

Prática 1.1 - Demonstração da Respiração pelo Método do Indicador

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Devido à presença do organismo fermentador e à disponibilidade de substrato respiratório, as maiores atividades respiratórias foram observadas nos tubos de ensaio contendo a suspensão de levedo, especialmente no tubo contendo levedo+sacarose (carboidrato solúvel). A importância do substrato glicolítico (sacarose) foi demonstrada pela reduzida taxa respiratória observada nos tubos que continham levedo+água (sem substrato respiratório) e, também, levedo+adoçante dietético, substância que não atua como um substrato respiratório. Nesses tubos, a respiração foi baixa, pois a disponibilidade de reservas (substrato) se esgotou muito rapidamente nas células do levedo. No tubo de ensaio contendo levedo fervido, a atividade respiratória foi nula, uma vez que a fervura desnaturou as proteínas, impossibilitando qualquer atividade enzimática, inclusive respiratória. Quando comparada ao tubo contendo levedo+sacarose, a respiração observada nos tubos contendo as sementes embebidas e a folha mantida no escuro foi muito menor, o que se explica, em parte, pela adição do substrato respiratório (sacarose), que intensifica a atividade respiratória do levedo. Embora as taxas respiratórias observadas no tubo contendo uma folha destacada e no tubo com as sementes tenham sido menores do que a verificada na presença de levedo+sacarose, análises mais aprofundadas são difíceis de serem feitas, uma vez que foram utilizados materiais biológicos com quantidades de massa e atividades fisiológicas muito distintas. As sementes “secas” apresentaram taxa respiratória menor do que as sementes embebidas, uma vez que elas se encontravam em latência (quiescência), enquanto a embebição, sinal desencadeador da germinação, resulta em reidratação e retomada de atividade metabólica, com aumento na atividade respiratória do embrião e consumo de reservas para o crescimento da plântula. Como a fotossíntese líquida (FS_{liq}), que corresponde à diferença entre a fotossíntese total (FS_{total}) e o somatório das atividades de respiração (RS) e fotorrespiração (FRS) [$FS_{liq} = FS_{total} - (RS + FRS)$], foi positiva no tubo de ensaio contendo a folha mantida sob iluminação, a coloração do indicador mostrou maior incorporação de carbono via fotossíntese do que sua liberação pelos processos respiratórios, permanecendo com a tonalidade azulada.

Em resumo, os resultados desta aula demonstraram a ocorrência de atividade respiratória em diferentes intensidades e materiais biológicos específicos e a importância dos substratos para a respiração. A demonstração foi possível pela observação da mudança na cor do indicador azul de bromotimol (acidificação ou basificação), como consequência da liberação/consumo de CO_2 pela respiração aeróbica e fotossíntese (nos casos das sementes e das folhas). Por sua vez, o levedo é um organismo que realiza respiração por fermentação alcoólica.

Questionário: Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

1. O que é o azul de bromotimol?

O azul de bromotimol é um indicador de pH que se apresenta verde em meio neutro, azul em meio básico e amarelo em meio ácido e pode, portanto, ser usado para indicar a acidificação de uma fase aquosa pelo CO_2 proveniente da respiração.

2. Comparando-se os resultados dos testes 1 e 2, o que acontece ao CO₂ quando dissolvido em água?

Nos testes 1 (adição de gotas de HCl ou NaOH) e 2 (adição de gotas de água mineral gasosa/não gasosa) ocorreram mudanças na coloração do indicador de pH da cor azul (meio básico), passando pela cor verde (meio neutro) até ficar amarelo (meio ácido), dependendo da quantidade adicionada de cada uma dessas substâncias. O HCl (ácido) e a água mineral gasosa (ácida devido ao CO₂ nela dissolvido) causam alterações na coloração da solução do azul de bromotimol da mesma forma que o CO₂, proveniente da respiração, causou nos diferentes tratamentos testados na aula prática. Quando o CO₂ é liberado em excesso em um sistema fechado contendo uma fase aquosa, ocorre a acidificação dessa fase, uma vez que o acúmulo de ácido carbônico (H₂CO₃) resulta na liberação de H⁺ na solução (devido à dissociação química), conforme representado na equação a seguir.



3. Explique o resultado do teste 3.

Ao assoprarmos a solução do indicador de pH, utilizando-se de uma pipeta, injetamos ar contendo CO₂ no meio, provocando a acidificação da solução de azul de bromotimol, que passa da cor azul (básica) para a verde (neutra) e, finalmente, para a amarela (ácida).

4. O que aconteceu em comum nos tubos de ensaio em que ocorreram mudanças na coloração do indicador de pH?

O que aconteceu em comum nesses tubos de ensaio foi a ocorrência de respiração aeróbica ou anaeróbica (fermentação). As diferenças observadas durante a execução da aula prática foram resultantes das diferentes intensidades do metabolismo respiratório em cada sistema. Quanto maior a liberação de CO₂, mais ácida (amarela) ficou a solução de azul de bromotimol.

5. Compare e explique os resultados obtidos nos tubos 2 a 9.

As maiores atividades respiratórias foram observadas nos tubos de ensaio contendo levedo, principalmente no tubo contendo levedo+sacarose, devido à disponibilidade de substrato para o metabolismo respiratório. A importância do substrato glicolítico (sacarose) foi demonstrada pela reduzida taxa respiratória observada nos tratamentos que continham levedo+água e, também, levedo+adoçante dietético, que não é um substrato respiratório. Nesses tubos, a respiração foi baixa, pois a disponibilidade de reservas (substratos) se esgotou rapidamente nas células do levedo. Não foi detectada nenhuma atividade respiratória no tubo de ensaio contendo levedo fervido, uma vez que esse procedimento causou a desnaturação de proteínas e impossibilitou a ocorrência de atividades enzimáticas, inclusive as relacionadas à respiração. Em comparação ao tubo de ensaio contendo levedo+sacarose, a respiração observada nos tubos contendo as sementes embebidas e a folha mantida no escuro foi muito menor, o que se explica pelas diferentes atividades metabólicas inerentes a cada material e pela maior eficiência da respiração aeróbica, com maior produção de ATP do que na fermentação.

As sementes “secas” respiraram em menor intensidade do que as sementes embebidas, uma vez que elas se encontravam em latência (quiescência), enquanto a embebição é o sinal do ambiente para o início da germinação, promovendo o aumento da atividade respiratória e,

consequentemente, o consumo de reservas. Como a fotossíntese líquida ($FS_{líq} = FS_{total} - [RS + FRS]$) foi positiva no tubo de ensaio contendo a folha mantida sob iluminação, a coloração azulada do indicador de pH mostrou a ocorrência de maior incorporação de carbono pela fotossíntese do que a sua liberação pelo metabolismo respiratório.

6. Para demonstrar-se a respiração em folhas, foi necessário enrolar o tubo de ensaio em papel alumínio. Por quê?

O papel alumínio impede a passagem da luz e, por isso, foi usado para enrolar o tubo de ensaio, impedindo a ocorrência de fotossíntese. Assim, os resultados referentes a esse tubo de ensaio correspondem apenas à respiração. Sem o papel alumínio, a fotossíntese poderia consumir CO_2 do sistema, interferindo nos resultados.

7. Em ambientes naturais, as plantas terrestres podem ser submetidas a condições de anoxia/hipoxia? Quais seriam as consequências para elas da permanência prolongada nessas condições?

Normalmente, o solo mantém condições adequadas de oxigenação para o crescimento e respiração das raízes. Todavia, em caso de chuvas intensas, podem ocorrer alagamentos. O escoamento e a drenagem da água podem ser lentos, o que ocasiona redução na disponibilidade de oxigênio no solo, provocando hipoxia e, até mesmo, anoxia. A ocorrência de danos às raízes depende do tempo de exposição das raízes à privação de oxigênio. Normalmente, nas plantas aquáticas flutuantes e nas plantas subaquáticas, adaptações morfológicas (aerênquimas, pneumatóforos e/ou lenticelas) evitam a hipoxia/anoxia.

Situação bastante crítica é observada em áreas alagadas em decorrência da construção de açudes e/ou da formação de lagos em usinas hidrelétricas. Nessas condições, espécies que eram tipicamente de “terra firme” passam a ser expostas às condições de anaerobiose/hipoxia. Como, normalmente, as plantas dessas áreas não são adaptadas e, consequentemente, não apresentam estruturas morfológicas e/ou mecanismos bioquímicos adaptados para essas condições, elas acabam morrendo.

8. Quais estruturas morfológicas e/ou adaptações metabólicas as plantas possuem para evitar e/ou tolerar as condições de anoxia/hipoxia?

As plantas somente toleram condições de anaerobiose quando apresentam adaptações morfológicas e/ou bioquímicas que evitam as condições de anoxia/hipoxia, como, por exemplo, o desenvolvimento de aerênquimas, pneumatóforos e lenticelas e, também, mecanismos para eliminar o ácido lático e/ou o etanol produzidos nessas condições.

9. Por que águas contendo plantas subaquáticas são, em geral, mais ácidas à noite?

Porque durante o período noturno essas plantas apresentam apenas o processo bioquímico da respiração, liberando CO_2 para o meio. Em meio aquoso, o CO_2 reage com a água, formando ácido carbônico que libera H^+ , acidificando o meio, conforme a equação a seguir:



Em contraste, durante o dia, além da respiração, as plantas subaquáticas também realizam a fotossíntese, que consome CO_2 , fazendo com que o pH da água fique mais elevado do que à noite.

Bibliografia:

McALEXANDER, S. L. **Demonstrating cellular respiration and fermentation** (In: <https://www.carolina.com/teacher-resources/Interactive/cellular-respiration-and-fermentation/tr10705.tr>). Acesso em 19/12/2017.

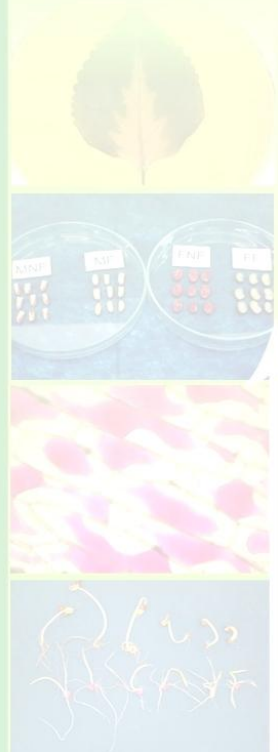
MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 1.2 - Atividade de Catalases em Tubérculos de Batata

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Quando fatias de tubérculos de batata são fervidas ocorre a desnaturação das proteínas e a inativação de todas as enzimas, incluindo as catalases. A formação de espuma (devido à liberação de O₂) nas fatias não fervidas dos tubérculos da batata é resultado da ação das catalases sobre o H₂O₂. As catalases são enzimas pré-existentes relacionadas à decomposição do H₂O₂ em O₂ e H₂O e, por isso, encontram-se ativas em todos os tecidos e estádios do desenvolvimento das plantas. Como o processo de respiração aeróbica resulta na formação de EROs, incluindo o peróxido de hidrogênio (H₂O₂), as catalases são de fundamental importância para a proteção celular contra os efeitos danosos dessa substância.

A maior evolução de bolhas na periferia das fatias do tubérculo de batata é explicada pela maior atividade metabólica nessa região, uma vez que por esse órgão ser um caule tuberoso, as atividades meristemáticas e respiratórias são mais intensas na periferia (próximo às gemas, córtex e anel vascular) do que nas porções internas da batata (medula), onde predomina o acúmulo de reservas nos amiloplastos na forma de amido.

Em resumo, a aula prática demonstrou que a respiração aeróbica, embora fundamental para a sobrevivência dos diferentes organismos e estruturas, também promove a formação de espécies reativas de oxigênio, como o H₂O₂. Nos tubérculos da batata, o H₂O₂ formado foi rapidamente eliminado pela ação das catalases, enzimas pré-existentes em praticamente todos os tecidos vivos.

Questionário:

1. Apresente a reação das catalases, indicando o substrato e os produtos.



O substrato da reação é o H₂O₂ e os produtos são a H₂O e o O₂, que forma as bolhas.

2. Cobrindo-se as fatias de batata com água oxigenada, observou-se maior evolução de bolhas de oxigênio nos tecidos da periferia do que nos tecidos internos. Por quê?

A maior evolução de bolhas na periferia do tubérculo se justifica pela maior atividade metabólica nessa região, uma vez que, por ser um caule tuberoso, as atividades meristemáticas e respiratórias são mais intensas na periferia (próximo às gemas, córtex e anel vascular) do que nas porções internas (medula), onde predomina o acúmulo de amido nos amiloplastos.

3. Que diferenças existem entre as catalases, as peroxidases e as desidrogenases quanto às reações que elas catalisam?

Essas três enzimas estão relacionadas às atividades oxidativas e antioxidativas celulares. Todavia, as catalases apresentam o H₂O₂ como substrato, liberando H₂O e O₂ como produtos. Já as peroxidases utilizam o H₂O₂ como agente oxidante de determinados compostos orgânicos, especialmente dos compostos fenólicos. As desidrogenases, por sua

vez, são enzimas oxidativas envolvidas em diferentes tipos de reações de oxidação de compostos orgânicos e que utilizam NAD^+ e FAD como coenzimas. Tais enzimas atuam, especialmente, em reações nas quais são formados o NADH e FADH_2 , fontes de elétrons (poderes redutores) para a CTE.

4. Explique as diferenças entre enzimas “preexistentes” e enzimas sintetizadas “*de novo*”. A que grupo as catalases pertencem?

Enzimas preexistentes são aquelas encontradas sempre em níveis mais ou menos constantes nas células, uma vez que, normalmente, estão relacionadas a processos essenciais do metabolismo, como, por exemplo, a eliminação de EROs e de radicais livres. Ao contrário, enzimas sintetizadas *de novo* incluem aquelas enzimas cuja expressão gênica desempenha um papel importante em seu controle. Elas são sintetizadas em resposta a condições específicas, envolvendo síntese proteica estimulada por sinais do metabolismo, por hormônios e/ou pelo ambiente. As catalases são oxirredutases pertencentes ao grupo das enzimas preexistentes, também denominadas “constitutivas”, o que ocorre devido a sua atuação na eliminação do H_2O_2 do metabolismo celular.

5. Como são formadas as espécies reativas de oxigênio durante o processo respiratório? Como elas são eliminadas do metabolismo?

A formação espécies reativas de oxigênio (EROs) ocorre porque o oxigênio pode receber elétrons em diferentes vias metabólicas, originando moléculas instáveis pelo fato de seus átomos possuírem número ímpar de elétrons (elétrons desemparelhados). Durante o funcionamento da CTE, duas rotas distintas podem operar: a rota oxidativa, que consiste na formação de água após o O_2 receber elétrons da cadeia respiratória (acoplada à fosforilação oxidativa com a formação de ATP); e a rota oxigenativa, na qual o oxigênio forma espécies reativas de oxigênio. As EROs também podem ser formadas em outras rotas metabólicas, como, por exemplo, nas reações fotoquímicas da fotossíntese.

Quando o O_2 recebe elétrons (e^-), ele pode originar o radical superóxido (O_2^-). O O_2^- , pela ação da enzima superóxido dismutase (SOD), forma peróxido de hidrogênio (H_2O_2), um potente agente oxidante e inibidor de muitas enzimas. Para não comprometer o metabolismo, o H_2O_2 deve ser rapidamente eliminado pela ação de diferentes enzimas. O H_2O_2 é substrato das catalases, enzimas que promovem a transformação do peróxido de hidrogênio em água e oxigênio.

Bibliografia:

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

SCANDALIOS, J. G. **Catalases in plants: gene structure, properties, regulation, and expression**. In: Scandalios, J. G.; Guan, L.; Polidoros, A. N. (Eds.). *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defenses*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997. p. 343-406.

Prática 2.1 - Atividade Desidrogenativa em Sementes

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A fervura das sementes causou a desnaturação das enzimas e, portanto, inativou as desidrogenases. Essas enzimas ocorrem nas regiões vivas dos tecidos e, por isso, o teste do tetrazólio é empregado em laboratórios de análise de sementes visando avaliar-se a capacidade de germinação das sementes. Esse teste pode ser empregado para a detecção de viabilidade (respiração) em qualquer tecido vivo. Todavia, a sua aplicação na avaliação da viabilidade e vigor de sementes exige o estabelecimento prévio de padrões, obtidos a partir de estudos morfológicos (anatômicos) das estruturas das sementes, visando identificar as porções em que manutenção da viabilidade é fundamental.

O teste realizado em aula prática também pode ser usado para se observar diferenças morfofisiológicas entre as sementes de mono- e de eudicotiledôneas. Nas monocotiledôneas (milho), as partes vivas das sementes são o embrião e o escutelo, sendo o endosperma $3n$ (albúmen) um tecido sem atividade de desidrogenases. Nas eudicotiledôneas (feijão), o embrião e os cotilédones são tecidos vivos e, portanto, ambos apresentam resposta positiva ao tetrazólio (aparecimento de coloração vermelha).

Em resumo, a aula prática demonstrou a ocorrência *in situ* da atividade das desidrogenases, importantes enzimas respiratórias cuja ação está diretamente relacionada à síntese de poder redutor (NAD(P)H), utilizado na cadeia de transporte de elétrons. A aula prática permitiu a verificação *in situ* da ocorrência de atividade metabólica e a viabilidade dos tecidos, sendo de utilidade prática em laboratórios de análise de sementes. O teste do tetrazólio é uma técnica que tem, como base, diferentes conceitos relacionados à respiração.

Questionário:

1. O teste do tetrazólio é específico para se determinar a atividade de que tipo de enzima?

O teste do tetrazólio, utilizando-se o cloreto de trifeniltetrazólio (TTC), é específico para se determinar a atividade das desidrogenases, enzimas importantes da respiração.

2. Por que o teste do tetrazólio pode ser usado para indicar a vitalidade de sementes?

As desidrogenases podem transferir elétrons para compostos orgânicos não encontrados em organismos vivos como, por exemplo, para sais de tetrazólio. Com o uso do tetrazólio é possível demonstrar a ocorrência "*in situ*" da atividade das desidrogenases, uma vez que o tetrazólio, na forma reduzida, é insolúvel e se precipita como trifetil-formazana (coloração vermelha) nos tecidos onde essas enzimas ocorrem. A atividade das desidrogenases é considerada sinal de vitalidade dos tecidos vegetais e, no caso de sementes, pode ser utilizada para indicar sua germinabilidade.

3. Quais regiões das sementes se colorem de vermelho?

Nas monocotiledôneas (milho) as partes vivas das sementes são o embrião ($2n$) e o escutelo ($2n$), sendo o endosperma $3n$ (albúmen) um tecido sem atividades de desidrogenases.

Nas eudicotiledôneas (feijão), o embrião e os cotilédones são tecidos vivos e, portanto, ambos se colorem pela ação das desidrogenases sobre o tetrazólio. Quando os grãos são fervidos a coloração vermelha fica fraca (tempo de fervura reduzido) ou não aparece (tempo de fervura longo), pois a fervura desnatura as proteínas e enzimas, dentre elas as desidrogenases, causando a morte do embrião e das outras partes vivas das sementes.

4. Descreva a reação que leva ao aparecimento da coloração vermelha nos tecidos das sementes.

Quando os sais de tetrazólio encontram-se oxidados eles são incolores. Todavia, a coloração vermelha aparece quando os sais de tetrazólio tornam-se reduzidos pela ação das desidrogenases presentes nos tecidos das sementes.

Tetrazólio oxidado (solúvel e incolor) + AH₂ ⇒ desidrogenases ⇒ Tetrazólio reduzido (insolúvel e vermelho)

5. As zonas meristemáticas de raízes vivas apresentam reação positiva ao teste do TTC e partes suberosas de raízes velhas dão resultado negativo a esse tipo de teste. Explique essas diferenças nas respostas.

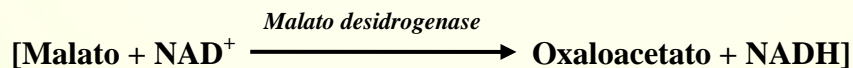
As desidrogenases encontram-se ativas e em grandes quantidades nas zonas meristemáticas de raízes vivas devido à intensa respiração e atividade metabólica nesses tecidos. Por esse motivo, o teste de TTC apresenta resultado positivo nessa região. Em contraste, em raízes suberosas e velhas, esses tecidos estão mortos e, portanto, as desidrogenases não estão mais ativas.

6. Apresente exemplos de quatro desidrogenases.

Malato desidrogenase, succinato desidrogenase, isocitrato desidrogenase e piruvato desidrogenase.

7. Escreva a equação geral para a ação das desidrogenases e os substratos e produtos da malato desidrogenase.

[BH₂ (substrato reduzido) + A (aceptor oxidado) ⇒ Desidrogenases ⇒ B (produto oxidado) + AH₂ (aceptor reduzido)]



8. Qual é a importância das desidrogenases no processo respiratório?

A respiração aeróbica é um processo de oxidação que envolve a retirada de elétrons e de hidrogênios de determinados intermediários metabólicos, culminando com a transferência desses elétrons ao oxigênio, com a formação de água. Esse processo oxidativo libera gradativamente grandes quantidades de energia, que é utilizada para a produção de ATP, coenzima fundamental para a manutenção e crescimento dos organismos. A remoção dos elétrons é catalisada por diferentes desidrogenases, que ocorrem nas etapas da glicólise/rota das pentoses monofosfato, no ciclo de Krebs e na CTE. Os elétrons não são transferidos diretamente das desidrogenases para o oxigênio, mas para as coenzimas NAD⁺ (formando NADH) ou FAD (formando FADH₂), utilizadas como poder redutor (fonte de elétrons) na CTE da respiração.

9. Por que a utilização do teste do tetrazólio para espécies ainda não domesticadas exige o estabelecimento de padrões?

Quando se deseja utilizar o teste do tetrazólio para avaliar a viabilidade das sementes de uma espécie ainda não domesticada, torna-se necessária a realização prévia de análises morfo-anatômicas. Isso é importante para se conhecer a organização espacial das principais estruturas da semente, como o embrião, endosperma, escutelo, cotilédones, tegumento, etc. Somente com esse conhecimento prévio é possível identificar regiões essenciais para a manutenção da viabilidade das sementes. Além disso, após a obtenção dessas informações, os resultados estimados em laboratórios devem ser comparados com testes realizados em condições de campo. Somente quando esses valores tornam-se próximos é que o teste de laboratório com o tetrazólio poderá ser empregado com segurança.

10. No que diferem os processos de germinação, considerando critérios biológicos e critérios agrônômicos?

Em relação ao critério biológico, considera-se uma semente germinada quando ela lança a radícula ou a plúmula, rompendo a casca (tegumento), o que não significa, necessariamente, que a semente em questão irá continuar o processo germinativo, originando uma plântula viável. Em contraste, sob o ponto de vista agrônômico, considera-se a semente germinada somente quando a plântula rompe o solo e se estabelece com sucesso.

Bibliografia:

FELIPPE, G. M.; VÁLIO, I. F. M.; PEREIRA, M. F. A.; SHARIF, R. R.; SANTOS, S. R. V. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 2nd. Ed. Campinas: Ed. Unicamp, 1985. 66 p.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2^a. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

ROBERTS, L. W. A survey of tissues that reduce 2,3,5-triphenyl-tetrazolium chloride in vascular plants. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, v. 77, n. 5, p. 372-381, 1950.

ROSS, C.W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

SMITH, F. E. Tetrazolium salt. **Science**, v. 113, n. 2948, p. 751-754, 1951.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 2.2 - Efeitos da Qualidade da Luz na Germinação de Sementes Fotoblásticas

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

As sementes de fumo, quando recém-colhidas, apresentam fotoblastismo positivo e somente germinam se forem mantidas sob as luzes branca ou vermelha, uma vez que, nessas condições, o fitocromo vermelho (F_V) se transforma em fitocromo vermelho-longo (F_{VL}), que corresponde à forma biologicamente ativa. Nas sementes fotoblásticas positivas, uma elevada relação F_{VL}/F_V é o sinal para que ocorra no embrião e no escutelo a síntese de giberelinas naturais (GA_1), fitormônios responsáveis pelo estímulo à síntese das enzimas hidrolíticas e fosforolíticas envolvidas na quebra das reservas, possibilitando o aumento da respiração e, conseqüentemente, a germinação das sementes. No escuro e sob iluminação na faixa do vermelho-longo, predomina a forma F_V do fitocromo (relação F_{VL}/F_V baixa), que é inativa para a germinação.

Nas sementes fotoblásticas positivas, além da embebição, a predominância da forma F_{VL} do fitocromo é condição fundamental para que a germinação aconteça, proporcionando um ajuste fino no processo germinativo, o que pode aumentar as chances de sucesso no estabelecimento das plântulas.

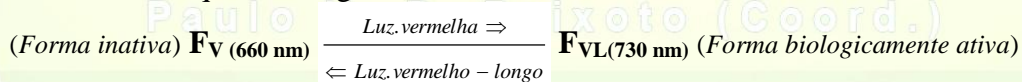
A ocorrência de germinação das sementes de fumo no escuro se deu apenas na presença de GA_3 , mostrando a importância da síntese de giberelinas naturais no início da cascata de eventos que também conta com a participação da luz, do fitocromo e de enzimas hidrolíticas e fosforolíticas. Esses eventos parecem ser comuns à germinação de sementes fotoblásticas positivas.

Em resumo, a aula prática demonstrou a importância da qualidade da radiação luminosa na germinação de sementes fotoblásticas positivas, além da contribuição do fitocromo, como molécula sinalizadora, e das giberelinas, como substância reguladora do processo germinativo.

Questionário:

1. Qual é o pigmento envolvido na germinação das sementes fotoblásticas e quais são os comprimentos de onda mais efetivos para ativação desse processo?

O pigmento envolvido é o fitocromo, uma cromoproteína que se apresenta sob duas formas fotoconversíveis, o F_V e o F_{VL} . Os comprimentos de onda mais efetivos para as fotorreversões são o vermelho (660 nm; para o F_V) e o vermelho-longo (730 nm; para o F_{VL}). A radiação na faixa do vermelho estimula a germinação, enquanto no vermelho-longo inibe o processo, conforme esquema a seguir:



2. Por que as sementes de fumo, utilizadas na aula, praticamente não germinaram no escuro?

Porque as sementes de fumo utilizadas no ensaio eram recém-colhidas e apresentavam fotoblastismo positivo. Nessa condição, para germinar, além da embebição, elas exigem a

predominância da forma fisiologicamente ativa do fitocromo (F_{VL}). Todavia, no escuro, predomina a forma inativa (F_V) do fitocromo, que inibe a germinação.

Geralmente, sementes pequenas e com reduzida quantidade de reservas, quando recém-colhidas, são fotoblásticas positivas e exigem luz para germinação, condição essencial para a síntese de giberelinas naturais que, por sua vez, estimulam a produção das enzimas hidrolíticas/fosforolíticas envolvidas na quebra das reservas armazenadas no endosperma. Adicionalmente, a luz, com a participação do fitocromo, também pode estimular a conversão de giberelinas inativas em suas formas ativas.

3. Explique de que maneira a luz pode desencadear a germinação de sementes fotoblásticas positivas.

Nas sementes fotoblásticas positivas, além da embebição, a luz também é necessária para que a germinação ocorra, pelo menos enquanto as sementes estão novas (recém-colhidas). Após a embebição das sementes, ao receberem estímulo luminoso, o fitocromo vermelho (F_V) transforma-se em fitocromo vermelho longo (F_{VL}). Este é o sinal para que ocorra a síntese de giberelinas naturais ou a sua conversão em formas ativas. As giberelinas são responsáveis pelo estímulo à síntese das enzimas hidrolíticas/fosforolíticas envolvidas na quebra de reservas e, conseqüentemente, na germinação das sementes, especialmente em espécies que possuem sementes pequenas e com reduzida quantidade de reservas.

4. Algum grupo de fitormônio pode substituir a luz na germinação de sementes fotoblásticas positivas?

Sim. Em sementes de certas espécies, o ácido giberélico (GA_3) ou outras giberelinas (GA_4 , GA_7 , etc.), podem estimular, mesmo no escuro, a síntese das enzimas hidrolíticas/fosforolíticas envolvidas na quebra das reservas, promovendo a germinação.

5. Se as sementes forem colocadas para germinar em total obscuridade e se essa condição for interrompida com a ligação de uma luz vermelha, o que acontecerá? E se a iluminação for com luz vermelho-distante?

Na presença de luz vermelha haverá aumento na quantidade de fitocromo F_{VL} , forma biologicamente ativa, favorecendo a síntese de giberelinas e de enzimas hidrolíticas/fosforolíticas, resultando na quebra das reservas e, conseqüentemente, na germinação. Com iluminação de vermelho longo, não haverá germinação, pois predominará a forma F_V do fitocromo, que é biologicamente inativa, não havendo síntese de giberelinas e das enzimas necessárias ao processo germinativo.

6. Apresente exemplos de espécies de interesse comercial que possuem sementes fotoblásticas positivas.

Alface, fumo, alfavaca, alpiste, espécies forrageiras (braquiárias, capim colômbio, etc.), dentre outras. Geralmente, espécies que possuem sementes muito pequenas e com pouca quantidade de reservas, quando recém-colhidas, são fotoblásticas positivas. A exigência por luz evita que elas germinem no escuro ou quando se encontram completamente soterradas, o que pode comprometer o estabelecimento das suas plântulas. Todavia, a exigência por luz é perdida à medida que elas envelhecem.

7. Considerando-se os resultados da aula, como a preparação do solo poderia aumentar a quantidade de ervas daninhas? Que alternativa à aração poderia evitar o aparecimento de ervas daninhas?

A pequena quantidade de radiação que penetra nos primeiros milímetros do solo é caracterizada por uma alteração no espectro da radiação, que passa a apresentar baixa relação vermelho/vermelho-longo. Com o preparo da terra pela aração, o solo sofre inversão e as camadas que anteriormente se encontravam soterradas são expostas à luz solar direta. Como na luz solar direta predomina a radiação vermelha, o fitocromo, nas sementes expostas, passa da forma F_V (inativa) para a forma F_{VL} (biologicamente ativa), favorecendo a síntese/ativação de giberelinas e de enzimas, resultando na quebra das reservas e, conseqüentemente, na germinação. Assim, se as sementes das ervas daninhas presentes no solo forem fotoblásticas positivas, elas ficarão expostas às condições ideais de estímulo à germinação.

Para se evitar a germinação das sementes de ervas daninhas, como consequência do preparo do solo, uma alternativa possível é a aplicação associada de herbicidas, logo após a aração, ou a utilização da técnica de plantio direto.

8. Como se explica o estabelecimento de novas espécies de plantas em áreas formadas após a abertura de clareiras em florestas? Em relação à exigência por luz, que tipos de plantas predominavam nos sub-bosques, antes da abertura da clareira, e quais espécies irão predominar após a formação da clareira?

Quando uma mata encontra-se fechada, a copa das árvores filtra a radiação luminosa. Externamente à copa, predomina a radiação vermelha. Todavia, no interior da mata (solo e serrapilheira), pelo efeito de filtração da radiação pela copa, predomina a radiação vermelho-longo. Se as sementes que ocorrerem na área forem fotoblásticas positivas elas não germinarão enquanto a radiação predominante for a vermelho-longo. Ao se abrir uma clareira, a radiação que passa a predominar na superfície do solo e na serrapilheira é a vermelha, fazendo com que o fitocromo, nas sementes, passe da forma F_V (inativa) para a forma F_{VL} (biologicamente ativa), favorecendo a síntese/ativação de giberelinas e de enzimas, resultando na quebra das reservas e, conseqüentemente, na germinação. Portanto, as sementes terão as condições ideais de estímulo à germinação.

Antes da abertura da clareira predominavam, no sub-bosque, espécies de sombra (umbrófilas). Após a abertura da clareira, passam a predominar espécies pioneiras (heliófilas), que irão recolonizar a área exposta à radiação direta, favorecendo a sucessão ecológica e o restabelecimento da área.

9. Qual é a importância ecológica e quais são os hábitos predominantes em espécies que possuem sementes fotoblásticas positivas e negativas?

Aparentemente, as ocorrências de respostas fotoblásticas positivas e negativas estão associadas a adaptações ecológicas dessas espécies ou são decorrentes de fatores relacionados à morfologia do tegumento das sementes.

Nas sementes fotoblásticas positivas, a exigência por luz parece estar relacionada à identificação de condições de iluminação adequadas para a germinação, evitando que as sementes germinem no escuro, soterradas ou em ambientes sombreados. Isso ocorre, principalmente, em sementes de espécies que apresentam quantidades reduzidas de reservas em seus endospermas/cotilédones (sementes pequenas). Todavia, com o envelhecimento, as sementes tornam-se indiferentes à luz. Aparentemente, mesmo sob condições inadequadas, a germinação torna-se interessante na perspectiva de que as condições de iluminação possam

ser alteradas e favoreçam o estabelecimento das plântulas. Em muitos casos, as espécies que possuem sementes fotoblásticas positivas são espécies pioneiras.

Por sua vez, espécies que possuem sementes fotoblásticas negativas e que somente germinam no escuro, têm esse fenômeno provocado pela morfologia de seu tegumento. Essa resposta, aparentemente, não é relacionada a qualquer adaptação ecológica nessas espécies. Em sementes de maxixe (*Cucumis anguria*), por exemplo, o tegumento atua como filtro de radiação, aumentando a quantidade de radiação VL que alcança o interior da semente, estimulando o acúmulo de fitocromo em sua forma inativa (F_V). A escarificação das sementes de maxixe elimina os efeitos da filtração causados pelo tegumento, possibilitando a germinação mesmo em presença de luz.

Bibliografia:

- BORTHWICK, H. A.; HENDRICKS, S. B.; TOOLE, E. H.; TOOLE, V. K. Action of light on lettuce-seed germination. **Botanical Gazette**, v. 115, n. 3, p. 205-225, 1954.
- FELIPPE, G. M.; VÁLIO, I.F.M.; PEREIRA, M.F.A.; SHARIF, R.R.; SANTOS, S.R.V. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 2nd. Ed. Campinas: Unicamp, 1985. 66 p.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2^a. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HENDRICKS, S. B.; BORTHWICK, H. A. The function of phytochrome in regulation of plant growth. **PNAS**, v. 58, n. 5, p. 2125-2130, 1967.
- IKUMA, H.; THIMANN, K. V. Action of gibberellic acid on lettuce seed germination. **Plant Physiology**, v. 35, n. 5, p. 557-566, 1960.
- ROSS, C.W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SCHEIBE, J.; LANG, A. Lettuce seed germination: evidence for a reversible light-induced increase in growth potential and for phytochrome mediation of the low temperature effect. **Plant Physiology**, v. 40, n. 3, p. 485-492, 1965.

