

EFEITO DO NITROGÊNIO NO TEOR DE PROTEÍNA E COMPOSIÇÃO EM AMINOÁCIDOS DE SEMENTES DE FEIJÃO¹

MARIA LUIZA C. CARELLI², JOEL IRINEU FAHL³ e JOÃO PAULO F. TEIXEIRA⁴

RESUMO - Para verificar o efeito do nitrogênio no teor protéico de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivar Aroana, foram instalados experimentos em casa de vegetação e no campo. Em casa de vegetação, as plantas foram cultivadas em vasos, com vermiculita, e foram irrigadas com soluções nutritivas contendo 70, 210 e 630 ppm de N. No campo, o nitrogênio na forma de NH_4NO_3 foi aplicado em cobertura, nas doses de 0, 50 e 100 kg/ha de N, quando as plantas estavam em início de florescimento. Os resultados das determinações dos teores de proteína (N total x 6,25) das sementes, das plantas crescidas em vaso, foram 24,7, 27,6 e 33,7%, respectivamente para os níveis de nitrogênio de 70, 210 e 630 ppm. O fornecimento de 100 kg/ha de N às plantas no campo, ocasionou aumentos de 27,8, 20,7 e 28,1%, respectivamente nos teores de nitrogênio total, nitrogênio protéico e nitrogênio não protéico, quando comparados com o tratamento Testemunha. Quanto à composição percentual dos aminoácidos na proteína das sementes, a adubação nitrogenada aumentou os teores de lisina, cistina e leucina, enquanto as concentrações de valina, treonina e metionina diminuíram, e as de fenilalanina e isoleucina não sofreram praticamente variações.

Termos para indexação: adubação nitrogenada, vermiculita, vasos, cobertura, valina, treonina, metionina.

EFFECT OF NITROGEN ON PROTEIN CONTENT, AND AMINOACID COMPOSITION IN DRY BEAN SEEDS

ABSTRACT - Greenhouse and field experiments were conducted with bean *Phaseolus vulgaris* L., cv. Aroana, in order to study the effect of N on protein content of seeds. In greenhouse, the plants were cultivated in pots, with vermiculite and irrigated with nutrient solution containing 70, 210 and 630 ppm of N. In the field, N was dressed in the form of NH_4NO_3 , at rates of 0, 50 and 100 kg/ha, at flowering stage. The content of protein in the seeds, at harvest, was 24.7, 27.6 and 33.7%, respectively, for levels of 70, 210 and 630 ppm. In the field, 100 kg/ha of N resulted in increases of 27.8, 20.7 and 28.1%, respectively, in the contents of total N, protein-N and nonprotein-N, when compared with check. Nitrogen dressing increased the content of lysine, cystine and leucine and reduced that of valine, threonine and methionine while phenylalanine and isoleucine contents were not affected.

Index terms: nitrogen fertilization, vermiculite, pots, lysine, cystine, leucine, methionine.

INTRODUÇÃO

O feijão é um dos alimentos básicos da população brasileira, sendo uma importante fonte de proteína vegetal. Entretanto, o Brasil apresenta baixa produção média, causada, parcialmente, pelo uso de cultivares de baixa capacidade produtiva e pela ocorrência de vários agentes patogênicos (Pompeu 1978).

Estudos visando melhorar o valor nutritivo do feijão, através do aumento do teor e qualidade da proteína, têm sido efetuados através de seleção genética natural ou induzida por tratamentos mutagênicos (Leleji et al. 1972 e Crocomo et al. 1978).

A adubação nitrogenada pode ser uma via alternativa para aumentar o teor protéico e a produção total de plantas de feijão. Diversos autores têm verificado aumentos no teor de proteína das sementes, em consequência da aplicação de nitrogênio às plantas de feijão (Ries 1971, Roberts & Weaver 1971, Edje et al. 1975).

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de doses de nitrogênio na quantidade e qualidade da proteína, em sementes de plantas de feijão Aroana, cultivar esta recentemente obtida no Instituto Agronômico (Pompeu 1978) e que apresenta alta capacidade produtiva.

