Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"

Avaliação do uso de aminoácidos na cultura de soja

Walquíria Fernanda Teixeira

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2016

Walquíria Fernanda Teixeira
Engenheira Agrônoma

Avaliação do uso de aminoácidos na cultura de soja

Orientador:
Prof. Dr. **DURVAL DOURADO NETO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutora em Ciências. Área de concentração: Fitotecnia

Piracicaba
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/Esalq/USP

Teixeira, Walquíria Fernanda

Avaliação do uso de aminoácidos na cultura de soja / Walquíria Fernanda Teixeira. - - Piracicaba, 2016.

158 p.

Tese (Doutorado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Glutamato 2. Cisteína 3. Fenilalanina 4. Glicina 5. *Glycine max* I. Título

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos Tios Valdson "*in memoriam*" e Augusta "*in memoriam*", grandes incentivadores durante o início de minha caminhada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

A Deus, pois é Nele que encontrei forças para superar as dificuldades e acreditar que era possível alcançar meus sonhos;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de doutorado;

Ao Prof. Dr. Durval Dourado Neto pela paciência e confiança depositadas em mim durante a orientação deste trabalho. Sua compreensão, experiência profissional e determinação muito contribuíram para minha formação;

Ao co-orientador e amigo, Prof. Dr. Evandro Binotto Fagan, pelos ensinamentos e pelas oportunidades proporcionadas, se cheguei até aqui, foi porque você fez acreditar que eu era capaz, seu apoio incondicional fez toda a diferença durante minha caminhada;

Aos meus pais Cleusa e Pedro e ao meu irmão Vagner que foram os alicerces de toda essa trajetória;

Ao meu tio Valdson (*in memoriam*), meu exemplo de pai, que sempre me incentivou a lutar pelos meus sonhos e avançar sobre as dificuldades, sei o quanto sonhou com a realização deste sonho, as lembranças constantes de seus conselhos em minha vida foram fundamentais para conseguir chegar até aqui;

Ao Prof. Dr. Klaus Reichardt pelo carinho, atenção e contribuição durante a correção da tese e tradução dos artigos.

Aos amigos do Laboratório Multiusuário em Produção Vegetal, Jérssica Soares, Tiago Tezotto, Renan Umburanas, Felipe Fadel, Guilherme Felisberto, Ana Schwantes, Felipe Brendler, Karla Vilaça, Jackellyne Bruna, Ana Carolina, Silas Maciel, Aline Richart, Thalita Cardoso, Laís Teles, Bruno Lago, Thaise Dieminger e Antônio Neto pelos momentos de companheirismo e descontração;

Ao técnico do Laboratório Multiusuário em Produção Vegetal Edson de Moraes pelo auxílio nas análises no laboratório. Obrigada pela amizade, carinho e apoio nos momentos de dificuldade.

Aos amigos da Pós-Graduação pelos bons momentos vivenciados, em especial Natália Arruda, Luís Henrique Soares, Danielle Castan, Jérssica Soares, Thais Helena, Sibelle Santana, Francisco Ortolan, Fábio Diniz, Carina Oliveira e Marcella Nunes;

Aos amigos Luís Henrique, Jérssica Soares, Éllen Cabral e Renan Umburanas, por auxiliarem na revisão da tese.

Aos professores da Esalq/USP pelo conhecimento e experiências compartilhadas, fundamentais para a minha formação, em especial ao Dr. Durval Dourado Neto, Dr. Klaus Reichardt, Dr. Pedro Christoffoleti, Dra. Simone Melo, Dra. Cláudia Mattiuz, Dr. Paulo Tavares, Dr. Paulo Hercílio, Dr. José Laercio Favarin, Dra. Ana Novembre e Dra. Taitiany Bonzanini.

À Jérssica Soares por sua amizade e pelo auxílio e apoio na condução e análise do experimento realizado em Piracicaba, sua ajuda foi essencial;

Às companheiras de moradia em Piracicaba Rafaela Migliavacca, Naiara Fagundes e Mayara Rodrigues, obrigada pelos momentos de descontração, de amizade e pelo apoio nos momentos de dificuldade durante a estadia em Piracicaba;

Aos companheiros de viagem entre Piracicaba e Patos de Minas, Luís Henrique, Karla Vilaça, André Santana e Jérssica Soares, vocês tornaram nossas idas e vindas mais suaves e descontraídas;

Aos estagiários e amigos do laboratório NUFEP (Núcleo de Pesquisas em Fisiologia e Estresse de Plantas) de Patos de Minas, Jérssica Soares, Louranny Tavares, Marina Rodrigues Reis, Ellen Cabral, Isabella Sabrina, Dalmo Moreira, Rafael Gontijo, Maria Elisângela, Cíntia Ribeiro, Larissa Bessa, que me acompanharam e auxiliaram durante as avaliações dos experimentos;

Ao Prof. Dr. Ronan Souza por disponibilizar o Laboratório de Bromatologia do UNIPAM para as análises de nitrogênio, e a resposável técnica pelo laboratório Natália Gonçalves por auxiliar nas análises;

À Luciane Aparecida Lopes Toledo, pela paciência, carinho e o brilhante trabalho realizado com os alunos do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia;

E como dizia Vinícius de Moraes “Eu poderia suportar, embora não sem dor, que tivessem morrido todos os meus amores, mas enlouqueceria se morressem todos os meus amigos”, pois sem eles, eu nada seria. Por isto, deixo um agradecimento especial às minhas grandes amigas de longa data, Mariza Silva, Sabrina Canedo, Cíntia Sousa e Juliana Freitas;

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização deste trabalho, muito obrigada!

EPÍGRAFE

"O estresse do crescimento é muito menor do que fracasso da estagnação."
Autor desconhecido

"O coração do homem planeja o seu caminho, mas o SENHOR lhe dirige os passos."
Provérbios 16:9

SUMÁRIO

RESUMO 9
ABSTRACT 10
LISTA DE FIGURAS 11
LISTA DE TABELAS 15
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS 19
1. INTRODUÇÃO 21
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 23
2.1. NITROGÊNIO EM PLANTAS: NITRATO, AMÔNIO E AMINOÁCIDOS 23
2.2. AMINOÁCIDOS NO SOLO 24
2.2.1. Absorção de aminoácidos pelas plantas 26
2.3. AMINOÁCIDOS NA PLANTA 28
2.3.1. Cisteína 29
2.3.2. Glicina 32
2.3.3. Fenilalanina 32
2.3.4. Glutamato 33
2.4. APLICAÇÃO DE AMINOÁCIDOS EM PLANTAS 35
3. MATERIAL E MÉTODOS 37
3.1. EXPERIMENTO I 37
3.1.1. Local 37
3.1.2. Caracterização do experimento 37
3.1.3. Tratamentos e delineamento experimental 37
3.2. EXPERIMENTO II 38
3.2.1. Local 38
3.2.2. Tratamentos e delineamento experimental 38
3.3. EXPERIMENTO III 40
3.3.1. Local 40
3.3.2. Caracterização do experimento 40
3.3.3. Tratamentos e delineamento experimental 41
3.4. AVALIAÇÕES 43
3.4.1. Emergência e índice de velocidade de emergência 43
3.4.2. Determinações bioquímicas 44
3.4.2.1. Urease 44
3.4.2.2. Nitrato redutase 45
3.4.2.3. Determinações de estresse 46
3.4.2.3.1. Obtenção do material vegetal 46
3.4.2.3.2. Teor de proteína total solúvel em folhas 46
3.4.2.3.3. Superóxido dismutase 46
3.4.2.3.4. Catalase 47
3.4.2.3.5. Peroxidase 47
3.4.2.3.6. Fenilalanina amônia-liase 48
3.4.2.3.7. Polifenoloxidase 48

3.4.2.3.8. Peróxido de hidrogênio 48
3.4.2.3.9. Peroxidação lipídica 49
3.4.2.3.10. Prolina 49
3.4.2.4. Quantificação de formas de nitrogênio em folhas 50
3.4.2.4.1. Nitrato 50
3.4.2.4.2. Aminoácidos totais 50
3.4.2.4.3. Ureídeos 51
3.4.2.4.4. Nitrogênio total 51
3.4.3. Análises de crescimento 52
3.4.3.1. Massa de matéria seca 52
3.4.3.2. Crescimento de raiz 52
3.4.4. Índice Spad 52
3.4.5. Produtividade 53
3.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA 53

4. RESULTADOS 55

4.1. EXPERIMENTO I: EFEITO DA APLICAÇÃO DE DOSES DE AMINOÁCIDOS NA CULTURA DA SOJA 55
4.2. EXPERIMENTO II: AVALIAÇÃO DO USO DE AMINOÁCIDOS EM PLANTAS DE SOJA CULTIVADAS EM CONDIÇÕES PARCIALMENTE CONTROLADAS 69
4.2.1. Emergência e índice de velocidade de emergência 69
4.2.2. Metabolismo antioxidante 70
4.2.3. Metabolismo do nitrogênio 75
4.2.4. Desenvolvimento de raízes 81
4.2.5. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade 92
4.3. EXPERIMENTO III: USO DE AMINOÁCIDOS E SEU EFEITO EM PLANTAS DE SOJA CULTIVADAS EM CAMPO 101
4.3.1. Metabolismo antioxidante 101
4.3.2. Metabolismo do nitrogênio 106
4.3.3. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade 114

5. DISCUSSÃO 125

5.1. EXPERIMENTO I: EFEITO DA APLICAÇÃO DE DOSES DE AMINOÁCIDOS NA CULTURA DA SOJA 125
5.2. EXPERIMENTO II: AVALIAÇÃO DO USO DE AMINOÁCIDOS EM PLANTAS DE SOJA CULTIVADAS EM CONDIÇÕES PARCIALMENTE CONTROLADAS 127
5.2.1. Metabolismo antioxidante 127
5.2.2. Metabolismo do nitrogênio 129
5.2.3. Desenvolvimento de raízes 130
5.2.4. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade 132
5.3. EXPERIMENTO III: USO DE AMINOÁCIDOS E SEU EFEITO EM PLANTAS DE SOJA CULTIVADAS EM CAMPO 133
5.3.1. Metabolismo antioxidante 133
5.3.2. Metabolismo do nitrogênio 134
5.3.3. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade 135
5.4. CONSIDERAÇÕES FINAIS 136

6. CONCLUSÕES 147

REFERÊNCIAS 149

RESUMO

Avaliação do uso de aminoácidos na cultura de soja

Nos últimos anos tem se intensificado o uso de produtos com a finalidade de aumentar a produtividade na cultura da soja. Dentre estes estão os bioestimulantes que podem possuir em sua constituição extratos de algas, aminoácidos e hormônios. No entanto, pouco se sabe sobre o efeito isolado de cada um destes constituintes. Frente a isto, esta pesquisa teve por objetivos avaliar o efeito da aplicação de aminoácidos isolados em plantas de soja. Para isto, o trabalho foi dividido em três experimentos. No primeiro, foi realizada a aplicação via sementes de glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina em doses variáveis. Essa etapa foi conduzida em sistema de canteiros e foi avaliada a emergência, índice de velocidade de emergência, acúmulo de massa de matéria seca, metabolismo antioxidante (enzimas superóxido dismutase - SOD, catalase - CAT, peroxidase - POD, teor de peróxido de hidrogênio – H_2O_2, prolina e peroxidação lipídica - PL) e produtividade. A partir da seleção das melhores doses obtidas na primeira etapa, foi realizado o segundo experimento, conduzido em casa de vegetação. As aplicações desse experimento foram realizadas no tratamento de semente, via foliar ou em ambas as épocas, além disso, foi realizada a aplicação de todos os aminoácidos em associação. Nesse experimento foram avaliados metabolismo antioxidante, enzimas de resistência (polifenoloxidase - PFO e fenilalanina amônia-liase - PAL), metabolismo do nitrogênio (enzimas nitrato redutase e urease, teor de NO_3^-, NH_4^+, N-Aa, ureídeos e N-Total), variáveis de crescimento de raíz, acúmulo de massa de matéria seca e produtividade. Já o experimento III foi realizado em campo, utilizando os mesmos tratamentos do experimento II. Foram avaliados o metabolismo antioxidante, enzimas de resistência, metabolismo do nitrogênio, massa de matéria seca e produtividade. Todos os experimentos foram conduzidos em delineamento em blocos casualizados com quatro repetições para cada tratamento. Todos os aminoácidos proporcionaram efeito positivo em diversas variáveis fisiológicas analisadas. O uso de glutamato, fenilalanina, cisteína e glicina de forma isolada repercutiram em melhores efeitos quando a aplicação é realizada somente no tratamento de sementes. A partir da aplicação desses aminoácidos ocorreu incremento da assimilação de nitrogênio e no acúmulo de massa de matéria seca, o que levou a maior produtividade dessas plantas. O maior efeito na produtividade foi observado por meio da aplicação de fenilalanina em todos os experimentos, quando comparados com os demais aminoácidos. Com relação ao metabolismo antioxidante o uso de cisteína no tratamento de sementes proporcionou aumento da atividade das enzimas SOD e PAL e redução da PL. O uso de fenilalanina no tratamento de sementes induz ao incremento da CAT e SOD e o glutamato induz o aumento de PAL e SOD. A utilização de todos os aminoácidos em associação somente foi eficiente na aplicação foliar, o que proporcionou maior desenvolvimento de raíz, maior assimilação de nitrogênio, acúmulo de massa de matéria seca e produtividade. Portanto, foi possível perceber que o glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina apresentam importante papel de sinalização em plantas, pois pequenas doses já são suficientes para induzir ao incremento de parâmetros fisiológicos e, consequentemente aumentar a produtividade.

Palavras-chave: Glutamato; Cisteína; Fenilalanina; Glicina; *Glycine max*

ABSTRACT

Evaluation of amino acid use on the soybean crop

In recent years, the use of products to increase productivity in soybean has been intensified. Bio-stimulants can have in their constitution algae extracts, amino acids and hormones. However, little is known about the isolated effect of each of these constituents. Facing this problem, this research aimed to evaluate the effect of the application of single amino acids to soybeans. For this, the work was divided into three experiments. In the first, the application of amino acids was performed via glutamate, cysteine, phenylalanine and glycine to seeds. This stage was carried out on planting beds and the following variables were evaluated: emergency, emergency speed index, dry matter accumulation, antioxidant metabolism (superoxide dismutase - SOD, catalase - CAT, peroxidase - POD, hydrogen peroxide - H_2O_2 - content, proline and lipid peroxidation - PL) and productivity. From the selection of the best rates obtained in the first stage, the second experiment was carried out in a greenhouse. The applications of this experiment were performed as seed treatments, foliar application and both procedures; furthermore, the application of all amino acids in combination was also performed. In this experiment, the following variables were evaluated: antioxidant metabolism, resistance enzymes (polyphenol oxidase - PFO and phenylalanine ammonia lyase - PAL), nitrogen metabolism (nitrate reductase and urease, NO_3^- content, NH_4^+, N-Aa, ureide and N-Total), root growth, dry matter accumulation and productivity. The third experiment was carried out in the field using the same treatments of the second experiment. The following variables were evaluated: antioxidant metabolism, resistance enzymes, nitrogen metabolism, dry matter and productivity. All experiments were carried out in a randomized block design with four replications for each treatment. All amino acids provided positive effect on several physiological variables. The use of glutamate, phenylalanine, cysteine, and glycine alone lead to the best effect when the application was done only as seed treatment. From the application of these amino acids, the nitrogen assimilation was increased and the dry matter accumulation, which led to higher productivity of the plants. The greatest effect on productivity was observed by application of phenylalanine in all experiments, when compared with other amino acids. Regarding the antioxidant metabolism, cysteine use in seed treatment increased SOD and PAL activity and PL reduction. The phenylalanine use in seed treatment increased CAT and SOD activities and glutamate induced an increase of PAL and SOD activities. The use of all amino acids in association was only effective in foliar application, which provided further development of root, greater assimilation of nitrogen, dry matter accumulation and productivity. So, it was possible to conclude that glutamate, cysteine, phenylalanine and glycine have an important signaling role in plants, because small rates are enough to induce the increase of physiological parameters and consequently increase productivity.

Keywords: Glutamate; Cysteine; Phenylalanine; Glycine; *Glycine max*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Absorção pela raiz e assimilação de nitrogênio em plantas. 24

Figura 2. Estrutura geral de um aminoácido. 25

Figura 3. Rotas biossintéticas dos aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2013) 28

Figura 4. Síntese das principais funções da cisteína em plantas (Adaptado de BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013; RENNENBERG; HERSCHBACH, 2014) 30

Figura 5. Biossíntese de glutationa e de fitoquelatinas em plantas (Adaptado de COBBETT, 2000). 31

Figura 6. Representação esquemática do sistema de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio via enzimática, por meio da via ascorbato-glutationa (Adaptado de MITTLER et al., 2002). 32

Figura 7. Biossíntese de glicina betaína (SAKAMOTO; MURATA, 2002). 32

Figura 8. Produção de compostos fenólicos a partir do ácido cinâmico, oriundo da atividade da enzima PAL sobre a fenilalanina. 33

Figura 9. Síntese do glutamato e seu metabolismo em plantas (FORD; LEA, 2007). 34

Figura 10. Demonstração das parcelas utilizadas na área experimental. Unipam. Patos de Minas, MG. 2015 42

Figura 11. Precipitação, temperatura máxima e mínima, referentes ao período de condução do ensaio (26 janeiro de 2015 a 10 de maio de 2015). Patos de Minas, MG 43

Figura 12. Efeito da aplicação de doses de glutamato no tratamento de sementes de soja: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B - emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR), D - valor SPAD (SPAD), E - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), F - atividade das enzimas catalase (CAT) e G - superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 56

Figura 13. Efeito da aplicação de doses de glutamato no tratamento de sementes de soja: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B - emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR), D - valor SPAD (SPAD), E - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), F - atividade das enzimas catalase (CAT) e G - superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 59

Figura 14. Efeito da aplicação de doses de fenilalanina via tratamento sementes de soja nas variáveis: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B – emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 25 DAS (MSR), D - parte aérea aos 25 DAS (MSPA) e E - total aos 25 DAS (MST), F - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR*), G - parte aérea aos 40 DAS e H – total aos 40 DAS (MST*), I - atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 61

Figura 15. Efeito da aplicação de doses de glicina via tratamento de sementes de soja nas variáveis: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B- emergência (E), C - massa de matéria seca parte aérea aos 40 DAS (MSPA) e D - total aos 40 DAS (MST*), E - valor SPAD (SPAD), F - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), G - atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - teor de prolina, K - atividade da enzima urease (U) e L - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 64

Figura 16. Gráfico "*byplot*" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: Glu - Glutamato, Cis – Cisteína, Fen – Fenilalanina e Gli – Glicina, com suas respectivas doses (mg kg-1 [sementes]). PTS – proteína total solúvel; CAT – catalase; SOD – superóxido dismutase; POD – peroxidase; H2O2 – peróxido de hidrogênio; PL – peroxidação lipídica; PROL – prolina; P – produtividade. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 69

Figura 17. Plantas de soja, aos 25 dias após a semeadura, submetidas ao tratamento de sementes com aminoácidos. A – Controle, B – Glutamato, C – Cisteína, D – Fenilalanina, E – Glicina, F – Completo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 84

Figura 18. Plantas de soja aos 45 dias após a semeadura, submetidas a aplicações de aminoácidos. Aplicação via sementes (A – Controle, B – Glutamato, C – Cisteína, D – Fenilalanina, E – Glicina, F – Completo), aplicação via foliar (G – Controle, H – Glutamato, I – Cisteína, J – Fenilalanina, K – Glicina, L – Completo), aplicação via sementes e foliar (M – Controle, N – Glutamato, O – Cisteína, P – Fenilalanina, Q – Glicina, R – Completo). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 91

Figura 19. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis CT - comprimento total de raiz, AP - área projetada pela raiz, AS - área superficial da raiz, Vr – volume de raiz, CRP – comprimento da raiz principal, NRL – número de raízes laterais, CRL – comprimento das raízes laterais, NN – número de nós e P – produtividade avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Piracicaba, SP. 2015 92

Figura 20. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis MSR – massa de matéria seca de raiz, MSH – massa de matéria seca de caule, MSF – massa de matéria seca de folhas, MST – massa de matéria seca total, aos 40 DAS (1) e 100 DAS (2), e P – produtividade avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Piracicaba, SP. 2015 100

Figura 21. Gráfico “byplot” obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (CAT – catalase, POD – peroxidase, SOD – superóxido dismutase, PAL – fenilalanina amônio liase, PFO – polifenoloxidase, H_2O_2 – peróxido de hidrogênio, PL – peroxidação lipídica e P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015 106

Figura 22. Gráfico “byplot” obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (NR – atividade da enzima nitrato redutase aos 40 (1), 60 (2) e 80 (3) DAS, N-NO_3^- – nitrato, N –UREID – Ureídeos, N-Aa – Aminoácidos, N-NH_4^+ – amônio, N-Total – Nitrogênio Total, PTS – proteína total solúvel, P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015 114

Figura 23. Gráfico “byplot” obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (MSR – massa de matéria seca de raiz, MSH – massa de matéria seca de caule, MSF – massa de matéria seca de folhas, MST – massa de matéria seca total, aos 40 DAS (1), 70 DAS (2) e 100 DAS (3), MSV – massa de matéria seca de vagem, NV – número de vagens, NN – número de nós e P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015 124

Figura 24. Modelo de sinalização do glutamato em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes. 137

Figura 25. Modelo de sinalização do glutamato em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido em TS + Foliar. 137

Figura 26. Modelo de sinalização da cisteína em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes. 138

Figura 27. Modelo de sinalização da cisteína em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.. 138

Figura 28. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes. 139

Figura 29. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes. 140

Figura 30. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes + via foliar. 141

Figura 31. Modelo de sinalização da glicina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes + via foliar. 142

Figura 32. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar. 143

Figura 33. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar. 143

Figura 34. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar. 144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição dos aminoácidos e doses utilizadas. Escola Agrotécnica Afonso Queiroz (UNIPAM). Patos de Minas, MG. 2015 38

Tabela 2. Descrição dos tratamentos de aminoácidos utilizados e a respectiva forma de aplicação. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq/USP). Piracicaba, SP. 2015 39

Tabela 3. Aminoácido, teor de N no aminoácicido (Aa), doses de Aa aplicado na área, dose de N aplicado na área, teor de Aa nas folhas, teor de Aa aplicado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq/USP). Piracicaba, SP. 2015 40

Tabela 4. Descrição dos sais da solução nutritiva. 40

Tabela 5. Análise de solo (0-20 cm) da área de condução dos experimentos na área experimental do Centro Universitário de Patos de Minas. Unipam. Patos de Minas, (MG). 2015 41

Tabela 6. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 DAS, respectivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), urease (U) e produtividade de grãos de soja (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com glutamato. 55

Tabela 7. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 dias após a semeadura (DAS), respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com cisteína. 58

Tabela 8. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para o índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 dias após a semeadura (DAS), respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com fenilalanina. 60

Tabela 9. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para o índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 DAS, respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com glicina. 62

Tabela 10. Emergência (E), Índice de velocidade de emergência (IVE), Massa de matéria seca de raiz (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) e valor Spad de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 66

Tabela 11. Atividade das enzimas urease (U), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) peroxidase (POD), teor de proteína (PTS), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), prolina (PROL) e produtividade (P) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013 67

Tabela 12. Emergência (E, %) e Índice de velocidade de emergência (IVE, % dia^{-1}) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2015 70

Tabela 13. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), peroxidação lipídica (PL) e atividade da enzima fenilalanina amônio liase (PAL) em folhas de plantas de soja aos 25 dias após a emergência, submetidas a tratamentos com aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015..... 71

Tabela 14. Atividade das enzimas catalase (CAT), peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 72

Tabela 15. Atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL, µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína]), teor de peroxido de hidrogênio (H_2O_2, µmol g^{-1} [MF]) e peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 74

Tabela 16. Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$, mM g^{-1} [MS]), N- Ureídeos (mM g^{-1} [MS]), N- Aminoácidos (N-Aa, mM g^{-1} [MS]), nitrogênio total (N-Total, g kg^{-1} [MS]) e teor de proteínas (PTS, mg g^{-1} [MF]) aos 25 dias após a semeadura, em folhas de plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 75

Tabela 17. Atividade da enzima urease, teor de amônio ($N\text{-}NH_4^+$), N- Ureídeos, N- Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 76

Tabela 18. Amônio ($N\text{-}NH_4^+$), nitrogênio total (N-Total) e atividade da enzima urease aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar) em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015..... 78

Tabela 19. Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), N- Ureídeos, N- Aminoácidos (N-Aa), nitrogênio total (N-Total), aos 90 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015..... 80

Tabela 20. Comprimento da raiz principal (CRP, cm.planta^{-1}), comprimento total da raiz (CT, cm.planta^{-1}), área superficial (AS, cm^2.planta^{-1}), área projetada (AP, cm^2.planta^{-1}), volume (Vr, cm^3.planta^{-1}), diâmetro (D, cm), número de raízes laterais (NRL) e comprimento das raízes laterais (CRL, cm) de plantas de soja aos 10 e 25 DAS, submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 82

Tabela 21. Comprimento total de raízes (CT, cm.planta^{-1}), comprimento da raiz principal (CRP, cm.planta^{-1}) e área superficial (AS, cm^2.planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 86

Tabela 22. Área projetada pela raiz (AP, cm^2.planta^{-1}), volume das raízes (Vr, cm^3.planta^{-1}) e número de raízes laterais (NRL) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 88

Tabela 23. Comprimento das raízes laterais (CRL, cm.planta^{-1}) e número de nós (NN, nós.planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 90

Tabela 24. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}), folha (MSF, g planta^{-1}) e total (MST, g planta^{-1}) de plantas de soja aos 10 e 25 DAS, submetidas à aplicação, via sementes, de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 93

Tabela 25. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), caule (MSH, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 95

Tabela 26. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 96

Tabela 27. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 97

Tabela 28. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) e produtividade (P, g planta^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015 99

Tabela 29. Atividade das enzimas catalase (CAT, µmol min^{-1} µg^{-1} [proteína]), peroxidase (POD, µmol min^{-1} µg^{-1} [proteína]) e superóxido dismutase (SOD, U µg^{-1} [proteína]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 102

Tabela 30. Atividade das enzimas fenilalanina amônia liase (PAL, µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína]) e polifenoloxidase (PFO, U min^{-1} mg^{-1} [proteína]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 103

Tabela 31. Teor de prolina (µmol g^{-1} [MF]), teor de peroxido de hidrogênio (H_2O_2, µmol g^{-1} [MF]) e peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 105

Tabela 32. Atividade da enzima nitrato redutase (NR, µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1}) aos 25 DAS, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Patos de Minas, MG. 2015..... 107

Tabela 33. Atividade da enzima nitrato redutase (NR, µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1}) aos 40, 60 e 80 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 108

Tabela 34. Teor de nitrato (N-NO_3^-, mM g^{-1} [MS]), atividade da enzima urease (µmol [NH_4^+]g^{-1} [MF] h^{-1}) e teor de amônio (N-NH_4^+, mM g^{-1} [MS]) aos 40 DAS, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 110

Tabela 35. Teor de N-Ureídeos (mM g^{-1} [MS]), aminoácidos (N-Aa, mM g^{-1} [MS]) e N-Total (mM g^{-1} [MS]), aos 40 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 112

Tabela 36. Teor de proteína total solúvel em folhas (PTS, mg g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 113

Tabela 37. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g $planta^{-1}$), haste (MSH, g $planta^{-1}$), folhas (MSF, g $planta^{-1}$) e total (MST, g $planta^{-1}$) aos 25 DAS em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Patos de Minas, MG. 2015 115

Tabela 38. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g $planta^{-1}$), haste (MSH, g $planta^{-1}$) e folhas (MSF, g $planta^{-1}$) aos 40 dias após a semeadura, (sete dias após a aplicação foliar) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 116

Tabela 39. Massa de matéria seca total (MST, g $planta^{-1}$) aos 40 dias após a semeadura, (sete dias após a aplicação foliar) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 117

Tabela 40. Massa de matéria seca de haste (MSH), folhas (MSF) e vagens (MSV) aos 70 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 118

Tabela 41. Massa de matéria seca total (MST, g $planta^{-1}$) aos 70 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 119

Tabela 42. Massa de matéria seca de haste (MSH, g $planta^{-1}$), folha (MSF, g $planta^{-1}$) e vagem (MSV, g $planta^{-1}$) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015..... 121

Tabela 43. Número de vagens por planta (NV, vagens $planta^{-1}$), massa de matéria seca total (MST, g $planta^{-1}$) e produtividade (P, kg ha^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015 123

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$^1O_2$	Oxigênio *singlet*
AA	Ascorbato
Aa	Aminoácidos
AAP	*Amino Acid Permease*
APX	Ascorbato peroxidase
AP	Área projetada pelas raízes
AS	Área superficial das raízes
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CRL	Comprimento das raízes laterais
CRP	Comprimento da raiz principal
CT	Comprimento total de raízes
TBA	Ácido tiobarbitúrico
DHA	Dehidroascorbato
E	Emergência
Fd	Ferridoxina
GDH	Glutamato desidrogenase
GOGAT	Glutamato sintase
GPX	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GS	Glutamina sintetase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
H_2O_2	Peróxido de hidrogênio
IVE	Índice de velocidade de emergência
KI	Iodeto de potássio
LHT_1	*Lysine Histidine Transporter*
MDA	Molondialdeido
MDHA	Monodehidro ascorbato
MS	Massa de matéria seca
MSF	Massa de matéria seca de folha
MSH	Massa de matéria seca de haste
MSR	Massa de matéria seca de raiz
MST	Massa de matéria seca total
MSV	Massa de matéria seca de vagem
N	Nitrogênio
N_2	Gás nitrogênio

NADH	Nicotinamida adenina dinucleotido
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotido fosfato
NBT	Nitroblue tetrazolium
NH_3	Amônia
NH_4^+	Amônio
NO_3^-	Nitrato
NO_2^-	Nitrito
NR	Nitrato redutase
NRL	Número de raízes laterais
OAS	O – Acetil L-Serina
O_2^-	Radical superóxido
OH^-	Radical hidroxila
P	Produtividade
PAL	Fenilalanina amônia-liase
PL	Peroxidação lipídica
POD	Peroxidase
PFO	Polifenoloxidase
PROL	Prolina
PTS	Proteína total solúvel
RNi	Nitrito redutase
SOD	Superóxido dismutase
S_2^-	Sulfeto
SO_3^-	Óxido sulfúrico
Spad	Soil plant analysis development
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
U	Urease

1. INTRODUÇÃO

A soja (Glycine max L. Merril) é a mais importante oleaginosa cultivada no mundo, e a maior produção desse grão está concentrada nos Estados Unidos (EUA), Brasil e Argentina (USDA, 2016). No Brasil a soja é a cultura com maior área cultivada e atualmente encontra-se em expansão principalmente nas regiões Centro-Oeste e Norte. O grão de soja é utilizado em larga escala na produção de diversos produtos. Destes, o óleo de soja é um dos mais consumidos, utilizado pela população mundial no preparo de alimentos. Esse grão também é destinado para outros fins como produção de farinha, sabão, cosméticos, resinas, tintas, solventes, biodiesel e rações animais (KIM et al., 2016).

Tendo em vista a importância da cultura, tem se intensificado cada vez mais as pesquisas em busca do aumento da produtividade. Nesse sentido, o uso de bioestimulantes tanto no tratamento de sementes quanto na aplicação foliar tem se mostrado bastante promissor (KHAN et al., 2009; CRAINGIE, 2011, SOARES, 2014). Esses produtos podem aumentar o vigor inicial das plantas, podendo desta forma elevar a resistência contra doenças ou contra outros tipos de estresse, o que poderá repercutir no aumento da produtividade. Os bioestimulantes são constituídos por extratos de algas, hormônios sintéticos ou algum subproduto de fermentação e, na grande maioria contém aminoácidos em sua formulação (COLLA et al., 2014; SHALABY; EL-RAMADY, 2014).

Os aminoácidos são moléculas orgânicas que possuem nitrogênio, carbono, hidrogênio e oxigênio, além de possuírem também um radical orgânico ligado a esta estrutura, característica que diferencia os aminoácidos entre si (BUCHANAN et al., 2000). Dentre os principais aminoácidos sintetizados pelas plantas está o glutamato, glutamina e aspartato. Dentre estes, o glutamato se destaca em relação aos demais pelo fato de ser o primeiro aminoácido onde o nitrogênio absorvido pelas plantas é incorporado e, a partir dele pode ser obtido uma gama de aminoácidos por meio da atividade das aminotransferases (BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Os aminoácidos podem desempenhar diferentes funções nas plantas, podendo atuar como agentes redutores de estresse, fonte de nitrogênio e precursores hormonais (ZHAO, 2010; DeLILLE; SEHNKE; FERL, 2011; MAEDA; DUDAREVA, 2012). No solo podem ser encontrados diferentes tipos de aminoácidos, no entanto a meia vida dessas moléculas é curta e a absorção dos aminoácidos só é possível devido à presença de transportadores nas raízes (JAMTGARD, 2010).

Diversos trabalhos têm mostrado a eficiência de absorção de aminoácidos pelas plantas (PERSSON et al., 2006; GIOSEFF et al., 2012), frente a isto a aplicação de aminoácidos via tratamento de semente pode repercutir no melhor desenvolvimento da planta, uma vez que essas moléculas podem desencadear processos fisiológicos favoráveis ao desenvolvimento inicial da planta. Outros trabalhos mostram efeito positivo da aplicação foliar dos aminoácidos (ABDEL-MAWGOUD et al., 2011; KOUKOUNARAS et al., 2013; SADAK et al., 2014).

No entanto, apesar do conhecimento sobre o efeito positivo da aplicação de aminoácidos em plantas, a maior parte dos trabalhos foi realizada com produtos compostos por um conjunto de aminoácidos, portanto existe a carência de informações a respeito da aplicação isolada dessas moléculas e seu real efeito em plantas.

Outro fator relevante é que alguns trabalhos têm mostrado que a aplicação de produtos fitossanitários nas sementes pode induzir o aumento do estresse oxidativo, por meio da elevada produção de peróxido de hidrogênio, além do aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a catalase e superóxido dismutase (RODRIGUES, 2009; LACERDA, 2014). Alguns aminoácidos podem atuar diretamente ou indiretamente na atenuação do estresse oxidativo das plantas, como o glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina. Desta forma, a aplicação destes aminoácidos nas sementes pode ser uma alternativa que vise diminuir os efeitos negativos dos tratamentos de sementes com produtos fitossanitários e micronutrientes sobre o sistema antioxidante. Além disso, os aminoácidos podem auxiliar o desenvolvimento da planta em condições de estresse, como falta de água, temperaturas elevadas, ataque de patógenos, entre outros.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram estudar o uso de quatro aminoácidos (glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina) na cultura de soja no intuito de: (i) definir a melhor dose para aplicação no tratamento de sementes; (ii) conhecer a melhor época de aplicação (tratamento de sementes, foliar ou ambas); (iii) avaliar o efeito da aplicação no metabolismo oxidativo; e (iv) determinar o efeito da aplicação no acúmulo de nitrogênio nas folhas, na produção de massa de matéria seca, no desenvolvimento de raiz e na produtividade de grãos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Nitrogênio em plantas: nitrato, amônio e aminoácidos

O nitrogênio pode ser encontrado no solo em grandes quantidades e em diferentes formas químicas tais como íons inorgânicos como o nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+), ou também complexado em moléculas orgânicas como proteínas e aminoácidos. A principal forma de absorção de nitrogênio pelas raízes é via NO_3^- e NH_4^+, ou ainda na forma de N_2 através de bactérias fixadoras (JAMTGARD, 2010; MARSCHNER, 2012). No entanto, apesar da forma inorgânica ser a principal via de absorção de nitrogênio, diversos estudos têm se intensificado no sentido de mostrar a importância de formas orgânicas de nitrogênio para as raízes. Esses estudos mostram que plantas como trigo (OWEN; JONES, 2001; GIOSEFFI et al., 2012), tomate (GE et al., 2009) e espécies de floresta boreal (PERSSON; NASHOLM, 2001) podem absorver nitrogênio na forma orgânica, especialmente em formas simples tais como aminoácidos, sem a necessidade prévia da mineralização a partir de microrganismos.

Quando a planta absorve o nitrogênio na forma de nitrato, ele será reduzido a nitrito via enzima nitrato redutase, utilizando-se energia do NADPH. Essa redução poderá ocorre nos plastídios das raízes ou na parte aérea da planta. O nitrito formado é reduzido a amônio utilizando-se energia oriunda da ferredoxina (Figura 1). Por fim, o amônio é incorporado aos aminoácidos por meio da atividade de duas enzimas, glutamina sintetase (GS) e glutamato sintase (GOGAT). A primeira enzima combina amônio com glutamato para formar glutamina, utilizando energia da molécula de ATP. A enzima glutamato sintase transfere o grupo amida da glutamina para o 2-oxoglutarato, formando duas moléculas de glutamato, utilizando energia do NADH ou da ferredoxina, dependendo do local de atuação. Uma rota alternativa pode ser utilizada para a produção de glutamina, via enzima glutamato desidrogenase (GDH), utilizando 2-oxoglutarato, amônio e energia do NADPH (MARSCHNER, 2012; TAIZ; ZEIGER, 2013).

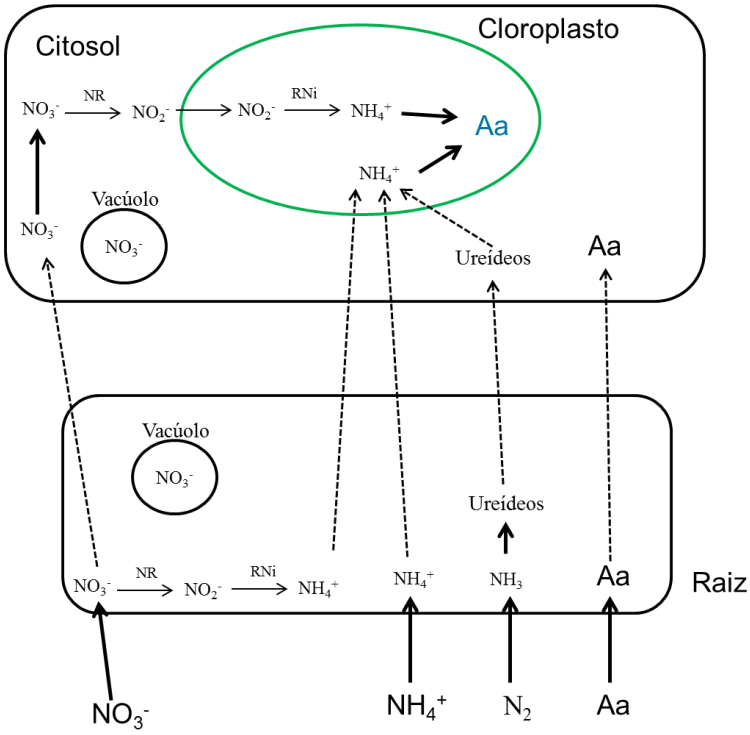

Figura 1. Absorção pela raiz e assimilação de nitrogênio em plantas.

Legenda: NR - nitrato redutase; RNi - nitrito redutase; NO_3^- - nitrato; NO_2^- - nitrito; NH_4^+ - amônio; NH_3 – amônia; Aa – aminoácido; N_2 - gás nitrogênio

Plantas leguminosas (fabáceas) fixadoras de nitrogênio, em simbiose com bactérias do gênero *Rhizobium*, também podem absorver esse nutriente na forma de N_2, o produto da fixação é a amônia, que para evitar toxidade é convertida em formas orgânicas nos nódulos da raiz, chamados ureídeos, que são transportados via xilema para a parte aérea (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Desta forma, nota-se que a absorção e assimilação de aminoácidos se tornam mais vantajosas energeticamente à planta, quando se compara com a absorção de NO_3^-; NH_4^+ ou fixação biológica. Nesse caso, o uso de aminoácidos poderia representar diversas vantagens para as plantas, devido ao menor gasto energético para a assimilação do nitrogênio (JONES, 2002).

2.2. Aminoácidos no solo

Os aminoácidos são moléculas orgânicas formadas por átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio, unidos entre si. Qualquer molécula de aminoácido tem um grupo carboxila (COOH) e um grupo amina (NH_2) ligada a um átomo de carbono. Nesse mesmo carbono ficam ligados ainda um átomo de hidrogênio e um radical (R) (Figura 2). O radical (R) representa um radical orgânico, diferente em cada molécula de aminoácido

encontrado na matéria viva. Cada variação no número ou na sequência de aminoácidos produz uma proteína diferente e assim, existe uma grande variedade de proteínas (BUCHANAN et al., 2000).

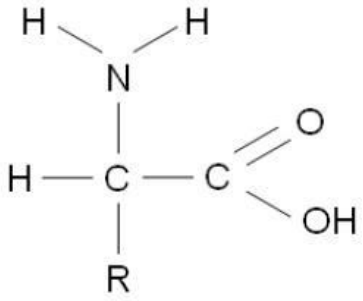

Figura 2. Estrutura geral de um aminoácido.
Legenda: R – radical orgânico; H – hidrogênio; N – nitrogênio; C – carbono; O - oxigênio

Os aminoácidos podem ser encontrados no solo de três formas diferentes. Na primeira delas, encontram-se dissolvidos na solução do solo, e são denominados aminoácidos livres e estão disponíveis para serem absorvidos pelas raízes. Outra forma encontrada no solo são os permutáveis, estes se encontram ligados às partículas de argila ou então estão na matéria orgânica do solo. Por fim, os aminoácidos podem ser encontrados nas moléculas de proteínas, esta forma é pouco disponível às plantas, e é responsável por reabastecer o estoque de aminoácidos livres do solo (SCHULTEN; SCHNITZEN, 1997; JAMTGARD, 2010).

Alguns estudos relatam que na solução do solo podem ser encontradas concentrações de aminoácidos livres que variavam 0,1 a 60 µM (JONES et al., 2002; HILL et al., 2011; GIOSEFFI et al., 2012), por outro lado, outros autores afirmam que essas concentrações podem chegar a 158 µM (RAAB et al., 1999; JONES et al., 2005). A quantidade de aminoácidos livres depende de diversos fatores tais como pH do solo e quantidade de microrganismos no solo, além da atividade de enzimas proteolíticas, que podem ser exsudadas pelos micróbios de vida livre, fungos micorrízicos ou raízes de plantas (GODLEWSKI; ADAMCZYK, 2007; PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2009). A atividade das enzimas proteolíticas também pode ser influenciada pelo pH do solo, uma vez que a diminuição do pH aumenta a atividade destas enzimas, proporcionando o aumento da rotatividade de aminoácidos no solo (NASHOLM et al., 2008).

Outro fator que afeta a disponibilidade dos aminoácidos é a caracterização de cada um deles, ou seja, aminoácidos básicos como a lisina e arginina tendem a ser pouco móveis, em comparação a aminoácidos neutros como a glicina e alanina (OWEN; JONES, 2001). As

cargas positivas destes aminoácidos básicos são facilmente adsorvidas as partículas de argila e a matéria orgânica do solo, as quais apresentam cargas negativas (LIPSON; NASHOLM, 2001). O período de permanência dos aminoácidos no solo tem sido foco de diversos estudos, os quais mostram que, em solos desprovidos de plantas os aminoácidos podem durar de 3 a 20 horas (LIPSON; NASHOLM, 2001; JONES; KIELLAND, 2002; JONES et al., 2005).

2.2.1. Absorção de aminoácidos pelas plantas

Nas plantas a primeira evidência de que os aminoácidos eram absorvidos começou a aparecer a partir do século XX (HUTCHINSON; MILLER, 1911). A utilização de aminoácidos pelas plantas é reconhecidamente mais favorável energeticamente em relação ao NO_3^- e NH_4^+. No entanto, a capacidade de absorção dos aminoácidos pelas raízes está intimamente ligada à disponibilidade dos aminoácidos na rizosfera e da atividade de transportadores de aminoácidos nas membranas celulares em contato com a solução do solo (JAMTGARD, 2010).

Os aminoácidos podem ser encontrados no solo de três formas diferentes. Na primeira delas, encontram-se dissolvidos na solução do solo, e são denominados aminoácidos livres e estão disponíveis para serem absorvidos pelas raízes. Outra forma encontrada no solo são os permutáveis, estes se encontram ligados às partículas de argila ou então estão na matéria orgânica do solo. Por fim, os aminoácidos podem ser encontrados nas moléculas de proteínas, esta forma é pouco disponível às plantas, e é responsável por reabastecer o estoque de aminoácidos livres do solo (SCHULTEN; SCHNITZEN, 1997; JAMTGARD, 2010).

