



ESTUDO DA BIOSÍNTESE PROTÉICA E EFEITO DE NUTRIENTES E GENES, SOBRE
O PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO E FORMAÇÃO PROTÉICA NO MILHO (Zea
mays, L.) NORMAL E OPACO-2

ALTAIR TOLEDO MACHADO

1985

00779

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUÇÃO	1
II. BIOSSÍNTESE DA PROTEÍNA	2
II.a. Caminhos e mecanismos da biossíntese protéica ..	2
II.b. Biossíntese protéica	3
III. REQUERIMENTO, ACÚMULO E EFEITO DOS NUTRIENTES NO MILHO DURANTE DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO	3
IV. ESTUDO DO EFEITO DOS GENES DURANTE O PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO	6
IV.a. Alterações químicas durante o processo de germinação	6
IV.b. Efeito dos genes do endosperma durante o desenvolvimento das sementes	7
V. ENZIMAS DE ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO DURANTE O DESENVOLVIMENTO EM MILHO NORMAL E OPACO	8
VI. INDUÇÃO DA ATIVIDADE DE NITRATO REDUTASE NO DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE MILHO NORMAL E OPACO	9
VII. EFEITO DA FERTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO E QUALIDADE PROTÉICA DE MILHOS NORMAIS E OPACO	10
VII.a. Acúmulo diferencial de aminoácidos e proteínas no grão	10
VII.b. Efeito da fertilização na qualidade protéica propriamente dita	11
VIII. CONCLUSÕES E POTENCIAL PARA O MELHORAMENTO DE PLANTAS COM QUANTIDADE E QUALIDADE PROTÉICA	12
IX. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	14

I. INTRODUÇÃO

O milho é utilizado em larga escala na alimentação humana e animal, sendo considerado alimento energético, em razão de seu elevado teor de hidratos de carbono.

As alterações na composição química da semente, devido à presença de genes que atuam no endosperma, têm sido extensivamente estudadas por geneticistas e bioquímicos vegetais, bem como por melhoristas, no sentido de se elevar o teor protéico do milho. Por esta razão, as características que têm recebido maior atenção, referem-se às mudanças na qualidade protéica e quantidade de polissacarídeos no endosperma, uma vez que são acondicionadas por sistemas genéticos simples.

Com a descoberta do mutante *Opaco-2*, que modifica a síntese das proteínas no milho, diminuindo a fração álcool solúvel (zeína) e aumentando a síntese de frações hidrossolúveis (albumina e glutelina), que são ricas em aminoácidos essenciais, incluindo triptofano e lisina, segundo MERTZ *et alii* (1964), um grande impulso foi dado no estudo de milho com maior valor nutritivo.

Com o aumento destes dois aminoácidos essenciais, o milho torna-se importante fonte de proteína de boa qualidade.

Como o gene o_2 bloqueia parcialmente a síntese de zeína, é possível que as adubações não afetem, substancialmente, a proporção dos aminoácidos essenciais na proteína do grão do milho *Opaco* e, por este motivo, uma série de novas pesquisas podem ser realizadas, como por exemplo, a obtenção de materiais com alta qualidade protéica a partir de genótipos que possuam alta eficiência na absorção de adubos e/ou alto potencial de fixação de nitrogênio.

Estaremos com isso atendendo às classes populacionais, notadamente as mais carentes, utilizando materiais que apresentem

alto valor nutricional, que serão obtidos a preços mais baixos, devido principalmente, à eficiência e/ou à fixação de nitrogênio que estes materiais possuem. Enfim, essa é a proposta desse trabalho, um trabalho que até então não foi realizado e que poderá dar uma grande contribuição à pesquisa brasileira.

A seguir, passaremos a considerar alguns pontos relevantes para que possamos compreender melhor como esses vários mecanismos citados, ocorrem.