¹ Aceito para publicação em 17 de fevereiro de 1981. Trabalho apresentado na 31ª Reunião Anual da SBPC, Fortaleza, Ceará, de 11 a 18 de julho de 1979.

² Eng.º Agr.º, M.Sc., Bolsista do CNPq, Seção de Fisiologia, Instituto Agronômico, Caixa Postal 28, CEP 13100 - Campinas, SP.

³ Eng.º Agr.º, M.Sc., Bolsista do CNPq, Seção de Fisiologia, Instituto Agronômico.

⁴ Eng.º Agr.º, Seção de Fitoquímica, Instituto Agronômico.

MATERIAL E MÉTODOS

Experimento em casa de vegetação - Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Aroana), foram semeadas em vasos contendo vermiculita, nos quais permaneceram duas plantas após o desbaste. A irrigação das plantas, até sete dias após a emergência, foi efetuada exclusivamente com água; decorrido esse tempo, as plantas foram regadas alternadamente com água e com soluções nutritivas com três níveis de nitrogênio. Os teores de nitrogênio foram de 70, 210 e 630 ppm de N, o que corresponde, respectivamente, a um terço, uma vez e três vezes o nitrogênio normalmente presente nas soluções hidropônicas. A solução nutritiva sem nitrogênio, utilizada, foi a descrita por Sarruge (1975), acrescentando-se esse nutriente na forma de NH_4NO_3 , nas concentrações já referidas anteriormente. Todos os vasos contendo as plantas foram irrigados sempre com a mesma quantidade de água ou de solução. Após a maturação das plantas, foi determinado o teor protéico das sementes produzidas.

Experimento no campo - O experimento de campo foi instalado no Centro Experimental de Campinas, em Latossolo Roxo, cuja análise química revelou os seguintes resultados:

pH	5,5
% de matéria orgânica	0,5
Al^{+++} , e. mg/100 ml de T.F.S.A.	0,7
Ca^{++} , e. mg/100 ml de T.F.S.A.	0,6
Mg^{++} , e. mg/100 ml de T.F.S.A.	0,2
K, μ g/ml de T.F.S.A.	126
P, μ g/ml de T.F.S.A.	1

O plantio foi efetuado em 20.10.1978, utilizando-se o espaçamento de 0,50 x 0,20 m e duas sementes por cova. O delineamento usado foi o de blocos ao acaso, com três tratamentos e sete repetições, sendo que cada parcela consistiu de quatro linhas de 2,5 m de comprimento, protegidas por bordaduras simples. Por ocasião da semeadura, foi efetuada uma adubação básica no sulco, aplicando-se 10 g de uma mistura de superfosfato simples e cloreto de potássio por metro linear, na proporção de 10:1. O nitrogênio, na forma de NH_4NO_3 , foi aplicado em cobertura, quando as plantas estavam em início de florescimento (30 dias após o plantio), nas doses de 0, 50 e 100 kg de N por hectare. Após a colheita, foram analisados os teores de proteína e a composição em aminoácidos da fração protéica das sementes obtidas.

Determinações analíticas - O teor de proteína das sementes foi estimado através de determinação do teor de nitrogênio total, pelo método de micro-kjeldahl, após secagem do material em estufa a 60°C, conforme Bataglia et al. (1978), usando 6,25 como fator de conversão da percentagem de nitrogênio em proteína.

Os nitrogênios protéico e não-protéico foram determinados pelo método de micro-kjeldahl (Rubel et al. 1978), a saber: uma alíquota de sementes de feijão pulverizadas em moinho de bola foi colocada em tubo de centrífuga, ao qual foi adicionado 5 ml de ácido tricloroacético

10%. As amostras foram deixadas em repouso por uma hora com agitações ocasionais, seguida de centrifugação. O sobrenadante (N não-protéico) e o precipitado (N protéico) foram digeridos com H_2SO_4 , conforme Bataglia et al. (1978).

