

DETERMINAÇÃO DA TAXA DE RESPIRAÇÃO EM SEMENTES DE SOJA PELO MÉTODO DA TITULAÇÃO¹

JACK ELISEU CRISPIM, JOSÉ CELSO MARTINS, JOSÉ CARLOS PIRES², CIRO ANTÔNIO
ROSOLEM E CLAUDIO CAVARIANI³

RESUMO - O presente trabalho foi conduzido em condições de laboratório, utilizando-se três lotes de sementes de soja da cultivar Iguaçú, com o objetivo de determinar a taxa de respiração, pelo método da titulação. O delineamento experimental foi o de blocos inteiramente casualizados, com quatro repetições, cada uma delas constando de 50 sementes de cada lote e uma testemunha sem sementes em cada lote. As sementes foram acondicionadas em gerbox contendo 40 ml de KOH 0,1N, sobre papel mata-borrão umedecido com água destilada, para fixação do CO₂ produzido pela respiração das sementes. O material foi mantido em germinador com temperatura constante de 25°C, por 16, 24 e 48 horas, após o que, foi efetuada a titulação da solução fixadora com HCl 0,1N para verificação da taxa de respiração. Os resultados mostraram que as sementes mais deterioradas foram as que apresentaram maior taxa de respiração, medida em mg de CO₂/g de matéria seca, quando comparadas com lotes mais vigorosos. O método da titulação mostrou-se conveniente para avaliação da taxa de respiração de sementes de soja.

Termos para indexação: qualidade das sementes, fixação de CO₂, germinação, germinador, vigor.

DETERMINATION OF SOYBEAN SEED RESPIRATION RATE BY THE TITULATION METHOD

ABSTRACT - This trial was carried out under laboratory conditions, with three lots of Iguaçú soybean seeds, to determine the respiration rate by the titulation method. A randomized complete block design was used, with four repetitions, each one of them with 50 seeds and a control without seeds for each lot. The seeds were placed in gerbox with 40 ml of KOH 0.1N, on distilled water wet blotting paper for fixing the CO₂ produced by seeds respiration. The material was placed in germinator at constant 25°C for 16, 24 and 48 hours. After these periods, the titulation of the fixative solution was performed with HCl 0.1N to check the respiration rate. The most deteriorated seeds were those that presented the highest respiration rates, which were measured in mg of CO₂/g of dry matter, when compared with the most vigorous lots. The titulation method was suitable for the evaluation of soybean seed respiration rate because the final results separated the lots in three different quality levels that were compatible with the results obtained from the accelerated aging and emergence.

Index terms: seed quality, CO₂ fixing, germination, germinator, vigor.

INTRODUÇÃO

A evolução e o aperfeiçoamento da indústria sementeira tem exigido uma constante procura de alternativas para superação dos problemas de qualidade das sementes. Para tanto, a identificação do índice de vigor de sementes tem sido alvo de muitos pesquisadores.

Diversos testes para identificação do vigor de sementes já foram realizados; porém, cada um deles apresenta determinada limitação de ordem prática, técnica ou econômica. Assim, a busca de novos métodos é incessante.

Dentre as diferentes formas de verificação da qualidade fisiológica em sementes, o processo de respiração tem merecido especial atenção, pela alta relação entre este fenômeno e a qualidade da semente. Desta forma, a liberação de CO₂ no processo de respiração é a principal variável na exploração deste recurso.

Miles (1986) constatou que sementes de soja

¹ Aceito para publicação em 11 de maio de 1994.

² Eng. - Agr., em Pós-Graduação. Dep. de Agric. e Melhoramento Vegetal (DAMV). UNESP, Caixa Postal 237, CEP 18603-970 Botucatu, SP.

³ Eng. - Agr., Prof. DAMV. UNESP - Botucatu, SP.

colhidas antes da maturação fisiológica apresentaram menor índice de respiração na fase inicial do processo de germinação. Como sementes imaturas encerram menor potencial de vigor, pode-se inferir que o experimento revelou correlação entre vigor e o índice de respiração de sementes.