II. BIOSÍNTESE DE PROTEÍNA

Nas plantas, os aminoácidos são sintetizados nas raízes e são transportados para centros de síntese protéica. A síntese de proteína ocorre sobre os organismos celulares, frequentemente livres ou sobre polirribossomas do citoplasma. Também os cloroplastos e mitocôndrias têm todos os componentes necessários para a síntese protéica. Provavelmente, cada grupo sintetiza diferentes tipos de proteínas.

II.a. Caminhos e mecanismos da biossíntese protéica

A síntese protéica é caracterizada por transcrição e tradução.

As informações genéticas existem na sequência particular de bases do DNA, sendo cada gene determinado por uma posição definida no cromossomo. O RNA-m no núcleo é induzido por uma enzima específica, a RNA-polimerase. O codon do DNA serve como matriz para a síntese do codon do RNA complementar. Assim, o RNA-m, contém a cópia da informação genética. Esse processo é chamado de transcrição. O RNA-m sai do núcleo, move-se dentro do citoplasma e fixa-se no ribossomo ou no conjunto de ribossomos no qual será realizada a síntese protéica.

As bases específicas triplas do RNA-m, os Codons, são complementados por bases triplas levadas pelo RNA-t, que são anticodons, e cada aminoácido no citoplasma tem um transferidor (RNA-t) específico.

O processo, no qual o RNA-T transporta seu aminoácido para o ribossomo e fixa seu anticodon no codon do RNA-m, é chamado de Tradução, através da seqüência de aminoácidos determinados pelo RNA-m específico que poderá atuar em reações definidas no metabolismo da planta.

II.b. Biossíntese da Proteína

O mecanismo da biossíntese inclui diferentes etapas. A 1ª é a formação do aminoacil-RNA-t, em 2 estágios de reações catalisadas por uma simples enzima, a aminoacil-RNA-t sintetase, que é hábil para organizar aminoácidos em seu RNA-t. O aminoácido reage com o ATP, para a ativação do grupo carboxil, resultando num complexo enzima-aminoacil-adenilato, pela quebra do pirofosfato. A segunda etapa é a transferência e fixação desse complexo para o RNA-t específico, onde o AMP e a enzima poderiam ser liberados. O resultado é um aminoácido RNA-t. Esse "aminoácido ativado" poderá transferir seu potencial através do RNA-t, que o carregará até os ribossomos, onde se associarão com o RNA-m.

III. REQUERIMENTO, ACÚMULO E EFEITO DOS NUTRIENTES NO MILHO DURANTE DIFERENTES ESTÁGIOS DE DESENVOLVIMENTO

O Nitrogênio

O milho normalmente absorve nitrogênio nas formas de amônia ou nitrato, variando com a idade da planta.

Plantas jovens absorvem amônia mais rapidamente e plantas adultas absorvem nitrato em maior quantidade (COIC, 1964).

A síntese de aminoácidos ocupa uma posição central no metabolismo do nitrogênio, e tanto o nitrato como a amônia, podem ser transformados em aminoácidos e proteínas e assim utilizados em diferentes funções do desenvolvimento.

O requerimento de nitrogênio varia consideravelmente com os diferentes estágios de desenvolvimento da planta, sendo mínimo no estágio inicial. É incrementado com o crescimento da planta, atingindo o pico entre o florescimento e formação dos grãos.

Logo após o florescimento, a quebra de proteína pela proteólise ocorre em todos órgãos vegetativos, possivelmente incluindo as raízes.

Cerca de 65% do nitrogênio presente nas partes vegetativas é translocado para a espiga, principalmente da base e do colmo (KISSEL & REGLAND, 1967). De acordo com HAY *et alii* (1953), 40% do suprimento do nitrogênio para o grão resulta da absorção direta pela raiz e 60% de translocações de diversas partes das plantas.

O Fósforo

O fósforo é absorvido principalmente como o íon $H_2PO_4^-$. O fosfato desempenha um papel chave no metabolismo energético, e incorporado no trifosfato de adenosina, ATP, é parte da "moeda energética" universal de todas as células vivas de quaisquer espécies.

