	0,456	0,211	0,733
54	1256	930	7,49	73	29087	0,614	15385,0	0,342	0,070	0,911
55	531	932	4,91	73	26997	0,874	21120,6	0,317	0,096	0,928
56	1229	935	7,39	72	34570	2,435	76027,6	0,407	0,347	0,740
57	550	935	4,98	72	37232	1,170	38509,6	0,438	0,176	0,896
58	574	939	5,07	72	30564	1,301	37238,2	0,359	0,170	0,786
59	602	942	5,17	72	34643	1,496	44360,8	0,407	0,203	0,745
60	629	943	5,26	72	48355	2,449	96177,0	0,569	0,439	0,735
61	661	942	5,38	72	26632	1,192	28105,9	0,313	0,128	0,753
62	1264	942	7,52	72	35159	1,373	42213,8	0,413	0,193	0,848
63	381	947	4,37	71	34991	2,493	68545,3	0,411	0,313	0,679
64	1230	952	7,39	71	33602	2,478	77670,2	0,395	0,355	0,807
65	532	950	4,91	71	34381	1,243	37096,8	0,404	0,169	0,792
66	508	947	4,83	71	22390	0,701	14913,7	0,263	0,068	0,691
67	552	952	4,99	71	31496	1,084	31016,1	0,370	0,142	0,791
68	1259	957	7,50	71	36084	3,013	99649,2	0,424	0,455	0,740
69	1304	960	7,66	70	34377	2,218	70277,4	0,404	0,321	0,723
70	1330	956	7,75	71	27378	0,708	18042,4	0,322	0,082	0,908
71	1350	971	7,82	70	31971	0,585	15609,0	0,376	0,071	0,931
72	762	992	5,74	68	50534	2,601	102079,0	0,594	0,466	0,762
73	472	991	4,70	68	25854	1,127	26690,4	0,304	0,122	0,842
74	497	994	4,79	68	33431	2,102	59706,9	0,393	0,273	0,857
75	716	993	5,57	68	40507	2,348	82901,4	0,476	0,379	0,777
76	818	995	5,93	68	25051	1,792	39295,2	0,295	0,179	0,725
77	1253	1012	7,48	66	41965	4,819	174780,0	0,493	0,798	0,762
78	666	1003	5,40	67	30676	1,279	35728,6	0,361	0,163	0,834
79	1322	1012	7,72	66	42329	3,699	140146,0	0,498	0,640	0,773
80	709	1007	5,55	67	41186	1,763	62620,7	0,484	0,286	0,765
81	1190	1010	7,25	67	36898	1,835	57283,6	0,434	0,262	0,849
82	1222	1008	7,37	67	32569	1,481	43702,3	0,383	0,200	0,868
83	769	1010	5,76	67	41945	1,568	55790,5	0,493	0,255	0,880
84	1366	1016	7,88	66	37121	2,254	71386,2	0,437	0,326	0,822
85	858	1026	6,08	65	28088	0,881	22609,8	0,330	0,103	0,804
86	535	1030	4,92	65	32162	1,149	32440,7	0,378	0,148	0,850
87	996	1038	6,57	65	39662	1,445	48166,5	0,466	0,220	0,865
88	562	1042	5,02	64	31556	1,019	29919,0	0,371	0,137	0,820
89	596	1046	5,14	64	38430	2,211	74535,8	0,452	0,340	0,761
90	632	1046	5,27	64	29915	1,040	29079,7	0,352	0,133	0,891
91	804	1048	5,88	64	31505	0,932	23162,1	0,370	0,106	0,657
92	423	1052	4,52	64	35898	2,666	81565,3	0,422	0,372	0,764
93	793	1066	5,85	63	51456	3,584	135737,0	0,605	0,620	0,721

