

PRÁTICA Nº. 5.13

OBSERVAÇÃO INDIRETA DA TRANSPIRAÇÃO EMPREGANDO PAPEL EMBEBIDO
COM CLORETO DE COBALTO

INTRODUÇÃO

A transpiração é um processo que se caracteriza pela perda de água no estado gasoso (por difusão), das câmaras subestomáticas para a atmosfera. O calor latente de vaporização é definido como a quantidade de energia necessária para separar uma molécula da fase líquida e levá-la à fase gasosa. Para a água, o calor latente de vaporização é de 44 kJ mol^{-1} (586 cal), o mais alto para líquidos, o que torna a transpiração um dos principais mecanismos de resfriamento das folhas. As folhas interceptam, em média, $0,46 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$. Em função disso, elas poderiam alcançar a temperatura de 100°C em apenas 1 minuto, caso toda a energia solar disponível fosse absorvida e elas não apresentassem a transpiração e outros mecanismos de dissipação de calor.

Os estômatos são estruturas epidérmicas formadas por dois tipos de células: as células-guardas e as células anexas (subsidiárias). A pequena abertura existente entre as células-guardas, por onde ocorrem as trocas gasosas, é denominada ostíolo (poro). Quando as células-guardas se encontram túrgidas, o ostíolo se abre, permitindo a entrada de CO_2 e a perda de água (no estado de vapor). Quando elas murcham, o ostíolo se fecha ou tem a sua abertura reduzida (redução da condutância estomática), limitando a perda de água.

Os estômatos podem ser encontrados nas faces adaxial (folhas epiestomáticas), abaxial (folhas hipoestomáticas) e/ou em ambas (folhas anfiestomáticas) as faces das folhas. Com exceção das plantas CAM, que abrem seus estômatos à noite, a abertura estomática em plantas C_3 e C_4 e até mesmo em algumas espécies CAM (funcionando como C_3) ocorre durante o dia, sob a influência da radiação azul. No início da manhã, moléculas de zeaxantina (uma xantofila) presentes nas células-guardas captam a radiação azul e estimulam o bombeamento de H^+ para o apoplasto dessas células (ativação das H^+ -ATPases), promovendo a abertura de canais de K^+ . Após a entrada do K^+ no citossol das células-guardas, as condições tornam-se favoráveis à absorção do Cl^- , o que ocorre em um processo de cotransporte, juntamente com íons H^+ . O K^+ e o Cl^- acumulam-se no vacúolo e são os principais componentes osmóticos que possibilitam a absorção de água e, consequentemente, a abertura dos estômatos no início do dia. Entretanto, após a metade do dia, a manutenção da abertura estomática é possível pela contribuição da sacarose, molécula sintetizada no citossol das células-guardas a partir de intermediários fotossintéticos. O vento, a temperatura, a umidade relativa do ar e a luz (dia, noite ou sombreamento) são os principais fatores que influenciam a abertura dos estômatos. A cadeia de eventos que resulta no fechamento estomático acontece, basicamente, de forma inversa à descrita para a sua abertura, sofrendo influência do ácido abscísico (ABA). Esse hormônio vegetal encontra-se presente nas folhas (aprisionado nos cloroplastos do mesofilo) e/ou é formado nas raízes, sendo transportado para a parte aérea conjuntamente com a seiva xilemática.

OBJETIVOS

Demonstrar, de modo indireto, o processo de transpiração em folhas de mono e de eudicotiledôneas. Verificar a ocorrência de estômatos nas diferentes faces (abaxial e adaxial) da lâmina foliar das plantas.

MATERIAIS

- Plantas de várias espécies (monocotiledôneas e eudicotiledôneas) mantidas sob rega adequada



- Vidros planos com medidas de 0,3 cm x 12 cm x 20 cm



- Frasco de vidro com tampa (para palmito)



- Estufa de secagem



- Cloreto de cobalto ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) a 5% (p/v)



- Sílica-gel



- Papel-filtro,



- Bandejas de alumínio tipo assadeira de bolo ou bandejas plásticas



- Prendedores de roupa



PROCEDIMENTOS

Para a execução deste experimento, é necessária a impregnação de folhas de papel-filtro com solução de cloreto de cobalto. Para esse procedimento, dissolva 5 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100 mL de água. Após a preparação, impregne algumas folhas de papel-filtro com a solução de cloreto de cobalto (coloração rósea). Deixe-as secar e, em seguida, corte-as no tamanho desejado. Após obtenção dos cortes, mantenha-os em estufa de secagem a 50-60°C por pelo menos 15 min. Após a secagem, os papéis irão adquirir coloração azulada devido à perda da água pelo cloreto de cobalto. Para evitar a reabsorção de água, mantenha as folhas em dessecadores ou em frascos de vidro grandes na presença de sílica gel.

Coloque folhas recém-colhidas das plantas disponíveis entre duas folhas de papel-filtro impregnadas de cloreto de cobalto e duas placas ou lâminas de vidro de mesmo tamanho, de modo que cada superfície foliar fique em contato com uma folha de papel-filtro. Após alguns minutos, observe as mudanças na cor dos papéis impregnados com cobalto. Alternativamente à coleta das folhas, o teste também pode ser realizado com folhas não destacadas. Nesse caso, as placas de vidro devem ser mantidas prensadas com o auxílio de prendedores de roupas (ou cliques) e suportes. Para os testes, é recomendável a utilização de folhas glabras (sem tricomas) ou pouco pilosas.

Outro ensaio interessante pode comparar a transpiração de folhas destacadas com folhas intactas da mesma espécie e em diferentes horários do dia e/ou, ainda, em plantas com diferentes níveis de rega ou mantidas no escuro.

Lembre-se que folhas permanentemente perpendiculares ao horizonte, em geral, têm estômatos nas duas epidermes e, portanto, o papel de cobalto irá se revelar (mudando da cor azul para a rosa) nos dois lados da folha analisada. Folhas que permanentemente mantêm uma posição mais paralela ao horizonte apresentam, na maior parte das vezes, estômatos apenas na epiderme inferior (abaxial). Nessas folhas, o papel de cobalto será revelado em apenas um lado. Além disso, há distribuições estomáticas intermediárias: folhas com estômatos nas duas epidermes, porém com uma densidade estomática maior em uma delas. Assim, a revelação do papel de cobalto ocorrerá mais rapidamente na epiderme com maior número de estômatos por área foliar.