As quantidades de fósforo presentes nos tecidos das plantas do milho são muito menores do que os dois maiores nutrientes: nitrogênio e potássio. Estes representam cerca de 1/10 e 1/5, respectivamente.

O suprimento do fósforo nos estágios iniciais é de grande importância, afetando os primeiros estágios da plântula.

O milho acumula fósforo com máxima ocorrência entre a terceira e sexta semana de crescimento.

Após a polinização o suprimento de fósforo para o de-

Desenvolvimento do grão é muito intensivo. A absorção de fósforo pelas raízes é ativa durante o período de formação de espiga e maturidade.

A translocação do fósforo para o grão ocorre um pouco mais tarde do que a do nitrogênio, mas é mais completa, 75% do fósforo total presente nas partes vegetativas movem-se para a espiga. Estima-se que metade ou mais do fósforo no grão é derivado da translocação de outras partes do grão.

A taxa de translocação do fósforo para o grão depende, em grande parte, dos níveis de nitrogênio. Em plantas que receberam quantidades adequadas de nitrogênio, 90% do fósforo acumulado nas partes vegetativas migram para o grão, enquanto que em plantas deficientes de nitrogênio, essa translocação pode baixar em até 40%.

O Potássio

O potássio é um cátion monovalente, geralmente indispensável para toda a vida dos organismos, e sua concentração nos tecidos das plantas é excessiva em relação a outros cátions. Ele é um elemento muito importante nos processos fisiológicos da planta. A fotossíntese pode ser diminuída e a respiração aumentada sob condições de deficiência de potássio. De particular interesse é a habilidade do potássio para incrementar fotossíntese sob condições de baixa intensidade de luz e também por fazer maior uso da luz em condições de alta intensidade.

A taxa de acúmulo de potássio durante os 30 primeiros dias de crescimento excede a do nitrogênio e do fósforo.

Menores quantidades de potássio do que nitrogênio ou fósforo movem-se das partes vegetativas para a espiga. Cerca de 23% do potássio proveniente de partes vegetativas é utilizado no desenvolvimento da espiga.

Dentre os microelementos podemos detectar o enxofre,

constituente de alguns aminoácidos do ferro com papel importante na fotossíntese, respiração e fixação de nitrogênio. O desempenho do magnésio como ativador de enzimas relacionados com o metabolismo energético, o manganês também como ativador de algumas enzimas, assim como o zinco e cobre, o cálcio como principal elemento da parede celular e o cobalto e molibdênio com papel importante na fixação de nitrogênio, são os principais minerais de interesse na biossíntese protéica.

IV. ESTUDO DO EFEITO DOS GENES DURANTE O PROCESSO DE DESENVOLVIMENTO

IV.a. Alterações químicas durante o processo de germinação

Em cereais, o endosperma é o principal tecido responsável pelo acúmulo de reservas que serão utilizadas pelo embrião no início de seu desenvolvimento. Estas reservas compreendem carboidratos, proteínas, lipídeos e outros componentes necessários para o crescimento inicial do embrião:

As proteínas de reserva foram originalmente estudadas em plantas por OSBORNE (1908), que classificou-as de acordo com sua solubilidade em soluções aquosas. As proteínas solúveis em água são as albuminas, as solúveis em soluções salinas, as globulinas, as solúveis em álcool, as prolaminas e, finalmente, as solúveis em soluções básicas, as glutelinas. As albuminas e globulinas têm funções notadamente enzimáticas na semente, sendo mais abundante no eixo embrionário e escutelo. As prolaminas e glutelinas são principalmente proteínas de reserva e estruturais do endosperma.

O carboidrato mais abundante no endosperma de cereais é o amido, um polissacarídeo constituído por dois polímeros de glicose, um de cadeia linear, a amilose, e outro de cadeia ramificada, a amilopectina.

O processo de germinação inicia-se com a embebição, que, em seguida, desencadeia a hidrólise das reservas da semente. Os produtos hidrolisados são utilizados pelo eixo embrionário para a síntese de protoplasma e componentes estruturais que, conseqüentemente, trazem o crescimento da plântula.