Alguns estudos relatam que na solução do solo podem ser encontradas concentrações de aminoácidos livres que variavam 0,1 a 60 µM (JONES et al., 2002; HILL et al., 2011; GIOSEFFI et al., 2012), por outro lado, outros autores afirmam que essas concentrações podem chegar a 158 µM (RAAB et al., 1999; JONES et al., 2005). A quantidade de aminoácidos livres depende de diversos fatores tais como pH do solo e quantidade de microrganismos no solo, além da atividade de enzimas proteolíticas, que podem ser exsudadas pelos micróbios de vida livre, fungos micorrízicos ou raízes de plantas (GODLEWSKI; ADAMCZYK, 2007; PAUNGFOO-LONHIENNE et al., 2009). A atividade das enzimas proteolíticas também pode ser influenciada pelo pH do solo, uma vez que a diminuição do pH aumenta a atividade destas enzimas, proporcionando o aumento da rotatividade de aminoácidos no solo (NASHOLM et al., 2008).

Outro fator que afeta a disponibilidade dos aminoácidos é a caracterização de cada um deles, ou seja, aminoácidos básicos como a lisina e arginina tendem a ser pouco móveis,

em comparação a aminoácidos neutros como a glicina e alanina (OWEN; JONES, 2001). As cargas positivas destes aminoácidos básicos são facilmente adsorvidas as partículas de argila e a matéria orgânica do solo, as quais apresentam cargas negativas (LIPSON; NASHOLM, 2001). O período de permanência dos aminoácidos no solo tem sido foco de diversos estudos, os quais mostram que, em solos desprovidos de plantas os aminoácidos podem durar de 3 a 20 horas (LIPSON; NASHOLM, 2001; JONES; KIELLAND, 2002; JONES et al., 2005).

Existem divergências nas comparações sobre as proporções de absorção NO_3^- e NH_4^+ e aminoácidos pelas raízes, alguns autores relatam que o nitrato é a forma de nitrogênio mais absorvida pelas plantas, seguidas pelos aminoácidos e amônio (FINZI; BERTHRONG, 2005). No entanto, outros autores afirmam que a taxa de absorção de aminoácidos pelas raízes pode ser maior do que as formas inorgânicas de nitrogênio (PERSSON et al., 2006). GIOSEFF et al. (2012) realizaram experimento em plantas de trigo, buscando avaliar a interação na absorção entre as formas orgânicas e inorgânicas de nitrogênio, e constataram que quando existia a disponibilidade de glicina as raízes aumentavam a absorção desse aminoácido o que, consequentemente levava a diminuição da absorção de nitrato e amônio.

A absorção dos aminoácidos do solo é mediada por alguns transportadores presentes nas raízes, entre eles está o LHT1 (*Lysine Histidine Transporter*), AAP1 e AAP5 (*Amino Acid Permease 1* e *5*), onde cada um destes possui diferente especificidade e afinidade como os aminoácidos (HIRNER et al., 2006; LEE et al., 2007). LHT1 e AAP1 estão relacionados com a absorção dos aminoácidos neutros e ácidos, já AAP5 é responsável pela absorção de lisina e arginina (HIRNER et al., 2006).

Outra característica que pode explicar a presença de diferentes transportadores de aminoácido está relacionada com a localização destes transportadores na raiz. O transportador AAP1 pode ser encontrado na epiderme, córtex e cilindro vascular (HIRNER et al., 2006; LEE et al., 2007), já LHT1 é observado na coifa e na epiderme e por fim o AAP5 poder ser encontrado em todas as regiões da raiz, mas preferencialmente no córtex, endoderme e raízes laterais (BRADY et al., 2007).

As plantas também podem absorver os aminoácidos por meio de micorrizas, que é a associação de fungos com a raiz da planta. Estes fungos também possuem transportadores específicos para a absorção dos aminoácidos, levando-os para dentro da planta que possui a associação micorrízica (CHALOT et al., 2002; SMITH; READ, 2007).

Os aminoácidos encontrados no solo podem auxiliar no processo de regulação na absorção de cátions (BRADY, 1974), que podem estar aderidos aos coloides do solo em concentrações tóxicas para as células, sendo considerados quelatizantes. Isso porque, quando

um único ligante se adere a um cátion, esse é considerado complexado. Se um cátion está ligado a um composto orgânico em dois ou mais sítios de troca estruturando-se em um anel é considerado um quelato do metal (MEISTER, 1999).

Alguns aminoácidos usados como quelato com micronutrientes são a lisina, glutamato (MILLER, 1998), cisteína e histidina (BAKER, 1995). Além dos aminoácidos citados, a glicina é o aminoácido mais simples usado em sistemas agrícolas como um agente quelatizante de micronutrientes e também como fonte de N, embora esta última função seja menos enfatizada.

2.3. Aminoácidos na planta

Os aminoácidos são moléculas essenciais no metabolismo primário e secundário, pois desempenham diversos papéis nas plantas, além de atuarem como fonte de nitrogênio. Outros aminoácidos desempenham funções específicas como precursores para a síntese de metabólitos secundários, como é o caso de hormônios e moléculas de defesa (BUCHANAN et al., 2000, Figura 3).

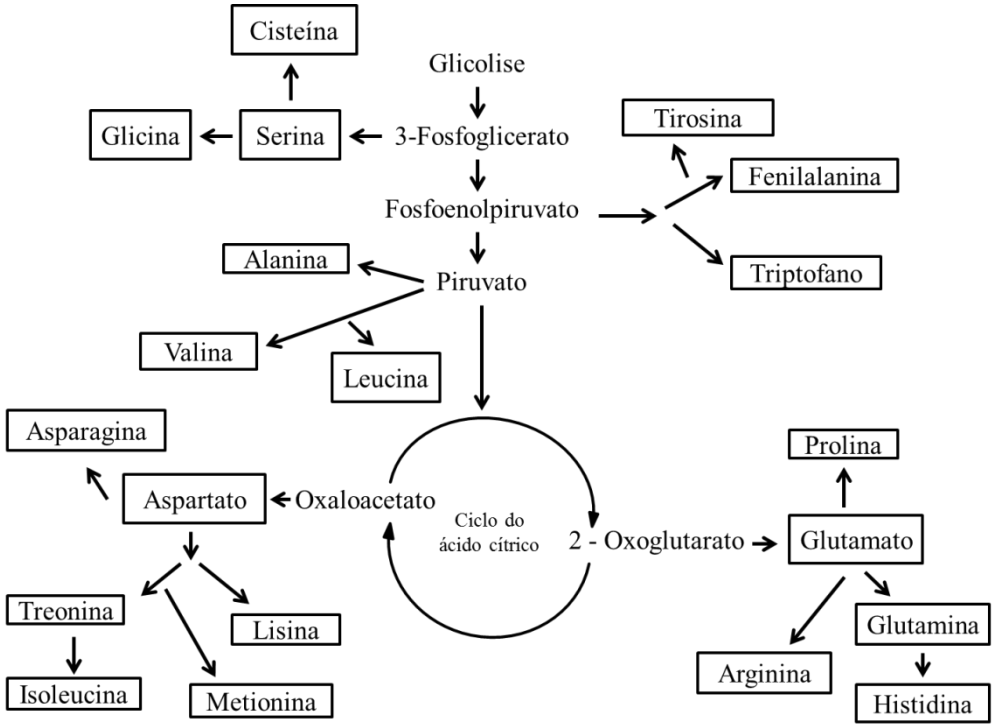

Figura 3. Rotas biossintéticas dos aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2013)

2.3.1. Cisteína

Este é um importante aminoácido, pois além de ser uma fonte de enxofre, está envolvido no processo de produção de fitoquelatinas e, juntamente com a glicina e o glutamato atuam na síntese de glutationa, molécula importante no sistema de defesa em plantas (FOYER; NOCTOR, 2005; GILL; TUTEJA, 2010).

Após a absorção do enxofre pelas raízes, na forma de sulfato, ele sofre reações de redução até ser incorporado a cisteína. Este processo pode ocorrer nos plastídios da raiz ou, na parte área, podendo ser observado nas mitocôndrias, cloroplastos e no citosol (BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013). A enzima ATP sulforilase catalisa a reação do sulfato com o ATP, produzindo 5'adenililsulfato (APS), este composto, por sua vez, é reduzido a sulfito via enzima APS redutase, utilizando energia oriunda da glutationa (Figura 4). O sulfito formado sofre ação da enzima sulfito redutase, produzindo sulfeto, que reage com um composto denominado O-acetilserina, formando assim a cisteína (BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013; RENNENBERG; HERSCHBACH, 2014).

A cisteína também está envolvida na rota de produção de metionina, aminoácido importante na síntese de etileno e na formação de poliaminas, compostos importantes na regulação de diversas funções nos vegetais (RAVANEL et al., 1998; BUCHANAN et al., 2000).

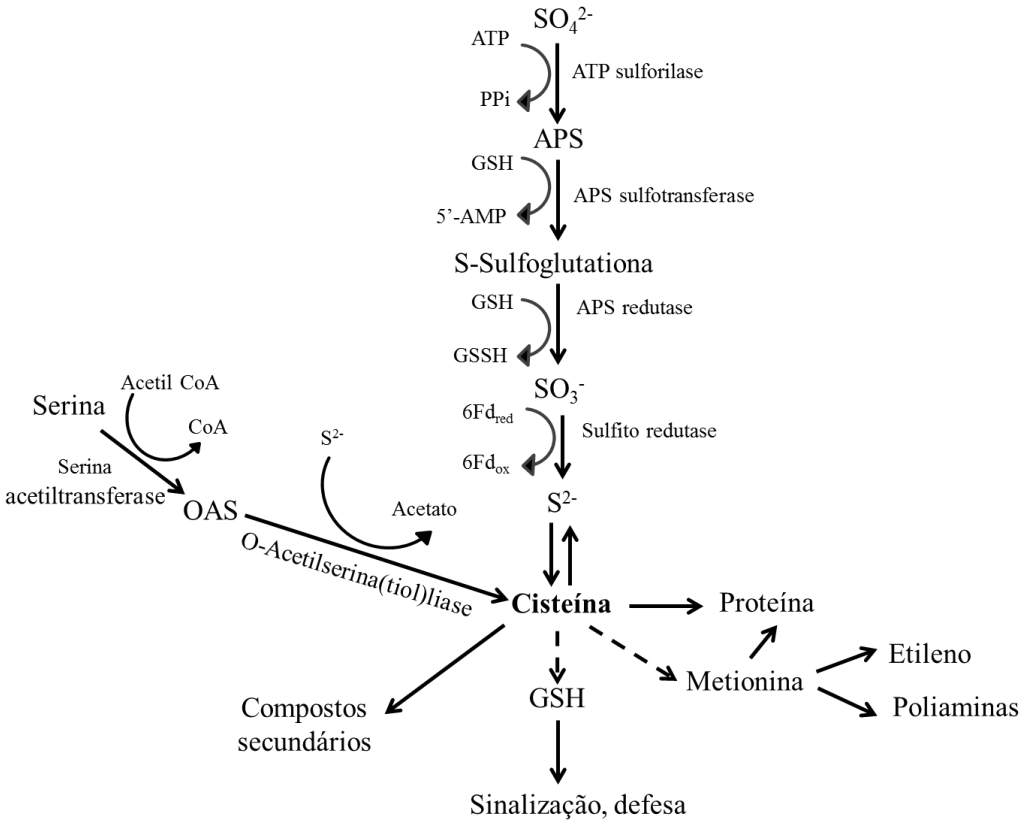

Figura 4. Síntese das principais funções da cisteína em plantas (Adaptado de BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013; RENNENBERG; HERSCHBACH, 2014)

Legenda: SO_4^{2-} - sulfato; APS - 5' adenililsulfato; SO_3^- - óxido sulfúrico; S^{2-} - sulfeto; GSH – glutationa reduzida; GSSH – glutationa oxidada; Fd_{red} – ferridoxina reduzida; Fd_{ox} – ferridoxina oxidada; OAS - O – Acetil L-Serina

Compostos como a glutationa e fitoquelatinas são formados por meio da participação de cisteína (Figura 5). A biossíntese de glutationa se inicia a partir da cisteína e do glutamato, onde a enzima γ-glutamilcisteína sintetase (GCS) proporciona a produção de γ-GlutamilCisteína, este composto juntamente com a glicina formam glutationa reduzida (GSH) via enzima glutationa sintetase (GS).

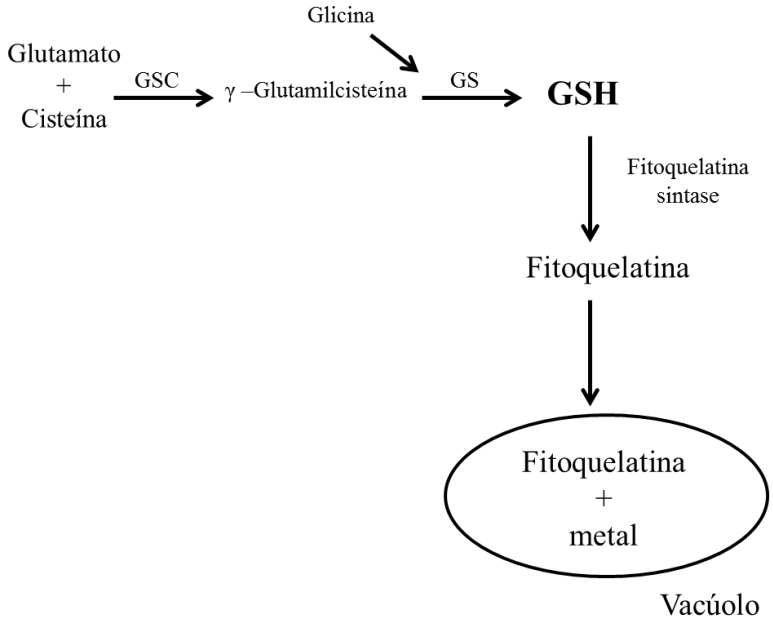

Figura 5. Biossíntese de glutationa e de fitoquelatinas em plantas (Adaptado de COBBETT, 2000).
Legenda: GSC - γ-glutamilcisteína sintetase; GS - glutationa sintetase; GSH – glutationa reduzida

A glutationa é importante no sistema de defesa contra estresse em plantas, podendo atuar no sistema de defesa enzimático (ciclo ascorbato-glutationa, Figura 6) e não enzimático, por meio da neutralização da ação de outras espécies reativas de oxigênio, devido a sua capacidade de doar elétrons (GILL; TUTEJA, 2010).

A glutationa pode sofrer ação da enzima fitoquelatina sintase, que produz as fitoquelatinas, formadas por pequenas moléculas de peptídeos, ricas em cisteína e glutationa (COBBETT, 2000). A fitoquelatina formada possui a capacidade de se ligar a metais tóxicos não essenciais como cádmio e alumínio e, também pode ser ligar a metais essenciais que estão em excesso na planta como zinco e cobre. Após fazer a ligação com estes metais, a fitoquelatina é armazenada no vacúolo, evitando assim, os efeitos danosos desses metais (BUCHANAN et al., 2000; COBBETT, 2000).

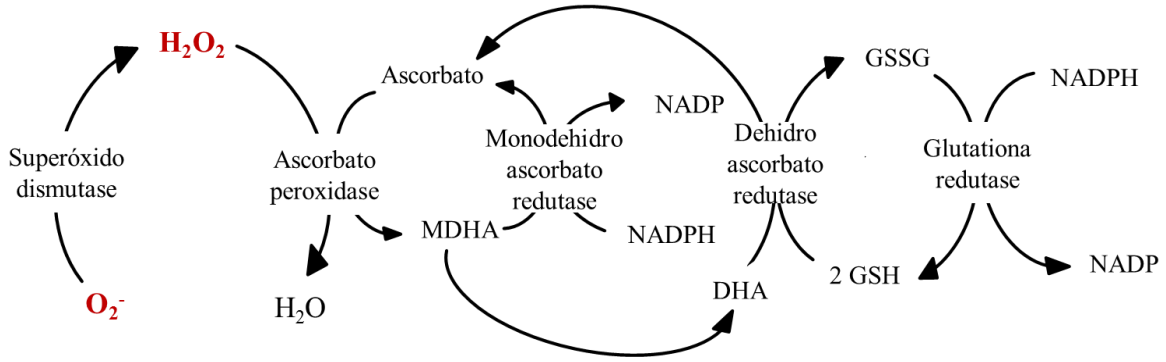

Figura 6. Representação esquemática do sistema de desintoxicação de espécies reativas de oxigênio via enzimática, por meio da via ascorbato-glutationa (Adaptado de MITTLER et al., 2002).

Legenda: O_2^- - radical superóxido; H_2O_2 – peróxido de hidrogênio; MDHA – monodehidro ascorbato; NADP - nicotinamida adenina dinucleotido fosfato reduzido; NADPH - nicotinamida adenina dinucleotido fosfato oxidado; DHA – dehidroascorbato; GSSG – glutationa oxidada; GSH – glutationa reduzida

2.3.2. Glicina

Este aminoácido, além de participar da biossíntese de glutationa e fitoquelatinas, descritos anteriormente, está envolvido no processo de formação de glicina betaína (Figura 7). Este composto normalmente é acumulado em plantas que estão sobre estresse hídrico, salino, frio, calor e congelamento, pois auxilia na manutenção integridade das membranas celulares, mantendo a eficiência fotossintética (ASHRAF; FOOLAD, 2007). Tem sido relatado também que, sob condições de estresse, a glicina betaína produzida pelas plantas pode estabilizar as estruturas de proteínas e regular a atividades de enzimas (BUCHANAN et al., 2000; SAKAMOTO; MURATA, 2002; TAIZ; ZEIGER, 2013).

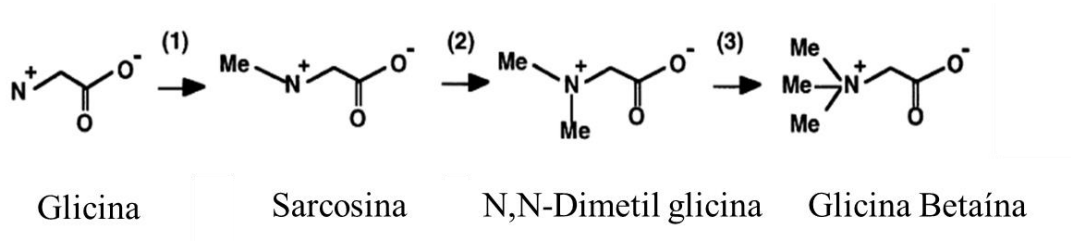

Figura 7. Biossíntese de glicina betaína (SAKAMOTO; MURATA, 2002).

Legenda: 1 e 2 – Glicina sarcosina metiltransferase; 2 e 3 – Sarcosina dimetilglicina metiltransferase; Me – grupo metil (CH3)

2.3.3. Fenilalanina

Este aminoácido está relacionado com a biossíntese de compostos fenólicos de defesa como, por exemplo, lignina, taninos e flavonoides (HEIM et al., 2002; DENISOV;

AFANAS'EV, 2005). A síntese destes compostos ocorre a partir do ácido cinâmico, que é o produto da ação da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) sobre o fenilalanina (Figura 8).

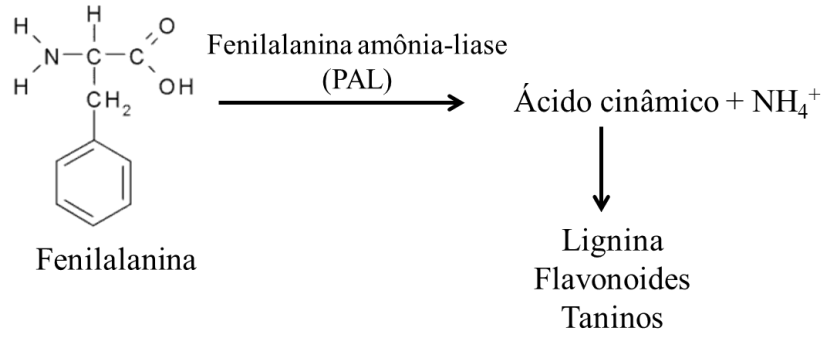

Figura 8. Produção de compostos fenólicos a partir do ácido cinâmico, oriundo da atividade da enzima PAL sobre a fenilalanina.

Legenda: NH_4^+ - amônio

A lignina está envolvida com a resistência das plantas, pois este composto é capaz de fortalecer o caule e o sistema vascular, favorecendo o transporte de substâncias e o desenvolvimento da planta (TAIZ; ZEIGER, 2013). Já os flavonoides podem proteger as plantas contra raios UV, além de auxiliar na defesa contra ao ataque de fungos (BUCHANAN et al., 2000; TAIZ; ZEIGER, 2013).

Outra função importante mediada pela fenilalanina amônia-liase é que está enzima também participa do processo de síntese do ácido salicílico a partir da fenilalanina (BUCHANAN et al., 2000). O ácido salicílico é um hormônio que atua principalmente na resistência sistêmica contra patógenos nas plantas. Além disso, esse hormônio pode mediar respostas a estresses abióticos como estresse hídrico, estresse por frio, tolerância a metais pesados, altas temperaturas e estresse osmótico, esse fato porque o ácido salicílico pode regular a atividade de enzimas antioxidantes, o que garante a integridade celular (RIVAS-SAN; PLASENCIA, 2011). Estes mesmos autores afirmam que esse hormônio pode atuar na regulação da germinação de sementes, crescimento vegetativo, fotossíntese, respiração, termogêneses, formação das flores e produção de sementes.

2.3.4. Glutamato

O glutamato pode ser considerado um aminoácido chave em plantas, pois pode ser utilizado em várias rotas biossintéticas (Figura 9), (TAIZ; ZEIGER, 2013). Ele serve de base para a formação de diversos aminoácidos, como a arginina, prolina, glutamina e aspartato, além disso, atua como precursor da molécula de clorofila, a partir da formação de δ-aminolevulínico (Figura 9).

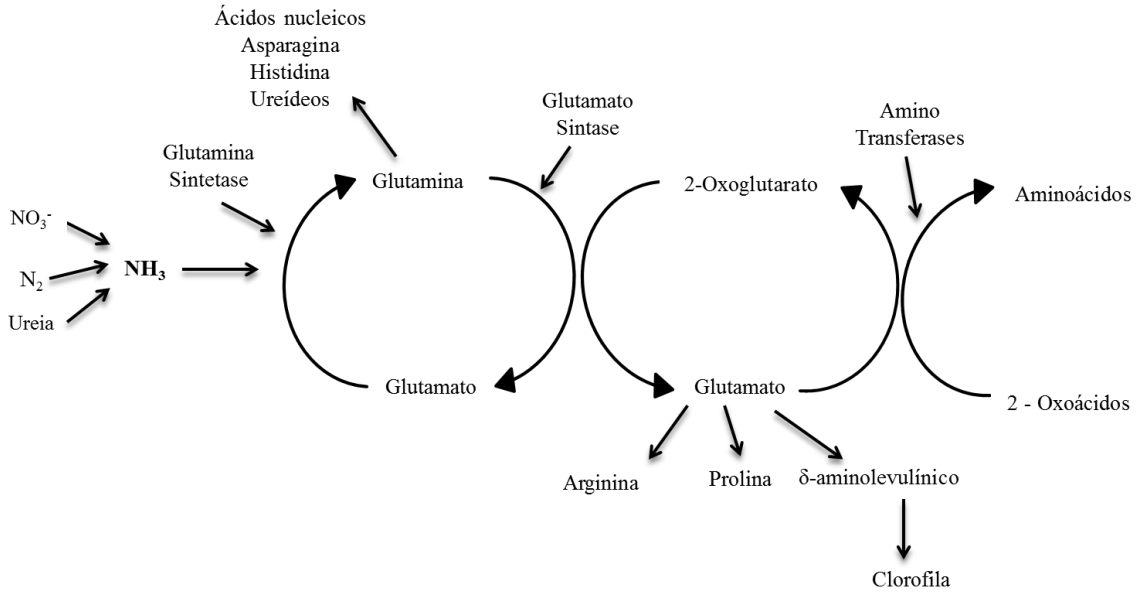

Figura 9. Síntese do glutamato e seu metabolismo em plantas (FORD; LEA, 2007).
Legenda: NO_3^- - nitrato; N_2 – gás nitrogênio; NH_3 – amônia

O glutamato também é importante no sistema de defesa em plantas, devido a sua participação na produção de glutationa e também devido à síntese de outros aminoácidos como arginina e prolina, que podem atuar no sistema de defesa de plantas. A prolina representa um papel importante no sistema de defesa antioxidante (GILL; TUTEJA, 2010), sua produção pode ocorrer no citosol e nos cloroplastos (REJEB et al., 2014). Esse composto funciona como osmoprotetor, podendo atuar em estresses por seca, salinos e ocasionados pelo excesso de metais, atuando também como quelante de metais evitando a produção de OH^-, (SMIRNOFF; CUMBES, 1989; ASHRAF, 2007; TROVATO et al., 2008; GILL; TUTEJA, 2010). Alguns trabalhos recentes têm mostrado que a prolina pode atuar também como uma molécula sinalizadora, podendo induzir o aumento da atividade de enzimas antioxidantes em resposta a diferentes tipos de estresses (HOQUE et al., 2007; YAN et al., 2011; CARVALHO et al., 2013; REJEB et al., 2014).

Por outro lado, a arginina além de ser fonte de nitrogênio, pode estar envolvida na maturação e germinação de sementes, transporte no xilema e floema e, seu acúmulo tem sido observado em condições de estresse e deficiência (LEE et al., 2007). Além disso, a arginina pode atuar como precursora de poliaminas, que desempenham um importante papel na defesa de plantas contra estresse (FORDE; LEA, 2007).

2.4. Aplicação de aminoácidos em plantas

Alguns trabalhos têm comprovado o efeito da aplicação de aminoácidos em culturas anuais e perenes com efeitos variados. Furuya e Umemiya (2002), trabalhando com aplicações foliares de diferentes fontes de nitrogênio marcado na cultura de pessegueiro (*Prunus domestica*), observaram maiores taxas de absorção de ureia e nitrato de sódio seguido pelos aminoácidos L-alanina, L-glutamato, glicina e L-lisina aos sete dias após a aplicação. A taxa de absorção de N aumentou conforme o peso molecular dos aminoácidos diminuía, embora essa correlação não tenha sido comprovada com a arginina e L-lisina que apresentaram elevada absorção quando comparada com outras moléculas de semelhante peso molecular.

A fim de avaliar o efeito de aminoácidos no crescimento de *Lolium multiflorum*, Nagao et al. (2005) efetuaram a aplicação de prolina (80 ou 40 mg L^{-1}) e inosina (40 ou 20 mg L^{-1}). Nesse experimento os autores observaram que a aplicação de prolina e inosina aumentou significativamente a massa de matéria fresca da planta.

A aplicação de aminoácidos em plantas também é utilizada para melhorar o crescimento e o nível nutricional das plantas tornando-as mais tolerantes a danos por doenças (EL-GHAMRY et al., 2009). Em plantas submetidas ao estresse ocorre acúmulo de prolina e outros aminoácidos. O papel desses aminoácidos varia na regulação osmótica, regulação de transporte de íons, modulação na abertura de estômatos e desintoxicação de metais pesados. Os aminoácidos também afetam a síntese e atividade de algumas enzimas, na expressão gênica e homeostase-redox (RAI, 2002).

Os aminoácidos melhoraram o crescimento e a produção de plantas submetidas a condições salinas. Neeraja et al. (2005) verificaram que o uso de aminoácidos proporcionou o aumento no número de flores e no rendimento de frutos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Experimento I

3.1.1. Local

O experimento foi conduzido em área experimental da Escola Agrotécnica Afonso Queiroz, Campus II do Unipam (Centro Universitário de Patos de Minas), município de Patos de Minas (MG) (18°34’ de latitude Sul, 46°31’ de longitude Oeste e 815 m de altitude). O solo é classificado como Latossolo Vermelho e apresenta um clima tropical de altitude (Cwa), com precipitação média anual em torno de 1400 mm (SOUZA et al., 2005), sendo a temperatura média anual igual a 21,1 ºC; a máxima anual 27,8 ºC; e a mínima anual 16,3 ºC, conforme dados da Estação Meteorológica de Sertãozinho (EPAMIG) localizada no município de Patos de Minas (MG).

3.1.2. Caracterização do experimento

Inicialmente foram instalados pré-testes de emergência visando observar quais as melhores doses e tratamentos a serem aplicados no experimento. Esses pré-testes foram conduzidos em bandejas contendo como substrato areia lavada. Neste experimento foram testados os aminoácidos glutamato, arginina, cisteína, fenilalanina, glicina, glutamina, metionina e triptofano, nas doses de 100, 200, 300, 400 e 500 mg ha^{-1}.

Após a obtenção dos melhores tratamentos e melhores doses a serem aplicadas foi realizada a instalação do experimento em campo. Este foi conduzido em canteiros, utilizando soja (*Glycine max* L. Merrill), variedade cultivada SYN 1279 RR, de crescimento indeterminado e ciclo precoce. A semeadura foi realizada em canteiros de 1 m de largura, com espaçamento de 0,2 m entre linhas, sendo semeadas 50 sementes por linha.

3.1.3. Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, constituído pela aplicação de doses de aminoácidos no tratamento de sementes, sendo utilizadas quatro repetições para cada tratamento (Tabela 1). Foram utilizados dois tratamentos controles, onde, o primeiro deles correspondeu à utilização de sementes sem nenhum tratamento, e outro utilizando tratamento convencional com fungicida e inseticida (Fipronil + Piraclostrobina +

Tiofanato Metílico), na dose de dose de 1 mL kg-1 [sementes]. Os aminoácidos foram diluídos em água destilada e aplicados sobre as sementes na dose de 4 mL kg-1 [semente].

Tabela 1. Descrição dos aminoácidos e doses utilizadas. Escola Agrotécnica Afonso Queiroz (UNIPAM). Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento[1]	Dose	
	mg kg^{-1} [sementes]	µmol L^{-1}
Controle	0	0
Glutamato	9	5250
	12	10500
	15	15768
	18	21018
	21	26269
Cisteína	3	6376
	6	12751
	9	19148
	12	25524
	15	31899
Fenilalanina	3	4676
	6	9353
	9	14044
	12	18720
	15	23397
Glicina	3	10290
	6	20581
	9	30904
	12	41195
	15	51485

Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico

[1] As fontes utilizadas correspondem aos aminoácidos puros marca Sigma Aldrich®, com isomeria óptica levogiro (L- aminoácido)

3.2. Experimento II

3.2.1. Local

O experimento foi desenvolvido em casa de vegetação localizada no Departamento de Produção Vegetal da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (Esalq/USP), município de Piracicaba, SP (22º41’S, 47º38’O e 546 m de altitude).

3.2.2. Tratamentos e delineamento experimental

Foi conduzido em vasos de capacidade de 11 dm^3, contendo areia lavada como substrato, utilizando soja (*Glycine max* L. Merrill), variedade cultivada NS 7901 RR. Foram semeadas 10 sementes por vaso e, após a emergência, foi realizado o desbaste, deixando apenas três plantas por vaso.

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, constituído pela aplicação de aminoácidos no tratamento de sementes e/ou via foliar, sendo utilizados oito blocos por tratamento (Tabela 2). Antes da aplicação dos tratamentos todas as sementes foram tratadas com fungicida e inseticida [Fipronil (250 g L^{-1}) + Tiofanato metílico (225 g L^{-1}) + Piraclostrobina (25 g L^{-1})] na dose de 1 mL kg^{-1} de sementes.

Tabela 2. Descrição dos tratamentos de aminoácidos utilizados e a respectiva forma de aplicação. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq/USP). Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	Descrição[1]	Aplicação	
		Tratamento de sementes (TS, mg kg^{-1} [sementes])	Foliar - V_4 (mg ha^{-1})
1	Controle	0	-
2	Glutamato	12	-
3	Cisteína	12	-
4	Fenilalanina	3	-
5	Glicina	9	-
6	Glutamato + Cisteína + Fenilalanina + Glicina	12+12 +3+9	-
7	Glutamato	-	120
8	Cisteína	-	120
9	Fenilalanina	-	30
10	Glicina	-	90
11	Glutamato + Cisteína + Fenilalanina + Glicina	-	120+120 +30+90
12	Glutamato	12	120
13	Cisteína	12	120
14	Fenilalanina	3	30
15	Glicina	9	90
16	Glutamato + Cisteína + Fenilalanina + Glicina	12+12 +3+9	120+120 +30+90

[1] As fontes utilizadas correspondem aos aminoácidos puros (marca Sigma Aldrich®), com isomeria óptica levogiro (L- aminoácido)

As informações referentes a concentrações detalhada dos aminoácidos aplicados via foliar estão contidas na Tabela 3.

Tabela 3. Aminoácido, teor de N no aminoácicido (Aa), doses de Aa aplicado na área, dose de N aplicado na área, teor de Aa nas folhas, teor de Aa aplicado. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" (Esalq/USP). Piracicaba, SP. 2015

Aminoácido	Teor (%) de N no Aa	Dose de Aa aplicado na área (mg ha^{-1})	Dose de N aplicado na área (mg ha^{-1})	Teor de Aa nas folhas (µmol g^{-1} [MF])[1]	Teor de Aa aplicado (µmol ha^{-1})[2]	Teor de Aa aplicado (nmol g^{-1} [MF])[3]
Glutamato	9,5	120	11,4	5,0	4,08	0,0004
Cisteína	11,5	120	13,8	1,5	4,95	0,0005
Fenilalanina	8,5	30	2,55	1,5	0,91	0,0001
Glicina	18,6	90	16,74	3,0	6,00	0,0006
Completo	48,1	120+120 +30+90	44,49	11,0	15,94	0,0016

[1] Valores referentes às concentrações avaliadas por (GEIGER et al., 2001; URBANCZYK-WOCHNIAK et al., 2005), em plantas de tabaco e batata.

[2] População de 250.000 plantas ha^{-1}

[3] Massa de matéria fresca de plantas de soja no estágio V_4 – 40 g

Durante a condução do experimento, os vasos foram irrigados diariamente de acordo com a necessidade hídrica (400 mL por vaso). Foi realizada também aplicação semanal de solução nutritiva proposta por Johnson et al. (1957) (Tabela 4).

Tabela 4. Descrição dos sais da solução nutritiva.

Sal	g por 1000 L
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	457,7
KNO_3	251,3
KH_2PO_4	142,9
$MgSO_4.7H_20$	251,3
FeDTPA	23,8
H_3BO_3	1,3
$MnSO_4$	0,794
$ZnSO_4.7H_2O$	0,106
$CuSO_4.5H_2O$	0,026
$H_2MoO_4.H_2O$	0,013

3.3. Experimento III

3.3.1. Local

O experimento foi conduzido em área experimental da Escola Agrotécnica Afonso Queiroz, Campus II do UNIPAM (Centro Universitário de Patos de Minas), município de Patos de Minas (MG) (18°34' de latitude Sul, 46°31' de longitude Oeste e 815 m de altitude), com as características descritas no ítem 3.1.1.

3.3.2. Caracterização do experimento

Antes da semeadura, foi realizada a coleta de amostras de solo da área onde o experimento foi instalado. A análise química do solo está apresentada na tabela 5. Como

adubação, foram utilizados 450 kg ha-1 da formulação 08:30:10 + 3,26% de Ca + 4,25% de S + 0,2% de B + 0,2% de Zn.

Tabela 5. Análise de solo (0-20 cm) da área de condução dos experimentos na área experimental do Centro Universitário de Patos de Minas. Unipam. Patos de Minas, (MG). 2015

pH	P-Me1	P-Rem	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	Al^{3+}	H+Al
Água	---------- mg dm^{-3} ----------			---------- $cmol_c$ dm^{-3} ----------			
5,60	10,23	4,94	85,70	2,94	0,56	0,02	1,30
SB	t	T	V	m	M.O.		
---------- $cmol_c$ dm^{-3} ----------			---------- % ----------		dag kg^{-1}		
3,72	3,74	5,02	74,11	0,53	3,12		

O manejo das plantas daninhas foi realizado com aplicação de Glifosato (e.a 480 g L^{-1}) na dose de 2 L ha^{-1} aos 14 e 35 dias após a semeadura. Para manejo de pragas foi realizado aplicação de Acetamiprido (100 g L^{-1}) + Alfa-cipermetrina (200 g L^{-1}) na dose de 250 mL [p.c.] ha^{-1} e Clorfenapir (240 g L^{-1}) na dose de 500 mL [p.c.] ha^{-1} aos 84 dias após a semeadura. O controle de doenças foi realizado com a aplicação de Piraclostrobina (133 g L^{-1}) + Epoxiconazol (50 g L^{-1}) aos 54 dias após a semeadura e Fluxapiroxade (167 g L^{-1}) + Piraclostrobina (333 g L^{-1}), na dose de 300 mL[p.c.] ha^{-1} aos 70 e 84 dias após a semeadura.

3.3.3. Tratamentos e delineamento experimental

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados, constituído pela aplicação de aminoácidos no tratamento de sementes e/ou via foliar, sendo utilizados oito blocos por tratamento (Tabela 2). Antes da aplicação dos tratamentos todas as sementes foram tratadas com fungicida e inseticida [Fipronil (250 g L^{-1}) + Tiofanato metílico (225 g L^{-1}) + Piraclostrobina (25 g L^{-1})] na dose de 1 mL kg^{-1} de sementes.

Foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max* L. Merrill), variedade cultivada NS 7901 RR, semeadas com o objetivo de atingir uma população na colheita de 250.000 plantas ha^{-1}. Cada parcela foi composta por quatro linhas com sete metros de comprimento por 0,45 m entrelinhas, totalizando uma área de 12,6 m^2. A área útil de cada parcela foi constituída pelas linhas centrais, descartando 0,5 m em cada extremidade da parcela (Figura 10).

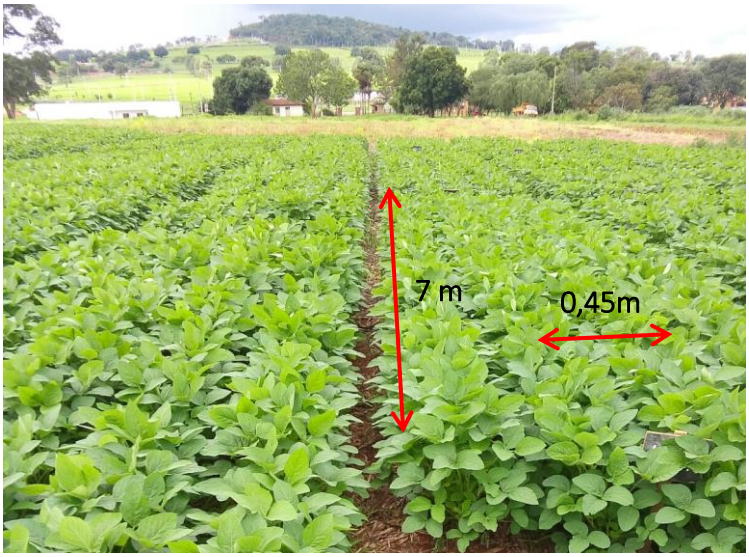

Figura 10. Demonstração das parcelas utilizadas na área experimental. Unipam. Patos de Minas, MG. 2015

As aplicações foliares foram realizadas no estádio V_4 com pulverizador costal propelido a CO_2. A barra utilizada continha quatro bicos tipo leque, perfazendo 2,25 m de comprimento e com pressão de 2 bar. Para todas as aplicações foi utilizado volume de calda de 200 L ha^{-1}.

Na Figura 11, são demostradas às condições climáticas durante o período de condução do experimento. Foram mensurados 760 mm de precipitação ao longo da condução do experimento, no entanto a distribuição foi muito irregular, sendo 543 mm registrados no período vegetativo e somente 217 mm de precipitação no período reprodutivo.

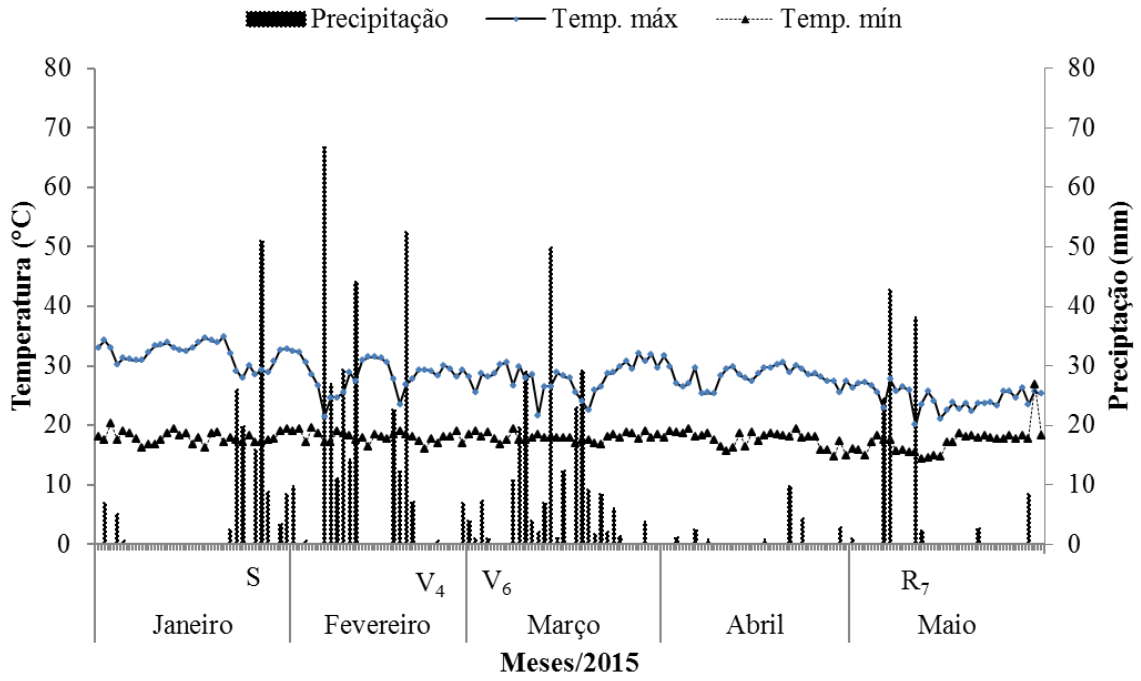

Figura 11. Precipitação, temperatura máxima e mínima, referentes ao período de condução do ensaio (26 janeiro de 2015 a 10 de maio de 2015). Patos de Minas, MG

3.4. Avaliações

3.4.1. Emergência e índice de velocidade de emergência

Durante um período de dez dias após a semeadura, foi registrado, diariamente, o número de plântulas emergidas, sendo adotado como critério de emergência, a emissão dos cotilédones acima do solo. O índice de velocidade de emergência (IVE) foi calculado de acordo com equação proposta Maguire (1962) (Equação 1).

$$IVE = \frac{E_1}{t_1} + \frac{E_2}{t_2} + \frac{E_3}{t_3} \cdots \frac{E_n}{t_n} \quad [1]$$

em que “E” corresponde ao número de sementes emergidas e “t” é o tempo transcorrido a partir da semeadura, expresso em dias.

Para o cálculo da % de emergência (E) foi utilizado o número total de plântulas emergidas, dez dias após a semeadura (Equação 2).

$$\%E = \frac{NSE.100}{NSS} \quad [2]$$

em que: NSE é o número de sementes emergidas em cada linha de uma repetição e NSS é o número de sementes semeadas por linha.

3.4.2. Determinações bioquímicas

As coletas para as determinações bioquímicas foram realizadas quando as plantas se encontravam no estágio V_6 (40 DAS) no Experimento I; nos estágios V_3 e V_6 para o Experimento II, e nos estágios V_6 (uma semana após a aplicação foliar, 40 DAS) no Experimento III. Foram coletadas folhas, completamente expandidas do terço médio das plantas, as folhas foram transportadas em caixas de isopor. O material foi utilizado para determinação da atividade das enzimas urease (U), nitrato redutase (NR), catalase (CAT), peroxidase (POD), superóxido dismutase (SOD), polifenoloxidase (PFO), fenilalanina amônia-liase (PAL), quantificação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), proteínas e peroxidação lipídica (PL).

3.4.2.1. Urease

A extração do material para a determinação da atividade da urease foi realizada em material fresco de acordo com a metodologia adaptada de Hogan et al. (1983). As folhas foram coletadas ás 9 horas e levadas para o laboratório em caixas de isopor, para manter o material em baixa temperatura. Foram utilizadas cerca de 200 mg de folhas previamente trituradas com auxílio de nitrogênio líquido, em seguida, esse material foi colocado em tubo de ensaio contendo 4mL de tampão de fosfato com ureia pH 7,4 (NaH_2PO_4 0,20 M; Na_2HPO_4 0,50 M; n-propanol 0,66 M e ureia 0,21 M). A utilização do n-propanol visa o aumento da permeabilidade dos tecidos, além de evitar a formação de amônia por meio de contaminantes microbianos. Após esse procedimento os tubos de ensaio foram colocados em banho-maria a 30 ºC, durante 2 horas, agitando-se de 5 em 5 minutos.

