

# AÇÃO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NOS TEORES DE PROTEÍNA E AMINOÁCIDOS EM SOJA (*Glycine max* cv. Davis)<sup>1</sup>

P. R. C. CASTRO\*  
O. J. CROCOMO\*\*

## Summary

This research dealt with the effects of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride (CCC) at a concentration of 2 000 ppm, succinic acid-2, 2-dimethylhydrazide (SADH) 4 000 ppm, gibberellic acid (GA) 100 ppm, and indolylacetic acid (IAA) 100 ppm applied to soybean (*Glycine max*) plants, under greenhouse conditions, on the protein and aminoacid level of the seeds. Growth regulators were sprayed on leaves 21 days old and the seeds were harvested 118 days after planting. Protein levels were estimated determining total nitrogen by the micro-Kjeldehl method multiplied by 6.25. Aminoacids were determined in the automatic aminoacid analyser Beckman 120C. A completely randomized design was used and the differences were analyzed by Tukey's test at 5% level of probability. Spraying with CCC increased protein levels in seeds. The growth regulators did not promote changes in aminoacid levels in "Davis" soybean seeds.

## Introdução

**A**lterações nos níveis de proteína e aminoácidos nas sementes de plantas tratadas com reguladores de crescimento poderão vir a mostrarem-se desejadas em cultivos alimentares. Howell (8) observou que o nitrogênio total na planta de soja aproximadamente triplica durante o desenvolvimento das sementes. A porcentagem de proteína varia de acordo com a cultivar e as diferenças ambientais. Consideram-se sementes com baixo teor de proteína as que possuem 32 a 33%, sendo que aquelas com alto teor mostram 47 a 48% de proteína. O fator comumente aceito para a conversão de nitrogênio em proteína na semente de soja é de 6.25. Foram encontrados na proteína de soja 18 aminoácidos, contendo cerca de 95% de nitrogênio protéico. Traços de outros aminoácidos encontram-se provavelmente presentes. O ácido glutâmico é o aminoácido mais abundante, possuindo cerca de 19% do nitrogênio protéico. Ácido aspártico e leucina respondem cada um por cerca de

8% e arginina por 7%. Metionina é o aminoácido mais suscetível de apresentar-se deficiente quando a soja é utilizada na alimentação. Al'bert *et al.* (1) realizando determinações bioquímicas em sementes de 18 cultivares de soja desenvolvendo-se sob diferentes condições de solo e clima, notaram que o conteúdo de proteínas, lipídios, aminoácidos e a composição dos ácidos graxos dos lipídios, dependem mais das características biológicas da cultivar do que das condições ambientais. Com o aumento do teor de proteína nas sementes os teores de lisina e metionina tendem a decrescer. Com o aumento do conteúdo de óleo nas sementes, o conteúdo de ácido oleico aumenta e dos ácidos linoleico e linolênico decrescem.

Athayde (2) constatou aumento na quantidade de nitrito nos peciolos de plantas de algodoeiro tratadas com doses crescentes de cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC); sendo que a porcentagem de nitrogênio total na semente não mostrou variações significativas. Humphries (10) observou que o N total e o N protéico estavam em maiores quantidades nas folhas primárias em desenvolvimento. Quando as plantas de feijoeiro eram tratadas com CCC, atrasavam o tempo de decréscimo dos teores de N nas folhas. Em plantas tratadas com CCC o N deve mover-se mais lentamente das folhas primárias, sendo que as folhas de plantas decapitadas têm mais N porque não possuem ápice como região de utilização. Variações na proteína foliar foram correlacionadas com alterações na

1 Recebido para publicação 15 de dezembro de 1981.

\* Professor de Fisiologia Vegetal da E.S.A. "Luiz de Queiroz" - USP, Cx. Postal 9, 13 400 - Piracicaba (SP), Brasil.

\*\* Professor de Bioquímica de Plantas da E.S.A. "Luiz de Queiroz" e CENA-USP, 13 400 - Piracicaba (SP), Brasil.

clorofila durante o desenvolvimento da planta. Beiry e Smith (3) notaram que altas concentrações de CCC inibem a síntese de clorofila e proteína em segmentos foliares de cevada. Bouniols *et al.* (4) realizaram pulverização foliar com 200 a 500  $\mu$  de ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida (SADH)/ha e 1,25 a 5  $\mu$  de CCC/ha em soja 'Amsoy' no estádio de 4 folhas e 5 dias mais tarde. Verificaram que CCC melhorou a qualidade da proteína das sementes, principalmente nas parcelas sem irrigação. Castro e Gutierrez (5) notaram aumento de 2,4 para 3,0% nos teores de aminoácidos livres em folhas de algodoeiro cujas sementes foram imersas por 22 horas em solução de CCC 2 000 ppm. Ácido indolilacético (IAA) 100 ppm decresceu os níveis de aminoácidos livres de 2,4 para 1,9% peso da matéria seca.