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 2.3 - Escarificação de Sementes e Quebra da Dormência

Fundamentação teórica:

A dormência se caracteriza pela incapacidade de germinação das sementes, mesmo sob condições ambientais favoráveis. O conceito de dormência difere da quiescência, que se caracteriza pela não germinação das sementes devido à falta de algum fator ambiental necessário à ativação do processo. A dormência é comum em espécies não domesticadas. Entretanto, é indesejável em sementes de espécies agrícolas (domesticadas e/ou melhoradas), que são selecionadas para germinar rapidamente logo após a embebição. A dormência pode ter origem na casca (tegumento), no embrião ou no endosperma (dormência interna), ou ser causada por ambos. As sementes podem apresentar casca dura ou impermeável, rica em esclerédeos, tricomas e/ou ceras (materiais hidrofóbicos), que endurecem a estrutura e/ou impedem a embebição. A escarificação é o procedimento utilizado para eliminar essa causa de dormência, podendo ser realizada, principalmente, pelo tratamento das sementes com ácidos (química), com água quente (térmica), com impactos e lixas (mecânica).

Dos materiais utilizados na aula prática, a mamona e o milho são espécies cultivadas, cujas sementes germinam mesmo sem escarificação, uma vez que elas não apresentam dormência. Por sua vez, as sementes de sabão-de-soldado, espécie não domesticada, apresentam casca dura e, por isso, a sua germinação foi estimulada pela escarificação mecânica.

Em resumo, esta aula prática mostrou a ocorrência de dormência em sementes de uma espécie não domesticada. A dormência apresenta implicações ecológicas que contribuem para proteção das plantas contra a germinação das sementes sob condições ambientais adversas, além de aumentar a possibilidade de dispersão, reduzindo a competição intraespecífica.

Questionário:

1. O que difere uma semente dormente de uma semente quiescente?

Uma semente verdadeiramente dormente não germina mesmo que as condições ambientais favoráveis ao processo estejam disponíveis. O conceito de dormência difere do conceito de quiescência, que, por sua vez, se caracteriza pela não germinação das sementes em decorrência da falta de algum fator abiótico necessário à ativação do processo. Por exemplo, uma semente quiescente germina assim que sofrer embebição, o que não acontece com uma semente dormente.

2. Qual é a importância ecológica da dormência nas sementes?

As sementes representam a melhor forma de preservação e perpetuação das espécies em diferentes condições ambientais, especialmente em situações em que a planta, após a germinação, não conseguiria sobreviver. As sementes toleram condições de seca, de fogo, de temperaturas elevadas e de congelamento, entre outras condições abióticas desfavoráveis. Portanto, a dormência impede a germinação sob condições adversas, além de possibilitar a dispersão e, dessa forma, reduzir a competição intraespecífica.

3. Quais são as principais causas de dormência em sementes?

A dormência pode ter origem na casca (tegumento), no embrião ou no endosperma (dormência endógena), ou ser causada por ambos. As sementes podem apresentar casca dura ou impermeável, rica em esclereídeos, tricomas e/ou ceras (materiais hidrofóbicos), que endurecem a estrutura e/ou impedem a embebição.

A dormência embrionária pode ser causada por fatores ligados ao embrião ou associados a outras partes internas ao tegumento da semente, principalmente ao endosperma. Algumas espécies apresentam concentrações elevadas de substâncias inibidoras da germinação, como, por exemplo, compostos cianogênicos, substâncias fenólicas solúveis, etileno e, principalmente, o ácido abscísico.

Em algumas espécies, o embrião encontra-se efetivamente dormente, o que geralmente está associado ao seu desenvolvimento incompleto (embrião malformado). Algumas variedades de pessegueiro apresentam dormência embrionária e não germinam logo após a dispersão. A germinação das sementes dessas plantas exige a aplicação da técnica da estratificação, que consiste no armazenamento das sementes sob refrigeração (temperaturas entre 7-10°C), até que o embrião se desenvolva completamente, o que se alcança entre 15 a 30 dias após o seu início. Após o desenvolvimento do embrião, as sementes são colocadas para germinar sob temperatura mais elevadas, acima de 20°C, demonstrando que a temperatura de estratificação difere bastante da temperatura ideal para a germinação.

4. Por que a ocorrência de dormência não é adequada para sementes domesticadas (agrícolas)?

Sementes agrícolas são domesticadas e geneticamente melhoradas para a uma alta produção. Todavia, as plantas formadas a partir dessas sementes são muito sensíveis à competição e, por isso, uma germinação rápida é necessária para se evitar a concorrência de ervas daninhas e, também, para possibilitar o estabelecimento e o desenvolvimento da cultura durante a estação de cultivo, especialmente em regiões temperadas.

5. Como a escarificação contribui para a quebra da dormência?

A escarificação faz com que o material que compõe a estrutura do tegumento das sementes seja lixado, arranhado, quebrado e/ou enfraquecido, facilitando a embebição e, posteriormente, a protrusão da radícula ou da parte aérea, acelerando e facilitando o estabelecimento das plântulas.

Bibliografia:

ROLSTON, M. P. Water impermeable seed dormancy. **The Botanical Review**, v. 44, n. 3, p. 365-396, 1978.

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Prática 3.1 - Pigmentos Hidrossolúveis e Lipossolúveis em Tecidos Vegetais

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A adição de água e o posterior acréscimo de éter etílico ao funil de separação resultaram no estabelecimento de duas fases de baixa miscibilidade, demonstrando que, mesmo em folhas coloridas (vermelhas, azuis, etc.), os pigmentos fotossintéticos também se encontram presentes. Embora mascarados pelos pigmentos hidrossolúveis (antocianinas ou betalaínas) acumulados no vacúolo, as clorofilas e os carotenoides encontram-se integrados às membranas dos tilacoides, exercendo as suas funções na fotossíntese.

As mudanças de coloração nas soluções provenientes da fase inferior do funil de separação confirmaram a presença de pigmentos flavonoides (antocianinas e betalaínas), cuja coloração é dependente do pH.

Por sua vez, o aparecimento de coloração verde na fase inferior do tubo de ensaio contendo água e pigmentos totais, onde foram adicionadas gotas de KOH, é explicado pela quebra das ligações éster das moléculas das clorofilas, entre o tetrapirrol (cromóforo) e a cauda do álcool fitol. Como a coloração das clorofilas é devida ao tetrapirrol e essa porção é polar (hidrofílica), ela tem maior afinidade pela água (fase inferior) do que pelo éter (fase superior). Após a adição do KOH ao tubo de ensaio contendo água e solução de pigmentos totais, ficaram na fase superior as moléculas de clorofilas que não foram quebradas, os carotenoides e as caudas do álcool fitol liberadas após a quebra da ligação éster pelo tratamento das moléculas de clorofila com o KOH.

Em resumo, a aula prática demonstrou que os pigmentos fotossintéticos são lipossolúveis, mas que a coloração verde característica de algumas folhas pode ser mascarada pela presença de outros pigmentos não fotossintéticos e hidrossolúveis (flavonoides), armazenados nos vacúolos.

Questionário:

1. Considerando-se as propriedades gerais de solubilidade dos pigmentos dos cloroplastos das fanerógamas, seria provável a sua presença nos vacúolos de folhas fotossintetizantes? Em algum outro grupo fotossintetizante isso é conhecido?

Não, pois nas fanerógamas esses pigmentos são lipossolúveis. Eles apresentam baixíssima afinidade por solventes polares, condição predominante no vacúolo devido à água e à grande quantidade de íons armazenados nessa organela. Todavia, embora sejam pigmentos hidrossolúveis, as ficocianinas e as ficoeritrinas encontram-se presentes nos cloroplastos de algas vermelhas e associados aos tilacoides das algas azuis.

2. Quais são os pigmentos lipossolúveis das plantas verdes? Onde eles se localizam nas células?

Os pigmentos lipossolúveis das plantas verdes são as clorofilas *a* e *b* e os carotenoides (carotenos e xantofilas). Esses pigmentos se localizam nos cloroplastos, mais especificamente nas membranas lipoproteicas dos tilacoides, fazendo parte das antenas dos fotossistemas.

3. Quais são os pigmentos hidrossolúveis das plantas verdes e em que parte das células eles se encontram?

Esses pigmentos correspondem aos flavonoides, com destaque para as antocianinas e betalaínas. Esses pigmentos encontram-se dissolvidos em água na solução vacuolar.

4. O que é possível concluir com o resultado da quebra da ligação entre o tetrapirrol e a cauda fitol das moléculas de clorofilas pelo KOH 3N?

Que as moléculas de clorofilas somente se ligam às membranas dos tilacoides devido a sua porção apolar (cauda do álcool fitol) e que a sua coloração é devida ao tetrapirrol (porção cromofórica).

5. Por que é possível afirmar, com certeza, que as antocianinas não participam da fotossíntese?

Por que esses pigmentos encontram-se armazenados nos vacúolos e não nos cloroplastos, impossibilitando a sua participação direta na fotossíntese. Todavia, a sua contribuição para a proteção do aparelho fotossintético não pode ser desprezada, contribuindo como filtros da radiação ultravioleta, prejudicial aos pigmentos envolvidos na fotossíntese.

6. Quais são as funções dos flavonoides (antocianinas e betalaínas) nos tecidos vegetais?

Além de sua importância como atrativo para insetos e outros polinizadores, os flavonoides também afetam o modo pelo qual as plantas interagem com outros organismos, como, por exemplo, com as bactérias simbióticas, que vivem no interior das raízes de leguminosas e com microorganismos fitopatogênicos. Os flavonoides também têm sido utilizados como marcadores, na quimiotaxonomia, além de apresentarem reconhecida atividade antioxidante. Sua ação direta na fotossíntese não é provável, embora estejam comumente associados à proteção do aparelho fotossintético contra os danos provocados pela radiação ultravioleta.

7. Por que certos frutos ficam mais vermelhos quando exposto à luz solar?

Porque os níveis elevados de radiação luminosa, que se tornam disponíveis quando os frutos são expostos à luz do sol, são fatores que estimulam o acúmulo de antocianinas.

8. Se você fizesse um extrato de pétalas de uma flor vermelha, que tipo de pigmento seria encontrado ao fazer sua separação por partição em solventes? O que aconteceria se você alterasse o pH das soluções?

Na fase inferior do sistema de separação, seriam encontrados pigmentos hidrossolúveis (flavonoides), como as antocianinas. A coloração das soluções variaria de acordo com a mudança do pH do extrato de pétalas. Em se tratando de pétalas, o mais comum é a presença de pigmentos hidrossolúveis. Todavia, caso existissem pigmentos carotenoides vermelhos nas pétalas, a fase superior também poderia se manter avermelhada, uma vez que esses pigmentos são lipossolúveis.

9. Considerando os efeitos do pH sobre as antocianinas, você acredita que diferenças no pH dos tecidos possam contribuir para a variação nas cores das pétalas das flores? Explique.

Como as antocianinas têm a sua coloração comprovadamente influenciada pelo pH, variações no pH dos tecidos e até mesmo do solo, poderão influenciar na coloração de pétalas de flores. Em algumas espécies esse é um fenômeno conhecido, como, por exemplo, em pétalas de hortênsia (*Hydrangea* spp.). Solos ácidos produzem flores azuis e solos alcalinos dão origem a plantas com flores coloração rósea. Algumas flores também mudam de cor ao longo do dia, como ocorre em plantas de quiabo e de algodão, o que parece estar relacionado a variações no pH dos seus vacúolos.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 3.2 - Separação dos Pigmentos Cloroplastídicos por Cromatografia em Papel

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) *Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos*. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A separação dos pigmentos é explicada pelas diferentes afinidades que cada um deles apresenta pelas fases móvel (tetracloreto de carbono) ou estacionária (água do papel) do sistema. Como os pigmentos apresentam diferentes estruturas químicas, os mais apolares são mais arrastados pela fase móvel, ficando mais distanciados da origem. O grau de apolaridade dos pigmentos varia na seguinte ordem: carotenos (mais apolares), xantofilas, clorofila *a* e clorofila *b* (menos apolares). A ordem de separação dos pigmentos no cromatograma segue essa ordem. Como os carotenos são hidrocarbonetos (apolares), eles se distanciam mais da origem, sendo o mais arrastado pelo tetracloreto. As xantofilas, hidrocarbonetos oxigenados, localizam-se abaixo dos carotenos, havendo um espaço entre eles. Mais abaixo e distanciadas das xantofilas, localizam-se as duas clorofilas. Devido à presença do radical metil (-CH₃; apolar) apolar na sua molécula, a clorofila *a* localiza-se ligeiramente mais distanciada da origem do que a clorofila *b*, que, em contraste, apresenta o radical aldeído (-CHO; polar) na sua estrutura. Como essa é a única diferença entre as estruturas das clorofilas *a* e *b*, as bandas correspondentes a elas geralmente não se separam no cromatograma.

Em resumo, a aula prática demonstrou que pelo menos quatro diferentes tipos de pigmentos relacionados à fotossíntese são encontrados em folhas de angiospermas: clorofila *a*, clorofila *b*, carotenos e xantofilas. Esses pigmentos se separaram em função de seus diferentes níveis de apolaridade e de afinidade pelos solventes presentes no sistema (água e tetracloreto de carbono), o que determinou suas diferentes posições no cromatograma.

Questionário:

1. Descreva as principais características das estruturas moleculares dos pigmentos dos cloroplastos e compare esses pigmentos quanto as suas polaridades.

Clorofilas - As moléculas da clorofila *a* são constituídas por um anel tetrapirrólico de cadeia fechada, contendo um átomo de magnésio no centro do tetrapirrol. As moléculas de clorofila *a* apresentam no anel 2 um radical metil (-CH₃), o que as difere das moléculas de clorofila *b* que, nesse anel, apresentam um radical aldeído ou formil (-CHO). Essa é a única diferença entre as moléculas das clorofilas *a* e *b*.

Carotenoides - Os carotenoides constituem um grupo de pigmentos que incluem principalmente os carotenos e as xantofilas. Os carotenos são hidrocarbonetos, enquanto as xantofilas (zeaxantina, anteraxantina e violaxantina) são hidrocarbonetos que contém alguns átomos de oxigênio nas suas moléculas.

Pelas diferenças entre as estruturas químicas, pode-se concluir que os carotenoides são mais apolares do que as clorofilas.

2. Como é explicada a separação dos pigmentos pela cromatografia em papel, considerando-se a estrutura molecular de cada composto?

Os pigmentos que participam da fotossíntese são predominantemente apolares, estando associados às porções lipídicas das membranas dos tilacoides. Cada tipo de pigmento tem

uma estrutura química definida, o que determina uma apolaridade maior ou menos intensa. A separação dos pigmentos na cromatografia em papel ocorre devido a maior afinidade dos pigmentos ou pela água do papel (fase estacionária; polar; associada às microfibrilas de celulose) ou pelo tetracloreto de carbono (fase móvel; solvente orgânico apolar adicionado no fundo da cuba). Quanto maior a afinidade do pigmento pela fase estacionária (água), menor será a sua movimentação na tira de papel. Em contraste, quanto mais apolar for o pigmento e, conseqüentemente, maior for a sua afinidade pelo tetracloreto de carbono (fase móvel), mais arrastado ele será na tira de papel e mais distante ele ficará da origem do cromatograma.

3. Por que as clorofilas *a* e *b* quase sempre não se separam na cromatografia em papel?

As clorofilas *a* e *b* possuem estruturas moleculares muito parecidas e, por isso, possuem afinidades pela água e pelo tetracloreto de carbono muito próximas, dificultando a sua completa separação na cromatografia de papel.

4. Identifique as fases estacionária e móvel do sistema cromatográfico. Explique como elas atuam na separação dos pigmentos.

A água corresponde à fase estacionária, que se encontra adsorvida às microfibrilas de celulose do papel (matriz). Os pigmentos menos apolares têm maior afinidade pela água, ficando mais retidos à matriz da tira de papel, o que dificulta o seu distanciamento da origem. O tetracloreto de carbono corresponde à fase móvel e pelo fato de ser um solvente orgânico apolar, tem maior afinidade pelos pigmentos mais apolares, carregando os mesmos para regiões mais distanciadas da origem na tira de papel-filtro.

5. Na cromatografia, caracterize os termos: “origem”, “frente” e “valor Rf”.

A *origem* corresponde ao local marcado na base da tira de papel-filtro onde as camadas de extrato dos pigmentos foliares são aplicadas. A *frente* corresponde à posição máxima alcançada pelo tetracloreto de carbono na tira de papel-filtro e, no caso da cromatografia de pigmentos da fotossíntese, se encontra no limite da banda do pigmento mais afastado da origem (pigmento mais apolar; β -caroteno). O *valor Rf* (*Retardation factor*; *Retention factor*), ou fator de atraso, corresponde à relação entre a distância percorrida pela banda contendo cada um dos pigmentos e a distância máxima percorrida pela fase móvel (frente) no cromatograma. O *Rf* pode ser utilizado para a identificação de substâncias, pigmentos, etc., pela comparação dos valores do *Rf* da amostra com valores *Rf* de padrões autênticos conhecidos.

6. Quais são as principais características dos cloroplastos relacionadas à fase fotoquímica da fotossíntese?

Os cloroplastos, organelas vegetais responsáveis pela fotossíntese, apresentam estrutura constituída por dupla membrana (envelope do cloroplasto), pela matriz (estroma) e por membranas internas, que formam os tilacoides, constituídos por um sistema de vesículas achatadas. Os tilacoides apresentam membranas lipoproteicas cuja composição química difere bastante das membranas do envelope.

Os tilacoides apresentam maior proporção de ácidos graxos polinsaturados em suas membranas, o que confere a elas alta fluidez, mas, em contraste, elevada sensibilidade a danos causados por espécies reativas de oxigênio (EROs). A estrutura das membranas dos tilacoides favorece a captura da energia radiante, uma vez que os pigmentos da fotossíntese encontram-

se associados a ela em complexos proteicos denominados fotossistemas. Os fotossistemas encontram-se imersos na bicamada lipídica e são formados por proteínas associadas aos pigmentos fotossintéticos. Cada fotossistema apresenta seu “complexo antena”, que contém os pigmentos acessórios (clorofila *a*, clorofila *b*, carotenos e xantofilas) e um centro de reação, constituído por moléculas de clorofila *a* especiais (P₆₈₀ ou P₇₀₀), únicas moléculas de clorofilas efetivamente envolvidas nos processos de transporte de elétrons na CTE da fotossíntese. Os pigmentos do “complexo antena” transferem a energia absorvida até os centros de reação dos fotossistemas I e II. A transferência da energia de excitação de uma molécula de pigmento a outra ocorre pelo mecanismo de transferência de energia Förster (ressonância), sendo esse processo puramente físico. Os pigmentos são responsáveis pela absorção da energia radiante e pela transferência dessa energia a uma série de compostos oxirredutíveis, que permitem a formação de O₂, ATP e NADPH. Os carotenoides, além de pigmentos acessórios, também atuam como pigmentos fotoprotetores do aparelho fotossintético, protegendo as clorofilas contra o excesso de radiação luminosa.

7. Considerando-se os resultados da aula e conhecendo a estrutura molecular das clorofilas, quais são os efeitos gerais das deficiências de nitrogênio e de magnésio nas plantas?

Como o nitrogênio e o magnésio são componentes importantes das estruturas das moléculas das clorofilas *a* e *b*, plantas deficientes nesses elementos minerais apresentam-se amareladas, uma vez que essas moléculas não conseguem obtê-los em quantidades suficientes para sua síntese. O menor conteúdo de clorofilas nas folhas torna evidente a coloração amarelada dos carotenoides. Como consequência da deficiência desses elementos essenciais, a fotossíntese será negativamente afetada pela redução nos conteúdos de clorofilas nos tecidos.

8. Por que, nas folhas, os carotenoides somente são visualizados durante a senescência?

Durante o desenvolvimento normal das plantas, as folhas adultas apresentam atividade metabólica elevada, fazendo com que a síntese de clorofilas seja intensa para suprir a demanda fotossintética. Todavia, durante a senescência, a síntese das clorofilas é reduzida. Além disso, as moléculas desse pigmento são degradadas pela ação de enzimas clorofilases. Como as clorofilas mascaravam os carotenoides, esses pigmentos passam a ser observados pela coloração avermelhada, amarelada ou alaranjada das folhas somente quando os conteúdos de clorofilas declinam. Esse fenômeno é intenso e muito vistoso durante o outono nas regiões temperadas (EUA, Canadá, Europa, etc.).

Bibliografia:

- BLOCK, R. J.; DURRUM, E. L.; ZWEIG, G. **A manual of paper chromatography and paper electrophoresis.** New York: Academic Press, 1958. 710 p.
- MOORE, T. C. **Research experiences in plant physiology: a laboratory manual.** 2nd Ed. Berlin-Heidelberg: Springer. 1981. 348 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal.** Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

Prática 3.3 - Determinação do Espectro de Absorção dos Pigmentos dos Cloroplastos

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Os espectros de absorção dos pigmentos totais (extrato cetônico) das folhas da espécie de gramínea utilizada na aula assim como os espectros dos pigmentos da fase etérea (superior) de folhas de *Iresine* (ou de *Codiaeum*) apresentaram padrões similares, uma vez que esses extratos continham pigmentos fotossintéticos totais (clorofilas e carotenoides), que absorvem radiação nas faixas do violeta-azul e do laranja-vermelho. Ao contrário do que observado para a maioria dos pigmentos, as clorofilas, além de absorverem radiação luminosa na sua faixa de cor complementar (vermelho), também absorvem radiação luminosa nas faixas do violeta-azul. Os carotenoides, todavia, somente absorvem nas faixas do espectro correspondentes às suas cores complementares (violeta ou azul). Portanto, para soluções contendo pigmentos totais, a taxa de absorção observada na faixa do violeta-azul é devida ao somatório das contribuições das absorções das clorofilas e dos carotenoides. Na faixa do espectro de radiação visível, a menor absorção das clorofilas ocorre desde o início da região do verde até o final do laranja. Acima de 700 nm (vermelho longo), na região do infravermelho, a taxa de absorção da radiação é nula, uma vez que clorofilas vegetais e também os carotenoides não absorvem nessa faixa de radiação.

Os extratos aquosos contendo materiais provenientes da fase inferior do funil de separação, contendo pigmentos extraídos de folhas coloridas de *Iresine* (betalaína) ou de *Codiaeum* (antocianinas), assim como a solução de vermelho de cresol, apresentaram maior absorção na faixa do verde, correspondente à cor complementar dos seus pigmentos. Resultados similares também foram observados para as soluções de bicromato de potássio e de azul de metileno, que absorveram apenas nas faixas do violeta e do laranja, suas respectivas cores complementares.

Ao expormos o conjunto contendo pigmentos cloroplastídicos totais e a solução aquosa de anilina, ambos verdes, a uma fonte de luz, verificou-se o aparecimento de uma coloração avermelhada (ou violácea) apenas no material correspondente aos pigmentos dos cloroplastos. Essas diferenças são explicadas pela natureza química de cada um desses pigmentos. Os pigmentos apresentam fluorescência em faixas específicas do espectro visível, o que depende de sua estrutura química e da faixa de radiação incidente. Alguns pigmentos somente apresentam fluorescência quando estimulados no ultravioleta, podendo emití-la também nessa faixa de radiação. A emissão de fluorescência na região do vermelho é típica das clorofilas, o que não ocorre com o corante de anilina verde utilizado para a comparação.

Plantas de sol apresentam relação clorofila *a/b* próximas a 3/1, enquanto as plantas de sombra apresentam proporções mais baixas. A quantidade de carotenoides totais em plantas de sol também é maior do que em plantas de sombra. Essas diferenças são características quando se comparam plantas umbrófilas e heliófilas. Nas heliófilas, a quantidade de clorofila *a* é maior do que a de clorofila *b*. Além disso, nessas plantas, observa-se um maior acúmulo de carotenoides, o que contribui para a proteção de seu aparelho fotossintético contra a radiação solar excessiva.

Em resumo, a aula prática mostrou que os pigmentos acessórios envolvidos na fotossíntese, clorofilas e carotenoides, absorvem em faixas específicas do espectro de radiação visível. Embora a absorção da radiação pelos pigmentos seja específica, resultando na obtenção de espectros característicos das clorofilas (*a* e *b*) e dos carotenoides (carotenos e

xantofilas), nas plantas os pigmentos acessórios atuam de forma conjunta, compondo as “antenas” dos fotossistemas. Em função da atuação conjunta desses pigmentos, toda a faixa do espectro da radiação visível pode ser utilizada como fonte de energia de excitação para a fotossíntese, embora as faixas do azul e, principalmente, do vermelho sejam as mais efetivas. Todavia, a radiação branca, que corresponde ao somatório de todas as cores, é sempre mais eficiente do que qualquer faixa de radiação monocromática no estímulo à fotossíntese. Dentre os fatores que explicam a maior eficiência da luz branca sobre as luzes monocromáticas, destaca-se a contribuição das folhas localizadas na periferia das copas, que filtram a radiação luminosa, transmitindo em comprimentos de onda e intensidades adequados para as folhas localizadas no interior das copas.

Questionário:

1. Nas plantas, quais pigmentos são responsáveis pela absorção da luz visível?

A luz visível corresponde a uma pequena fração do espectro da radiação eletromagnética perceptível ao olho humano, correspondendo à faixa de radiação entre os comprimentos de onda de 400 a 700 nm, limites entre o ultravioleta e o infravermelho. A luz é emitida em movimentos ondulatórios na forma de pacotes de energia (fótons). Para que a energia luminosa seja utilizada pelos organismos vivos, é necessário que ela seja absorvida e, nas angiospermas, a absorção dessa energia é realizada pelos pigmentos fotossintetizantes (clorofilas *a* e *b*, carotenos e xantofilas), localizados nas antenas dos fotossistemas.

2. Quais são as faixas de comprimento de onda em que os extratos de pigmentos dos cloroplastos mais absorvem?

As folhas absorvem mais fortemente as radiações nas faixas do azul-violeta e do amarelo-vermelho, mas transmitem ou refletem quase toda a radiação na faixa do verde. O mesmo se observa nos extratos de pigmentos totais (clorofilas *a* e *b*, carotenos e xantofilas) de folhas. Nas plantas, cada fóton da radiação absorvida irá excitar uma molécula de clorofila ou de carotenoide nas antenas dos fotossistemas, localizados nos tilacoides dos cloroplastos.

3. Por que a absorvância na região do verde é menor?

Porque, nessa faixa do espectro visível, a maior parte da radiação incidente é refletida ou transmitida e, portanto, muito pouco é absorvido pelos pigmentos das antenas. As clorofilas e os carotenoides não absorvem bem a radiação na faixa do verde. As estruturas moleculares desses pigmentos não interceptam e, por isso, não absorvem eficientemente as radiações na faixa do verde.

4. Explique o fenômeno da fluorescência nas plantas? Como a fluorescência pode ser utilizada como estimativa da eficiência fotossintética das plantas?

Parte da energia de cada fóton, independentemente da sua cor, faixa do espectro ou comprimento de onda, sempre é dissipada na forma de calor. Outra parte dessa energia é dissipada na forma de fluorescência, correspondente à radiação emitida na faixa do vermelho (673 nm em etanol e 685 nm em folhas) pelas moléculas das clorofilas *a*. O processo de fluorescência consiste na emissão de radiação luminosa em comprimento de onda maior do que o da radiação recebida pelo pigmento.

A determinação da fluorescência tem sido utilizada na avaliação da ocorrência de estresses em plantas. A fluorescência é uma estimativa da eficiência fotoquímica, ou seja, da eficiência com que os fótons absorvidos pela antena são transformados em poder redutor ($\text{NADPH} + \text{H}^+$). Normalmente, a eficiência fotoquímica é reduzida quando as plantas são submetidas a condições estressantes. Com a utilização de equipamentos medidores de fluorescência (fluorômetros), é possível avaliar a tolerância ou a sensibilidade das plantas aos estresses bióticos e abióticos.

5. Por que o fenômeno de fluorescência é mais intenso no recipiente com o solvente contendo os pigmentos fotossintetizantes do que nas membranas do tilacoide?

A maior intensidade de fluorescência se explica porque as clorofilas foram extraídas das membranas pela ação do solvente orgânico utilizado. Em solução, elas encontram-se dispersas, sem a organização existente nos fotossistemas das membranas dos tilacoides. Quando solúveis no solvente, os elétrons excitados das clorofilas não podem ser transferidos para os aceptores na cadeia de transporte de elétrons e, rapidamente, voltam ao estado de baixa energia, emitindo radiação (fluorescência) com maior intensidade do que quando se encontravam nas membranas dos tilacoides. Nesse evento de desexcitação rápida, a radiação emitida pelo retorno dos elétrons ao seu estado fundamental ocorre em um comprimento de onda mais longo, na faixa do vermelho, conforme é possível observar facilmente olhando a interface entre o vidro do tubo de ensaio e o extrato cetônico contendo as clorofilas.

6. Os carotenoides apresentam espectro de absorção semelhante aos das clorofilas?

Parcialmente, uma vez que carotenoides e clorofilas absorvem na faixa do violeta-azul. Todavia, os carotenoides não absorvem na região do vermelho como as clorofilas o fazem.

7. Para quantificar as clorofilas *a* e *b* de um extrato cetônico por meio de um espectrofotômetro, podem-se utilizar comprimentos de onda na faixa do azul? E do vermelho?

Para quantificar as clorofilas, a melhor faixa do espectro a ser utilizada é a do vermelho, uma vez que nessa região não haverá interferência dos carotenoides, que também absorvem na faixa do azul. Na prática, para a quantificação das clorofilas, são utilizadas fórmulas específicas disponíveis na literatura, que levam em consideração os coeficientes de extinção dos pigmentos e a absorção das clorofilas e dos carotenos na região do violeta-azul, eliminando a interferência entre eles.

8. Qual é o princípio básico do funcionamento de um espectrofotômetro?

Os espectrofotômetros são equipamentos que utilizam o princípio da decomposição da luz branca pela passagem dessa radiação através de um prisma. Cada faixa de radiação monocromática é obtida pela seleção de determinado comprimento de onda por um filtro (monocromador). Parte da radiação monocromática incidente (I_0) é absorvida pela amostra. A outra parte, correspondente à radiação transmitida (I), é coletada por um detector, célula fotoelétrica que converte a radiação em corrente elétrica a qual é medida por um galvanômetro de onde se obtém a leitura em absorvância ou em transmitância. Conforme a Lei de Lambert-Beer ($A = -\log [I/I_0]$), a absorvância de uma amostra corresponde ao valor negativo do logaritmo obtido a partir da relação entre a radiação incidente (I) sobre uma

amostra (mantida no interior de uma cubeta de um espectrofotômetro) e a radiação transmitida (I_o) pela amostra.

9. Por que cada pigmento apresenta uma coloração específica? Em que faixas do espectro absorvem, respectivamente, as clorofilas e os carotenoides?

Cada pigmento que participa da fotossíntese apresenta uma coloração que está diretamente relacionada à sua estrutura química e, como consequência, cada pigmento absorve em regiões específicas do espectro de radiação que, geralmente, correspondem às suas cores complementares. Os pigmentos carotenoides apresentam picos de absorção da radiação nas faixas correspondentes às suas cores complementares (azul-violeta), absorvendo mais intensamente nas faixas de radiação de maior energia do espectro (menor comprimento de onda). Todavia, as clorofilas, além de absorverem nas faixas correspondentes a sua cor complementar (laranja-vermelho), também absorvem na região do azul-violeta.

10. O que representa o espectro de ação? Que correspondência existe entre o espectro de ação e espectro de absorção?

Quando se estuda os efeitos da luz de diferentes comprimentos de onda sobre um processo fisiológico, como a fotossíntese, por exemplo, obtém-se um “espectro de ação”. A comparação do espectro de ação com o espectro de absorção permite elucidar a participação de um pigmento em um determinado processo fisiológico.

11. Diferencie plantas heliófilas de plantas umbrófilas. Por que a proporção de pigmentos fotossintéticos varia entre esses dois grupos de plantas?

As plantas heliófilas são plantas que se desenvolvem bem a pleno sol, enquanto as umbrófilas são tipicamente de ambientes sombreados. A variação na proporção de pigmentos nesses dois grupos de plantas é devida a adaptações em seus sistemas coletores de luz (antenas), visando aumentar a eficiência do processo de absorção da radiação luminosa. Plantas de sol acumulam mais carotenoides (xantofilas) do que plantas de sombra, o que se explica pela importância desses pigmentos na fotoproteção do aparelho fotossintético contra o excesso de radiação luminosa. Além disso, a proporção entre os fotossistemas I e II é alterada em ambientes sombreados. Nessas condições, geralmente, as relações clorofila a/b e FSII/FSI são menores que em plantas heliófilas. Além dessas diferenças, espécies umbrófilas, geralmente, apresentam folhas maiores que as heliófilas.

Bibliografia:

- MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. Trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969. 301 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Prática 3.4 - Formação de Poder Redutor em Cloroplastos Isolados (Reação de Hill)

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) *Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20*, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A fotossíntese envolve uma série de reações de oxirredução desencadeadas pela luz. A luz atua estimulando o funcionamento da cadeia de transporte de elétrons (CTE), o que resulta na produção de ATP e NADPH+H⁺ (poder redutor). O ATP e o NADPH+H⁺ produzidos na fase fotoquímica são utilizados na etapa bioquímica da fotossíntese (Ciclo de Calvin), fornecendo elétrons e energia para a síntese de açúcares primários (gliceraldeído-3-fosfato e gliceraldeído-3-fosfato). A observação do funcionamento da CTE em sistemas biológicos somente é possível com a utilização de certos artifícios. Corantes de oxirredução específicos têm a sua coloração alterada em função do seu estado redox. O DCPIP é um desses corantes, que ao receber elétrons passa da cor azul (forma oxidada) para a incolor (forma reduzida), sendo empregado com sucesso na demonstração do funcionamento da CTE.

No experimento da presente aula, a suspensão mantida no tubo 2, que inicialmente se apresentava com coloração verde escura, após exposição à luz adquiriu a mesma coloração verde clara observada no tubo 1, uma vez que o DCPIP_{oxidado} foi reduzido por elétrons provenientes da oxidação de moléculas de água, carreados através dos diversos componentes da CTE. No tubo 3, a tonalidade da suspensão permaneceu verde escura após o tempo de exposição do conjunto de tubos à luz, pois esse tubo ficou recoberto com papel alumínio, impedindo a ocorrência da fotossíntese. No tubo 4, não houve mudança de coloração da solução após a exposição à luz, uma vez que o DCPIP não sofre fotorredução pela ação exclusiva da luz.

A adição do ácido ascórbico ao tubo 4, tornando a sua solução incolor, e ao tubo 3, tornando a sua coloração verde clara (passou a apresentar a mesma coloração do tubo 1 e do tubo 2, após sua exposição à luz), mostra que a alteração na coloração do DCPIP_{oxidado} foi devida ao fluxo dos elétrons na CTE, processo que envolve a participação da luz, dos pigmentos das antenas dos fotossistemas, dos citocromos e de outros intermediários, além da oxidação de moléculas de água.