A determinação do $N\text{-}NH_4^+$ foi realizada segundo a metodologia proposta por Mc Cullough (1967). Esse método é baseado na produção de indofenol (corante de coloração azulada). Esse composto é produzido por meio da reação de fenol com compostos nitrogenados (especialmente a amônia), em meio alcalino. Portanto, após o período de incubação das amostras foi retirada alíquota de 0,1 mL do extrato e, a amônia retida nos tecidos foliares foi extraída pela adição de 1 mL do reagente I (Fenol 0,1 M + Nitroprussiato de sódio 170 µM). Nessa parte do procedimento o Nitroprussiato de sódio funciona como um agente catalizador da reação. Posteriormente, foi adicionado 1 mL do reagente II (NaOH 0,125 M + $Na_2HPO_4.12H_2O$ 0,15 M + NaCl - 3% Cl_2), estes compostos tornarão o meio de reação alcalino, favorecendo a reação do fenol com a amônia. Por fim, os tubos foram vedados, para evitar a evaporação do NH_4^+, e levados para banho maria à 37 ºC por 35

minutos, para o desenvolvimento da cor, após esse período foi realizada leitura colorimétrica da reação em espectrofotômetro a 625 nm. A atividade da enzima foi determinada pela quantidade de NH_4^+ produzida, e os valores obtidos foram comparados com curva padrão de cloreto de amônio (NH_4Cl), e os resultados obtidos foram expressos em µmol [NH_4^+] h^{-1} g^{-1} [MF].

3.4.2.2. Nitrato redutase

Esta avaliação foi realizada apenas no Experimento III nos estágios V_3, V_6, R_3 e R_5 (25, 40, 60 e 80 DAS, respectivamente). As coletas para a determinação da atividade da enzima nitrato redutase foram realizadas ás 9 horas e as folhas foram acondicionadas em caixas de isopor até a chegarem ao laboratório. Para a determinação da atividade da enzima nitrato redutase as folhas foram cortadas em discos de 7 mm de diâmetro. Em seguida, 200 mg desse material foram colocados em tubo de ensaio envolvido com papel alumínio, contendo 5 mL de tampão de fosfato de sódio + nitrato de potássio - KNO_3 0,25 M (6,25g de KNO_3 em 250 mL de tampão de fosfato de sódio pH 7,4). Posteriormente esses tubos foram colocados em banho-maria a 35 ºC, durante 2 horas, agitando-se de 5 em 5 minutos. Após este processo, 1 mL do extrato foi colocado em balão volumétrico (50 mL), onde foram adicionados 25 mL de água destilada e 1 mL de ácido sulfanílico, responsável pela paralização da atividade da enzima. A solução permaneceu em repouso de 5 a 10 minutos, sendo posteriormente adicionado 1 mL de alfa-naftilamina, que proporciona o desenvolvimento da cor da reação (coloração rosa). Por fim, foi adicionado 1 mL do tampão de acetato de sódio, que tem a finalidade de tamponar a solução e, por fim, completou-se o volume do balão com água destilada. As leituras foram realizadas entre 10 e 30 minutos após o término da montagem do meio de reação, em espectrofotômetro com comprimento de onda de 560 nm (MULDER et al., 1959).

A estimativa da atividade da enzima nitrato redutase foi obtida por meio da curva padrão de nitrito (NO_2^-), ajustada de acordo com as concentrações de N na forma de NO_2^-. A partir das absorbâncias, foi ajustado o gráfico (teor x leitura), obtendo-se a equação de regressão linear. De acordo com esses dados, foi realizado o cálculo da atividade da enzima nitrato redutase, expressos em µg [$N\text{-}NO_2$] g^{-1} [massa de matéria fresca] h^{-1}.

3.4.2.3. Determinações de estresse

3.4.2.3.1. Obtenção do material vegetal

As amostras de folhas foram coletadas as 9:00 horas, colocadas em sacos plásticos e envolvidas em papel alumínio. Em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido, a fim de paralisar as reações e levadas para laboratório onde foram armazenadas em freezer a - 20 ºC.

A extração do material vegetal foi realizada por meio da trituração com auxílio de nitrogênio líquido. Posteriormente, 200 mg de material vegetal foram macerados com 4 mL de tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L^{-1} pH 6,8. As amostras foram então, transferidas para eppendorf's e centrifugadas a 10.000 rpm por 30 min a 4 ºC. Ao final, as amostras foram armazenadas a -20 ºC para posterior determinação de proteína, catalase, peroxidase e superóxido dismutase (KAR; MISHRA, 1976).

3.4.2.3.2. Teor de proteína total solúvel em folhas

Para determinação do teor de proteína na folha foi utilizada a metodologia descrita por Bradford (1976). A reação é obtida com 20 µL de extrato, adicionando-se 1 mL de reagente de Bradford, e a leitura realizada em espectrofotômetro a 595 nm. O teor de proteína total solúvel foi obtido através da curva padrão preparada com caseína. Os dados finais foram expressos em mg g^{-1} de matéria fresca e foram utilizados para os cálculos da atividade das enzimas (catalase, peroxidase e superóxido dismutase).

3.4.2.3.3. Superóxido dismutase

Esta enzima foi avaliada segundo a metodologia de Beauchamp e Fridovich (1971). Esse método é baseado na formação de formazan, para isso, é utilizada a riboflavina, também conhecida como vitamina B_2, esse material, quando exposto a luz, reage com aminoácidos (metionina), liberando elétrons. Esses elétrons livres se ligam ao O_2, formando o radical livre O_2^-. Esse radical tem a capacidade de se ligar ao NBT (Nitro Blue Tetrazolium), formando um segundo composto, denominado formazan (que possui coloração arroxeada). Portanto, quando a atividade da SOD é intensa o O_2^- é degradado, e não ocorre o consumo de NBT, formando uma solução amarela. Se a atividade da SOD for baixa, haverá O_2^- livre, que juntamente com o NBT formará formazina, resultando em uma solução roxa.

Para o preparo dos reagentes, todos os recipientes foram envolvidos com papel alumínio para evitar reação com a luz. Foi adicionado a um tubo de ensaio 2000 µL de

tampão de fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} pH 7,8, 30 μL de extrato enzimático, 450 μL de solução de Nitroblue Tetrazolium (NBT) + EDTA (5:4) e 500 μL de solução de Metionina + Riboflavina (1:1). Todas as amostras foram preparadas em duplicata, sendo que, após o preparo do sistema de reação, uma das amostras foi exposta a luz durante 10 minutos, sem o papel alumínio, e a outra permaneceu com o papel alumínio. Após esse período foram realizadas leituras de absorbância em espectrofotômetro a 560 nm. A atividade da enzima foi expressa em U de SOD mg^{-1} proteína, onde U corresponde à quantidade de enzima necessária para causar 50% de inibição da redução do NBT.

3.4.2.3.4. Catalase

Para a determinação da atividade da catalase (CAT), foram colocados em um tubo de ensaio 950 μL de tampão de fosfato de sódio 50 mmol L^{-1} pH 7,0 + H_2O_2 12,5 mmol L^{-1} e 50 μL de extrato enzimático, resultando em um volume final de 1 mL. As leituras de absorbância foram realizadas a 240 nm, e foram avaliadas durante 60 segundos, para que possa ocorrer a estabilização da leitura. As leituras foram realizadas com luz ultravioleta, e com a luz visível apagada. Além disso, foram utilizadas cubetas de quartzo (material que permite leituras de absorbância na luz ultravioleta). Para os cálculos da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar do H_2O_2 de 39,4 mmol L^{-1} cm^{-1}. A atividade da catalase foi expressa em nmol de H_2O_2 consumido min^{-1} mg^{-1} [proteína] (PEIXOTO et al., 1999).

3.4.2.3.5. Peroxidase

Segundo Asada (1999) existem algumas peroxidases que possuem afinidade com doadores de elétrons aromáticos como o guaiacol e o pirogalol. Portanto, essa peroxidase determinada neste método, pode ser considerada como a atividade da enzima guaiacol peroxidase.

A atividade da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com as condições citadas no trabalho de Teisseire e Guy (2000). Para isto, foi adicionado a um tubo de ensaio 500 μL de tampão fosfato de potássio 50 mmol L^{-1} pH 6,5, 30 μL de extrato enzimático, 250 μL de pirogalol (1, 2,3-benzenotriol) 20 mmol L^{-1} e 220 μL de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 5 mmol L^{-1}, totalizando um volume de 1 mL. Os tubos de ensaio foram deixados em temperatura ambiente por cinco minutos. Após esse período, a formação de purpurogalina, que apresenta coloração amarela, foi medida em espectrofotômetro UV-visível a 430 nm. Para o cálculo da atividade da enzima foi utilizado o coeficiente de extinção molar da

purpurogalina de 2,5 mmol L^{-1} cm^{-1}, sendo a atividade expressa em μmol min^{-1} mg^{-1} [proteína].

3.4.2.3.6. Fenilalanina amônia-liase

A atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) foi realizada apenas nos Experimentos II e III no estágio V_6. A análise foi determinada de acordo com a metodologia proposta por Umesha (2006), com algumas modificações. A extração foi realizada com 400 mg de material vegetal fresco e moído com auxílio de nitrogênio líquido, o material foi homogeneizado em 4 mL de tampão de fosfato de potássio 0,1 mol L^{-1} pH 6,8, em seguida centrifugado a 15.000 rpm durante 30 minutas a 4 ºC. Para a determinação da atividade da enzima foram adicionados a tubos de ensaio 900 μL de tampão Tris 25 mM pH 8,8, 100 μL de extrato e 500 μL de fenilalanina 50 mM. Para cada amostra também era realizado um padrão em branco que continha apenas tampão Tris e o extrato. Ao final do ensaio, o material foi incubado a 40 ºC durante duas horas. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro 290 nm. Para o cálculo da atividade da enzima, foi determinada a produção de ácido trans-cinâmico a partir da fenilalanina, sendo calculada a diferença de leitura entre a amostra e o branco, os valores finais foram obtidos com base em curva padrão de ácido trans-cinâmico 0,01 M. Os resultados foram expressos em μmol [ácido trans-cinâmico] mg^{-1} [proteína].

3.4.2.3.7. Polifenoloxidase

A atividade da enzima polifenoloxidase (PFO) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Duangmal e Apenten (1999), com algumas modificações. A avaliação foi realizada apenas no Experimento III, no estágio V_6. A extração do material vegetal foi realizada a partir do mesmo procedimento de extração da PAL. A determinação da atividade da polifenoloxidase é medida pela conversão do pirocatecol em quinona e os valores expressos em U min^{-1} mg^{-1} proteína. O substrato foi composto por catecol 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de sódio 100 mM, pH 6,8. Para a reação, 900 μL do substrato foram misturados com 100 μL de extrato proteico. As leituras foram realizadas a cada 10 s em espectrofotômetro a 420 nm, durante 1 minuto.

3.4.2.3.8. Peróxido de hidrogênio

O teor de peróxido de hidrogênio foi determinado por meio da reação com iodeto de potássio (KI), segundo Alexieva et al. (2001). Em meio ácido, o iodeto de potássio reage com

o peróxido de hidrogênio, liberando iodo e água, formando um composto de coloração laranja-avermelhada. Para esta determinação, foi realizada a extração do material vegetal, em que 200 mg de folhas foram maceradas com 1 mL de TCA 0,1%. Após homogeneização as amostras foram transferidas para tubos e centrifugadas a 9700 rpm por 15 minutos à 4 ºC. Do sobrenadante foram retirados 200 µL ao qual foram adicionados 200 µL de tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 7,5) e 800 µL de solução 1 M de KI. O branco consistiu na mesma mistura descrita acima, porém, ao invés do sobrenadante da amostra, coloca-se 200 µL de TCA 0,1%. Os tubos com a reação foram colocados em gelo e permaneceram no escuro durante uma hora. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 390 nm. A quantidade de H_2O_2 foi expressa em µmol g^{-1} [MF].

3.4.2.3.9. Peroxidação lipídica

Esta análise foi determinada de acordo com a técnica de Heath e Packer (1968). Nesta técnica é quantificada a formação de molondialdeído (MDA), este composto é formado após o processo de peroxidação lipídica. Para esta determinação, foram pesados 200 mg do material vegetal moído, que foi homogeneizado em 5 mL de solução contendo ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,25% e ácido tricloroacético (TCA) 10%. Em seguida, o conteúdo foi transferido para tubos de ensaio com rosca e papel filme, e incubado em banho maria à 90 ºC por 1 h. Após resfriamento, o homogeneizado foi centrifugado a 10.000 rpm por 15 minutos a temperatura ambiente, e, em seguida, o sobrenadante coletado de cada amostra foi submetido a leituras de absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 532 e 600 nm. Para o cálculo da peroxidação lipídica foi utilizado o coeficiente de extinção molar do molondialdeído, 155 mmol L^{-1} cm^{-1}. Os resultados foram expressos em nmol MDA g^{-1} [MF].

3.4.2.3.10. Prolina

Este aminoácido foi determinado de acordo com o método proposto por Bates et al. (1973). Para esta determinação, o extrato foi obtido pela adição de 5 mL de ácido sulfossalicílico 3% em cerca de 200 mg de folhas frescas, sendo a mistura deixada em agitação constante por uma hora à temperatura ambiente (25 ºC). Após esse período, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm por 10 minutos, à temperatura ambiente. Para a reação, foram usados tubos de ensaio com tampa rosqueável, nos quais foi adicionado 1 mL de extrato, 1 mL de ninhidrina ácida (solução que contem 1,25g de ninhidrina, em 30 mL de ácido acético glacial, e 20 mL de ácido fosfórico 6 M) e 1 mL de ácido acético glacial,

deixando-se a mistura em banho-maria (100 ºC) por uma hora, para o desenvolvimento da cor. Em seguida, os tubos de ensaio foram colocados em banho de gelo por 10 minutos para cessar a reação. Por fim, foram adicionados 2 mL de tolueno, que tem por finalidade separar a porção orgânica da reação, onde estará contida a prolina. Após repouso, e formação da mistura bifásica, a fase superior foi retirada para a quantificação dos níveis de prolina livre, através de medidas de absorbância em 520 nm. Utilizou-se como branco apenas o tolueno. O teor de prolina foi calculado com base em curva padrão de prolina, e os resultados foram expressos em µmol g^{-1} [MF].

3.4.2.4. Quantificação de formas de nitrogênio em folhas

Todas estas avaliações foram realizadas nos estágios V_1, V_3, V_5 e R_6 (10, 25, 40 e 100 DAS), no Experimento II e em V_6, no Experimento III. Foram coletadas folhas completamente expandidas do terço médios das plantas. Esse material foi seco em estufa com circulação de ar forçada e com temperatura de 65 ºC e, posteriormente triturado com auxílio de moinho de copo IKA. Para a determinação de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), aminoácidos totais (N-Aminoácido) e ureídeos, 200 mg de material vegetal foram transferidos para tubo falcon e adicionados 10 mL de água Milliq. Após esse procedimento, o material foi incubado a 45 ºC durante uma hora e, posteriormente centrifugado a 10.000 rpm durante 15 minutos, ao final, o sobrenadante foi separado e armazenado em freezer para posterior avaliação.

3.4.2.4.1. Nitrato

A quantificação de nitrato ($N\text{-}NO_3^-$) foi realizada por meio do método proposto por Cataldo et al. (1975). Para esse procedimento, foram adicionados a um tubo de ensaio 50 µL da amostra e 200 µL de solução contendo ácido salicílico 5% + ácido sulfúrico concentrado. O ensaio permaneceu em repouso durante 20 minutos e, após esse período foi adicionado 4,75 mL de NaOH 2N. A solução foi agitada vigorosamente e após 10 minutos foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 410 nm. Os teores de nitrato foram obtidos a partir de curva padrão de KNO_3 (25 mM), e os dados expressos em mM [$N\text{-}NO_3^-$] g^{-1} [MS].

3.4.2.4.2. Aminoácidos totais

Para a determinação de aminoácidos totais (N-Aa) utilizou-se protocolo de Yemm e Cocking (1955) com adaptações descritas em Herridge (1984). A um tubo de ensaio foram adicionados 100 µL da amostra, 50 µL de tampão de citrato 0,2M (18,8 g de ácido cítrico +

6,4 g de NaOH a 100 ml de H_2O deionizada), 120 μL de solução de ninhidrina (0,958 g ninhidrina (Merck) + 33 mg de ácido ascórbico + 500 mL de methoxi etanol). O ensaio foi transferido para banho-maria a 100 ºC durante 15 minutos, posteriormente foi adicionado 300 μL de etanol 60%, após agitação foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 570 nm. Os teores de aminoácidos totais foram obtidos a partir de curva padrão de mistura de aminoácidos (asparagina, glutamina - 2 mM), e os dados expressos em mM [N-Aa] g^{-1} [MS].

3.4.2.4.3. Ureídeos

O teor de ureídeos (N-Ureídeos) foi determinado com base no método proposto por Young e Conway (1942), foi utilizado 1 mL da amostra, que foi adicionada a tubo de ensaio, depois foram adicionados 200 μL de NaOH 0,5 N, a solução foi colocada em banho-maria 100 ºC durante uma hora. Após esse procedimento, foram adicionados 400 μL de solução contendo HCl 0,65N + Cloridrato de Funil-hidrazina 0,33%, a solução homogeneizada foi novamente para banho-maria 100 ºC durante dois minutos. Logo após, foram colocados em banho de gelo por 15 minutos, ao final foi adicionado 1 mL de solução contendo ferrocianeto de potássio 1,67% + HCl 10N. O ensaio foi agitado vigorosamente, e após 10 minutos foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 525 nm. Os teores de ureídeos foram obtidos a partir de curva padrão de alantoína 1 mM, e os dados expressos em mM [ureídeos] g^{-1} [MS].

3.4.2.4.4. Nitrogênio total

Por fim, foi realizada a quantificação de nitrogênio total nas folhas (N-Total). Para o processo de digestão do material vegetal adicionou-se a um tubo digestor 100 mg da amostra, 3 mL de H_2SO_4 98%, 1 mL de H_2O_2 30% e 1 g de mistura de sais (K_2SO_4 + $CuSO_4$ – 10:1). Os tubos foram colocados em bloco digestor, aquecendo gradativamente até 350 ºC (50 ºC a cada 30 minutos), durante um período total de 4 horas, onde se obteve um líquido viscoso de cor esverdeada. Após o resfriamento, completou-se o volume do tubo para 50 mL com água destilada. O teor de N total nos extratos foi avaliado pelo método Kjeldahl, destilando-se todo o amônio do extrato em meio fortemente alcalino e retendo a amônia em uma solução de ácido bórico, que depois foi titulada com HCl (0,01 M) (SILVA, 1999).

3.4.3. Análises de crescimento

3.4.3.1. Massa de matéria seca

As determinações de massa de matéria seca de raiz, caule, folhas e vagens foram realizadas aos 25 (estágio V_4) e 40 dias após a semeadura (estágio V_6), no Experimento I; nos estágios V_1, V_3, V_5 e R_8 (10, 25, 40 e 100 DAS), no Experimento II e nos estágios V_3, V_6, R_4 e R_8 (25, 40, 70 e 110 DAS, respectivamente), no Experimento III. Foram utilizadas três plantas por repetição, em que cada órgão da planta foi acondicionado, separadamente, em sacos de papel, e a secagem foi realizada utilizando-se o método padrão de secagem em estufa com circulação de ar forçada e com temperatura de 65 ºC, até massa constante.

3.4.3.2. Crescimento de raiz

Esta análise foi realizada apenas no experimento II, foi determinada nos estágios V_1, V_3 e V_5 (10, 25 e 40 DAS), onde foram amostradas duas plantas de cada repetição para análise computacional das raízes por meio do software Winrhizo®, versão 4.1, acoplado a um *scanner* Epson XL 10000. A análise seguiu os procedimentos propostos por Bouma et al. (2000). Para a obtenção das imagens digitais foi utilizada resolução de 600 dpi. As raízes foram dispostas integralmente sem sobreposição sobre cuba de acrílico contendo 1000 dm^3 de água.

A análise foi realizada com base na classificação de tonalidade de cinza de cada um dos *pixels* que compõem a imagem. O programa estabelece um valor de tonalidade de cinza automaticamente, a partir do qual é possível identificar cada tecido vegetal. Por meio desses dados foi obtido o comprimento da raiz principal (cm), comprimento total de raízes (cm), área superficial (cm^2), área de projeção (cm^2), diâmetro médio (mm), volume de raiz (cm^3), número de raízes laterais e comprimento total das raízes laterais (cm).

3.4.4. Índice Spad

Para determinar o índice Spad na folha foi utilizado medidor portátil de clorofila (clorofilômetro Minolta, modelo Spad-502), que permite leituras instantâneas do teor relativo de clorofila na folha sem destruí-la. Esta análise foi realizada aos 40 DAS (V_6), nos Experimento I e II.

3.4.5. Produtividade

Nos experimentos I e II, as plantas foram colhidas manualmente considerando-se três plantas por repetição. Os grãos colhidos de cada planta foram pesados em balança digital com precisão de 0,01 gramas. Foi determinado o teor de água dos grãos e efetuado o cálculo da produtividade (produção por unidade de área) com o teor de água corrigido para 13% (0,13g g^{-1}). Já no experimento III, as plantas foram colhidas manualmente considerando-se as duas fileiras centrais. Foram descartados 0,5 m em cada extremidade, logo após, as plantas foram trilhadas em trilhadora acoplada ao trator, por fim foram realizadas as pesagens e determinações como descritos para os demais experimentos.

3.5. Análise estatística

Os dados obtidos nos três experimentos foram avaliados quanto à normalidade e homogeneidade por meio dos testes de Shapiro-Wilk e Levene, respectivamente, ambos a 5% de significância.

Experimento I: Foi efetuada a análise da variância e, quando significativa, foi aplicada a análise de regressão linear e polinomial, sendo usados apenas modelos significativos, ambos ao nível de 5% de significância. Para comparar os resultados médios entre os aminoácidos foi realizado o teste de Tukey a 5% de significância.

Experimentos II e III: foi efetuada a análise fatorial por meio de análise da variância e, quando significativa, foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância. A fim de se comparar os demais tratamentos com o tratamento controle, foi aplicado o teste de Dunnett a 5% de significância.

Para os três experimentos, foi realizada análise multivariada por meio da análise de Componentes Principais. Para esta análise, as médias das variáveis avaliadas foram calculadas e transformadas para média zero e variância um. Essa transformação foi realizada para evitar superestimar ou subestimar o peso de uma variável estudado no resultado final, devido a diferenças de escalas de medidas. A partir da análise foram calculados os autovalores (valores representativos da variabilidade retida para cada novo componente) e autovetores (valores representativos da localização dos pontos no gráfico). Por meio destes dados são determinadas quais variáveis foram mais representativas na variabilidade dos dados, podendo, portanto, gerar um gráfico bidimensional do tipo *byplot*.

Todas as análises foram realizadas com auxílio do software estatístico SAS 9.3 (SAS Institute, 2011).

4. RESULTADOS

4.1. Experimento I: Efeito da aplicação de doses de aminoácidos na cultura da soja

A Tabela 6 mostra os resultados da análise de regressão referentes à aplicação de glutamato, via sementes. Obtiveram-se ajustes significativos, utilizando modelos polinomiais de segundo grau, para as seguintes variáveis: IVE, E, MSR, SPAD, PTS, CAT, SOD, H_2O_2, PL, PROL, U e P.

Tabela 6. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 DAS, respectivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), urease (U) e produtividade de grãos de soja (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com glutamato nas doses de 9, 12, 15, 18 e 21 mg kg^{-1} [semente].

Variável independente (y)	*p*	Equação	R^2	X *max*[1]
IVE	< 0,0001	$y = -0,0108x^2 + 0,2839x + 6,3922$	0,99	13,1
E	0,0003	$y = -0,088x^2 + 2,0546x + 68,969$	0,81	11,7
MSR	0,0515	-	-	-
MSPA	0,0740	-	-	-
MST	0,0621	-	-	-
MSR*	0,0039	$y = 0,00002x^2 + 0,0003x + 0,0581$	0,61	7,5
MSPA*	0,1040	-	-	-
MST*	0,0621	-	-	-
SPAD	< 0,0001	$y = -0,0191x^2 + 0,3578x + 30,935$	0,73	9,4
PTS	< 0,0001	$y = -0,0098x^2 + 0,2207x + 5,0055$	0,81	11,3
CAT	< 0,0001	$y = -0,0023x^2 + 0,0114x + 1,2265$	0,61	2,5
SOD	< 0,0001	$y = -0,0698x^2 + 1,7661x + 7,6378$	0,93	12,7
POD	0,9446	-	-	-
H_2O_2	< 0,0001	$y = -0,0195x^2 + 0,6554x + 19,474$	0,91	16,8
PL	0,0096	$y = -0,0587x^2 + 1,5252x + 59,08$	0,71	13,0
PROL	0,0830	-	-	-
U	< 0,0001	$y = -0,0115x^2 + 0,258x + 5,0861$	0,71	11,2
P	< 0,0001	$y = -0,0071x^2 + 0,2026x + 3,4253$	0,75	14,3

x = dose.

[1]X max= Dose de glutamato (mg kg^{-1} [semente]) que proporcionou valor máximo da variável analisada.

* Referente à segunda coleta de massa de matéria seca (40 DAS)

A aplicação de glutamato promoveu incrementos nas variáveis analisadas, no entanto, não foi possível observar um padrão de dose para cada variável analisada, sendo que as doses entre 7,5 e 14,3, foram as que mais promoveram efeitos positivos nas plantas.

O índice de velocidade de e emergência (IVE) foi afetado pelo incremento das doses de glutamato, chegando a 8,26 na dose de 13,1 mg kg^{-1} [semente], o que representou incremento de 30% em relação ao controle (Figura 12A). A emergência também foi beneficiada pela aplicação desse aminoácido, sendo que a aplicação de 11,7 mg kg^{-1} semente promoveu acréscimo de 17% na emergência em comparação às sementes sem nenhum tratamento (Figura 12B).

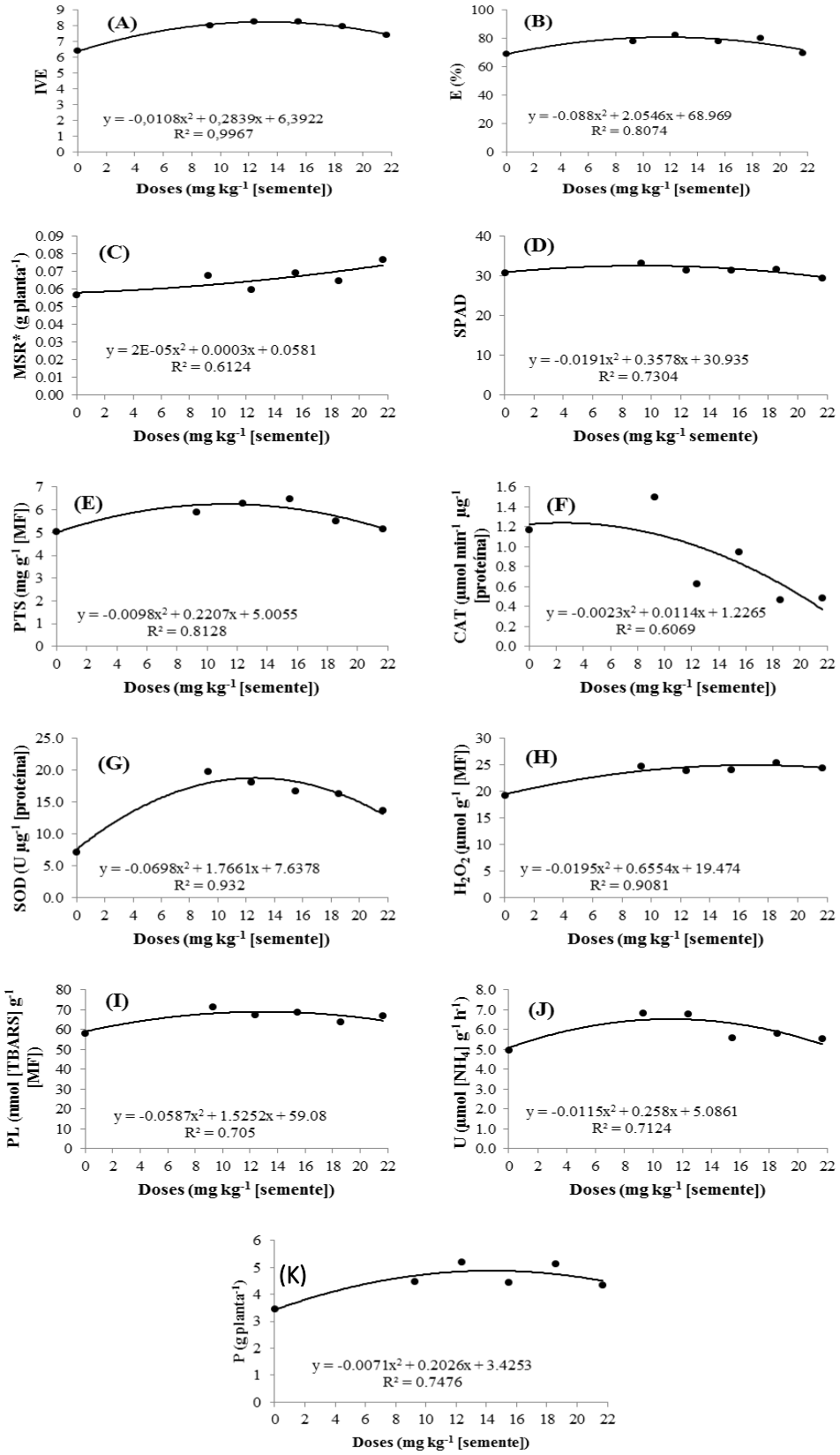

Figura 12. Efeito da aplicação de doses de glutamato no tratamento de sementes de soja: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B - emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR), D - valor SPAD (SPAD), E - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), F - atividade das enzimas catalase (CAT) e G - superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

Por outro lado, a aplicação de glutamato não afetou a massa de matéria seca das plantas, exceto a MSR aos 40 DAS, em que a dose 7,5 mg kg^{-1} [semente], já foi suficiente para promover aumento da massa desse órgão (Figura 12C).

Com relação ao índice SPAD, aplicação de glutamato na dose de 9,4 mg kg^{-1} semente aumentou em 5% esse índice, em relação ao controle (Figura 12D). O acúmulo de proteína total solúvel em folhas também foi beneficiado pela aplicação desde aminoácido, especialmente na dose de 11,3 mg kg^{-1} semente (Figura 12E).

As enzimas CAT e SOD, responsáveis pela regulação dos radicais livres nas plantas, apresentaram comportamentos diferentes com a aplicação de glutamato. O uso desse aminoácido promoveu o decréscimo na atividade de CAT e aumento da atividade da SOD, sendo que a dose de 12,7 mg kg^{-1} [semente] promoveu maior atividade da SOD, 146% maior que o controle (Figura 12G). Este aumento da atividade da enzima SOD não foi suficiente para a redução do estresse da planta, avaliado por meio da peroxidação lipídica, pois em uma dose próxima a esta (13 mg kg^{-1} [semente]), foi evidenciado o maior valor de peroxidação lipídica nas plantas (Figura 12I).

A enzima SOD promove a dismutação do radical superóxido dismutase em H_2O_2, no entanto, não foi evidenciado o incremento deste radical a partir do aumento da atividade da enzima, mostrando que o H_2O_2 pode ter sido produzido por outras vias. A maior produção desse radical foi evidenciada somente em doses mais elevadas de glutamato (16,8 mg kg^{-1} [semente]), este incremento de produção representou 28% em relação ao controle (Figura 12H).

A enzima urease, responsável pela transformação de ureia em amônia, que será fonte de nitrogênio assimilada pela planta, foi afetada de forma positiva pela aplicação de glutamato (Figura 12J). A dose de 11,2 mg kg^{-1} [semente] foi responsável pelo aumento de 28% na atividade desta enzima em relação às plantas que não receberam tratamento, via sementes.

Por fim, a dose de 2,9 mg [glutamato] kg^{-1} [semente] promoveu o incremento da produtividade em 66% em relação ao tratamento controle (Figura 12K).

As variáveis IVE, CAT, POD, H_2O_2, PL e P, oriundas de plantas submetidas à aplicação de cisteína apresentaram ajustes significativos a partir de análise de regressão (Tabela 7).

Tabela 7. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 dias após a semeadura (DAS), respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com cisteína nas doses de 3, 6, 9, 12 e 15 mg kg^{-1} [semente].

Variável independente (y)	*p*	Equação	R^2	X*max*[1]
IVE	0,0201	$y = -0,0182x^2 + 0,3437x + 6,4886$	0,87	9,4
E	0,1601	-	-	-
MSR	0,1233	-	-	-
MSPA	0,6185	-	-	-
MST	0,6470	-	-	-
MSR*	0,4783	-	-	-
MSPA*	0,1323	-	-	-
MST*	0,3166	-	-	-
SPAD	0,1376	-	-	-
PTS	0,7844	-	-	-
CAT	0,0008	$y = 0,0908x + 1,093$	0,84	-
SOD	0,3525	-	-	-
POD	0,0072	$y = 0,0056x + 0,5158$	0,82	-
H_2O_2	0,0002	$y = 0,2222x + 19,303$	0,69	-
PL	<0,0001	$y = -1,0325x + 60,275$	0,83	-
PROL	0,0751	-	-	-
U	0,1341	-	-	-
P	<0,0001	$y = -0,0101x^2 + 0,2783x + 3,4182$	0,75	13,8

x = dose.

[1]X max= Dose de cisteína (mg kg^{-1} [semente]) que proporcionou valor máximo da variável analisada.

* Referente à segunda coleta de massa seca (40 DAS)

A aplicação de 9,4 mg [cisteína] kg^{-1} [semente] incrementou em 25% o índice de velocidade de emergência, em relação ao controle (Figura 13A). As variáveis CAT, POD, H_2O_2 e PL apresentaram acréscimo linear quando submetidas ao aumento de doses de cisteína (Figuras 13B, C, D e E, respectivamente), ou seja, a atividade das enzimas CAT e POD aumenta a partir do incremento de doses de cisteína, no entanto, esta característica não é suficiente para reduzir os radicais livres (H_2O_2) e, consequentemente leva ao incremento da PL.

Entretanto a elevação da produção de radicais livres e da produção lipídica, não afetou a produtividade das plantas, pois a aplicação de 13,8 mg [cisteína] kg^{-1} semente promoveu o acréscimo de 56% na produtividade, em relação às plantas que não receberam nenhum tratamento (Figura 13F).

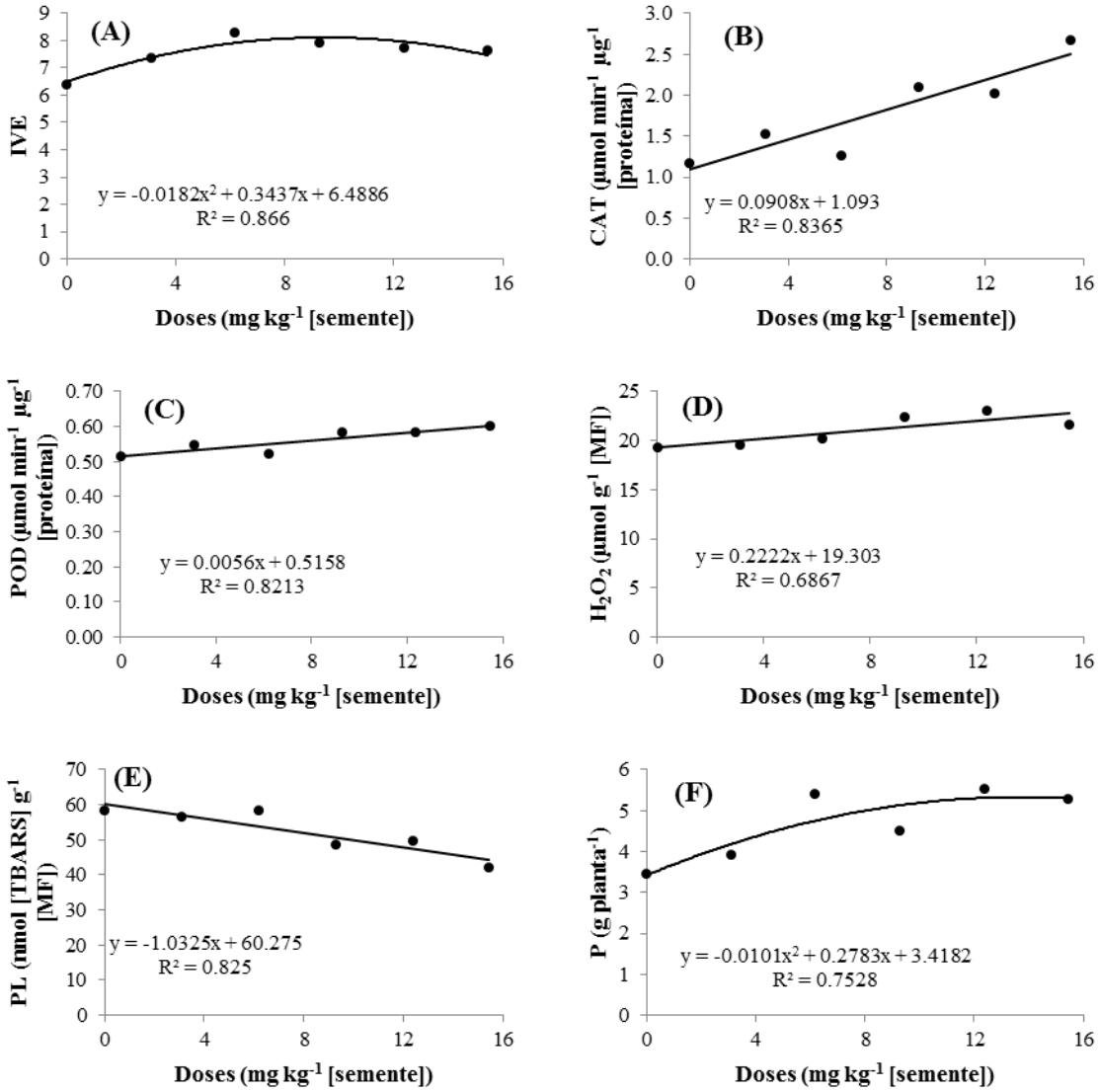

Figura 13. Efeito da aplicação de doses de glutamato no tratamento de sementes de soja: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B - emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR), D - valor SPAD (SPAD), E - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), F - atividade das enzimas catalase (CAT) e G - superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

Os dados oriundos da aplicação de fenilalanina apresentaram ajustes de regressão significativos para as variáveis IVE, E, MSR, MSPA, MST, SOD, U e P (Tabela 8).

Tabela 8. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para o índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 dias após a semeadura (DAS), respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com fenilalanina nas doses de 3, 6, 9, 12 e 15 mg kg^{-1} [semente].

Variável (y)	*p*	Equação	R^2	X *max*[1]
IVE	0,0001	$y = 0,1255x + 6,9658$	0,78	-
E	0,0033	$y = 0,5819x + 72,168$	0,76	-
MSR	0,0425	$y = -0,0002x^2 + 0,0043x + 0,0533$	0,48	10,8
MSPA	0,0010	$y = -0,0006x^2 + 0,0151x + 0,0841$	0,70	12,6
MST	0,0008	$y = -0,0009x^2 + 0,0198x + 0,1629$	0,67	11,0
MSR*	0,0166	$y = -0,0002x^2 + 0,004x + 0,0559$	0,90	10,0
MSPA*	0,0001	$y = -0,0007x^2 + 0,0112x + 0,1044$	0,78	8,0
MST*	<0,0001	$y = -0,0009x^2 + 0,0146x + 0,1861$	0,92	8,1
SPAD	0,4029	-	-	-
PTS	0,1590	-	-	-
CAT	0,0644	-	-	-
SOD	<0,0001	$y = -0,1624x^2 + 2,9838x + 6,3703$	0,84	9,2
POD	0,8600	-	-	-
H_2O_2	0,0546	-	-	-
PL	0,0530	-	-	-
PROL	0,0760	-	-	-
U	<0,0001	$y = 0,3875x + 4,7625$	0,84	-
P	0,0101	$y = 5,8449 – 0,1191x – 2,3688e^{-x}$	0,85	2,9

x = dose.

[1]X max= Dose de fenilalanina (mg kg^{-1} semente) que proporcionou valor máximo da variável analisada.

* Referente à segunda coleta de massa seca (40 DAS)

A aplicação de doses de fenilalanina via sementes, incrementou de forma linear o IVE e a E das plantas (Figuras 14A e 14B, respectivamente).

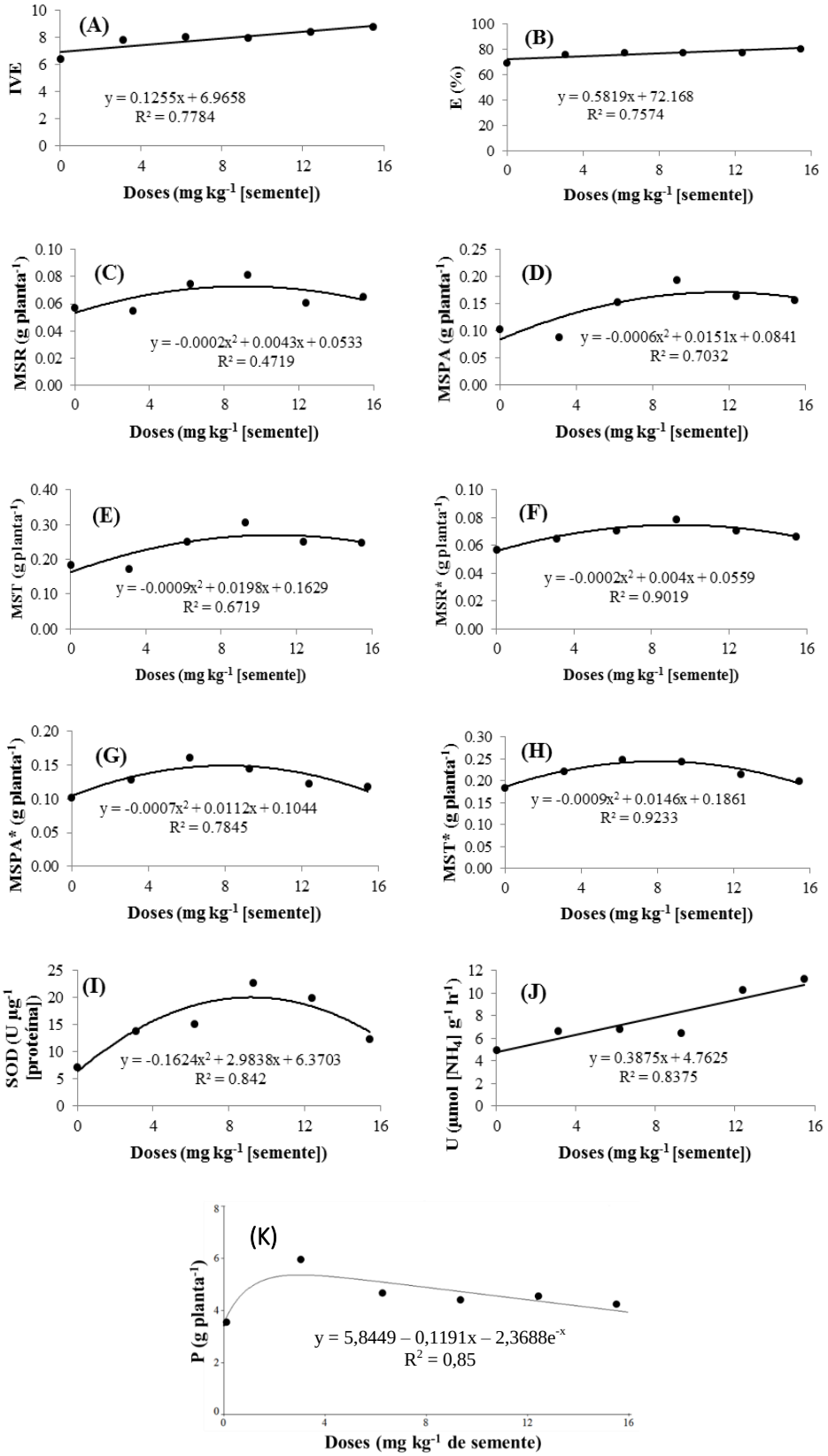

Figura 14. Efeito da aplicação de doses de fenilalanina via tratamento sementes de soja nas variáveis: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B – emergência (E), C - massa de matéria seca de raiz aos 25 DAS (MSR), D - parte aérea aos 25 DAS (MSPA) e E - total aos 25 DAS (MST), F - massa de matéria seca de raiz aos 40 DAS (MSR*), G - parte aérea aos 40 DAS e H – total aos 40 DAS (MST*), I - atividade da enzima superóxido dismutase (SOD), J - atividade da enzima urease (U) e K - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

O acúmulo de massa em diferentes órgãos da planta também foi afetado de forma positiva pela aplicação desse aminoácido, sendo este efeito observado nas duas avaliações (aos 25 e 40 DAS). Para a MSR as doses de 10,8 e 10 mg [fenilalanina] kg^{-1} [semente], aos 25 e 40 DAS, respectivamente, promoveram maior acúmulo desta variável, o que representou acréscimo de 43 e 36% (Figuras 14C e F, respectivamente).