Popinigis (1977) relatou que a primeira atividade metabólica das sementes, concomitante à reidratação, é a respiração. Esta atividade, praticamente nula quando a semente se encontra com baixo teor de umidade, atinge rapidamente valores elevados com a embebição. Relata ainda este autor que a velocidade respiratória da semente é influenciada por diversos fatores, tais como: umidade, temperatura, permeabilidade das membranas, tensão de oxigênio e luz.

Normalmente, a liberação de CO_2 durante a respiração de sementes em germinação é medida em aparelho de Pettenkofer, segundo Maximov (1948), utilizando-se, para os trabalhos, hidróxidos de bário, sódio ou potássio concentrados e solução de HCl 0,1N, com auxílio de vácuo. Esse método, embora tenha fornecido resultados precisos, tem o inconveniente de necessitar aparelhos nem sempre à disposição dos usuários, o que limita seu uso.

O presente estudo foi conduzido para a determinação da respiração, em sementes de soja, pelo método da titulação.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de soja cv. Iguazu (Ocepar-4), produzidas na safra 90/91, no Estado de São Paulo, pelo sistema de produção de sementes da Secretaria de Agricultura, através do Serviço de Produção de Sementes de Paraguaçu Paulista, provenientes de três lotes denominados Lotes 01, 02 e 03, amostrados conforme prescrição técnica (Brasil, 1980), foram utilizadas para condução dos testes, entre os meses de setembro e outubro de 1991, no laboratório da UNESP - Botucatu.

Intencionalmente, os lotes foram eleitos em função do índice de germinação, de forma a apresentar três diferentes níveis de qualidade fisiológica. Assim, o Lote 01 apresentou 85% de germinação; o Lote 02, 78% e o Lote 03, 69%.

Para que servissem como parâmetro referencial, os lotes foram submetidos a testes de vigor pelos métodos de envelhecimento precoce (EP) e tetrazólio (TZ), conforme Delouche et al. (1976) e Krzyzanowski et al. (1991).

Anteriormente, foram realizadas as seguintes determinações para os três lotes em estudo, utilizando-se quatro repetições de 50 sementes para cada lote: peso inicial e peso da matéria seca de 50 sementes, obtido com secagem das sementes em estufa de convecção gravitacional a 60°C por cinco dias.

O teste para identificação da taxa de respiração foi conduzido em laboratório, na Faculdade de Ciências Agronômicas, Departamento de Agricultura - UNESP, Botucatu, SP. Para correlação entre o comportamento dos lotes testados no campo e os teste laboratoriais, instalou-se e conduziu-se o ensaio conforme orientação de Maguire (1962), Camargo & Vecchi (1971) e Popinigis (1977), no câmpus da FCA - UNESP, Botucatu, SP, teste de velocidade de emergência e emergência em campo.

O método utilizado para condução do teste de respiração constituiu de: caixas de plástico transparente com tampa, conhecidas como Gerbox, adaptadas para o Teste de Envelhecimento Precoce em Soja conforme Krzyzanowski et al. (1991), contendo, portanto, no seu interior, à altura de 2,0 cm da base, uma bandeja de tela fina (nylon), utilizada para suporte das sementes. No fundo de cada gerbox havia 40 ml de KOH 0,1N. Para evitar trocas gasosas com o meio, cada gerbox foi colocado dentro de um saco de plástico tipo "zip", uma vez que sua tampa não apresentava essa eficiência.

Cada uma das quatro repetições de 50 sementes por lote, retiradas casualmente de uma amostra média de aproximadamente 1 kg, foi colocada em gerbox, sobre bandeja contendo uma folha de papel filtro umedecido com água destilada. Para cada amostra foi constituída uma testemunha, denominada prova em branco, como uma quinta repetição preparada sem sementes. A solução de 40 ml de KOH 0,1N agiu como fixador do CO_2 expelido pelo processo de respiração das sementes. Todo este conjunto de componentes foi acondicionado em um germinador do tipo câmara, com temperatura constante de 25°C e luz fluorescente branca.