Em resumo, a aula prática mostrou que a luz, com a participação dos pigmentos dos cloroplastos, desencadeia o funcionamento da CTE, produzindo compostos reduzidos, tal como se observou na aula pela a passagem do DCPIP_{oxidado}, de coloração azul, para a forma de DCPIP_{reduzido}, que é incolor.

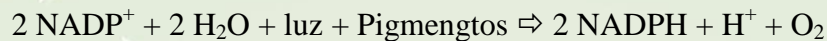
Questionário:

1. Explique no que consiste a “Reação de Hill”.

O bioquímico inglês Robert Hill demonstrou que preparações contendo fragmentos de folhas ou cloroplastos isolados, na presença de água, luz e de um aceptor artificial de elétrons (oxalato férrico, cianeto férrico ou ferricianeto de potássio) podiam provocar a liberação de oxigênio. Essa reação (liberação de O₂ em presença de luz) ficou conhecida como reação de Hill.



Nas plantas, a reação de Hill consiste na produção de $\text{NADPH} + \text{H}^+$ e oxigênio como consequência da absorção de luz pelos pigmentos e do funcionamento da cadeia de transporte de elétrons (CTE) na fase fotoquímica da fotossíntese. Em plantas, a reação de Hill pode ser resumida assim:



2. Em condições naturais, qual componente da cadeia de transporte de elétrons (CTE) é o oxidante natural de Hill?

Em condições naturais, o oxidante natural de Hill é a forma oxidada do NADP (NADP^+).

3. Explique como a luz, os cloroplastos e os pigmentos atuam na descoloração (redução) do DCPIP_{oxidado}.

A luz é captada por pigmentos presentes nas antenas dos fotossistemas. Os fótons de radiação excitam os pigmentos localizados na periferia das antenas, que por ressonância, excitam as moléculas de clorofilas *a* especiais, P_{680} e P_{700} , nos centros de reação dos fotossistemas II e I, respectivamente. Com isso, o fluxo de elétrons na CTE é ativado. Os elétrons provenientes da oxidação de moléculas de água se movimentam na CTE em resposta ao potencial crescente de oxirredução (de compostos com potenciais redox negativos, ou menores, para potenciais redox positivos, ou maiores), sendo capturados por moléculas de DCPIP_{oxidado} (azul), que se reduz ao receber os elétrons, tornando-se incolor. O DCPIP_{oxidado} tem potencial redox próximo ao valor do potencial redox do citocromo $\text{b}_{6/f}$, interrompendo o fluxo de elétrons nesse ponto da CTE, e se reduzindo.

4. Explique porque a solução de DCPIP_{oxidado} se descolore após a adição de ácido ascórbico.

A descoloração do DCPIP_{oxidado} é explicada pela ação antioxidante do ácido ascórbico, molécula que apresenta potencial redox menor do que o do corante. Quando adicionado ao tubo, o ácido ascórbico doa elétrons (se oxida) para o DCPIP_{oxidado}, que passa para a forma reduzida (incolor). Os elétrons sempre caminham de compostos de menor potencial redox (ácido ascórbico = 0 volt) para compostos de maior potencial redox (DCPIP_{oxidado} = 0,217 volt).

5. Por que é necessário o uso de temperaturas baixas, sacarose e tampão fosfato durante o preparo da suspensão dos cloroplastos?

O uso de temperaturas baixas durante o preparo da suspensão dos cloroplastos é fundamental, pois as membranas dos tilacoides são constituídas principalmente de lipídios polinsaturados, o que confere a elas elevada fluidez, mas, em contrapartida, sensibilidade à ocorrência de danos peroxidativos, que provocam efeitos prejudiciais ao aparelho fotossintético, comprometendo o seu funcionamento. Além disso, as baixas temperaturas reduzem as atividades metabólicas, diminuindo a atuação de diversos tipos de enzimas (oxidativas, hidrolases) que poderiam promover alterações em componentes ou nas estruturas dos cloroplastos.

A adição de sacarose durante o preparo da suspensão dos cloroplastos evita o rompimento dessas organelas. Como durante a extração ocorre perda da estrutura celular, a

solução de sacarose funciona como um tampão osmótico, controlando a absorção da água presente nos meios de extração e suspensão, evitando a ruptura dos cloroplastos.

Por sua vez, o tampão fosfato tem a função de minimizar variações no pH em decorrência da extração dos cloroplastos, uma vez que essas alterações poderiam afetar as atividades enzimáticas.

6. Nessa prática, a utilização de oxidantes artificiais de Hill permite detectar a ocorrência das “reações fotoquímicas”, mas, em contraste, impede que ocorram as reações de “fixação de CO₂”. Explique por que isso acontece.

No tubo 1, foi possível a ocorrência de fixação de CO₂, pois a luz, pigmentos, água e CO₂ encontravam-se disponíveis. Todavia, essa reação não foi possível no tubo 2, pois o DCPIP_{oxidado} captura os elétrons que se movimentam na CTE na faixa correspondente ao potencial redox do citocromo b_{6/f}, interrompendo o fluxo de elétrons e impossibilitando a síntese de NADPH+H⁺, molécula fundamental para a redução do CO₂ a açúcares na fase bioquímica da fotossíntese. Os elétrons que deveriam proporcionar a redução do NADP⁺ a NADPH+H⁺ são interceptados pelo DCPIP_{oxidado} (azul), que se reduz e torna-se incolor. Por esse motivo, as reações de fixação de CO₂ não ocorrem mais nos tubos onde o DCPIP é adicionado.

7. Alguns herbicidas têm como princípio ativo, substâncias que atuam na fase fotoquímica da fotossíntese. Apresente alguns exemplos e explique o que eles causam.

Alguns herbicidas têm como princípio ativo moléculas que interrompem ou desviam o fluxo de elétrons na cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese. Compostos dos grupos das triazinas (atrazina, prometrina, prometron) e os derivados da ureia (DCMU-diuron, fluometuron, linuron) capturam elétrons da CTE e se mantêm em estado reduzido, não permitindo que seja formado o NADPH+H⁺, molécula consumida na fase bioquímica da fotossíntese para a redução do CO₂ a açúcares. O Paraquat (metil viologênio) também interrompe o fluxo de elétrons na CTE, mas os desvia para a formação de espécies reativas de oxigênio, o que resulta na ativação do estresse fotooxidativo e, conseqüentemente, na morte das plantas.

Bibliografia:

BROWN, A. H.; GOOD, N. Photochemical reduction of oxygen in chloroplast preparations and in green plant cells. I. The study of oxygen exchanges *in vitro* and *in vivo*. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 57, n. 2, p. 340-354, 1955.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

GOOD, N.; HILL, R. Photochemical reduction of oxygen in chloroplast preparations. II. Mechanisms of the reaction with oxygen. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 57, n. 2, p. 355-366, 1955.

HILL, R.; BENDAL, F. Function of the two cytochrome components in chloroplasts: a working hypothesis. **Nature**, v. 186, n. 4719, p. 136-137, 1960.

ROSS, C. W. Plant physiology laboratory manual. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

WALKER, D. A. And whose bright presence - an appreciation of Robert Hill and his reaction. **Photosynthesis Research**, v. 73, n. 1-3, p. 51-54, 2002.

Prática 3.5 - Determinação da Irradiância de Compensação

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Comentários

Devido ao consumo de CO_2 , quando os tubos de ensaio foram mantidos a uma distância de 10 cm da fonte de luz, tanto as folhas das plantas de sol quanto as folhas das plantas de sombra apresentaram fotossínteses líquidas positivas, tornando os pHs das soluções de vermelho de cresol mais básicos do que no início, o que contribuiu para o desenvolvimento das tonalidades róseo-fortes observadas no indicador. Todavia, à medida que os tubos de ensaio foram afastados da fonte luminosa, a intensidade da radiação diminuiu e as folhas das plantas de sol começaram a apresentar fotossíntese líquida negativa, uma vez que a irradiância para elas ficou abaixo do ponto de compensação luminoso.

A 100 cm de distância, a coloração do indicador começou a ficar róseo-fraca ou até amarela, indicando uma respiração (libera CO_2) mais intensa do que a fotossíntese (consome CO_2). A essa distância, nos tubos de ensaio contendo folhas de plantas de sombra, a coloração dos indicadores ainda permaneceu rósea, embora em intensidade mais fraca que a original.

Quando os tubos de ensaio foram colocados a 300 cm da fonte luminosa, a intensidade de radiação foi muito baixa e, em função disso, todos os tubos que continham folhas de plantas de sol apresentaram coloração amarelada nos indicadores de pH. Nos tubos correspondentes às plantas de sombra e mantidos a essa distância, a coloração do vermelho de cresol se manteve ainda ligeiramente rósea no tubo contendo uma folha de samambaia, tendendo ao amarelecimento nas demais plantas. Esses resultados mostram que, mesmo sob baixa intensidade de radiação, algumas plantas umbrófilas ainda conseguem manter uma taxa de fotossíntese líquida positiva, em contraste à fotossíntese líquida negativa observada nas folhas das plantas heliófilas.

A irradiância de compensação de cada uma das espécies estudadas pode ser determinada pela aproximação ou distanciamento dos tubos de ensaio da fonte de radiação luminosa, até que a coloração da solução indicadora de vermelho de cresol não se altere em relação à solução controle (padrão sem folhas). A essa distância, a taxa de fotossíntese líquida é zero e a irradiância obtida corresponderá ao ponto de compensação luminoso (irradiância de compensação) da folha.

Ao assoprarmos a solução indicadora de pH com o auxílio de uma pipeta ela se tornou amarelada rapidamente, o que ocorreu devido à injeção de CO_2 na solução. Esse CO_2 é um subproduto da nossa respiração e, tal como CO_2 de qualquer origem, acidifica a fase aquosa contendo o indicador de pH, fazendo com que a mesma fique amarelada. Esse fato foi reforçado pela observação de que gotas de água mineral com gás também causaram o amarelecimento da solução de vermelho de cresol, o que não ocorreu com água mineral sem gás (não ácida). O gás presente na água mineral gasosa nada mais é do que CO_2 injetado sob pressão, o que causa a acidificação da água mineral em comparação à natural, fato que pode ser facilmente comprovado utilizando-se medidores ou papéis indicadores de pH. Essas conclusões foram comprovadas pelos efeitos que o HCl e o NaOH diluídos, gotejados na solução de vermelho de cresol, causaram na coloração do indicador de pH, tornado-a, respectivamente, amarela ou vermelha.

Em resumo, a aula prática mostrou que cada planta apresenta uma irradiância mínima para que ela possa acumular matéria seca e crescer, o que depende da espécie e de suas adaptações aos diferentes ambientes. Embora as folhas destacadas não apresentem comportamento idêntico ao de uma planta intacta e apenas reflitam as condições em que elas

se encontravam no momento da coleta, os resultados são representativos do comportamento das plantas umbrófilas e heliófilas em resposta a diferentes condições de luminosidade.

Questionário:

1. O que representam as irradiâncias de compensação, de saturação e de fotoinibição?

A irradiância de compensação representa a intensidade luminosa ($\mu\text{moles de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) na qual a fotoss\u00edntese l\u00edquida \u00e9 zero:

$$[(FS_{\text{l\u00edquida}} = FS_{\text{total}} - (\text{Respira\u00e7\u00e3o} + \text{Fotorrespira\u00e7\u00e3o})].$$

A irradi\u00e2ncia de satura\u00e7\u00e3o corresponde \u00e0 intensidade luminosa na qual a capacidade m\u00e1xima de absor\u00e7\u00e3o de f\u00f3tons dos pigmentos da antena dos fotossistemas \u00e9 atingida, n\u00e3o sendo mais poss\u00edvel aumentar a taxa fotossint\u00e9tica, o que \u00e9 atribuído \u00e0 limita\u00e7\u00e3o por outros processos relacionados \u00e0 fotoss\u00edntese (difus\u00e3o de CO_2 e/ou bioqu\u00edmicos).

A irradi\u00e2ncia de fotoinibi\u00e7\u00e3o corresponde \u00e0 intensidade de radia\u00e7\u00e3o na qual a luminosidade \u00e9 t\u00e3o elevada que pode causar danos aos pigmentos e a outras estruturas do aparelho fotossint\u00e9tico.

2. Por que “plantas de sol” geralmente morrem se colocadas \u00e0 sombra?

Porque elas apresentam irradi\u00e2ncia de compensa\u00e7\u00e3o elevada e assim, para que tenham fotoss\u00edntese l\u00edquida positiva e possam crescer, exigem maior luminosidade. \u00c0 sombra, elas apresentam fotoss\u00edntese l\u00edquida negativa e acabam morrendo.

3. Por que as “plantas de sombra” geralmente morrem se colocadas sob radia\u00e7\u00e3o luminosa intensa?

Porque quando mantidas em condi\u00e7\u00e3o de sombra, as plantas n\u00e3o apresentam quantidades suficientes de caroten\u00f3ides (xantofilas) em suas antenas. As xantofilas est\u00e3o envolvidas na prote\u00e7\u00e3o do aparelho fotossint\u00e9tico contra o excesso de radia\u00e7\u00e3o. \u00c9 por isso que plantas de sub-bosque morrem quando ocorre a abertura de clareiras e/ou a queda de \u00e1rvores dominantes em uma floresta.

Todavia, quando plantas de sombra s\u00e3o expostas progressivamente a condi\u00e7\u00f5es de maior luminosidade, elas conseguem se aclimatar e sobreviver mesmo sob irradi\u00e2ncias mais elevadas. Plantas do cafeeiro (*Coffea arabica*) s\u00e3o exemplos dessa adapta\u00e7\u00e3o. Em seu centro de origem, o cafeeiro \u00e9 uma planta de sub-bosque (de sombra). Na produ\u00e7\u00e3o de mudas de caf\u00e9, as pl\u00e2ntulas s\u00e3o mantidas sob sombreamento durante o desenvolvimento inicial da muda. O sombreamento \u00e9 gradativamente reduzido at\u00e9 o transplantio definitivo no campo, onde tamb\u00e9m se utiliza o plantio adensado para se reduzir a exposi\u00e7\u00e3o \u00e0 luz solar excessiva e, conseq\u00fcentemente, os riscos de danos ao aparelho fotossint\u00e9tico (fotoinibi\u00e7\u00e3o).

4. Sob um dossel florestal, a intensidade m\u00e9dia de luz incidente \u00e9 de $50 \mu\text{mol de f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Considere duas esp\u00e9cies, cujas irradi\u00e2ncias de compensa\u00e7\u00e3o sejam (A) $75 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e (B) $25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Qual das duas teria condi\u00e7\u00f5es de se estabelecer sob a floresta? Justifique.

A esp\u00e9cie **B** teria condi\u00e7\u00f5es de se estabelecer nessa floresta, uma vez que a irradi\u00e2ncia dispon\u00edvel \u00e9 superior a sua irradi\u00e2ncia de compensa\u00e7\u00e3o, possibilitando a ocorr\u00eancia de fotoss\u00edntese l\u00edquida positiva. A planta **A** teria fotoss\u00edntese total inferior ao somat\u00f3rio dos

gastos com respiração e fotorrespiração e, portanto, teria fotossíntese líquida negativa, não podendo se estabelecer sob o dossel dessa floresta.

5. Por que pedaços de folhas mantidos sob baixa luminosidade ou no escuro tornaram a solução de vermelho de cresol amarelada?

No escuro, pedaços de folha realizam apenas a respiração e sob baixa luminosidade pode haver $FS_{líquida}$ negativa. Quando a respiração mitocondrial e a fotorrespiração são mais intensas que a fotossíntese total, ocorre acúmulo de CO_2 , o que se verifica sob baixa luminosidade. O CO_2 reage com H_2O , tornando solução mais ácida ($CO_2 + H_2O \Rightarrow H_2CO_3 \Rightarrow HCO_3^- + H^+$). O vermelho de cresol, em meio ácido, torna-se amarelado.

6. Determinou-se a irradiância de compensação de uma folha a 20°C. Posteriormente, a irradiância de compensação da mesma folha foi determinada a 40°C. Será detectada alguma diferença nos valores obtidos? Justifique.

Sim. Como se sabe, a intensidade das atividades biológicas, principalmente as bioquímicas, aumenta em resposta ao incremento na temperatura ($Q_{10} = 2,0$ a $2,5$). Para compensar o aumento na atividade bioquímica, envolvendo as enzimas fotossintéticas e respiratórias, haverá maior incorporação de CO_2 e, conseqüentemente, maior consumo de poder redutor ($NADPH+H^+$) e ATP. Portanto, para suprir a demanda aumentada por poder redutor e ATP, torna-se necessário o funcionamento mais rápido da CTE, demandando uma irradiância de compensação mais elevada do que a $20^\circ C$.

7. No presente exercício, você observou que a solução de vermelho de cresol do tubo contendo a folha localizada a 10 cm da fonte luminosa adquiriu coloração vermelha bastante intensa. Em contraste, a 100 e 300 cm a solução ficou amarelada. O que você deverá fazer para determinar a irradiância de compensação de cada uma das folhas?

A solução de vermelho de cresol se torna amarelada em meio ácido e adquire cor vermelha mais intensa em meio básico. Para determinarmos a irradiância de compensação da folha em questão é necessário somente aproximar ou afastar os tubos de ensaio da fonte de luz, até que a solução de vermelho de cresol se mantenha com a mesma tonalidade do padrão. Nessa condição, a taxa de fotossíntese líquida é zero e as trocas gasosas nulas, uma vez que, há um equilíbrio entre as quantidades de CO_2 consumido na fotossíntese e o liberado em resposta aos processos de respiração e fotorrespiração ($FS_{líquida} = 0$).

8. Quando uma floresta é derrubada para se retirar árvores dominantes ou quando se abre uma grande clareira em uma mata, novas espécies são observadas durante a recuperação dessa área. Além disso, algumas plantas que compunham o sub-bosque desaparecem. Explique por que esses fatos acontecem e que tipos de plantas são encontrados nessa nova condição.

Quando a floresta é cortada ou quando uma clareira é aberta, alteram-se a qualidade e a intensidade da radiação na superfície do solo, anteriormente coberto por serrapilheira e ocupado por espécies que compunham o sub-bosque. Como as espécies do sub-bosque eram de sombra (umbrófilas), a primeira consequência será o seu desaparecimento, uma vez que as plantas são abruptamente expostas a uma radiação solar intensa. Como elas se encontravam em ambiente sombreado, elas não possuíam carotenos (xantofilas) suficientes para conferir fotoproteção, morrendo devido à ocorrência de danos ao aparelho fotossintético.

Com a alteração na qualidade da radiação que chega à superfície do solo, as sementes fotoblásticas positivas do banco de sementes sofrem fotorreversão do fitocromo, da forma inativa (F_V) para a forma ativa (F_{VL}), o que estimula a germinação dessas sementes. As plântulas que se formam nessa condição são de espécies pioneiras e, por isso, heliófilas, tolerando as intensidades elevadas de radiação a que elas são expostas em decorrência da abertura da clareira ou do desmatamento, contribuindo para o processo de sucessão ecológica e para o restabelecimento da área.

9. É possível a aclimação de plantas de sombra a ambientes ensolarados? E a aclimação de plantas de sol a ambientes sombreados? Apresente exemplos.

Algumas espécies de plantas de sombra podem ser adaptadas a ambientes ensolarados (alta irradiância) desde que esse processo seja realizado de maneira gradual, possibilitando o acúmulo de carotenoides (xantofilas), que protegem o aparelho fotossintético contra os danos fotooxidativos. Um exemplo clássico é o café (*Coffea arabica*), planta tipicamente de sombra. Na produção de mudas de café, as plântulas são mantidas após germinação sob sombreamento que, gradualmente, é reduzido até o transplântio definitivo no campo. Embora muitas plantas C_3 sejam de sombra, também existem algumas espécies C_3 de sol, como o oiti (*Licania tomentosa* (Benth.) Fritsch), a banana (*Musa paradisiaca* D. Kuntze), a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) e diversas palmeiras. A adaptação de plantas de sol a ambientes sombreados é improvável, uma vez que, sob condições de sombra, elas apresentariam fotossíntese líquida negativa.

As plantas C_4 são plantas heliófilas, uma vez que, devido ao maior consumo de ATP por molécula de CO_2 fixada, elas apresentam altas taxas fotossintéticas, o que exige temperaturas e intensidades de radiação mais elevadas. Exemplos bastantes conhecidos de plantas C_4 são o milho, a cana-de-açúcar e o sorgo, que são monocotiledôneas da família Poaceae. Plantas C_4 eudicotiledôneas também existem, com destaque para espécies de Amarantaceae (*Amaranthus albus* L. e *Gomphrena globosa* L.), Euphorbiaceae (*Euphorbia maculata* L. e *Euphorbia phorbesii* L. (espécie arbórea C_4)); e Portulacaceae (*Portulaca oleraceae* L.).

10. O que aconteceria com a solução indicadora de vermelho de cresol caso fossem colocadas no interior dos tubos de ensaio folhas provenientes de plantas submetidas a estresses hídricos?

Como as folhas seriam provenientes de plantas mantidas sob condições de estresse hídrico, provavelmente seus estômatos estariam fechados ou com abertura reduzida (baixa condutância estomática). Nessa condição, a entrada de CO_2 seria limitada e, conseqüentemente, a fotossíntese líquida seria negativa, resultando na acidificação da solução, que iria adquirir tonalidade amarelada.

11. Considerando-se a possibilidade de plantios consorciados (milho/feijão), explique porque, sob o ponto de vista da fotossíntese, isso é possível. Em contraste, seria possível o cultivo de plantas de milho em uma condição de sub-bosque? Justifique a sua resposta.

O consórcio de milho e feijão é comum em plantios agrícolas, uma vez que plantas de feijão (C_3) são cultivadas entre as linhas de plantio do milho (C_4). Como as plantas de feijão apresentam irradiância de compensação mais baixa, elas se desenvolvem bem, mesmo sombreadas pelas plantas de milho, o que, todavia, depende da variedade do feijoeiro utilizada e da época de plantio das duas culturas.

Em contraste, plantas de milho não toleram condições de sombreamento e morreriam caso fossem plantadas em sub-bosque, uma vez que, nessa condição, apresentariam fotossíntese líquida negativa.

12. A região do sul da Bahia, próximo às cidades de Ilhéus e Itabuna, abriga um dos poucos remanescentes de mata Atlântica no país. Nessa região, existe a cultura do cacauero, mantido no sub-bosque da mata Atlântica. Que associação existe entre esses fatos?

A existência dos remanescentes de mata Atlântica ocorre pela necessidade de sombreamento que as espécies arbóreas exercem sobre as plantas de cacauero, que são de sombra (umbrófilas). Como essas plantas não toleram radiação solar intensa, a manutenção da floresta em pé é fundamental para a sobrevivência das lavouras cacaueiras, uma vez que as plantas de cacau sofrem danos ao aparelho fotossintético quando expostas à radiação solar direta.

Bibliografia:

BOARDMAN, N. K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 28, p. 355-377, 1977.

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

WAYNE SMITH, E.; TOLBERT, N. E.; KU, H. S. Variables affecting the CO₂ compensation point. **Plant Physiology**, v. 58, n. 2, p. 143-146, 1976.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 3.6 - Síntese de Amido: Efeitos das Clorofilas e da Luz

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O amido é formado pela combinação de moléculas de amilose e de amilopectina. Moléculas de alto peso molecular como a amilose e a amilopectina podem sofrer reações de complexação, com a formação de compostos coloridos. Um exemplo importante é a complexação da amilose e da amilopectina com o lugol, resultando na formação de complexos azul e vermelho-violáceo, respectivamente. O lugol contém iodo (I_2) em sua composição. O aprisionamento do iodo (I_2) se dá no interior da hélice formada pela amilose. Como a amilopectina não apresenta estrutura helicoidal, devido à presença das ramificações, a interação com o iodo será menor e a coloração menos intensa.

Nas folhas variegadas, o surgimento de coloração azulada em resposta ao lugol ocorreu principalmente nas porções que inicialmente eram verdes, uma vez que essas regiões possuem cloroplastos, organelas responsáveis pelo armazenamento das moléculas do amido primário, formadas na fotossíntese a partir de açúcares mais simples (gliceraldeído 3-fosfato; 3-PGald). Nas porções brancas das folhas variegadas (quimeras), não houve desenvolvimento de cor azul, uma vez que elas não apresentavam cloroplastos nessas porções ou eles não eram funcionais. Nas folhas das plantas de feijão mantidas no escuro, também não ocorreu desenvolvimento de resposta positiva ao lugol, uma vez que o amido anteriormente armazenado foi consumido pela respiração. O mesmo ocorreu na porção da folha de feijoeiro coberta com papel alumínio, onde também não foi observada reação positiva ao lugol.

Em resumo, a aula prática mostrou que o amido, principal carboidrato de reserva das plantas, é um produto da fotossíntese e se acumula primariamente (transitoriamente) nas partes verdes das folhas iluminadas.

Questionário:

1. Em que parte de uma folha variegada se verifica a presença de amido? Por que o principal carboidrato de reserva nos cloroplastos não é a sacarose?

Nas folhas variegadas, o amido se acumula nas partes verdes, regiões que apresentam cloroplastos e, conseqüentemente, fotossíntese. Como resultado da fase fotoquímica da fotossíntese, nessa região ocorre a síntese de ATP e de NADPH, o que permite a incorporação de CO_2 e a sua redução até trioses fosfatadas (3-PGald e dihidroxiacetona-fosfato; DHAP), açúcares simples que originam, após várias etapas, frutose e depois glicose. Posteriormente, as moléculas de glicose são polimerizadas, originando o amido primário, que é armazenado no estroma dos cloroplastos. O acúmulo preferencial de amido e não de sacarose no interior dos cloroplastos está relacionado a diferenças osmóticas entre essas duas moléculas. O amido é uma molécula que não apresenta atividade osmótica, minimizando a absorção de água e a consequente ruptura dos cloroplastos, risco que existiria caso a molécula acumulada em seu interior fosse a sacarose.

2. Qual é o papel da luz e dos cloroplastos na síntese do amido?

A luz promove a excitação dos pigmentos nas antenas dos fotossistemas, localizados nas membranas dos tilacoides. Como resultado da fase fotoquímica da fotossíntese, nessa região ocorre a síntese de ATP e de $\text{NADPH} + \text{H}^+$, o que permite a incorporação de CO_2 e a sua redução até trioses fosfatadas (3-PGald e DHAP), açúcares simples que originam a glicose. A glicose é, posteriormente, polimerizada, formando o amido, armazenado no estroma dos cloroplastos.

3. Uma folha variegada (porções verdes e brancas) apresentou reação positiva ao lugol nas partes brancas. Como você explica isso?

A explicação para esse resultado é a possibilidade da existência de amiloplastos (leucoplastos) nessas regiões. Devido à translocação de açúcares solúveis e da posterior síntese e acúmulo de amido nesses amiloplastos, pode ser possível a ocorrência de resposta positiva ao lugol. A presença de parênquima amilífero também pode explicar essa ocorrência. Em ambos os casos, o amido armazenado seria classificado como amido secundário.

4. Tecidos internos de um caule não apresentam cloroplastos desenvolvidos. No entanto um teste com lugol acusou a presença de amido nesses tecidos. Explique.

A explicação é a mesma da resposta anterior, ou seja, podem existir leucoplastos (amiloplastos) nessas regiões internas ou o amido ser decorrente da translocação de açúcares solúveis e posterior síntese e acúmulo de amido nesses tecidos. A presença de parênquima amilífero é comum nesses tecidos. Da mesma forma que nas porções brancas de folhas variegadas, o amido armazenado seria classificado como secundário.

5. Quais são as organelas celulares que acumulam amido?

As organelas celulares que acumulam amido são os plastídios, com destaque para os cloroplastos, leucoplastos (amiloplastos) e cromoplastos.

6. Como se explica o acúmulo de amido em regiões não fotossintetizantes como em tubérculos de batata, uma vez que o amido não é solúvel em água?

Como o amido é insolúvel em água, não é possível o seu transporte, através do floema, na forma de amido dos cloroplastos (nas folhas) até os amiloplastos (nos tubérculos). O amido presente nos cloroplastos, localizados nas folhas e em outros órgãos fotossintetizantes, consiste no amido primário (de assimilação ou transitório), enquanto o amido armazenado em um tubérculo ou em outro órgão de reserva constitui o amido secundário (ou de reserva). Portanto, o amido primário da folha é inicialmente quebrado em glicose, que por sua vez se liga à frutose, formando a sacarose (α -1-glicose + β -2-frutose). A sacarose é um açúcar não redutor (o carbono 1 da glicose está ligado ao carbono 2 da frutose), podendo ser “carregado” e translocado no floema até o tubérculo (dreno). No tubérculo (assim como em frutos; em sementes em formação; e em órgão não fotossintetizantes), a sacarose é quebrada em seus açúcares redutores glicose e frutose. Então, a glicose é transportada para o interior dos amiloplastos, onde é polimerizada originando amilose e amilopectina que compõem as moléculas do amido armazenadas no tubérculo. Essa molécula constitui o amido secundário, armazenado nos órgãos de reserva.

7. Por que tubérculos de batata ficam com suas cascas esverdeadas quando expostos à luz?

Embora nos tubérculos de batata ocorra acúmulo de amido, os amiloplastos, leucoplastos e cloroplastos têm origem comum a partir de proplastídios, organelas encontradas em células meristemáticas e que se diferenciam em determinado tipo de plastídio em resposta a estímulos ambientais e em função do órgão (folhas, tubérculos, raízes, caule, etc.) onde ocorrem. Quando um tubérculo de batata fica exposto à luz, a sua casca pode se tornar esverdeada, indicando acúmulo de clorofilas e transformação dos proplastídios em cloroplastos ou mesmo de amiloplastos em cloroplastos.

8. Apresente exemplos de partes ou de órgãos vegetais que não possuem clorofila, mas que acumulam amido.

Amido pode ser acumulado, mesmo que temporariamente, em frutos verdes (como a banana), em sementes (como no endosperma do milho e do arroz e em cotilédones de feijão, por exemplo). Também pode ser encontrado em caules, raízes de mandioca, bulbos, tubérculos de batata, etc.

9. Por que o amido de milho, tubérculos de batata e folhas de papel sulfite dão respostas positivas ao teste do lugol?

O aparecimento de coloração azul em resposta positiva ao teste do lugol é observado quando gotas dessa substância são estiladas em amido de milho (Maizena®, por exemplo), em tubérculos de batata ou em papel sulfite. A maizena corresponde à farinha de grãos de amido obtidos a partir do endosperma de sementes de milho (*Zea mays*). Por sua vez, os tubérculos de batata contêm amido secundário armazenados em seus amiloplastos.

Apesar de serem macromoléculas, nem todos os polissacarídeos conseguem complexar com o iodo. Para que esses complexos coloridos se formem é preciso que molécula apresente conformação que torne possível o encaixe do iodo no interior da estrutura. A celulose, ao contrário do amido, é um exemplo de polissacarídeo que não apresenta reação positiva ao iodo. Uma das diferenças entre essas moléculas é que a celulose é formada por monômeros de β -glicose, enquanto o amido é formado por monômeros de α -glicose. Essa diferença estrutural impossibilita o encaixe do iodo na molécula de celulose.

Como o papel sulfite é formado por microfibrilas de celulose, seria esperada uma reação negativa ao lugol. Entretanto, a explicação para a ocorrência de resposta positiva desse tipo de papel ao lugol está relacionada à sua fabricação. O papel sulfite é engomado com amido, molécula que consegue unir as fibras de celulose, tornando a estrutura do papel mais rígida, compacta e macia. Essa é a explicação para a ocorrência de resposta positiva ao lugol (tintura de iodo), embora o papel sulfite apresente em sua estrutura a celulose, molécula que não reage com o iodo.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HALL, D. O.; RAO, K. **Photosynthesis: studies in biology**. 6th Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 248 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

Prática 3.7 - Fatores que Afetam a Fotossíntese em *Ceratophyllum* sp.

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

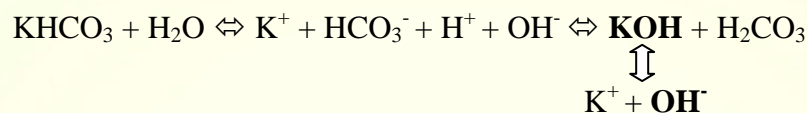
Quando a fonte de iluminação foi aproximada do tubo de ensaio contendo a planta de *Ceratophyllum*, a quantidade de fótons incidentes e capturada pelas antenas dos fotossistemas aumentou. Quanto maior a quantidade de fótons capturados pelos pigmentos das antenas, mais intensamente os centros de reação dos fotossistemas são oxidados e, em função disso, a cadeia de transporte de elétrons (CTE) é estimulada a funcionar mais rapidamente, produzindo ATP, em resposta ao gradiente de potencial eletroquímico formado entre o lúmen e o estroma dos cloroplastos, e poder redutor (NADPH+H⁺). Para compensar os elétrons perdidos pelas clorofilas *a* especiais (P₆₈₀ e P₇₀₀) e pelos demais componentes da CTE, moléculas de água são quebradas, o que ocorre no complexo de evolução do oxigênio localizado no lúmen do tilacoide (associado ao fotossistema II). Com a quebra de duas moléculas de água, são liberados quatro elétrons (e⁻), quatro prótons (H⁺) e uma molécula de oxigênio (O₂). Os H⁺ liberados contribuem para a formação do gradiente de potencial eletroquímico, enquanto que o O₂ corresponde às bolhas liberadas nas regiões onde os ramos das plantas de *Ceratophyllum* foram seccionados (base dos ramos).

A temperatura interfere diretamente nos processos bioquímicos. Como a fotossíntese envolve reações bioquímicas, o aumento ou a redução na temperatura resulta em variações na atividade enzimática e, conseqüentemente, no número de bolhas de oxigênio liberadas, uma vez que a velocidade da CTE aumenta para compensar a maior demanda por ATP e poder redutor (NADPH+H⁺). Sob temperaturas muito baixas, nenhuma bolha é liberada, uma vez que, nessa condição, a energia encontra-se abaixo da necessária para estimular as atividades enzimáticas. A partir de uma determinada faixa, à medida que a temperatura é aumentada, o número de bolhas liberadas também aumenta, em uma magnitude de 2,0 a 2,5 vezes a cada 10°C de aumento (Q₁₀ - coeficiente de temperatura), passando pela faixa de temperatura adequada e pela temperatura ótima. Todavia, sob temperaturas muito elevadas, ocorre desnaturação proteica, o que resulta em diminuição ou inativação da atividade enzimática, podendo causar a morte da planta. Quando a temperatura aumenta dentro da faixa fisiologicamente ativa, a fixação de carbono também aumenta e, portanto, maiores quantidades de ATP e poder redutor (NADPH+H⁺) tornam-se necessárias para a redução do CO₂. O maior consumo de ATP e NADPH+H⁺ resulta no aumento na velocidade de fluxo de elétrons na CTE, no aumento na quantidade de moléculas de água quebradas e, conseqüentemente, no aumento no número de bolhas liberadas.