Gowda (7) verificou que o teor de proteína nas sementes de soja mostrou-se mais elevado nas plantas tratadas com SADH 3 000 ppm. Souza *et al.* (11) efetuaram quatro aplicações foliares, em intervalos de uma semana, com soluções 0, 25, 50 e 75 ppm de ácido giberélico (GA) em plantas de soja. Na colheita observaram que a aplicação do regulador de crescimento 50 dias após o plantio pode afetar a produção de sementes. O teor de óleo mostrou-se mais elevado com a aplicação de GA 40 dias após o plantio. O nível de proteína não foi alterado com a aplicação de GA. Howell *et al.* (9) verificaram redução no número de plantas germinadas por área e na produção de soja, utilizando-se aplicação de 2 ou 8 g de giberelato de potássio por 0,035 m<sup>3</sup> de sementes. Enquanto as plantas tratadas mostraram-se mais altas no estádio inicial, na maturidade as plantas controle revelaram-se acima de 12,5 cm mais altas do que as plantas tratadas. A época de maturação e o teor de óleo e de proteína não foram alterados significativamente pelo tratamento com o regulador de crescimento.

Procurou-se no presente trabalho determinar as possíveis alterações nos teores de proteína e aminoácidos nas sementes de plantas de soja tratadas com alguns reguladores de crescimento.

#### Materiais e métodos

Iniciou-se o experimento em 20 de novembro de 1977, efetuando-se a semeadura da soja 'Davis' diretamente em vasos de cerâmica contendo 12 litros de terra. Realizaram-se os tratos culturais normais para a soja. Aplicaram-se os reguladores de crescimento em 14/12/77, através de pulverização foliar; sendo que nesta ocasião as plantas apresentavam 4 folhas definitivas. Além do controle aplicou-se cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC) 2 000 ppm, ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida (SADH) 4 000 ppm, ácido giberélico (GA) 100 ppm e ácido indolilacético (IAA) 100 ppm.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 6 repetições, tendo-se mantido uma planta por vaso e por repetição. Procedeu-se a comparação de médias pelo teste de Tukey, calculando-se a diferença mínima significativa ao nível de 5% de probabilidade. Para determinação dos teores de proteína e aminoácidos, utilizaram-se as sementes colhidas em 17/03/78. O teor de proteína foi estabelecido através da determinação da porcentagem de nitrogênio total e sua multiplicação pelo fator de 6,25, de acordo com Howell (8). A digestão para determinação do nitrogênio foi realizada com ácido sulfúrico, sendo que o extrato foi destilado pelo método micro-Kjeldahl. Os resultados obtidos referem-se à média dos valores de duas amostras. Os aminoácidos foram determinados no Analisador Automático de Aminoácidos Beckman modelo 120C, após hidrólise ácida da farinha em HCl 6N por 22 horas, segundo Spackman *et al.* (12).

#### Resultados e discussão

Não se observaram diferenças significativas nos teores de lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, castina, valina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina nas sementes da planta de soja sob ação de reguladores de crescimento (Quadro 2).

Verificou-se pela análise química de proteína nas sementes de soja, determinada em 17/03/78, que a aplicação de reguladores de crescimento efetuada em 14/12/77 causou variações significativas neste composto. Observando-se as diferenças entre as médias verificou-se teores mais elevados de proteína nas sementes das plantas de soja tratadas com CCC (Quadro 1). Humphries (10) verificou que a aplicação de CCC aumenta o teor de nitrogênio nas folhas pelo fato deste nutriente mostrar-se menos exigido nas regiões de crescimento da planta. Athayde (2) também notou que o CCC aumentou o teor de nitrato nos pécios de algodoeiro, mas este aumento não se revelou suficiente para promover variação no nível de nitrogênio nas sementes de algodão. Tal resultado pode estar relacionado com o fato de altas concentrações de CCC poderem atuar diretamente na inibição da síntese de proteína em vez de afetar a produção da GA endógena, segundo Berry e Smith (3). Bouniols *et al.* (4) observaram que o CCC melhorou a qualidade da proteína das sementes de soja. O teor de proteína nas sementes de soja mostrou-se mais elevado nas plantas tratadas com SADH, segundo Gowda (7). O teor de proteína não foi alterado significativamente pela aplicação de GA em soja de acordo com Howell *et al.* (9) e Souza *et al.* (11). Howell (8) considerou que sementes de soja com baixo teor de proteína possuem 32 a 33%, sendo que aquelas com alto teor mostram 47 a 48% de proteína. Deste modo pode-se considerar

que a soja 'Davis' possui um nível médio de proteína, pois a média do controle mostrou-se acima do limite de 33% , além de ser considerada uma cultivar com 40% de proteína na semente segundo Gomes (6).