A MSPA foi incrementada com uma dose maior de fenilalanina (12,6 mg kg^{-1} [semente]), aos 25 DAS (Figura 14D), no entanto, aos 40 DAS, apenas 8 mg de fenilalanina kg^{-1} semente, já foram suficientes para promover maior acúmulo de MSPA (Figura 14G).

O maior acréscimo da enzima SOD foi observado na dose de 9,2 mg [fenilalanina]kg^{-1} [semente], o que representou incremento de 215% em relação ao controle (Figura 14I). Por outro lado, a enzima urease apresentou aumento linear da atividade, a partir do incremento das doses de fenilalanina (Figura 14J).

Com relação à produtividade, apenas uma pequena dose de fenilalanina (2,9 mg kg^{-1} [semente]) já foi suficiente para incrementar a produtividade (Figura 14K).

Ajustes significativos foram obtidos para as variáveis IVE, E, MSR, MSPA, MST, SPAD, PTS, SOD H_2O_2, PL, PROL, U e P, quando as plantas foram submetidas à aplicação via sementes de doses de glicina (Tabela 9).

Tabela 9. Equações de regressão ajustadas (ao nível de significância de 0,05) para o índice de velocidade de emergência (IVE), emergência (E), massa de matéria seca de raiz (MSR), massa de matéria seca de parte aérea (MSPA), massa de matéria seca total (MST), aos 25 e 40 DAS, respsctivamente, proteína total solúvel em folhas (PTS), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), teor de prolina (PROL), urease (U) e produtividade (P) em plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com glicina nas doses de 3, 6, 9, 12 e 15 mg kg^{-1} [semente].

Variável (y)	*p*	Equação	R^2	X *max*[1]
IVE	0,0041	$y = -0,0145x^2 + 0,3069x + 6,635$	0,81	10,6
E	<0,0001	$y = -0,0392x^2 + 1,0499x + 69,322$	0,78	13,4
MSR	0,8892	-	-	-
MSPA	0,5485	-	-	-
MST	0,7407	-	-	-
MSR*	0,0212	$y = -0,0001x^2 + 0,0028x + 0,0544$	0,63	14,0
MSPA*	0,0010	$y = -0,0006x^2 + 0,0151x + 0,0841$	0,70	12,6
MST*	0,0008	$y = -0,0009x^2 + 0,0198x + 0,1629$	0,67	11,0
SPAD	0,0071	$y = -0,0731x^2 + 1,2203x + 29,8$	0,72	8,3
PTS	0,0166	$y = -0,032x^2 + 0,5602x + 5,0239$	0,92	8,8
CAT	0,0510	-	-	-
SOD	<0,0001	$y = -0,1861x^2 + 3,5979x + 6,7095$	0,71	9,7
POD	0,0572	-	-	-
H_2O_2	<0,0001	$y = -0,0519x^2 + 0,4118x + 20,87$	0,71	4,0
PL	0,0020	$y = 0,1336x^2 - 2,5764x + 54,36$	0,53	9,7
PROL	<0,0001	$y = 0,0027x^2 - 0,0533x + 0,8498$	0,76	9,9
U	<0,0001	$y = -0,0888x^2 + 1,7439x + 4,3147$	0,84	9,8
P	<0,0001	$y = -0,0208x^2 + 0,4013x + 3,5614$	0,88	9,6

x = dose.

[1]X max= Dose de glicina (mg kg^{-1} [semente]) que proporcionou valor máximo da variável analisada.

* Referente à segunda coleta de massa seca (40 DAS)

O IVE apresentou maior valor com a aplicação de 10,6 mg [glicina] kg^{-1} [semente], o que repercutiu no aumento de 24%, em comparação ao controle (Figura 15A). Já a E apresentou maiores valores a partir da aplicação 13,4 mg [glicina] kg^{-1} [semente], com incremento de 10%, em relação ao controle (Figura 15B).

Não foi observado efeito significativo da aplicação de glicina sobre o acúmulo de massa de matéria seca aos 25 DAS, no entanto, aos 40 DAS houve efeito significativo. A MSPA e MST apresentou maior acúmulo nas doses de 12,6 e 11 mg [glicina] kg^{-1} [semente], respectivamente (Figuras 15C e D). Essas doses promoveram acréscimos de 112 e 67%, para as variáveis MSPA e MST, respectivamente.

Doses de 8,3 e 8,8 mg [glicina] kg^{-1} [semente] promoveram o acréscimo do valor SPAD e PTS, respectivamente. Sendo observado aumento de 5,03 (Figuras E e F).

A enzima SOD apresentou maior atividade com aplicação de 9,7 mg [glicina] kg^{-1} [semente], com aumento de 259% da atividade em relação ao controle (Figura 15G). Esta enzima produz H_2O_2 durante o processo de dismutação e, este radical é responsável pela PL nas plantas, fato que foi observado nesse experimento, em que maior PL também foi observada na dose de 9,7 mg [glicina] kg^{-1} [semente] (Figura 15I).

O pico de H_2O_2 ocorreu a partir da aplicação de 4 mg [glicina] kg^{-1} [semente] (Figura 15H). Já o teor de prolina foi mais bem evidenciado a partir da aplicação de 9,9 mg [glicina] kg^{-1} [semente], com incremento de 31%, em relação ao controle (Figura 15J). Dose semelhante (9,8 mg [glicina] kg^{-1} [semente]) promoveu o aumento da atividade da enzima urease, o que representou em acréscimo de 198% na atividade desta enzima, em comparação ao controle (Figura 15K).

Todas essas características podem ter repercutido no incremento da produtividade na dose 9,6 mg [glicina] kg^{-1} [semente] com acréscimo de 54% em relação ao controle (Figura 15L).

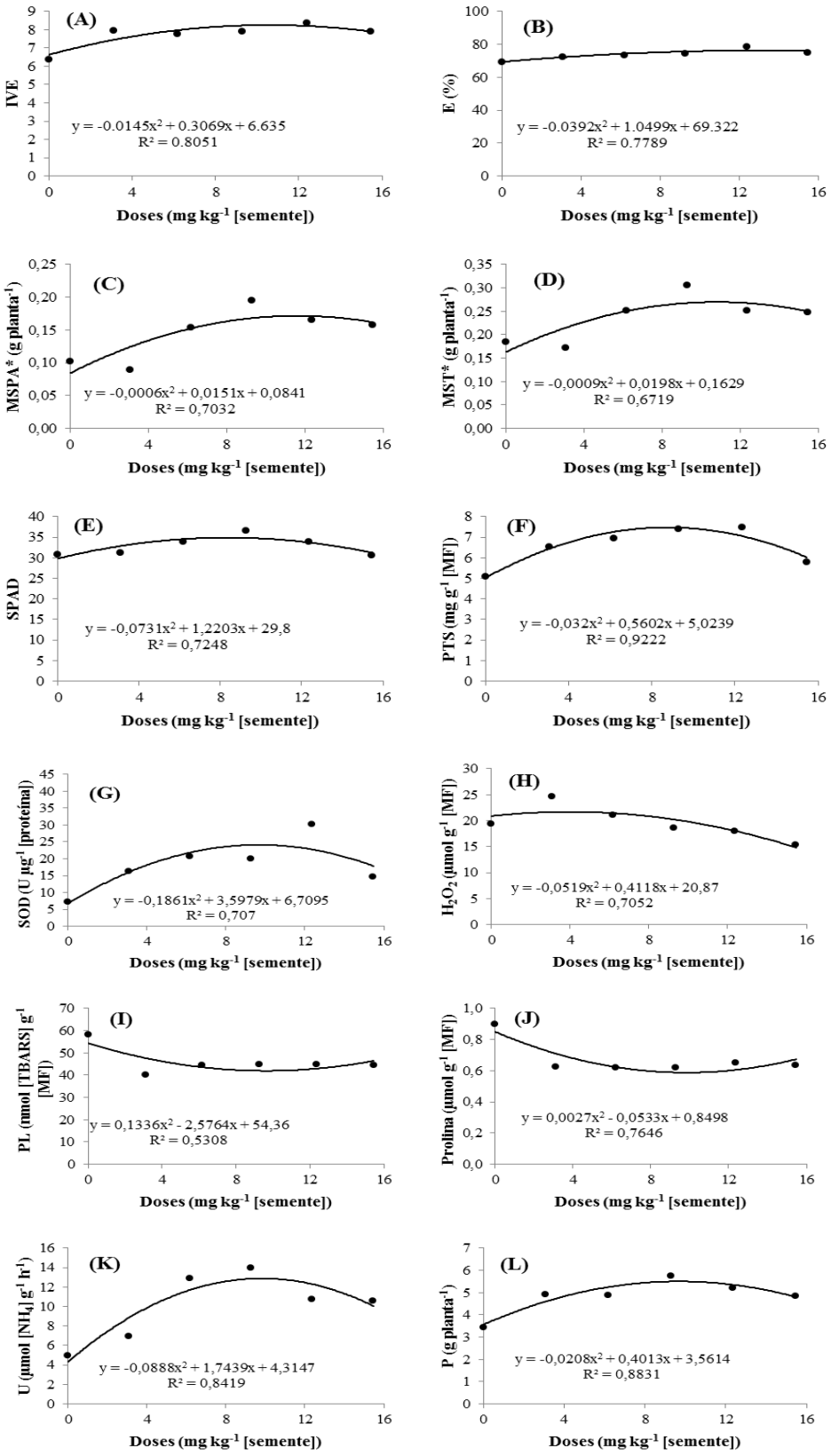

Figura 15. Efeito da aplicação de doses de glicina via tratamento de sementes de soja nas variáveis: A - índice de velocidade de emergência (IVE), B- emergência (E), C - massa de matéria seca parte aérea aos 40 DAS (MSPA) e D - total aos 40 DAS (MST*), E - valor SPAD (SPAD), F - teor de proteína total solúvel nas folhas (PTS), G - atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), H - teor de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), I - peroxidação lipídica (PL), J - teor de prolina, K - atividade da enzima urease (U) e L - produtividade (P). Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

A partir da análise de todos os dados em conjunto foi possível observar que o tratamento de sementes com glutamato na dose de 12 mg kg^{-1} [semente] proporcionou maior emergência das plantas (Tabela 10), com incremento de 18,7% em relação ao tratamento controle. Esse mesmo aminoácido na dose de 18 mg kg^{-1} [semente] ocasionou o valor máximo de acúmulo de peróxido de hidrogênio, valor 32% superior ao controle (Tabela 11).

O uso de cisteína afetou a atividade da enzima catalase e o teor de prolina nas folhas. Sendo que a dose de 15 mg kg^{-1} [semente] incrementou a atividade da enzima catalase em 128%, quando comparado ao controle, e a dose de 3 mg kg^{-1} [semente] aumentou em 80% o teor de prolina.

Por outro lado, a fenilalanina repercutiu na aceleração do processo de emergência, acúmulo de massa de matéria seca de parte aérea e total aos 25 DAS (Tabela 10), além do teor de peróxido de hidrogênio (Tabela 11). No entanto, doses diferentes proporcionaram essas respostas, sendo que a dose de 15 mg kg^{-1} [semente] incrementou o IVE em 37%, a dose de 9 mg kg^{-1} [semente] aumentou o acúmulo de massa de matéria seca de parte aérea e total e, a dose de 12,4 ocasionou acréscimo de 37% no teor de H_2O_2, em relação ao controle (Tabela 10).

A aplicação de glicina na dose de 9 mg kg^{-1} [semente] incrementou a massa de matéria seca de parte aérea, total, valor Spad (Tabela 10) e atividade da enzima urease (Tabela 11), com acréscimos de 89, 65, 18 e 180%, respectivamente, quando comparados ao controle.

Por fim, o uso de Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico também afetou de forma positiva a atividade da enzima urease, além de aumentar a atividade da enzima superóxido dismutase e reduzir o teor de peróxido de hidrogênio (Tabela 11).

A aplicação de glutamato na dose de 21 mg kg^{-1} [semente] proporcionou menor valor SPAD. Com relação à peroxidação lipídica (PL), o incremento da atividade das enzimas CAT e SOD repercutiu na redução desta variável. Os tratamentos com glutamato nas doses de 9 e 15 mg kg^{-1} [semente] proporcionaram maior PL, o que representou redução de 22 e 17,6%, respectivamente, em relação ao controle (Tabela 11).

Com relação à produtividade, todos os tratamentos de sementes repercutiram no incremento desta variável em relação ao controle, sendo que o tratamento com fenilalanina na dose de 3 mg kg^{-1} de semente proporcionou maior produtividade em relação aos demais tratamentos, com acréscimo de 72 % de produtividade, em relação ao controle.

Tabela 10. Emergência (E), Índice de velocidade de emergência (IVE), Massa de matéria seca de raiz (MSR), parte aérea (MSPA) e total (MST) e valor Spad de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

Tratamento	Dose mg kg^{-1} [semente]	E (%)	IVE	MSR	MSPA	MST	MSR*	MSPA*	MST*	Spad
				g planta^{-1}						
Controle	0	69,5 e	6,43 c	0,057 ns	0,103 ef	0,185 cd	0,057 ns	0,103 de	0,185 e	30,9 bc
Glutamato	9	78,0 abcde	8,04 ab	0,065	0,147 abcde	0,236 abcd	0,065	0,122 bcde	0,236 bcde	33,5 abc
	12	82,5 a	8,27 ab	0,056	0,123 bcdef	0,207 bcd	0,058	0,131 bcde	0,207 cdef	31,7 bc
	15	78,5 abcd	8,25 ab	0,075	0,120 bcdef	0,225 bcd	0,070	0,120 bcde	0,225 bcdef	31,5 bc
	18	80,5 ab	7,98 ab	0,065	0,105 def	0,188 cd	0,065	0,105 cde	0,188 de	31,9 bc
	21	70,0 de	7,39 abc	0,077	0,167 ab	0,270 ab	0,077	0,167 ab	0,270 ab	29,6 c
Cisteína	3	71,0 cde	7,36 bc	0,065	0,129 bcdef	0,221 bcd	0,073	0,140 bcde	0,233 bcdef	31,3 bc
	6	75,5 abcde	8,07 ab	0,071	0,161 abc	0,250 abc	0,072	0,143 abcd	0,244 bcde	34,5 ab
	9	76,5 abcde	7,91 ab	0,079	0,145 abcde	0,244 abcd	0,077	0,154 abcd	0,242 bcde	33,9 ab
	12	72,5 bcde	7,72 abc	0,071	0,123 bcdef	0,216 bcd	0,070	0,130 bcde	0,223 bcdef	32,6 abc
	15	73,5 bcde	7,63 abc	0,066	0,119 bcdef	0,200 bcd	0,067	0,137 bcde	0,227 bcdef	32,1 bc
Fenilalanina	3	76,0 abcde	7,88 ab	0,055	0,089 f	0,172 d	0,065	0,129 bcde	0,221 bcdef	31,2 bc
	6	78,0 abcde	8,10 ab	0,075	0,153 abcde	0,251 abc	0,071	0,161 ab	0,250 abc	31,4 bc
	9	77,5 abcde	7,99 ab	0,082	0,195 a	0,305 a	0,079	0,145 abcd	0,244 bcde	31,9 bc
	12	78,0 abcde	8,42 ab	0,061	0,165 abc	0,252 abc	0,071	0,123 bcde	0,216 bcdef	31,9 bc
	15	81,0 ab	8,82 a	0,065	0,158 abcd	0,248 abcd	0,066	0,119 bcde	0,200 cdef	31,1 bc
Glicina	3	72,5 bcde	7,96 ab	0,067	0,116 cdef	0,206 bcd	0,055	0,089 e	0,172 f	31,2 bc
	6	73,5 bcde	7,81 ab	0,068	0,145 abcde	0,236 abcd	0,071	0,153 abcd	0,251 abc	34,0 ab
	9	74,5 abcde	7,95 ab	0,051	0,108 def	0,182 cd	0,072	0,195 a	0,305 a	36,5 a
	12	79,0 abc	8,37 ab	0,061	0,108 def	0,193 cd	0,066	0,165 ab	0,252 abc	33,9 ab
	15	75,0 abcde	7,91 ab	0,069	0,131 bcdef	0,225 bcd	0,065	0,158 abc	0,248 abcd	30,7 bc
Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico	1[1]	74,0 abcde	7,28 bc	0,080	0,129 bcdef	0,234 abcd	0,067	0,116 bcde	0,206 cdef	31,1 bc
CV (%)		4,33	6,66	20,80	14,90	12,72	14,26	14,63	10,10	4,61
DMS		8,71	1,39	0,04	0,053	0,076	0,026	0,053	0,061	3,94

Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Referente à segunda coleta de massa de matéria seca (40 DAS).

[1]Dose de 1 mL kg^{-1} [sementes]

Tabela 11. Atividade das enzimas urease (U), catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) peroxidase (POD), teor de proteína (PTS), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), peroxidação lipídica (PL), prolina (PROL) e produtividade (P) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

Tratamento	Dose mg kg^{-1} [sementes]	U µmol $[NH_4^+]$ h^{-1} g^{-1} [MF]	CAT µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína]	SOD U $µg^{-1}$ [proteína]	POD µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína]	PTS mg g^{-1} [MF]	H_2O_2 µmol g^{-1} [MF]	PL nmol [TBARS] g^{-1} [MF]	PROL µmol g^{-1} [MF]	P g $planta^{-1}$
Controle	0	5,0 h	1,17 f	7,3 k	0,51 abcdef	5,1 ab	19,3 ghi	58,4 def	0,90 efg	3,45 k
Glutamato	9	6,8 f	1,50 d	19,9 c	0,55 abcd	5,9 ab	24,8 ab	71,4 g	1,47 b	4,50 efghij
	12	6,8 f	0,63 hi	18,2 d	0,34 g	6,3 ab	24,0 abc	67,3 fg	0,80 ghi	5,21 abcde
	15	5,6 g	0,95 g	16,7 e	0,54 abcd	6,5 ab	24,2 abc	68,7 g	0,79 ghi	4,45 fghij
	18,55	5,8 g	0,47 kl	16,4 e	0,58 abc	5,5 ab	25,5 a	63,9 efg	0,70 ij	5,14 bcdefg
	21,65	5,5 g	0,49 jkl	13,8 h	0,44 cdefg	5,2 ab	24,5 ab	66,9 fg	0,74 hij	4,36 hij
Cisteína	3	8,0 e	1,53 cd	12,7 i	0,55 abcd	6,4 ab	19,6 efgh	56,5 cde	1,62 a	3,91 jk
	6	5,0 h	1,27 ef	12,3 i	0,52 abcde	7,1 ab	20,2 efgh	58,3 def	0,92 ef	5,40 abc
	9	3,6 i	2,10 b	12,3 i	0,58 abc	6,2 ab	22,4 cd	48,8 bcd	1,17 c	4,51 efghij
	12	3,4 i	2,03 b	13,9 gh	0,58 abc	6,1 ab	23,1 bcd	49,8 bcd	1,07 cd	5,54 abc
	15	5,7 g	2,67 a	8,9 j	0,60 abc	5,2 ab	21,6 de	42,0 ab	0,73 hij	5,28 abcd
Fenilalanina	3	6,7 f	1,17 f	13,9 gh	0,45 bcdefg	6,1 ab	24,6 ab	44,2 ab	1,08 cd	5,93 a
	6	6,9 f	1,21 f	15,4 f	0,32 g	5,6 ab	21,4 def	50,1 bcd	0,83 fgh	4,62 defghij
	9	6,5 f	1,17 f	22,8 b	0,47 bcdefg	5,8 ab	22,1 cde	48,1 abc	0,87 efg	4,36 hij
	12	10,3 d	1,37 e	20,0 c	0,65 a	5,4 ab	26,0 a	48,7 bcd	0,96 de	4,46 fghij
	15	11,3 c	1,02 g	12,3 i	0,39 defg	4,9 b	17,2 jk	45,4 ab	0,70 ij	4,24 ij
Glicina	3	7,0 e	0,39 l	16,4 e	0,35 fg	6,5 ab	24,7 ab	38,2 a	0,62 jk	4,93 cdefghi
	6	12,9 b	0,59 hij	20,7 c	0,37 efg	7,0 ab	21,0 defg	44,2 ab	0,62 jk	4,88 cdefghi
	9	14,0 a	0,68 h	20,0 c	0,37 efg	7,4 ab	18,6 hij	44,8 ab	0,62 jk	5,74 ab
	12	10,7 cd	0,56 jkl	30,3 a	0,46 bcdefg	7,5 a	17,9 ij	44,8 ab	0,65 j	5,22 abcde
	15	10,6 d	0,64 hi	14,7 fg	0,35 fg	5,8 ab	15,4 kl	44,4 ab	0,64 jk	4,85 cdefghi
Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico	1[1]	13,5 a	1,63 c	30,8 a	0,62 ab	6,8 ab	14,3 l	47,6 abc	0,52 k	5,00 bcdefgh
CV (%)		2,57	15,2	19,4	13,10	15,9	3,56	7,24	13,9	5,89
DMS		0,53	0,11	0,86	0,17	2,57	2,03	10,07	0,12	0,75

Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1]Dose de 1 mL kg^{-1} [sementes]

A análise multivariada de componentes principais foi realizada com grupos de variáveis, desta forma foram formados dois grupos, o primeiro com as variáveis de emergência, IVE, análises de crescimento, valor SPAD, urease e produtividade, que não apresentaram correlação, portanto não foi gerado gráfico. O segundo grupo foi composto pelas variáveis de análise de estresse (Figura 16).

Foram formados dois componentes principais (CP), onde CP_1 correspondeu à produtividade (P) e CP_2 foi determinado pela atividade da enzima catalase (CAT). Desta forma, a produtividade apresentou correlação positiva com as variáveis teor de proteínas em folhas (PTS) e superóxido dismutase (SOD), ou seja, quanto maior o teor de proteína e atividade da SOD, maior foi a produtividade. Por outro lado, a produtividade, apresentou correlação negativa com teor de H_2O_2 e peroxidação lipídica (PL), o incremento destas variáveis proporciona redução na produtividade. A enzima CAT apresentou correção positiva com a enzima peroxidase (POD).

Os tratamentos de sementes com fenilalanina ou cisteína, nas doses de 3 e 6 mg kg^{-1} [sementes], respectivamente e Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico, proporcionaram maior produtividade.

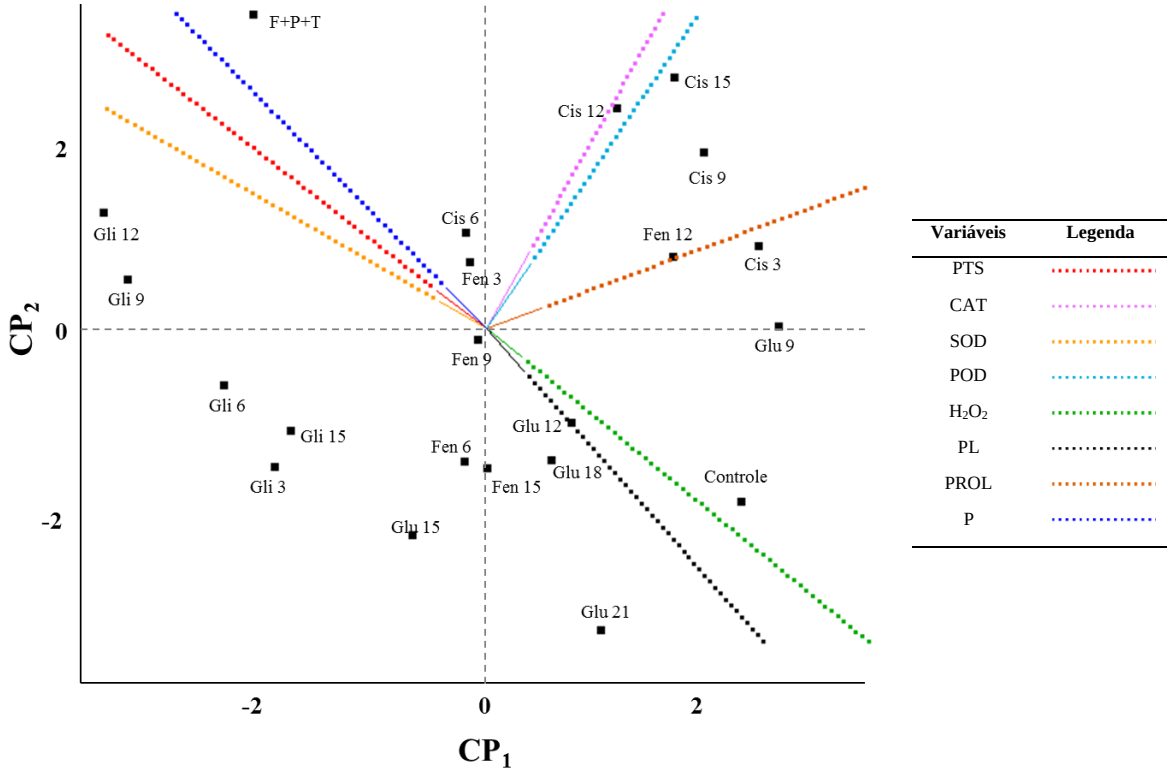

Figura 16. Gráfico "*byplot*" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: Glu - Glutamato, Cis – Cisteína, Fen – Fenilalanina e Gli – Glicina, com suas respectivas doses (mg kg-1 [sementes]). PTS – proteína total solúvel; CAT – catalase; SOD – superóxido dismutase; POD – peroxidase; H2O2 – peróxido de hidrogênio; PL – peroxidação lipídica; PROL – prolina; P – produtividade. Unipam. Patos de Minas, MG. 2013

4.2. Experimento II: Avaliação do uso de aminoácidos em plantas de soja cultivadas em condições parcialmente controladas

4.2.1. Emergência e índice de velocidade de emergência

O percentual de emergência não foi afetado pela aplicação de aminoácidos, via sementes (Tabela 12). No entanto, a aplicação de todos os aminoácidos em conjunto (Completo) proporcionou o aumento do índice de velocidade de emergência (IVE) das plantas, com incremento de 15%, em relação ao controle.

Tabela 12. Emergência (E, %) e Índice de velocidade de emergência (IVE, % dia^{-1}) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, 2015

Tratamento	E	IVE
	(%)	
Controle	98 a*	2,36 b
Glutamato	97 a	2,55 ab
Cisteína	94 a	2,52 ab
Fenilalanina	98 a	2,66 ab
Glicina	98 a	2,66 ab
Completo	97 a	2,72 a
CV (%)	2,79	5,71
DMS	5,99	0,34

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância

4.2.2. Metabolismo antioxidante

A atividade da enzima PAL não foi afetada pela aplicação dos aminoácidos (Tabela 13). Porém, a aplicação de glicina incrementou a atividade da POD, o que representou 35% de aumento em comparação ao controle. Com relação à peroxidação lipídica foi evidenciado que o menor valor desta variável ocorreu com aplicação de glutamato, tratamento que não promoveu aumento da atividade das enzimas CAT, POD ou SOD, o que mostra que a planta deve ter utilizado outras enzimas ou outros mecanismos para reduzir os radicais livres e, consequentemente, reduzir a peroxidação lipídica.

Tabela 13. Atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POD) e catalase (CAT), peroxidação lipídica (PL) e atividade da enzima fenilalanina amônio liase (PAL) em folhas de plantas de soja aos 25 dias após a emergência, submetidas a tratamentos com aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	SOD	POD[1]	CAT	PL	PAL
	U μg^{-1} [proteína]	$\mu mol\ min^{-1}\ \mu g^{-1}$ [proteína]	$\mu mol\ min^{-1}\ \mu g^{-1}$ [proteína]	nmol [TBARS] g^{-1} [MF]	µmol [ácido trans cinâmico] mg^{-1} [proteína]
Controle	12,7 b*	1,19 bc	0,22 a	60,0 ab	2,88 ns
Glutamato	12,7 b	1,15 c	0,19 ab	47,9 a	2,57
Cisteína	15,4 a	1,19 bc	0,10 b	69,4 bc	2,19
Fenilalanina	11,6 bc	0,97 c	0,17 ab	76,6 cd	2,35
Glicina	10,6 c	1,61 a	0,09 b	76,5 cd	2,89
Completo	8,5 d	1,42 ab	0,13 ab	85,5 d	1,23
CV (%)	6,80	8,87	23,15	7,68	15,72
DMS	1,85	0,25	0,11	12,17	3,01

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação

A aplicação de cisteína induziu ao aumento da atividade da SOD, o que representou 21% de acréscimo em relação ao controle, já a CAT não teve incrementos da sua atividade a partir da aplicação de aminoácidos, sendo que o controle apresentou maior atividade desta enzima.

A utilização do tratamento completo induziu a produção de radicais livres, o que levou a maior peroxidação lipídica, com incremento de 43% em relação ao controle.

Após a aplicação dos tratamentos via foliar, não foi observado nenhum padrão de resposta de um aminoácido específico nas variáveis analisadas, sendo que em cada situação ou em cada avaliação um aminoácido diferente representou melhor resposta positiva nas plantas. Aos 40 DAS, a enzima SOD não apresentou resposta entre o uso dos aminoácidos em diferentes épocas de aplicação, somente foram observadas diferenças em comparação ao controle, onde os tratamentos com glicina (foliar) e glutamato e cisteína (TS + Foliar) proporcionaram maiores valores de SOD (Tabela 14).

Tabela 14. Atividade das enzimas catalase (CAT), peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	CAT (µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína])				POD (µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína])				SOD (U $µg^{-1}$ [proteína])			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		0,13*				0,36*				9,0*		
Ác. Glutâmico	0,26 abA*	0,21 aB*	0,16 abC	0,21	0,39 aB	0,43 aAB	0,50 bA*	0,44	10,4 ns	11,2	11,4*	11,0
Cisteína	0,22 bA*	0,17 aB	0,21 aAB*	0,20	0,44 aA	0,43 aA	0,49 bA*	0,45	9,9	9,5	11,8*	10,4
Fenilalanina	0,22 bA*	0,17 aAB	0,14 bB	0,1 8	0,45 aA	0,42 aA	0,42 bA	0,43	9,8	9,3	10,6	9,9
Glicina	0,22 bA*	0,04 bC*	0,16 abB	0,14	0,49 aA*	0,46 aA	0,46 bA	0,47	10,9	11,3*	11,1	11,1
Completo	0,30 aA*	0,04 bC*	0,11 bB	0,15	0,48 aB	0,51 aB*	0,64 aA*	0,54	9,9	10,7	9,9	10,2
Média	0,24	0,13	0,15		0,45	0,45	0,50		10,2	10,4	11,0	
CV (%)		15,68				12,62				10,44		
DMS (T)		0,05				0,12				2,21		
DMS (A)		0,05				0,10				1,88		
DMS (Dunnett)		0,06				0,12				2,29		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Não foi evidenciada interação entre os tratamentos e épocas de aplicação para a variável H_2O_2, no entanto, observaram-se diferenças entre os tratamentos e o tratamento controle, em que a aplicação de glutamato via TS, proporcionou menor teor desse radical e cisteína, glicina e completo via foliar proporcionaram maior teor de H_2O_2 em relação ao controle (Tabela 15).

Houve interação significativa para as variáveis PAL e PL, em que, para a PAL, o tratamento com glutamato incrementou a atividade desta enzima no TS, quando aplicados via foliar os tratamentos com glutamato e fenilalanina proporcionaram melhores resultados e via foliar a aplicação de cisteína foi o tratamento que proporcionou maior atividade da PAL em relação aos demais aminoácidos. Quando realizada a comparação dentro de cada forma de aplicação, os tratamentos com glutamato, cisteína e glicina proporcionaram maior atividade da PAL, quando aplicados em TS, já a fenilalanina, quando aplicada via foliar e o tratamento completo, quando aplicado via TS + Foliar.

Diversos tratamentos com aminoácidos proporcionaram incremento na atividade da enzima PAL, em relação ao controle, entre eles os tratamentos com glutamato, cisteína e glicina, quando aplicados em TS, glutamato e fenilalanina, quando aplicados via foliar e cisteína, fenilalanina, glicina e completo, aplicados via TS + Foliar.

A peroxidação lipídica não apresentou diferenças significativas entre os aminoácidos em TS, no entanto, quando aplicado via foliar ou via TS + Foliar, a glicina proporcionou redução da PL em comparação com os demais aminoácidos. As comparações realizadas dentro de cada aplicação mostraram que glutamato e glicina proporcionaram melhores resultados, quando aplicados via foliar ou TS + Foliar.

Entre os tratamentos realizados somente no TS não houve diferenças significativas com o controle, no entanto, na aplicação foliar o tratamento com cisteína ou glicina proporcionou redução da PL em relação ao controle, o que representou 12 e 20% de redução, respectivamente. Na aplicação via TS + Foliar os tratamentos com fenilalanina e glicina também reduziram a PL, em relação ao controle, em 13 e 20%, respectivamente.

Tabela 15. Atividade da enzima fenilalanina amônia liase (PAL, µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína]), teor de peroxido de hidrogênio (H_2O_2, µmol g^{-1} [MF]) e peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	PAL (µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína])				H_2O_2 (µmol g^{-1} [MF])				PL (nmol [TBARS] g^{-1} [MF])			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média				Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		0,00*				67,3*				109,0*		
Glutamato	1,65 aA*	0,28 aB*	0,00 dC	0,64	58,5*	70,5	73,5	67,5 b	109,5 aB	97,3 abA	99,8 abA	102,2
Cisteína	0,97 bA*	0,00 bC	0,79 aB*	0,59	61,3	75,3*	66,2	67,6 b	100,0 aA	97,2 abA*	100,4 abA	99,2
Fenilalanina	0,00 dC	0,26 aA*	0,14 cB*	0,13	61,7	71,3	68,7	67,2 b	110,4 aB	104,3 bAB	96,4 abA*	103,7
Glicina	0,47 cA*	0,00 bC	0,14 cB*	0,20	65,0	77,6*	73,0	71,9 a	104,8 aB	90,5 aA*	90,8 aA*	95,4
Completo	0,00 dB	0,00 bB	0,60 bA*	0,20	63,4	76,2*	71,9	70,5 ab	102,2 aA	100,0 abA	102,8 bA	101,7
Média	0,62	0,11	0,34		62,0 C	74,2 A	70,7 B		105,4	97,9	98,0	
CV (%)		9,12				5,26				5,52		
DMS (T)		0,06				4,22				11,17		
DMS (A)		0,05				2,78				9,52		
DMS (Dunnett)		0,06				7,64				11,73		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

4.2.3. Metabolismo do nitrogênio

Aos 25 DAS o uso de cisteína reduziu o teor de NO_3^- e ureídeos nas folhas o que representou decréscimo de 35 e 58%, em relação ao controle (Tabela 16).

Tabela 16. Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$, mM g^{-1} [MS]), N- Ureídeos (mM g^{-1} [MS]), N- Aminoácidos (N-Aa, mM g^{-1} [MS]), nitrogênio total (N-Total, g kg^{-1} [MS]) e teor de proteínas (PTS, mg g^{-1} [MF]) aos 25 dias após a semeadura, em folhas de plantas de soja submetidas ao tratamento de sementes com aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	$N\text{-}NO_3^-$	N-Ureídeos	N-Aa	N-Total	PTS
		mM g^{-1} [MS]		g kg^{-1} [MS]	mg g^{-1} [MF]
Controle	9,6 bc*	0,19 ab	17,6 c	26,8 a	32,9 ns
Glutamato	11,3 ab	0,17 bc	24,1 a	23,5 b	34,1
Cisteína	7,1 c	0,12 c	18,4 bc	22,1 b	28,2
Fenilalanina	9,8 bc	0,16 bc	25,4 a	22,4 b	32,9
Glicina	8,7 bc	0,12 c	22,5 ab	23,6 b	29,9
Completo	14,7 a	0,24 a	24,0 a	28,0 a	33,0
CV (%)	15,89	15,92	8,30	4,92	11,92
DMS	3,71	0,06	4,19	2,76	8,71

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância

Ainda aos 25 DAS o teor de proteína não apresentou diferença significativa entre os tratamentos de sementes realizados. A avaliação do teor de nitrato (NO_3^-) mostrou que a aplicação do tratamento completo promoveu o incremento desta variável, com incremento de 53% em relação ao controle. Esse mesmo tratamento completo também incrementou o teor de ureídeos, aminoácidos totais e N total em folhas, o que representou aumento de 26, 36 e 4%, respectivamente, em relação ao controle.

Aos 40 DAS a atividade da enzima urease, teor de ureídeos e de nitrato apresentaram interação significativa entre os fatores avaliados (Tabela 17). Com relação à atividade da enzima urease a aplicação do tratamento completo no TS proporcionou maior atividade da enzima. Esse mesmo tratamento e o tratamento com glicina proporcionaram maior atividade da enzima na aplicação via foliar, e a glicina na aplicação em TS + Foliar. O fator aplicação mostrou que os tratamentos com glutamato, glicina e completo são capazes de mostrar melhores resultados, quando aplicados via TS + Foliar. Já o tratamento com cisteína, quando aplicado via TS e com fenilalanina, quando aplicado via foliar.

Tabela 17. Atividade da enzima urease, teor de amônio ($N\text{-}NH_4^+$), N- Ureídeos, N- Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	Urease (µmol $[NH_4]$ g^{-1} [MF] h^{-1})				$N\text{-}NH_4^+$ (mM g^{-1} [MS])[1]				N-Ureídeos (mM g^{-1} [MS])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		3,7*				0,004*				0,12*		
Ác. Glutâmico	4,8 cB*	2,4 cC*	7,7 cA*	5,0	0,008	0,006	0,015	0,009 b	0,10 bB	0,15 aA	0,07 bC*	0,11
Cisteína	6,8 bA*	2,6 cC*	5,2 dB*	4,8	0,013	0,002	0,009	0,008 b	0,14 aA	0,09 bB*	0,06 bC*	0,10
Fenilalanina	5,4 cAB*	6,0 bA*	4,9 dB*	5,4	0,009	0,011	0,002	0,007 b	0,06 cB*	0,06 cB*	0,14 aA	0,09
Glicina	5,1 cC*	8,6 aB*	14,5 aA*	9,4	0,030*	0,017	0,032*	0,026 a	0,08 cA*	0,06 cA*	0,07 bA*	0,07
Completo	9,2 aB*	9,0 aB*	10,1 bA*	9,4	0,019	0,017	0,021	0,019 ab	0,07 cB*	0,14 aA	0,13 aA	0,11
Média					0,016 A	0,010 A	0,016 A		0,09	0,10	0,09	
CV (%)		6,55				7,68				12,41		
DMS (T)		0,90				0,012				0,02		
DMS (A)		0,77				0,007				0,02		
DMS (Dunnett)		0,90				0,021				0,03		

Tratamento	$N\text{-}NO_3^-$ (mM g^{-1} [MS])			
	Aplicação			
	TS	Foliar	TS + Foliar	Média
Controle		2,61*		
Ác. Glutâmico	2,79 bA*	2,26 cB*	1,65 aC*	2,23
Cisteína	3,23 aA*	0,78 eC*	1,15 bB*	1,72
Fenilalanina	2,04 dB*	2,36 bA*	1,16 bC*	1,85
Glicina	1,42 eB*	1,52 dA*	1,17 bC*	1,37
Completo	2,36 cB*	2,79 aA*	0,43 cC*	1,86
Média	2,37	1,94	1,11	
CV (%)		1,85		
DMS (T)		0,07		
DMS (A)		0,06		
DMS (Dunnett)		0,17		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

O teor de N-NH_4^+ não mostrou interação significativa entre os tratamentos e as aplicações, no entanto, ao realizar-se a média das aplicações dentro de cada aminoácido, foi possível perceber que a aplicação de glicina incrementou o acúmulo desse elemento. Não foram evidenciadas diferenças entre as épocas de aplicação. Em comparação ao controle, os tratamentos com glicina em TS e em TS + Foliar proporcionaram maiores valores de N-NH_4^+ (Tabela 17).

O teor de N-NO_3^- foi incrementado a partir da aplicação de cisteína via foliar, por outro lado, na aplicação foliar o tratamento completo proporcionou maior acúmulo de nitrato nas folhas e na via TS + Foliar o glutamato proporcionou melhor efeito no teor de NO_3^-.

O desdobramento do fator aplicação mostra que o uso de glutamato e cisteína apresentaram melhor efeito quando aplicado via TS, por outro lado, fenilalanina, glicina e completo proporcionam maior acúmulo de nitrato por meio da aplicação foliar. A partir da comparação com o tratamento controle é possível perceber que todos os tratamentos em todas as épocas de aplicação foram superiores ao controle com relação ao acúmulo de N-NO_3^- em folhas, exceto os tratamentos com glicina em TS, cisteína foliar e completo em TS + Foliar, que proporcionaram menor teor de N-NO_3^-, em relação ao controle.

A variável ureídeos assim como N-NO_3^-, apresentou maior acúmulo em plantas submetidas ao tratamento de sementes com cisteína. Quando aplicados via foliar, o tratamento que proporcionou maior teor de ureídeos foi glutamato e controle, e via TS + Foliar os tratamentos com fenilalanina e completo. A variável aplicação mostrou que o tratamento utilizando glutamato aplicado via foliar é mais eficaz no acúmulo de ureídeos em folhas.

Já a cisteína mostrou melhor resposta na aplicação em TS, fenilalanila na aplicação via TS + Foliar e completo quando aplicado via foliar ou TS + Foliar. Em comparação com o tratamento controle na variável ureídeos foi possível observar diferenças nos tratamentos fenilalanina, glicina e completo, aplicados via TS, cisteína, fenilalanina e glicina, quando aplicados via foliar e, glutamato, cisteína e glicina, aplicados via TS + Foliar, em que esses tratamentos reduziram o teor de ureídeos em relação ao controle (Tabela 17).

Em TS o acúmulo de N-Aa foi maior em plantas submetidas à aplicação de cisteína, via foliar, o melhor tratamento foi com glutamato e via TS + Foliar quando usado o tratamento completo. Em relação ao fator aplicação, o glutamato apresentou melhor resposta quando aplicado via foliar, cisteína e fenilalanina, quando aplicados via TS e o tratamento completo quando aplicado via TS + Foliar. Quando comparados ao tratamento controle, nenhum dos tratamentos apresentou diferença significativa (Tabela 18).

Tabela 18. Amônio ($N\text{-}NH_4^+$), nitrogênio total (N-Total) e atividade da enzima urease aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar) em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	N-Aa (mM g^{-1} [MS])[1]				N-Total (kg^{-1} [MS])				Valor Spad			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		29,1 ns				33,1*				30,8*ns		
Glutamato	27,0 bB	45,2 aA	22,1 bB	31,4	38,5 aA	34,8 aA	36,4 abA	36,6	29,6 ns	30,7	30,0	30,1
Cisteína	44,5 aA	34,4 abAB	21,1 bB	33,3	37,1 abA	37,7 aA	38,2 aA	37,7	30,3	29,7	29,8	29,9
Fenilalanina	35,5 abA	18,2 bB	25,9 bAB	26,5	42,4 aA*	38,1 aA	29,8 bcB	36,7	30,5	29,8	29,0	29,7
Glicina	30,0 abA	19,3 bA	27,4 abA	25,6	36,0 abA	33,8 aA	25,6 cB	31,8	30,3	29,7	30,2	30,1
Completo	20,8 bB	27,9 bB	43,8 aA	30,8	31,3 bB	40,8 aA*	35,0 abAB*	35,7	29,6	30,8	28,8	29,7
Média	31,6	29,0	28,1		37,1	37,0	33,0		30,0	30,1	29,5	
CV (%)		8,40				9,80				6,80		
DMS (T)		17,05				7,05				4,09		
DMS (A)		14,53				6,01				3,49		
DMS (Dunnett)		17,41				7,08				4,16		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação; * Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

O acúmulo de N-Total em folhas foi evidenciado a partir da aplicação de todos os aminoácidos em TS, exceto no tratamento completo, evidenciando que nem sempre existe efeito acumulativo quando são usados todos os aminoácidos ao mesmo tempo. Por outro lado, dentro da aplicação foliar, não houve diferenças significativas entre os tratamentos e, em TS + Foliar a aplicação de cisteína promoveu maior acúmulo de N-Total em relação aos demais aminoácidos (Tabela 18).