Para a avaliação de aminoácidos, utilizou-se hidrólise da proteína da amostra com HCl 6N em tubo de cultura com atmosfera de N_2 , por 22 horas a 105°C em estufa com circulação forçada de ar. Os aminoácidos foram determinados em analisador de aminoácidos HITACHI - PERKIN ELMER KLA-3B, que utiliza, como princípio de separação, troca com ligantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das determinações do teor de proteína (N total x 6,25) das sementes produzidas pelas plantas crescidas em casa de vegetação, e irrigadas com soluções nutritivas contendo três concentrações de nitrogênio, estão expressos na Tabela 1. Como pode ser observado, a quantidade de proteína das sementes aumentou com o nível de nitrogênio das soluções. As diferenças entre os tratamentos foram estatisticamente significativas ao nível de 1% de probabilidade. A média das percentagens de proteína das sementes foi de 28,6, considerando-se os três níveis de nitrogênio. Resultado semelhante foi encontrado por Furlani et al. (1978), que obtiveram o valor de 29,2% de proteína em sementes de plantas de feijão Aroana, cultivadas em casa de vegetação e adubadas com

TABELA 1. Efeito de três níveis de nitrogênio das soluções nutritivas no teor de proteína de sementes de feijão Aroana. (Médias de quatro repetições).

Níveis de nitrogênio	Nitrogênio total	Proteína*
ppm	%	
70	3,95 c	24,7 c
210	4,42 b	27,6 b
630	5,39 a	33,7 a
Médias	4,58	28,6
F	247,88	247,88
D.M.S. 1%	0,15	1,83
C.V. %	1,83	1,83

* Nitrogênio total x 6,25; Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%.

NH_4NO_3 . Os dados obtidos no presente trabalho mostram que as plantas de feijão cultivadas em casa de vegetação responderam aos incrementos nitrogenados, quanto ao teor de proteína das sementes.

Na Tabela 2, estão expressos os resultados das determinações analíticas efetuadas nas sementes produzidas no campo. A quantidade de proteína nas sementes, considerando-se N total x 6,25, aumentou significativamente com a adubação nitrogenada aplicada no florescimento. Esses resultados estão de acordo com vários autores (Ries 1971, Edje et al. 1975, Crocomo et al. 1978) e confirmam os dados obtidos em casa de vegetação (Tabela 1).

TABELA 2. Efeito de três níveis de adubação nitrogenada (NH_4NO_3) nos teores de nitrogênio protéico e não-protéico de sementes de plantas de feijão Aroana, cultivadas em campo. (Médias de sete repetições).

Tratamentos	Nitrogênio não-protéico	Nitrogênio protéico	Nitrogênio total
kg N/ha	%		
0	1,74 b	1,93 b	3,92 c
50	1,95 b	2,36 a	4,56 b
100	2,23 a	2,33 a	5,01 a
F	17,02	10,40	15,93
D.M.S. 1%	0,23	0,28	0,37
C.V. %	8,53	9,60	7,86

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 1%.

Pela Tabela 2, pode ser observado que, com o fornecimento de 100 kg/ha de N, ocorreram acréscimos de 27,8, 20,7 e 28,1%, respectivamente, nos teores de nitrogênio total, nitrogênio protéico e nitrogênio não-protéico, quando comparados com o tratamento-testemunha. Entretanto, deve ser salientado que a relação entre as duas últimas frações e o nitrogênio total manteve-se praticamente constante em todas as dosagens efetuadas.

A fração nitrogênio não-protéico em sementes é constituída principalmente de aminoácidos livres e pequenos peptídeos, e, segundo Smith & Circle

(1978), este fato pode ser devido a resíduos da síntese incompleta de proteína, ou resultado da degradação desse composto. Como os aminoácidos livres são aproveitados pelo organismo animal (Campos 1961), deve-se ressaltar que o fornecimento de nitrogênio às plantas aumentou em todos os sentidos o valor nutritivo do feijão.

Na Tabela 3, são apresentados os teores de aminoácidos na proteína dos grãos de feijão Aroana, em função da dose de nitrogênio aplicada às plantas.