Os efeitos da qualidade da radiação sobre a fotossíntese foram percebidos em resposta ao aumento ou redução no número de bolhas liberadas. Maiores quantidades de bolhas foram observadas em resposta às radiações azul, vermelha e, principalmente, na presença de luz branca. Poucas bolhas foram liberadas em resposta às radiações verde e vermelho-longo. Esses resultados são devidos aos espectros de absorção dos pigmentos que compõem as antenas dos fotossistemas (clorofilas e carotenoides). Esses pigmentos absorvem mais intensamente nas regiões do violeta-azul e do laranja-vermelho. Todavia, como as moléculas de clorofila *a* especiais (P₆₈₀ e P₇₀₀) apresentam picos de absorção na região do vermelho/vermelho-longo, essa faixa do espectro é mais eficientemente absorvida do que a do azul. A luz branca apresenta maior eficiência do que as faixas de radiação violeta/azul e vermelha/vermelha-longo isoladamente, o que se explica pela maior eficiência de captura da energia radiante pelas antenas dos fotossistemas. A radiação verde, por sua vez, é a faixa

menos absorvida pelos pigmentos fotossintéticos, resultando em menor número de bolhas liberadas que nas outras faixas do espectro de radiação. Acima do vermelho-longo (infravermelho), a absorção da radiação é nula, o que explica a não liberação de bolhas nessa faixa de radiação.

No experimento envolvendo o consumo de CO₂, os resultados encontrados podem ser explicados pela reação química entre o KHCO₃ e a fenolftaleína, indicador de pH que se apresenta róseo em meio básico e incolor em meio ácido. Quando as plantas de *Ceratophyllum* foram colocadas em presença de luz, a taxa de fotossíntese líquida foi positiva, com maior incorporação de CO₂ do que liberação na respiração. Todavia, no escuro, ocorreu apenas respiração, com liberação de CO₂ no meio. O carbonato (KHCO₃) é um sal básico (derivado da reação entre um ácido fraco e uma base forte), e na sua dissociação em meio aquoso, produz KOH, conforme as reações esquematizadas a seguir:



Portanto, quando tratado com fenolftaleína, o KHCO₃ torna-se róseo. Como na presença de luz, o CO₂ é retirado do meio, há um aumento do pH:



Portanto, a solução de KHCO₃ tratada com fenolftaleína ficará ainda mais rósea. Em contraste, no tubo de ensaio contendo o ramo da planta e mantido no escuro, ocorreu apenas a liberação de CO₂ devido à respiração, que acidifica a fase aquosa, fazendo com que o KHCO₃ ficasse róseo fraco ou incolor em presença da fenolftaleína:



Questionário:

1. Explique por que o aumento da intensidade luminosa (aproximação da fonte luminosa) faz também aumentar o número de bolhas liberadas (fotossíntese) no ramo de *Ceratophyllum*.

Quando a fonte de iluminação é aproximada do tubo de ensaio contendo a planta de *Ceratophyllum*, o número de fótons capturado pelas antenas dos fotossistemas aumenta. Quanto mais fótons mais excitação é transferida (por ressonância) até os centros de reação dos fotossistemas e, em função disso, a cadeia de transporte de elétrons (CTE) é estimulada a funcionar mais rapidamente, o que resulta na formação de ATP, durante a dissipação do gradiente de potencial eletroquímico, e poder redutor (NADPH+H⁺). Para compensar os elétrons perdidos pelas moléculas de clorofilas *a* especiais (P₆₈₀ e P₇₀₀), moléculas de água são quebradas, o que ocorre no complexo de evolução do oxigênio, localizado no lúmen do tilacoide (associado ao fotossistema II). Com a quebra de duas moléculas de água, são liberados quatro elétrons (4e⁻), quatro prótons (4H⁺) e uma molécula de oxigênio (O₂). Os hidrogênios liberados contribuem para a formação do gradiente de potencial eletroquímico, utilizado para a síntese de ATP, enquanto o oxigênio corresponde às bolhas liberadas através das regiões cortadas dos ramos das plantas de *Ceratophyllum*.

2. Por que para se medir a taxa de fotossíntese em resposta a variações na intensidade de luz se deve sempre colocar o tubo contendo *Ceratophyllum* em um recipiente contendo água (cuba) com temperatura controlada?

Porque queremos determinar apenas os efeitos das diferentes intensidades de irradiâncias sobre a fotossíntese e, como é de amplo conhecimento, a temperatura influencia muito esse processo. A lâmpada incandescente utilizada como fonte de radiação luminosa emite muita energia na região do infravermelho (calor), o que provoca o aquecimento do ambiente próximo à lâmpada e poderia aquecer também o recipiente contendo a planta e o KHCO_3 , interferindo nos resultados.

3. Por que a fotossíntese da planta de *Ceratophyllum* é estimulada, até certo ponto, ao se aumentar a temperatura? Por que ocorre queda na fotossíntese sob temperaturas muito elevadas? Porque a fotossíntese sob temperaturas baixas também é reduzida?

A temperatura influencia diretamente processos bioquímicos e como a fotossíntese também envolve reações enzimáticas, o aumento ou a redução da temperatura resultam em variações no número de bolhas de oxigênio liberadas. Em temperaturas muito baixas, nenhuma bolha é liberada, uma vez que a energia é menor que a necessária para estimular a atividade enzimática. À medida que a temperatura é aumentada, a partir de uma determinada faixa, o número de bolhas liberadas aumenta em uma proporção de 2,0 a 2,5 vezes a cada aumento de 10°C ($Q_{10} = 2-2,5$), passando pela faixa ótima de temperatura. Todavia, sob temperaturas muito elevadas, ocorre desnaturação proteica, o que reduz a atividade enzimática e, dependendo da intensidade de desnaturação, também pode resultar na morte da planta. Quando a temperatura aumenta dentro de uma faixa fisiologicamente ativa, a atividade de fixação de carbono também aumenta e, portanto, maiores quantidades de ATP e de poder redutor (NADPH) são necessários, o que explica o aumento na velocidade de fluxo de elétrons na CTE, na quantidade de moléculas de água oxidadas e, conseqüentemente, no número de bolhas liberadas.

4. O aumento da temperatura pode ter causado o fechamento de estômatos nas plantas de *Ceratophyllum*, reduzindo indiretamente a liberação de bolhas?

Ceratophyllum é um gênero de angiospermas constituído de plantas herbáceas totalmente submersas, que não suportam períodos de emersão. Elas não possuem raízes, cutículas, tecidos lenhosos ou fibrosos e estômatos. Portanto, como é comum em plantas subaquáticas, a inexistência de estômatos faz com que os efeitos das temperaturas elevadas não sejam decorrentes do seu fechamento, e sim de processos relacionados à desnaturação enzimática. Essas plantas apresentam fotossíntese por bombeamento ativo de carbono/carbonato, não sofrendo influências relacionadas à limitação na concentração interna de CO_2 para a RUBISCO, não apresentando, portanto, fotorrespiração aparente.

5. Por que águas contendo plantas subaquáticas são, em geral, mais ácidas à noite?

Porque, durante o período noturno essas plantas apresentam apenas o processo bioquímico da respiração, liberando CO_2 para o meio. Em meio aquoso, ocorre a reação do CO_2 com a água, formando ácido carbônico que libera H^+ , acidificando o meio, conforme equação a seguir:



6. Nesses experimentos com *Ceratophyllum*, você está determinando a taxa de fotossíntese real (total) ou aparente (líquida)? Explique.

Está sendo determinada a taxa de fotossíntese aparente ou líquida ($FS_{\text{líquida}} = FS_{\text{total}} - RS$), uma vez que, concomitantemente, está havendo fotossíntese e respiração por parte da planta de *Ceratophyllum*. As bolhas liberadas correspondem ao saldo positivo da fotossíntese líquida, uma vez que a respiração e a fotorrespiração consomem oxigênio, em lugar de liberá-lo. Para a determinação da fotossíntese real teríamos que saturar completamente a fotossíntese, aumentando a concentração de CO_2 e, também, estimar, por meio de técnicas complementares, a intensidade de respiração da planta. Pelo mecanismo fotossintético que possuem, de bombeamento de carbono/carbonato, plantas de *Ceratophyllum* não apresentam fotorrespiração aparente.

7. As bolhas que se desprendem do ramo de *Ceratophyllum* mantido à luz correspondem a qual gás atmosférico? Que evidências indiretas você obteve para suportar a sua afirmativa?

Para compensar os elétrons perdidos pelas clorofilas *a* especiais (P_{680} e P_{700}) durante o funcionamento da CTE, moléculas de água são oxidadas, o que ocorre no complexo de evolução do oxigênio, localizado no lúmen do tilacoide (associado ao fotossistema II). Com a quebra de duas moléculas de água, são liberados quatro elétrons, quatro prótons (H^+) e uma molécula de oxigênio (O_2). Os hidrogênios liberados contribuem para a formação do gradiente de potencial eletroquímico, utilizado para a síntese de ATP, enquanto o oxigênio corresponde às bolhas liberadas através das regiões cortadas dos ramos das plantas de *Ceratophyllum*, conforme equação a seguir.



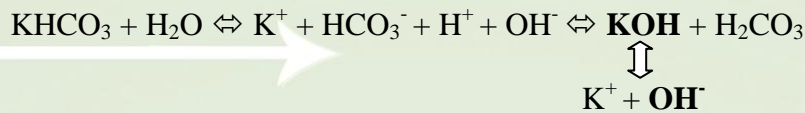
Se o gás liberado correspondesse ao CO_2 , as bolhas seriam liberadas mesmo no escuro, uma vez que a respiração ocorre durante todo o tempo. Uma maneira para se comprovar que o gás liberado não corresponde ao CO_2 é a determinação do pH da solução externa de $KHCO_3$. Caso o gás liberado fosse o CO_2 , haveria acidificação do meio, conforme ilustra a reação a seguir:



8. Por que foi adicionado ao tubo de ensaio contendo a planta de *Ceratophyllum* solução de bicarbonato de potássio ($KHCO_3$) e não H_2O ? O $KHCO_3$ é um ácido ou uma base?

Ceratophyllum é um gênero de angiospermas constituído de plantas herbáceas totalmente submersas, com mecanismo fotossintético do tipo bombeamento ativo de carbono/carbonato, não sofrendo influências de limitação na concentração interna de CO_2 e, conseqüentemente, não apresentando fotorrespiração aparente. Como apresentam esse mecanismo metabólico, o fornecimento de carbonato ($KHCO_3$) contribui para a atividade fotossintética das plantas conforme os resultados da aula.

O $KHCO_3$ é um sal básico (derivado de um ácido fraco com uma base forte), o que se explica pela formação de KOH , durante a sua dissociação em solução aquosa, como se pode inferir pela equação a seguir:



9. Na década de 70, *Theodor Wilhelm Engelmann* produziu um experimento interessante. Ele iluminou um filamento de alga com um micro-espectro de luz (na região do visível) que projetava radiação luminosa na superfície da alga, desde o violeta até o vermelho. No experimento, ele observou o crescimento e o acúmulo de bactérias aerófilas em faixas específicas do micro-espectro. Essas bactérias são atraídas por oxigênio e se acumulam nos locais em que esse gás se encontra em maior concentração. *Engelmann* observou maior acúmulo de bactérias nas faixas do azul e, principalmente, do vermelho. Poucas bactérias se concentraram em porções da alga filamentosa iluminadas com a radiação verde. Explique as diferenças nos resultados encontrados por *Engelmann*.

As plantas, assim como as algas, apresentam pigmentos que absorvem radiação mais eficientemente em determinados comprimentos de onda. Na região do verde, a absorção da radiação pelas clorofilas é reduzida e, por isso, a taxa de fotossíntese é baixa. Na região do azul, todavia, a taxa fotossintética é bem mais elevada, o que se explica pelos picos de absorção apresentados pelas clorofilas e pelos carotenoides nessa região do espectro luminoso. Como consequência da fase fotoquímica da fotossíntese (fotofosforilação oxidativa), a água (agente redutor) deve ser oxidada, liberando elétrons, hidrogênios e oxigênio. Portanto, quanto mais intensa é a fotossíntese, mais oxigênio será liberado. Como as bactérias são aerófilas, elas se concentram próximo às regiões de maior liberação de oxigênio, que correspondem exatamente às regiões nas quais a fotossíntese é mais intensa. É por esse motivo que as regiões da alga iluminadas com radiação vermelha acumulam mais bactérias, uma vez que essa faixa corresponde à radiação mais eficiente para a fotossíntese, o que também se explica pelos picos de absorção das clorofilas *a* especiais, P₆₈₀ e P₇₀₀, se encontrarem na região do vermelho do espectro visível.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- GANONG, W. F. **The teaching botanist**. 2nd. Ed. New York: Macmillan Co, 1929. 439 p.
- HALL, D. O.; RAO, K. **Photosynthesis: studies in biology**. 6th. Ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1999. 248 p.
- MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. Trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969. 301p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

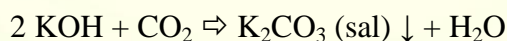
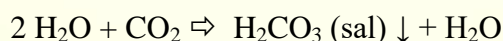
Prática 3.8 - Atividade Fotossintética em Plantas C₃ e C₄

Fundamentação teórica:

A ocorrência de senescência intensa nas folhas mais velhas das plantas de feijão e a manutenção da viabilidade das plantas de milho na campânula contendo a solução de KOH 25% podem ser explicadas pelos diferentes mecanismos de fixação de carbono observados em plantas C₃ e C₄. A transformação do CO₂ atmosférico em açúcares se processa no Ciclo de Calvin (C₃), que apresenta ocorrência universal nas plantas. No processo, o CO₂ é reduzido até açúcares, utilizando o ATP e o NADPH formados na fase fotoquímica. A carboxilação, primeira etapa desse ciclo, é catalisada pela RUBISCO, enzima que pode utilizar tanto o CO₂ quanto o O₂ como substratos. Em atmosfera normal, com temperatura amena e boa disponibilidade de água, a RUBISCO atua em uma proporção 3/1 carboxilase/oxigenase. A concentração de O₂ na atmosfera terrestre encontra-se em torno de 21%, enquanto a de CO₂, atualmente, encontra-se próximo a 0,040%. Quando essa enzima atua como oxigenase, pode haver perda de carbono através da fotorrespiração, reduzindo a produtividade das plantas que apresentam exclusivamente o ciclo C₃. Estudos realizados em estufas mostraram que o enriquecimento da atmosfera com CO₂ (adubação carbônica) até a concentração de 2% aumenta a produtividade das plantas C₃, indicando que a fotorrespiração pode ser metabólica e economicamente prejudicial. Esse aumento no rendimento é resultante da atuação da RUBISCO quase que exclusivamente como carboxilase na atmosfera enriquecida de CO₂, evitando e/ou minimizando a fotorrespiração. Todavia, em condições de campo, a fotorrespiração parece contribuir para a proteção do aparelho fotossintético das plantas C₃ contra os efeitos prejudiciais do estresse hídrico.

Algumas plantas como o milho, o sorgo e a cana-de-açúcar desenvolveram estratégias para minimizar os prejuízos causados pela fotorrespiração. Essas plantas, com mecanismo fotossintético C₄, apresentam uma anatomia peculiar, com separação espacial entre as células do mesófilo e as células da bainha dos feixes vasculares (anatomia *Kranz*). A principal característica desse ciclo é o mecanismo de concentração de carbono nas células da bainha, o que permite à RUBISCO atuar quase que exclusivamente como carboxilase, eliminando praticamente a fotorrespiração. Esse mecanismo concentrador de CO₂ permite que essas plantas realizem fotossíntese eficientemente mesmo sob condições de baixa disponibilidade desse gás. Por esse motivo, plantas C₄ apresentam ponto de compensação de CO₂ mais baixo que as plantas C₃.

O CO₂, quando dissolvido em água ou em presença de KOH, NaOH ou Ba(OH)₂, reage e precipita-se na forma de um sal, reduzindo a sua concentração na atmosfera, conforme ilustrado nas equações a seguir.



Portanto, no experimento da aula prática onde foi utilizado o KOH a 25% (p/v), a concentração de CO₂ na atmosfera no interior da campânula reduziu-se muito, alcançando valores abaixo do ponto de compensação das plantas C₃, fazendo com que as plantas de feijão (que apresentam fotorrespiração) apresentassem fotossíntese líquida negativa e,

consequentemente, senescência mais rápida das folhas do que na campânula onde foi adicionada a H_2O .

Os resultados da prática são úteis para ilustrar diferentes processos relacionados ao aumento do efeito estufa. Esse fenômeno é causado pelo incremento na concentração de CO_2 e de outros gases de efeito estufa na atmosfera, o que tem levado a um provável aquecimento global. Como conseguem sequestrar o carbono, incorporando-o em sua matéria seca (sequestro de carbono), as plantas podem contribuir para a redução dos efeitos prejudiciais desse fenômeno na concentração atmosférica de CO_2 .

As plantas C_3 , principalmente as espécies arbóreas, sequestram o carbono por mais tempo e, em função disso, são mais indicadas do que as plantas anuais C_3 (feijão, soja, arroz, aveia, etc.) ou C_4 (cana de açúcar, milho, sorgo, gramíneas tropicais, etc.) para minimizar as consequências prejudiciais do aumento do efeito estufa. Embora as C_4 , como a cana-de-açúcar, por exemplo, fixem mais carbono do que as C_3 arbóreas, elas, como plantas anuais, sequestram carbono por um curto período.

Questionário:

1. Porque apenas as folhas das plantas de feijão (C_3) apresentaram senescência intensa na campânula contendo o KOH?

Em função da atuação da RUBISCO como oxigenase, as plantas C_3 apresentam fotorrespiração aparente. Na medida em que a concentração interna de CO_2 da campânula foi reduzindo pela presença do KOH, a atividade fotorrespiratória dessas plantas aumentou e a fotossíntese líquida diminuiu. Com o passar do tempo, a concentração de CO_2 no interior da campânula caiu para valores abaixo do ponto de compensação de CO_2 do feijoeiro, o que culminou com a sua senescência precoce. Nas plantas C_4 , a maior afinidade da *fosfoenolpiruvato carboxilase* (PEPcase) por CO_2 (HCO_3^-) e o mecanismo de concentração de carbono nas células da bainha, possibilitou que, mesmo em uma atmosfera pobre em CO_2 , a fotossíntese se mantivesse com relativa eficiência, fazendo com que as folhas da planta de milho apresentassem viabilidade por mais tempo. Nesse caso, mesmo com a redução da concentração de CO_2 dentro da campânula pelo KOH, sua concentração ainda ficou acima do ponto de compensação de CO_2 da planta de milho, garantindo a manutenção da viabilidade das folhas dessa planta por mais tempo.

2. Por que plantas C_3 têm a produtividade aumentada quando cultivadas em condições de elevada concentração de CO_2 (adubação carbônica)?

Como as plantas C_3 apresentam fotorrespiração, o aumento da concentração externa, até determinados limites, faz com que a RUBISCO aumente muito sua atividade de carboxilase, reduzindo a ação dessa enzima como oxigenase, o que faz com que a produtividade seja aumentada. Por exemplo, a duplicação na concentração de CO_2 da atmosfera de 0,037% para 0,060% provoca aumentos na produtividade de 30 até 60%.

3. Por que o aumento excessivo da concentração de CO_2 da atmosfera em sistemas de adubação carbônica pode não resultar em aumentos elevados na produção?

É amplamente conhecido que sob concentrações excessivas de CO_2 ocorre o fechamento estomático. Esse processo é devido aos efeitos do CO_2 na biossíntese do ácido abscísico (ABA), principal regulador do fechamento estomático, reduzindo a condutância

estomática. Outras enzimas envolvidas no processo fotossintético também são afetadas, reduzindo a produtividade primária das plantas.

4. O que é o “efeito estufa” e quais são as suas causas?

O efeito estufa é um processo que ocorre quando parte da radiação solar refletida pela superfície terrestre é absorvida por determinados gases presentes na atmosfera. Como consequência, o calor fica retido e não é liberado para o espaço. O efeito estufa dentro de uma determinada faixa é de vital importância, pois, sem ele, a vida na terra não poderia existir. O que pode se tornar catastrófico é a ocorrência do agravamento do efeito estufa, desestabilizando o equilíbrio energético no planeta, originando o fenômeno conhecido como aquecimento global.

O Painel Intergovernamental para as Mudanças Climáticas (IPCC) atribui a maior parte desse aquecimento global ao aumento dos gases do efeito estufa. Esses gases (dióxido de carbono (CO_2), metano (CH_4), óxido nitroso (N_2O) e clorofluorocarbonetos [CFC_x (CF_xCl_x)] absorvem a radiação infravermelha emitida pela superfície da Terra e irradiam, por sua vez, parte da energia absorvida de volta para a superfície. Como resultado, a superfície recebe quase o dobro de energia da atmosfera do que a que recebe do sol. Nos últimos anos, a concentração de CO_2 na atmosfera tem aumentado cerca de 0,4% ao ano, tendo alcançado, em 2013, pela primeira vez, a concentração de 400 ppm. Esse aumento se deve à utilização intensiva de petróleo, gás e carvão e à destruição das florestas. Muitos desses gases também são produzidos naturalmente, como resultado de erupções vulcânicas, da decomposição da matéria orgânica e da fumaça de grandes incêndios.



5. Considerando-se seus conhecimentos relacionados à Fisiologia Vegetal e às vegetações brasileiras (nativas e cultivadas), explique como o Brasil pode contribuir tanto para a redução quanto para o aumento do efeito estufa.

As plantas C_3 , principalmente as espécies arbóreas, sequestram o carbono por mais tempo e, em função disso, são mais indicadas para reduzir as consequências prejudiciais do aumento do efeito estufa. Embora as plantas C_4 , como a cana-de-açúcar, por exemplo, fixem mais carbono do que as C_3 , por serem espécies anuais apresentam sequestro do carbono por período de tempo mais curto. As espécies arbóreas nativas do Brasil, da Mata Atlântica e do Cerrado, devem ser preferencialmente escolhidas em programas de reflorestamento e de créditos de carbono, uma vez que as espécies arbóreas exóticas, como o eucalipto e o pinheiro, são plantadas em monoculturas, o que trás prejuízos para a biodiversidade. Todavia, quando o interesse é a produção de papel ou carvão, essas espécies são as mais indicadas.

Em contraste às vantagens da utilização de plantios de espécies arbóreas nativas no combate ao aumento do efeito estufa, as queimadas, muito comuns no Brasil, liberam na atmosfera grandes quantidades de CO_2 , contribuindo, dessa forma, para o aumento do efeito estufa.

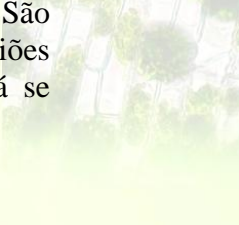
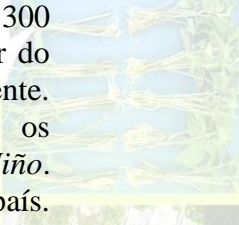
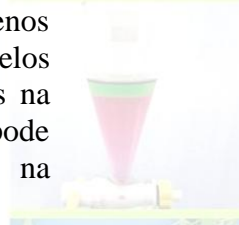
6. Quais são os riscos do aumento do efeito estufa para a floresta Amazônica e para outros ecossistemas tropicais?

Estudos do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE) mostraram que a floresta Amazônica tem grande influência na circulação de ar sobre os oceanos Atlântico e Pacífico. A supressão da mata pode afetar os regimes dos ventos, levando, por exemplo, a uma frequência maior do fenômeno *El Niño*, aumentando a frequência de secas em áreas produtivas do Brasil. Segundo o INPE, o sistema climático da América do Sul depende diretamente da floresta



amazônica. As expectativas sugerem que, como consequência do aumento do efeito estufa, a floresta tropical úmida corre o risco de ser substituída por uma vegetação rasteira e menos rica, semelhante à encontrada na África (Savana) e no cerrado brasileiro. Modelos matemáticos indicam que menos florestas representam menores quantidades de chuvas na região. A savanização da Amazônia, provável consequência do aquecimento global, pode causar impactos no clima de todo o país e até mesmo do globo, com reflexos na biodiversidade, na saúde e em escassez de água e alimentos.

Uma árvore adulta (com 20 metros de diâmetro de copa) pode transpirar mais de 300 litros de água por dia. Segundo estudos do INPE, essa força de evaporação “suga” o ar do oceano. Os ventos alísios entram nesse vácuo, trazendo umidade do oceano para o continente. Com menos árvores na floresta esse sistema seria prejudicado. Em longo prazo, os pesquisadores acreditam que o impacto no continente poderá ir além da influência no *El Niño*. Se os ventos alísios não forem atraídos, a seca poderá se estender para outras partes do país. Na mesma latitude de São Paulo, do outro lado dos Andes, existe o deserto de Atacama. São os ventos alísios, que defletem na cordilheira, que, no verão, trazem chuvas para as regiões Centro-Oeste, Sul e Sudeste do Brasil. Sem a floresta Amazônia, um deserto poderá se formar. É o que estudos do INPE, com base em formulações físicas, levam a concluir.



Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
PEARCY, R. W.; EHLERINGER, J. Comparative ecophysiology of C₃ and C₄ plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 7, n. 1, p. 1-13, 1984.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.1 - Intensidade de Osmose

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A rápida entrada de água no interior das membranas que continham 5 ou 10 colheres de açúcar é explicada pelo movimento da água, por osmose, através da membrana semipermeável, da solução externa, de maior potencial hídrico, para a solução interna, de menor potencial hídrico. A ascensão da água através da pipeta ocorreu devido à diferença de pressão osmótica entre o interior (elevada pressão osmótica) e o exterior (baixa pressão osmótica) das membranas adicionadas de 5 ou 10 colheres de sacarose. Quanto mais concentrada era a solução interna, mais rápida foi a entrada de água e a subida da solução na pipeta. Na membrana que continha apenas água, a redução na altura inicial pode ter ocorrido devido à perda de água no sistema em resposta ao fluxo através da membrana, com resultado da diferença de pressão hidrostática (peso da coluna de água) ou, ainda, à ocorrência de pequenos furos ou vazamentos no saquinho de diálise.

Devido à presença da endoderme (Estrias de Caspari) nas raízes das plantas, a água não possui livre acesso às células do estelo. Essa barreira à livre entrada, somada à perda de água por transpiração nas folhas, gera uma pressão negativa ou tensão (Ψ_p negativo) nos vasos do xilema, o que ocorre principalmente nas horas mais quentes do dia. Todavia, em condições ambientais particulares, pressões positivas também podem se estabelecer na seiva do xilema, resultando no fenômeno da gutação. Condições fundamentais para a ocorrência da gutação são umidade relativa do ar elevada, temperatura amena e solo úmido. Quando essas condições tornam-se disponíveis, a transpiração se reduz, possibilitando intensa absorção de água, que preenche completamente os vasos do xilema, desde as raízes até os terminais (traqueídeos) nas folhas, ocorrendo liberação de seiva xilemática, no estado líquido (gutação), através dos hidatódios.

Questionário:

1. Defina a osmose sob o ponto de vista físico-químico.

A osmose consiste no movimento da água (ou outro solvente) do meio de maior energia livre (potencial hídrico) para o de menor energia livre, através de uma membrana semipermeável.

2. Considerando os resultados obtidos nesta aula, explique as diferenças encontradas nos três sistemas.

As diferenças observadas nos três sistemas utilizados na aula (membranas semipermeáveis limitando soluções de diferentes concentrações) são explicadas pelas diferenças nas concentrações de solutos (sacarose) no interior de cada um deles. Nos saquinhos contendo sacarose, a entrada de água por osmose, do meio externo mais diluído (com maior potencial hídrico) para o meio interno mais concentrado (com menor potencial hídrico), ocorreu proporcionalmente à concentração desse carboidrato (osmoticamente ativo) mantido no interior dos dois recipientes, ou seja, no saquinho mais concentrado, a ascensão da solução contendo sacarose foi maior e mais rápida. No saquinho onde foram adicionadas dez colheres de sacarose, a diferença de energia livre (potencial hídrico) da solução interna em relação à solução externa (apenas água) era maior do que a diferença observada entre o

saquinho contendo apenas cinco colheres de sacarose e o meio externo. Por isso, a entrada de água e, conseqüentemente, a ascensão da solução na pipeta correspondente à maior concentração de sacarose, foi maior do que na que continha a concentração mais baixa. No saquinho que continha apenas água, a redução na altura da coluna em relação ao nível inicial pode ter sido resultante da passagem de água através da membrana (por ação da gravidade), do meio interno para o recipiente externo, demonstrando que o fluxo de água pode ocorrer nas duas direções. Essa redução na altura inicial da coluna de água também pode ter sido decorrente de pequenas perfurações na membrana.

3. Por que quanto maior é a concentração de sacarose, maior e mais rápida é a subida da coluna líquida na pipeta?

Para soluções diluídas de substâncias indissociáveis, como a sacarose, por exemplo, o potencial osmótico pode ser estimado pela equação de Van't Hoff:

$$\Psi_s = - RTC_s, \text{ onde:}$$

R = constante dos gases ($8,32 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); **T** = temperatura absoluta em Kelvin ($273 +$ temperatura em $^{\circ}\text{C}$); **C** = concentração de solutos na solução expressa em osmolalidade (moles de soluto L^{-1} de água).

Como $\Psi_s = - \pi$ (pressão osmótica), temos que $\pi = RTC_s$. Deduz-se, portanto, que a pressão osmótica (π) é diretamente proporcional à concentração. Em função disso, uma solução mais concentrada (**C**) apresentará maior pressão osmótica (e menor potencial hídrico) do que outra mais diluída, explicando a diferença observada na velocidade de ascensão da coluna nas duas pipetas.

4. Que outro fator, além da concentração de sacarose, poderia afetar a intensidade da osmose?

Outro fator que poderia afetar a intensidade da osmose, além da concentração de sacarose, seria a temperatura, uma vez que $\pi = RTC_s$. Os efeitos da temperatura (**T**) sobre a permeabilidade das membranas artificiais se manifestam pelo aumento da energia cinética das moléculas na solução (água e solutos). Em membranas naturais, além do aumento da energia cinética das moléculas, o incremento do tamanho dos poros das membranas, assim como da densidade de empacotamento dos lipídios, aumenta a condutividade hidráulica do solvente entre os dois lados da membrana, ampliando, conseqüentemente, a intensidade da osmose.

5. À medida que ocorre a entrada de água dentro do osmômetro (saquinho), o que acontece com a pressão osmótica? Aumenta ou diminui? Justifique a sua resposta.

A pressão osmótica no interior do saquinho diminui à medida que ocorre a entrada de água no osmômetro, uma vez que, devido ao efeito de diluição, a diferença de concentração entre os dois meios, interno e externo, vai se reduzindo em comparação à concentração inicial.

6. Que procedimento você adotaria para medir a pressão osmótica do sistema?

É possível medir a pressão osmótica do sistema submetendo o mesmo a uma pressão no sentido inverso ao de ascensão da coluna. A pressão (registrada no manômetro) em que a

subida da coluna for impedida corresponderá ao valor da pressão osmótica gerada no sistema pela sacarose.

7. O que aconteceria com o sistema se você usasse como soluto ácido acético em vez de sacarose?

No caso específico, a membrana artificial utilizada apresenta poros que permitem a livre passagem de ácido acético. As moléculas desse ácido orgânico fraco passariam livremente do interior dos saquinhos para a solução externa, até que fosse estabelecido o equilíbrio entre os potenciais químicos dos dois lados da membrana utilizada para separar os dois meios. No equilíbrio as duas soluções (dentro e fora do saquinho) teriam o mesmo potencial hídrico (e a mesma concentração de ácido acético). Uma vez que o ácido acético é um eletrólito fraco, predominando em solução na forma molecular, ele atravessaria livremente a membrana, impossibilitando a ocorrência de osmose, uma vez que os potenciais osmóticos internos e externos seriam idênticos.

8. Até que altura máxima a coluna líquida subiria, supondo que a pipeta fosse infinitamente longa?

Supondo-se que a pipeta fosse infinitamente longa, a altura máxima que a coluna de água subiria, seria aquela em que a pressão osmótica gerada pela solução de sacarose se igualasse à pressão hidrostática (peso da coluna de água).

9. Que analogia você faria desse sistema com o processo de gutação em plantas?

Em plantas a gutação é um processo similar ao observado na aula (sistema físico), pois quando a transpiração é muito baixa, as raízes continuam absorvendo água (devido ao acúmulo de íons nas raízes) o suficiente para preencher completamente os elementos de vasos do xilema, desde as raízes até os terminais nas folhas (traqueídeos), ocorrendo a perda de seiva xilemática, no estado líquido, através dos hidatódios. Nessa situação, a seiva do xilema encontra-se sob pressão positiva, da mesma forma que no sistema artificial utilizando as pipetas, a sacarose e as membranas semipermeáveis. Em plantas, a gutação é uma evidência da pressão radicular positiva. A gutação só pode ser observada em plantas de pequeno porte e sob condições de umidade relativa do ar elevada, temperatura do ar e déficit de pressão de vapor baixos e disponibilidade adequada de água no solo.

Bibliografia:

CATH, T. Y.; CHILDRESS, A. E., ELIMELECH, M. Forward osmosis: principles, applications, and recent developments. **Journal of Membrane Science**, v. 281, n. 1, p. 70-87, 2006.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

Prática 4.2 - Osmose em Célula de Traube

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Quando um cristal de ferrocianeto de potássio é adicionado a uma solução de sulfato de cobre ocorre a formação contínua de vesículas. Devido ao aumento de tamanho e do rompimento das vesículas, causado pela absorção de água além do limite de resistência da membrana, novas combinações químicas ocorrem entre o gel e a solução externa.

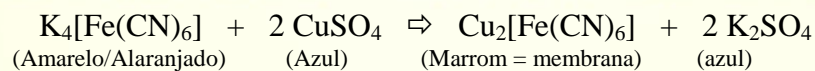
Ao entrar em contato com a água da solução, o cristal de ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$) se dissocia em íons K^+ e $Fe(CN)_6^{4-}$ (ferrocianeto). Os íons $Fe(CN)_6^{4-}$ reagem com os íons cobre (Cu^{2+}) da solução ($CuSO_4 \rightarrow Cu^{2+} + SO_4^{2-}$), formando $Cu_2[Fe(CN)_6]$ (ferrocianeto de cobre), uma substância insolúvel, que se comporta como uma membrana permeável à água e impermeável aos íons presentes. O $K_4[Fe(CN)_6]$ fica confinado dentro das vesículas em forma de gel. Com a absorção de água, o gel incha (cresce) e, após um determinado limite de expansão, a membrana se rompe, havendo novamente o contato dos íons $Fe(CN)_6^{4-}$ com o Cu^{2+} do meio externo, formando novas membranas e assim sucessivamente. A membrana artificial de Traube apresenta comportamento análogo ao observado por membranas biológicas e por outras membranas artificiais, uma vez que ela também apresenta permeabilidade seletiva.