Esse crescimento é caracterizado por uma diminuição do material armazenado no endosperma e um aumento do material da plântula, sugerindo, obviamente, que as reservas do endosperma estão sendo utilizadas para o crescimento e desenvolvimento do eixo embrionário.

A degradação do endosperma é feita por enzimas (proteases e amilases) que podem ser encontradas na sementes antes da embebição ou ainda, serem sintetizadas novamente no início da germinação, como no caso da α -amilase.

Em endosperma normal de milho, as quantidades absolutas de ácido aspártico, glicina e lisina aumentam durante a germinação, enquanto que ácido glutâmico, leucina, prolina e alanina decrescem.

TSAI *et alii* (1978) verificaram que durante a germinação do milho *Opaco*, há um aumento no nível total de lisina e triptófano com um correspondente declínio na zeína.

IV.b. Efeito de genes do endosperma durante o desenvolvimento das sementes

Entre os genes que atuam na síntese de proteínas do endosperma, encontramos o *Opaco-2*, capaz de elevar o teor de lisina no endosperma.

Análises químicas do endosperma *o-2* mostram que há uma drástica mudança no padrão de aminoácidos em relação ao endosperma normal. A quantidade de zeína é diminuída em cerca de 50%, as albu-

minas + globulinas e fração de aminoácidos livres aumentam em 2,3 vezes, enquanto que as glutelinas são aumentadas em cerca de 45%.

Segundo MARTINS (1983), o gen *Opaco-2* afeta o processo de absorção de água durante a germinação de sementes mutantes, devido às alterações físicas e químicas condicionadas por este gene durante o desenvolvimento do endosperma.

Durante a germinação, estes genes interferem nas épocas de atuação das enzimas amiláceas e proteolíticas, fazendo com que a matéria seca e as reservas nitrogenadas sejam utilizadas em épocas distintas. O gen *Opaco-2* condiciona uma utilização mais lenta das reservas do endosperma durante a germinação.

O gen *Opaco-2*, além de alterar a composição de aminoácidos do endosperma, afeta também a composição de aminoácidos da plântula. Todavia, o teor de lisina no endosperma e plântula desse mutante é bem superior ao tipo normal.

Durante a germinação, as reservas nitrogenadas do endosperma são utilizadas mais rapidamente que as reservas amiláceas, tanto em endospermas normais como nos mutantes. Isso faz com que a relação entre nitrogênio e matéria seca, ou mais indiretamente, nitrogênio/carbono, difira bastante no endosperma, na germinação e durante a formação da semente. Conseqüentemente, no início do desenvolvimento, a porcentagem de nitrogênio é bastante elevada na plântula, fator esse incrementado pela alta porcentagem de proteína encontrada inicialmente no embrião.

V. ENZIMAS DE ASSIMILAÇÃO DE NITROGÊNIO DURANTE O DESENVOLVIMENTO EM MILHO NORMAL E OPACO

Segundo MISSRA & OAKS (1981), prolamina (zeína em milho) e amido são os produtos em maiores quantidades no cereal. A fração zeína zeína é incrementada com a elevação dos níveis de fertili

zação nitrogenada, enquanto as frações protéicas não zeínas mostram uma menor resposta.

Em mutantes de alta lisina em milho, a síntese de zeína é reduzida.

Além da síntese de prolamina, diferenças maiores existem no metabolismo de variedade normal e *opaco*. Os resultados de diversos trabalhos mostraram acúmulos maiores de glutamato, glutamina, aspartato e asparagina em mutantes *Opaco-2*, do que o tipo normal. O acúmulo destes aminoácidos pode reduzir a síntese de zeína. Glutamina, por exemplo, é o aminoácido transportado em maior quantidade para o endosperma.

As enzimas glutamina-sintetase, asparagina-sintetase, glutamato desidrogenase e asparaginase não diferem significativamente entre as variedades mutantes e normais. Glutamato sintetase por sua vez, foi superior nos mutantes *Opaco-2* e é importante no metabolismo da glutamina.