Observando-se as diferenças entre as médias, notou-se que as plantas tratadas com CCC apresentaram teor significativamente mais elevado de proteína nas sementes em relação àquelas tratadas com SADH, ao controle e IAA (Quadro 1).

Quadro 1. Médias dos teores de proteínas em porcentagem nas sementes da planta de soja sob efeito de reguladores de crescimento. Valores correspondentes aos testes F e Tukey (5%) e ao coeficiente de variação. Médias de 6 repetições. Piracicaba, 1977/78.

Tratamento	Proteína (%)
Controle	33.16
CCC	36.85
SADH	33.03
GA	34.21
IAA	33.26
F (trat.)	4.33**
D M S. (5%)	3.21
C V (%)	5.54

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

Quadro 2. Médias dos teores de aminoácidos (AA) em g/100 g de proteína nas sementes da planta de soja sob efeito de reguladores de crescimento. Valores correspondentes aos testes F e Tukey (5%) e ao coeficiente de variação (%). Médias de 6 repetições. Piracicaba, 1977/78.

Aminoácido	Tratamentos						F	C.V.
	Controle	CCC	SADH	GA	IAA			
Lis	5.67	5.65	5.71	6.05	5.62	1.11 <sup>ns</sup>	7.18	
His	2.31	2.33	2.02	2.43	2.28	1.41 <sup>ns</sup>	13.84	
Arg	6.90	6.94	7.13	7.36	6.83	0.87 <sup>ns</sup>	8.03	
Asp.	13.35	12.77	13.19	13.55	13.58	0.51 <sup>ns</sup>	8.52	
Thr	3.86	3.52	3.98	3.88	3.69	1.91 <sup>ns</sup>	8.39	
Ser	4.73	4.67	4.70	4.52	4.34	0.47 <sup>ns</sup>	12.60	
Glu	22.41	21.98	22.43	23.28	21.92	0.53 <sup>ns</sup>	8.20	
Pro.	4.64	4.46	4.53	4.88	4.58	1.61 <sup>ns</sup>	6.63	
Gli.	5.39	5.31	5.28	5.55	5.27	0.51 <sup>ns</sup>	7.50	
Ala.	5.10	5.03	4.94	5.26	4.95	0.53 <sup>ns</sup>	8.60	
Cis.	0.71	0.69	0.73	0.79	0.72	0.49 <sup>ns</sup>	17.79	
Val.	5.55	5.72	5.58	5.65	5.56	0.18 <sup>ns</sup>	7.52	
Ile.	5.60	5.36	5.37	5.52	5.38	0.28 <sup>ns</sup>	9.20	
Leu	8.67	8.34	8.26	8.81	8.08	2.16 <sup>ns</sup>	5.95	
Tir	3.68	3.58	3.51	3.57	3.74	0.54 <sup>ns</sup>	8.63	
Phe.	5.38	5.42	5.35	5.18	5.40	0.20 <sup>ns</sup>	9.88	

ns Não significativo pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade

Aplicação de reguladores de crescimento não alterou os teores de lisina, histidina, arginina, ácido aspártico, treonina, serina, ácido glutâmico, prolina, glicina, alanina, cistina, valina, isoleucina, leucina, tirosina e fenilalanina, nas sementes de soja de acordo com as análises realizadas (Quadro 2) Athayde (2) também observou que o CCC não alterou os níveis de aminoácidos nas sementes de algodoeiro. Howell (8) verificou que o ácido glutâmico revelou-se o aminoácido mais abundante em soja, o que está de acordo com o resultado obtido no presente trabalho. A metionina mostrou-se ao nível de traços no presente ensaio, sendo que Howell (8) considerou este aminoácido o mais suscetível de apresentar-se deficiente em uma dieta alimentar com soja. Al'bert *et al.* (1) observaram que com o aumento no teor de proteína nas sementes, os teores de lisina e metionina tendem a decrescer. No presente ensaio verificou-se aumento no nível de proteína nas sementes das plantas tratadas com CCC mas o teor de lisina não apresentou decréscimo significativo em relação ao controle no tratamento com CCC. A metionina, ocorrendo ao nível de traços, não permitiu a verificação de alterações em seus níveis com os diferentes tratamentos. Castro e Gutierrez (5) observaram que aplicação de CCC aumentou o conteúdo de aminoácidos livres totais nas folhas de algodoeiro.