O tempo de exposição das sementes às condições de germinação variou em 16, 24 e 48 horas, cada tempo representando um tratamento.

Na titulação foram utilizados 25 ml da solução de KOH 0,1N para cada uma das repetições retiradas de cada gerbox após o período de incubação no germinador, inclusive da repetição utilizada como prova em branco.

A solução de KOH, após receber duas ou três gotas de Fenolftaleína em um Erlenmeyer, foi submetida à titulação com HCl 0,1N utilizando-se uma bureta de 50 ml.

No ponto de viragem, foi registrado o volume de HCl gasto em cada uma das repetições testadas. Esse volume, que está diretamente relacionado com a intensidade e CO_2 fixado pela solução do KOH, é responsável pela identificação da taxa de respiração das sementes, uma vez que o

CO₂ fixado era proveniente principalmente do seu processo de respiração.

O cálculo final da taxa de respiração, em cada tratamento, foi realizado com base na média das quatro repetições, cujo resultado foi expresso em mg de CO₂ g de matéria seca das sementes, para os três tempos de exposição,

16, 24 e 48, utilizando-se a fórmula $\frac{(B - L) \times C}{MS}$, onde:

B = leitura da prova em branco; L = leitura do volume de HCl gasto para neutralizar o KOH submetido à respiração das sementes; C (fator de correção = 3,52) e MS = matéria seca das sementes submetidas ao processo de respiração.

Para cada identificação de mais um parâmetro de avaliação, foi calculada a taxa de respiração horária, µg de CO₂ por grama de matéria seca, através da fórmula:

$$\frac{(\text{mg CO}_2 / \text{g M.S.})_{it} \times C}{(\text{no. h})_{it}}, \text{ sendo it = intervalo de tempo.}$$

O delineamento experimental empregado foi o de blocos inteiramente casualizados com quatro repetições de 50 sementes para cada lote e uma testemunha sem sementes para cada lote.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A qualidade fisiológica dos lotes utilizados para o desenvolvimento deste experimento, determinada através de método recomendado, foi relatada na Tabela 1, para os três parâmetros de avaliação.

Com relação à porcentagem de germinação, somente o lote 01 apresentou-se dentro da exigência mínima necessária para seu enquadramento como

TABELA 1. Porcentagem média de germinação, vigor (EP) e vigor da (TZ) de sementes de soja provenientes de três lotes da cultivar Iguacu (Ocepar-4), produzidas na safra 90/91.

Lote	Germinação	Vigor (EP)	Vigor (TZ)
01	85 a	57 a	59 a
02	78 ab	61 a	53 a
03	69 b	36 b	49 a

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

semente. Verificou-se, também, que a qualidade foi decrescente do Lote 01 para o Lote 02, e deste para o Lote 03.

Pelos testes de vigor (EP e TZ), verificou-se que os Lotes 01 e 02 enquadram-se em uma faixa considerada de vigor intermediário (50 a 69%), e o Lote 03 enquadrou-se na faixa de vigor baixo (< 50%), tendo sido ainda mais baixo no método de envelhecimento precoce.

Na Tabela 2 são apresentados os dados referentes ao peso das sementes utilizadas no experimento, peso da matéria seca e o teor de água. Tais dados expressam informações importantes na identificação da qualidade geral do material utilizado.

Pelo teor de água identificado em cada lote, verificou-se que o Lote 03, de menor vigor, também foi o que apresentou o menor valor. Isto em função da sua constituição química, fazendo com que o ponto de equilíbrio higroscópico tenha sido obtido pouco abaixo dos demais lotes.

Como parâmetros alternativos, para avaliação da qualidade fisiológica dos três lotes analisados no presente experimento, a emergência em campo, a velocidade de emergência e a porcentagem de germinação foram relatadas na Tabela 3.

A qualidade fisiológica, revelada pelos três parâmetros constantes da Tabela 3, permitiu agrupar os três lotes em dois níveis de qualidade: os lotes 01 e 02 apresentaram melhor qualidade e não diferiram entre si; o lote 03, de menor qualidade, diferiu dos dois primeiros.