VI. INDUÇÃO DA ATIVIDADE DA NITRATO-REDUTASE NO DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE MILHO NORMAL E *OPACO*

Segundo o trabalho de SRIVASTAVA (1979); demonstra-se que níveis uniformes de atividade de nitrato-redutase em sementes de milho são menores em mutantes de alta lisina *Opaco-2* do que em relação ao cultivar normal.

Por outro lado, os níveis de atividade da peroxidase foram superiores nos mutantes e pode ser notado que níveis uniformes da nitrato-redutase e peroxidase respondem diferentemente à luz. Enquanto que a luminosidade induz a atividade de nitrato redutase, ela inibe a peroxidase nas raízes ou não tem efeito na plântula.

Outro exemplo da resposta diferencial dessas duas enzimas às mudanças ambientais é a inibição da indução do substrato da

nitrato-redutase pelo molibdênio, que não tem efeito de peroxidase, e há um decréscimo do nível de nitrato-redutase com o correspondente aumento no nível de peroxidase à noite.

O fato é que nível baixo de atividade de nitrato-redutase ocorre mais em mutantes de alta lisina do que seu tipo normal, e isso é devido possivelmente, ao efeito inibitório da lisina. Alguns trabalhos como os de SRISTAVA (1972) e OAKS *et alii* (1977) têm mostrado que a presença de lisina exógena inibe a atividade de nitrato-redutase nas raízes de híbridos de milho, onde prolina não têm efeito.

Isto pode indicar que a lisina atua através de nitrato sobre a estabilidade enzimática. O efeito é mais pronunciado no escutelo do que no endosperma.

Assim, é possível concluir que lisina no *Opaco-2* decresce a atividade, interferindo com a estabilidade enzimática através de outros aminoácidos e através de fatores envolvidos na redução de nitrato.

Esta interferência pode estar ocorrendo diretamente ou através de certos inibidores específicos (WALLACE, 1973, 1974).

VII. EFEITO DA FERTILIZAÇÃO NA PRODUÇÃO E QUALIDADE PROTÉICA DE MILHOS NORMAL E *OPACO*

VII.a. Acúmulo diferencial de aminoácidos e proteínas no grão

Segundo CRAWFORD & RENOLIG (1981), o gen *Opaco-2* diminuiu as taxas de acúmulo de metionina, treonina, isoleucina, fenilalanina, serina, alalina e leucina, enquanto incrementou as taxas de acúmulo de lisina em relação ao seu tipo normal.

A presença do gen *Opaco-2* tende a manter constante as taxas de acúmulo de nitrogênio em lisina, treonina, isoleucina e me

tionina, comparados ao acúmulo das taxas de nitrogênio na fração aspartato durante os 36 dias após a polinização, enquanto o grão do genótipo normal, as taxas foram bastantes incrementadas.

VII.b. Efeito da fertilização na qualidade protéica

Produção e qualidade de proteínas e são os resultados de muitos fenômenos metabólicos na planta. Em cada etapa metabólica, diferentes íons minerais são incluídos. Por algum momento, na etapa de redução do nitrato, não somente nitrogênio mas também fósforo e molibdênio participam. Na etapa seguinte do caminho no nitrogênio, outros íons (cobre, manganês) são concernidos. No metabolismo do nitrogênio, muitos íons minerais podem influenciar na produção de proteína. Assim, vários fertilizantes minerais podem causar mudanças complexas próximas à raiz, contribuindo, quando bem supridas, para melhorar a produção de proteína. Entre todos os nutrientes o nitrogênio aparece como o principal para incrementar a síntese protéica.

Um dos principais problemas é estudar o efeito do nitrogênio sobre produção e conteúdo de lisina e proteína, onde sabemos que diferenças genéticas e fertilização (ambiente) têm grande influência.