O desdobramento do fator aplicação mostra que o glutamato proporciona maior teor de N-Total quando aplicado via TS. Já fenilalanina e glicina quando aplicados em TS ou foliar. Apenas os tratamentos fenilalanina no TS e completo via foliar e via TS + Foliar apresentaram diferenças significativas em relação ao controle, proporcionando incremento de 28, 23 e 6% de N-total, respectivamente.

A variável Spad não apresentou interações significativas entre os fatores estudados e, também não apresentou diferença significativa entre as aplicações de aminoácidos e o tratamento controle.

Aos 90 DAS o teor de nitrato foi influenciado pela aplicação de fenilalanina por meio de tratamento de sementes, além disso, ocorreu maior acúmulo de nitrato com a aplicação de glicina aplicada via foliar e dentro do TS + Foliar o aminoácido mais eficiente foi a cisteína (Tabela 19).

No fator aplicação o glutamato e o tratamento completo apresentaram maior eficácia quando aplicados via foliar, cisteína e fenilalanina por meio do tratamento de sementes e a glicina foi mais eficiente no acúmulo de nitrato quando aplicada via TS + Foliar.

Em comparação com o tratamento controle os tratamentos com cisteína, fenilalanina e glicina, aplicados via tratamento de sementes proporcionaram maior acúmulo de nitrato em relação ao controle. Além disso, a utilização de glutamato, fenilalanina e completo aplicados via foliar, e cisteína em TS + Foliar também foram superiores ao controle. Por outro lado, o uso de glutamato e completo via TS + Foliar induziram ao menor acúmulo de NO_3^- em relação ao controle.

A aplicação de glutamato, cisteína, glicina e completo no tratamento de sementes proporcionou maior acúmulo de ureídeos nas folhas em comparação com fenilalanina. Já por meio de TS + Foliar a aplicação de glutamato e cisteína foram mais eficazes em relação aos demais aminoácidos. Por meio do fator aplicação o tratamento com cisteína e completo mostraram melhores resultados quando aplicados via TS e, fenilalanina quando aplicada em TS + Foliar (Tabela 19).

Tabela 19. Nitrato ($N\text{-}NO_3^-$), N- Ureídeos, N- Aminoácidos (N-Aa), nitrogênio total (N-Total), aos 90 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	$N\text{-}NO_3^-$ (mM g^{-1} [MS])				N-Ureídeos (mM g^{-1} [MS])				N-Aa (mM g^{-1} [MS])			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		5,1*				0,33*				30,4*		
Glutamato	5,2 cB	6,5 abA*	3,4 cC*	5,0	0,29 aA	0,25 aA	0,25 aA*	0,26	57,1 bA*	42,6 bB*	35,7 dC*	45,1
Cisteína	6,9 abA*	5,5 cB	5,4 aB	5,9	0,27 aA	0,19 aB*	0,25 aAB*	0,24	63,8 aA*	37,1 cC*	48,0 bB*	49,6
Fenilalanina	7,6 aA*	6,2 abcB*	4,7 abC	6,2	0,15 bB*	0,20 aAB*	0,23 abA*	0,19	47,9 cdA*	46,2 abA*	40,9 cB*	45,0
Glicina	6,3 bA*	6,8 aA*	4,4 bB	5,8	0,22 abA*	0,18 aA*	0,19 abA*	0,20	46,8 dB*	48,8 aB*	52,7 aA*	49,4
Completo	4,9 cB	5,8 bcA*	3,4 cC*	4,7	0,25 aA*	0,21 aAB*	0,16 bB*	0,20	50,9 cA*	35,1 cB*	52,0 abA*	46,0
Média	6,2	6,1	4,3		0,24	0,21	0,21		53,3	41,9	45,9	
CV (%)		7,65				16,70				4,25		
DMS (T)		0,85				0,07				4,03		
DMS (A)		0,73				0,06				3,43		
DMS (Dunnett)		0,86				0,07				4,05		

Tratamento	N-Total (g kg^{-1} [MS])			
	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		17,4*		
Ác. Glutâmico	23,4 aA*	17,2 bB	22,4 aA	21,0
Cisteína	21,4 abA	17,6 bA	17,6 abA	18,9
Fenilalanina	15,5 cB	25,7 aA*	16,1 bB	19,1
Glicina	16,3 bcA	19,8 bA	16,7 abA	17,6
Completo	16,8 bcA	14,7 bA	18,9 abA	16,8
Média	18,7	19,0	18,3	
CV (%)		15,21		
DMS (T)		5,72		
DMS (A)		4,88		
DMS (Dunnett)		5,75		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

No entanto, quando é realizada a comparação com o tratamento controle, foi possível perceber que a aplicação de aminoácidos no geral reduziu o acúmulo de ureídeos nas folhas, exceto quando se utilizou glutamato via TS ou foliar, que não diferiu do tratamento controle (Tabela 19).

A aplicação de cisteína no tratamento de sementes induz ao acúmulo de aminoácidos em folhas, quando comparado aos demais tratamentos. A utilização de glicina por meio da aplicação foliar ou TS + Foliar também aumenta o teor de aminoácidos em folhas, em relação aos demais tratamentos. Com relação ao fator aplicação o uso de glutamato e cisteína mostra maior eficiência quando realizada por meio de TS. Por outro lado, glicina mostrou melhores resultados quando aplicada via TS + Foliar, fenilalanina por meio de TS ou foliar e o tratamento completo quando aplicado via TS ou TS + Foliar.

A aplicação de todos os aminoácidos utilizados repercutiu no aumento do teor de aminoácidos em folhas, em comparação com o tratamento controle.

Com relação ao teor de nitrogênio total em folhas, a aplicação de glutamato induziu ao maior acúmulo desse elemento, quando foi aplicado tanto em TS, quanto em TS + Foliar. No entanto, dentro dos tratamentos foliares, o mais eficiente foi fenilalanina. Em comparação com o controle, apenas os tratamentos com glutamato no TS e fenilalanina em foliar foram superiores, os demais tratamentos não apresentaram diferenças significativas com o controle para o acúmulo de nitrogênio em folhas (Tabela 19).

4.2.4. Desenvolvimento de raízes

A utilização dos aminoácidos glutamato, cisteína, fenilalanina, glicina ou todos em conjunto (completo), promoveu o incremento de todos os parâmetros relacionados ao desenvolvimento de raiz avaliados, exceto para área projetada pela raiz aos 10 DAS (Tabela 20).

Aos 10 DAS, as plantas submetidas ao tratamento de sementes, com cisteína, fenilalanina e glicina, apresentaram maior desenvolvimento da raiz principal, com acréscimo de 18, 23 e 21,8% no comprimento, em relação ao controle. A aplicação de cisteína promoveu aumento do CT, AS, Vr, NRL e CRL, o que representou acréscimo de 85, 71, 50, 84 e 83%, respectivamente, em relação ao controle. Todos os demais tratamentos aplicados também foram superiores ao controle para estas variáveis, exceto para o volume de raiz, que apresentou baixos valores no controle e no tratamento completo (Tabela 20).

Tabela 20. Comprimento da raiz principal (CRP, cm.planta^{-1}), comprimento total da raiz (CT, cm.planta^{-1}), área superficial (AS, cm^2.planta^{-1}), área projetada (AP, cm^2.planta^{-1}), volume (Vr, cm^3.planta^{-1}), diâmetro (D, cm), número de raízes laterais (NRL) e comprimento das raízes laterais (CRL, cm) de plantas de soja aos 10 e 25 DAS, submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

	Primeira coleta (10 DAS)							Segunda coleta (25 DAS)						
Tratamento	CRP	CT	AS[1]	AP[1]	Vr	NRL	CRL	CRP	CT	AS	AP	Vr	NRL	CRL
Controle	14,2 b*	85,2 e	12,6 e	4,6 ns	0,16 b	27,8 c	35,9 c	18,5 c	250,0 c	9,3 b	26,3 e	0,27 c	80,3 e	53,8 e
Glutamato	16,2 ab	131,6 b	20,3 ab	6,3	0,23 a	44,8 ab	57,0 ab	20,4 bc	303,8 a	10,6 b	34,9 ab	0,35 ab	98,6 b	82,0 b
Cisteína	16,8 a	157,6 a	21,5 a	6,4	0,24 a	51,1 a	65,7 a	22,5 ab	291,4 ab	12,7 ab	32,5 c	0,43 a	119,0 a	100,2 a
Fenilalanina	17,5 a	104,0 d	17,3 c	5,2	0,21 a	41,0 b	48,5 bc	19,8 c	250,7 c	10,6 b	33,6 bc	0,35 ab	84,6 d	67,5 c
Glicina	17,3 a	127,9 bc	19,8 b	5,7	0,22 a	45,4 ab	53,4 ab	23,2 a	257,2 bc	10,2 b	36,5 a	0,36 ab	91,5 c	63,1 d
Completo	15,5 ab	113,9 cd	14,1 d	5,7	0,16 b	38,5 b	55,2 ab	20,5 bc	272,9 abc	23,0 a	30,4 d	0,30 bc	97,5 b	66,6 c
CV (%)	6,74	6,21	3,55	15,01	5,96	8,34	13,11	5,33	5,81	28,3	2,15	9,91	3,46	5,76
DMS	2,31	17,13	1,44	3,25	0,028	7,94	15,85	2,55	36,16	11,2	1,60	0,077	1,67	2,43

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação

A aplicação de cisteína também proporcionou o aumento de Vr, NRL e CRL aos 25 DAS, com incremento de 59, 48 e 86%, respectivamente, em relação ao controle. No entanto, todos os demais aminoácidos aplicados também aumentaram os valores destas variáveis, em relação ao tratamento controle.

Com relação ao CRP, a aplicação de glicina promoveu aumento de 25% quando comparado ao controle, já para CT, o glutamato incrementou esta variável, chegando a 22% de aumento, comparado ao controle. Por outro lado, a AS aos 25 DAS foi mais bem evidenciada com aplicação de todos os aminoácidos em conjunto (Tabela 20).

A Figura 17 evidencia os efeitos positivos da aplicação de aminoácidos, via tratamento de sementes, no desenvolvimento das raízes de plantas aos 25 DAS.

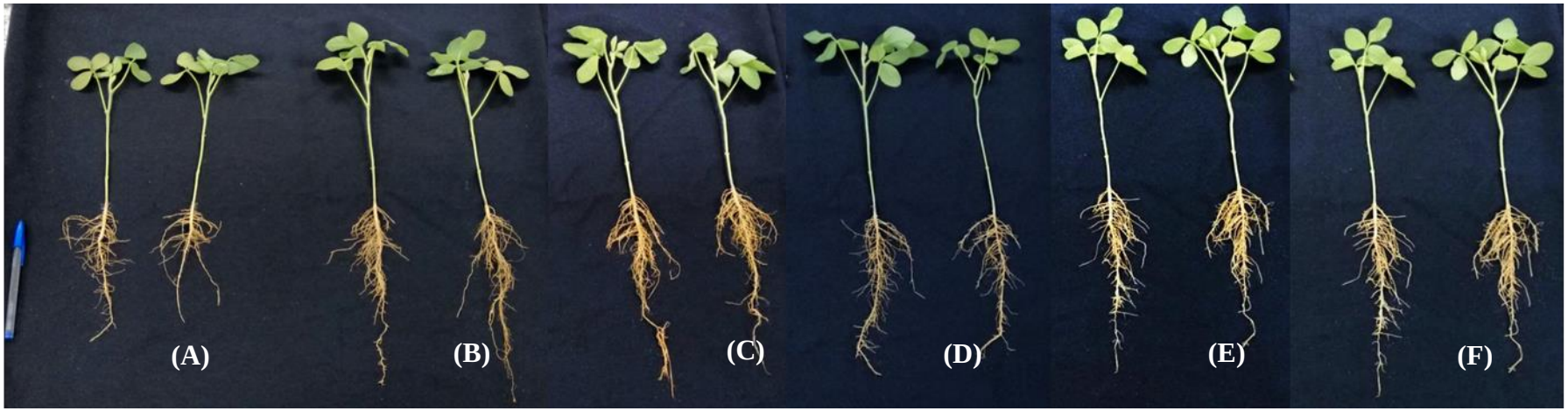

Figura 17. Plantas de soja, aos 25 dias após a semeadura, submetidas ao tratamento de sementes com aminoácidos. A – Controle, B – Glutamato, C – Cisteína, D – Fenilalanina, E – Glicina, F – Completo. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Aos 40 DAS, CT, CRP e AS não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos com aminoácidos e o controle (Tabela 21).

O CT de raízes também não apresentou diferenças entre os tratamentos com aminoácidos. No entanto, houve interação significativa entre os fatores para as variáveis CRP e AS. Para o CRP a aplicação de glutamato via foliar proporcionou melhores resultados e, a aplicação de fenilalanina via foliar mostrou menor efeito nesta variável, em comparação com os demais tratamentos.

Com relação ao fator aplicação, a fenilalanina proporciona maior CRP quando aplicada via TS ou TS + Foliar, para os demais aminoácidos não houve diferenças entre as épocas de aplicação.

A área superficial ocupada pelas raízes apresentou maiores valores na aplicação de fenilalanina e glicina, via TS. Não foram observadas diferenças dentro das aplicações via foliar ou via TS + Foliar.

Tabela 21. Comprimento total de raízes (CT, cm.planta^{-1}), comprimento da raiz principal (CRP, cm.planta^{-1}) e área superficial (AS, cm^2.planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	CT (cm.planta^{-1})				CRP (cm.planta^{-1})[1]				AS (cm^2.planta^{-1})			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		1169,0 ns				25,5 ns				124,1 ns		
Glutamato	1197,9 ns	1209,0	1349,9	1252,3	29,0 aA	37,2 aA	34,3 aA	33,5	125,7 abA	123,5 aA	147,5 aA	132,2
Cisteína	1035,4	1483,0	1131,8	1216,8	23,2 aA	25,1 abcA	25,6 aA	24,6	110,6 bA	156,3 aA	117,3 aA	128,0
Fenilalanina	1359,2	1207,7	1662,7	1409,9	32,0 aA	20,7 cB	35,0 aA	29,2	172,3 aA	126,9 aA	154,1 aA	151,1
Glicina	1467,2	1203,2	1436,2	1368,9	32,7 aAB	23,7 bcB	36,1 aA	30,8	165,5 aA	130,3 aA	166,4 aA	154,1
Completo	1397,0	1580,1	1241,2	1406,1	36,4 aA	32,4 abA	31,8 aA	33,5	146,5 abA	158,4 aA	128,4 aA	144,4
Média	1291,4	1336,6	1364,4		30,6	27,8	32,6		144,1	139,1	142,7	
CV (%)		22,44				6,92				18,83		
DMS (T)		601,84				0,20				53,90		
DMS (A)		513,11				0,17				45,96		
DMS (Dunnett)		614,8				13,8				53,9		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A aplicação de glicina via TS ou via TS + Foliar proporcionou maior AP, por outro lado, a aplicação de cisteína via TS repercutiu na redução da AP (Tabela 22). Esse mesmo aminoácido quando aplicado via foliar, juntamente com o tratamento completo, podem proporcionar maior AP. Quando realizada a comparação dentro do fator aplicação observa-se que o glutamato apresenta melhores resultados quando aplicado via TS + Foliar, os tratamentos com cisteína e completo, se aplicados via foliar. E o tratamento com fenilalanina e glicina proporciona maior AP, quando aplicados via TS ou via TS + Foliar.

Em comparação com o tratamento controle, a aplicação de fenilalanina, glicina e completo via TS incrementa os valores de AP. Via foliar, apenas os tratamentos com cisteína e completo foram melhores no aumento de AP em relação ao controle e, o tratamento com glutamato, fenilalanina e glicina via TS + Foliar são mais eficientes, em relação ao controle. Por outro lado, o tratamento com cisteína reduz a AP em relação ao controle.

Com relação ao volume de raízes, a aplicação de glicina por meio de tratamento de sementes ou TS + Foliar aumentou os valores desta variável, em relação aos demais tratamentos. Na aplicação foliar, melhores resultados foram evidenciados a partir da aplicação de cisteína e tratamento completo.

A partir do desdobramento da variável aplicação observa-se que o glutamato e a fenilalanina proporcionam maior volume de raízes em TS + Foliar, e a cisteína quando aplicada via foliar. O uso de glicina é mais eficaz em TS ou TS + Foliar e, por fim o tratamento completo demostra melhores resultados no volume de raízes quando aplicado via TS ou via foliar.

Em comparação com o tratamento controle a variável volume apresenta melhores respostas quando realizada a aplicação de fenilalanina, glicina e completo via TS, ou ainda cisteína e completo via foliar, e glutamato, fenilalanina e glicina, via TS + Foliar. O uso de cisteína no TS reduz o volume de raízes, em relação ao controle (Tabela 22).

Tabela 22. Área projetada pela raiz (AP, $cm^2.planta^{-1}$), volume das raízes (Vr, $cm^3.planta^{-1}$) e número de raízes laterais (NRL) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento	AP ($cm^2.planta^{-1}$)				Vr ($cm^3.planta^{-1}$)				NRL			
	Aplicação			Média	Aplicação			Média	Aplicação			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		39,5*				1,05*				76,5*		
Glutamato	37,4 cB	39,3 bB	47,0 bA*	41,2	1,04 cB	1,09 bcB	1,28 bA*	1,14	77,5 cC	128,0 aA*	92,6 aB*	99,4
Cisteína	32,9 dC*	49,7 aA*	37,3 cB	40,0	0,87 dB*	1,31 aA*	0,90 dB	1,03	73,0 cA	71,3 cA	76,0 bA	73,4
Fenilalanina	45,8 bA*	40,3 bB	49,1 bA*	45,1	1,35 abB*	0,95 cC	1,61 aA*	1,31	80,0 cB	59,5 dC	95,6 aA*	78,4
Glicina	51,4 aA*	36,7 bB	53,0 aA*	47,0	1,48 aA*	1,15 bB	1,55 aA*	1,39	105,9 bA*	95,4 bB*	92,0 aB*	97,8
Completo	46,6 bB*	50,3 aA*	37,9 cC	44,9	1,22 bA*	1,34 aA*	1,06 cB	1,21	143,8 aA*	96,5 bB*	74,3 bC	104,8
Média	42,8	43,3	44,8		1,20	1,17	1,28		96,0	90,1	86,1	
CV (%)		4,37				6,44				4,04		
DMS (T)		3,84				0,16				7,38		
DMS (A)		3,27				0,13				6,30		
DMS (Dunnett)		3,84				0,16				7,41		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A aplicação do tratamento completo via TS incrementou o NRL, já aplicação via foliar foi melhor com o uso de glutamato e, via TS + Foliar os melhores tratamentos foram com glutamato, cisteína e glicina. Dentro do fator aplicação, o uso de glutamato evidencia maior NRL, quando aplicado via foliar, por outro lado, a aplicação de fenilalanina proporciona melhores respostas em TS + Foliar, e glicina e completo quando utilizados no tratamento de sementes.

Os tratamentos utilizando glicina e a mistura de aminoácidos (completo) via TS proporcionaram maior NRL em relação ao controle. Já a utilização de glutamato, glicina e completo via foliar, e glutamato, fenilalanina e glicina via TS + Foliar também promove o aumento desta variável em relação ao controle (Tabela 22).

Apesar da aplicação de aminoácidos aumentar o NRL, isso não repercutiu no comprimento das raízes laterais (CRL, cm), não apresentando diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 23). Por outro lado, o número de nós (NN) apresentou maior valor com a aplicação de glutamato e com o tratamento completo via TS, este último tratamento também promoveu maior número de nós quando aplicado via foliar. E, o tratamento com glutamato também incrementou o NN quando aplicado via TS + Foliar.

A análise do fator aplicação isolada mostra que a aplicação de glutamato proporciona maior número de nós na aplicação via tratamento de sementes. Já a fenilalanina apresenta melhor resultado quando aplicada via foliar ou TS + Foliar e por fim, o tratamento completo, quando aplicado via TS ou foliar.

A partir da comparação com o tratamento controle foi possível notar diferença significativa com glutamato e completo, aplicados via TS ou foliar, e glutamato, fenilalanina, glicina e completo, quando aplicados por meio de TS + Foliar, que proporcionaram maior número de nós em relação ao controle.

Tabela 23. Comprimento das raízes laterais (CRL, cm.planta^{-1}) e número de nós (NN, nós.planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	CRL (cm.planta^{-1})				NN (nós.planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		159,1 ns				0,3*		
Glutamato	162,7 ns	161,6	169,6	164,6	3,3 aA*	1,5 bB*	1,9 aB*	2,2
Cisteína	146,3	141,9	161,6	149,9	0,9 bA	0,9 bA	0,9 bA	0,9
Fenilalanina	167,1	130,3	149,0	148,8	0,0 cB	1,0 bA	1,4 abA*	0,8
Glicina	158,1	161,3	213,2	177,5	0,5 bcA	1,0 bA	1,1 abA*	0,9
Completo	187,1	175,7	156,9	173,2	3,0 aA*	2,5 aA*	1,6 abB*	2,4
Média	164,3	154,2	170.0		1,5	1,4	1,4	
CV (%)		17,81				17,20		
DMS (T)		58,47				0,78		
DMS (A)		49,85				0,66		
DMS (Dunnett)		60,04				0,78		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A partir da Figura 18 é possível visualizar as diferenças entre o desenvolvimento de raízes a partir da aplicação de aminoácidos, em diferentes épocas aos 45 DAS.

Figura 18. Plantas de soja aos 45 dias após a semeadura, submetidas a aplicações de aminoácidos. Aplicação via sementes (A – Controle, B – Glutamato, C – Cisteína, D – Fenilalanina, E – Glicina, F – Completo), aplicação via foliar (G – Controle, H – Glutamato, I – Cisteína, J – Fenilalanina, K – Glicina, L – Completo), aplicação via sementes e foliar (M – Controle, N – Glutamato, O – Cisteína, P – Fenilalanina, Q – Glicina, R – Completo). Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

A Figura 19 mostra o gráfico de componentes principais das variáveis relacionadas com assimilação de nitrogênio e produtividade. Dois componentes principais foram formados, sendo CP_1 representado pelo volume de raízes e CP_2 número de raízes laterais, ou seja, estas

duas variáveis foram as que mais obtiveram peso na partição da variância dos dados, com maior detecção de diferenças entre os tratamentos.

A Figura 19 mostra ainda, que a produtividade apresenta correlação com o número de nós e o número de raízes laterais, ou seja, o aumento destas variáveis pode proporcionar incrementos na produtividade.

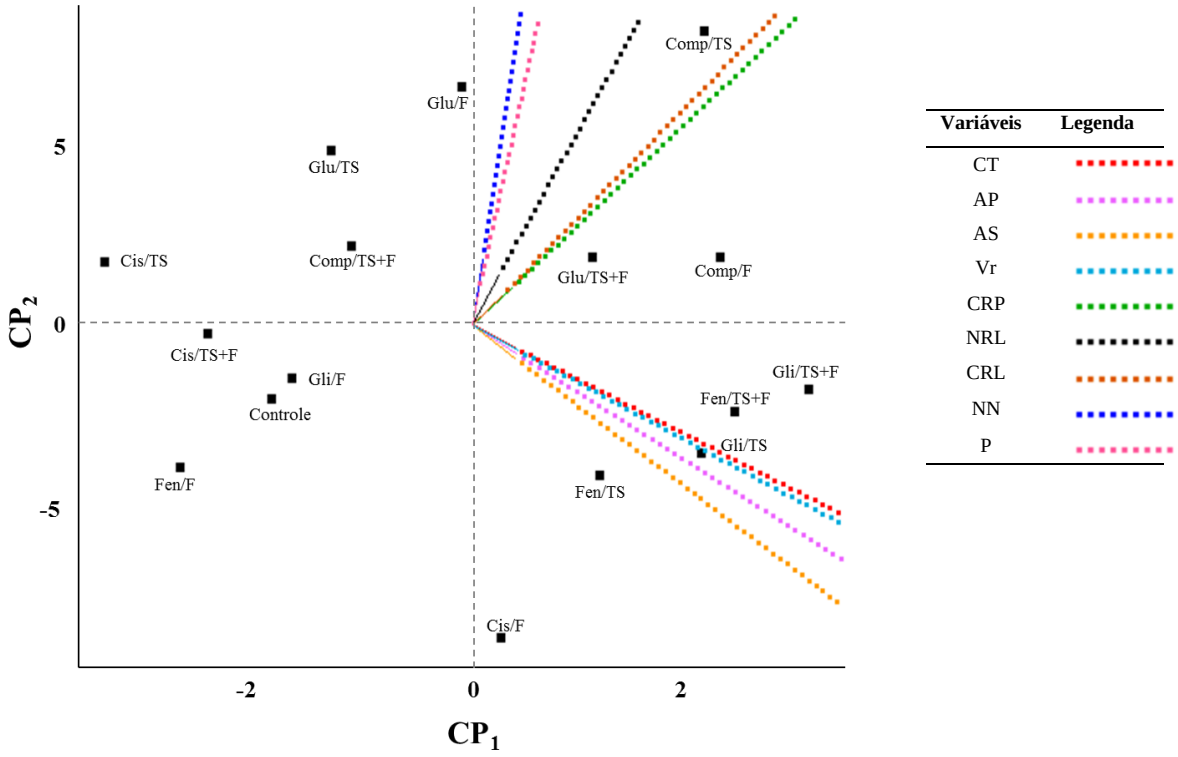

Figura 19. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis CT - comprimento total de raiz, AP - área projetada pela raiz, AS - área superficial da raiz, Vr – volume de raiz, CRP – comprimento da raiz principal, NRL – número de raízes laterais, CRL – comprimento das raízes laterais, NN – número de nós e P – produtividade avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Piracicaba, SP. 2015

4.2.5. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade

O acúmulo de massa de matéria seca também foi afetado pela aplicação de aminoácidos, via sementes, sendo que a aplicação de cisteína promoveu o incremento de 154, 35 e 56% na MSR, MSF e MST, respectivamente, em relação ao controle aos 10 DAS (Tabela 24).

Tabela 24. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}), folha (MSF, g planta^{-1}) e total (MST, g planta^{-1}) de plantas de soja aos 10 e 25 DAS, submetidas à aplicação, via sementes, de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

	Primeira coleta de massa de matéria seca (10 DAS)				Segunda coleta de massa de matéria seca (25 DAS)			
Tratamento	MSR	MSH[1]	MSF[1]	MST	MSR	MSH	MSF	MST
Controle	0,053 f	0,075 ns	0,215 de	0,343 d	0,095 b	0,235 e	0,502 ns	0,832 ns
Glutamato	0,123 b	0,090	0,250 b	0,463 b	0,170 ab	0,280 bc	0,636	1,086
Cisteína	0,140 a	0,105	0,290 a	0,535 a	0,205 a	0,265 d	0,683	1,153
Fenilalanina	0,085 d	0,090	0,205 e	0,380 c	0,128 ab	0,268 cd	0,521	0,916
Glicina	0,068 e	0,085	0,230 cd	0,383 c	0,173 ab	0,360 a	0,656	1,189
Completo	0,100 c	0,115	0,240 bc	0,455 b	0,128 ab	0,283b	0,511	0,921
CV (%)	6,08	11,18	3,23	3,74	19,83	2,29	11,43	8,66
DMS	0,013	0,045	0,018	0,037	0,102	0,015	0,288	0,435

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação

Com relação à segunda coleta de massa de matéria seca (20 DAS), a aplicação de cisteína também promoveu maior acúmulo de MSR, com aumento de 116%, em relação ao controle. Por outro lado, a massa de matéria seca de caule (MSH) obteve maior valor com a aplicação de glicina, com incremento de 53% quando comparado ao controle. No entanto, todos os demais tratamentos foram superiores ao controle. As variáveis MSF e MST coletadas aos 20 DAS, não foram afetadas pela aplicação de aminoácidos, via sementes (Tabela 24).

As variáveis MSR e MSH, aos 40 DAS, não apresentaram interação significativa entre os tratamentos (Tabela 25). A partir das médias de aplicação observa-se que o tratamento com glicina mostrou maior acúmulo de MSR. Em relação ao controle, apenas os tratamentos com cisteína via foliar e glicina via TS + Foliar incrementaram a MSR.

Para a variável MSH não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos. Por outro lado, a MSF acumulou de forma mais acentuada a partir da aplicação de glicina por meio do tratamento de sementes ou via TS + Foliar. Já na aplicação foliar o aminoácido mais eficiente sobre o acúmulo de massa de matéria seca de folhas foi a cisteína. Por meio da análise do fator aplicação observa-se que cada aminoácido se comportou de forma diferente, sendo que o glutamato mostrou melhores resultados quando aplicado via TS ou TS + Foliar, a cisteína, quando aplicada via foliar, glicina via TS e o tratamento completo foi mais eficiente se aplicado via TS ou foliar.

Por meio da comparação com o tratamento controle, foi possível perceber que todas as formas de aplicação dos aminoácidos acentuaram o acúmulo de MSF, exceto na aplicação de glicina via TS + Foliar, que não apresentou diferença significativa com o tratamento controle (Tabela 25).

Tabela 25. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), caule (MSH, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	MSR (g planta^{-1})				MSH (g planta^{-1})				MSF (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		0,41*				0,77 ns				1,27*		
Glutamato	0,48	0,46	0,50	0,48 b	1,18 ns	1,13	1,35	1,22	1,57 bA*	1,43 dB*	1,62 abA*	1,54
Cisteína	0,45	0,76*	0,53	0,58 ab	0,99	1,44	1,11	1,18	1,45 cB*	1,80 aA*	1,34 cC	1,53
Fenilalanina	0,54	0,67	0,47	0,56 ab	1,23	1,34	1,13	1,23	1,56 bA*	1,56 bcA*	1,56 bA*	1,56
Glicina	0,57	0,60	0,88*	0,68 a	1,34	1,11	1,34	1,26	1,80 aA*	1,49 cdC*	1,67 aB*	1,65
Completo	0,66	0,61	0,68	0,65 ab	1,24	1,41	1,17	1,27	1,60 bA*	1,66 bA*	1,43 cB*	1,56
Média	0,54 A	0,62 A	0,61 A		1,20^{ns}	1,28	1,22		1,59	1,59	1,52	
CV (%)		18,14				19,66				3,29		
DMS (T)		0,13				0,28				0,10		
DMS (A)		0,19				0,42				0,09		
DMS (Dunnett)		0,35				0,74				0,10		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

A variável MST não apresentou interação significativa entre os fatores estudados (Tabela 26). Os tratamentos com a utilização de glicina no TS ou via TS + Foliar, cisteína, fenilalanina e completo via foliar, foram superiores ao controle, ou seja, proporcionaram maior acúmulo de massa de matéria seca total.

Tabela 26. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	MST (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		2,45*		
Glutamato	3,23 ns	3,02	3,46	3,23
Cisteína	2,89	4,00*	2,97	3,28
Fenilalanina	3,32	3,57*	3,16	3,35
Glicina	3,71*	3,19	3,88*	3,60
Completo	3,50	3,67*	3,27	3,48
Média	3,33^{ns}	3,49	3,35	
CV (%)		15,20		
DMS (T)		1,04		
DMS (A)		0,88		
DMS (Dunnett)		1,04		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

Quando observados os valores de massa de matéria seca final, é possível notar que não houve interação entre os fatores para as variáveis MSH e MSF (Tabela 27).

Por outro lado, a interação foi significativa para a massa de matéria seca de raiz, em que a utilização de cisteína, fenilalanina e completa dentro do TS proporcionou maior acúmulo de MSR, além disso, a aplicação de glutamato dentro da aplicação foliar ou em TS + Foliar, também incrementa a MSR. No fator aplicação o uso de cisteína, fenilalanina e completo no TS mostra melhores resultados em comparação com as demais formas de aplicação. O glutamato mostra melhores resultados quando aplicado via TS + Foliar e a glicina via foliar ou TS + Foliar.

Em comparação com o tratamento controle os tratamentos com cisteína, fenilalanina e completo, aplicados via tratamento de sementes foram superiores ao controle. Além disso, a utilização de glutamato aplicado via foliar ou TS + Foliar também foi superior ao controle.

Tabela 27. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	MSR (g planta^{-1})				MSH (g planta^{-1})				MSF (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		1,63*				3,51 ns				2,25*		
Glutamato	1,71 bC	2,58 aB*	3,27 aA*	2,52	2,96	3,44	4,03	3,48 a	2,51	2,99	3,03	2,84 ab
Cisteína	2,92 aA*	1,10 cC	2,03 bB	2,02	3,29	2,33	3,03	2,89 ab	2,88	1,52	2,35	2,25 bc
Fenilalanina	2,94 aA*	1,52 bcB	1,71 bB	2,06	3,28	3,26	2,66	3,06 ab	2,66	2,20	2,71	2,52 abc
Glicina	1,59 bA	1,45 bcA	1,70 bA	1,58	2,84	2,07	2,69	2,53 b	2,57	1,40	2,25	2,07 c
Completo	3,02 aA*	1,80 bB	2,05 bB	2,29	3,63	3,58	3,25	3,49 a	3,53*	2,69	2,58	2,93 a
Média	2,44	1,69	2,15		3,20 A	2,93 A	3,13 A		2,83 A	2,16 B	2,58 AB	
CV (%)		14,90				13,35				22,96		
DMS (T)		0,63				0,84				0,67		
DMS (A)		0,53				0,55				0,44		
DMS (Dunnett)		0,63				1,57				1,25		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

Os valores de MSH não apresentaram diferença significativa com o controle, no entanto, foi constatada diferença entre as médias das aplicações dentro de cada tratamento, onde a utilização de glutamato ou tratamento completo proporcionou maior acúmulo de MSH. Esses mesmos tratamentos induziram ao aumento de MSF, além disso, a utilização de qualquer aminoácido no tratamento de sementes se mostrou mais eficaz no acúmulo de MSF em relação às demais formas de aplicação. Com relação ao controle, apenas a utilização do tratamento completo em TS foi superior (Tabela 27).

Na Tabela 28, observa-se que a aplicação de aminoácidos em diferentes épocas não proporcionou diferenças significativas no acúmulo de MST em relação ao controle.

No desdobramento da interação é possível perceber que o uso de glutamato dentro da aplicação foliar ou de TS + Foliar proporciona maior acúmulo de MST, em relação aos demais tratamentos com aminoácidos. Dentro do fator aplicação apenas observa-se diferença para o glutamato, que é mais eficiente quando aplicado via TS + Foliar e cisteína, que proporciona melhores resultados no TS, em comparação as demais formas de aplicação.

Com relação à produtividade, os tratamentos cisteína e fenilalanina em TS e completo aplicado via foliar, foi superior ao tratamento controle. Por outro lado, a utilização de cisteína e glicina via foliar proporcionaram menor produtividade, em relação ao controle.

No desdobramento das interações, dentro do TS, o aminoácido mais eficiente foi a cisteína, proporcionando maior produtividade em comparação com os demais aminoácidos. Já na aplicação foliar, o uso do tratamento completo se mostrou mais eficaz, e por fim, em TS + Foliar o uso de glutamato, fenilalanina ou completo proporcionou maior produtividade em relação aos demais aminoácidos.

Dentro do fator aplicação, a cisteína, fenilalanina, mostram melhores resultados na produtividade, quando aplicados no tratamento de sementes. Por outro lado, o glutamato repercute melhor incremento de produtividade quando aplicado em TS + Foliar e, o tratamento completo quando aplicado via foliar (Tabela 28).

Tabela 28. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) e produtividade (P, g planta^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo. Piracicaba, SP. 2015

Tratamento (T)	MST (g planta^{-1})				P (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		9,86 ns				2,3*		
Glutamato	9,47 aB	11,47 aAB	12,97 aA	11,30	2,32 cB	2,54 abAB	2,60 aA	2,5
Cisteína	11,55 aA	7,42 bcB	9,27 abAB	9,41	2,77 aA*	1,90 cB*	2,05 bB	2,2
Fenilalanina	11,92 aA	9,75 abcA	10,05 abA	10,57	2,66 abA*	2,37 bB	2,56 aAB	2,5
Glicina	9,64 aA	6,99 cA	9,00 bA	8,54	2,45 bcA	1,73 cB*	1,98 bB	2,1
Completo	13,15 aA	10,97 abA	10,68 abA	11,60	2,45 bcB	2,78 aA*	2,58 aAB	2,6
Média	11,14	9,32	10,39		2,5	2,3	2,4	
CV (%)		18,60				6,45		
DMS (T)		3,28				0,31		
DMS (A)		3,86				0,26		
DMS (Dunnett)		4,06				0,31		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Na Figura 20 é demostrado o gráfico de componentes principais gerados a partir das variáveis relacionadas ao crescimento das plantas. A partir dessa análise obtiveram-se dois componentes principais, sendo que o CP_1 foi composto pela Produtividade e o CP_2 representado pela massa de matéria seca total aos 40 DAS.

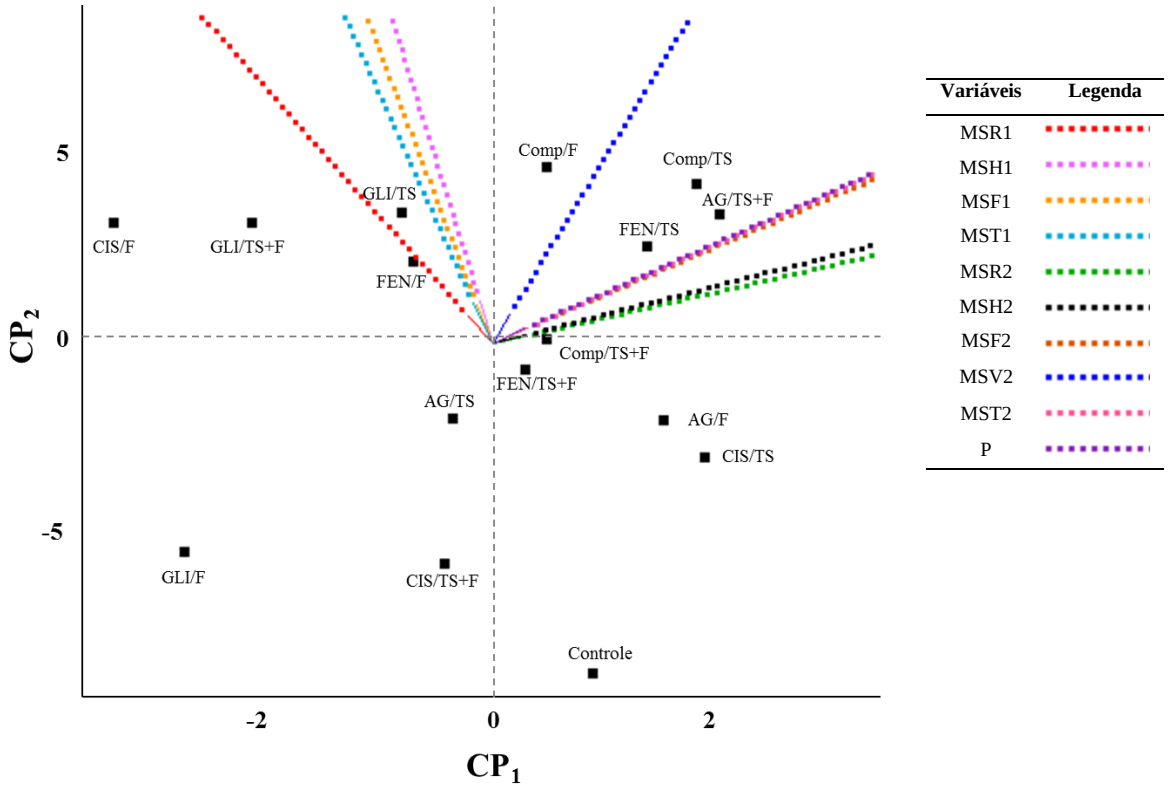

Figura 20. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis MSR – massa de matéria seca de raiz, MSH – massa de matéria seca de caule, MSF – massa de matéria seca de folhas, MST – massa de matéria seca total, aos 40 DAS (1) e 100 DAS (2), e P – produtividade avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Piracicaba, SP. 2015

Existe correlação positiva entre a produtividade e as variáveis MST, MSF, MSV, MSR e MSH aos 100 DAS, quanto maior o valor destas variáveis, maior a produtividade. Com relação aos tratamentos, de acordo com a análise o uso de fenilalanina e completo no TS e glutamato em TS + Foliar pode incrementar a produtividade.

4.3. Experimento III: Uso de aminoácidos e seu efeito em plantas de soja cultivadas em campo

4.3.1. Metabolismo antioxidante

Com relação ao metabolismo oxidativo, aos 40 DAS às plantas mostraram respostas à aplicação de aminoácidos para a atividade das enzimas CAT e SOD, com interação significativa entre os fatores tratamento e aplicação (Tabela 29). Dentro do TS, a enzima catalase apresentou maior atividade quando houve aplicação de cisteína, já na aplicação foliar o uso de glicina proporcionou maior atividade da CAT, esse mesmo aminoácido aumentou a atividade da enzima quando aplicado via TS + Foliar. A partir do desdobramento do fator aplicação, foi possível perceber que todos os aminoácidos proporcionaram melhor resposta da CAT quando aplicados via TS + Foliar.

Quando comparado ao controle, apenas as aplicações de glutamato, cisteína e glicina via TS + Foliar proporcionaram acréscimos na CAT em relação ao controle. Os demais tratamentos proporcionaram redução da atividade da enzima, exceto a cisteína aplicada via TS, que não diferiu do controle.

A enzima peroxidase apresentou acréscimos na sua atividade quando as plantas foram submetidas à aplicação foliar de cisteína e glicina, o que representou aumento de 45 e 26% em relação ao controle. Não houve diferença entre os aminoácidos e as formas de aplicação.

Por outro lado, na atividade da SOD houve interação significativa entre os tratamentos e épocas de aplicação, onde dentro do tratamento de sementes a aplicação de glutamato proporcionou o aumento da atividade da enzima. Para as aplicações foliares e em TS + Foliar, o uso de cisteína e glicina incrementaram a atividade da SOD. Para o fator aplicação, o uso de todos os aminoácidos no tratamento de sementes foi mais eficaz na indução de respostas desta enzima.

Em relação ao controle, todos os tratamentos apresentaram diferenças, no entanto o uso de cisteína e completo no TS e todos os tratamentos e foliares e em TS + Foliar foram inferiores ao controle, os demais, foram superiores na atividade da SOD (Tabela 29).

Tabela 29. Atividade das enzimas catalase (CAT, µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína]), peroxidase (POD, µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína]) e superóxido dismutase (SOD, U $µg^{-1}$ [proteína]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	CAT (µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína])				POD (µmol min^{-1} $µg^{-1}$ [proteína])				SOD (U $µg^{-1}$ [proteína])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		0,54*				0,66*				24,6*		
Glutamato	0,49 bB*	0,38 bC*	0,87 bA*	0,58	0,51	0,78	0,66	0,65 bc	31,3 aA*	13,6 bB*	13,2 abB*	19,4
Cisteína	0,54 aB	0,37 bC*	0,68 cA*	0,53	0,76	0,96*	0,66	0,79 a	20,9 cA*	17,4 aB*	14,2 aC*	17,5
Fenilalanina	0,26 dB*	0,18 dC*	0,37 dA*	0,27	0,62	0,81	0,62	0,68 bc	26,8 bA*	8,2 cC*	11,9 bB*	15,6
Glicina	0,36 cC*	0,48 aB*	0,90 aA*	0,58	0,75	0,83*	0,65	0,75 ab	27,7 bA*	15,7 aB*	7,4 cC*	17,0
Completo	0,18 eC*	0,23 cB*	0,33 eA*	0,24	0,63	0,76	0,57	0,65bc	12,6 dA*	4,8 dC*	8,0 cB*	8,4
Média	0,37	0,33	0,63		0,66 B	0,83 A	0,63 B		23,9	11,9	11,0	
CV (%)		13,32				11,38				15,54		
DMS (T)		0,03				0,09				1,74		
DMS (A)		0,03				0,06				1,48		
DMS (Dunnett)		0,03				0,16				1,74		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A aplicação de aminoácidos também induziu respostas na atividade das enzimas PAL, PFO e no teor de PTS (Tabela 30).