A Tabela 4 e a Figura 1 informam a taxa de respiração de cada lote, determinada em função do volume de HCl gasto para neutralizar 40 ml da solução de KOH (fixador de CO₂), em µg CO₂/g MS/h nos três tempos de exposição.

O tempo de 16 horas de exposição também não

TABELA 2. Valores médios de quatro repetições de 50 sementes para o peso inicial, peso da matéria seca e teor de água.

Lotes	Peso inicial (g)	Peso da Matéria seca (g)	Teor de água (%)
01	7,53	6,69	11,2
02	7,71	6,86	11,0
03	6,96	6,32	9,2

TABELA 3. Valores médios de quatro repetições em três lotes de soja da cultivar Iguazu (Ocepar-4) produzidas na safra 90/91, para emergência em campo, índice de velocidade de emergência e germinação.

Lotes	Emergência em campo aos 28 dias (%)	Índice de velocidade de emergência	Germinação (%)
01	75 a	11,5 a	85 a
02	78 a	11,9 a	78 ab
03	45 b	7,9 b	69 b

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 4. Taxa de respiração média em $\mu\text{g CO}_2/\text{g MS/h}$, representada pela quantidade de CO_2 liberado por g de matéria seca/hora das sementes em germinação nos períodos de 16, 24 e 48 horas.

Lotes	$\mu\text{g CO}_2/\text{g MS/h}$		
	16 horas	24 horas	48 horas
01	16,6 b	96 b	98 a
02	37,7 a	107 b	81 a
03	42,4 a	202 a	81 a

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

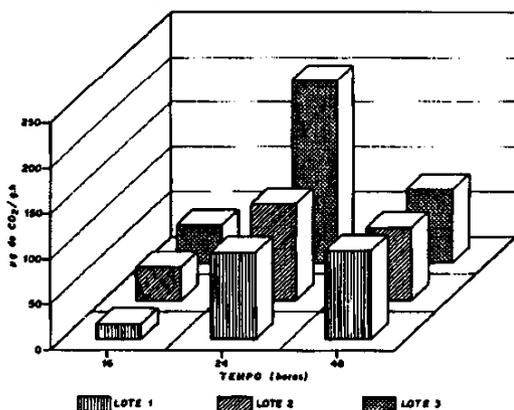


FIG. 1. Taxa de respiração em função do tempo de exposição.

foi suficiente para permitir separação dos lotes quanto à sua qualidade fisiológica, o que ficou evidenciado no tempo de exposição de 24 horas. No

tempo de 48 horas, além de não ter havido diferença significativa, ocorreu inversão dos valores da taxa de respiração, o que indica que a reserva do lote de menor qualidade (lote 03) exauriu-se com maior rapidez que os outros dois lotes mais vigorosos.

A taxa de respiração total, para cada período estudado, encontra-se registrada na TABELA 5.

Conforme os dados apresentados na Tabela 5, pode-se concluir que o tempo de exposição de 16 horas não foi suficiente para permitir a separação dos lotes, levando-se em conta a sua qualidade fisiológica identificada através dos testes de referência, o que se verificou nos tempos de 24 h e 48 horas, destacando-se, neste caso, o lote 03, com maior taxa de respiração.

As possíveis correlações dos dados obtidos estão na Tabela 6. Através do coeficiente de correlações simples, foi analisado o comportamento dos seguintes dados: % de germinação convencional, índice de velocidade de emergência em campo, estande final aos 28 dias, vigor, pelos métodos de tetrázólio e envelhecimento precoce, mg $\text{CO}_2/\text{g M.S.}$ e $\mu\text{g CO}_2/\text{g MS/h}$ nos tempos de exposição estudados.

As correlações efetuadas indicam elevados níveis de significância entre a taxa de respiração total obtida nos tempos de 24 e 48 horas de exposição com G, VEC, SF e V(EP). Considerando que o nível de correlação é o mesmo, tanto para 24 horas como para 48 horas, considera-se mais adequado o tempo de 24 horas de exposição, em função da maior agilidade que proporciona o teste.