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f*2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
94	679	1065	5,44	63	27667	1,243	31994,1	0,325	0,146	0,829
95	737	1065	5,65	63	35700	1,691	54007,5	0,420	0,247	0,728
96	637	1066	5,29	63	36810	1,185	40699,0	0,433	0,186	0,801
97	869	1068	6,12	62	32276	1,308	37979,4	0,380	0,173	0,704
98	596	1068	5,14	62	36973	1,055	36487,0	0,435	0,167	0,605
99	1222	1080	7,37	62	37270	1,517	49145,9	0,438	0,224	0,772
100	1097	1082	6,92	61	28785	1,503	37184,7	0,339	0,170	0,880
101	1143	1082	7,09	61	38741	1,720	57754,2	0,456	0,264	0,701
102	1247	1083	7,45	61	32384	1,886	54465,1	0,381	0,249	0,789
103	572	1081	5,06	62	32353	0,896	26835,9	0,380	0,123	0,686
104	961	1083	6,44	61	29382	1,019	27552,6	0,346	0,126	0,895
105	1176	1084	7,20	61	39012	2,233	74277,3	0,459	0,339	0,722
106	1052	1082	6,76	61	27346	1,077	27615,2	0,322	0,126	0,824
107	1447	1082	8,15	61	27819	0,766	19328,1	0,327	0,088	0,847
108	509	1097	4,83	60	31206	1,879	49959,0	0,367	0,228	0,571
109	1225	1105	7,38	60	35375	2,471	77841,6	0,416	0,355	0,813
110	1125	1103	7,02	60	29506	0,903	24417,5	0,347	0,112	0,870
111	1267	1110	7,53	60	40290	3,165	112056,0	0,474	0,512	0,788
112	1175	1106	7,20	60	27508	1,142	28842,5	0,323	0,132	0,805
113	1346	1110	7,81	60	37512	1,409	43093,5	0,441	0,197	0,801
114	1037	1112	6,71	59	30010	1,394	38208,8	0,353	0,174	0,861
115	333	1138	4,19	58	35377	2,261	65482,7	0,416	0,299	0,711
116	708	1147	5,54	57	26413	3,858	89485,7	0,311	0,409	0,742
117	1226	1144	7,38	57	29776	1,626	44871,1	0,350	0,205	0,843
118	752	1142	5,70	57	28786	0,578	14990,0	0,339	0,068	0,933
119	1268	1146	7,53	57	38840	2,189	74353,8	0,457	0,340	0,749
120	611	1147	5,20	57	24812	1,871	41864,3	0,292	0,191	0,763
121	768	1146	5,76	57	34275	1,214	36826,2	0,403	0,168	0,877
122	651	1150	5,34	57	35774	1,857	58057,8	0,421	0,265	0,757
123	817	1150	5,93	57	23951	1,850	40476,7	0,282	0,185	0,633
124	772	1154	5,77	57	34646	1,358	42426,6	0,407	0,194	0,813
125	966	1157	6,46	57	28822	1,366	34919,5	0,339	0,159	0,783
126	1044	1157	6,74	57	27239	1,019	25308,8	0,320	0,116	0,930
127	1037	1174	6,71	55	27675	1,358	34784,5	0,325	0,159	0,866
128	1318	1211	7,71	53	24053	2,045	45438,8	0,283	0,208	0,799
129	1400	1215	8,00	53	27475	3,851	90016,1	0,323	0,411	0,771
130	959	1217	6,43	53	33174	2,283	64849,3	0,390	0,296	0,768
131	428	1221	4,54	53	25382	1,272	29664,3	0,298	0,135	0,621
132	986	1243	6,53	51	31736	1,785	48520,2	0,373	0,222	0,795
133	575	1255	5,07	51	55478	7,232	326929,0	0,652	1,493	0,652
134	622	1254	5,24	51	54202	5,715	239925,0	0,637	1,096	0,731
135	1306	1248	7,66	51	27479	1,228	30351,4	0,323	0,139	0,866