O uso de glutamato no tratamento de sementes aumentou a atividade da enzima PAL, já para a aplicação foliar e TS + Foliar, a aplicação de fenilalanina mostrou melhores resultados na atividade da enzima. Dentro do fator aplicação o glutamato e cisteína proporcionaram melhores resultados quando aplicado via tratamento de sementes, já a fenilalanina, se aplicada via foliar e a glicina quando aplicada em TS + Foliar. Os tratamentos que continham glutamato, cisteína e completo no TS, glutamato, fenilalanina e completo via foliar, proporcionaram maior atividade da PAL, em relação ao controle. E todos os tratamentos aplicados via TS + Foliar foram superiores ao controle.

Por outro lado, quando se observa os resultados da enzima polifenoloxidase o uso do tratamento completo em TS proporcionou incremento na atividade da enzima, esse mesmo tratamento, aplicado via foliar, também induziu ao aumento da atividade da enzima, embora não tenha diferido dos tratamentos com glutamato, cisteína e glicina. Já na aplicação em TS + Foliar os aminoácidos glutamato e cisteína proporcionaram maior atividade da PFO.

Tabela 30. Atividade das enzimas fenilalanina amônia liase (PAL, µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína]) e polifenoloxidase (PFO, U min^{-1} mg^{-1} [proteína]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	PAL (µmol [ácido trans Cinâmico] mg^{-1} [proteína])				PFO (U min^{-1} mg^{-1} [proteína])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		7,4*				43,2*		
Glutamato	15,8 aA*	12,3 bB*	11,0 bB*	13,0	35,6 bC	67,8 abB*	80,4 aA*	61,2
Cisteína	12,9 bA*	8,6 cB	11,6 abA*	11,0	46,7 bB	68,4 abA*	77,6 aA*	64,2
Fenilalanina	6,4 dC	19,5 aA*	13,3 aB*	13,1	41,2 bB	62,0 bA*	44,3 bB	49,2
Glicina	6,9 dB	8,0 cB	10,1 bA*	8,3	38,4 bB	67,9 abA*	55,9 bA	54,1
Completo	9,5 cA*	10,8 bA*	10,5 bA*	10,2	63,0 aB*	77,3 aA*	46,8 bC	62,4
Média	10,3	11,8	11,3		45,0	68,7	61,0	
CV (%)		8,29				12,42		
DMS (T)		1,86				14,57		
DMS (A)		1,59				12,42		
DMS (Dunnett)		2,04				16,70		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Ao avaliar o fator aplicação, o uso de cisteína, fenilalanina e completo, se torna mais eficaz quando aplicados via foliar, embora cisteína e glicina também possam ser aplicadas via TS + Foliar, além do glutamato, o que proporciona maior atividade da PFO.

Quando comparados ao controle, observa-se que apenas o tratamento completo em TS proporcionou maior atividade da PFO em relação ao controle, por outro lado todas as

aplicações foliares aumentaram a atividade da enzima, quando comparado ao controle e, em TS + Foliar apenas os tratamentos com glutamato e glicina foram superiores ao controle.

O teor de prolina apenas apresentou diferenças entre os tratamentos na aplicação em TS + Foliar, onde o uso de glutamato proporcionou o acréscimo do teor de prolina (Tabela 31). Em relação à forma de aplicação, o glutamato e glicina foram mais eficientes quando aplicados via TS e o completo quando aplicado em TS ou foliar. Comparados ao controle, apenas os tratamentos cisteína e glicina em TS incrementaram o teor de proteína.

Quanto a variável teor de peróxido de hidrogênio, apenas dentro dos tratamentos da aplicação foliar foi possível observar diferenças significativas. O uso de glicina e cisteína incrementaram o teor de peróxido de hidrogênio, esses mesmos tratamentos aumentaram a atividade da SOD, o que pode ter repercutido na elevação dos teores de H_2O_2, uma vez que esta enzima faz a dismutação de O_2^- em H_2O_2 e H_2O. Devido ao aumento de radical livre (H_2O_2) ocorreu também a elevação do peroxidação lipídica com a utilização dos mesmos aminoácidos (cisteína e glicina via foliar).

Com relação à época de aplicação os tratamentos com glutamato e cisteína elevam o teor de peróxido de hidrogênio quando aplicados em TS + Foliar, já a glicina, quando aplicada via foliar.

O aumento da atividade da catalase quando as plantas foram submetidas à aplicação via tratamento de sementes de cisteína pode ter levado a redução da PL. Além disso, o uso de glutamato via foliar também reduziu a peroxidação lipídica, em relação aos demais tratamentos de aplicação foliar.

Dentro do fator aplicação, no geral, os tratamentos aplicados via TS ou via TS + Foliar promoveram a redução da PL. Em comparação com o controle, apenas a utilização de cisteína no tratamento de sementes repercutiu na redução de 21% da PL. Por outro lado, o uso de glicina aplicada nas folhas aumentou a PL em 17%, em comparação com o controle.

Tabela 31. Teor de prolina (µmol g^{-1} [MF]), teor de peroxido de hidrogênio (H_2O_2, µmol g^{-1} [MF]) e peroxidação lipídica (PL, nmol [TBARS] g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	Prolina (µmol g^{-1} [MF])				H_2O_2 (µmol g^{-1} [MF])				PL (nmol [TBARS] g^{-1} [MF])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		2,47*				11,1*				24,9*		
Glutamato	3,39 aA	2,26 aB	2,83 aAB	2,83	10,5 aB	11,3 bAB	13,4 aA	11,7	23,8 bA	23,1 aA	22,8 aA	23,2
Cisteína	3,53 aA*	2,85 aA	3,24 abA	3,21	10,5 aB	13,3 aA	12,7 aA	12,1	20,6 aA*	27,6 bcB	22,5 aA	23,6
Fenilalanina	3,16 aA	3,08 aA	2,59 abcA	2,94	11,2 aA	11,7 abA	12,4 aA	11,8	23,4 bA	27,1 bcB	24,8 aAB	25,1
Glicina	3,84 aA*	2,63 aB	2,16 bcB	2,88	12,2 aAB	14,2 aA*	11,2 aB	12,5	24,9 bcA	29,2 cB*	23,4 aA	25,8
Completo	2,95 aA	2,72 aA	1,88 cB	2,52	11,1 aA	11,4 bA	11,0 aA	11,1	27,6 cB	25,8 abAB	24,4 aA	25,9
Média	2,37	2,71	2,54		11,1	12,4	12,1		24,1	26,6	23,6	
CV (%)		15,47				10,93				5,60		
DMS (T)		0,89				2,61				2,79		
DMS (A)		0,76				2,23				2,38		
DMS (Dunnett)		0,97				2,74				2,93		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A partir da análise de componentes principais (Figura 21) é possível visualizar que o incremento da atividade das enzimas SOD e CAT repercute no aumento da produtividade. Por outro lado, a produtividade apresenta correlação negativa com atividade da enzima POD, PL e teor de H_2O_2, o aumento destas variáveis reduz a produtividade. Os dois componentes principais formados foram compostos pela produtividade (CP1) e teor de prolina (CP2).

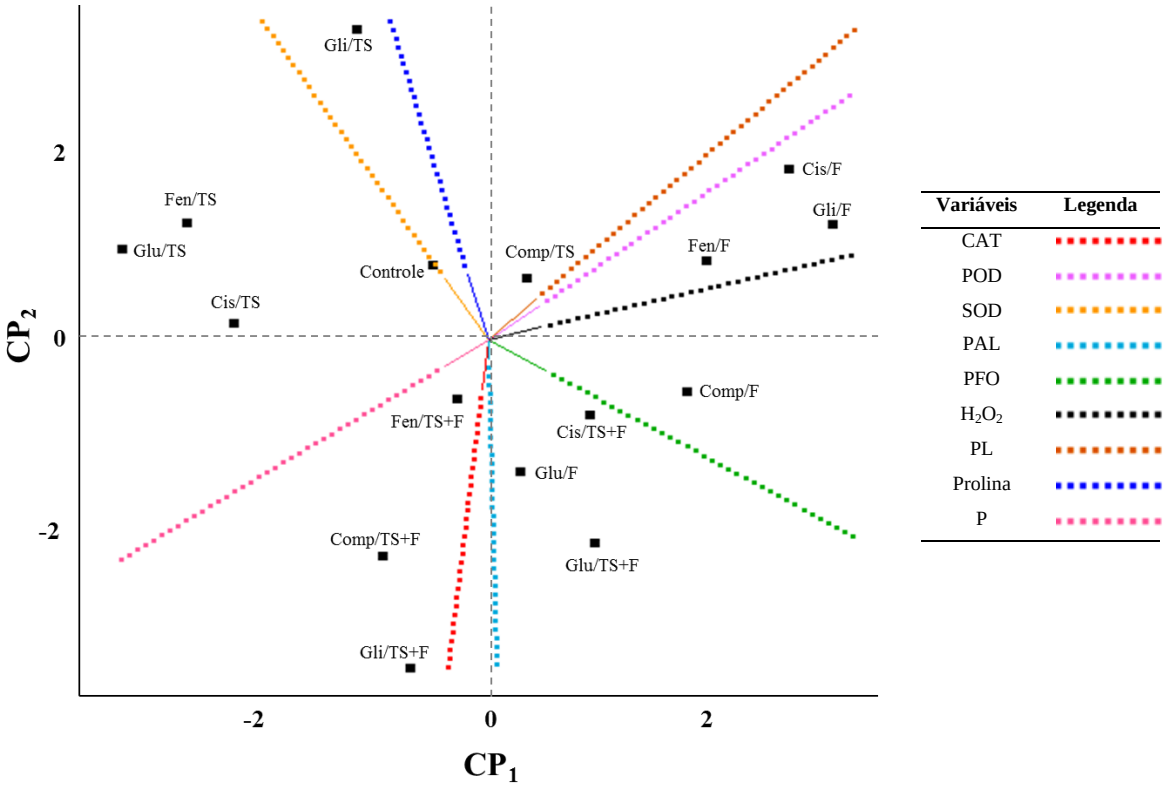

Figura 21. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (CAT – catalase, POD – peroxidase, SOD – superóxido dismutase, PAL – fenilalanina amônio liase, PFO – polifenoloxidase, H_2O_2 – peróxido de hidrogênio, PL – peroxidação lipídica e P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015

4.3.2. Metabolismo do nitrogênio

Aos 25 DAS foi possível perceber que o uso de todos os aminoácidos em conjunto (completo) induziu a maior atividade da enzima nitrato redutase com aumento de 79%, em relação ao controle (Tabela 32). Já a aplicação de fenilalanina proporcionou a redução da atividade da NR, o que representou 163% de decréscimo, quando comparado ao controle.

Tabela 32. Atividade da enzima nitrato redutase (NR, µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1}) aos 25 DAS, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento	NR
	µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1}
Controle	0,29 b
Glutamato	0,26 bc
Cisteína	0,25 bc
Fenilalanina	0,11 c
Glicina	0,18 bc
Completo	0,52 a
CV (%)	27,12
DMS	0,17

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância

O mesmo comportamento pode ser observado aos 40 DAS, onde o tratamento completo aumentou a atividade da enzima NR tanto em TS quanto em TS + Foliar (Tabela 33). Por outro lado, a aplicação de fenilalanina reduziu a atividade da enzima em todas as épocas de aplicação, fato que também ocorreu aos 25 DAS em TS. Dentro da aplicação foliar, o tratamento que mostrou melhores respostas na atividade da enzima NR foi cisteína. Por meio da avaliação do fator aplicação, observa-se que os tratamentos com glutamato, fenilalanina e completo, mostraram melhores resultados quando aplicados via foliar, por outro lado a cisteína e glicina foram mais eficazes na aplicação foliar.

Com relação ao controle, o uso de cisteína aplicada via foliar e completo aplicado em TS + Foliar proporcionaram maior atividade da NR, em relação ao controle, com acréscimo de 137 e 122%, respectivamente.

Já aos 60 DAS, o uso de glutamato dentro do tratamento de sementes proporcionou maior atividade da enzima em comparação com os demais tratamentos em TS. Além disso, o tratamento com glicina tanto em foliar quanto em TS + Foliar, também aumentou a atividade da enzima. Quanto ao tipo de aplicação, o glutamato proporcionou melhor resultado quando aplicado em TS + Foliar e a glicina em foliar. Os demais tratamentos não diferiram conforme o tipo de aplicação realizado.

Ao comparar com o controle, os tratamentos com glutamato em TS e via foliar, fenilalanina e glicina via foliar e glicina via TS + Foliar foram superiores ao controle, sendo que o uso de glicina foliar merece destaque, pois incrementou a atividade da enzima em 600% em relação ao controle.

Tabela 33. Atividade da enzima nitrato redutase (NR, µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1}) aos 40, 60 e 80 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	NR 40DAS (µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1})				NR 60DAS (µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1})				NR 80DAS (µg [N-NO_2^-] g^{-1} [MF] h^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		0,32*				0,26*				0,26*		
Glutamato	0,20 bC*	0,24 cB*	0,32 bA	0,25	0,78 aA*	0,54 bB*	0,31 bC	0,54	0,44 dC*	0,69 bA*	0,63 bB*	0,59
Cisteína	0,20 bC*	0,76 aA*	0,30 cB	0,42	0,38 bA	0,41 bA	0,37 bA	0,39	0,59 bA*	0,51 cB*	0,39 dC*	0,49
Fenilalanina	0,08 dB*	0,02 eC*	0,13 eA*	0,08	0,45 bA	0,52 bA*	0,46 bA	0,47	0,52 bcC*	1,91 aA*	1,69 aB*	1,37
Glicina	0,16 cC*	0,28 bA*	0,20 dB*	0,21	0,40 bC	1,84 aA*	0,73 aB*	0,99	0,46 cdA*	0,28 eB	0,48 cA*	0,41
Completo	0,33 aB	0,10 dC*	0,71 aA*	0,38	0,35 bA	0,35 bA	0,26 bA	0,32	0,71 aA*	0,38 dB*	0,38 dB*	0,49
Média	0,20	0,28	0,33		0,47	0,73	0,42		0,54	0,75	0,71	
CV (%)		13,38				19,04				15,08		
DMS (T)		0,02				0,21				0,07		
DMS (A)		0,02				0,18				0,06		
DMS (Dunnett)		0,02				0,21				0,07		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Aos 80 DAS, a fenilalanina já passou a desempenhar efeito positivo na atividade da enzima nitrato redutase, induzindo maior atividade desta enzima na aplicação foliar e em TS + Foliar, em comparação com os demais tratamentos dentro de cada época de aplicação. Já em TS o uso do tratamento completo induziu ao incremento da atividade da NR (Tabela 33).

Em relação à época de aplicação, o glutamato mostra melhor resposta na NR quando aplicado via foliar, a cisteína, glicina e completo em TS e, fenilalanina via foliar. Todos os tratamentos repercutiram no incremento da atividade da NR, em relação ao controle, exceto o tratamento com glicina via foliar (Tabela 33).

A enzima nitrato redutase é responsável pela redução do nitrato em nitrito, desta forma, os locais que apresentam maior atividade da enzima podem também apresentar menor teor de nitrato. Essa característica foi observada na avaliação do teor de nitrato aos 40 DAS, na qual os tratamentos utilizando completo no TS e em TS + Foliar e cisteína aplicada via foliar levaram ao menor teor de nitrato em folhas (Tabela 34), esses mesmos tratamentos proporcionaram maior atividade da enzima nitrato redutase aos 40 DAS. Além disso, a característica inversa também foi observada, pois alguns tratamentos que proporcionaram menor atividade da NR também levaram ao maior acúmulo de nitrato, como por exemplo, o uso de glutamato em TS e foliar, glicina também em TS e foliar e cisteína, fenilalanina e glicina em TS + Foliar.

Em relação à época de aplicação, cada aminoácido apresentou um comportamento, sendo que o glutamato mostra melhor resposta no acúmulo de nitrato quando aplicado em TS ou foliar, fenilalanina em TS + Foliar, glicina em TS e o completo via foliar.

A aplicação de glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina em TS aumentou o teor de NO_3^-, em relação ao controle, com acréscimos de 103, 50, 55 e 124%, respectivamente.

Na aplicação foliar o uso de glutamato, glicina e completo, também foram superiores ao controle, o que representou incremento de 117, 80 e 93%, respectivamente. Além disso, em TS + Foliar todos os tratamentos refletiram no aumento de NO_3^-, exceto para o glutamato.

A enzima urease converte ureia em amônia (que rapidamente se transforma em amônio), portanto, também se pode dizer que o aumento da sua atividade repercute no incremento do teor de amônio nas folhas. Assim sendo, o uso de fenilalanina em TS e glicina via foliar ou TS + Foliar aumentou a atividade da enzima e, consequentemente incrementou o teor de amônio nas folhas (Tabela 34).

Tabela 34. Teor de nitrato (N-NO_3^-, mM g^{-1} [MS]), atividade da enzima urease (µmol [NH_4^+]g^{-1} [MF] h^{-1}) e teor de amônio (N-NH_4^+, mM g^{-1} [MS]) aos 40 DAS, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	N-NO_3^- (mM g^{-1} [MS])				Urease (µmol [NH_4^+]g^{-1} [MF] h^{-1})				N-NH_4^+ (mM g^{-1} [MS])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		2,70*				8,32*				0,050*		
Glutamato	5,49 aA*	5,86 aA*	2,59 bB	4,65	7,99 bB	9,72 cA	9,59 cAB	0,059	0,050 cdB	0,060 bAB	0,068 bcA	0,059
Cisteína	4,05 bA*	3,74 bA	4,33 aA*	4,04	4,66 cC*	10,52 bcB*	14,35 aA*	0,063	0,034 dC	0,076 bB*	0,081 bcA*	0,063
Fenilalanina	4,20 bAB*	3,36 bB	4,43 aA*	4,00	10,74 aA*	10,89 bA*	12,00 bA*	0,081	0,077 aA*	0,076 bA*	0,089 bA*	0,081
Glicina	6,05 aA*	4,85 aB*	4,57 aB*	5,16	9,24 abC	13,53 aB*	15,36 aA*	0,095	0,073 abB*	0,101 aA*	0,110 aA*	0,095
Completo	3,56 bB	5,22 aA*	4,10 aB*	4,29	8,08 bB	10,11 bcA	8,86 cAB	0,061	0,055 bcA	0,063 bA	0,064 cA	0,061
Média	4,67	4,61	4,00		8,14	10,96	12,03		0,058	0,075	0,072	
CV (%)		11,93				8,34				14,64		
DMS (T)		1,06				1,74				0,021		
DMS (A)		0,91				1,48				0,018		
DMS (Dunnett)		1,27				1,84				0,02		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

A análise isolada dentro do fator aplicação demostrou que o glutamato e o tratamento completo incrementaram de forma mais eficiente na atividade da urease quando aplicados via foliar. O uso de fenilalanina em TS, cisteína e glicina via foliar ou TS + Foliar aumentam a atividade da urease em relação ao controle, no entanto, a aplicação de cisteína em TS reduz a atividade desta mesma enzima.

Para o teor de amônio em folhas, a melhor época para aplicação de glutamato e cisteína é em TS + Foliar, e a glicina em foliar ou TS + Foliar. Comparados ao controle, o uso de fenilalanina e glicina em TS e, cisteína, fenilalanina e glicina via foliar ou TS + Foliar, proporcionou maior atividade da enzima (Tabela 34).

O teor de ureídeos, aminoácidos totais e nitrogênio total em folhas não apresentou interação significativa entre os fatores estudados (Tabela 35). Todos os tratamentos utilizados repercutiram no incremento do teor de ureídeos e aminoácidos em folhas quando comparados ao controle, com incremento de até 101% no teor de ureídeos e 128% nos aminoácidos totais. Quanto ao teor de N-Total em folhas apenas os tratamentos com glicina em TS e foliar e glutamato via foliar não incrementaram o teor desse nutriente em relação ao controle.

Tabela 35. Teor de N-Ureídeos (mM g^{-1} [MS]), aminoácidos (N-Aa, mM g^{-1} [MS]) e N-Total (mM g^{-1} [MS]), aos 40 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	N-Ureídeos (mM g^{-1} [MS])				N-Aa (mM g^{-1} [MS])				N-Total (g kg^{-1} [MS])			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		1,43*				17,7*				32,0*		
Glutamato	2,77 ns*	2,58*	2,62*	2,65	37,6 ns*	35,0*	35,6*	36,1	41,2 ns*	40,1	42,1*	41,2
Cisteína	2,56*	2,70*	2,38*	2,55	34,8*	36,8*	32,3*	34,6	41,2*	41,0*	42,2*	41,5
Fenilalanina	2,55*	2,37*	2,53*	2,48	34,7*	32,2*	34,4*	33,8	40,8*	42,3*	42,1*	41,7
Glicina	2,88*	2,61*	2,49*	2,66	40,4*	35,5*	33,8*	36,6	39,5	40,2	41,7*	40,5
Completo	2,41*	2,48*	2,48*	2,46	32,8*	33,7*	33,8*	33,4	41,9*	38,7	45,2*	41,9
Média	2,63	2,55	2,50		36,1	34,6	34,0		40,9	40,5	42,7	
CV (%)		9,84				9,57				7,28		
DMS (T)		0,51				6,72				6,07		
DMS (A)		0,43				5,74				5,18		
DMS (Dunnett)		0,51				6,78				8,25		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Com relação ao teor de PTS, o uso de fenilalanina e todos os tratamentos em conjunto (completo) induziu ao aumento do teor de proteínas nas folhas, além disso, em TS + Foliar a aplicação do tratamento completo foi mais eficiente para o acúmulo de PTS, embora não tenha diferido da cisteína e fenilalanina. Apenas os tratamentos fenilalanina via TS e completo via TS + Foliar tenham sido superiores ao controle na indução ao acúmulo de PTS, já o uso do tratamento completo em TS, proporcionou menor teor de PTS em folhas em relação ao controle (Tabela 36).

Tabela 36. Teor de proteína total solúvel em folhas (PTS, mg g^{-1} [MF]) aos 40 dias após a semeadura (sete dias após a aplicação foliar), em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	PTS (mg g^{-1} [MF])			Média
	Aplicação (A)			
	TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		12,8*		
Glutamato	13,7 abA	12,7 aA	13,3 bcA	13,2
Cisteína	12,1 bB	12,7 aAB	14,2 abA	13,0
Fenilalanina	15,5 aA*	13,3 aB	13,9 abcAB	14,2
Glicina	13,9 abA	14,3 aA	12,1 cB	13,4
Completo	9,9 cC*	13,4 aB	15,4 aA*	12,9
Média	13,0	13,3	13,8	
CV (%)		7,15		
DMS (T)		1,93		
DMS (A)		1,65		
DMS (Dunnett)		1,93		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

O gráfico de componentes principais mostrado na Figura 22 mostra a relação existente entre produtividade e o teor de aminoácidos e ureídeos em folhas. A partir desta informação é possível inferir que quanto maior o teor desses componentes maior será a produtividade das plantas.

Os dois componentes principais formados correspondem a Aa e ureídeos em CP_1 e atividade da enzima urease no CP_2. Assim sendo, estas variáveis são as mais representativas entre as demais variáveis.

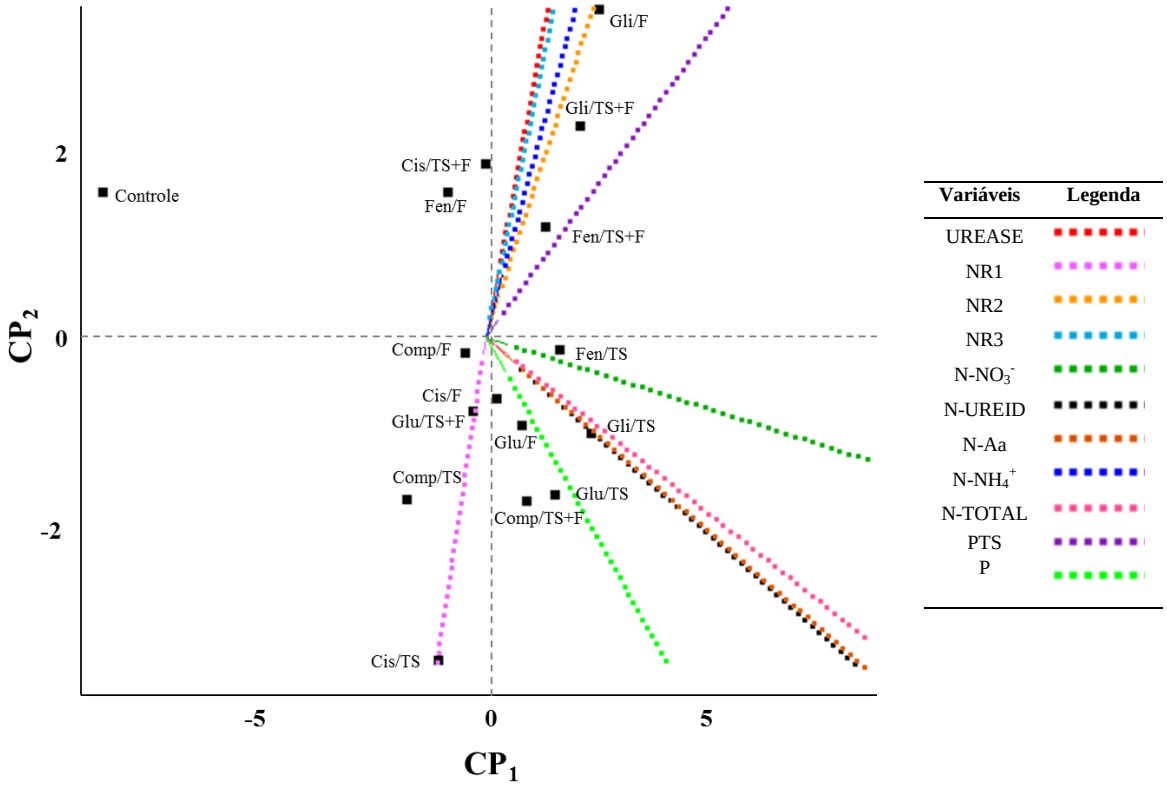

Figura 22. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (NR – atividade da enzima nitrato redutase aos 40 (1), 60 (2) e 80 (3) DAS, $N\text{-}NO_3^-$ – nitrato, N –UREID – Ureídeos, N-Aa – Aminoácidos, $N\text{-}NH_4^+$ – amônio, N-Total – Nitrogênio Total, PTS – proteína total solúvel, P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015

4.3.3. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade

A aplicação de aminoácidos não proporcionou efeitos positivos durante o desenvolvimento inicial das plantas (25 DAS), exceto para a MSH (Tabela 37). A massa de matéria seca de raízes dos tratamentos com aminoácidos foi menor do que o controle, exceto para fenilalanina e o tratamento completo, que não diferiram do controle. Por outro lado, a massa de matéria seca de caule foi incrementada a partir da aplicação dos aminoácidos, com aumento de até 169% com relação ao controle, quando utilizado glutamato no tratamento de sementes.

A massa de matéria seca de folhas também não foi afetada pela aplicação de aminoácidos, sendo que os tratamentos com glicina e completo, não diferiram do controle e, os demais foram inferiores ao controle. Para a variável MST não houve diferenças entre os tratamentos utilizados e controle (Tabela 37).

Tabela 37. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}), folhas (MSF, g planta^{-1}) e total (MST, g planta^{-1}) aos 25 DAS em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos via sementes. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento	MSR	MSH	MSF	MST
	g planta^{-1}			
Controle	0,70 a	0,83 b	2,62 a	4,16 ns
Glutamato	0,34 b	2,24 a	1,96 ab	4,54
Cisteína	0,46 b	2,36 a	1,52 b	4,34
Fenilalanina	0,48 ab	2,67 a	1,56 b	4,71
Glicina	0,46 b	2,69 a	2,25 ab	5,41
Completo	0,52 ab	2,25 a	1,90 ab	4,67
CV (%)	21,29	14,06	16,67	12,34
DMS	0,24	0,70	0,75	1,31

* Médias seguidas por mesmas letras não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

[1] Dados transformados em log (x+1), dados aqui apresentados representam os valores sem transformação

Aos 40 DAS também não foram observados efeitos positivos da aplicação dos aminoácidos no acúmulo de massa de matéria seca, exceto para MSH (Tabela 38). Houve interação significativa para MSR, MSH e MSF, em que, na massa de matéria seca de raízes quando utilizado o tratamento de sementes, o tratamento que proporcionou melhores resultados foi o completo, já em foliar e em TS + Foliar não ocorreram diferenças entre os tratamentos utilizados.

Quando realizado o desdobramento do fator aplicação, o uso de glutamato mostrou melhor acúmulo de MSR quando aplicado via foliar e o completo quando aplicado em TS + Foliar, os demais tratamentos não diferiram entre as épocas de aplicação. Em relação ao controle, apenas o uso de glutamato em TS apresentou diferença significativa, proporcionando menor MSR em relação ao controle.

Na MSH o uso de aminoácidos em TS e em TS + Foliar não diferiu dentro de cada época de aplicação, por outro lado, na aplicação foliar o uso de glutamato proporcionou maior acúmulo de massa de matéria seca de caule, tratamento que também foi superior ao controle, com incremento de 38%. Dentro do fator época de aplicação, apenas o tratamento com glutamato demostrou diferenças, onde o uso desse tratamento via foliar foi mais efetivo.

O uso de glicina incrementou a MSF em relação aos demais aminoácidos quando utilizada em TS ou em TS + Foliar. Já na aplicação foliar a utilização de cisteína proporcionou maior MSF. Para o fator aplicação o uso de cisteína, fenilalanina e completo, foram mais eficientes quando realizado via foliar, por outro lado, a glicina foi mais efetiva quando aplicada em TS ou TS + Foliar (Tabela 38).

Tabela 38. Massa de matéria seca de raiz (MSR, g planta^{-1}), haste (MSH, g planta^{-1}) e folhas (MSF, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura, (sete dias após a aplicação foliar) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	MSR (g planta^{-1})				MSH (g planta^{-1})				MSF (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		1,00*				5,15*				4,86*		
Glutamato	0,60 cB*	1,09 aA	0,76 aB	0,81	4,37 aB	7,13 aA*	4,61 aB	5,37	3,92 abA	3,19 bcA*	3,91 aA	3,67
Cisteína	0,96 abA	0,92 aA	0,89 aA	0,92	4,64 aA	4,87 bA	4,79 aA	4,77	3,10 bB*	4,89 aA	3,01 abB*	3,67
Fenilalanina	0,99 abA	1,04 aA	0,93 aA	0,99	5,05 aA	6,02 abA	5,65 aA	5,57	4,06 abA	4,37 abA	2,19 bB*	3,54
Glicina	0,80 bcA	0,92 aA	1,05 aA	0,92	5,20 aA	5,20 bA	5,56 aA	5,32	4,80 aA	2,96 cB*	4,22 aA	4,00
Completo	1,17 aA	0,84 aB	0,91 aAB	0,97	3,99 aA	5,12 bA	5,01 aA	4,71	3,46 bB*	4,66 aA	4,17 aAB	4,10
Média	0,90	0,96	0,91		4,65	5,67	5,12		3,87	4,02	3,50	
CV (%)		19,08				16,11				16,61		
DMS (T)		0,35				1,67				1,27		
DMS (A)		0,30				1,43				1,08		
DMS (Dunnett)		0,36				1,81				1,28		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Nenhum tratamento foi superior ao controle no controle no acúmulo de MSF, ao invés disso, alguns reduziram a MSF como a cisteína e completo em TS, glutamato e glicina quando aplicados via foliar e cisteína e fenilalanina em TS + Foliar (Tabela 38).

O uso de aminoácidos também não afetou a massa de matéria seca total aos 40 DAS em relação ao controle (Tabela 39). No entanto, foram observadas interações significativas entre os fatores estudados, na aplicação foliar o uso de fenilalanina foi mais eficiente em relação aos demais aminoácidos no acúmulo de MST, já em TS e em TS + Foliar não houve diferença entre os tratamentos utilizados. Com relação à época de aplicação, todos os tratamentos foram mais efetivos quando aplicados via foliar.

Tabela 39. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) aos 40 dias após a semeadura, (sete dias após a aplicação foliar) de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	MST (g planta^{-1})			Média
	Aplicação (A)			
	TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		11,02 ns		
Ác. Glutâmico	8,90 aB	11,40 aA	9,28 aB	9,86
Cisteína	8,70 aB	10,68 abA	8,69 aB	9,36
Fenilalanina	10,10 aAB	11,44 aA	8,77 aB	10,10
Glicina	10,80 aA	9,08 bA	10,84 aA	10,24
Completo	8,62 aB	10,62 abA	10,09 aAB	9,77
Média	9,42	10,64	9,53	
CV (%)		11,59		
DMS (T)		2,31		
DMS (A)		1,97		
DMS (Dunnett)		2,45		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

Aos 70 DAS, alguns tratamentos proporcionaram maior acúmulo de MSH e MSV em relação ao controle (Tabela 40). O uso de glutamato e glicina em TS proporcionou aumento destas variáveis em relação ao controle, além disso, o tratamento completo em TS e em TS + Foliar também induziu a acréscimos na MSV em relação ao tratamento controle, o que representou 28 e 25% de aumento, respectivamente.

Na variável MSH, no tratamento de sementes o uso de glicina foi mais eficiente em relação aos demais aminoácidos, já na aplicação foliar e em TS + Foliar não houve diferenças entre os tratamentos. Para o fator aplicação, o uso de glutamato e de glicina proporciona maior acúmulo de MSH quando aplicado via tratamento de sementes (Tabela 40).

Tabela 40. Massa de matéria seca de haste (MSH), folhas (MSF) e vagens (MSV) aos 70 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	MSH (g planta^{-1})				MSF (g planta^{-1})				MSV (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		4,06*				3,41 ns				5,33*		
Glutamato	5,44 abA*	3,91 aB	3,84 aB	4,40	3,95 aA	3,11 abB	2,92 aB	3,33	7,25 aA*	5,40 abB	5,48 bB	6,04
Cisteína	3,66 cA	4,27 aA	3,76 aA	3,89	2,90 bA	3,28 abA	3,23 aA	3,14	6,17 aA	5,72 abA	6,24 abA	6,04
Fenilalanina	4,42 bcA	3,78 aA	3,99 aA	4,06	3,01 abA	2,58 bA	2,88 aA	2,82	6,31 aA	4,54 bB	6,34 abA	5,73
Glicina	6,03 aA*	3,91 aB	3,85 aB	4,60	3,77 abA	2,93abB	2,81 aB	3,17	7,14 aA*	6,16 aAB	5,12 bB	6,14
Completo	4,35 bcA	4,61 aA	4,47 aA	4,48	3,39 abA	3,70 aA	3,67 aA	3,59	6,80 aA*	6,50 aA	7,17 aA*	6,82
Média	4,78	4,10	3,98		3,40	3,12	3,10		6,73	5,66	6,07	
CV (%)		14,09				15,06				9,91		
DMS (T)		1,22				0,97				1,23		
DMS (A)		1,04				0,83				1,05		
DMS (Dunnett)		1,26				1,00				1,33		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

Na massa de matéria seca de folhas não foi evidenciada diferença entre o uso de aminoácidos e o tratamento controle, no entanto foram observadas diferenças entre os tratamentos com aminoácidos. Dentro do tratamento de sementes o uso de glutamato proporcionou maior MSF em relação aos demais aminoácidos, já na aplicação foliar o tratamento completo foi mais eficiente e em TS + Foliar não houve diferenças entre os tratamentos.

No fator aplicação o comportamento foi idêntico ao observado em MSH, onde o glutamato e a glicina foram mais efetivos quando usados no tratamento de sementes.

O tratamento completo proporcionou acréscimo na massa de matéria seca de vagem em relação aos demais tratamentos quando usado via foliar e também em TS + Foliar. No fator aplicação o glutamato, fenilalanina e glicina são mais efetivos quando aplicados em TS + Foliar (Tabela 40).

O uso de glutamato e glicina em TS proporcionaram acréscimo de 32% em relação ao controle na MST (Tabela 41). No desdobramento das interações, para o fator tratamento, dentro do TS, o uso glutamato e glicina também foram mais eficientes no acúmulo de MST, já na via foliar em TS + Foliar o tratamento completo proporcionou maiores valores, em relação aos demais tratamentos.

A partir do fator aplicação observa-se que os tratamentos com glutamato, fenilalanina e glicina mostram melhores resultados quando aplicados via tratamento de sementes, os demais tratamentos não diferem entre as diferentes épocas de aplicação.

Tabela 41. Massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) aos 70 dias após a semeadura, em plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	MST (g planta^{-1})			Média
	Aplicação (A)			
	TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		12,80*		
Glutamato	16,64 aA*	12,42 abB	12,25 bB	13,77
Cisteína	11,18 bA	13,26 abA	13,23 abA	12,56
Fenilalanina	13,74 bA	10,90 bB	13,21 abA	12,61
Glicina	16,94 aA*	13,00 abB	11,78 bB	13,91
Completo	14,54 abA	14,81 aA	15,31 aA	14,89
Média	14,61	12,88	13,15	
CV (%)		9,63		
DMS (T)		2,65		
DMS (A)		2,26		
DMS (Dunnett)		2,71		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

Na última avaliação de crescimento (100 DAS), observa-se que diversos tratamentos proporcionaram maior acúmulo de MSH, MSF e MSV, em relação ao controle (Tabela 42). O uso de cisteína e fenilalanina em TS incrementou em 30 e 50%, respectivamente, a MSH, em relação ao controle. O uso de cisteína e completo via foliar também foram superiores ao controle, com acréscimo de 29% para ambos. E, glutamato, glicina e completo em TS + Foliar incrementaram em 35, 34 e 56 a MSH, em relação ao controle, respectivamente.

A partir do desdobramento das interações, observam-se diferentes comportamentos dentro de cada época de aplicação, onde em TS o tratamento mais efetivo no acúmulo de MSH em relação aos demais aminoácidos foi a fenilalanina, já na aplicação foliar a cisteína mostrou melhores resultados e em TS + Foliar o uso do tratamento completo foi mais eficaz. Para o fator aplicação o glutamato e completo mostra melhores resultados quando utilizados em TS + Foliar, glicina em TS ou TS + Foliar, a fenilalanina quando usada em TS e a cisteína em TS ou foliar.

Na massa de matéria seca de folhas, o uso de cisteína, fenilalanina, glicina e completo incrementaram em 25, 151, 26 e 74% a MSF, em relação ao controle, respectivamente. O uso desses mesmos tratamentos via foliar também proporcionou maior acúmulo de MSF, em relação ao controle, além disso, todos os tratamentos usados em TS + Foliar incrementaram a MSF quando comparados ao controle. A partir do desdobramento das interações observa-se que o uso de fenilalanina em TS proporcionou maior acúmulo de massa de matéria seca de folhas, em relação aos demais aminoácidos.

Na aplicação foliar, o menor valor de MSF foi observado a partir da aplicação de glutamato e em TS + Foliar os aminoácidos menos efetivos foram cisteína e completo. Para o fator aplicação, o uso de glutamato é mais eficaz no acúmulo de MSF quando usado em TS + Foliar, a cisteína via foliar, fenilalanina em TS, glicina quando aplicada via foliar ou TS + Foliar e o tratamento completo, quando aplicado em TS ou foliar (Tabela 42).

Tabela 42. Massa de matéria seca de haste (MSH, g planta^{-1}), folha (MSF, g planta^{-1}) e vagem (MSV, g planta^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	MSH (g planta^{-1})				MSF (g planta^{-1})				MSV (g planta^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		4,00*				1,64*				10,25*		
Ác. Glutâmico	4,56 bB	4,33 abB	5,39 abA*	4,76	1,66 dB	1,62 bB	2,74 aA*	2,01	13,03 bA*	13,25 aA*	12,63 cA*	12,97
Cisteína	5,18 abA*	5,13 aA*	3,93 cB	4,75	2,05 cB*	2,79 aA*	2,21 bB*	2,35	13,54 bA*	12,07 bB*	11,00 dC	12,20
Fenilalanina	6,01 aA*	4,04 bB	4,60 bcB	4,88	4,13 aA*	2,69 aB*	2,74 aB*	3,18	14,98 aA*	10,72 cC	12,88 bcB*	12,86
Glicina	5,63 bA	3,61 bB	5,35 abA*	4,86	2,07 cB*	2,73 aA*	2,91 aA*	2,57	12,78 bB*	11,78 bC*	14,19 aA*	12,91
Completo	4,36 bB	5,13 aB*	6,22 aA*	5,23	2,86 bA*	2,79 aA*	2,28 bB*	2,64	12,60 bB*	12,07 bB*	13,75 abA*	12,81
Média	5,15	4,45	5,10		2,56	2,52	2,58		13,38	11,98	12,89	
CV (%)		10,05				7,08				3,78		
DMS (T)		0,97				0,37				0,97		
DMS (A)		0,83				0,31				0,83		
DMS (Dunnett)		0,99				0,37				0,99		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância.

A massa de matéria seca de vagens apresentou acréscimos em relação ao controle com todos os tratamentos utilizados, exceto para fenilalanina via foliar e cisteína em TS + Foliar, sendo que o tratamento com fenilalanina em TS proporcionou maior acréscimo (46% superior ao controle). Nas interações, cada aminoácido comportou de forma diferente em cada época avaliada, assim sento dentro do tratamento de sementes o uso de fenilalanina proporcionou maior MSV, em relação aos demais aminoácidos, já na aplicação foliar o glutamato foi mais eficaz e em TS + Foliar glicina e completo proporcionaram maior MSV em relação aos demais aminoácidos. No fator aplicação, o uso de cisteína e fenilalanina mostra melhor resultado quando aplicados em TS, e glicina e completo quando aplicados em TS + Foliar, já o glutamato não difere entre as épocas de aplicação (Tabela 42).

O número de vagens apresentou diferenças com o controle apenas nos tratamentos em que ocorreu o uso de glutamato ou completo em TS, com acréscimo de 14 e 8 vagens por planta, respectivamente, quando comparado ao controle (Tabela 43). O uso de glutamato proporcionou maior número de vagens, em relação aos demais tratamentos em TS, já o tratamento foi mais eficiente quando comparados aos demais aminoácidos na aplicação foliar e em TS + Foliar. No fator aplicação, apenas o glutamato e glicina apresentaram diferenças entre as épocas de aplicação, o uso desses aminoácidos no tratamento de sementes é mais eficaz, quando comparados com as demais épocas.

Todos os tratamentos utilizados repercutiram no aumento da massa de matéria seca total, exceto a cisteína em TS + Foliar. Dentro do tratamento de sementes, a fenilalanina proporcionou maior MST em relação aos demais aminoácidos, na aplicação foliar a cisteína foi mais eficiente e em TS + Foliar o uso do tratamento completo foi mais eficaz, em relação aos outros aminoácidos. Para o fator aplicação, o uso de glutamato, glicina e completo mostram melhores resultados quando aplicados em TS + Foliar, já a cisteína em TS ou foliar e fenilalanina é mais eficiente quando aplicada em TS.

Com relação à produtividade, não houve interação significativa entre os fatores estudados, no entanto todos os tratamentos proporcionaram maior produtividade, em relação ao controle, exceto a fenilalanina na aplicação foliar. Por outro lado, esse mesmo tratamento aplicado em TS proporcionou acréscimos de 1224 kg ha^{-1} na produtividade, em relação ao controle (Tabela 43).

Tabela 43. Número de vagens por planta (NV, vagens planta^{-1}), massa de matéria seca total (MST, g planta^{-1}) e produtividade (P, kg ha^{-1}) aos 100 dias após a semeadura, de plantas de soja submetidas à aplicação de aminoácidos. Patos de Minas, MG. 2015

Tratamento (T)	NV (vagens planta^{-1})				MST (g planta^{-1})				P (kg ha^{-1})			
	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média	Aplicação (A)			Média
	TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar		TS	Foliar	TS + Foliar	
Controle		46,7*				17,5*				2970*		
Glutamato	60,4 aA*	47,2 abB	49,1 abB	52,2	20,7 bB*	20,8 abB*	22,5 bcA*	21,4	3649 *	3711*	3538*	3633 a
Cisteína	47,4 bcA	47,4 abA	49,1 abA	48,0	22,4 bA*	22,2 aA*	18,4 dB	21,0	3791*	3380*	3079	3416 a
Fenilalanina	45,8 cA	45,3 abA	48,6 abA	46,5	27,5 aA*	19,3 bC*	21,9 cB*	22,9	4194*	3002	3606*	3601 a
Glicina	50,9 bcA	42,3 bB	43,4 Bb	45,5	22,7 bAB*	19,6 bB*	23,8 abA*	22,0	3577*	3297*	3972*	3615 a
Completo	54,6 abA*	52,3 aA	51,0 aA	52,6	22,0 bB*	22,2 aB*	24,2 aA*	22,8	3527*	3380*	3850*	3585 a
Média	51,8	46,9	48,2		23,1	20,8	22,2		3748 A	3354 A	3609 A	
CV (%)		7,47				3,77				15,78		
DMS (T)		7,38				1,53				1135		
DMS (A)		6,29				1,30				1068		
DMS (Dunnett)		7,48				1,60				139,9		

Médias seguidas por mesmas letras, maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas, não diferem significativamente entre si, por meio do teste de Tukey a 5% de significância.