### Conclusões

O desenvolvimento do presente trabalho permitiu chegar-se às seguintes conclusões:

1 Tratamento com cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio aumenta o teor de proteína nas sementes de soja.

2 A soja 'Davis' mostra 33.2% de proteína nas sementes.

3 Os teores de aminoácidos nas sementes não são afetados pelos reguladores de crescimento.

4. O ácido glutâmico é o aminoácido mais abundante nas sementes de soja.

### Resumo

Este trabalho estuda o efeito da aplicação de cloreto (2-cloroetil) trimetilamônio (CCC) 2 000 ppm, ácido succínico-2,2-dimetilhidrazida (SADH) 4 000 ppm, ácido giberélico (GA) 100 ppm e ácido indolilacético (IAA) 100 ppm no teor de proteína e nos níveis de aminoácidos da semente de soja 'Davis'. Os reguladores de crescimento foram aplicados 24 dias após a semeadura, através de pulverização foliar. A colheita das sementes foi realizada 118 dias após a semeadura, sendo que o teor de proteína foi estabelecido através da determinação da porcentagem de nitrogênio total pelo método micro-Kjeldahl e multiplicação pelo fator 6.25; os aminoácidos foram determinados no analisador automático Beckman mod. 120C. Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado e procedeu-se a comparação de médias pelo teste Tukey (5%). Plantas tratadas com CCC mostraram teor mais elevado de proteína nas sementes em relação ao controle. Os teores de aminoácidos nas sementes não foram afetados pelos reguladores de crescimento.

### Literatura citada

- 1 AL'BERT, V. E., KRASIL'NIKOV, V. N., KYUZ, E. P., GORSHKOVA, E. I. e STOI-KOVA, V. Ya. Chemical composition of seeds of some soybean cultivars and changes in it under the influence of weather, soil and climatic conditions. *Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya* 12:186-191. 1976.
- 2 ATHAYDE, M. L. F. Efeitos de N e de cloreto de clorocolina (CCC) no metabolismo nitrogenado e em algumas características do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.). Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil. 1980. 94 p.
- 3 BERRY, D. R. e SMITH, H. The inhibition by high concentrations of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride (CCC) of chlorophyll and protein synthesis in excised barley leaf sections. *Planta* 91:80-86. 1970.
4. BOUNIOLS, A., DECAU, J., PACE, A., MON-DIES, M. e PUJOL, B. Influence de régulateurs de croissance (B9 et CCC) sur le développement et la fructification de cultures de soja (*Glycine max* L. Merrill) placées dans différentes conditions d'alimentation hydrique et de compétition intraspécifique. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie de Sciences 286:1673-1676. 1978.
5. CASTRO, P. R. C. e GUTIERREZ, L. E. Chemical changes in *Gossypium hirsutum* L. cv. IAC-17 after treatment with growth regulators. Supplement to Plant Physiology 65:100. 1980.
6. GOMES, P. A. soja. São Paulo, Livraria Nobel, 1975. 152 p.
7. GOWDA, P. M. Effects of certain cultural and chemical treatments on growth, productivity and seed composition of edible soybeans, *Glycine max* (L.) Merrill. Dissertation Abstracts International 33:516. 1972.
8. HOWELL, R. W. Physiology of the soybean. In A. G. NORMAN (ed.). *The soybean*. New York, Academic Press, 1963 pp. 75-124.
9. HOWELL, R. W., WARGEL, C. J., BRIM, C. A., HARTWIG, E. E., LAMBERT, J. W., THOMPSON, J. R., STEFANSSON, B. R., PARK, J. K., SEIGLER, W. E. e WEBB, B. K. Response of soybeans to seed-treatment with gibberellin under simulated commercial conditions. *Agronomy Journal* 52:144-146. 1960.
10. HUMPHRIES, E. C. Effects of (2-chloroethyl) trimethylammonium chloride on plant growth, leaf area, and net assimilation rate. *Annals of Botany* 27:517-532. 1963.
11. SOUZA, B. H., GANDOLFI, V. H. e REPEN-NING, I. S. Aplicação do ácido giberélico em soja. Relatório do Instituto de Pesquisas Agronômicas, 1973. 4 p.
12. SPACKMAN, D. H., STEIN, W. H., e MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. *Analytical Chemistry* 30:1 190-1 206. 1958