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f*/2 (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
136	537	1254	4,93	51	40716	3,172	111890,0	0,479	0,511	0,813
137	670	1258	5,41	50	29670	1,315	35765,3	0,349	0,163	0,770
138	1227	1259	7,38	50	31266	1,821	51869,8	0,368	0,237	0,796
139	1300	1262	7,64	50	34535	2,146	62416,9	0,406	0,285	0,853
140	825	1279	5,96	49	48396	3,909	135642,0	0,569	0,619	0,667
141	1188	1278	7,25	49	41193	2,883	97065,6	0,484	0,443	0,797
142	1226	1280	7,38	49	42206	2,211	80297,7	0,496	0,367	0,800
143	1123	1280	7,02	49	27380	1,286	32398,4	0,322	0,148	0,787
144	1410	1282	8,03	49	36044	2,912	97220,0	0,424	0,444	0,885
145	1247	1285	7,45	49	45201	3,100	122224,0	0,532	0,558	0,636
146	1298	1291	7,64	49	47450	4,147	172547,0	0,558	0,788	0,745
147	1149	1291	7,11	49	27786	2,478	65500,8	0,327	0,299	0,828
148	533	1293	4,92	49	29170	1,582	41812,8	0,343	0,191	0,821
149	1261	1300	7,50	48	48652	3,880	163549,0	0,572	0,747	0,554
150	1188	1299	7,25	48	46566	3,439	145316,0	0,548	0,664	0,731
151	1113	1299	6,98	48	29974	1,626	44263,5	0,352	0,202	0,905
152	1224	1301	7,37	48	42598	2,406	91796,4	0,501	0,419	0,871
153	1329	1303	7,75	48	46759	4,292	177312,0	0,550	0,810	0,794
154	988	1313	6,54	47	27190	1,235	29936,3	0,320	0,137	0,871
155	1550	1315	8,46	47	35258	2,139	65255,5	0,415	0,298	0,815
156	1143	1317	7,09	47	28882	2,059	53313,5	0,340	0,243	0,855
157	1184	1319	7,23	47	42168	2,139	76262,0	0,496	0,348	0,821
158	1112	1320	6,98	47	30117	1,662	46027,3	0,354	0,210	0,769
159	1258	1322	7,49	47	46491	2,399	96609,6	0,547	0,441	0,789
160	667	1322	5,40	47	22685	1,568	31833,5	0,267	0,145	0,873
161	766	1339	5,75	46	25699	1,727	40064,6	0,302	0,183	0,799
162	1239	1342	7,43	46	37382	1,459	49637,6	0,440	0,227	0,855
163	1532	1345	8,41	46	26963	1,199	30219,9	0,317	0,138	0,838
164	1388	1352	7,95	45	42341	2,839	106756,0	0,498	0,488	0,816
165	1464	1352	8,20	45	42289	3,555	124028,0	0,497	0,566	0,796
166	614	1353	5,21	45	30397	1,972	54451,0	0,357	0,249	0,872
167	552	1356	4,99	45	26749	1,676	42566,7	0,315	0,194	0,829
168	433	1356	4,56	45	25553	1,712	40123,3	0,300	0,183	0,792
169	1199	1366	7,28	45	37436	1,416	47718,8	0,440	0,218	0,812
170	1340	1385	7,78	44	49654	7,752	346561,0	0,584	1,583	0,708
171	1483	1374	8,26	44	34614	0,968	31264,9	0,407	0,143	0,908
172	1297	1378	7,63	44	34815	1,149	37860,5	0,409	0,173	0,893
173	1228	1380	7,39	44	37591	1,669	59393,0	0,442	0,271	0,758
174	1206	1384	7,31	44	35401	2,182	72828,0	0,416	0,333	0,809
175	1256	1384	7,49	44	36255	2,471	81550,5	0,426	0,372	0,735
176	570	1389	5,05	44	26510	2,225	53279,4	0,312	0,243	0,819
177	508	1387	4,83	44	25808	1,366	33079,3	0,303	0,151	0,751
178	1518	1392	8,36	43	35399	2,565	81255,4	0,416	0,371	0,825

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f2* (pH3-10 NL)