Quando a correlação entre os parâmetros G, VEC, SF e V(EP) foi efetuada com a taxa de respiração horária, o tempo de exposição de 24 horas foi o que apresentou melhor correlação com VEC, SF e

TABELA 5. Taxa de respiração média em $\text{mg CO}_2/\text{g MS}$ para tempos de exposição de 16, 24 e 48 horas.

Lotes	$\text{mg CO}_2/\text{g MS}$		
	16 horas	24 horas	48 horas
01	0,26 b	1,03 b	3,39 b
02	0,60 a	1,45 b	3,40 b
03	0,67 a	2,29 a	4,22 a

Médias seguidas de mesmas letras nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

TABELA 6. Valores de coeficientes de correlação entre as variáveis analisadas.

G	VEC	SF	Tetraz.	EP	mg CO ₂ / g ms (16)	mg CO ₂ / g ms (24)	mg CO ₂ / g ms (48)	µg CO ₂ / gh (16)	µg CO ₂ / gh (24)	µg (CO ₂ / gh (48)
G	0,57*	0,62*	0,42	0,63*	-0,54 o	-0,69*	-0,83**	-0,54 o	-0,63*	0,15
VEC		0,97**	0,43	0,77**	-0,48	-0,82**	-0,77**	-0,48	-0,82**	0,43
SF			0,33	0,82**	-0,40	-0,77**	-0,82**	-0,40	-0,80**	0,29
Tetraz.				0,53 o	-0,61*	-0,58*	-0,53 o	-0,61*	-0,46	0,34
EP					-0,49	-0,73**	-0,91**	0,49	-0,71**	0,13
mg CO ₂ / g ms (16)						-0,73**	0,56 o	1,00**	0,46	-0,55 o
mg CO ₂ / g ms (24)							0,80**	0,73**	0,94**	-0,71*
mg CO ₂ / g ms (48)								0,56 o	0,77**	-0,14
µg CO ₂ / gh (16)									0,46	-0,55 o
µg CO ₂ / gh (24)										-0,65*
µg CO ₂ / gh (48)										

** Significativo a 1%

* Significativo a 5%

o Significativo a 10%

V(EP), ratificando, assim, a conveniência do tempo de exposição de 24 horas para determinação da taxa de respiração de sementes de soja entre diferentes lotes.

CONCLUSÕES

1. É viável a utilização do método da titulação para avaliação da taxa de respiração em sementes de soja.

2. O método utilizado indicou resultados compatíveis com outros testes para determinação da qualidade fisiológica de sementes de soja.

3. O tempo de exposição de 24 horas mostrou ser o mais adequado para detectar diferenças na respiração de sementes de soja, o que indica níveis de vigor ou qualidade fisiológica diferentes, a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

4. A concentração de KOH 0,1N mostrou-se adequada para trabalhos com respiração de sementes de soja, bem como o HCl 0,1N utilizado na titulação.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise de sementes**. Brasília: LANARV/SNAD/MA, 1980. 188p.
- CAMARGO, C.P.; VECHI, C. Pesquisa em tecnologia de sementes. **Anais 1º ENTAS**. Porto Alegre, 1971.
- DELOUCHE, J.; STILL, T.W.; RASPET, M.; LIENHARD, M. **O teste do tetrazólio para a viabilidade da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1976. 103 p.
- KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA NETO, J. de B.; HENNING, A. A. Relato dos testes de vigor disponíveis para as grandes culturas. **Informativo ABRATES**. Brasília, v.1, n.2, p. 15-17. 1991.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination: aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.2, p.176-177. 1962.
- MAXIMOV, N.A. **Fisiologia vegetal**. 2. ed. Buenos Aires: ACME Agency. 1948. 433p.
- MILES, D.F. Effects of the stage of development and the desiccation environment on soybean seed quality respiration during germination. **Sciences and Engineering**, Lexington, v.49, n.9. 1986.
- POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: Ministério da Agricultura - AGIPLAN, 1977. p.97-105.

BRASIL. Ministério da Agricultura. **Regras para análise**