* Médias que apresentam diferença significativa com o controle, por meio do teste de Dunnett a 5% de significância

O gráfico de componentes principais mostrado na Figura 23 mostra as variáveis de crescimento e produtividade, a partir desde é possível visualizar que duas variáveis são mais representativas dentre as demais, MSV e produtividade.

A análise da produtividade mostra sua correlação com a MST, MSH e MSF na última coleta, além disso, o tratamento com fenilalanina foi o que mais esteve correlacionado com o incremento da produtividade.

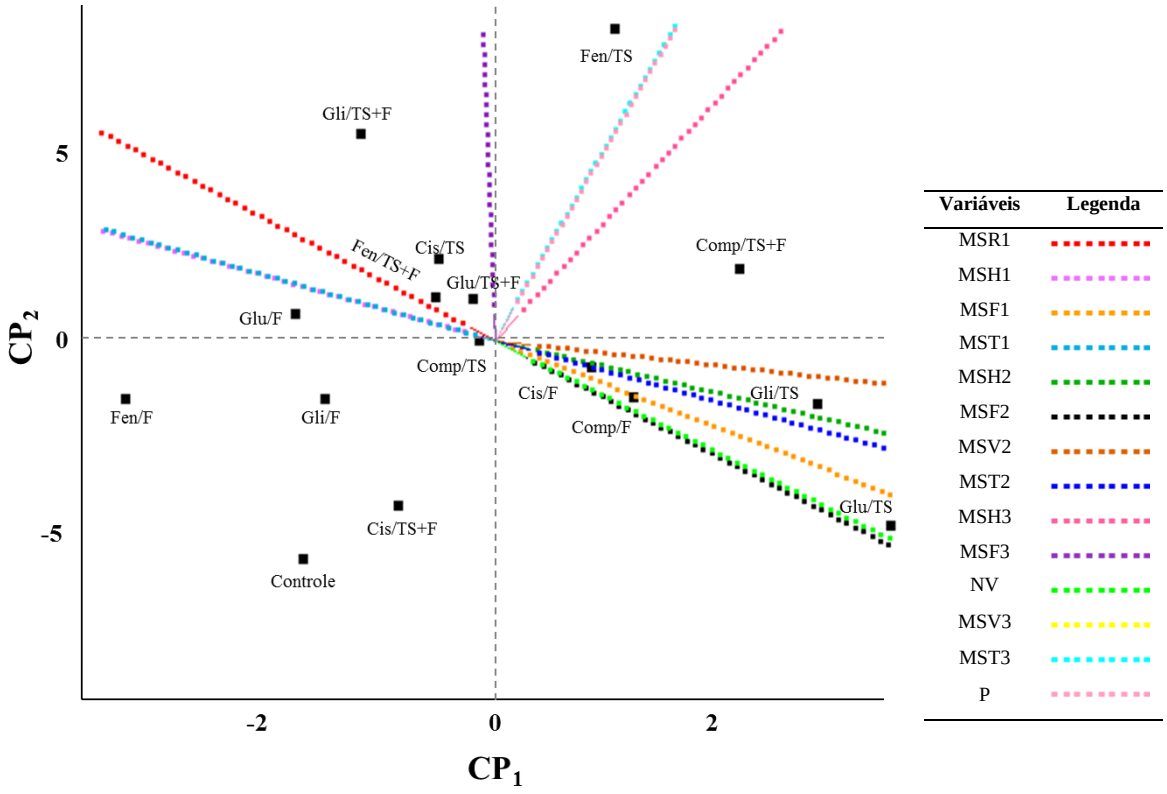

Figura 23. Gráfico "byplot" obtido a partir da análise de componentes principais dos resultados das variáveis (MSR – massa de matéria seca de raiz, MSH – massa de matéria seca de caule, MSF – massa de matéria seca de folhas, MST – massa de matéria seca total, aos 40 DAS (1), 70 DAS (2) e 100 DAS (3), MSV – massa de matéria seca de vagem, NV – número de vagens, NN – número de nós e P – produtividade) avaliadas na cultura da soja submetida à aplicação de aminoácidos: aplicados no tratamento de sementes (Glu/TS - Glutamato, Cis/TS – Cisteína, Fen/TS – Fenilalanina, Gli/TS – Glicina, Comp./TS - Completo), aplicados via foliar (Glu/F - Glutamato, Cis/F – Cisteína, Fen/F – Fenilalanina, Gli/F – Glicina, Comp./F - Completo) e aplicados via tratamento de sementes e foliar (Glu/TS+F - Glutamato, Cis/TS+F – Cisteína, Fen/TS+F – Fenilalanina, Gli/TS+F – Glicina, Comp./TS+F - Completo). Patos de Minas, MG. 2015

5. DISCUSSÃO

5.1. Experimento I: Efeito da aplicação de doses de aminoácidos na cultura da soja

O uso de fenilalanina na dose de 2,9 mg kg^{-1} [semente] proporcionou o melhor resultado em produtividade em relação aos demais tratamentos (Figura 14, Tabela 11). Esse aminoácido atua principalmente na rota de produção de compostos secundários, como flavonoides e lignina, aumentando, portanto, a resistência das plantas (TAIZ; ZEIGER, 2013). Esse efeito também foi verificado por Häusler et al. (2014), os quais afirmam que a fenilalanina pode beneficiar o crescimento e desenvolvimento das plantas, devido ao aumento de resistência. Essa característica foi evidenciada no trabalho, pois a aplicação de fenilalanina incrementou a massa de matéria seca de parte aérea e total das plantas, além de acelerar a emergência, em comparação ao controle. Contudo, não foi evidenciado efeito em doenças devido a baixa pressão na época em que o experimento foi conduzido.

A cisteína também afetou de forma positiva a produtividade das plantas, sendo a dose de 13,8 mg kg^{-1} [semente] a ideal (Figura 13). Esse aminoácido pode atuar diretamente na redução do estresse das plantas por meio da produção de fitoquelatinas, que reduz o estresse provocado pelo excesso de metais nas plantas, e por fazer parte da produção da glutationa, que atua diretamente nos radicais livres (COBBETT, 2000). Além disso, Azarakhsh et al. (2015) demonstraram que a cisteína pode exercer o papel de sinalização em plantas, induzindo o aumento da atividade de enzimas antioxidante como a catalase e ascorbato peroxidase, e a consequente redução da peroxidação lipídica. Este comportamento foi observado no trabalho, pois a aplicação de cisteína em doses próximas a que induziu a maior produtividade, proporcionou maior atividade da das enzimas catalase e peroxidade, além da redução da peroxidação lipídica (Figura 13).

Por outro lado, esse mesmo aminoácido proporcionou maior acúmulo de peróxido de hidrogênio. Este composto possui importante papel de sinalização em plantas, pois pode atuar no processo de abertura e fechamento estomático (MITTLER; BLUMWALD, 2015; SINGH et al., 2016), desenvolvimento de raízes secundárias (MA et al., 2014; SINGH et al., 2016) e desenvolvimento do tubo polínico (SINGH et al., 2016).

Benefícios sobre as características fisiológicas das plantas, também foram observados a partir da aplicação de glutamato nas sementes. De acordo com Walch-Liu e Forde (2007), este aminoácido aumenta o desenvolvimento de raízes secundárias em plantas, o que pode levar a maior absorção de nutrientes e ao consequente incremento na

produtividade. Neste trabalho foi observado efeito do glutamato no acúmulo de massa de matéria seca de raiz (Figura 12C), apesar de não ser observado efeito no acúmulo de massa de matéria seca parte aérea e total. Outra característica do glutamato é que além de ter função chave na produção de outros aminoácidos, também está envolvido na produção de glutationa, que atua de forma direta ou indireta na redução de radicais livres em plantas (GILL; TUTEJA, 2010; REJEB et al., 2014). No entanto, essas afurmações não corroboraram com os resultados encontrados, pois a aplicação de glutamato induziu a maior produção de peróxido de hidrogênio e peroxidação lipídica, apesar dessas características não terem afetado a produtividade.

Por fim, a glicina está envolvida em diversos processos que buscam a redução de estresse na planta, dentre eles está a produção de glicina betaína, um composto que participa da atenuação do estresse da planta, especialmente em condições de estresse salino (DEMIRAL; TURKAN, 2006). Esse mesmo aminoácido tem sido considerado um sinalizador da cascata de respostas quando ocorre a superprodução de radicais livres em plantas, a partir da indução da atividade de enzimas antioxidantes (HU et al., 2012). Isso foi o que ocorreu no presente experimento com aumento da atividade da enzima superóxido dismutase e redução da peroxidação lipídica (Figuras 15H e 15J).

A glicina ainda proporcionou o incremento do teor de proteínas em folhas (Figura 15G), essa característica é bastante favorável, pois o teor de proteína apresenta relação com a produtividade das plantas (FABRE; PLANCHON, 2000), fato observado, pois a dose de 9,6 mg kg^{-1} [semente] proporcionou maior acúmulo de proteína em folhas e maior produtividade (Figura 15M). A correlação entre essas varíaveis foi confirmada por meio da análise estatística (Figura 16), em que se constatou correlação positivare.

O uso de Fipronil + Piraclostrobina + Tiofanato Metílico no tratamento de sementes apresentou resultado diferente do esperado, pois aumentou a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase e catalase, o que levou a redução do teor de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica (Tabela 11). Esses resultados diferiram dos encontrados por Rodrigues (2009) e Lacerda (2014) que observaram que aplicação desse mesmo composto induziu ao aumento do teor de peróxido de hidrogênio e da peroxidação lipídica.

5.2. Experimento II: Avaliação do uso de aminoácidos em plantas de soja cultivadas em condições parcialmente controladas

5.2.1. Metabolismo antioxidante

Os aminoácidos são importantes componentes de sistemas antioxidantes em plantas. A atuação dessas moléculas envolve a redução de radicais livres e osmoproteção (DENISOV; AFANAS'EV, 2005; ASHRAF; FOOLAD, 2007; GILL; TUTEJA, 2010; RENNENBERG; HERSCHBACH, 2014). Além disso, os aminoácidos exercem papel fundamental na sinalização de resposta ao estresse e no metabolismo secundário em plantas (HILDEBRANDT et al., 2015). A glicina atua na resposta ao estresse devido ao fato de fazer parte da formação de glicina betaína, um soluto compatível que atua como osmoprotetor em plantas, especialmente quando submetidas a condições de estresse salino (DEMIRAL; TURKAN, 2006).

De acordo com Hu et al. (2012) a partir da produção de glicina betaína vários processos de sinalização se iniciam nas plantas, como por exemplo, aumento de atividade de enzimas antioxidantes e a consequente redução da peroxidação lipídica. Esses eventos foram observados nesta pesquisa, pois a aplicação de glicina via foliar aumentou a atividade da enzima superóxido dismutase (Tabela 14) o que repercutiu na redução do estresse oxidativo das plantas (Tabela 15). O uso de glicina no tratamento de sementes também repercutiu no aumento da atividade da peroxidase e catalase, o que permite inferir que a aplicação de glicina pode elevar o teor de glicina betaína, que por sua vez atua na sinalização do sistema antioxidante, elevando a atividade das enzimas.

Analisando o espectro de ação antioxidante, a cisteína é considerada um aminoácido fundamental. Pois, pode atuar no metabolismo antioxidante de forma direta por meio da produção de fitoquelatinas, que auxiliam no controle do excesso de metais em plantas, e também estão envolvidas na produção de glutationas, moléculas que atuam na regulação da produção de radicais livres (COBBETT, 2000). Além disso, alguns estudos mostram que a cisteína também atua como sinalizadora para o aumento da atividade de enzimas antioxidantes e redução de peroxidação lipídica (AZARAKHSH et al., 2015).

Azarakhsh et al. (2015) avaliaram os efeitos da aplicação vegetativa e via tratamentos de sementes de doses de cisteína em *Ocimum basilicum* e observaram que a dose de 2,5 mM de cisteína (61850 mg ha^{-1}) promoveu a redução da peroxidação lipídica nas duas épocas de aplicação. O uso desta mesma dose no tratamento de sementes também promoveu o aumento da atividade das enzimas catalase e fenilalanina amônia-liase. No entanto, neste

experimento foi possível obter resultados semelhantes, a partir de doses bem inferiores as utilizadas por Azarakhsh et al. (2015). O uso de cisteína na dose de 123,7 mg ha^{-1}, aplicada via foliar, promoveu o aumento da atividade da catalase (Tabela 14) e redução da peroxidação lipídica (Tabela 15).

Da mesma forma que a glicina e a cisteína atuaram no estresse oxidativo, o uso de fenilalanina também se mostrou promissor. Esse aminoácido esta envolvido em rotas biossintéticas do metabolismo secundário. Diversas substâncias podem ser sintetizadas a partir da fenilalanina, como por exemplo, compostos fenólicos entre eles flavonoides e ligninas. A reação para a produção desses compostos é realizada a partir da enzima fenilalanina amônia liase, que catalisa a fenilalanina, produzindo ácido cinâmico que leva produção de flavonoides ou lignina (TAIZ; ZEIGER, 2013).

A lignina proporciona diversos benefícios para as plantas como a resistência mecânica, o que fortalece o caule e o tecido vascular, o que permite maior crescimento das plantas e favorece a melhor condução de água e sais minerais por meio do xilema (TAIZ; ZEIGER, 2013). Neste trabalho, o uso de fenilalanina aplicada na fase vegetativa repercutiu no aumento da atividade da fenilalanina amônia-liase (Tabela 15), o que mostra, portanto, que o uso desse aminoácido pode ter repercutido de forma direta na melhoria do metabolismo secundário das plantas.

Por outro lado, alguns aminoácidos como o glutamato pode atuar na atenuação do estresse oxidativo de forma indireta por ser precursor de outros aminoácidos como arginina e prolina, que estão relacionados com a redução do estresse da planta (GILL; TUTEJA, 2010; REJEB et al., 2014). Além disso, o glutamato esta envolvido com a produção de glutationa, composta que diminui o estresse da planta por se ligar a alguns radicais livres, estabilizando o seu efeito negativo sobre as plantas, e que também é usado como substrato de algumas enzimas responsáveis pelo metabolismo oxidativo como a glutationa peroxidase e glutationa sintetase (MITTLER et al., 2002; GILL; TUTEJA, 2010). No entanto, apesar destas características benéficas do glutamato, não foi evidenciado a redução do estresse oxidativo avaliado por meio da peroxidação lipídica, embora algumas enzimas importantes do metabolismo oxidativo tenham sido beneficiadas pela aplicação no tratamento de sementes e via foliar desse aminoácido, como a catalase e a PAL (Tabelas 14 e 15). Além disso, o uso desse aminoácido promoveu o acréscimo de H_2O_2 em folhas.

Esse aumento da atividade da enzima catalase pode ter ocorrido devido a outro efeito indireto da aplicação de glutamato. Como já afirmado, esse aminoácido induz a produção de arginina, que por sua vez está envolvida com o metabolismo de poliaminas, substâncias que

podem induzir ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a catalase (SHI et al., 2010; LIU et al. 2015). De acordo com Zhang et al. (2015) as poliaminas também podem promover o aumento da produção de H_2O_2, como o objetivo de incrementar a sinalização nas plantas e induzir a atividade de enzimas antioxidantes.

5.2.2. Metabolismo do nitrogênio

Neste trabalho acredita-se que o uso de aminoácidos aplicados em sementes e em folhas não repercute diretamente na disponibilização de formas de nitrogênio para a planta, no entanto, estas moléculas podem atuar em diferentes processos metabólicos, induzindo assim maior assimilação de nitrogênio pelas plantas.

Desta forma, a aplicação de glutamato em sementes ou em folhas induziu ao maior acúmulo de nitrato e nitrogênio total (somente quando aplicado via sementes) (Tabelas 17 e 18). Esse fato pode ter ocorrido por meio de atuação indireta do glutamato, o uso desse aminoácido proporciona maior desenvolvimento de raízes, o que proporciona maior absorção de nitrogênio. De acordo com Walch-Liu e Forde (2007), o glutamato causa a inibição do crescimento da raiz principal em *Arabidopsis* e o consequente desenvolvimento de raízes secundárias, aumentado a capacidade de absorção de nutrientes pelas plantas.

Outra característica do glutamato é que ele está envolvido em diversas rotas metabólicas nas plantas, dentre elas, a síntese de outros aminoácidos como arginina, prolina, aspartato e glutamina (TAIZ; ZEIGER, 2013). Estes aminoácidos podem afetar o teor de diversos compostos na planta, o que foi evidenciado por Amin et al. (2011). Os autores demostraram que a glutamina em plantas de *Allium cepa* pode levar ao acréscimo de aminoácidos totais, açúcares solúveis além de compostos fenólicos.

O uso de cisteína, fenilalanina e glicina também proporcionou acréscimo no teor de nitrato, aminoácidos e ureídeos em folhas (Tabela 17 e 18), provavelmente este efeito esteja relacionado ao aumento da área de absorção das raízes, promovido pela aplicação desses aminoácidos.

Esses resultados não corroboram com outros estudos que mostram que a partir da aplicação de 1 mM de asparagina, glutamina ou glutamato ocorre a reução de outras formas de nitrogênio na planta, principalmente nitrato, amônio e nitrogênio total (VIDMAR et al., 2000; MILLER et al., 2007). Por outro lado, Nagao et al. (2005) realizaram experimento com aplicação de prolina e inosina em plantas de *Lolium multiflorum* e observaram que esses aminoácidos não alteraram o teor de nitrogênio total em folhas. Outro trabalho mostra que a aplicação de 1mM de glutamina em sementes de *Hordeum vulgare* não alterou o teor de

nitrato nas plantas, no entanto reduziu a atividade da enzima nitrato redutase (FAN et al., 2006).

5.2.3. Desenvolvimento de raízes

A aplicação de aminoácidos promove melhor resultado no desenvolvimento das raízes quando realizada no tratamento de sementes (Tabelas 20 e 21). A aplicação nesse período já pode proporcionar benefícios desde o início da emissão da raiz primária. De todos os aminoácidos avaliados apenas a fenilalanina não repercutiu em incremento no desenvolvimento da raiz. Por outro lado, o glutamato, glicina e cisteína proporcionaram diversos benefícios nos aspectos morfológicos da raiz.

A cisteína pode induzir a formação de raízes indiretamente devido ao fato de atuar no processo fotossintético, o enxofre oriundo deste aminoácido está presente na cadeia transportadora de elétrons dos fotossistemas, desta forma, este aminoácido se torna essencial para a manutenção do metabolismo fotossintético (TAIZ, ZEIGER, 2013). Portanto, é possível que o uso de cisteína tenha incrementado a taxa fotossintética, proporcionando assim maior quantidade de fotoassimilados que foram utilizados para a produção de raízes na planta.

Além disso, a cisteína é um dos primeiros aminoácidos a iniciarem a formação de proteínas de estrutura terciária ou quaternária. As cisteínas fornecem grupos dissulfeto, que são ligações covalentes utilizados na formação e na estabilidade das proteínas (BUCHANAN et al., 2000), estruturas que também podem beneficiar o desenvolvimento de raízes. As proteínas desempenham diversos papeis nas plantas como formação de tecidos, composição celular, formação de enzimas, hormônios, entre outros (TAIZ, ZEIGER, 2013; WESTFAL et al., 2013).

Por outro lado, o glutamato atua como um sinalizador nas raízes, inibindo o desenvolvimento da raiz principal e proporcionando o desenvolvimento de raízes laterais, fato que foi observado nesse experimento. Características semelhantes foram observadas em *Arabidopsis* a partir da aplicação exógena de glutamato em concentrações entre 1 e 50 µM proporcionaram redução no desenvolvimento da raiz principal em relação ao controle (WALCH-LIU; FORDE, 2007). Essa redução ocorre devido à inibição da divisão celular do meristema da apical da raiz principal e, as demais regiões da raiz não são sensíveis ao glutamato, o que proporciona incremento no desenvolvimento de raízes secundárias (FORD, 2013). Estes mesmos autores afirmam que esses efeitos somente são observados em L-glutamato (formula utilizada no presente experimento) e não são evidenciados no isômero D-glutamato (WALCH-LIU; FORDE, 2007).

O aumento da área de absorção das raízes proporcionado pelo glutamato neste experimento, além de favorecer a absorção de nutrientes também parece favorecer o aumento da área de contato para que ocorra a nodulação das plantas. Essa característica é extremamente favorável, pois 50-60% da demanda de nitrogênio requerida pela cultura da soja é obtido por meio da fixação biológica (SALVGLUIOTTI et al., 2008).

A glicina proporcionou aumento do comprimento da raiz principal, área projetada pela raiz, volume e número de raízes laterais, especialmente após os 40 DAS. Estes benefícios podem ser explicados pelo fato da glicina fazer parte da estrutura de diversas proteínas, principalmente aquelas ligadas a formação da parede celular, cerca de 70% dessas proteínas é formada por glicina (BUCHANAN et al., 2000, RINGli et al., 2001).

Por outro lado, a glicina também está envolvida em uma das rotas de produção da glicina betaína, um composto que auxilia na atenuação de possíveis estresses salinos ou por temperatura (SAKAMOTO; MURATA, 2002; ASHRAF; FOOLAD, 2007; TAIZ; ZEIGER, 2013). Além disso, a glicina betaína possui a capacidade de estabilizar estruturas de proteínas e de enzimas e proteger a integridade da membrana celular (SAKAMOTO; MURATA, 2002), características que também podem beneficiar o desenvolvimento de raízes.

O uso de fenilalanina não mostrou benefícios do desenvolvimento das raízes, o efeito desse aminoácido parece estar mais relacionado com rotas relacionadas ao metabolismo secundário como a produção de flavonoides e lignina.

A aplicação de todos os aminoácidos em conjunto não proporciona efeito acumulativo dos benefícios proporcionados por cada um dos aminoácidos. É provável que o uso destes ao mesmo tempo proporcione inibição de atuação entre eles, ou então um efeito acumulativo que causa respostas negativas na planta. Em estudo realizado por Ford (2013) foi demostrado que o uso de diversos aminoácidos associados ao glutamato proporcionou inibição no crescimento de raízes primárias e secundárias em *Arabidopsis*, efeito que não era observado quando os aminoácidos foram aplicados de forma isolada. Aminoácidos como aspartato, glicina, isoleucina, prolina, serina, treonina, triptofano e valina tiveram seus efeitos suprimidos na presença de glutamato. No entanto, esse mesmo experimento mostrou que outros aminoácidos como a arginina, cisteína, metionina e fenilalanina não apresentaram efeitos negativos quando aplicados juntamente com o glutamato.

Por outro lado, alguns benefícios no desenvolvimento de raízes (número de raízes laterais e número de nós) foram observados quando a aplicação dos aminoácidos em conjunto foi realizada diretamente em folhas, possivelmente a concentração para esse tipo de aplicação

não proporcionou efeito inibitório entre os aminoácidos como ocorreu no tratamento de sementes.

5.2.4. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade

No geral o aumento no desenvolvimento de raízes proporcionado pelos aminoácidos ocasionou maior acúmulo de massa de matéria seca de raízes (Tabela 24). O aumento da área de absorção proporcionado pelas raízes também pode ter repercutido em maior taxa de absorção de nutrientes o que leva ao maior desenvolvimento da parte aérea, verificada por meio do acúmulo de massa de matéria seca de folhas. Essa característica é fundamental para as plantas, pois incrementa a área fotossintética, o que leva a maior produção de fotoassimilados, que poderão ser utilizados durante a fase de enchimento de grãos, levando, portanto, ao aumento de produtividade (BOARD; MODALE, 2005; SOARES, 2014).

Nagao et al. (2005) observaram que a aplicação foliar de prolina + lisina nas doses de 80 e 40 mg L^{-1} proporcionou o acréscimo de massa fresca total em *Lolium multiflorum*. Os benefícios do incremento da massa de matéria seca sobre a produtividade foram observados nesse experimento, em que foi mostrado que o acúmulo de massa de matéria seca apresentou correlação alta e positiva com a produtividade.

A aplicação de cisteína no tratamento de sementes repercutiu na atenuação do estresse da planta, maior desenvolvimento de raízes, aumento da assimilação de nitrogênio e o consequente acréscimo de acúmulo de massa de matéria seca. Todas essas características levaram ao incremento da produtividade das plantas. Os efeitos positivos da redução de estresse proporcionado pela aplicação no tratamento de sementes de fenilalanina, além do aumento do teor de formas de nitrogênio na planta também repercutiu no aumento da produtividade.

Os diversos benefícios proporcionados pelo glutamato e glicina não foram suficientes para incrementar a produtividade final das plantas. Por outro lado, a aplicação foliar de todos os aminoácidos em conjunto, além de induzir a melhoria das características morfológicas de raízes e incrementar a massa de matéria seca, proporcionou também aumento da produtividade das plantas. Em experimento realizado com *Vicia faba* o uso de mistura de aminoácidos a partir de produto comercial (Ácido aspártico, serina, glutamato, prolina, lisina, metionina, isoleucina, leucina, tirosina, fenilalanina, histidina e arginina na dose de 1500 mg L^{-1}), aplicados via foliar, proporcionou acréscimo na massa de matéria seca das plantas, além de aumentar o teor de carboidratos, polissacarídeos e produtividade das plantas (SADAK et al., 2014).

Por outro lado, Soares et al. (2016) verificaram que a aplicação via sementes de mistura de aminoácidos (glutamato, cisteína, glicina, arginina e metionina, nas doses de 31, 30, 34, 42 e 37 mg kg^{-1} de sementes, respectivamente) ocasionou aumento da produtividade em plantas de soja cultivadas em campo. Essa característica não foi observada nesse experimento, provavelmente devidos às condições experimentais, em que as plantas foram cultivadas em vasos contendo areia, o que pode ter levado ao efeito negativo de vários aminoácidos aplicados ao mesmo tempo, fato que não é observado em campo devido às diversas reações que podem ocorrer no solo.

5.3. Experimento III: Uso de aminoácidos e seu efeito em plantas de soja cultivadas em campo

5.3.1. Metabolismo antioxidante

O uso de glicina apresentou melhor efeito quando a aplicação desse aminoácido foi realizada nas folhas (Tabela 29), semelhante ao observado com experimento em casa de vegetação. Esse aminoácido proporciona diversos benefícios em plantas como a produção de glicina betaína, já discutida anteriormente, que atua como molécula sinalizadora para atividade de enzimas antioxidantes e a consequente redução do estresse oxidativo (HU et al., 2012). Por outro lado, a glicina também está envolvida na rota de produção de glioxilato, composto que pode reduzir o teor de peróxido de hidrogênio em plantas, o que leva a redução da peroxidação lipídica (ALHASAWI et al., 2015). Todas essas características ocorreram no presente experimento a partir da aplicação foliar de glicina (Tabela 31). Além disso, o glioxilato pode produzir NADPH e ATP, moedas energéticas utilizadas em diversos processos metabólicos (ALHASAWI et al., 2015).

A aplicação foliar de todos os aminoácidos proporcionou acréscimos na atividade da polifenoloxidase (PFO) (Tabela 30), esta enzima possui importante papel em plantas, pois proporciona resistência ao ataque de patógenos e doenças (BOECKX et al., 2015). De acordo com Mayer (2006) a polifenoloxidase possui resíduos de cisteína e histidina na sua estrutura. Desta forma a aplicação desses aminoácidos pode repercutir no aumento da produção da enzima, além disso, a aplicação de aminoácidos como o glutamato também pode incrementar a formação da enzima de forma indireta, pois a histidina é sintetizada a partir desse aminoácido.

Tem sido relatado também que a polifenoloxidase pode exercer uma relação direta com a fotossíntese, pois auxilia na manutenção da homeostase do sistema. Boeckx et al.

(2015) afirmam que esta enzima realiza a oxirredução de dinofenois em quininas, compostos benéficos para o fotossistema, além disso, durante esse processo, a PFO retira o excesso de O_2 do sistema, evitando a possível formação de O_2^-.

Outro efeito indireto da aplicação do glutamato pode ter ocorrido quando o mesmo aumentou a atividade da fenilalanina amônia-liase (PAL) (Tabela 30), pois o glutamato é precursor da arginina, e este aminoácido pode incrementar a atividade da PAL (ZHENG et al., 2011). De acordo com (KUZNETSOV et al., 2006), esse processo ocorre porque a arginina é precursora de poliaminas, compostos que podem atuar na sinalização de defesa em plantas. Além disso, as poliaminas podem induzir o aumento da atividade de enzimas antioxidantes (SHI et al., 2010; LIU et al., 2015), isso explica o fato da aplicação de glutamato ter incrementado a atividade da superóxido dismutase e catalase, devido a seu efeito indireto.

A cisteína também está envolvida na rota de produção de poliaminas (BUCHANAN et al., 2000), desta forma, a aplicação desse aminoácido pode elevar a atividade de enzimas antioxidantes e PAL. Esse fato foi observado principalmente quando a aplicação desse aminoácido ocorreu em TS + Foliar, o que levou a acréscimos na atividade da catalase e PAL.

Por outro lado, a fenilalanina atua diretamente na atividade da PAL, pois esse aminoácido é utilizado como substrato da enzima para a produção de ácido cinâmico, que por sua vez leva a produção de lignina, flavonoides e taninos (HEIM et al., 2002; DENISOV; AFANAS'EV, 2005). O efeito desse aminoácido foi mais evidente quando aplicado diretamente nas folhas ou em TS + Foliar.

A aplicação de todos os aminoácidos em conjunto proporcionou incremento da atividade de PAL e PFO em todas as épocas de aplicação, evidenciando que pode ter ocorrido efeito acumulativo da ação desses aminoácidos, uma vez que, quando esses aminoácidos foram aplicados de forma isolada no tratamento de semente, os mesmos não afetaram o metabolismo oxidativo.

5.3.2. Metabolismo do nitrogênio

O efeito positivo da aplicação dos aminoácidos sobre a atividade da enzima nitrato redutase foi evidenciado somente depois de 30 dias após a aplicação dos tratamentos (Tabela 33). Desta forma é possível inferir que é necessário um período maior de dias para que os efeitos indiretos da aplicação dos aminoácidos afetem nitrato redutase. Por exemplo, o aumento da área de absorção radicular, proporcionado pelos aminoácidos, leva a maior absorção de nutrientes, e afeta a parte aérea, por meio do aumento da área foliar, o que incrementa a taxa fotossintética da planta. A enzima nitrato redutase depende diretamente da

energia proveniente da fotossíntese [NAD(P)H], desta forma, o bom *status* fisiológico da planta repercute no aumento da atividade da enzima (MARSCHNER, 2012).

Todos os aminoácidos proporcionaram aumento da enzima nitrato redutase, o que pode ser explicado por esses efeitos indiretos como os citados anteriormente, como também pela atuação direta no sistema fotossintético, como é o caso da cisteína, que está presente na cadeia transportadora de elétrons, portanto, é possível que o uso desse aminoácido atue na regulação da fotossíntese, o que leva a maior produção de energia que pode ser usada na atividade da enzima nitrato redutase.

O incremento da atividade da enzima nitrato redutase aumenta o teor de nitrito na folha, que pode sofrer ação da nitrito redutase que produz amônio, que por sua vez pode ser incorporado em aminoácidos (TAIZ; ZEIGER, 2013), o que explica o aumento do teor de aminoácidos a partir da aplicação de aminoácidos nas sementes ou nas folhas (Tabela 35).

Alguns aminoácidos como a cisteína e fenilalanina elevaram a atividade da urease em plantas. A urease realiza a conversão de ureia em amônia, que rapidamente é convertido a amônio. A produção dessa ureia pode ocorrer naturalmente em plantas, a partir de diversos compostos, dentre eles a arginina, durante a produção da ornitina, e a partir do ácido alantoico, oriundo da fixação biológica (MARSCHNER, 2012). O uso cisteína e fenilalanina repercutiu no incremento da fixação biológica, o que pode ter proporcionado aumento de ácido alantóico nas folhas, este composto além de ser incorporado em aminoácidos, pode ter assumido a rota alternativa, com a consequente produção de ureia e incremento da atividade da urease.

O teor de ureídeos foi incrementado com a aplicação de todos os tratamentos, o que permite inferir que houve maior fixação biológica nas plantas. Efeito que pode ter sido proporcionado a partir da maior área radicular proporcionada pelos aminoácidos, o que significa maior área de contato para a nodulação. Alguns aminoácidos, como o glutamato, repercutem diretamente no desenvolvimento de raízes, por meio da redução do desenvolvimento da raiz principal e aumento de raízes secundárias (WALCH-LIU; FORDE 2007). Por outro lado, Horváth et al. (2015) demonstram que a capacidade de nodulação em fabáceas (*Medicago truncatula*) está diretamente relacionada à presença de resíduos de cisteína, que atuam na formação dos nódulos.

5.3.3. Acúmulo de massa de matéria seca e produtividade

O efeito positivo da aplicação somente foi observado em campo a partir dos 40 dias após a semeadura, o que corresponde a sete dias após a aplicação foliar (Tabela 38). O

período de tempo necessário para o processo de sinalização proporcionado pelos aminoácidos e a resposta das plantas pode ser maior em campo, em comparação com a casa de vegetação, onde o efeito foi observado já nos primeiros dias após a emergência.

Esse processo de sinalização é reforçado por Häusler et al. (2014), que afirmam que alguns aminoácidos como serina, glutamato e fenilalanina podem atuar em diferentes processos nas plantas, como por exemplo, na resistência a estresses bióticos e abióticos, além de induzirem o crescimento e desenvolvimento de plantas.

Após certo período as plantas passaram a apresentar respostas positivas a aplicação de aminoácidos como aumento do metabolismo antioxidante, de enzimas de resistência como polifenoloxidase e fenilalanina amônia-liase, maior assimilação de nitrogênio e o consequente incremento em massa de matéria seca. Todas essas características repercutiram na maior produtividade das plantas, em que todos os tratamentos, exceto fenilalanina via foliar, proporcionaram maior produtividade em relação ao controle.

Esses resultados corroboram com Soares et al. (2016) que verificaram que a aplicação via sementes de mistura de aminoácidos (glutamato, cisteína, glicina, arginina e metionina, nas doses de 31, 30, 34, 42 e 37 mg kg^{-1} de sementes, respectivamente) ocasionou aumento da produtividade em plantas de soja cultivadas em campo.

5.4. Considerações finais

A partir da aplicação de glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina, foram observadas algumas respostas fisiológicas que merecem destaque. Além disso, a época de aplicação dos tratamentos também proporcionou diferentes respostas fisiológicas. Desta forma, os principais efeitos de cada aminoácido serão abordados a seguir:

(i) Glutamato: Este aminoácido proporcionou melhor resposta no experimento de campo, atuando na sinalização de diferentes processos. Foi observado incremento na assimilação de nitrogênio nas plantas em todas as épocas de aplicação desse aminoácido (TS, Foliar ou TS+Foliar). Além disso, o glutamato apresenta efeito positivo no aumento da resistência das plantas contra possíveis condições de estresse, especialmente por induzir o aumento da atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase. As figuras 24 e 25 resumem os principais de efeitos da aplicação de glutamato nas plantas, por meio do tratamento de sementes e TS + Foliar, respectivamente.

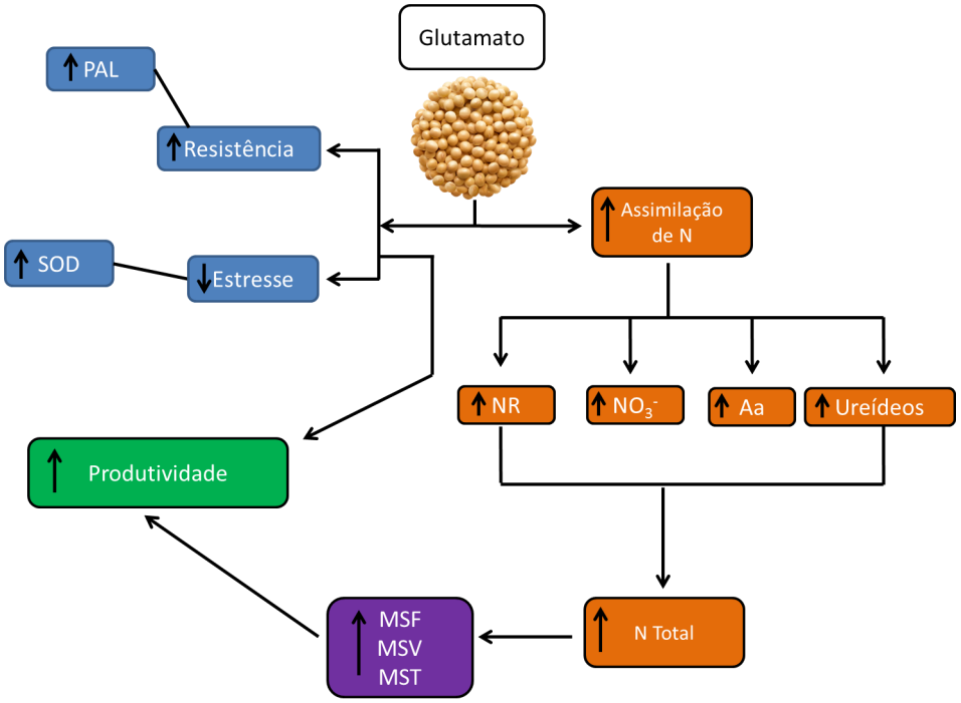

Figura 24. Modelo de sinalização do glutamato em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.

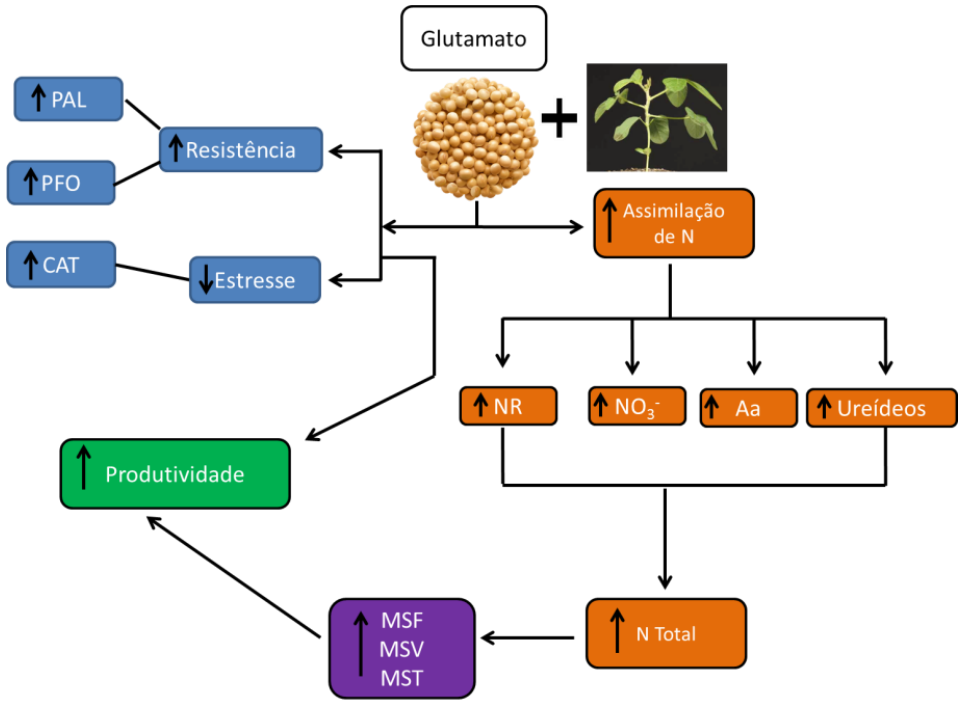

Figura 25. Modelo de sinalização do glutamato em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido em TS + Foliar.

(ii) Cisteína: O efeito da cisteína foi mais eficaz quando a aplicação desse aminoácido ocorreu no tratamento de sementes, tanto em condições de campo, quando em casa de vegetação. A

cisteína proporcionou efeito principalmente no desenvolvimento de raízes (Figura 26). O que pode ter repercutido na maior absorção e assimilação de nitrogênio, características observadas em casa de vegetação (Figura 26) e em campo (Figura 27). Além disso, esse aminoácido também proporcionou aumento da resistência das plantas, por meio do incremento da atividade de enzimas anti estresse como a superóxido dismutase e fenilalanina amônia-liase.

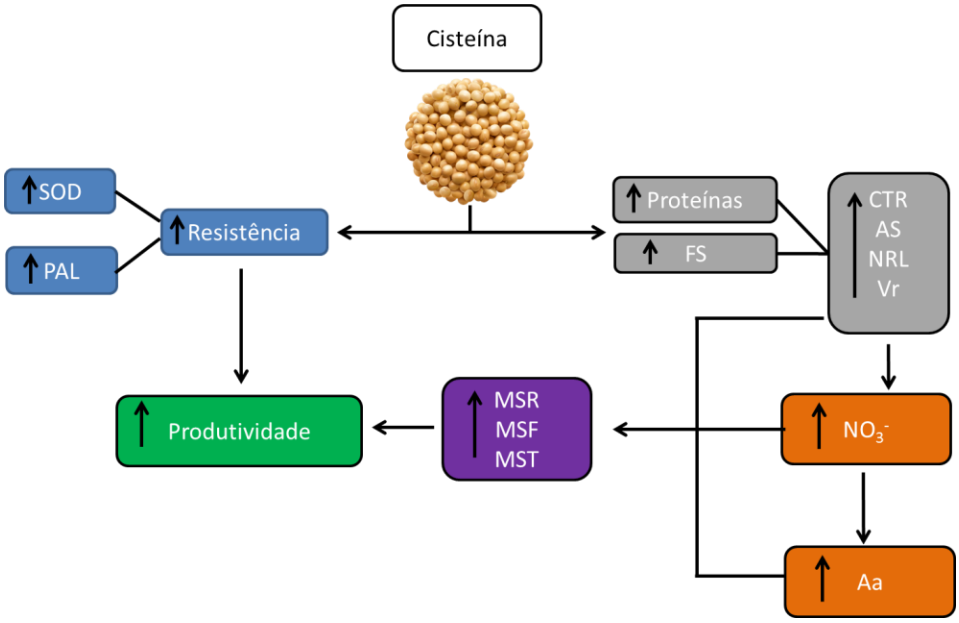

Figura 26. Modelo de sinalização da cisteína em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.

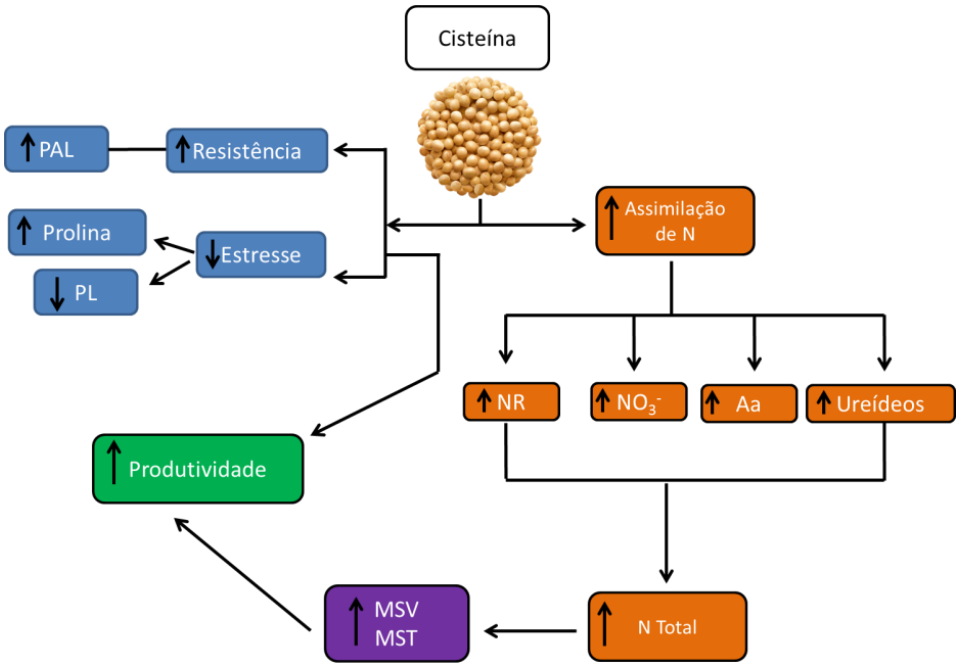

Figura 27. Modelo de sinalização da cisteína em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.