De maneira geral, os dados obtidos são concordes com os relatados por Moraes & Angelucci (1971) e Sgarbieri (1980), que analisaram esses compostos em grãos de diversas cultivares de feijoeiro de importância agrônômica.

Tem sido relatado decréscimo do teor de aminoácidos essenciais com o aumento do teor de proteína em grãos, principalmente em cereais, como revelam estudos de Gallo et al. (1976), Patrick et al. (1974) e MacGregor et al. (1961).

TABELA 3. Efeito de três níveis de adubação nitrogenada (NH_4NO_3) no teor de aminoácidos de sementes de plantas de feijão Aroana, cultivadas em campo. (Médias de duas determinações).

Aminoácidos	Kg N/ha		
	0	50	100
	(g de aminoácidos/16 g de N)		
Lisina ¹	6,69	7,58	7,35
Arginina	8,92	9,53	8,85
Ácido aspártico	11,29	7,77	8,45
Treonina ¹	5,27	4,98	4,65
Serina	5,46	5,33	5,10
Ácido glutâmico	12,24	11,73	11,95
Prolina	2,61	3,42	3,60
Glicina	3,65	3,71	3,20
Alanina	3,37	3,57	3,35
Cistina ²	-	-	0,95
Valina ¹	7,73	5,77	4,65
Metionina ^{1, 2}	2,37	1,32	1,95
Isoleucina ¹	9,44	7,48	9,05
Leucina ¹	10,96	10,31	11,15
Tirosina	3,76	3,57	3,20
Fenilalanina ¹	5,65	6,06	5,50

¹ Aminoácido essencial.

² Aminoácido que sofre perda por oxidação durante hidrólise ácida.

Neste trabalho, em função do aumento do teor de compostos nitrogenados nos grãos, decorrente de maior dose de adubação nitrogenada, verificou-se aumento dos teores de lisina, cistina e leucina na proteína da semente, enquanto os teores de valina, treonina e metionina diminuíram e os de fenilalanina e isoleucina não sofreram, praticamente, variações.

Os aminoácidos limitantes do valor biológico de proteínas de sementes de feijão são os sulfurados, metionina e cistina. Embora só a metionina seja considerada essencial, a cistina torna-se importante, pois é sintetizada no organismo animal a partir daquele aminoácido (Sgarbieri 1980).

Há necessidade de esclarecer que os dados obtidos para aminoácidos sulfurados, quando se utiliza hidrólise ácida da proteína, como neste trabalho, não são reais, já que esses aminoácidos sofrem perdas durante esse tratamento.

A qualidade da fração nitrogenada dos grãos de feijão como fornecedor de aminoácidos essenciais, em função do aumento da dose de adubo nitrogenado, foi pouco afetada, como mostram os dados da Tabela 3. Os aminoácidos que tiveram sua concentração aumentada são normalmente abundantes em proteínas de sementes de leguminosas.

Porém, deve-se considerar que, ocorrendo aumento percentual de compostos nitrogenados nas sementes (Tabelas 1 e 2), a quantidade de aminoácidos essenciais presentes numa mesma massa de grãos é maior, tornando, portanto, o material mais rico, do ponto de vista nutricional.

Estudando diversas cultivares de feijão com diferentes teores de proteína nas sementes, Tulmann Neto (1977) também verificou teores semelhantes para os aminoácidos analisados, destacando, para todas as cultivares, o baixo teor de metionina encontrado.

CONCLUSÕES

1. Plantas de feijão Aroana, cultivadas tanto em casa de vegetação como no campo, responderam a incrementos nitrogenados, quanto ao teor de nitrogênio total nas sementes.

2. O acréscimo de nitrogênio total, verificado nas sementes, foi decorrente de aumentos nos teores de nitrogênio protéico e não protéico, os quais

mantiveram praticamente a mesma relação entre si.

3. Quanto à composição percentual, a adubação nitrogenada aumentou os teores de lisina, cistina e leucina na proteína da semente, enquanto os teores de valina, treonina e metionina diminuíram, e os de fenilalanina e isoleucina não sofreram, praticamente, variações.