A aula prática mostrou que mesmo as membranas artificiais podem apresentar permeabilidade seletiva, o que pode ser correlacionado com o comportamento das membranas biológicas em relação a essa importante característica (seletividade).

Questionário:

1. Escreva a reação química envolvida na formação das células artificiais de Traube.

A reação química envolvida na formação das células de Traube é a seguinte:



2. Que substâncias existem dentro e fora das células de Traube? Qual é a constituição química da membrana?

Do lado de fora existe sulfato de cobre ($CuSO_4$), dissociado em seus íons Cu^{2+} e SO_4^{2-} , com coloração azul. Do lado de dentro existem cristais de ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$) em forma de gel, que se dissociam em íons K^+ e $Fe(CN)_6^{4-}$ (ferrocianeto). Por sua vez, a membrana é formada por ferrocianeto de cobre ($Cu_2[Fe(CN)_6]$), que apresenta coloração marrom. Embora mais frágil, a célula de Traube é uma membrana artificial semipermeável tão boa quanto o celofane. Ela se deixa atravessar pela água, mas não pelos sais dissolvidos nas soluções. Temos, portanto, um caso de membrana semipermeável separando dois meios, possibilitando a ocorrência do fenômeno da osmose.

3. Qual é a substância que atravessa as membranas das células de Traube? Qual é a evidência para sua resposta?

A substância que atravessa a membrana é a água, pois a membrana se rompe após algum tempo. Caso fosse o CuSO_4 , logo haveria um equilíbrio entre o interior e o meio externo, não ocorrendo a ruptura da membrana.

4. Que aconteceria se a membrana de Traube fosse permeável aos diversos íons presentes no sistema?

Tanto a água quanto os íons entrariam e sairiam das células de Traube através da membrana e essas, conseqüentemente, devido ao equilíbrio dos potenciais (energia livre) interno e externo e sem o crescimento osmótico não se romperiam, à semelhança de uma célula em equilíbrio com o meio.

5. Por que a célula artificial de Traube é usada para demonstrar o fenômeno da osmose?

Porque a membrana que se forma é semipermeável, como exige o mecanismo de osmose, deixando passar apenas a água e não os solutos, $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ e CuSO_4 . A água é absorvida até o ponto em que a membrana não suporta e se rompe em um ponto mais frágil.

6. Por que as células vegetais não se rompem quando colocadas em água destilada, mesmo se sabendo que concentração de solutos no meio interno é maior (o potencial hídrico é menor) do que no meio externo?

Por que as células vegetais apresentam a parede celular, estrutura rígida que confere resistência, impedindo a ocorrência de plasmoptise (ruptura) das células vegetais. Caso fosse uma célula animal ou uma célula vegetal sem parede (protoplasto), também haveria ruptura das membranas nessa condição.

Bibliografia:

- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratório de fisiologia vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROYER, R.; HAASETH, R. A Simple and concrete model for the introduction of cell theory in the secondary school. **The American Biology Teacher**, v. 48, n. 8, p 483-484, 1986.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 4.3 - Demonstração da Osmose em Tecidos de Batata

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

Os tecidos do tubérculo perdem água ao serem imersos na glicerina, uma vez que a energia livre da água (potencial hídrico) na solução de glicerina é menor do que a energia livre da água nas células do tubérculo. A água sai osmoticamente do tubérculo (passando através da plasmalema das células do tecido do tubérculo de batata, por osmose) e atinge a solução de glicerina (meio com menor energia livre). A água que sai do tubérculo sobe, uma vez que ela é menos densa do que a solução de glicerina a 50%, além de não se misturar imediatamente com a solução externa, que é muito viscosa.

A aula prática permitiu a demonstração visual do fenômeno da osmose, possibilitando correlacionar os resultados encontrados ao comportamento osmótico das células, tecidos e das plantas como um todo em resposta a variações no potencial hídrico do meio.

Questionário:

1. Quais são as principais diferenças entre difusão e osmose?

A difusão é um mecanismo de transporte que se caracteriza pelo movimento termo-caótico (ao acaso) de moléculas em resposta a gradientes de concentração (ΔC). O processo difusivo pode ser facilmente demonstrado pela adição de um pequeno volume de uma solução colorida concentrada em uma das extremidades de um recipiente contendo água. Após algum tempo, por difusão, todo o recipiente ficará uniformemente colorido. A difusão dos gases é ainda mais rápida, podendo ser ilustrada pela liberação de gases ou perfumes em um ambiente, notando-se rapidamente o seu espalhamento. A difusão difere da osmose, pois ocorre mesmo em ambientes livres de biomembranas.

Na osmose, as soluções apresentando diferentes concentrações encontram-se, obrigatoriamente, separadas por uma membrana semipermeável, que não deixa passar os solutos, mas apenas o solvente. Nesse caso, o solvente (água) da solução hipotônica se movimenta para a solução hipertônica através da membrana semipermeável. O que determina a direção do movimento de água é a diferença de potencial hídrico (energia livre) entre os dois lados da membrana, com a direção do movimento ocorrendo sempre da região de maior para a de menor potencial hídrico.

2. Por que o fenômeno da plasmoptise não ocorre em células vegetais.

A plasmoptise corresponde ao processo de ruptura da membrana plasmática provocado pela entrada excessiva de água, por osmose, quando as células são mergulhadas em uma solução hipotônica (menos concentrada do que a do interior da célula). A célula vegetal possui parede celular, que é semirrígida. Por esse motivo, mesmo quando uma célula é mantida em uma solução hipotônica (ela fica túrgida), a membrana plasmática não se rompe, não ocorrendo plasmoptise. Todavia, caso fosse utilizado um protoplasto (célula vegetal sem parede), também haveria ruptura das membranas. Nas células animais, devido à inexistência de parede, pode haver plasmoptise quando estas são colocadas em água e em soluções diluídas (hipotônicas).

3. Que analogia poderia ser feita entre os resultados da aula e a utilização excessiva de adubos químicos?

Os adubos químicos nada mais são do que misturas de diferentes sais minerais. Quando solúveis na solução do solo, os sais dos adubos interferem no potencial osmótico, podendo tornar o potencial hídrico do solo menor do que o potencial hídrico dos tecidos das raízes, provocando perda de água pelas células. Adubações excessivas podem acarretar em morte das raízes. Caso os adubos sejam aplicados em excesso em plantios sucessivos, poderá ocorrer a salinização, inutilizando o solo para plantios futuros.

As células morrem principalmente devido ao contato com o sal, sendo os efeitos de plasmólise muito localizados. Sob condições normais de salinidade, não há fluxo reverso das raízes das plantas para o solo, pois as Estrias de Caspari impedem a ocorrência desse fenômeno.

Bibliografia:

- MEYER, B. S.; WALLACE, A. M. A comparison of two methods of determining the diffusion pressure deficit of potato tuber tissues. **American Journal of Botany**, v. 28, n. 9, p. 838-843, 1941.
- O'LEARY, J. W. A critical evaluation of tissue-immersion methods for measurement of plant water potential. **The Ohio Journal of Science**, v. 70, n. 1, p. 34-38, 1970.
- THOMAS D. G.; GALLAGHER, R. B.; JONSON, J. S. **Hydrodynamic flux control for waste water application of hyperfiltration systems**. EPA-R2-73-228. Washington: Office of Research and Monitoring, US EPA, 1973. 87 p.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.4 - Plasmólise e Efeitos de Substâncias Tóxicas na Permeabilidade de Biomembranas

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) *Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos*. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Devido ao volume do vacúolo, sob condições normais, a membrana plasmática das células encontra-se pressionada contra a parede celular. Quando as células são colocadas em solução concentrada de sacarose ocorre perda de água (por osmose) e o protoplasma se retrai, afastando a membrana plasmática da parede celular.

Devido à permeabilidade seletiva da membrana plasmática e do tonoplasto, o processo pode ser revertido quando a célula é colocada novamente em água pura. Desde que a integridade celular das células de zebrina seja mantida, os fenômenos de plasmólise e de deplasmólise ocorrerão sempre em resposta às diferenças de potencial hídrico entre os tecidos e o meio externo. Se o meio externo contiver uma solução hipertônica (menor potencial hídrico), as células perderão água devido à plasmólise, e seus vacúolos, onde a antocianina encontra-se armazenada, reduzirão de tamanho, ficando ligeiramente mais avermelhados como resultado do aumento relativo da concentração vacuolar de antocianina. Quando o meio externo for hipotônico (menor potencial hídrico), o tecido absorverá água e o volume do vacúolo aumentará, exercendo pressão contra a parede, permitindo a observação de uma coloração avermelhada ligeiramente mais fraca em todo o espaço celular (devido à antocianina presente no vacúolo).

Os tecidos das plantas de elódea também responderam de forma similar aos da zebrina, aumentando ou reduzindo o tamanho dos seus vacúolos em resposta às variações nas concentrações de sacarose das soluções externas. Ao se adicionar o álcool (etanol) aos tecidos de zebrina, a coloração avermelhada foi gradativamente perdida. Os lipídios das membranas são solúveis nesse solvente orgânico, causando perda da integridade estrutural e desorganização da plasmalema e do tonoplasto. Consequentemente, houve perda (por difusão) de antocianina do vacúolo e diluição desses pigmentos no meio. Assim, todo o campo visual ficou colorido, embora em intensidade mais fraca, uma vez que, devido à desintegração das membranas, não existia mais separação entre os meios interno e externo.

A aula prática demonstrou a ocorrência do fenômeno de osmose e a importância da integridade estrutural das membranas para a manutenção da permeabilidade seletiva.

Questionário:

1. Defina os termos plasmólise e deplasmólise.

A plasmólise consiste na redução do volume celular, devido à perda de água, provocando a contração do citoplasma e o descolamento da plasmalema da parede celular. Esse fenômeno ocorre quando as células são mantidas em um meio hipertônico. Nessa situação, o meio apresenta potencial hídrico menor do que o vacúolo e, consequentemente, as células perdem água por osmose. A deplasmólise é o processo inverso, no qual a água é absorvida da solução externa quando o tecido com células plasmolisadas é transferido para a água pura ou para soluções hipotônicas.

2. Qual é o pigmento vermelho das células de zebrina e onde ele se localiza?

O pigmento vermelho das células de zebrina é a antocianina, um flavonóide hidrossolúvel que se acumula no vacúolo das células da epiderme abaxial das folhas dessa planta.

3. O que sai da célula durante a plasmólise: água ou suco celular? Qual é a evidência para a sua conclusão?

Durante a plasmólise o que sai da célula é água. Isso é evidenciado pelo fato de o espaço gerado entre o protoplasto e a parede celular, em consequência da diminuição do volume celular e ocupado pela solução plasmolisante de sacarose, permanecer descolorido, indicando que o pigmento (antocianina) ficou retido no interior dos vacúolos. Outro fato que evidencia a manutenção dos solutos no interior das células durante a plasmólise é a maior intensidade da coloração avermelhada das células nessa condição. Além disso, quando esses tecidos são transferidos para soluções hipotônicas, observa-se o fenômeno de deplasmólise, o que comprova a integridade celular e a manutenção da antocianina no interior de vacúolo.

4. Por que o pigmento não saiu das células quando houve plasmólise? E por que saiu quando as células plasmolisadas foram tratadas com etanol?

Quando houve plasmólise, em consequência do menor potencial hídrico da solução externa, somente água saiu das células. Nesse caso, as membranas celulares permaneceram íntegras, sem alterações na sua permeabilidade seletiva, condição importante para a retenção do pigmento e dos demais componentes no interior dos vacúolos.

Todavia, quando as células foram tratadas com álcool, o pigmento dispersou porque o etanol solubiliza os lipídios das biomembranas (plasmalema e tonoplasto), possibilitando que o pigmento avermelhado (antocianina) que estava contido no vacúolo se dispersasse no meio.

5. Por que, quando se quer provocar plasmólise em células, se utilizam soluções de sacarose e não substâncias como éter ou acetona?

Por que como são solventes orgânicos e tóxicos, o éter e a acetona causariam a solubilização dos lipídios das membranas que, conseqüentemente, perderiam a sua permeabilidade seletiva, impossibilitando a ocorrência de plasmólise. Isso não acontece com sacarose, pois esse carboidrato não afeta a integridade das membranas.

6. Por que as células de uma folha não se plasmolisam quando ela murcha?

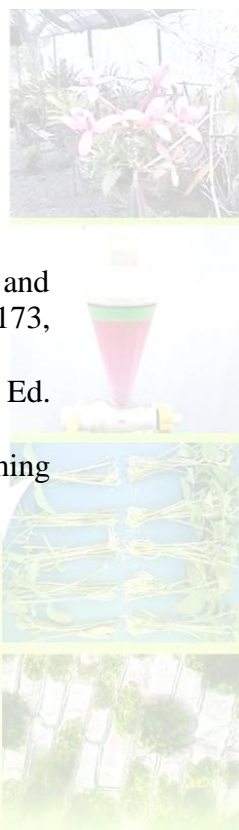
Para que a plasmólise ocorra é necessário o deslocamento da plasmalema da parede. Entretanto, ainda que as folhas fiquem murchas, os microporos e os microcapilares da estrutura de celulose da parede permanecem hidratados, uma vez que a água encontra-se retida com grandes forças matriciais (embebição), impedindo que o ar dos espaços aéreos ocupe os espaços entre as paredes celulares e os protoplastos das células foliares. Como consequência, as células ficam sob tensão e entram em murcha. Por isso, a plasmólise não é um fenômeno natural nas células das folhas murchas, mas, apenas, um artefato observado em laboratório.

Bibliografia:

COLLANDER, R.; ÄYRÄPÄÄ, T. A simple permeability experiment for class work and demonstration purposes. **Acta Physiologica Scandinavica**, v. 14, n. 1-2, p. 171-173, 1947.

MOORE, T.C. **Research experiences in plant physiology: a laboratory manual**. 2nd. Ed. Berlin-Heidelberg: Springer. 1981. 348 p.

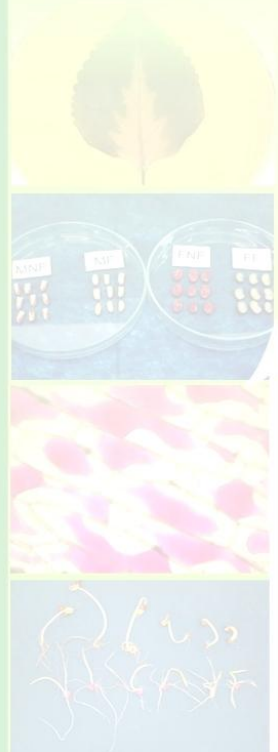
ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.5 - Alterações na Permeabilidade de Biomembranas pela Ação de Solventes Orgânicos

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p. e em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

O éter e o clorofórmio desorganizaram as estruturas das biomembranas (plasmalema e tonoplasto), principalmente as fases lipídicas, permitindo que os pigmentos róseos (antocianina, em *Tradescantia spathacea*, ou betalaína, em raízes de beterraba) que estavam contidos nos vacúolos extravasassem das células. A velocidade de difusão da antocianina em resposta a esses dois solventes é rápida, o que se deve à apolaridade do éter e do clorofórmio, solventes que solubilizam rapidamente os lipídios das biomembranas.

A velocidade para o início da saída do pigmento das células depende muito da espessura do corte feito nas folhas do abacaxi-roxo para a retirada dos segmentos da epiderme. Quanto mais fino é o corte (uma camada de células apenas), mais rapidamente é possível observarem-se os resultados. Tem-se observado que o início da saída do pigmento das células, que vão lentamente perdendo sua coloração rósea até tornarem-se totalmente transparentes, ocorre entre 15-20 minutos.

No experimento com raízes de beterraba, a coloração mais forte foi encontrada no tubo de ensaio em que os tecidos foram expostos previamente ao clorofórmio. Embora sejam dois solventes orgânicos bastante voláteis, devido ao seu menor tamanho molecular, o clorofórmio (CHCl_3) apresenta maior facilidade de penetração nas biomembranas do que o éter etílico ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$), o que resulta em maior desorganização das biomembranas na sua presença. Em função disso, a perda de betalaínas do vacúolo foi mais intensa em resposta ao clorofórmio.

Esta aula prática, tal como observado em aulas realizadas anteriormente, também destaca a importância da integridade estrutural das membranas para a manutenção da permeabilidade seletiva.

Questionário:

1. O que são os solventes orgânicos?

Solventes orgânicos são substâncias contendo carbonos, que apresentam certa volatilidade e solubilidade, sendo utilizadas como diluentes, dispersantes ou solubilizante. Alguns deles, como o éter e o clorofórmio, são líquidos, voláteis, de caráter apolar e apresentam reduzida massa molecular. Esses dois solventes orgânicos são facilmente miscíveis em gorduras, podendo, assim, liberar moléculas associadas à fase apolar lipídica das biomembranas.

2. Como os solventes orgânicos utilizados na aula prática alteram a permeabilidade das biomembranas?

Os solventes orgânicos utilizados na aula prática desorganizam a fase apolar das biomembranas, pois também são apolares, misturando-se com os lipídios, solubilizando-os e retirando-os da sua posição na estrutura da membrana. Dessa forma, eles abrem caminho para a passagem dos pigmentos hidrossolúveis anteriormente retidos no interior dos vacúolos.

3. Por que, quando foi utilizado o clorofórmio, a velocidade de perda de coloração foi ainda mais rápida do que com o éter?

O clorofórmio (CHCl_3) apresenta tamanho molecular menor do que o éter etílico ($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$), sendo também mais apolar. Mais volátil que o éter, o clorofórmio penetra com mais facilidade nas biomembranas em razão de seu tamanho molecular reduzido, sendo capaz de agir oito vezes mais rápido e fortemente que o éter. Por isso, a desorganização das biomembranas, provocada pelo clorofórmio, sobretudo sobre a fase lipídica apolar, promove perda mais intensa dos pigmentos hidrossolúveis (antocianinas e betalaínas) contidos nos vacúolos das células.

4. Os tratamentos realizados alteraram a permeabilidade da plasmalema ou do tonoplasto? Apresente razões para a sua resposta.

Os solventes utilizados (éter e clorofórmio) atuam igualmente nas duas biomembranas, uma vez que ambas apresentam estruturas semelhantes (são formadas por uma bicamada lipídica, na qual proteínas se encontram mergulhadas na forma de um mosaico). Os pigmentos (antocianinas e betalaína) são hidrossolúveis e se encontravam armazenados no interior dos vacúolos. Como ocorreu a perda desses pigmentos, isso indica que a seletividade do tonoplasto também foi afetada, e não apenas a da membrana plasmática.

Bibliografia:

- MOORE, T.C. **Research experiences in plant physiology: a laboratory manual.** 2nd. Ed. Berlin-Heidelberg: Springer. 1981, 348 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual.** Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SEEMAN, P.; ROTH, S. General anesthetics expand cell membranes at surgical concentrations. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes**, v. 255, n.1, p. 171-177, 1972.

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 4.6 - Efeitos da Temperatura sobre a Permeabilidade das Membranas Celulares

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A alteração na permeabilidade das membranas celulares causada por determinadas temperaturas permitiu que o conteúdo vacuolar, com tonalidade avermelhada (devido ao pigmento betanina), se dispersasse no meio por difusão. Sob temperaturas muito altas, a permeabilidade seletiva das membranas celulares é perdida, devido à desnaturação de proteínas e ao aumento da solubilidade dos lipídios e da fluidez das membranas. Com a redução intensa da temperatura, alcança-se um ponto em que a bicamada sofre uma transição de fase, com os lipídios passando do estado líquido cristalino para o estado gel sólido. Nessa condição, a mobilidade dos lipídios fica muito restrita, resultando em perda de integridade das membranas. Além disso, a água aumenta de volume sob temperaturas muito baixas, afastando as pontes de hidrogênio e alterando a estrutura secundária das proteínas. Como consequência, os pigmentos que se encontravam nos vacúolos se dispersam, tal como foi observado pela coloração das soluções contendo os cilindros de beterraba mantidos sob temperaturas elevadas e muito baixas. Em função disso, as soluções correspondentes às temperaturas de -15°C e 80°C apresentaram coloração rósea muito intensa, o que também se observou, embora em menor intensidade, nos materiais mantidos a temperaturas de -1°C e 50°C . Sob temperatura ligeiramente quente (37°C), os lipídios se encontravam em estado relativamente fluido. Nessa temperatura, os fosfolipídeos podem girar e/ou se movimentar lateralmente, tornando a bicamada um cristal líquido bidimensional, o que pode causar o início da perda de permeabilidade. À temperatura de 18°C , a coloração da solução externa ficou quase incolor, o que indica que, nessa temperatura, a permeabilidade das biomembranas não foi alterada.

Esta aula prática, à semelhança de outras aulas apresentadas nesse tópico, também demonstrou a importância da manutenção da integridade estrutural das membranas para a manutenção da permeabilidade seletiva.

Questionário:

1. Por que a absorvância das amostras foi baixa entre 10 e 30°C e aumentou em temperaturas mais elevadas?

Os processos biológicos respondem a variações na temperatura. Entre 10 e 30°C , a organização das membranas celulares é mantida, uma vez que os lipídios e proteínas se encontram em uma faixa de temperatura cujas propriedades bioquímicas se mantêm estáveis (temperaturas fisiológicas). Nessa condição, as membranas permanecem na forma líquida-cristalina fluida. Todavia, sob temperaturas muito elevadas, em especial acima de 40°C , os fosfo-, glico- ou sulfolipídios e as proteínas integrais e periféricas das membranas se afastam, em decorrência do aumento da energia cinética de suas estruturas (aumento do movimento de rotação e vibração). Dependendo da temperatura, também pode haver desnaturação de proteínas e, conseqüentemente, perda de seletividade. Desse modo, surgem espaços de menor densidade molecular nas biomembranas, o que leva à perda de seletividade e ao aumento da permeabilidade aos pigmentos hidrossolúveis (armazenados nos vacúolos), tornando a coloração da solução externa rósea forte.

2. Por que a absorvância também é alta quando se congela o cilindro de beterraba?

Temperaturas muito baixas também interferem na estrutura das membranas celulares, podendo promover a sua ruptura e a perda de integridade. A intensidade do dano provocado por temperaturas baixas depende, dentre outros fatores, da intensidade do frio, da composição da membrana e da velocidade de formação dos cristais de gelo e do seu descongelamento. O aumento do volume da água em resposta à redução da temperatura também contribui para a ocorrência de alterações na estrutura secundária das proteínas, aumentando a sua permeabilidade.

Essas variações na temperatura interferem na permeabilidade das membranas, alterando a conformação dos lipídios, causando rupturas. Plantas tolerantes ao resfriamento possuem uma proporção elevada de ácidos graxos polinsaturados, tornando-as mais adaptadas ao frio, o que não ocorre com as plantas sensíveis. Nessas plantas, a maior proporção de ácidos graxos saturados torna suas membranas mais propensas à solidificação, mesmo em temperaturas acima de 0°C. Isso faz com que as suas membranas sejam menos fluídas (+ viscosas) e as proteínas e enzimas ligadas a elas não funcionem adequadamente.

Ao se diminuir lentamente a temperatura, alcança-se um nível em que a bicamada sofre uma evidente mudança. Os lipídios passam do estado fluido-líquido-cristalino (normal) para o estado gel-cristalino (de menor fluidez), tornando os seus movimentos muito restritos. Assim, os pigmentos conseguem extravasar do vacúolo, conforme foi observado pela coloração rósea intensa e pelos valores elevados das absorvâncias das amostras correspondentes a esses tratamentos.

3. Que outro tratamento provocaria esses mesmos efeitos?

Qualquer tratamento que provoque o aumento na permeabilidade das membranas pode aumentar a coloração (absorvância) da solução externa. O tratamento dos tecidos com solventes orgânicos (éter, clorofórmio e etanol, por exemplo) também provoca a liberação de pigmentos do vacúolo, o que ocorre devido aos efeitos desses solventes sobre a organização da bicamada lipídica. Os efeitos tóxicos dos solventes são resultantes da difusão das suas moléculas através das biomembranas e da solubilização dos lipídios e proteínas.

4. Por que é preciso lavar os cilindros de beterraba durante 5 minutos em água corrente antes da realização dos testes na aula prática?

Durante a obtenção dos cilindros de beterraba ocorre a ruptura de células e a liberação de pigmentos dos vacúolos. A lavagem é essencial para a retirada dos pigmentos proveniente das células superficiais rompidas durante o corte, pois, sem ela, os pigmentos poderiam interferir nos resultados.

5. Cilindros de batata-inglesa poderiam ser utilizados para estudar a permeabilidade pelo método colorimétrico? Justifique.

Não, pois a batata não possui pigmentos flavonoides coloridos como os encontrados em raízes de beterraba.

6. Por que os fruticultores geralmente armazenam seus frutos sob temperaturas baixas, mas nunca inferiores à zero?

O congelamento pode danificar alguns alimentos devido ao rompimento das membranas celulares durante a formação extracelular dos cristais de gelo. A velocidade de congelamento influencia tanto a localização quanto o tamanho e a quantidade dos cristais de gelo formados. Sob altas taxas de congelamento, ocorre a formação de pequenos cristais de gelo e em grande quantidade, com mínimo deslocamento de água. Em condições de congelamento lento, os cristais formados são maiores e em menor quantidade, ocasionando ruptura e injúria celular por força da precipitação irreversível ou da desnaturação dos constituintes coloidais da célula.

A maioria das espécies frutíferas tropicais apresenta sensibilidade a baixas temperaturas, o que dificulta o seu armazenamento em câmaras frias após a colheita. Os sintomas de injúrias por frio são variados e dependem da espécie, da temperatura e do tempo de exposição a ela. Como nos sistemas de congelamento em câmaras frigoríficas predomina a formação de cristais de gelo maiores (resfriamento lento), o congelamento dos frutos e hortaliças deve ser evitado.

A velocidade de descongelamento também interfere na qualidade dos frutos após os procedimentos de congelamento. Quando a velocidade de descongelamento é lenta, a qualidade dos frutos pode ser mantida. Todavia, o descongelamento rápido pode causar danos às membranas devido ao aumento do volume dos cristais de gelo localizados no apoplasto, o que pode provocar rupturas e, conseqüentemente, extravasamento de eletrólitos devido a perda de seletividade.

7. Quais são os procedimentos indicados por nutricionistas para a manutenção da qualidade de alimentos (frutos, verdura e legumes) após seu congelamento?

No congelamento desses alimentos, três etapas principais merecem a atenção: o congelamento propriamente dito, a estocagem e o descongelamento. O congelamento consiste na redução da temperatura sem promover mudança de fase e cristalização, que compreende a nucleação e o crescimento dos cristais. A velocidade de congelamento influencia tanto a localização quanto o tamanho e a quantidade dos cristais de gelo formados. Em condições de congelamento rápido, ocorre a formação de cristais de gelo pequenos e em grande quantidade, com mínimo deslocamento de água, sendo que a aparência do produto congelado, após o descongelamento, é similar à aparência do produto não congelado. Em condições de congelamento lento, os cristais formados são maiores e em menor quantidade, ocasionando ruptura e injúria celular por força do aumento da pressão osmótica e da precipitação irreversível ou da desnaturação dos constituintes coloidais da célula. Esse fato traz, como consequência, forte exsudação (extravasamento) no descongelamento, com perda de nutrientes, principalmente para o meio intracelular. Portanto, o descongelamento deve ser realizado de forma gradual e lenta, sob temperatura de refrigeração (no interior de geladeiras), diminuindo-se, assim, a quantidade de líquido exsudado.

O congelamento como técnica de conservação de alimentos é eficiente desde que sejam observados alguns cuidados, como altas taxas de congelamento, pequena variação da temperatura nas câmaras de estocagem e descongelamento lento, preferencialmente sob refrigeração, evitando-se, assim, a perda de qualidade e a contaminação dos produtos por microrganismos devido ao extravasamento de eletrólitos.

8. O que são as geadas? Que problemas elas causam às plantas?

As geadas são fenômenos climáticos causados pela formação de uma camada de cristais de gelo na superfície ou na folhagem exposta das plantas devido à queda na temperatura. Quanto às condições de formação, as geadas são classificadas em geadas de radiação, geadas de advecção de massa de ar polar (geadas de frente fria) e geadas mistas. A geadada é produzida quando a superfície terrestre perde muita energia para o espaço devido à ausência de nuvens. Como resultado, a camada da atmosfera que está em contato com a superfície e possui alguma umidade condensa sobre o solo em resposta ao arrefecimento gradual ou à diminuição da temperatura, congelando quando a temperatura cai abaixo de 0°C.

Também ocorre formação de geadas quando a água existente no ar sublima (passa do estado gasoso direto para o estado sólido, sem passar pelo estado líquido). Dependendo da intensidade e da extensão da geadada, o fenômeno pode causar danos intensos à agricultura, provocando a queima e o ressecamento das folhas das plantas, especialmente das hortaliças. Espécies tropicais, como a banana, assim como espécies subtropicais, como o café, são sensíveis às geadas.

9. Em geral, que tipos de danos celulares as geadas podem causar a espécies olerícolas e às plantas tropicais e subtropicais? O que pode ser feito para minimizar esses danos?

As geadas causam danos devido à formação de gelo nos espaços intercelulares, o que ocorre pela contração do protoplasma e perda de parte da água para o apoplasto (espaços intercelulares), onde ocorre o congelamento. Com isso, a célula sofre dessecação, podendo morrer devido às forças mecânicas que atuam sobre o protoplasma e a membrana plasmática, assim como em resposta à precipitação de proteínas.

Os danos causados pelas geadas são resultantes de eventos observados durante o descongelamento. A exposição das lavouras para o oeste (sol poente) mantém a temperatura mais elevada na tarde anterior à geadada, aquecendo o solo e reduzindo o risco de congelamento. Por outro lado, na manhã seguinte não haverá exposição direta de sol e o descongelamento será lento e gradativo. A exposição da lavoura para o leste tende a apresentar danos mais severos de geadas. A exposição leste resulta na ausência de aquecimento do solo no entardecer e incidência de sol já nas primeiras horas da manhã, com descongelamento rápido e danos mais severos nas plantas.

A resistência às geadas envolve mecanismos de prevenção e tolerância. Em condições de temperaturas abaixo de 0°C, o metabolismo das células é alterado, reduzindo-se ao mínimo as funções fisiológicas mais importantes. A prevenção se dá através de processos que evitam a formação de gelo, quer pela proteção de partes ou órgãos das plantas contra baixas temperaturas, quer pela diminuição do ponto de fusão da água ou síntese de solutos que aumentam a concentração osmótica intracelular, dificultando a saída da água para formação do gelo extracelular.

Os mecanismos de prevenção são estratégias importantes em regiões com ocorrência de geadas. As principais estratégias para manejo contra geadas, são: a escolha de regiões com menor risco de geadada com base em estudos de zoneamento agroclimático; a escolha de áreas com menor risco de geadada na propriedade; o uso de cultivares/variedades tolerantes; a implantação adequada de quebra-ventos (permitem a circulação de ar, evitando concentração de ar frio em determinadas áreas); a irrigação (o congelamento da água adicionada libera calor latente, reduzindo o resfriamento do ambiente); a ventilação forçada de ar (evita a concentração de ar frio na porção mais próxima à superfície do solo); a geração de calor; a aplicação de produtos químicos (aumentam a concentração de solutos nas células das plantas,

podendo evitar o congelamento da solução extracelular) e a nebulização (lançamento de vapores na atmosfera, que se condensam, formando minúsculas gotas, normalmente invisíveis a olho nu, criando uma densa névoa branca que minimiza a perda de calor do solo e das plantas por radiação para a atmosfera), dentre outros mecanismos de prevenção.

Bibliografia:

- COLLA, L. M.; HERNÁNDES, C. P. Congelamento e descongelamento: sua influência sobre os alimentos. **Vetor**, v.13, p. 53-66, 2003.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- MOORE, T. C. **Research experiences in plant physiology: a laboratory manual**. 2nd. Ed. Berlin Heidelberg: Springer. 1981, 348 p.
- OLIVEIRA, R. P.; JOÃO, P. L.; ALMEIDA, I. R.; SCHWARZ, S. F.; SCIVITTARO, W. B.; GONZATTO, M. P.; SCHUCH, J. L. D.; BOARO, V.; PETRY, H. B. **Manejo de pomares de citros contra geadas**, Documentos 346. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. 38 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SUN, W.; , VAN MONTAGU, M.; VERBRUGGEN, N. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression**, v. 1577, n. 1, p. 1-9, 2002.
- THOMASHOW, M. F. Role of cold-responsive genes in plant freezing tolerance. **Plant Physiology**, v. 118, n. 1, p. 1-8, 1998.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.7 - Permeabilidade das Membranas Celulares às Moléculas e aos Íons

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A coloração observada nos cinco tubos de ensaio contendo suspensões de levedo preparadas em carbonato de sódio ficou inicialmente alaranjada (amarelada) ao se adicionar o vermelho-neutro, uma vez que o carbonato de sódio é um sal com características básicas. Em meio aquoso o carbonato de sódio, como toda base forte, se dissocia completamente e, portanto, seus íons não conseguem atravessar as membranas e alcançar os vacúolos do levedo. Como inicialmente o vermelho-neutro entra em contato apenas com o carbonato e somente depois penetra no vacúolo do levedo, sua coloração inicial é alaranjada. Entretanto, como o vermelho-neutro predomina na forma molecular, ele consegue atravessar as membranas do levedo, acumulando-se rapidamente nos vacúolos. Como o conteúdo vacuolar do levedo é de caráter ácido, o vermelho-neutro, ao penetrar e chegar ao vacúolo retoma a sua coloração vermelha (rósea) característica.

A solução obtida após a filtração do material mantido no tubo 1, constituída apenas de carbonato de sódio (solução com propriedades básicas), após a adição de vermelho neutro, assume a coloração alaranjada, típica da reação do vermelho neutro em meio básico. Em contraste, a massa de levedo, retida no filtro, permaneceu com coloração rósea. Esses resultados demonstram que o carbonato de sódio não consegue atravessar as membranas do levedo, permanecendo no meio extracelular, ao contrário do que ocorre com o vermelho-neutro. O levedo adicionado ao carbonato de sódio forma uma suspensão e não em solução. Esse fato pode ser observado pela deposição do levedo no fundo do recipiente quando a mistura levedo+carbonato é mantida em repouso por tempo prolongado.

O procedimento de fervura do conteúdo do tubo 2 provocou a desnaturação de proteínas e danos às membranas, com conseqüente perda de seletividade e morte do levedo. Em função disso, a coloração da solução 2 no tubo passou de rósea para alaranjada, uma vez que a desnaturação das proteínas e a desestruturação das membranas expôs o vermelho-neutro ao carbonato de sódio (básico) do meio externo.