(ii) Fenilalanina: Este aminoácido foi o que mais proporcionou efeito em diferentes variáveis, o que repercutiu na maior produtividade, em relação aos demais aminoácidos. Além disso, a aplicação de fenilalanina no tratamento de sementes foi à forma mais eficiente, embora em condições de campo também tenham sido observados benefícios quando aplicação foi realizada no TS + Foliar. A fenilalanina proporcionou maior assimilação de nitrogênio o que levou ao maior acúmulo de massa de matéria seca e produtividade (Figuras 28 e 29). Outra característica relevante é que esse aminoácido induziu ao aumento da atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (Figura 28) e catalase (Figura 29).

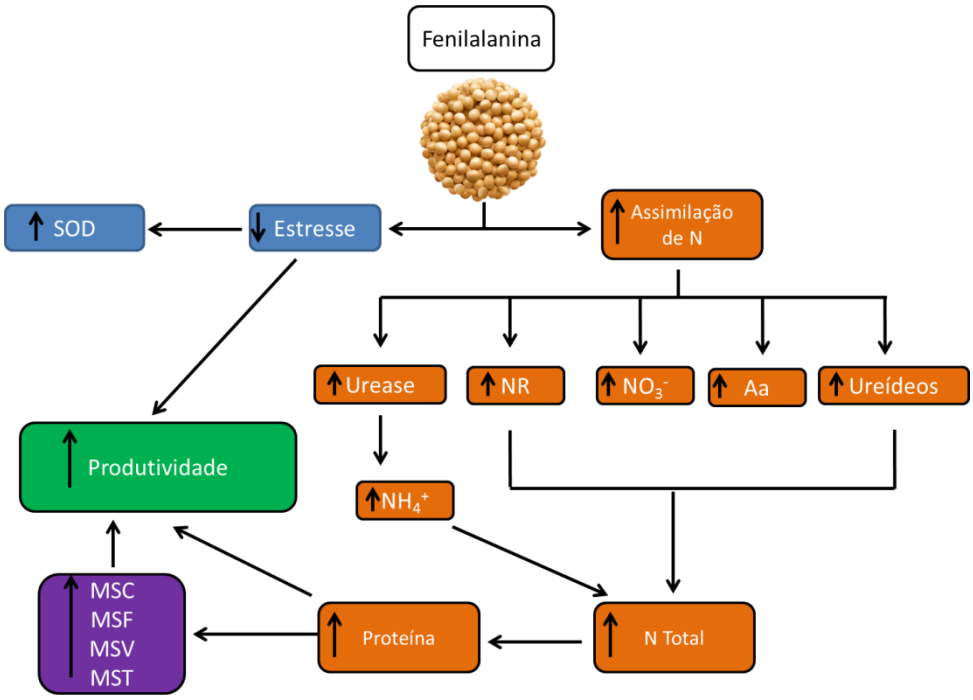

Figura 28. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.

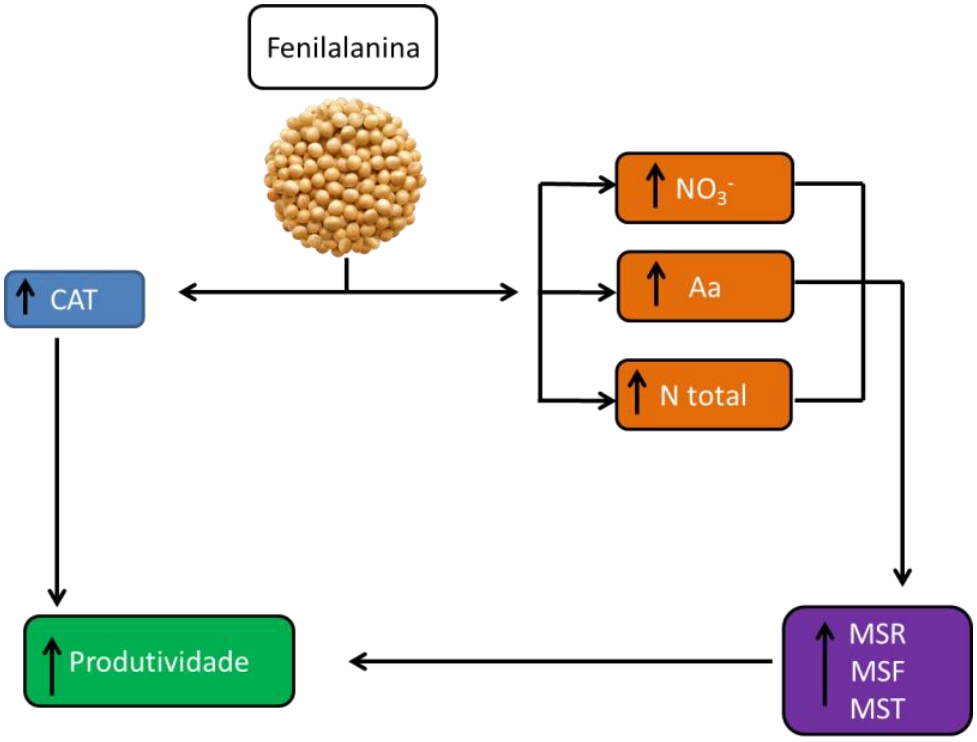

Figura 29. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes.

O uso de fenilalanina aplicada no tratamento de sementes e via foliar também proporcionou efeito semelhante ao tratamento somente em TS. Ocorreu aumento da assimilação de nitrogênio, maior acúmulo de massa de matéria seca e maior produtividade (Figura 30).

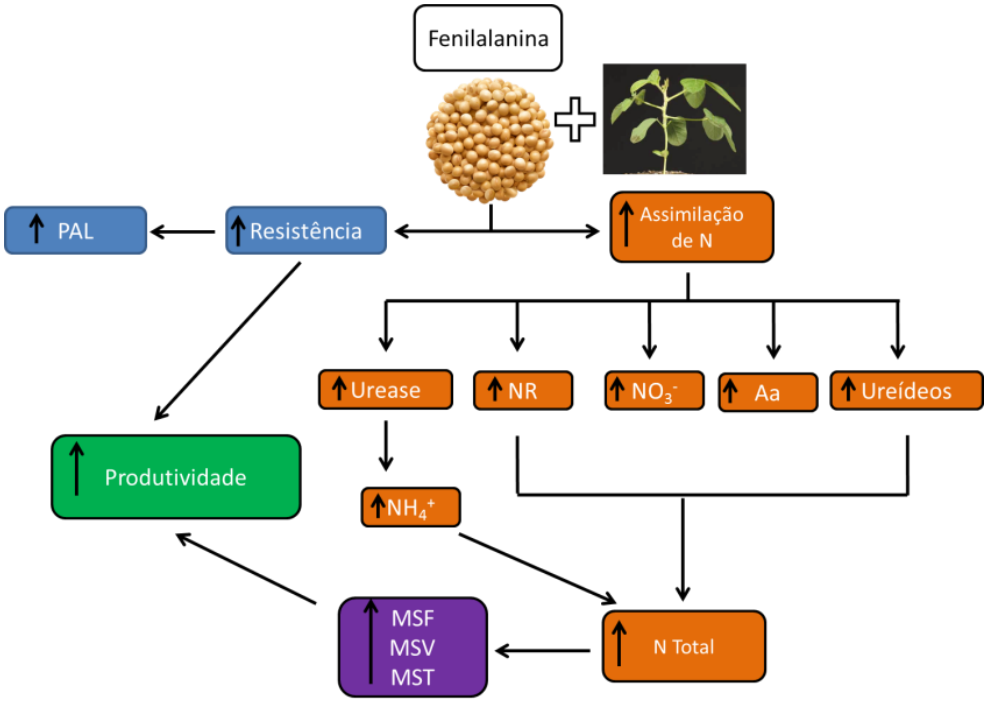

Figura 30. Modelo de sinalização de fenilalanina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes + via foliar.

(ii) Glicina: Não foi evidenciado efeito positivo da glicina em condições de casa de vegetação. No entanto, a campo vários parâmetros fisiológicos foram beneficiados a partir da aplicação desse aminoácido, quando realizada no tratamento de sementes + foliar (Figura 31). Assim como nos demais aminoácidos, o efeito da glicina repercutiu no aumento da assimilação de nitrogênio, acúmulo de massa de matéria seca, além da redução do estresse.

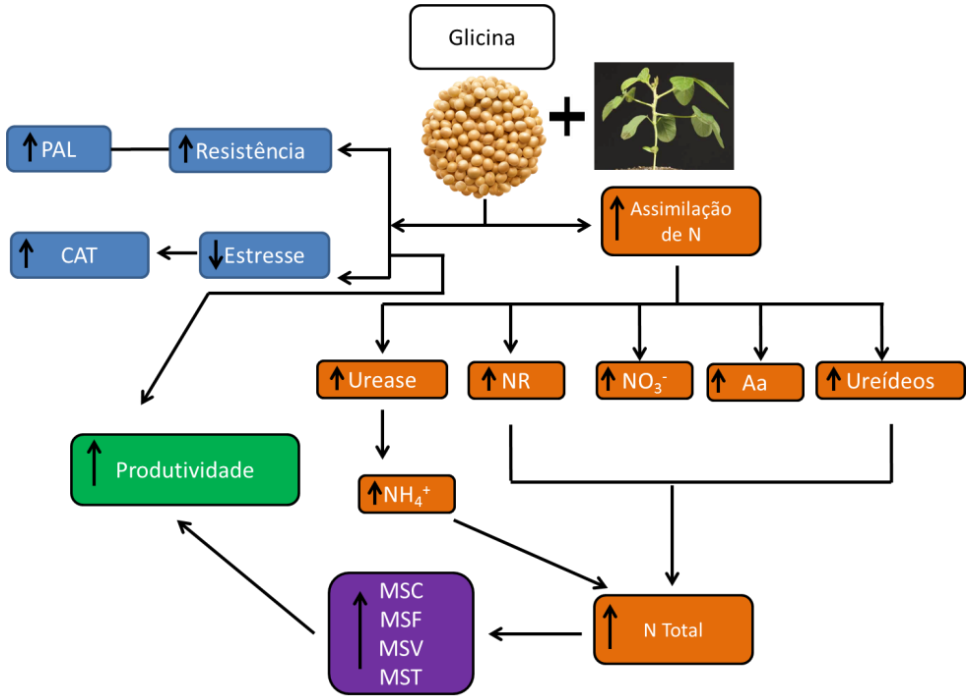

Figura 31. Modelo de sinalização da glicina em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido no tratamento de sementes + via foliar.

(ii) Completo: O uso de todos os aminoácidos em associação nem sempre proporciona efeito acumulativo, principalmente quando esse tratamento é aplicado diretamente nas sementes. No entanto, a aplicação do tratamento completo via foliar repercutiu em diversos efeitos positivos em campo e em casa de vegetação (Figuras 32 e 33). Em condições de campo a aplicação desse tratamento via sementes + foliar, também proporcionou os mesmos benefícios evidenciados na aplicação foliar (Figura 34).

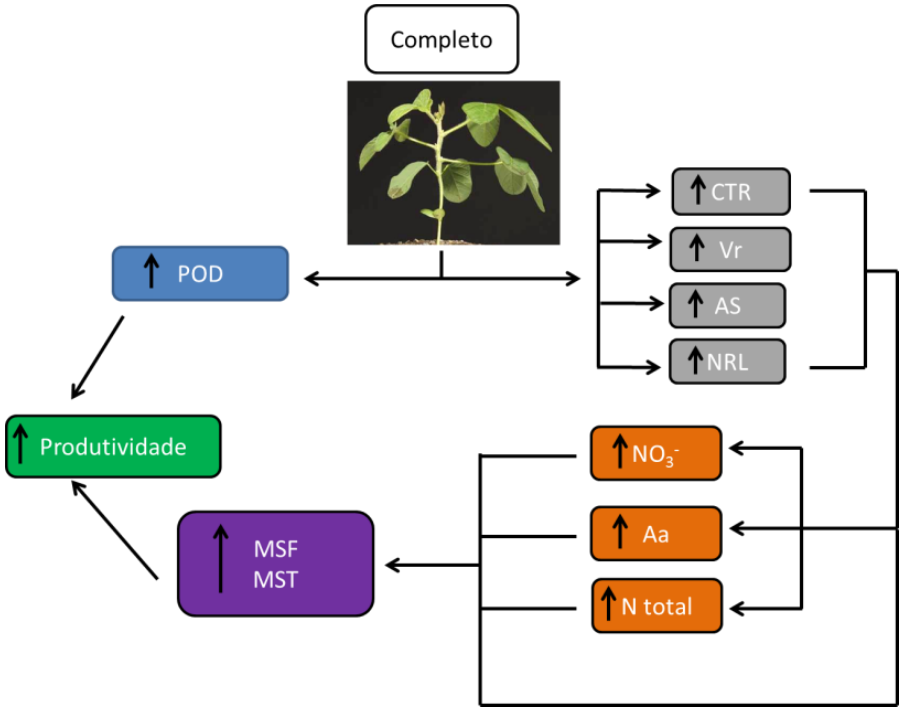

Figura 32. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em casa de vegetação, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar.

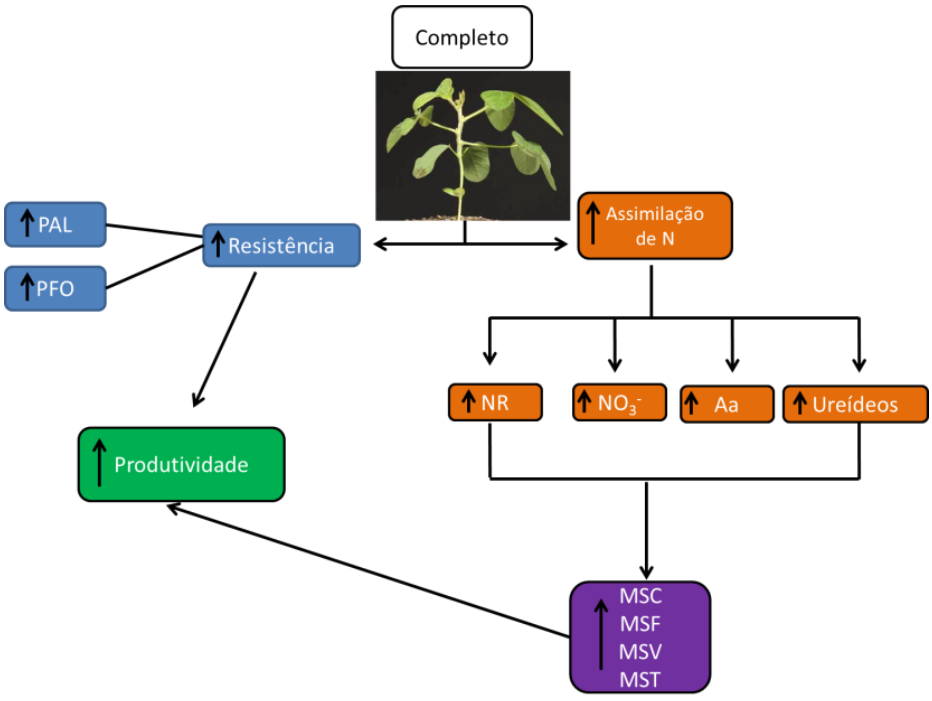

Figura 33. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar.

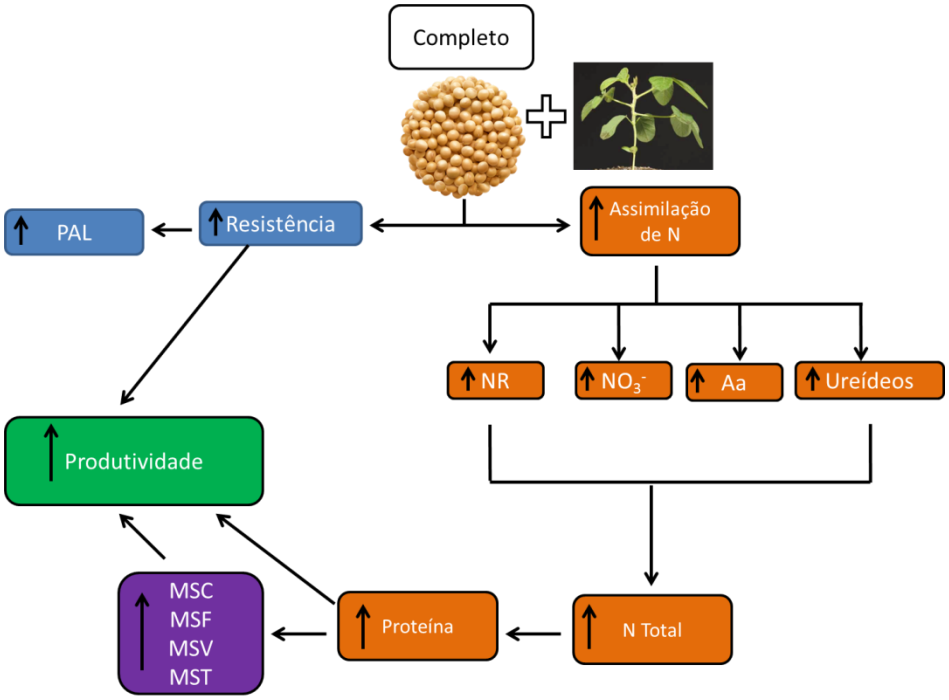

Figura 34. Modelo de sinalização do tratamento completo em diferentes processos fisiológicos de plantas conduzidas em campo, submetidas à aplicação do aminoácido via foliar.

Vale ressaltar que os aminoácidos apresentam efeito de sinalização e não funcionam como fonte nitrogênio, uma vez que as doses aplicadas representam concentrações extremamente baixas de nitrogênio, assim como demostrado na Tabela 3. Mesmo o tratamento completo representa apenas 45 mg de nitrogênio ha^{-1}. Desta forma, foi evidenciada a importância do papel de sinalização desempenhado pelos aminoácidos nas plantas, pois a aplicação desses tratamentos repercutiu no incremento de diversas variáveis fisiológicas.

Com relação à produtividade, foram observados efeitos expressivos no incremento da produtividade, a partir da aplicação de aminoácidos. No entanto, é importante salientar que esses resultados foram obtidos em condições experimentais, possivelmente em grandes áreas, o efeito seja menos expressivo. Além disso, no período em que foi conduzindo o experimento de campo, as condições climáticas não foram tão favoráveis para a cultura da soja (Figura 11). Foram mensurados apenas 760 mm de precipitação ao longo da condução do experimento, no entanto a distribuição foi muito irregular, sendo 543 mm registrados no período vegetativo e somente 217 mm de precipitação no período reprodutivo. Essas condições podem ter caracterizado um período de estresse para as plantas, especialmente no período reprodutivo. Como os aminoácidos aplicados atuam principalmente em condições estressantes, o ambiente se tornou favorável para sua atuação, o que proporcionou efeito expressivo dos aminoácidos nas variáveis fisiológicas, incluindo redução do estresse das plantas, o que levou a maior produtividade das plantas com aplicação de aminoácidos.

Sugere-se que mais trabalhos sejam desenvolvidos em outras épocas de cultivo, de forma a abranger o período recomendado para a cultura. Além disso, é importante realizar trabalhos com plantas de diferentes cultivares e hábitos de crescimento, com o intuito de avaliar o efeito dos aminoácidos nessas situações.

6. CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

(i) Definição da melhor dose para aplicação no tratamento de sementes

As melhores doses para aplicação dos aminoácidos no tratamento de sementes são: glutamato - 12 mg kg^{-1} [semente]; fenilalanina - 3 mg kg^{-1} [semente]; cisteína - 12 mg kg^{-1} [semente] e glicina - 9 mg kg^{-1} [semente] (Glicina).

(ii) Performance da aplicação no tratamento de sementes e via foliar

(a) a aplicação de glutamato, cisteína, fenilalanina e glicina apresenta melhor efeito quando realizada no tratamento de sementes; e

(b) o tratamento completo é mais eficaz quando a aplicação é realizada diretamente nas folhas.

(iii) Avaliação do efeito da aplicação no metabolismo oxidativo

Os aminoácidos apresentam efeito no metabolismo antioxidante por meio do aumento da atividade de enzimas anti-estresse e enzimas de resistência.

(iv) Determinar o efeito da aplicação no acúmulo de nitrogênio nas folhas, na produção de massa de matéria seca, no desenvolvimento de raiz e na produtividade de grãos

(a) Todos os aminoácidos repercutiram no incremento da assimilação de nitrogênio e massa de matéria seca;

(b) A aplicação de glutamato, cisteína, fenilalanina ou glicina no tratamento de sementes, e dos aminoácidos em associação via foliar aumenta a produtividade em plantas de soja.

REFERÊNCIAS

ABDEL-MAWGOUD, A.M.R; EL-BASSIOUNY, A.M.; GHONAME, A.; ABOU-HUSSEIN, S.D. Foliar Application of Amino Acids and Micronutrients Enhance Performance of Green Bean Crop under Newly Reclaimed Land Conditions. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Pakistan, v.5, n.6, p.51-55, 2011.

ALEXIEVA, V.; SERGIEV, I.; MAPELLI, S.; KARANOV, E. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v.24, p.1337-1344, 2001.

ALHASAWI, A.; CASTONGUAY, Z.; APPANNA, N.D.; AUGER, C.; APPANNA, V.D. Glycine metabolism and anti-oxidative defence mechanisms in *Pseudomonas fluorescens*. **Microbiological Research**, Jena, v.171, p.26-31, 2015.

ASADA, K. the water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, Palo Alto, v.50, p.601-639, 1999.

ASHRAF, M.; FOOLAD, M.R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.59, p.206-216, 2007.

AZARAKHSH, M.R.; ASRAR, Z.; MANSOURI, H. Effects of seed and vegetative stage cysteine treatments on oxidative stress response molecules and enzymes in *Ocimum basilicum* L. under cobalt stress. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**, Weinheim, v.15, n.3, p.651-662, 2015.

BAKER, A.; SPRENT, J.I.; WILSON, J. Effects of sodium chloride and mycorhizal infection on the growth and nitrogen fixation of *Prosopis juliflora*. **Symbiosis,** Philadelphia, v.19, n.1, p. 39-51, 1995.

BATES, L.; WALDREN, R.P.; TEARE, I.D. Rapid determination of free proline for water-stress studies. **Plant Soil**, The Hague, v.39, p.205-207, 1973.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, New York, v.44, n.1, p.276-287, 1971.

BOARD, J.E.; MODALI, H. Dry matter accumulation predictors for optimal yield in soybean. **Crop Science**, Madison, v.45, p.1790-1799, 2005.

BOECKX, T.; WINTERS, A.L.; WEBB, K.J.; KINGSTON-SMITH, A.H. Polyphenol oxidase in leaves; is there any significance to the chloroplastic localization? **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, p.1-12, 2015.

BOUMA, T.J.; NIELSON, K.L.; KOUTSTAAL, B.A.S. Sample preparation and scanning protocol for computerized analysis of root length and diameter. **Plant Soil**, The Hague, v.218, p.185-196, 2000.

BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-254, 1976.

BRADY, N.C. Organic matter of mineral soils. In: BUCKMAN, H.O.; BRADY, N.C. (Ed.) **The nature and properties of soils.** Macmillan Publishing Co., New York, p.137-163, 1974.

BRADY, S.M.; ORLANDO, D.A.;, LEE, J.Y.; WANG, J.Y.; KOCH, J.; DINNENY, J.R.; MACE, D.; OHLER, U.; BENFEY, P.N. A high-resolution root spatiotemporal mapreveals dominant expression patterns. **Science**, Washington, v.318, p.801-806, 2007.

BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry and molecular biology of plants.** Maryland: American society of Plant physiologists, 2000.1367p.

CARVALHO, K.; DE CAMPOS, M.K.F.; DOMINGUES, D.S.; PEREIRA, L.F.P.; VIEIRA, L.G.E. The accumulation of endogenous proline induces changes in gene expression of several antioxidant enzymes in leaves of transgenic Swingle citrumelo. **Molecular Biology Report**, New York, v.40, p.3269-3279, 2013.

CATALDO, D.A.; HAROON, M.; SCHRADER, L.E.; YOUNGS, V.L. Rapid colorimetric determination of nitrate in plant tissue by nitration of salicylic acid. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v.6, p.71-80, 1975.

CHALOT, M.; JAVELLE, A.; BLAUDEZ, D.; LAMBILLIOTE, R.; COOKE, R.; SENTENAC, H.; WIPF, D.; BOTTON, B. An update on nutrient transport processes in ectomycorrhizas. **Plant and Soil**, The Hague, v.244, p.165-175, 2002.

COBBETT, C.S. Phytochelatin biosynthesis and function in heavy-metal detoxification. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v.3, n.3, p.211-216, 2000.

COLLA, G.; ROUPHAEL, Y.; CANAGUIER, R.; SVECOVA, E.; CARDARELLI, M.T. Biostimulant action of a plant-derived protein hydrolysate produced through enzymatic hydrolysis. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.5, p.1-6, 2014.

CRAINGIE, J.S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, Sidney, v.23, p. 371-393, 2011.

DeLILLE, J.M.; SEHNKE, P.C.; FERL, R.J. The Arabdopsis 14-3-3 family of signaling regulators. **Plant Physiology**, Rockville, v.126, p.35-38, 2011.

DEMIRAL, T.; TURKAN, I. Exogenous glycine betaine affects growth and proline accumulation and retards senescence in two rice cultivars under NaCl stress. Environmental and Experimental Botany, Oxford, v.56, p.72-79, 2006.

DENISOV, E.T. **Oxidation and antioxidants in organic chemistry and biology**. Boca Raton: CRC Taylor & Francis Group, 2005. 981p.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, London, v.64, p.351-359, 1999.

EL-GHAMRY, A.M.; EL-HAI, K.M.A.; GHONEEM, K.M. Amino and humic acids promote growth, yield and disease resistance of faba bean cultivated in clayey soil**. Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Pakistan, v.3, p.731-739, 2009.

FAN, X.; GORDON-WEEKS, R.; SHEN, Q.; MILLER, A.J. Glutamine transport and feedback regulation of nitrate reductase activity in barley roots leads to changes in cytosolic nitrate pools. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.57, p.1333-1340, 2006.

FINZI, A.C.; BERTHRONG, S.T. The uptake of amino acids by microbes and trees in three cold-temperate forests. **Ecology**, California, v.86, p.3345-3353, 2005.

FORD, B.G.; LEA, P.J. Glutamate in plants: metabolism, regulation, and signaling. **Journal Experimental of Botany**, Oxford, v.58, p.2339–58, 2007.

FORDE, B.G. Glutamate signalling in roots. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.65, n.3, p.779-787, 2014.

FOYER, C.H.; NOCTOR, G. Redox homeotic and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. **The Plant Cell**, Palo Alto, v.17, p.1866-1875, 2005.

FURUYA, S.; UMEMIYA, Y. The influence of chemical forms on foliar applied nitrogen absorption for peach trees. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.594, p.97-103, 2002.

GE, T.; SONG, S.; ROBERTS, P.; JONES, D.L.; HUANG, D.; IWASAKI, K. Amino acids as a nitrogen source for tomato seedlings: The use of dual-labeled (^{13}C, ^{15}N) glycine to test for direct uptake by tomato seedlings, **Environmental and Experimental Botany**, Elmsford, v.66, p.357-361, 2009.

GILL, S.; TUTEJA, N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v.48, p.909-930, 2010.

GIOSEFFI, E.; NEERGAARD, A. de; SCHJOERRING, J. K. Interactions between uptake of amino acids and inorganic nitrogen in wheat plants. **Biogeosciences**, Hoboken, v.9, p.1509-1518, 2012.

GODLEWSKI, M.; ADAMCZYK, B. The ability of plants to secrete proteases by roots. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v.45, p.657-664, 2007.

Häusler, R.E.; Ludewig, F.; Krueger, S. Amino acids – A life between metabolism and signaling. **Plant Science**, Amsterdam, v.229, p.225–237, 2014.

HEATH, R.L.; PACKER, L. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. **Archives in Biochemistry and Biophysics**, New York, v.125, p.189-198, 1968.

HEIM, K.E.; TAGLIAFERRO, A.R.; BOBILYA, D.J. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v.13, p.572-584, 2002.

HERRIDGE D.F. Effects of nitrate and plant development on the abundance of nitrogenous solutes in root bleeding and vacuum extracted exudates of soybean. **Crop Science**, Madison, v.25, p.173-179, 1984.

HILDEBRANDT, T.M.; NUNES NESI, A.; ARAÚJO, W.L.; BRAUN, H.P. Amino Acid Catabolism in Plants. **Molecular Plant**, Oxford, v.8, n.11, p.1563-1579, 2015.

HILL, P.W.; QUILLIAM, R.S.; DELUCA, T.H.; FARRAR, J.; FARRELL, M.; ROBERTS, P.; NEWSHAM, K.K.; HOPKINS, D.W.; BARDGETT, R.D.; JONES, D.L..Acquisition and assimilation of nitrogen as Peptide-Bound and D-Enantiomers of amino acids by wheat. **PlosOne**, Cambridge, v.6, 2011.

HIRNER, A.; LADWIG, F.; STRANSKY, H.; OKUMOTO, S.; KEINATH, M.; HARMS, A.; FROMMER,W. B.; KOCH,W. Arabidopsis LHT1 is a high-affinity transporter for cellular amino acid uptake in both root epidermis and leaf mesophyll. **Plant Cell,** Palo Alto, v.18, p.1931-1946, 2006.

HOGAN, M.E.; SWIFT, I.E.; DONE, H.J. Urease assay and ammonia release from tissue. **Phytochemistry**, New York, v.22, n.1, p. 663-667, 1983.

HOQUE, M.A.O.E.; BANU, M.N.A.; NAKAMURA, Y.; SHIMOISHI, Y.; MURATA, Y. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than the betaine by increasing antioxidant enzyme activities. **Journal of Plant Physiology**, Baltimore, v.164, p.553-561, 2007.

HORVÁTHA, B.; DOMONKOSA, A.; KERESZTB, A.; SZUCS, A.B.; ÁBRAHÁMB, E.; AYAYDINC, F.; BÓKAD, K.; CHENE, Y.; CHENE, R.; MURRAYE, J.D.F.;

UDVARDIE, M.K.; KONDOROSIB, E.; KALÓA, P. Loss of the nodule-specific cysteine rich peptide, NCR169, abolishes symbiotic nitrogen fixation in the *Medicago truncatula* dnf7 mutant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.112, n.49, p.15232-15237, 2015.

HU, L.; HU, T.; ZHANG, X.; PANG, H.; FU, J. Exogenous Glycine Betaine Ameliorates the Adverse Effect of Salt Stress on Perennial Ryegrass. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v.137, p.38-44, 2012.

HUTCHINSON, H.B.; MILLER, N.H.J. The direct assimilation of inorganic and organic forms of nitrogen by higher plants. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v.30, p.513-547, 1911.

JAMTGARD, S., NASHOLM, T., AND HUSS-DANELL, K. Nitrogen compounds in soil solutions of agricultural land. **Soil Biological Biochemical**, Oxford, v.42, p.2325-2330, 2010.

JOHNSON, C.M.; STOUT, P.R.; BROYER, T.C.; CARLTON, A.B. Comparative chlorine requirement of different plant species. **Plant and Soil**, The Hague, v.8, n.3, p.337-353, 1957.

JONES, D.L.; KIELLAND, K. Soil amino acid turnover dominates the nitrogen flux in permafrost-dominated taiga forest soils. **Soil Biology and Biochemistry,** Oxford, v.34, p.209-219, 2002.

JONES, D.L.; SHANNON, D.; JUNVEE-FORTUNE, T.; FARRARC, J.F. Plant capture of free amino acids is maximized under high soil amino acid concentrations. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.37, n.1, p.179-181, 2005.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. **Plant Physiology**, Rockville, v.57, p.315-319, 1976.

KHAN, W.; RAYIRATH, U.P.; SUBRAMANIAN, S.; JITHESH, M.N.; RAYORATH, P.; HODGES, D.M.; CRITCHLEY, A.T.; CRAIGIE, J.S; NORRIE, J.; PRITHIVIRAJ, B. Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. **Journal of Plant Growth Regulation**, Secaucus, v.28, p.386-399, 2009.

KIM, E.; HWANG, S.; LEE, I. SoyNet: a database of co-functional networks for soybean *Glycine max*. **Nucleic Acids Research**, Oxford, n.1, p.1-13, 2016.

KOUKOUNARAS, A.; TSOUVALTZIS, P.; SIOMOS, A.S. Effect of root and foliar application of amino acids on the growth and yield of greenhouse tomato in different fertilization levels. **Journal of Food, Agriculture & Environment**, Helsinki, v.11, n.2, p.644-648, 2013.

KUZNETSOV, V.V.; RADYUKINA, N.L.; SHEVYAKOVA, N.I. Polyamines and stress: Biological role, metabolism, and regulation. **Russian Journal of Plant Physiology**, New York, v.53, p.583-604, 2006.

LACERDA, M.P. **Caracterização fisiológica de plântulas de soja submetidas a diferentes tratamentos químicos.** Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

LEE, Y.H.; FOSTER, J.; CHEN, J.; VOLL, L.M.; WEBER, A.P.M.;TEGEDER, M. AAP1 transports uncharged amino acids into roots of Arabidopsis, **The Plant Journal**., Malden, v.50, p. 305-319, 2007.

LIPSON, D.; NÄSHOLM, T. The unexpected versatility of plants: Organic nitrogen use and availability in terrestrial ecosystems. **Oecologia**, Berlim, v.128, p.305-316, 2001.

LIU, J.H.; WANG, W.; WU, H.; KONG, X.; MORIGUCHI, T. Polyamines function in stress tolerance: from synthesis to regulation. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.6, p.1-10, 2015.

MA, F.; WANG, L.; LI, J.; SAMMA, M.K.; XIE, Y.; WANG, R. Interaction between HY1 and HO in auxin-induced lateral root formation in Arabidopsis. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v.85, p.49-61, 2014.

MAEDA. H.; DUDAREVA, N. The shikimate pathway and aromatic amino acids biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.63, p.73-105, 2012.

MAGUIRE, J.D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, n.1, p.176-177, 1962.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. Second Edition. San Diego: Academic Press, 2012. 889 p.

MAYER, A.M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. **Phytochemistry**, New York, v.67, p.2318-2331, 2006.

MC CULLOUGH, H. The determination of ammonia in whole blood by direct colorimetric method. **Clinica Chemica Acta**, Amsterdam, v.17, p.297-298, 1967.

MEISTER, R.T. **Farm Chemicals Handbook.** Willoughby: Meister Publishing Co, 1999. 106p.

MILLER, A.J.; FAN, X.; SHEN, Q.; SMITH, S.J. Amino acids and nitrate as signals for the regulation of nitrogen acquisition. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.59, n.1, p.111-119, 2007.

MILLER, G.W. Letter to the Organic Materials Review. Institute regarding the chelation of trace minerals with amino acids, 1998. 152p.

MITTLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends Plant Science**, Oxford, v.7, p.405-410, 2002.

MITTLER, R.; BLUMWALD, E. The roles of ROS and ABA in systemic acquired acclimation. **Plant Cell**, Palo Alto, v.27, p. 64-70, 2015.

MULDER, E.G.; BOXMA, R.; VEEN, W.L.V. The effect of molybdenum and nitrogen deficiencies on nitrate reduction in plant tissues. **Plant and Soil**, The Hague, v.10, p.335-355, 1959.

NAGAO, K.; TAKEUCHI, M.; MIYAZAWA, Y.; SATO, H.; YOKOTA, H.O.; KITA, K. Foliar application of fertilizer based on proline and inosine stimulates the second flush growth of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.). **Grass and Forage Science**, Oxford, v.51, p.269-270, 2005.

NASHOLM, T.; HUSS-DANELL, K.; HOGBERG, P. Uptake of organic nitrogen in the field by four agriculturally important plant species. **Ecology**, California, v.81, p.1155-1161, 2001.

NÄSHOLM, T.; KIELLAND, K.; GANETEG, U. Uptake of organic nitrogen by plants. **New Phytologist**, Lancaster, v.182, n.1, p.31-48, 2008.

NEERAJA, C.N.; HARIPRASAD, A.S.; MALATHI, S.; SIDDIQ, E.A. Characterization of tall landraces of rice (*Oryza sativa* L.) using gene-derived simple sequence repeats. **Current Science,** Bangalore, v.88, p.149-152, 2005.

OWEN, A. G.; JONES, D.L. Competition for amino acids between wheat roots and the rhizosphere microorganisms and the role of amino acids in plant N acquisition. **Soil Biology and Biochemistry**, Oxford, v.33, p.651-657, 2001.

PAUNGFOO-LONHIENNE, C.; SCHENK, P.M.; LONHIENNE, T.G.A.; BRACKIN, R.; MEIER, S.; RENTSCH, D.; SCHMID,T.S. Nitrogen affects cluster root formation and expression of putative peptide transporters. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.60, p.2665-2676, 2009.

PEIXOTO, H.P.P.; CAMBRAIA, J.; SANT'ANA, R.; MOSQUIM, P.R.; MOREIRA, A.M. Aluminum effects on lipid peroxidation and the activities of enzymes of oxidative metabolism in sorghum. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v.11, n.3, p. 137-143, 1999.

PERSSON, J.; HÖGBERG, P.; EKBLAD, A.; HÖGBERG, M.N.; NORDGREN, A.; NÄSHOLM, T. Nitrogen acquisition from inorganic and organic sources by boreal forest plants in the field. **Oecologia**, Berlim, v.137, n.2, p.252-257. 2006.

PERSSON, J.; NASHOLM, T. Nitrogen acquisition from inorganic and organic sources by boreal forest plants in the field. **Oecologia**, Berlim, v.137, p.252-257, 2001.

RAAB, T.K.; LIPSON, D.A.; MONSON, R.K. Soil amino acid utilization among species of the Cyperaceae: Plant and soil processes. **Ecology**, California, v.80, n.7, p.2408-2419, 1999.

RAI, V.K. Role of amino acids in plant response to stresses. **Biologia Plantarum,** Amsterdam, v.45, p.481-487, 2002.

RAVANEL, S.; GAKIÈRE, B.; JOB, D.; DOUCE, R. The specific features of methionine biosynthesis and metabolism in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v.95, p.7805–7812, 1998.

REJEB, K.B.; ABDELLY, C.; SAVOURÉ, A. How reactive oxygen species and proline face stress together. **Plant Physiology and Biochemistry**, Dorchester, v.80, p.278-284, 2014.

RENNENBERG, H.; HERSCHBACH, C. A detailed view on sulphur metabolism at the cellular and whole-plant level illustrates challenges in metabolite flux analyses. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.65, p.5711-5724, 2014.

RINGLI, C.; KELLER, B.; RYSER, U. Glycine-rich proteins as structural components of plant cell walls. **Cellular and Molecular Life Sciences**, Basel, v.58, p.1430-1441, 2001.

RIVAS-SAN, V.M.; PLASENCIA, J. Salicylic acid beyond defense: its role growth and development. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.62, n.10. p.1-18, 2011.

RODRIGUES, M.A.T. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura da soja**. 2009, 198p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

SADAK, M.S.H.; ABDELHAMID, M.T.; SCHMIDHALTER, U. Effect of foliar application of amino acids on plant yield and some physiological parameters in bean plants irrigated with seawater. **Acta Biológica Colombiana**, Bogota, v.20, n.1, p.141-152, 2014.

SAKAMOTO, A.; MURATA, N. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. **Plant, Cell and Environment**, Chichester, v.25, p.163-171, 2002.

SALVAGIOTTI, F.; CASSMAN, K.G.; SPECHT, J.E.; WALTERS, D.T.; WEISS, A.; DOBERMANN, A. Nitrogen uptake, fixation and response to fertilizer N in soybeans: a review. **Field Crops Research**, Amsterdam, v.108, p.1-13, 2008.

SAS Institute, 2011. SAS/STAT Statistical Analysis System Manual (v. 9.3). SAS Institute, Cary, NC.

SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M. The chemistry of soil organic nitrogen: a review. **Biology and Fertility of Soils**, Berlin, v.26, n.1, p.1-15, 1997.

SHALABY, T.A.; EL-RAMADY, H. Effect of foliar application of bio-stimulants on growth, yield, components, and storability of garlic (*Allium sativum* L.). **Australian Journal of Crop Science**, Madison, v.8, n.2, p.271-275, 2014.

SHI, J.; FU, X.Z.; PENG, T.; HUANG, X.S.; FAN, Q.J.; LIU, J.H. Spermine pretreatment confers dehydration tolerance of citrus in vitro plants via modulation of antioxidative capacity and stomatal response. **Tree Physiology**, Oxford, v.30, p.914-922, 2010.

SILVA, F.C. (Ed.). **Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes**, 1ª ed., Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia: Brasília, 1999.

SINGH, R.; SINGH, S.; PARIHAR, P.; MISHRA, R.K.; TRIPATHI, D.K.; SINGH, D.R.V.P.; CHAUHAN, D.K.; PRASAD, S.M. Reactive oxygen species (ROS): Beneficial companions of plants' developmental processes. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v.7, p.1299-1364, 2016.

SMIRNOFF, N.; CUMBES, Q.J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. **Phytochemistry**, New York, v.28, p.1057-1060, 1989.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**, 3rd edn. London, UK: Academic Press. Sokolovski SG, Meharg, 2007.

SOARES, L. H. **Manejo fisiológico com base em tratamento de sementes e aplicação de organominerais via foliar para sistemas de alto potencial produtivo de soja**. 2013. 130p Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2014.

SOARES, L.H.; DOURADO-NETO, D.; FAGAN, E.B.; TEIXEIRA, W.F.; REIS, M. R. dos; REICHARDT, K. Soybean seed treatment with micronutrients, hormones and amino acids on physiological characteristics of plants. **African Journal of Agricultural Research**, Lagos, v.11, n.35, p.3314-3319, 2016.

SOUZA, D.V. de; CABRAL, J.B.P.; LOPES, R.M.; REIS, M.A.S.; OLIVEIRA, S.F. Análise pluviométrica da carta topográfica de Patos de Minas referente ao período de 1978 a 2003. In: REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 57, 2005, Fortaleza. **Anais eletrônicos…** São Paulo: SBPC/UECE, 2005.

TAIZ, L., ZEIGER, E. **Plant physiology**. 5th ed. Sunderland: Sinauer Associates, 2013. 782 p.

TEISSEIRE, H.; GUY, V. Copper-induced changes in antioxidant enzymes activities in fronds of duckweed (*Lemna minor*), **Plant Science**, Amsterdam, v.153, p.65-72, 2000.

TROVATO, M.; MATTIOLI, R.; COSTANTINO, P. Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. **Rendiconti Lincei**, Milano, v.19, p.325-346, 2008.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v.34, p.68-71, 2006.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA. Disponível em: < http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/production.pdf >. Acesso em: 31 ago. 2016.

VIDMAR, J.J.; ZHUO, D.; SIDDIQI, M.Y.; SCHOERRING, J.K.;TOURAINE, B.; GLASS, A.D.M. Regulation of high affinity nitrate transporter genes and high affinity nitrate influx by nitrogen pools in plant roots. **Plant Physiology**, Rockville, v.23, p.307–318, 2000.

WALCH-LIU, P.; FORDE, B.G. L-Glutamate as a Novel Modifier of Root Growth and Branching. What's the Sensor? **Plant Signaling & Behavior**, Philadelphia, v.2, n.4, p.284-286, 2007.

YAN, Z.; GUO, S.; SHU, S.; SUN, J.; TEZUKA, T. Effects of proline on photosynthesis, root reactive oxygen species (ROS) metabolism in two melon cultivars (*Cucumis melo* L.) under NaCl stress. **African Journal Biotechnology,** Nairobi, v.10, p.18381-18390, 2011.

YEMM, E.W; COCKING, E.C. The determination of amino acids with ninhydrin. **Analyst,** London, n.80, p.209–213, 1955.

YOUNG, E.G.; CONWAY, C.F. On the estimation of allantoin by the Rimini-Schryver reaction. **The Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.142, p.839–853, 1942.

ZHANG, Q.H.; WANG, M.; HU, J.B.; WANG, W.; FU, X.Z.; LIU, J.H. PtrABF of *Poncirus trifoliate* functions in dehydration tolerance by reducing stomatal density and maintaining reactive oxygen species homeostasis. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v.66, p.5911-5927, 2015.

ZHAO, Y. Auxin biosynthesis and its role in plant development. **Annual Review of Plant Biology**, Palo Alto, v.61, p.49-64, 2010.

ZHENG, Y.; SHENG, J.P.; ZHAO, R.R.; ZHANG, J.; LV, S.N.; LIU, L.Y.; SHEN, L. Preharvest l-arginine treatment induced postharvest disease resistance to Botrytis cinerea in tomato fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.59, p.6543-6549, 2011.