REFERÊNCIAS

- BATAGLIA, O.C.; TEIXEIRA, J.P.F.; FURLANI, A.M.C. & GALLO, J.R. Métodos de análise química de plantas. s.l., Instituto Agrônomo, 1978. 31p. (Circular, 87).
- CAMPOS, M.A.P. A ciência dos alimentos: introdução à química bromatológica. 2.ed., Rio de Janeiro, Gazeta da Farmácia Editora, 1961. 375p.
- CROCOMO, O.J.; TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; BLIXT, S. & BOULTER, D. Breeding for improved protein content and quality in the bean (*Phaseolus vulgaris*): II. Further work in selections from spontaneous variation; New work on mutagenic treatments and the influence of added nitrogen levels. In: SEED PROTEIN IMPROVEMENT BY NUCLEAR TECHNIQUES, Viena, 1977. Proc. Meeting Baden . . . 1978. p.207-22.
- EDJE, O.T.; MUGHOGHO, L.K. & AYONOADU, U.W.U. Responses of dry beans to varying nitrogen levels. *Agron. J.*, 67:251-5, 1975.
- FURLANI, A.M.C.; HIROCE, R.; ANGELOCCI, L.R. RAIJ, B. van.; FURLANI, P.R. & GROHMANN, F. Desenvolvimento e nutrição do feijoeiro em função da aplicação de doses de cloreto e de sulfato de potássio. *Ci. e Cult.*, 30:855-63, 1978.
- GALLO, J.R.; TEIXEIRA, J.P.F.; SPOLADORE, D.S.; IGUE, T. & MIRANDA, L.T. de. Influência da adubação nas relações entre constituintes químicos dos grãos e das folhas, e a produção de milho. *Bragantia*, Campinas, 35:413-32, 1976.
- LELEJI, O.I.; DICKSON, M.H.; CROWDER, L.V. & BOURKE, J.B. Inheritance of crude protein percentage and its correlation with seed yield in beans, *Phaseolus vulgaris* L. *Crop. Sci.*, 12:168-71, 1972.
- MACGREGOR, J.M.; TASKOVITCH, L.T. & MARTIN, W.P. Effect of nitrogen fertilizer and soil type on the amino acid content of corn grain. *Agron. J.*, 53:211-4, 1961.
- MORAES, R.M. & ANGELUCCI, E. Chemical composition and amino acid contents of Brazilian beans (*Phaseolus vulgaris*). *J. Food Sci.*, 36:493-4, 1971.
- PATRICK, R.M.; HOSKINS, F.H.; WILSON, E. & PETERSON, F.J. Protein and amino acid content of rice as affected by application of nitrogen fertilizer. *Cereal Chem.*, 51:84-95, 1974.
- POMPEU, A.S. Aroana e Moruna - Cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bragantia*, Campinas, 37: LXXIII - LXXVI, 1978.

- RIES, S.K. The relationship of protein content and size of bean seed with growth and yield. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 96:577-60, 1971.
- ROBERTS, S. & WEAVER, W.H. Relationship among nitrogen nutrition, growth, and yield of three beans varieties. s.l., Washington Agricultural Experiment Station, 1971. (Bulletin, 742).
- RUBEL, A.; RINNE, R.W. & CANVIN, D.T. Protein, oil and fatty acid in developing soybean seeds. *Crop. Sci.*, 12:739-841, 1978.
- SARRUGE, J.R. Soluções nutritivas. *Summa Phytopathol.*, 1:231-3, 1975.
- SGARBIERI, W. Estudo do conteúdo e de algumas características das proteínas em sementes de plantas da família *Leguminosae*. *Ci. e Cult.*, 32:78-4, 1980.
- SMITH, A.K. & CIRCLE, S.J. Chemical composition of the seed. In: ———. *Soybeans: chemistry and technology*. USA, s.ed., 1978. v.1, p.61-92.
- TULMANN NETO, A. Observações experimentais sobre o melhoramento protéico de feijão. In: ———. *Proteínas vegetais, curso intensivo*. Piracicaba, CNEN-USP-ESALQ, 1977. 46p.