Segundo RENDING & BORADBEN (1979), a concentração na proteína do grão de triptofano, lisina, glicina, arginina e treonina decrescem e as concentrações de alanina, fenilalanina, tirosina, ácido glutâmico e leucina aumentam pela aplicação de nitrogênio. As diferenças na concentração de aminoácidos no grão foram, em parte, explicáveis pelas diferenças na concentração da fração protéica prolamina (zeína).

Resultados semelhantes foram observados por EPPENDORFER (1975). Ele estabeleceu que um incremento no conteúdo de proteína

foi acompanhado pelo decréscimo na proteína de lisina, triptofano e metionina, quando o nível de N é aumentado.

Segundo TSAI *et alii* (1983), estabeleceram que em contraste ao milho normal, a concentração de lisina do milho *Opaco* não decresce com o incremento de N no grão, mas a metionina decresce em ambos.

DECAU (1975), concluiu que a produção de lisina torna-se maior no mutante do que no milho normal quando recebem o mesmo tratamento de nitrogênio. Considerando-se que o valor nutricional do grão *opaco* é superior ao normal, e que em relação ao *opaco* o incremento de aplicações de fertilizantes contribui para aumentar ambos quantidade e qualidade protéica, quebrando o antagonismo quantidade-qualidade de proteína que é frequentemente encontrado.

VIII. CONCLUSÕES E POTENCIAL PARA O MELHORAMENTO DE PLANTAS COM QUANTIDADE E QUALIDADE PROTÉICA

Quantidade de proteína pode ser considerada como a quantidade de proteína por unidade de peso do grão, ou a produção de proteína por unidade de área. Qualidade de proteína está de acordo com a finalidade, mas pode ser definida pela composição de aminoácidos e outras proteínas estruturais características, determinando a qualidade do grão.

De uma maneira geral, é possível identificar certos fatores limitantes que podem ser envolvidos na quantidade e qualidade das proteínas nas sementes. A quantidade total de proteínas pode estar limitada pela quantidade de nitrogênio absorvida e a porcentagem de nitrogênio transferida para o grão. A porcentagem da composição protéica da semente pode também depender da composição genética e da quantidade de aminoácidos sintetizados. A composição de aminoácidos da proteína total depende da composição da cada proteína

individual especificada pelo seu gene e a relativa quantidade de cada componente sintetizado. Os fatores de controle não são bem sucedidos, mas podem ser enumerados como: (a) variabilidade de aminoácidos que funcionam na composição de interconversão na semente; (b) controle genético e a síntese de proteínas específicas e (c) efeitos hormonais e ambientais.

Em termos de aumento da quantidade de proteínas existe a possibilidade de melhoramento. Os fatores importantes são o incremento de nitrogênio absorvido dentro da planta e o transporte de nitrogênio dentro do grão. Diferenças varietais nessas propriedades ocorrem e podem ser exploradas pelos melhoristas de plantas. Mais estudos, de qualquer modo, são requeridos para análises externas e fatores genéticos que afetam essas propriedades e a compreensão de aspectos fisiológicos do problema.

A identificação da necessidade nutricional de certos aminoácidos em humanos e outros animais é definida como um problema básico.

A separação de aminoácidos e suas análises subsequentes na proteína da planta ajuda na verificação da capacidade e do potencial dessas plantas, dentro das necessidades de alimentação observa-se também que em pesquisas que visam aumentar o teor protéico do grão, normalmente são estudados caracteres agronômicos, genéticos e ambientais (fertilização) (MIFLIN, 1975).

Pesquisas atuais mostram que a chave do processo regulatório nesses mutantes é a relativa quantidade de síntese de diferentes grupos de proteínas alojadas. Ainda dentro destas pesquisas atuais, procura-se obter melhor compreensão de como a planta regula a síntese dessas proteínas alojadas. Apesar do grande incremento nessas pesquisas, vários problemas ainda existem, principalmente devido a certas propriedades do endosperma nesses mutantes, que afetam o seu

uso. Estudos conjuntos de bioquímica, adubação e fatores genéticos poderão, todavia, incrementar materiais com alta quantidade e qualidade protéica, bem como, com alta produtividade e bons caracteres agronômicos, introduzindo, com isso, materiais que com uma adubação mínima atinjam um máximo de quantidade e qualidade protéica, obtendo-se, desta maneira, um alimento de boa qualidade e a baixo custo de produção.