(continua)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
179	1554	1391	8,47	43	32760	2,204	66486,5	0,385	0,304	0,754
180	620	1393	5,23	43	26722	2,413	58497,9	0,314	0,267	0,794
181	538	1393	4,94	43	27865	1,857	44860,3	0,328	0,205	0,843
182	1116	1404	6,99	43	24147	2,254	45154,9	0,284	0,206	0,758
183	1332	1411	7,76	43	46784	3,230	129513,0	0,550	0,591	0,605
184	1598	1413	8,60	42	33651	1,770	54662,0	0,396	0,250	0,819
185	1523	1416	8,38	42	32633	1,113	34807,1	0,384	0,159	0,919
186	1419	1431	8,06	42	52018	7,427	323750,0	0,612	1,479	0,764
187	1225	1424	7,38	42	42115	3,547	126557,0	0,495	0,578	0,784
188	1500	1428	8,31	42	38735	3,114	101674,0	0,456	0,464	0,843
189	1339	1430	7,78	42	50171	4,140	176437,0	0,590	0,806	0,706
190	1344	1477	7,80	39	34023	1,669	49244,3	0,400	0,225	0,787
191	1706	1481	8,92	39	33854	2,037	60195,8	0,398	0,275	0,782
192	666	1483	5,40	39	22164	2,218	41253,8	0,261	0,188	0,691
193	1249	1508	7,46	38	26012	3,417	80754,4	0,306	0,369	0,840
194	1161	1506	7,15	38	40856	1,662	44872,0	0,480	0,205	0,822
195	1451	1536	8,17	37	29472	1,149	31116,5	0,347	0,142	0,850
196	1393	1589	7,97	35	32196	1,944	55688,5	0,379	0,254	0,843
197	196	1637	3,70	33	29336	3,930	96919,6	0,345	0,443	0,820
198	343	1644	4,23	33	37830	4,133	133818,0	0,445	0,611	0,770
199	311	1695	4,12	31	43222	6,416	225025,0	0,508	1,028	0,793
200	1727	1707	8,99	31	29541	7,377	183670,0	0,347	0,839	0,717
201	361	1720	4,30	30	31008	3,049	85118,3	0,365	0,389	0,814
202	1330	1723	7,75	30	33842	2,406	70093,4	0,398	0,320	0,745
203	249	1741	3,89	30	30884	5,657	152939,0	0,363	0,698	0,757
204	656	1755	5,36	29	23983	3,591	79498,7	0,282	0,363	0,791
205	326	1756	4,17	29	29479	3,446	93422,5	0,347	0,427	0,622
206	267	1763	3,96	29	30496	3,454	90148,9	0,359	0,412	0,475
207	982	1775	6,52	29	25702	1,900	45535,4	0,302	0,208	0,818
208	1400	1782	8,00	29	31406	1,597	45784,2	0,369	0,209	0,812
209	985	1791	6,53	28	26423	1,857	43664,7	0,311	0,199	0,738
210	752	1790	5,70	28	23612	1,105	24329,6	0,278	0,111	0,818
211	808	1817	5,90	28	24228	1,416	31714,4	0,285	0,145	0,788
212	596	1826	5,14	27	25606	3,186	71990,0	0,301	0,329	0,816
213	1412	1845	8,04	27	61639	20,786	1100662,0	0,725	5,027	0,652
214	744	1849	5,67	27	34770	3,511	104346,0	0,409	0,477	0,729
215	577	1853	5,08	27	25909	3,432	81986,3	0,305	0,374	0,762
216	1207	1864	7,31	26	44926	7,962	294764,0	0,528	1,346	0,764
217	1244	1866	7,44	26	41640	6,004	216802,0	0,490	0,990	0,756
218	800	1864	5,87	26	39656	4,176	134140,0	0,466	0,613	0,693
219	1417	1882	8,06	26	61654	16,018	854751,0	0,725	3,903	0,520
220	434	1897	4,56	25	21091	1,286	25200,1	0,248	0,115	0,777
221	1433	1919	8,11	25	61445	7,326	416179,0	0,723	1,901	0,789

Tabela 34 – Análise de spots* de glutelina de endosperma de *f12* (pH3-10 NL)

(conclusão)

SpotID	X	Y	Pi	Mw	Od	Area	Vol	%Od	%Vol	Circularity
222	228	1919	3,82	25	36663	5,426	164414,0	0,431	0,751	0,671
223	1261	1918	7,50	25	39176	4,602	153446,0	0,461	0,701	0,751
224	1393	1917	7,97	25	58219	4,494	183420,0	0,685	0,838	0,524
225	1402	1933	8,00	25	59767	4,075	167739,0	0,703	0,766	0,816
226	995	1952	6,56	24	26444	2,153	47582,0	0,311	0,217	0,749
227	1575	1971	8,53	24	59569	8,771	444321,0	0,701	2,029	0,602
228	1786	1967	9,16	24	42068	3,526	127347,0	0,495	0,582	0,611
229	1845	1968	9,34	24	39112	3,909	134690,0	0,460	0,615	0,697
230	1411	1993	8,04	23	62959	10,216	580360,0	0,740	2,650	0,797
231	1440	1996	8,13	23	61479	5,939	334009,0	0,723	1,525	0,675
232	1866	1997	9,40	23	51104	3,995	160370,0	0,601	0,732	0,798
233	1203	1997	7,30	23	33778	2,861	83916,9	0,397	0,383	0,733
234	1251	1996	7,47	23	30365	2,666	73780,7	0,357	0,337	0,812
235	1363	2006	7,87	23	61187	7,565	388793,0	0,720	1,776	0,768
236	1400	2029	8,00	22	63334	8,106	453432,0	0,745	2,071	0,778
237	1432	2025	8,11	22	61736	3,952	188126,0	0,726	0,859	0,622
238	1830	2025	9,29	22	31326	4,884	128583,0	0,368	0,587	0,529
239	1565	2034	8,50	22	54804	7,492	338051,0	0,644	1,544	0,523
240	1426	2106	8,09	19	43307	4,523	154759,0	0,509	0,707	0,610
241	1429	2132	8,10	18	24900	2,088	43294,0	0,293	0,198	0,687

*Análises comparativas através do programa Melani versão-3.