Ácidos e bases fortes são eletrólitos que em solução aquosa se dissociam completamente. Em contraste, ácidos e bases fracas são eletrólitos cuja constante de dissociação é baixa, predominando, em solução, na forma molecular. No tubo 3, a coloração da suspensão de levedo permaneceu rósea após a adição da base forte (NaOH), devido à intensa dissociação desse eletrólito, gerando íons Na^+ e OH^- , que não conseguem alcançar o conteúdo vacuolar (não atravessam as membranas). Em contraste, a adição de uma base fraca (NH_4OH) aos tubos 4 e 5 alterou a coloração das células do levedo, pois a ionização desse eletrólito é baixa, permanecendo, predominantemente, na forma molecular, que pode atravessar com facilidade tanto a fase lipídica (apolar) como a fase carregada (polar) das biomembranas, alcançando o vacúolo, alterando o seu pH e, conseqüentemente, a coloração do vermelho-neutro.

O HCl adicionado ao tubo 4, não alterou a coloração da solução. Por ser um ácido forte, ele predomina, em solução, na forma ionizada ($\text{H}^+ + \text{Cl}^-$), dificultando o seu transporte através da membrana celular. Em contraste, quando o ácido acético ($\text{H}_3\text{C-COOH}$) foi acrescentado à solução, esta adquiriu a coloração rósea, o que se explica pela reduzida dissociação desse ácido orgânico no meio externo, fazendo com que ocorra o predomínio da sua forma molecular ($\text{H}_3\text{C-COOH}$), que é permeável nas membranas, alcançando o vacúolo

onde ela se dissocia e, conseqüentemente, altera a coloração do indicador de pH devido à acidificação do meio.

Os resultados da aula evidenciaram o fenômeno da permeabilidade seletiva das membranas biológicas, mostrando que elas são mais permeáveis às partículas não carregadas (moléculas) do que aos íons. Esses resultados são relevantes para o estudo e o entendimento dos mecanismos de absorção dos elementos minerais nas células das plantas.

Questionário:

1. Por que o vermelho-neutro adquire coloração indicativa de meio ácido (rósea) ao ser adicionado à suspensão de levedo preparada em carbonato de sódio, uma substância com características básicas?

O vermelho-neutro é um corante vital que, em solução, ocorre predominantemente na forma molecular, podendo, portanto, atravessar livremente as membranas e penetrar nos vacúolos, os quais apresentam conteúdo ácido. Em pH abaixo de 6,8 o vermelho-neutro é róseo e em pH acima de 8,0 amarelo, com faixa de viragem em pH próximo a 7,2. Ao ser adicionado, inicialmente o corante entra em contato com o carbonato de cálcio, que se encontra do lado de fora das células do levedo. O carbonato não consegue penetrar nas células do levedo porque se encontra na forma ionizada (base forte) e necessitaria de um transportador específico para ser transportado através da membrana celular e do tonoplasto do levedo. Como o carbonato é um sal com características básicas, inicialmente, a coloração observada é alaranjada (amarelada), típica da reação do vermelho-neutro em meio alcalino. Entretanto, como o vermelho-neutro atravessa rapidamente as membranas e chega ao interior dos vacúolos (ambiente ácido), ele adquire a sua coloração característica quando mantido em meio ácido (vermelha ou rósea).

2. Por que moléculas de massa molecular relativamente baixa atravessam mais rapidamente as membranas celulares do que íons de massa semelhante?

As membranas apresentam poros através dos quais podem passar moléculas hidrofílicas e alguns íons. A taxa de difusão de moléculas hidrofílicas é inversamente proporcional ao seu tamanho. Todavia, a penetração de compostos ionizados é mais difícil, devido à presença de cargas elétricas. Por isso, os íons de pesos moleculares semelhantes aos de determinadas moléculas atravessam ainda mais devagar as biomembranas.

3. A uma suspensão de levedo preparada em Na_2CO_3 a 0,5% foi adicionada uma solução de vermelho-neutro, tornando-a rósea. Em seguida a mistura foi fervida. Por que a suspensão apresentou coloração amarela após a fervura?

Sob temperaturas elevadas, as proteínas, incluindo as enzimas, se desnaturam e perdem suas funções, o que resulta na perda da seletividade das membranas. Quando a solução de levedo foi submetida à fervura, todo o corante que se encontrava armazenado nos vacúolos (meio ácido) se difundiu no meio, entrando em contato com o carbonato de sódio, que é alcalino. Por esse motivo, a solução passou a apresentar coloração amarela.

4. Por que, para a execução deste experimento, é imprescindível a utilização do vermelho-neutro?

Porque vermelho-neutro é um corante de baixa toxicidade (corante vital) que não danifica as estruturas celulares, os tecidos e os organismos nos quais ele é aplicado, mantendo as suas atividades biológicas relativamente normais. Em solução, o vermelho-neutro predomina na forma molecular (não ionizada), o que facilita sua entrada na célula e seu acúmulo no vacúolo. Além disso, esse corante muda de cor em resposta às variações no pH, o que é muito útil para a avaliação da permeabilidade seletiva das membranas das células às moléculas e aos íons. As células do levedo não apresentam pigmentos naturais que pudessem mostrar as alterações de pH promovidas pelos ácidos ou bases adicionados, daí ser necessária a utilização desse corante vital.

5. Uma suspensão de levedo preparada em Na_2CO_3 a 0,5% foi misturada com uma solução de vermelho-neutro, adquirindo coloração avermelhada. Com a adição de NH_4OH (0,02 N), tornou-se rapidamente amarelada. O que você concluiu quanto ao pH vacuolar do levedo e à permeabilidade das membranas ao NH_4OH ?

Como o conteúdo vacuolar do levedo é de caráter ácido e o vermelho-neutro tem livre acesso ao seu interior, ao chegar nesse compartimento o corante adquire coloração avermelhada. Todavia, ao se adicionar o NH_4OH , a solução tornou-se alaranjada (amarelada) mostrando que essa base pode alterar o pH dos vacúolos. Isso ocorre porque o NH_4OH é uma base fraca que, em solução, se apresenta pouco dissociada, predominando na forma molecular, sendo capaz de atravessar as membranas e chegar até o interior dos vacúolos.

6. Supondo que haja quatro tipos de partículas, de massas moleculares semelhantes, AB, C^+ , D^{++} e E^{+++} , e que a penetração dessas partículas em uma membrana celular se dê por difusão simples. Qual será a ordem decrescente de penetração e por quê?

A ordem decrescente de penetração será AB, C^+ , D^{++} e E^{+++} , pois a membrana é seletiva e a permeabilidade depende do grau de ionização das partículas, assim como do seu tamanho. Embora as partículas tenham massas moleculares semelhantes, cada uma tem um grau de ionização diferente. Como a partícula E^{+++} apresenta o maior grau de ionização entre todas, ela terá maior dificuldade para atravessar a membrana, uma vez que haverá uma maior interação de suas cargas com as porções polares das proteínas e dos fosfolípidios constituintes da biomembrana. Quanto maior o grau de ionização, menor a capacidade de atravessar as fases polar e apolar da bicamada lipídica.

7. Que tipo de informação essa aula pode fornecer em relação à absorção dos íons pelas plantas?

A aula mostra que a passagem dos íons através das membranas envolve a participação de proteínas transportadoras que permitem ou promovem a entrada de substâncias ionizadas. Esses transportadores podem atuar como canais iônicos ou como transportadores específicos, que, em certos casos, consomem ATP (bombas de transporte ativo), especialmente no transporte dos ânions.

Bibliografia:

- LAMANNAA, J. C.; MCCRACKEN, K. A. The use of neutral red as an intracellular pH indicator in rat brain cortex *in vivo*. **Analytical Biochemistry**, v. 142, n. 1, p. 117-125, 1984.
- OKOROKOV, L. A.; LICHKO, L. P.; KULAEV, I. S. Vacuoles: main compartments of potassium, magnesium, and phosphate ions in *Saccharomyces carlsbergensis* cells. **Journal of Bacteriology**, v. 144, n. 2, p. 661-665, 1980.
- ROOMANS, G. M.; SEVEUS, L. A. Subcellular localization of diffusible ions in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: quantitative microprobe analysis of thin freeze-dried sections. **Journal of Cell Science**, v. 21, p.119-127, 1976.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



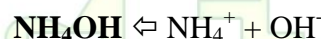
Prática 4.8 - Permeabilidade de Biomembranas a Ácidos e Bases Fracos e Fortes

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

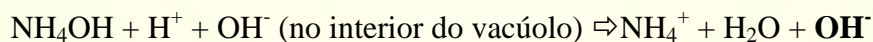
Fundamentação teórica:

Inicialmente, nos cortes mantidos em água destilada, as células permaneceram com a coloração vermelha característica da presença das antocianinas em seu vacúolo ácido. Após a substituição da água por uma base forte (NaOH), a coloração do tecido permaneceu como na presença da água destilada, uma vez que, em solução, o NaOH (eletrólito forte) predomina na forma ionizada ($\text{Na}^+ + \text{OH}^-$), não apresentando livre acesso ao interior das células, não alterando, portanto, o pH vacuolar. O NaOH, em solução, dissocia nas formas catiônica (Na^+) e aniônica (OH^-), que não atravessam as biomembranas. Devido às suas cargas, os íons Na^+ e OH^- não conseguem passar livremente através da porção apolar (lipídica) das membranas, além de poderem se ligar às cargas das proteínas ou, ainda, às porções polarizadas/carregadas dos fosfo, sulfato e glicolípídios das membranas. Em função disso, esses íons não chegam ao vacúolo celular, local onde as antocianinas encontram-se armazenadas. Como essa base forte (NaOH) é impedida de chegar ao vacúolo, o seu pH não se altera e a coloração das células e dos tecidos não se modifica.

Após a substituição do NaOH pela base fraca de hidróxido de amônio (NH_4OH), a coloração das células alterou rapidamente, mudando de róseo-avermelhado para azul. Os eletrólitos fracos ionizam-se menos, produzindo pequena quantidade de íons (NH_4^+ e OH^-) em solução:



Como bases fracas em solução predominam na forma molecular (NH_4OH), elas não apresentam cargas elétricas para interagir com os componentes das biomembranas, atravessando facilmente tanto a fase lipídica quanto as porções polares. Em função dessas características, o NH_4OH alcança o interior do vacúolo, no qual estão os pigmentos que conferem cor às células, passando livre e rapidamente pela plasmalema e pelo tonoplasto. Devido ao caráter ácido do vacúolo, as moléculas de NH_4OH ionizam-se. A acidez do vacúolo é resultante do armazenamento de ácidos orgânicos no seu interior e da atividade das ATPases no tonoplasto, que bombeiam prótons (H^+) do citoplasma para o interior do vacúolo. Em ambientes ácidos, o equilíbrio de ionização das moléculas NH_4OH se desloca para a direita:



Em função da presença do NH_4OH , o interior do vacúolo se torna cada vez menos ácido e, quando assume caráter básico, a antocianina muda da cor vermelha para a azul. Com isso, a coloração de todo o tecido se alterada rapidamente.

Ao substituímos o NH_4OH por um ácido forte (HCl), a coloração dos tecidos não se altera, pois sendo o HCl um eletrólito forte, em solução, predomina na forma ionizada ($\text{H}^+ + \text{Cl}^-$), não apresentando livre acesso ao interior das células, não alterando, portanto, o pH vacuolar. Os produtos da ionização do HCl (H^+ e Cl^-) também não conseguem atravessar a plasmalema e o tonoplasto, pois apresentam cargas positivas (H^+) ou negativas (Cl^-). Estas moléculas carregadas, tal como as das bases fortes, não atravessam a fase apolar (lipídica), ou

interagem com cargas das proteínas periféricas e integrais das biomembranas, ou ainda com as porções polarizadas ou carregadas dos fosfolipídios. Com o HCl impedido de alcançar o vacúolo, a coloração das células e dos tecidos não se modifica.

Após a substituição do HCl por um ácido fraco (ácido acético, CH_3COOH), a coloração das células se alterou rapidamente, retornando do azul para róseo-avermelhado. Os eletrólitos fracos ionizam-se menos, produzindo pequena quantidade de íons (NH_4^+ e OH^-) em solução:



Como ácidos fracos em solução predominam na forma molecular (CH_3COOH), que não apresenta cargas elétricas capazes de interagir com os componentes da biomembranas, eles podem atravessar com mais facilidade as biomembranas. Desse modo, o CH_3COOH alcança rapidamente o interior do vacúolo (atravessando a plasmalema e o tonoplasto), no qual se encontram os pigmentos que dão cor às células. As moléculas de CH_3COOH reduzem o pH do vacúolo. Com o passar do tempo, o interior do vacúolo se torna cada vez mais ácido e, nessa condição, a coloração da antocianina se altera novamente do azul para o vermelho, tonalidade característica desse flavonoide em ambientes ácidos.

A aula demonstrou a existência de permeabilidade seletiva nas biomembranas. Foi constatado que bases e ácidos fracos conseguem atravessar as biomembranas, por livre difusão, em resposta aos seus gradientes de concentração. Ao contrário, os íons provenientes da dissociação de bases e ácidos fortes não apresentam livre passagem pelas membranas. Esses resultados mostram que a absorção iônica somente é possível com a participação de transportadores proteicos específicos, uma vez que os elementos minerais são absorvidos predominantemente na forma ionizada. Em função disso, a passagem dos íons através das biomembranas torna-se dificultada, sendo necessária a participação de proteínas transportadoras específicas, que atuam com gasto de energia (transporte ativo) ou na dependência dela (canais iônicos e proteínas de transporte), pelo menos para o transporte dos ânions.

Questionário:

1. Caracterize os termos “base forte” e “base fraca” e “ácido forte” e “ácido fraco”.

Uma base forte, segundo a Teoria de Bronsted, é aquela que, em solução aquosa se dissocia completamente ($\text{NaOH} \rightarrow \text{Na}^+ + \text{OH}^-$). Base fraca é uma substância cuja constante de dissociação é baixa, predominando em solução na forma molecular ($\text{NH}_3 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{NH}_4^+ + \text{OH}^-$). São exemplos de bases fortes o NaOH, KOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e $\text{Ba}(\text{OH})_2$. O NH_4OH e o $\text{Mg}(\text{OH})_2$ são exemplos de bases fracas.

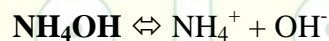
Por sua vez, denominam-se ácidos fortes, aqueles que se dissociam completamente em solução a temperatura e pressão constantes. Nessas condições, a concentração de um ácido forte é igual à concentração de íons de hidrogênio. São exemplos de ácidos fortes o HCl, o H_2SO_4 , o HNO_3 e o HClO_4 . Ácido fraco é uma substância cuja constante de dissociação é baixa, predominando, em solução, na forma molecular. São exemplos de ácidos fracos os diferentes ácidos orgânicos (málico, aspártico, cítrico, etc.).

2. Explique os resultados obtidos após a utilização das bases fortes e fracas em comparação à lâmina do controle.

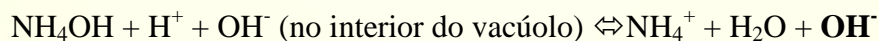
Inicialmente, nos cortes mantidos em água destilada, as células permaneceram com a coloração característica vermelha da antocianina armazenada no vacúolo. Após a substituição da água por uma base forte (NaOH), a coloração do tecido permaneceu tal como na presença da água destilada, uma vez que, em solução, o NaOH (eletrólito forte) predomina na forma ionizada ($\text{Na}^+ + \text{OH}^-$), que não apresenta livre acesso ao interior das células, não alterando, portanto, o pH vacuolar.

Os produtos da ionização do NaOH (Na^+ e OH^-) não conseguem atravessar as biomembranas (plasmalema e tonoplasto), pois apresentam cargas positivas (Na^+) ou negativas (OH^-). Essas moléculas carregadas não atravessam a fase apolar (lipídica), ou interagem com cargas das proteínas periféricas e integrais das biomembranas, ou ainda com a porção polarizada ou carregada dos lipídios. Dessa forma, esses produtos dificilmente alcançarão o vacúolo celular que contém os pigmentos, pois, para isso, teriam necessariamente de atravessar a plasmalema e o tonoplasto. Impedidos de chegar ao vacúolo (que armazena o pigmento), a coloração das células e dos tecidos não se modifica.

Após a substituição do NaOH pela base fraca (NH_4OH), a coloração das células se altera rapidamente, mudando de róseo-avermelhado para azul. Os eletrólitos fracos ionizam-se bem menos, produzindo pequena quantidade de íons (NH_4^+ e OH^-) em solução:



Como bases fracas em solução predominam na forma molecular (NH_4OH), que não apresenta cargas elétricas capazes de interagir com os componentes das biomembranas, elas conseguem atravessar com mais facilidade tanto a fase lipídica (apolar) quanto a carregada (polar) das biomembranas. Desse modo, o NH_4OH alcança rapidamente o interior do vacúolo, no qual se encontram os pigmentos que conferem cor às células. As moléculas de NH_4OH ionizam-se no vacúolo, pois seu conteúdo é de caráter ácido em virtude da presença de vários ácidos orgânicos e da atividade de ATPases no tonoplasto que bombeiam prótons H^+ do citoplasma para o interior do vacúolo. Sob condições de valores baixos de pH no vacúolo, o equilíbrio de ionização da molécula NH_4OH se desloca para a direita:



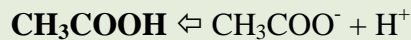
O interior do vacúolo se torna cada vez menos ácido e, quando assume caráter mais básico, a antocianina muda de vermelho para azul. Assim, todo o tecido epidérmico tem sua coloração alterada em contato com essa base fraca.

3. Explique os resultados obtidos após a utilização de ácidos fortes e fracos em comparação à lâmina do controle e às bases utilizadas.

Ao substituirmos o NH_4OH por um ácido forte (HCl), a coloração dos tecidos não alterou, pois sendo o HCl um eletrólito forte, o mesmo também predomina em solução na forma ionizada ($\text{H}^+ + \text{Cl}^-$), não apresentando livre acesso ao interior das células, não alterando, portanto, o pH vacuolar. Os produtos da ionização do HCl (H^+ e Cl^-) também não conseguem atravessar as biomembranas, pois apresentam cargas positivas (H^+) ou negativas (Cl^-). Essas moléculas carregadas não atravessam a fase apolar, ou interagem com cargas das proteínas periféricas e integrais da biomembrana, ou ainda com a porção polarizada ou

carregada dos fosfolipídios. Impedido de chegar ao vacúolo, a coloração das células e dos tecidos não se modifica.

Após a substituição do HCl por um ácido fraco (ácido acético, CH₃COOH), a coloração das células se alterou rapidamente, passando do azul para róseo-avermelhado inicial. Os eletrólitos fracos ionizam-se menos, produzindo pequena quantidade de íons (NH₄⁺ e OH⁻) em solução:



Como ácidos fracos em solução predominam na forma molecular (CH₃COOH), que não apresenta cargas elétricas capazes de interagir com os componentes da biomembranas, eles podem atravessar com mais facilidade tanto a fase lipídica (apolar) quanto a carregada (polar) das biomembranas. Desse modo, o CH₃COOH alcança rapidamente o interior do vacúolo, no qual se encontram os pigmentos que conferem cor às células. As moléculas de CH₃COOH reduzem o pH do vacúolo, tornando-o vez mais ácido e, nessa condição, a coloração da antocianina altera do azul para o vermelho, tonalidade característica desse flavonoide em ambiente ácido.

4. Considerando os resultados da aula, que conclusão você pode obter em relação à absorção dos elementos minerais essenciais ao metabolismo das plantas?

Para entrar em um ambiente encerrado por biomembranas, os nutrientes devem passar por, pelo menos uma delas, a membrana celular. A membrana plasmática constitui uma barreira à livre passagem de nutrientes minerais nas formas ionizadas (aniônica ou catiônica), conforme se encontram disponíveis no solo ou em soluções nutritivas: Ni²⁺, NO₃⁻, Na⁺, NH₄⁺, H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻, Ca²⁺, K⁺, SO₄²⁻, Si(OH)₄, Fe²⁺, Mn²⁺, Zn²⁺, ZnOH⁺, Zn⁻, Cu²⁺, Cu⁻, Na⁺, Ni²⁺, MoO₄²⁻, H₂B₃, HBO₃²⁻ ou Cl⁻. A fase lipídica apolar da membrana celular oferece alta resistência à passagem desses íons. Também devido à fase polar da plasmalema, cátions e ânions não conseguem atravessá-la, pois interagem com as superfícies dessa biomembrana, ficando presos a ela. As superfícies da membrana plasmática e de muitas membranas celulares são condicionadas pela presença de átomos ou moléculas ligados ao glicerol da estrutura dos lipídios. Em função disso, é necessária a participação de facilitadores de entrada dos nutrientes minerais através das biomembranas, como por exemplo, de transportadores específicos (proteínas de transporte), canais iônicos e bombas (transporte ativo).

Embora as membranas celulares apresentem seletividade, os transportadores proteicos não são específicos e, por isso, elementos não essenciais e que podem, inclusive, ser tóxicos para as plantas também podem ser absorvidos.

Bibliografia:

DILGER, J. P.; MCLAUGHLIN, S. G.; MCINTOSH, T.J., SIMON, A. S. The dielectric constant of phospholipid bilayers and the permeability of membranes to ions. **Science**, v. 206, n. 4423, p. 1196-1198, 1979.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. Trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969, 301 p.

Prática 4.9 - Formatos de Plasmólise

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

As figuras de plasmólise começam a se tornar visíveis a olho nu em, aproximadamente, 20 minutos após imersão nas soluções hipertônicas. Este é o momento indicado para realizarem-se as análises microscópicas. A epiderme superior do catafilo de cebola imersa em solução de KNO_3 apresentou protoplastos com formato arredondado (coloração rósea), deslocados da parede celular (todas as células ficaram intensamente plasmolisadas). Esse tipo de figura de plasmólise é denominado “plasmólise convexa”, pois, para um observador, a imagem formada pela superfície da plasmalema, em cada célula, apresenta forma curva e arredondada na parte externa (concavidade). O íon potássio K^+ , componente catiônico dissociado em solução a partir do KNO_3 , apresenta apenas uma carga positiva, e essa carga interage ou com as cargas negativas da plasmalema ou com as cargas negativas da parede celular.

Quando a figura de plasmólise apresenta o formato cavado e protoplastos (coloração rósea) descolados da parede celular temos a “plasmólise côncava”, pois a imagem formada pela superfície da plasmalema, para um observador, é uma concavidade (forma cavada e arredondada da parte externa do protoplasto). Esta configuração “estrelada” é observada quando os tecidos são imersos em $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. O íon Ca^{2+} utilizado como cátion no soluto da solução apresenta duas cargas positivas e essas cargas de um mesmo íon podem interagir, ao mesmo tempo, com a plasmalema e com a parede celular (ambas estruturas possuem cargas ou polos negativos). A plasmalema interage eletrostaticamente, via Ca^{2+} , com a parede celular, ficando “conectada” (adsorvida) em alguns pontos ou mesmo em algumas regiões da parede (observa-se filamentos de protoplasto entre a região central da célula plasmolisada e a parede celular). Esses filamentos são conhecidos como cordões de Hechtian. Como o protoplasto perde água, mas alguns pontos da plasmalema ainda permanecem aderidos à parede (partes da plasmalema permanecem adsorvidas à parede), o resultado é uma figura com uma imagem “cavada” na superfície.

As plasmólises côncavas ou convexas, observadas nesta aula, são ilustrativas do fenômeno de adsorção. A interação do íon Ca^{2+} com as estruturas celulares é interessante do ponto de vista químico, pois mostra como esse cátion, em solução, interage, por adsorção, aos polos ou cargas negativas fixas da parede celular e às cargas semifixas da plasmalema. O K^+ , com uma carga apenas, só pode interagir com uma estrutura por vez, não possibilitando a adesão plasmalema-parede celular por atração elétrica.

O fenômeno de adsorção de cátions móveis em superfícies com cargas ou polos negativos imóveis (parede celular e partículas do solo) ilustra a competição entre superfícies negativas das raízes pelos cátions mantidos na solução do solo. Essa competição assume um papel importante na adsorção e, posteriormente, absorção dos íons pelas células.

Questionário:

1. Explique o fenômeno da adsorção e como ele pode ser correlacionado às diferentes figuras de plasmólise observadas.

Adsorção é um fenômeno resultante da interação eletrostática (de atração, adesão, embebição) entre os polos ou cargas de uma superfície (componente imóvel) e os átomos ou

moléculas de um fluido, geralmente em solução (componente móvel). Em função disso, dependendo do sal utilizado para promover a plasmólise, a presença de íons com uma ou duas cargas condicionará a ocorrência de plasmólise côncava (pela utilização de sais que liberam K^+) ou convexa (pela utilização de sais que liberam Ca^{2+}).

2. Defina os termos: energia livre da água, potencial hídrico celular (Ψ_w), potencial osmótico (Ψ_s) e potencial de parede (Ψ_p).

A energia livre da água é uma medida da sua capacidade para realizar trabalho. Quando uma solução é separada da água pura por uma membrana semipermeável, o resultado final é a movimentação da água para a solução, demonstrando a maior capacidade da água pura para realizar trabalho. O potencial hídrico celular (Ψ_w) é uma medida da energia livre da água presente na célula, em comparação com o potencial hídrico da água pura, que, por convenção, tem valor correspondente a 0 (zero) MPa. Como em sistemas biológicos essa condição inexistente e como o Ψ_w é formado por vários componentes (osmótico, matricial e de parede, dentre outros) que, em sua maioria, atuam reduzindo a energia livre da água, seu valor é quase sempre negativo. O potencial osmótico (Ψ_s) é proporcional à quantidade de solutos presentes em uma solução. Para substâncias indissociáveis como a sacarose, o seu valor segue a lei de Van't Hoff ($\Psi_s = -RTC$), demonstrando que o potencial osmótico é diretamente proporcional à concentração do soluto (apresentando valores negativos). Assim, quanto maior a quantidade de solutos em solução, menor o seu potencial osmótico e, conseqüentemente, o seu potencial hídrico. O potencial de parede (Ψ_p) representa a resistência da parede celular à expansão em resposta à pressão osmótica gerada no vacúolo. Sua contribuição para o potencial hídrico total (Ψ_w) é quase sempre positiva, uma vez que a parede estabelece um limite ao volume de água armazenado na célula, possibilitando que ela alcance a turgescência.

3. Explique as relações $\Psi_w = \Psi_p + \Psi_s$ e $\Psi_w = \Psi_s$, a última quando as células encontram-se plasmolisadas.

O potencial hídrico total (Ψ_w) é uma estimativa da energia livre associada às moléculas de água. Seu valor tem como referência a energia livre da água pura, cujo valor corresponde a 0 (zero) MPa. Esta é uma situação de máxima energia livre. Como em sistemas biológicos a energia livre das moléculas de água é menor, o valor do Ψ_w será quase sempre negativo. O Ψ_w apresenta vários componentes em células plenamente vacuoladas, com destaque para o osmótico (Ψ_s) e o de parede (Ψ_p). O Ψ_s contribui reduzindo a energia livre total da água (Ψ_w), enquanto o Ψ_p atua no sentido inverso, aumentando a energia livre. O Ψ_s depende da quantidade de íons e de outros solutos (açúcares, por exemplo) armazenados no vacúolo, enquanto o Ψ_p depende da composição e da resistência da parede celular.

Quando as células encontram-se plasmolisadas, o Ψ_w torna-se igual ao Ψ_s , uma vez que o Ψ_p , nessa condição, corresponde a (0) zero. Se transferida para uma solução hipotônica (alta energia livre), uma célula em plasmólise absorverá água, podendo atingir a turgidez.

4. O que acontece com uma célula vegetal quando é submersa em água pura?

Nessa condição, a célula apresenta maior concentração de solutos (menor potencial hídrico) no vacúolo do que o meio externo e, por isso, absorverá água desse meio até que o Ψ_p compense o Ψ_s , ficando túrgida, tornando-se, ao final, com um Ψ_w próximo a zero.

Bibliografia:

LANG, I.; SASSMANN, S.; SCHMIDT, B.; KOMIS, G. Plasmolysis: loss of turgor and beyond. *Plants*, v. 3, n. 4, p. 583-593, 2014.

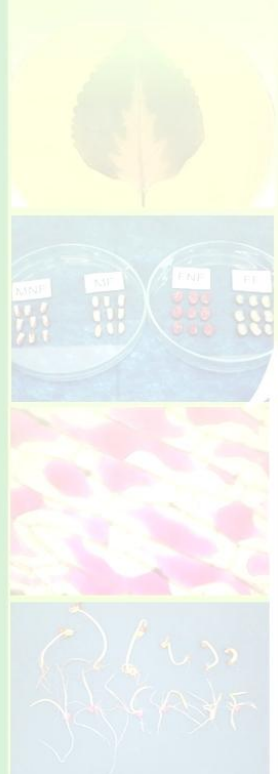
STRUGGER, S. **Praktikum der zell- und gewebephysiologie der pflanze**, 2nd. Ed. Berlin/Göttingen/Heidelberg: Springer Verlag, 1949. V. 1, p. 89-93.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.10 - Determinação do Potencial Osmótico em Tecidos Vegetais pelo Método Plasmolítico

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

As soluções mais concentradas (com menor potencial osmótico) possuem uma menor energia livre da água e, por isso, os tecidos mantidos nessas soluções apresentam uma plasmólise mais acentuada. Isso ocorre, pois soluções com menor energia livre da água retiram osmoticamente mais água das células, intensificando a plasmólise.

No caso das soluções de sacarose menos concentradas, a energia livre da água é maior e, por isso, os tecidos não sofrem plasmólise. Nessa situação, o protoplasma da célula ganha água, uma vez que a solução externa tem potencial hídrico maior que o vacúolo das células, não ocorrendo plasmólise, mantendo, assim, a turgescência.

No ponto de plasmólise incipiente, a solução plasmolisante externa e o suco celular possuem o mesmo potencial osmótico. A pressão de parede (Ψ_p), nesse exato momento, começa a ser zero. Desprezando-se o valor do potencial mátrico (Ψ_m), os valores dos potenciais hídricos (Ψ_w) da solução externa e do suco celular também são iguais. O mesmo acontece em relação ao Ψ_s dessas soluções, uma vez que, em plasmólise incipiente, o $\Psi_w = \Psi_s$. O problema para o caso de uma única célula resume-se, então, em se encontrar uma solução que provoque a plasmólise incipiente, ou seja, o estado fisiológico no qual a pressão da parede começa a equivaler-se a zero. Para o caso de tecidos, como um artifício da técnica, considera-se que a plasmólise incipiente manifesta-se quando, ao microscópio, 50% das células do campo visual encontram-se plasmolisadas. Como conhecemos a concentração das soluções-teste, basta-nos, portanto, encontrar aquela que provocou a plasmólise incipiente e identificar, na **Tabela 1** (*vide material com as metodologias das aulas práticas*), o valor correspondente ao Ψ_s .

A **Tabela 1** apresenta os valores de pressões osmóticas previstas, considerando-se soluções de diversas concentrações molares determinados por osmometria. Os valores previstos para as pressões osmóticas (π) de cada solução são positivos, mas os potenciais osmóticos (Ψ_s) correspondentes têm valores sempre negativos.

A aula prática ilustrou o fenômeno da osmose, permitindo, de maneira prática, simples e de baixo custo, se determinar o potencial osmótico (Ψ_s) em alguns tipos de tecidos vegetais.

Questionário:

1. Conceitue os termos plasmólise e deplasmólise.

A plasmólise é um fenômeno que ocorre em células vegetais quando estas são mergulhadas em soluções hipertônicas, ou seja, com baixo potencial hídrico. Se o potencial hídrico da célula for maior (menos negativo) que o da solução externa, ocorrerá perda de água (por osmose) do vacúolo das células para a solução. Nessa condição, as células perdem turgescência, diminuindo o volume do vacúolo, retraindo o protoplasto. No momento em que a pressão da parede começa a equivaler-se a zero, há o início do descolamento do protoplasto da parede, embora esse descolamento não seja visível.

A deplasmólise é o fenômeno inverso da plasmólise. Quando a célula plasmolisada é colocada em um meio hipotônico (com potencial hídrico mais elevado que o do conteúdo

celular), esta retorna ao seu volume original, uma vez que ela absorve água da solução, por osmose.

2. Defina o termo “plasmólise incipiente”.

Plasmólise incipiente é o estado fisiológico de uma célula ou tecido em que a pressão de parede (P) começa a equivaler-se zero ($P \rightarrow 0$). Nessa condição, o $\Psi_w = \Psi_s$.

3. Porque somente em plasmólise incipiente é possível a determinação do potencial osmótico de um tecido? Por que outro grau de plasmólise qualquer não poderia ser utilizado para medir esse parâmetro?

Porque somente no ponto de plasmólise incipiente o potencial de parede começa a equivaler-se a zero, única condição em que o potencial osmótico do tecido apresenta o mesmo valor do potencial osmótico da solução externa. Em outro grau de plasmólise qualquer, o potencial osmótico da solução externa será diferente (maior ou menor) do potencial osmótico do tecido e, conseqüentemente, o tecido ganhará ou perderá água.

4. Por que em plasmólise incipiente o potencial osmótico da célula é igual ao potencial osmótico da solução externa?

Porque essa condição corresponde ao momento em que o potencial de parede começa a ser zero, ou seja, a turgidez é perdida devido à perda de pressão do vacúolo sobre a parede. Em plasmólise mais intensa do que a incipiente é impossível a determinação do Ψ_s das soluções externas, uma vez que não há mais equivalência entre as concentrações nos dois meios.

5. O potencial osmótico de uma célula em plasmólise incipiente tem o mesmo valor que o potencial osmótico da célula túrgida? Explique.

Sim, pois a concentração de moléculas osmoticamente ativas no vacúolo não varia em resposta à plasmólise ou à deplasmólise. Todavia, se colocada em água pura, uma célula em plasmólise incipiente absorverá água e voltará a ficar túrgida.

6. Qual é o valor do potencial de parede em uma célula bastante plasmolisada? Ele alcança um valor negativo? Explique.

O valor do potencial de parede em uma célula bastante plasmolisada é zero. Ele não alcança valores negativos, pois, a partir da plasmólise incipiente, a parede não exerce mais pressão sobre a membrana.

7. Quais são as principais vantagens e desvantagens do método plasmolítico para determinar o potencial osmótico do tecido?