IX. BIBLIOGRAFIA CITADA

1. COIC, M.Y. 1964. Sur le determinisme de l'absorption des cations minéraux par les gennes et les especes vegetables: influence de la localisation du metabolisme de l'azote. Cr. Academ. Agr. Fr. 50: 952-82.
2. CRAWFORD, T.W. & V.V. RENDING, 1981. Accumulation of amido acid nitrogen and acid-hydrolyzable ammonium nitrogen in *Opaque-2* and normal maize grain. Maydica 28: 11-26.
3. DECAU, J. 1975. Potential of new varieties of cereals in regard to improvement of protein quality in response to fertilization. In fertilizer use and protein production. Inst. Potash. Inst. Borne 227-285.
4. EPPENDORFER, W.H. 1975. Effects of fertilizers on quality and nutritional value of grain protein. In fertilizer use and protein production. Inst. Potash. Inst. Borne 249-261.
5. HAY, R.E.; EARLY, E.B. & DE TURK, E.E. 1953. Concentration and translocation of nitrogen compounds in the corn plant (*Zea mays*) during grain development. Pl. Physiol. 28: 606-621.
6. KISSEL, D.E. & REGLAND, J.L. 1967. Redistribution of nutrient elements in corn (*Zea mays*). N, P, K, and Mg redistribution in the absence of nutrient accumulation after siling. Proc. Soil Sci. Soc. Am. 31: 227-230.

7. MARTINS, C.M.C. 1983. Estudos de efeitos dos genes *Opaque-2*, *Shrunken* e *Shrunken-2* durante a germinação do milho. Tese de Mestrado, Campinas, UNICAMP.
8. MERTZ, E.T.; BATES, L.S. & NELSON, O.E. 1964. Mutant genes that genes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. Science endosperm. Science 145 (3629): 279-280.
9. MISSRA, S. & AOKS, A. 1981. Enzymes of nitrogen assimilation during seed development in normal and high lysine mutants in maize (*Zea mays*, W 64 A). Can. J. Bot. 59: 2735-2743.
10. OAKS, A.; ASLAM, M. & BOESEL, I. 1977. Ammonium and amino acids as regulators of nitrate reductase in corn roots. Plant Physiol: 59: 391-394.
11. OSBORNE, T.B. and CLAPP, S.H. 1908. Hydrolysis of the proteins maize (*Zea mays*). Am. J. Physiol. 20: 477-493.
12. RENDING, V.V.; BROADBENT, F.E. 1979. Proteins and amino acids in grain of maize grown with various levels of applied N. Agronomy Journal, 71:509-512.
13. SRIVASTAVA, H.S. 1972. Nitrate assimilation in the seedlings of *Zea mays* L. Thesis, Mc Master University, Hamilton.
14. SRIVASTAVA, H.S.; ASTHANA, J.S. & JAIN, A. 1979. Induction of nitrate reductase and peroxidase activity in the seedlings of normal and high lysine maize. Physiol. Plant. 47: 119-123.
15. TSAY, C.Y.; HUBER, D.M. & WARREN, H.L. 1978. Relationship of the kernel sink for N to maize productivity. Crop. Sci. 17: 399-404.
16. TSAY, C.Y.; HUBER, D.M.; WARREN, H.L. & BRESSMAN, R.A. 1983. Interactions between the kernel N. Sink, grain, yield and protein nutritional quality of maize. C.J. Sci. Food Agric. 34: 255-263.
17. WALLACE, W. 1973. A nitrate reductase inactivating enzyme from the maize root. Plant Physiol. 52: 197-201.
18. WALLACE, W. 1974. Purification and properties of a nitrate reductase inactivating enzyme. Biochem. Biophys. Acta. 341: 265-276.