Esse método tem como vantagens a simplicidade e o baixo custo, pois são necessários apenas água, sacarose e um microscópio. É didático, demonstrativo, simples e não exige um executor muito qualificado. No entanto, a precisão ou exatidão dos resultados é relativamente baixa se comparada com a utilização de equipamentos mais sofisticados (osmômetro, psicrômetros, etc.). Além disso, o método é laborioso e de baixo rendimento.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. Trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969. 301p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.11 - Determinação do Potencial Hídrico em Tecidos Vegetais pelo Método Densimétrico ou de Schardakow

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

As membranas apresentam permeabilidade seletiva, possibilitando que a água e substâncias pequenas e desprovidas de carga movimentem-se através da sua estrutura. A osmose, processo pelo qual um solvente se movimenta através de uma membrana semipermeável, da solução mais diluída para a mais concentrada, possibilita que os tecidos se mantenham em equilíbrio hídrico, pois o movimento da água será sempre da solução de maior potencial hídrico para a de menor potencial hídrico.

O método empregado na aula prática se baseia na transferência líquida de água entre amostras de tecido vegetal e soluções-testes de pressões osmóticas conhecidas. As transferências determinam alterações nas densidades das soluções-testes, que aumentam, diminuem ou permanecem invariáveis, conforme o potencial hídrico das soluções seja menor (hipotônica), maior (hipertônica) ou igual (isotônica) ao potencial hídrico dos tecidos.

Na aula, buscou-se encontrar uma concentração de sacarose em que as trocas líquidas entre os tecidos e a solução-teste não ocorresse. Nessa condição, a solução e os tecidos apresentavam o mesmo potencial hídrico (tecidos e solução-teste externa são isotônicos). Nessa condição, a densidade da solução externa não se altera. Como as concentrações das soluções-teste são conhecidas, basta, então, encontrar, com o auxílio da Tabela 1, o valor correspondente ao seu Ψ_w , que será equivalente ao Ψ_w do tecido utilizado.

Questionário:

1. Qual é o fundamento do método de Schardakow, de determinação do potencial hídrico de tecidos vegetais?

O método empregado na aula se baseia na transferência líquida de água entre amostras de tecido vegetal e soluções-testes com potenciais osmóticos conhecidos. As transferências determinam alterações nas densidades das soluções-testes, que podem ser avaliadas pelos movimentos de ascensão ou de descida das gotas retiradas das soluções que estiveram em contato com os tecidos utilizados na aula.

2. Por que o método de Schardakow, de determinação do potencial hídrico, também é denominado método densimétrico?

Porque o método empregado na aula se baseia na transferência líquida de água entre amostras de tecido vegetal e soluções-testes com potenciais osmóticos conhecidos. As transferências determinam alterações na densidade das soluções-teste, que aumenta, diminui ou permanece invariável, conforme o potencial hídrico das soluções seja menor (hipotônica), maior (hipertônica) ou igual (isotônica) ao potencial hídrico dos tecidos.

3. Em folhas de zebrina encontrou-se, pelo método densimétrico, um potencial hídrico de - 0,2 MPa. Em plasmólise incipiente, o mesmo tecido apresentou uma pressão osmótica de + 0,3 MPa (um potencial osmótico de - 0,3 MPa). Pergunta-se:

a. Qual a pressão de turgescência (Ψ_p) do tecido (potencial de pressão)?

$$\begin{aligned}\Psi_w &= \Psi_p + \Psi_s + \Psi_g \\ \Psi_w &= - 0,2 \text{ MPa} \\ \pi &= 0,3 \text{ MPa} \\ \Psi_g &= 0 \\ \Psi_p &= ?\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Se } \pi &= 0,3 \text{ MPa, então } \Psi_s = - 0,3 \text{ MPa} \\ \Psi_w &= \Psi_p + \Psi_s + \Psi_g \\ -0,2 &= \Psi_p + (- 0,3) \\ \Psi_p &= - 0,2 + 0,3 \text{ MPa} \Rightarrow \Psi_p = + 0,1 \text{ MPa}\end{aligned}$$

b. Esse tecido ficaria túrgido se fosse colocado em água pura? Por quê?

Sim. Como o Ψ_w apresenta valor negativo, haveria absorção de água até que o Ψ_p se igualasse ao Ψ_s e o Ψ_w ficasse próximo a 0 (zero).

4. Você pode, com esse método, determinar o valor da pressão osmótica das células? Explique.

Não. No caso você estaria determinando o Ψ_w , uma vez que nessa condição não haveria troca líquida entre o tecido e a solução externa de sacarose, o que ocorre, por sua vez, no método plasmolítico, onde se obtém o Ψ_s pela determinação do ponto de plasmólise incipiente, ou seja, quando a pressão de parede alcança o valor de 0 (zero) MPa.

5. Qual é a função do azul de metileno nesse exercício? Se o tecido usado fosse de beterraba, haveria necessidade desse corante?

O azul de metileno tem a função apenas de colorir as soluções que estiveram em contato com os fragmentos, sendo que esse corante, na quantidade em que foi utilizado, não altera o potencial osmótico da solução.

Se fossem utilizados cilindros de beterraba bem lavados, também haveria necessidade de utilizar um corante para contrastar a solução externa, uma vez que os pigmentos contidos nos vacúolos das células de beterraba não atravessam suas membranas com a entrada ou saída de água por osmose. Caso os cilindros não fossem bem lavados, a betalaína liberada no corte poderia auxiliar a visualização, eliminando, assim, a necessidade de adição do azul de metileno.

6. Quais equipamentos de precisão podem ser utilizados para se determinar o potencial hídrico dos tecidos e o momento ideal para a irrigação das plantas, evitando o desperdício de água e a queda na produtividade agrícola?

Com essas finalidades é possível utilizar as bombas de pressão (Scholander), que estimam o potencial hídrico foliar (Ψ_w), e os tensiômetros, que determinam o potencial matricial do solo ($\Psi_m = \tau$). Ambos permitem otimizar o uso da água, pois indicam o momento ideal para a irrigação, evitando desperdícios de água e a queda na produtividade.

O momento do dia mais adequado para realizar as avaliações com a bomba de Scholander e com o tensiômetro é antes do amanhecer (determinação do potencial hídrico antemanhã; Ψ_w antemanhã), pois, nesse momento, as plantas apresentam a hidratação mais alta do dia (exceto se forem irrigadas ou se chover). Se o Ψ_w antemanhã encontrado estiver próximo

ao limite de tolerância da cultura, a irrigação será necessária para evitar-se queda na produtividade.

Outro método que pode ser usado para se determinar o potencial hídrico foliar é a psicrometria (psicrômetro termopar). Todavia, essa técnica, apesar de ser a mais indicada para esse propósito, uma vez que incorpora o potencial osmótico no processo de avaliação, requer ambiente controlado para uma conveniente aplicação. Ao contrário, a câmara de pressão (Scholander) que, apesar das limitações, é de fácil manejo e pode ser operada sob condições de campo, permite realizar avaliações bastante rápidas do potencial hídrico foliar. Diferentes estudos mostram que esses métodos encontram valores idênticos ou muito próximos, com reduzida discrepância.

7. Quais são as vantagens e desvantagens do método densimétrico de determinação do potencial hídrico em tecidos vegetais?

Tal como o método plasmolítico, o método densimétrico tem como vantagens a simplicidade e o baixo custo, pois são necessários apenas água e sacarose. É didático, demonstrativo, simples e não exige executor muito qualificado. No entanto, a precisão ou exatidão dos resultados é relativamente baixa se comparada com a utilização de equipamentos mais sofisticados (bomba de Scholander, osmômetro, psicrômetros, etc.) existentes no mercado. Além disso, o método é trabalhoso e apresenta baixo rendimento.

Bibliografia:

- BOYER, J. S. Leaf water potentials measured with a pressure chamber. **Plant Physiology**, v. 42, n. 1, p. 133-137, 1967.
- BOYER, J. S. Matric potentials of leaves. **Plant Physiology**, v. 42, n. 2, p. 213-21, 1967.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- KNIPLING, E. B. **Investigation of the Schardakow method for the measurement of diffusion pressure deficit**, Thesis, Duke University, 1963. 72 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential in leaves of mangroves and some other plants. **PNAS**, v. 52, n. 1, p. 119-25, 1964.
- SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T. Sap Pressure in vascular plants: negative hydrostatic pressure can be measured in plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 4.12 - Relações Energéticas da Embebição

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O amido desidratado (seco) apresenta uma maior quantidade de superfícies livres para hidratação do que o amido hidratado (deixado ao ar). Como resultado, a massa de amido seco retém mais água, por adsorção, do que a do amido úmido, causando redução na energia cinética de uma maior quantidade de moléculas de água. Ou seja, um maior número de moléculas de água interage com as superfícies do amido seco do que com as superfícies do amido úmido. Como consequência, uma maior quantidade de calor é liberada em resposta à redução na energia cinética de um número elevado de moléculas de água adsorvidas às superfícies do amido seco.

Questionário:

1. No que consistem os fenômenos de adsorção e de embebição?

A adsorção é resultante da adesão de moléculas de um fluido (o adsorvido) a uma superfície sólida eletricamente carregada (o adsorvente). Adsorção da água por colóides que participam de sistemas físicos (papel, amido ou solo) ou biológicos (células vivas) denomina-se embebição. A embebição é resultante da atração eletrostática entre moléculas de água e as superfícies dos colóides. A redução da energia cinética da água, em razão de fenômenos de superfície (embebição, adsorção, capilaridade), é estimada pelo potencial matricial (Ψ_m).

2. Por que, ao se adicionar água ao amido desidratado, ocorreu maior aumento da temperatura? Qual é a fonte da energia calorífica desprendida?

O amido adsorve rapidamente a água devido aos polos parcialmente negativos condicionados pela posição do oxigênio (das hidroxilas das moléculas de glicose que formam o amido), na porção mais externa da molécula. Como a eletrosfera da molécula de água é assimétrica, também devido à elevada eletronegatividade do oxigênio, os polos positivos da água (próximos aos átomos de hidrogênio) são fortemente atraídos pelos polos negativos do amido. Devido à maior extensão de superfícies disponíveis para a embebição existentes no amido seco, quando a sua massa sofre hidratação uma parte considerável da energia cinética (ou atividade) da água é reduzida, aparecendo no sistema na forma de calor.

3. O resultado dessa prática permite estimar a pressão mátrica do amido. É sabido que, durante a embebição, um aumento da temperatura de 0,03°C corresponde a uma pressão de 3,4 MPa. Qual seria a pressão que se deveria aplicar à amostra do amido para evitar sua expansão em resposta à embebição?

Considerando-se um aumento provável de 5°C (em grãos de amido secos), após a embebição, uma pressão de 566 MPa poderia ser desenvolvida, o que equivale a, aproximadamente, 5666 atm [$x = (3,4 \text{ MPa} \times 5^\circ\text{C}) / (0,03^\circ\text{C})$]. Considerando esse aumento de temperatura (5°C), a pressão necessária para se evitar a expansão da massa de amido, resultante de sua embebição, seria de 566 MPa ($\cong 5666 \text{ atm}$).

4. Por que, quando se coloca água em amido desidratado, a temperatura do sistema aumenta muito mais do que quando se adiciona água em amido hidratado?

No amido desidratado, a extensão das superfícies livres (capazes de interagir e adsorver água) é maior do que no amido hidratado, apresentando, com consequência, a redução na energia cinética de um maior número de moléculas de água. Portanto, uma maior quantidade de calor é liberada em resposta a intensa redução na energia cinética das moléculas de água.

5. Qual é o processo envolvido na absorção de água pelas sementes nas primeiras horas de germinação?

O processo envolvido é a embebição. A entrada da água nas sementes é controlada pela permeabilidade da casca, pela disponibilidade de água (líquido ou vapor) no ambiente e pela composição química das reservas. A embebição é um processo físico dependente das propriedades dos coloides e não correlacionada à viabilidade das sementes, ou seja, sementes mortas também se embebem com água nas mesmas taxas que sementes vivas. As principais moléculas presentes nas sementes, capazes de adsorver água, são as proteínas e o amido, além dos polissacarídeos que compõem as paredes celulares.

6. Como você explica que sementes muito desidratadas consigam remover água da atmosfera (em forma de vapor)?

Nas células dos vegetais os coloides hidrofílicos encontram-se presentes nas paredes celulares, no protoplasma (parte viva da célula, incluindo o citoplasma e o núcleo) e, também, em outras estruturas, como, no amido, por exemplo. Todos esses coloides adsorvem e retêm água por embebição. As moléculas de água unem-se umas às outras (coesão) e também são atraídas por superfícies carregadas eletricamente (adesão). A celulose é depositada nas paredes celulares, formando microfibrilas, que, por sua vez, formam as fibras de celulose. A parede celular compreende um volume semirrígido com espaços vazios (poros) entre as fibras de celulose. Esse material se embebe com água, que ocupa os poros com diâmetro muito reduzido. Esses poros atuam como capilares, contribuindo para a retenção da água.

As sementes ortodoxas perdem água durante o processo de pós-maturação. Durante esse período, seus tecidos se desidratam bastante. Devido à atração exercida pelo amido (armazenado no endosperma e nos cotilédones), a umidade do ar pode ser adsorvida, possibilitando a germinação dessas sementes, mesmo sem uma embebição elevada. Por esse motivo, visando à manutenção e o prolongamento da viabilidade das sementes ortodoxas (que toleram dessecação), a umidade relativa do ar deve ser mantida em níveis bem reduzidos nos ambientes de armazenamento.

7. Por que as sementes não se dessecam completamente se expostas às condições atmosféricas normais?

As sementes não se dessecam completamente porque em seu endosperma existem moléculas de coloides, especialmente de amido e celulose, que apresentam elevado potencial de embebição (potencial matricial; Ψ_m), fazendo com que, mesmo em condições de atmosfera seca, não ocorra uma completa desidratação das sementes. As forças que “preendem” as moléculas de água às superfícies do amido, da celulose e de outros coloides são muito grandes, fazendo com que essas estruturas se mantenham parcialmente hidratadas, mesmo em ambientes bastante secos.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

8. Como podemos fazer para se estimar o potencial mátrico da celulose pulverizada?

Uma das formas para se estimar o potencial mátrico da celulose pulverizada seria a determinação do aumento da temperatura de amostras de celulose pulverizadas e secas, utilizando o mesmo princípio e parâmetros utilizados na presente aula prática para o amido (um aumento de $0,03^{\circ}\text{C}$ da temperatura corresponde a uma pressão de 3,4 MPa). A partir do valor do aumento da temperatura em resposta à adição de água, é possível estimar o valor do potencial mátrico da celulose pulverizada.

9. Por que é necessário o armazenamento de folhas de papel sulfite em estufas antes de colocá-las em máquinas copiadoras?

Esse procedimento evita que as folhas de papel sulfite fiquem presas durante a operação das copiadoras. Esse problema ocorre, pois as folhas de papel armazenem água em suas fibras de celulose, extraídas da umidade do ar. O papel é constituído por uma matriz de fibras de celulose, com superfície interna muito grande por onde as tintas penetram. Para torná-lo mais macio, o papel sulfite recebe partículas de amido durante a sua fabricação. Essas folhas de papel se embebem com água, não somente pelas características de suas superfícies (polares), mas, também, pela presença dos poros que apresentam diâmetro muito reduzido. Esses poros atuam como capilares, aumentando a capacidade de retenção de água. Corpos cujas superfícies se embebem facilmente possuem superfície interna de contato com a água muito ampla, o que resulta no aumento do seu volume quando embebidas. Em função disso, caso a água não seja removida, as folhas poderão prender-se no interior de máquinas copiadoras durante a realização das fotocópias.

10. Por que a celulose também se embebe facilmente com água?

A celulose apresenta estrutura similar à do amido, mas difere por apresentar unidades de β -glicose. O amido é um polímero de α -glicose, cuja estrutura 3D apresenta forma ramificada (amilopectina) e de espiral (amilose). Em contraste, a celulose tem uma estrutura 3D distinta desses dois polímeros, formando fibras que a tornam uma importante rede de sustentação mecânica para as plantas. Apesar dessas diferenças, a celulose também adsorve a água, devido aos grupamentos parcialmente negativos localizados na porção mais externa das moléculas de glicose (devido à elevada eletronegatividade do oxigênio). Como a eletrosfera da molécula de água é assimétrica, também devido à elevada eletronegatividade do oxigênio, os polos positivos da água (próximos aos átomos de hidrogênio) são fortemente atraídos pelos polos negativos da celulose, causando a embebição.

11. Considerando-se os resultados da aula, explique como a água é retida por adsorção à matriz do solo e por que os solos arenosos apresentam valores de capacidade de campo menores do que os solos siltosos ou argilosos.

As partículas do solo também são matrizes cuja extensa superfície de contato em seu interior, encontra-se pronta para interagir com a água. Em apenas um grama de solo argiloso seco, pode haver mais de 500 m^2 de superfície de contato. Os átomos de oxigênio, ligados ao silício, conferem a essa matriz muitos polos negativos capazes de interagir prontamente com a água.

Quando as matrizes do solo se encontram com seus capilares completamente preenchidos por água, o solo alcança a “capacidade de campo”. Solos arenosos possuem capilares maiores, de onde as plantas conseguem retirar mais facilmente a água, mas, em

contrapartida, apresentam menor capacidade de retenção de água que os solos argilosos, que apresentam capilares menores. Em função disso, os solos arenosos apresentam valores de capacidade de campo menores do que os solos siltsosos ou argilosos.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HELLMAN, N. N.; BOESCH, T. F.; MELVIN, E. H. Starch granule swelling in water vapor sorption. **Journal of the American Chemical Society**, v. 74, n. 2, p. 348-350, 1952.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.13 - Força Mecânica Causada pela Embebição de Sementes

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

O cone de gesso formado é um bloco poroso. Como o mesmo foi colocado sobre uma placa de Petri contendo água, ocorreu a sua embebição devido à ascensão da água pelos capilares do bloco de gesso. Conseqüentemente, as sementes que se encontravam no seu interior também foram embebidas pela água. Como a eletrosfera das moléculas de H₂O é assimétrica, os polos positivos localizados próximo aos átomos de hidrogênio são atraídos pelos polos negativos dos colóides (amido e das proteínas) armazenados nos endospermas ou nos cotilédones das sementes. Uma vez que as moléculas de água não podem ser comprimidas, a adsorção de suas moléculas à massa de amido provoca um aumento no volume das sementes. Como as sementes estavam envolvidas por um material rígido, mas de baixa resistência à compressão (no caso, o gesso), esse material se rompeu facilmente devido à expansão das sementes em resposta à embebição.

A aula prática mostrou a ocorrência de embebição das sementes, etapa inicial do processo de germinação. Como consequência da embebição, as sementes aumentam de volume, gerando uma pressão de expansão que possibilita o estabelecimento das plântulas mesmo em locais adversos, como em frestas de passeios, muros e, até mesmo, em rochas ígneas, como o granito, por exemplo.

Questionário:

1. Por que a eletrosfera da molécula de água é assimétrica?

A assimetria das moléculas de água é causada pelas diferenças de eletronegatividades entre os átomos de oxigênio (eletronegatividade = 3,5) e hidrogênio (eletronegatividade = 2,1). A fórmula estrutural da água, representada abaixo, mostra uma eletrosfera deslocada e os dois polos positivos (δ^+), próximos aos átomos de hidrogênio, e o polo negativo (δ^-), próximo ao átomo de oxigênio. O ângulo médio entre os dois átomos de hidrogênio é de 105° e a distância entre os átomos de H⁺ e o O⁻ é de 95,84 picômetros.

2. Considerando a fórmula estrutural da celulose e a posição dos átomos de oxigênio, explique por que uma matriz de celulose se embebe facilmente em água?

A celulose tem uma estrutura linear ou fibrosa, na qual se estabelecem múltiplas pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxilas das distintas cadeias justapostas de glicose. A celulose é depositada nas superfícies molhadas das plantas formando microfibrilas, as quais formam as fibras de celulose. As camadas de fibras de celulose formam a parede celular, um volume semirrígido com espaços vazios (poros) entre as fibras de celulose. Esse material se embebe facilmente com água, não apenas devido a sua superfície molhável, mas, também, pela presença dos poros, os quais apresentam diâmetro muito reduzido (cerca de 4,0 nm). Dessa forma, esses poros atuam como capilares, aumentando a capacidade de retenção de água pela celulose.

3. A rede cristalina de partículas do solo é formada principalmente pelo oxigênio e silício. Como a água é adsorvida à superfície dessa rede cristalina?

O solo pode ser considerado uma matriz. Os átomos de oxigênio, ligados ao silício, conferem ao solo muitos polos negativos e capazes de interagir prontamente com os polos da água e com os cátions nela dissolvido (como Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , etc.).

4. Como ocorre a adsorção das moléculas de água pela matriz do endosperma de uma semente ou pela matriz de uma parede celular?

Devido à distribuição assimétrica de cargas, as moléculas de água apresentam dois polos positivos e um negativo. Essa distribuição assimétrica de cargas faz com que as moléculas de água se atraiam (polos positivos se unem por meio de “pontes de hidrogênio” com polos negativos). Essa característica confere elevada coesão entre as moléculas de água e, também, entre as moléculas de água e numerosos materiais que possuem cargas (atração eletrostática que provoca a adesão). A força com que a água é retida depende da natureza da matriz (principalmente das cargas elétricas), do potencial hídrico e da distância entre as moléculas de água e a superfície do material. Uma semente relativamente seca retém a água com muita força, pois as poucas moléculas de água formam um filme muito fino ao redor da superfície das matrizes, especialmente das moléculas do amido. Dessa forma, as moléculas de água mais próximas à matriz ficam retidas por uma atração eletrostática muito intensa. À medida que o material vai se hidratando, as moléculas de água ocupam posições cada vez mais distanciadas da superfície matricial e, portanto, serão retidas com menor intensidade.

5. Qual é a origem das forças que fazem com que as sementes consigam germinar em estradas, passeios, muros e em outras edificações?

Devido à presença de poros e à grande superfície interna, materiais que possuem superfícies que se embebem são chamados matrizes. Quando essas superfícies encontram-se secas e são reidratadas, há um grande aumento no volume devido à água adicionada, uma vez que a sua molécula não pode ser comprimida. O aumento de volume é tão intenso que nem mesmo o granito, por exemplo, é capaz de impedi-lo. Essa força se origina da “pressão de embebição” resultante da adsorção de moléculas de água pelas matrizes do amido (principalmente) presentes no endosperma/cotilédones das sementes. Após a embebição, a pressão interna (ao tegumento) aumenta consideravelmente devido a ocupação dos espaços livres dos tecidos e dos espaços intermicelares dos coloides pelas moléculas de água. Esse aumento de volume gera uma força física extrema, capaz de romper essas estruturas. Sementes em germinação, ao serem embebidas, podem desenvolver pressões superiores a 1000 atm.

6. Calcule a capacidade de campo dos seguintes solos secos ao ar livre, considerando que VA: volume de água adicionado sobre a superfície do solo e VD: volume de água coletado sob o solo após drenagem. Para o cálculo da capacidade de campo utilize a fórmula $Cc = \text{volume (mL) de água retida no solo} \times 100 / \text{volume (mL) de solo seco ao ar}$.

a) 500 mL de solo seco ao ar, VA = 500 mL, VD = 250 mL

$$Cc = (250 \text{ mL de água retida} \times 100) / 500 \text{ mL de solo}$$

$$Cc = 50\%$$

b) **1000 mL de solo seco ao ar, VA = 1000 mL, VD = 350 mL**

$Cc = (650 \text{ mL de água retida} \times 100) / 1000 \text{ mL de solo}$

$Cc = 65\%$

c) **1500 mL de solo seco ao ar, VA = 1500 mL, VD = 500 mL**

$Cc = (1000 \text{ mL de água retida} \times 100) / 1500 \text{ mL de solo}$

$Cc = 67\%$

7. Qual dos três solos (a, b ou c da questão 6) apresenta, em média, capilares com maior diâmetro?

O solo **A** é o que apresenta capilares com maior diâmetro, pois entre os três solos foi o que apresentou menor capacidade de campo. A capacidade de campo revela a quantidade máxima de água que um solo pode reter em seus poros (macro e microporos). A quantidade de água retida depende do diâmetro do capilar. Quanto menor o diâmetro, maior a força e a capacidade de retenção de água pelo solo.

Bibliografia:

BECKER, H. A. On the absorption of liquid water by the wheat kernel. **Cereal Chemistry**, v. 37, n. 3, p. 309-323, 1960.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. Trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969. 301p.

VEIHMEYER, F. J.; HENDRICKSON, A. H. The moisture equivalent as a measure of the field capacity of soils. **Soil Science**, Baltimore, v. 32, n. 3, p. 181-193, 1931.

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 4.14 - Deformação de Matrizes de Celulose em Resposta à Embebição e à Secagem Rápida

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

Quando as tiras de papel sulfite foram embebidas, as superfícies dos pares de retângulo tornaram-se lisas e planas. Todavia, quando os pares de retângulos de papel secaram, eles passaram a apresentar disposição helicoidal com diferentes graus de enrolamento. A superfície do papel se tornou mais enrugada e os retângulos se contorceram após a secagem, tomando diferentes formas. As deformações observadas resultam da perda da água que se encontrava entre as fibras de celulose do papel, devido à evaporação. Quando a água desocupa o espaço entre as fibras, estas voltam rapidamente à posição inicial, encolhendo o papel de forma mais desorganizada que de início, causando o enrugamento das superfícies. Essa redução de tamanho ocorre nos dois lados do par de retângulos (nas duas fitas).

O papel tem as fibras preferencialmente em uma direção. Todavia, como cada retângulo foi recortado em uma posição diferente no papel original, ao serem colados, as fibras de cada retângulo apresentam orientações específicas. Quando as fibras no par de retângulos foram coladas praticamente na mesma direção (combinação A + B), quase não ocorreu contorção. Quando as fibras foram coladas em direções opostas (combinação C + D), o par de retângulos se encolheu, apresentando curvatura no lado maior e no lado menor do retângulo. No entanto, quando as fibras de cada um dos retângulos foram coladas em diagonal, como na combinação E + F, a deformação observada no retângulo foi intensa e helicoidal. O mesmo fenômeno observado nas folhas de papel também pode ser percebido em peças de compensado expostas à umidade. Quando secam, as diferentes camadas de fibras prensadas para compor as pranchas de compensado se descolam, provocando forte empenamento.

Na natureza, esse fenômeno também se manifesta em frutos secos deiscentes, na época da dispersão das sementes. Esses frutos apresentam várias camadas de deposição de fibras de celulose com orientação em diagonal em cada uma das valvas (similar à combinação E + F, nas tiras de papel sulfite). Quando secas, as valvas assumem o formato de hélice, contorcendo e abrindo o fruto rapidamente. Em alguns casos, como nos frutos de mamona, as sementes podem ser lançadas a grandes distâncias.

Questionário:

1. Explique os resultados obtidos nas seguintes combinações do papel sulfite: (A + B), (C + D) e (E + F).

As deformações observadas resultam da perda da água que se encontrava entre as fibras de celulose do papel, devido à evaporação. Quando a água desocupa o espaço entre as fibras, estas voltam rapidamente à posição inicial, encolhendo o papel de forma mais desorganizada que de início. As tiras de papel do par A + B não apresentaram muitas deformações após a secagem, pois foram cortadas no sentido longitudinal do papel, mantendo a mesma orientação. As tiras do par C + D, depois de secas, apresentaram curvatura no comprimento e na largura, uma vez que a tira C foi recortada no sentido longitudinal do papel, enquanto a tira D foi cortada no sentido da largura. Já as tiras do par E + F

apresentaram deformação helicoidal, uma vez que ambas foram recortadas no sentido diagonal do papel. Por esse motivo, a curvatura no retângulo de papel da combinação E + F, após secagem, foi bastante intensa, assumindo orientação helicoidal.

2. Por que as tiras de papel, após serem embebidas em água e secar, apresentaram curvaturas?

O papel é formado de fibras de celulose que constituem uma matriz. Quando as tiras de papel foram embebidas, a água ficou retida nessa matriz. Durante a secagem, a água que se encontrava entre as fibras do papel é perdida por evaporação. Assim, quando a água desocupa os espaços entre as fibras, estas voltam rapidamente à posição inicial, encolhendo o papel de forma mais desorganizada do que de início, enrugando sua superfície. Essa diminuição de tamanho ocorre nos dois lados do par de retângulos (nas duas fitas). No entanto, cada lado foi recortado em posição diferente no papel original, por isso cada grupo apresenta uma deformação distinta, dependendo da orientação original das fibras.

3. Qual é a relação entre os resultados desse experimento e a dispersão de sementes de frutos secos deiscentes?

Na natureza, esse fenômeno também pode ser observado em frutos secos deiscentes, representados por frutos que se abrem durante a dispersão das sementes. Esses frutos possuem camadas de deposição de fibras de celulose com orientação em diagonal em cada uma das valvas. Essas valvas assumem o formato de hélice quando secam, contorcendo e abrindo o fruto rapidamente, o que em algumas espécies permite o lançamento das suas sementes a grandes distâncias.

4. Por que as madeiras utilizadas na construção civil ou na indústria moveleira não podem ser trabalhadas enquanto ainda estão verdes?

O grau de umidade (GU) da madeira representa a relação entre a quantidade de água em uma peça de madeira e o peso dessa mesma peça quando seca. O GU é expresso em porcentagem ($GU = \frac{\text{peso da água na madeira}}{\text{peso da madeira seca}}$). É comum que uma madeira verde, ainda não submetida ao processo de secagem, tenha um GU de até 200%, o que significa que ela está pelo menos duas vezes mais pesada (por causa da água) do que o seu peso seco. O peso da madeira seca é obtido colocando-se a madeira em estufa à alta temperatura até que toda a água tenha sido removida e seu peso permaneça constante.

A saturação da fibra é um ponto de referência importante para entender a retração ou expansão da madeira (causa empenamento) e também o seu apodrecimento. As fibras de madeira (células direcionadas ao longo do tronco) têm formato cônico. Quando elas adsorvem água, fixam-na em suas paredes até a saturação e qualquer quantidade de água adicional será armazenada nos poros das fibras da madeira. A saturação da fibra é um nível de umidade em que as paredes das fibras retêm mais água do que podem. Esta água é denominada água limite, enquanto a água que está nas cavidades é chamada água livre. A madeira perde água livre até que seu grau de umidade esteja em torno de 20% a 30% e, a partir desse ponto, perde a água fixada nas paredes das células. Quando as células perdem água de suas paredes, as fibras da madeira encolhe, criando estresses que podem causar rachaduras e empenamento. É por esse motivo que as madeiras somente devem ser trabalhadas após a secagem.

Bibliografia:

BIERMANN, C. J. **Handbook of pulping and papermaking**, 2nd. Ed. San Diego: Academic Press, 1996. 754 p.

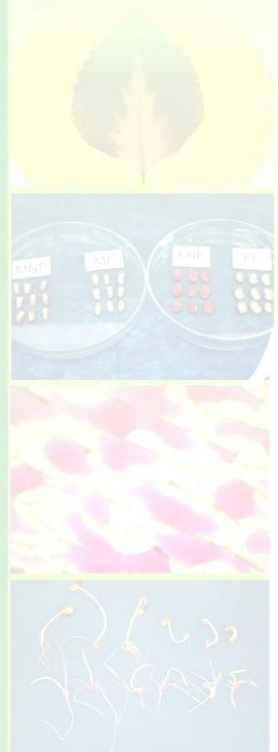
BONNER, J; GALSTON, A. W. **Princípios de fisiologia vegetal**. 5^a. Ed. Madrid: Ed. Aguilar, 1967. 485 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 4.15 - Inchação Anisotrópica

Fundamentação teórica:

A madeira é um material anisotrópico que apresenta diferentes deformações dimensionais em resposta à variação na sua umidade. A diferença entre as retrações nas três direções, tangencial, radial e axial, explica a maior parte dos problemas (rachaduras e empenamentos) que ocorrem devido à secagem da madeira. Dependendo da irregularidade na direção das fibras de certas espécies arbóreas, os empenamentos na sua madeira são ainda mais acentuados.

Por ser uma matriz, as fibras de celulose da madeira encontram-se hidratadas quando recém-colhidas e, dependendo da porosidade da madeira, acumulam grandes quantidades de água. Por esse motivo, as madeiras não podem ser trabalhadas quando ainda estão verdes, pois, nessa condição, são muito propensas ao empeno. Quanto mais porosa a madeira, mais água ela retém e ao sofrer desidratação, maiores são as chances de empenamentos. É o que foi observado na aula prática com as madeiras de menor densidade específica, como as do pinheiro e do cedrinho, por exemplo. As madeiras de lei (cedro, ipê, cedro-rosa), mais densas, acumularam menos água e, por isso, são menos propensas ao empeno. Todavia, mesmo estas madeiras não devem ser trabalhadas quando úmidas.

As madeiras, quando secas, readsorvem umidade e liberam-na posteriormente, atingindo um equilíbrio com as condições de vapor de água da atmosfera circunvizinha. Ao adsorver água as dimensões da peça de madeira aumentam, em fenômeno conhecido por inchamento (ou inchação) e, ao liberar água, as dimensões diminuem devido à retração. Como o processo de inchação ocorre em intensidades desiguais nas diferentes faces da madeira, esse material é considerado anisotrópico e, conseqüentemente, sensível ao empeno.

Questionário:

1. Por que se observou variação no grau de adsorção de água pelos diferentes tipos de madeiras utilizadas na aula?

A quantidade de água adsorvida varia porque cada espécie tem composição de fibras, organização, densidade específica e, conseqüentemente, poros de tamanho variável. Quanto maior a quantidade de poros na matriz, maior a retenção de água. A diferença na disposição das fibras também influencia essa adsorção. A densidade da madeira está relacionada à orientação e composição de suas fibras. Madeiras com densidades maiores tendem a ter um menor grau de deformação (empeno), se submetidas à umidade, que outras de menor densidade.

2. Por que madeiras cujas fibras retêm pouca água apresentam maior resistência ao empeno?

Se as fibras retêm naturalmente pouca água, isso significa que não ocorre uma desorganização intensa dessas quando a água é perdida durante a secagem. Dessa forma, quando a água desocupa o espaço entre as fibras e essas voltam à posição inicial, não há encolhimento significativo da madeira, enrugando sua superfície. Além disso, as madeiras que retêm pouca água geralmente apresentam elevada resistência mecânica e maior durabilidade natural. Por isso são denominadas “madeiras de lei”.

3. O que são as “madeiras de lei”?

No Brasil, a expressão “madeira de lei” teve origem em uma lei promulgada no tempo do império. Não se tratava de uma definição técnica, pois, se referia apenas as madeiras, cujos cortes eram proibidos naquela época. Atualmente, madeira de lei designa, em sentido mais amplo, as madeiras que, por sua qualidade e resistência, principalmente ao ataque de insetos e umidade, duram mais que as outras. As madeiras de lei são madeiras cujas fibras retêm naturalmente pouca água e, portanto, apresentam menor propensão ao empeno e maior resistência aos carunchos. Por sua qualidade e resistência, são empregadas na construção civil e na confecção de móveis de luxo, instrumentos musicais e artigos de decoração. Elas são extraídas de espécies arbóreas como da peroba-rosa, ipê, cedro, jacarandá e mogno, dentre outras. Devido à intensa exploração que sofreram e aos riscos de extinção, muitas dessas espécies estão incluídas na classe de árvores imunes ao corte.

4. Quais são as causas do empenamento em madeiras?

Um problema associado à secagem da madeira é o empenamento. Um pedaço de madeira pode desviar-se do formato esperado quando seco devido ao fato de a madeira apresentar anisotropia, ou seja, retrair as diferentes faces em intensidades diferentes. A maior parte se retrai na direção paralela aos anéis da madeira, algo em torno de 50% a mais do que na direção perpendicular aos anéis e dificilmente ao longo do comprimento da árvore. Quando se corta um pedaço do tronco da árvore, pode-se ver como o formato sofre alterações devido à retração. Uma vantagem da utilização de madeira seca (naturalmente ou em estufa) é que a maior parte da retração já ocorreu antes da sua preparação. Madeiras secas são madeiras cujo conteúdo de umidade encontra-se abaixo de 19%. A maior parte das madeiras se retrai entre os valores de 28 e 19% de umidade, quando os seus defeitos, caso existam, se tornam evidentes. Assim, quando a madeira seca é utilizada na construção, menos defeitos deverão ocorrer na peça ou na estrutura acabada.

Tecnicamente, o encolhimento da madeira acontece em taxas diferentes ao longo dos três eixos principais. A maior parte do encolhimento acontece na direção dos anéis de crescimento (tangencialmente). O encolhimento transversal aos anéis de crescimento (radial) é aproximadamente metade do encolhimento tangencial. O encolhimento ao longo da grã (longitudinal) é muito pequeno, cerca de 0,1% a 0,2% do tamanho no ponto de saturação da fibra. A desigualdade do encolhimento ao longo desses três eixos causa deformação na madeira quando ela seca. O tamanho e o tipo de deformação de um pedaço de madeira também variam de acordo com a orientação dos anéis de crescimento.

5. Qual é o teor de umidade recomendado para a secagem de madeiras e como é possível calcular essa umidade pelo método da diferença de massa?

Nas regiões mais secas o teor de umidade inicial deve situar-se entre 7% e 10%. O teor de umidade da madeira para o fechamento externo, estrutura do telhado, da parede e do piso, deve estar entre 10 e 16 por cento na maioria das regiões do país, e entre 8 e 13 por cento nas regiões mais secas.

O método de maior precisão para a determinação do teor de umidade da madeira é o da diferença de massa. O procedimento envolve o corte de pequenas amostras que são pesadas e depois secas em estufa com temperatura de 103°C mais ou menos 2°C até apresentar massa constante. O teor de umidade é calculado pela seguinte fórmula:

$Tu = 100 (Mu - Ms) / Ms$, onde:

Tu = teor de umidade, base seca em porcentagem.

Mu = massa da amostra nas condições em que se encontra.

Ms = massa da amostra depois de seca em estufa.

Bibliografia:

BOUTELJE, J. The Relationship of structure to transverse anisotropy in wood with reference to shrinkage and elasticity. **Holzforschung - International Journal of the Biology, Chemistry, Physics and Technology of Wood**, v. 16, n. 2, p. 33-46, 2009.

NUTAU - USP (2017) **Construção em Madeira-sistema plataforma; casa virtual.** (<http://www.usp.br/nutau/madeira/paginas/casa%20virtual/cuidados.htm>) Acesso em 15/12/2017.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.1 - Importância das Raízes para a Absorção de Água pelas Plantas

Fundamentação teórica:

Órgãos aéreos são capazes de absorver água de uma atmosfera úmida ou de um filme líquido, mas, por razões práticas, o sistema radicular é responsável por, virtualmente, toda a água que entra na planta. Diferentes estudos anatômicos e fisiológicos mostraram que a zona em que a absorção de água é mais ativa situa-se logo acima da coifa, onde se formam raízes novas e de onde partem os pelos absorventes (zona pilífera), estruturas que possibilitam ao sistema radicular explorar um maior volume de solo, estabelecendo contato com suas partículas, de onde elas obtêm água e nutrientes.

Para que o potencial hídrico na folha seja mantido, a demanda por água deve ser continuamente suprida. De outra forma, desenvolve-se uma situação de estresse hídrico, fazendo com que os estômatos se fechem e o processo assimilatório (absorção de CO_2) seja afetado negativamente. O potencial hídrico nas câmaras subestomáticas e nas células do mesófilo, localizadas no interior das folhas, é reduzido em resposta à transpiração. Esse déficit de água aumenta a pressão hidrostática (P), gerando uma força motriz (sucção da copa) capaz de tracionar a coluna de água das raízes até a parte aérea, através dos vasos do xilema.

No caule da planta que teve o seu sistema radicular cortado, a absorção de água pode ser elevada inicialmente. Todavia, muito rapidamente, os vasos do xilema são selados na região do corte, o que ocorre devido à deposição de materiais de cicatrização (tiloses e resinas), que evitam a entrada de ar. Como a superfície do caule apresenta reduzida permeabilidade à água, a absorção fica comprometida e, por isso, a planta sem o sistema radicular murcha rapidamente, o que, em contraste, não é observado ou demora mais tempo para ocorrer nas folhas da planta cujo sistema radicular foi mantido.

A aula prática demonstrou a importância do sistema radicular para a absorção de água e a influência desse processo para a manutenção da hidratação das folhas.

Questionário:

1. A absorção é a única função desempenhada pelas raízes?

Além da absorção de água e sais minerais, as raízes também podem desempenhar outras funções, havendo uma série de adaptações para situações específicas, como sustentação (raízes-suporte e raízes tabulares), reserva (raízes tuberosas), arejamento (raízes respiratórias ou pneumatóforos), absorção da umidade do ar (raízes aéreas) e absorção da seiva de outras plantas (raízes sugadoras ou haustórios), dentre outras.

2. Explique como a transpiração influencia a absorção de água pelas raízes.

A teoria mais aceita para explicar o fluxo de seiva xilemática através da planta foi proposta em 1895 e é conhecida como teoria tenso-coeso-transpiratória, teoria da tensão-coesão-adesão ou teoria de Dixon e Joly. Nas plantas, a perda de água na forma de vapor das folhas para a atmosfera, é denominada transpiração. Ela ocorre por difusão das câmaras subestomáticas para o meio externo.

A força dirigida para a ocorrência da transpiração é o gradiente de concentração de vapor de água (ou gradiente de pressão de vapor) entre as folhas e a atmosfera. A transpiração é proporcional à demanda evaporativa da atmosfera (DEA). Quando a DEA é baixa, a transpiração é reduzida, mesmo que o solo esteja úmido. Nesse caso, xilema pode desenvolver

uma pressão positiva, que resulta na perda de seiva, na forma líquida (gutação), através dos hidatódios. Porém, quando a transpiração é elevada (pressão negativa), a seiva do xilema fica sob tensão. Nessa condição, a perda de água através dos estômatos se dá na forma de vapor, processo responsável pelo fluxo de água do solo até a atmosfera. Um dos componentes mais importantes nesse sistema é a pressão hidrostática ($P = -2T/r$), desenvolvida em resposta à desidratação das folhas. De acordo com a Teoria de Dixon e Joly, a evaporação da água nas paredes celulares, devido ao gradiente de Ψ_w entre a folha e o ar exterior, torna a superfície ar-água curvada nos poros das paredes celulares, formando meniscos microscópicos que aumentam a tensão superficial da água gerando pressão negativa no sistema. Quanto maior a retirada de água, menor o raio de curvatura do menisco e mais negativa é a pressão. Nas folhas, a Ψ_p é a força motriz que permite o “tracionamento” da coluna de água ao longo do xilema (sucção da copa), do solo até a atmosfera, uma vez que, devido à extraordinária coesão entre as moléculas de água, a tensão é transmitida ao longo do percurso da água, das folhas, passando pelo caule, até chegar às raízes. Como resultado dessa força de sucção, a água é removida das raízes, movida através do xilema e distribuída para as células do mesofilo que se desidrataram como resultado da perda de vapor de água para a atmosfera. Esse processo causa redução no potencial hídrico das raízes, aumentando a sua capacidade de absorver água do solo. Portanto, a redução do potencial hídrico nas folhas, causado pela transpiração, desencadeia um gradiente de potencial hídrico que se estende das folhas até a solução do solo, localizada próximo à superfície das raízes. Esse gradiente de potencial hídrico é responsável pela força motriz que resulta no movimento contínuo de água ao longo do sistema solo-planta-atmosfera.

3. Além de água, as raízes também absorvem sais minerais. Explique como esse fenômeno se processa.

À medida que as raízes crescem no solo elas absorvem os nutrientes que se encontram no trajeto. Com o passar do tempo e à medida que eles são absorvidos, há um decréscimo da concentração desses elementos na superfície das raízes, estabelecendo-se um gradiente de concentração entre essa região e outras um pouco mais distante. Para que um novo suprimento de nutrientes alcance à superfície de absorção das raízes torna-se necessário seu transporte até aquele ponto. Esse transporte tem a água como veículo e, para que ele ocorra, os elementos a serem transportados e absorvidos precisam se encontrar solúveis (em suas formas ionizadas) na solução do solo.

Devido ao gradiente eletroquímico desfavorável, os ânions são absorvidos ativamente pelas células das raízes, uma vez que o citossol apresenta carga líquida negativa, condição resultante da ação das H^+ -ATPases que bombeiam H^+ do citossol para o apoplasto. Paralelamente à absorção ativa dos ânions (contra o gradiente de cargas), ocorre a absorção dos cátions em processo dependente de energia, promovendo o balanço eletroquímico do citossol. Em função do acúmulo de ânions e cátions no vacúolo das células das raízes, a água é absorvida por osmose, uma vez que a concentração de íons no interior das células (no simplasto) se mantém mais elevada do que no meio externo (apoplasto). Nas plantas, a absorção de água e de íons são processos simultâneos.

4. Quais são os caminhos que a água pode seguir em uma planta durante a sua absorção?

Durante a absorção, a água pode seguir três caminhos principais através das raízes: o apoplasto, que constitui os espaços intercelulares e de paredes celulares, o simplasto, que corresponde ao contínuo citoplasmático, propiciado pela comunicação via plasmodesmos e a

rota transmembrana, pela qual a água entra em uma célula por um lado e sai pelo outro, através da membrana plasmática. O apoplasto (espaço livre aparente - ELA) é limitado pela endoderme, uma camada de células existente nas raízes e localizadas entre o córtex e o estelo. A endoderme, em função da deposição de suberina (molécula impermeável à água) ao longo da superfície das suas células, forma uma barreira à livre penetração da água, sendo essa barreira denominada “Faixa ou Estria de Caspari”.

Para que a água seja absorvida, é necessário que elementos minerais tenham sido previamente absorvidos. Quando um elemento encontra-se no ELA ele ainda não foi efetivamente absorvido, tendo que ultrapassar pelo menos uma membrana para que esse processo ocorra. Os gradientes de potencial eletroquímicos gerados pela ação de ATP-ases das membranas possibilitam a absorção iônica através de canais ou de permeases, o que, conseqüentemente, possibilita a absorção da água por osmose.

5. O que são as micorrizas e como elas podem interferir na absorção de água e nutrientes pelas raízes?

As micorrizas são associações simbióticas e mutualísticas entre fungos e raízes, ocorrendo na grande maioria das plantas vasculares, tanto selvagens quanto cultivadas. Essas associações contribuem para o aumento na absorção de água, pois ampliam a rede de pelos absorventes, através das hifas que se desenvolvem, explorando novas áreas de solo. As micorrizas são especialmente importantes para espécies que não formam pelos radiculares.

As micorrizas aumentam a tolerância das plantas ao estresse hídrico, principalmente durante o transplante de mudas. Além disso, em função da ação de fosfatases sintetizadas pelos fungos micorrízicos, a absorção do fósforo, um macronutriente que apresenta baixa mobilidade no solo, é aumentada. As micorrizas também contribuem para absorção de outros elementos essenciais como o Mg, o Zn e o Cu, não por acaso, elementos com baixa mobilidade no solo.

6. Quais são os cuidados necessários durante os procedimentos de transplante de mudas?

A água penetra nas raízes principalmente na parte apical, que inclui a zona pilífera. Regiões mais maduras das raízes frequentemente têm uma camada externa protetora, exoderme ou hipoderme, que contém materiais hidrofóbicos nas suas paredes, que são relativamente impermeáveis à água (suberina).

O contato entre a superfície das raízes e o solo fornece a área superficial para a absorção de água, a qual é maximizada pelo crescimento das raízes e dos pelos radiculares dentro do solo. O contato íntimo entre o solo e as raízes é facilmente rompido quando o solo é revolvido. É por essa razão que plântulas transplantadas precisam ser protegidas da perda de água nos primeiros dias do transplante. As novas raízes crescendo restabelecem o contato solo-raiz, e a planta pode se desenvolver normalmente, superando o estresse hídrico.

Bibliografia:

- DIXON, H. H.; JOLY, J. The path of the transpiration-current. **Annals of Botany**, v. 9, n. 3, p. 403-420, 1895.
- SOMMA, F.; HOPMANS, J.; CLAUSNITZER, V. Transient three-dimensional modeling of soil water and solute transport with simultaneous root growth, root water and nutrient uptake. **Plant and Soil**, v. 202, n. 2, p. 281-293, 1998.

Prática 5.2 - Recuperação da Turgescência em Ramos Cortados

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A água apresenta forças internas de coesão muito elevadas e, quando confinada em tubos de pequenos diâmetros com paredes molháveis, como é o caso do xilema, pode suportar grandes tensões. A água na planta constitui um sistema contínuo através das paredes das células saturadas de água desde as superfícies evaporantes das folhas até as superfícies absorventes das raízes. Quando a água se evapora de qualquer parte da planta, mas, sobretudo das folhas, a redução do potencial hídrico na superfície evaporante causa um deslocamento de água do xilema para essa superfície. Devido às forças de coesão entre as moléculas de água, a perda de água por evaporação causa tensão na seiva do xilema, que é transmitida através das colunas contínuas de água até as raízes (gradiente de queda de Ψ_w da copa até as raízes), causando um influxo de água para o seu interior. A água sob tensão força internamente a parede do xilema, o que aumenta a tendência do ar ser aspirado. Quando um ramo é seccionado por um corte ou poda ou, ainda, por algum dano mecânico, a entrada de ar é inevitável (embolia) e o fluxo de água cessa devido à descontinuidade da coluna de água, interpondo grande resistência ao fluxo.

Dependendo do dano ocorrido, a embolia pode ficar contida dentro de um traqueídeo ou de um elemento do xilema. Nos elementos que apresentam pontoações areoladas, a embolia fica retida pela estrutura da pontoação. A diferença de pressão entre o traqueídeo que sofreu a embolia e o adjacente, que está cheio de água, faz com que o toro fique comprimido contra o bordo da pontoação, evitando que a bolha de gás passe para o outro lado. A tensão superficial impede que a bolha passe através das pequenas aberturas das placas de perfuração entre elementos xilemáticos contíguos. No entanto, a água continua fluindo lateralmente através das pontoações contornando, assim, o elemento bloqueado. Além de permitir que a água contorne o elemento bloqueado, as plantas também podem reparar a embolia, evitando os danos em longo prazo. Isso pode acontecer à noite, quando há pouca transpiração e a redução da tensão no xilema permite que os gases se dissolvam na seiva do xilema.

A maior velocidade de recuperação da turgescência observada no ramo submetido ao vácuo é explicada pela retirada do ar de dentro dos vasos do xilema e do preenchimento dos seus espaços com a água, uma vez que a transpiração volta a succionar a coluna de água do xilema (sucção da copa), em continuidade com a água contida no quitazato. O ramo que foi cortado embaixo da água recuperou a turgescência rapidamente, pois além de se eliminar a porção comprometida do caule devido à entrada de ar, ele não sofreu nova embolia, diferentemente do outro ramo, em que o corte foi realizado fora da água, resultando em nova ocorrência de embolia. A embolia tem implicações sérias para o fluxo de seiva, uma vez que o traqueídeo que sofreu embolia passa a apresentar elevada resistência ao transporte de água devido à descontinuidade na coluna do xilema. A recuperação muito lenta do ramo não cortado se deve à existência da barreira de ar no traqueídeo e ao bloqueio à entrada de água através da superfície cortada, que é rapidamente vedada por gomas, resinas e outros materiais de cicatrização.

A aula prática mostrou a necessidade de manutenção da integridade da coluna de água desde as raízes até os terminais do xilema nas folhas, condição que possibilita a manutenção da hidratação dos tecidos e, conseqüentemente, o aumento da durabilidade em pós-colheita (em jarros) de flores de corte.

Questionário:

1. Dentre as plantas dos tratamentos aplicados, quais recuperaram a turgescência dos ramos mais rapidamente?

Na maioria das vezes, a ordem de recuperação é a seguinte: ramo submetido à bomba de vácuo, ramo cortado dentro da água, ramo cortado fora da água e ramo não cortado.

2. Como você explica as diferenças na rapidez de recuperação da turgescência nas plantas desses tratamentos?

As diferenças se devem à ocorrência e/ou à eliminação da embolia provocada pelo corte do ramo e a entrada de ar nos vasos do xilema. A maior velocidade de recuperação da turgescência do ramo submetido à bomba de vácuo é explicada pela retirada do ar de dentro do xilema e do preenchimento dos seus espaços com a água após o desligamento do vácuo, uma vez que a transpiração volta a succionar a coluna de água do xilema, em continuidade com a água contida no quitazato. Além disso, o vácuo consegue eliminar substâncias de cicatrização e/ou bloqueios mecânicos que comprometiam a entrada de água na superfície onde o corte foi realizado. O ramo que foi cortado submerso em água recuperou a turgescência com maior rapidez, pois além de se eliminar a porção comprometida do caule pela entrada de ar, ele não sofreu nova embolia, diferentemente do outro caso, em que o corte foi realizado fora da água, resultando em nova ocorrência de embolia. Conforme previsto pela teoria de Dixon e Joly, a embolia tem sérias implicações para o fluxo de seiva, uma vez que o traqueídeo que sofre a entrada de ar apresenta elevada resistência ao transporte de água, em função da descontinuidade na coluna de água no xilema. A recuperação lenta do ramo não cortado se deve à presença de uma barreira de ar no traqueídeo e ao bloqueio à entrada de água através da superfície cortada, que é rapidamente vedada.

3. Como você poderia correlacionar os resultados da prática com a teoria tenso-coeso-transpiratória?

Uma das pressuposições da teoria de Dixon e Joly é que o transporte de água no xilema das raízes para a parte aérea seja contínuo. Caso a coluna se rompa, o fluxo de água cessará no vaso particular em que ocorreu a ruptura, uma vez que a resistência imposta pela bolha de ar torna-se maior que a diferença de pressão gerada pela transpiração na parte aérea (sucção da copa), impossibilitando o fluxo ascendente de seiva no xilema. A importância da manutenção da integridade dos vasos do xilema para o transporte foi comprovada pela maior velocidade de recuperação nos ramos em que o ar foi eliminado.

4. Tendo em vista as suas observações, que recomendações você faria a um floricultor, quanto ao período do dia mais indicado para colher flores? Que explicação você daria para justificar sua recomendação?

O período do dia mais indicado para colher flores é antes do amanhecer. Esse é o momento do dia em que as plantas encontram-se mais bem hidratadas, apresentando maior potencial hídrico. À noite as plantas transpiram menos do que absorvem e, então, conseguem repor a água perdida pelos tecidos durante o dia em função da transpiração foliar. Nesse período, há menor tensão nos vasos do xilema, o que diminui a possibilidade de ocorrer cavitação (entrada de ar nos vasos) no momento do corte para coleta das flores.

5. Como você trataria ramos de flores visando conservá-los túrgidos por mais tempo?

Imediatamente após receber um buquê de flores, é recomendado efetuar o corte dos ramos embaixo da água, renovando esse procedimento a cada 1-2 dias.

6. Algumas pessoas adicionam comprimidos de ácido acetil salicílico (AAS) e açúcar cristal aos jarros contendo flores com o intuito de conservá-las por mais tempo. Esses procedimentos podem trazer alguma vantagem para a conservação das plantas?

O ácido acetil salicílico (AAS) é um análogo químico do ácido salicílico (AS), um reconhecido inibidor da biossíntese de etileno, principal fitormônio indutor da senescência e abscisão em plantas. Em função da inibição na síntese desse hormônio vegetal, as flores podem se conservar por mais tempo. O AS também está envolvido nos mecanismos de fechamento estomático.


O açúcar cristal (sacarose) é uma fonte de carboidratos para as plantas. Uma vez que a intensidade de radiação no interior das residências limita a fotossíntese, a adição da sacarose pode retardar o início da senescência. O açúcar (sacarose) fornece parte da energia necessária à manutenção do metabolismo respiratório, aumentando a conservação em pós-colheita das flores em jarros. Todavia, em excesso, o açúcar pode ser prejudicial devido aos seus efeitos osmóticos.

7. Quais são as principais diferenças entre embolia e cavitação? Qual é a influência desses fenômenos no transporte da seiva do xilema?

A formação de uma fase gasosa no xilema pode ser explicada pelo fato de a água, nesse tecido de condução, conter vários gases dissolvidos, como o dióxido de carbono, o oxigênio e o nitrogênio. Quando a coluna de água está sob tensão, há uma tendência para esses gases saírem da solução. Primeiro formam-se bolhas submicroscópicas na interface entre a água e as paredes dos traqueídeos ou elementos de vaso, provavelmente em pequenas fendas ou poros hidrofóbicos das paredes. Essas pequenas bolhas podem redissolver-se ou podem coalescer e expandirem-se rapidamente, preenchendo espaços nos vasos. Esse processo de formação de bolhas de ar no xilema é chamado cavitação (do latim *cavus* = oco). Bolhas grandes de gases constituem uma obstrução nos vasos condutores, as quais se dá o nome de embolia (do grego *embolus* = rolha).

A embolia apresenta sérias implicações para o transporte de seiva, uma vez que um traqueídeo que sofre esse efeito deixa de transportar água. De fato, a elevada probabilidade de ocorrer cavitação no xilema foi apresentada como uma objeção importante à teoria da tensão-coesão quando esta foi formulada. Em 1966, Milburn e Johnson desenvolveram o método acústico para a detecção de cavitação no xilema. Em experiências de laboratório com tubos finos de vidro, eles observaram que o relaxamento rápido da tensão que se segue à cavitação produz uma onda de choque que pode ser ouvida na forma de som (“cliques”). Utilizando microfones sensíveis é possível ouvir pequenos estalidos nas plantas, quando ocorre as cavitações no xilema. Utilizando folhas de plantas de mamona (*Ricinus communis*) sob condições de estresse hídrico, Milburn e Johnson demonstraram que existe uma relação bastante evidente entre a cavitação e o desenvolvimento de tensão no xilema, o que suporta, de certa forma, as pressuposições da teoria de Dixon e Joly.

No final dos anos 80, Sperry e colaboradores desenvolveram um método baseado nas alterações na condutância hidráulica, medindo a capacidade total de um tecido conduzir água. O método acústico apenas contava o número e a frequência das cavitações, mas o método hidráulico de Sperry permitiu avaliar o impacto das embolias na capacidade de transporte de



água nos tecidos. Esses autores estudaram a cavitação em plantas de ácer (*Acer saccharum*) e verificaram que, devido ao estresse hídrico observado durante a primavera, as embolias ocorriam essencialmente no tronco principal, reduzindo a condutância hidráulica em até 30%. No inverno, a condutância hidráulica no tronco principal reduzia em até 60%, podendo alcançar 100% nos ramos secundários. O aumento das embolias no inverno está relacionado aos ciclos de congelamento-descongelamento da água, uma vez que a solubilidade dos gases é muito baixa no gelo e, assim, quando a água se congela, os gases são forçados a sair da solução. Quando ocorre o descongelamento, as pequenas bolhas de gases se expandem, causando a cavitação.

Bibliografia:

DIXON, H. H.; JOLY, J. The path of the transpiration-current. **Annals of Botany**, v. 9, n. 3, p. 403-420, 1895.
HOPKINS, W. G.; HÜNER, N. P. A. **Introduction to plant physiology**. 4th. Ed., New York: John Wiley and Sons, Inc., 1995. 512 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.3 - Desenvolvimento de Tensões Internas no Xilema

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Quando a água se evapora das paredes celulares das folhas devido à transpiração, ela é repostada pela água do xilema, que se movimenta no apoplasto e, eventualmente, pela água existente nas células do mesofilo. Todavia, quando a transpiração é excessiva, desenvolve-se uma grande tensão (pressão hidrostática negativa) nas folhas das plantas, puxando a água do xilema. A pressão negativa que causa a ascensão da água através do xilema desenvolve-se na superfície das paredes celulares da folha. Uma vez que a água adere à superfície das microfibrilas de celulose e a outros componentes hidrofílicos da parede celular, à medida que a água evapora das células no interior da folha, a superfície da água que permanece é sugada para dentro dos interstícios da parede celular, onde forma interfaces ar-água encurvadas. Devido à alta tensão superficial da água, a curvatura dessas interfaces induz uma tensão, ou pressão, negativa da água. À medida que mais água é removida da parede, a curvatura dessas interfaces ar-água aumenta, e a pressão da água fica mais negativa. Devido à extraordinária coesão entre as moléculas de água, essa tensão é transmitida por todo o caminho da água da parte aérea, através do caule, até as raízes, resultando no fenômeno de sucção da copa. Um dos componentes mais importantes nesse sistema é a pressão hidrostática ($P = -2T/r$; T = tensão superficial da água e r = raio de curvatura do menisco), gerada em resposta à desidratação nos vasos do xilema e nas folhas.

Na aula prática, as plantas de girassol mantidas sob condições de déficit hídrico apresentavam maior tensão no xilema e, por isso, o azul de metileno ascendeu a uma maior distância (a partir do local seccionado do caule) do que no caso da planta mantida sob fornecimento normal de água. Esses resultados podem ser explicados em analogia ao comportamento de uma tira de elástico que, quando é esticada e, então, cortada, sofre retração em direção aos dois pontos de tensão. Portanto, quanto maior a tensão no xilema das plantas de girassol, maior será a ascensão da coluna de azul de metileno em direção ao ápice, bem como em direção à base. Imediatamente após o corte, a coluna xilemática, colorida com azul de metileno, também desce em direção à base voltando, entretanto, a apresentar exsudação na região seccionada da planta hidratada após certo tempo, o que ocorre em resposta à pressão radicular. Na planta hidratada, a distância percorrida pelo azul de metileno em direção à base é menor devido à menor tensão do xilema.

Quando mantido esticado, a espessura (ou diâmetro) de um material elástico é menor do que quando o mesmo não se encontra tensionado. Nas plantas, o diâmetro do caule também se reduz nas horas mais quentes do dia, quando a transpiração é intensa, voltando ao normal à tarde e, principalmente, à noite e no início da manhã, quando a planta se reidrata e recupera a água perdida devido à transpiração. Nessa condição, a pressão no xilema é positiva ou possui uma tensão muito baixa.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Questionário:

1. Em que tecido a solução de azul de metileno se movimenta?

O azul de metileno se movimenta nos tecidos funcionais do xilema, que são constituídos, basicamente, por dois tipos de células: traqueídeos e elementos de vasos.

2. Caso o sistema fosse puramente físico, sem células vivas, as observações seriam diferentes?

Não, pois o sistema de condução formado pelos traqueídeos e elementos de vasos (xilema) é morto na maturidade, o que ocorre como resultado da deposição de lignina durante a formação da parede secundária.

3. O que aconteceria se a experiência fosse realizada com plantas submetidas a diferentes graus de deficiência hídrica?

Ocorreria uma variação na altura de subida e de descida do corante, pois a tensão ou força de “sucção” depende do grau de deficiência hídrica no qual a planta se encontra. A ascensão da seiva xilemática na parte superior e o seu decréscimo na inferior seriam proporcionais à intensidade do estresse hídrico (tensão) em cada uma das plantas.

4. Dentre os tratamentos utilizados, em qual deles o corante atingiu maior distância? Como você explica esse resultado?

Nas plantas mantidas sob condições de estresse hídrico a ascensão foi maior, uma vez que a tensão no xilema dessas plantas era mais intensa. Com isso, quando em contato com a solução de azul de metileno, os ramos dessas plantas exercem uma grande força de “sucção”, o que faz com que o corante atinja uma altura maior do que nas plantas bem hidratadas. O mesmo ocorre em relação ao fluxo do corante em direção à base, com maior distância percorrida pelo azul de metileno na planta sob déficit hídrico, o que reforça as evidências de que a seiva do xilema encontrava-se sob forte tensão (pressão negativa).

5. Quando se efetua um corte em um caule sob tensão interna de água, espera-se que o corante se desloque mais em direção ao ápice ou à base? Explique.

O corante se desloca mais em direção ao ápice, pois se o caule está sob tensão interna de água significa que ele está perdendo água mais rapidamente devido a transpiração do que está repondo pela absorção. Nesse caso, a “força de sucção da copa”, exercida pela transpiração, “suga” mais intensamente o corante para o ápice, onde é gerada a força de sucção. Todavia, o corante também se movimenta em direção à base (comportamento similar ao de um elástico mantido sob tensão quando é cortado), porém em menor intensidade. Após algum tempo, se a tensão não for intensa ou se o vaso for irrigado, pode ocorrer exsudação da seiva xilemática na superfície cortada devido à pressão radicular.

6. O que acontece com a seiva xilemática na parte basal da planta irrigada algum tempo após a secção do ramo?

Imediatamente após o corte, a seiva xilemática desce em resposta à tensão no xilema. Todavia, como as raízes absorvem íons ativamente, armazenando-os nas células de parênquima do córtex e do estelo, os tecidos do sistema radicular absorvem água por osmose. Em função da superfície evaporativa (folhas) ter sido eliminada, com o passar do tempo, a seiva do xilema volta a ascender sob pressão positiva, preenchendo todo o volume dos vasos xilemáticos e exsudando, no estado líquido, na região do corte, evidenciando o fenômeno da pressão radicular. As células de parênquima do xilema, em contraste às células do xilema adulto (traqueídeos e elementos de vaso), são células vivas. Elas eliminam substâncias osmoticamente ativas no interior dos vasos condutores. Em função disso, a água no interior do

xilema, na altura das raízes, torna-se bastante concentrada de moléculas osmoticamente ativas, o que favorece o fluxo de água para dentro desses tecidos por osmose, gerando a pressão radicular que culmina com a gutação.

7. Por que se desenvolvem maiores tensões internas de água nas plantas durante o dia do que durante a noite?

Durante o dia a taxa de transpiração é elevada, processo que ocorre em menor intensidade à noite. O aumento na transpiração provoca um déficit entre a água que a planta perde através das folhas e a que é absorvida pelo sistema radicular, levando ao desenvolvimento de fortes tensões no xilema.

8. Observa-se que os diâmetros dos troncos de certas árvores contraem-se durante o dia. Como se explica esse fato?

Durante o dia, a absorção de água pelo sistema radicular não compensa as perdas pela transpiração, o que provoca a diminuição do potencial hídrico foliar, originando tensões internas no xilema. Devido à extraordinária coesão entre as moléculas de água, essa tensão é transmitida por todo o caminho da água da parte aérea, através do caule, até as raízes, resultando no fenômeno de sucção da copa. Um dos componentes mais importantes nesse sistema é a pressão hidrostática ($P = - 2T/r$; T = tensão superficial da água e r = raio de curvatura do menisco), gerada em resposta à desidratação nos vasos do xilema e nas folhas. A contração nos caules de muitas plantas durante o dia é uma evidencia de que elas se encontram sob tensão. Qualquer fator que promova perda de água mais rapidamente do que absorção (falta de água no solo, por exemplo) leva ao desenvolvimento de tensões internas de maior magnitude. Essas tensões podem alcançar valores de potencial hídrico muito elevados (valores muito negativos), o que pressupõe alta resistência mecânica dos vasos, impedindo a compressão da estrutura tubular, evitando que suas paredes se toquem (colabamento). A tensão gerada pela perda de água mais rápida do que a absorção pode ser evidenciada com a utilização de dendrômetros, equipamentos que medem a variação no diâmetro de árvores e arbustos.

9. As tensões internas do xilema podem alcançar valores de potencial hídrico muito negativo, mesmo assim não ocorre colabamento dos vasos. Como isso é possível?

A deposição de lignina ocorre durante a formação da parede secundária dos traqueídeos e dos elementos de vasos, conferindo elevada força tensil aos vasos do xilema, tornando-os extremamente resistentes às elevadas pressões negativas geradas pela transpiração excessiva. Estudos experimentais demonstraram que os vasos do xilema toleram pressões de até 30 MPa (~ 300 atm) sem sofrer compressão da estrutura tubular, evitando que suas paredes se toquem (colabamento).

10. Que outro método experimental poderia ser usado para mostrar que a perda de água na planta leva ao desenvolvimento de tensões internas no xilema?

A utilização de bombas de pressão (Scholander) ou o uso de dendrômetros. As bombas de pressão (Scholander) medem o potencial hídrico total (em MPa) em tecidos foliares e em ramos. Os resultados obtidos podem revelar o nível de tensão em que a seiva xilemática se encontra, uma vez que quanto maior o estresse hídrico, mais elevada é a pressão necessária para fazer a seiva retornar (borbulhar) na superfície do corte. Os dendrômetros

(fitotensiômetros) são equipamentos usados para medir as variações no perímetro de órgãos vegetais ao longo do tempo, permitindo a obtenção de informações quanto ao estado hídrico das plantas. Nos caules, o diâmetro diminui nas horas mais quentes do dia (enquanto a taxa de transpiração encontra-se elevada), voltando ao normal no final do dia e à noite.

11. Que critério fisiológico pode ser utilizado para diagnosticar deficiência de água no solo?

O critério fisiológico mais preciso para diagnosticar deficiência de água no solo é o potencial hídrico antemanhã ($\Psi_{w_{antemanhã}}$). O $\Psi_{w_{antemanhã}}$ é um indicador seguro do estado hídrico das plantas, representando a máxima turgescência para uma determinada condição hídrica encontrada no solo. Se nesse horário do dia os valores de $\Psi_{w_{antemanhã}}$ encontrados forem limítrofes, com o nascer do sol e o avanço das horas, com conseqüente aumento da temperatura e da transpiração, o estresse hídrico se tornará cada vez mais intenso, indicando ser necessária a irrigação imediata, evitando-se perdas na produtividade ou mesmo a ocorrência de murcha permanente. Outros métodos que utilizam tensiômetros e dendrômetros, assim como análises estomáticas, também podem ser utilizados para esse fim.

12. Por que as folhas de aboboreiras apresentam murchamento nas horas mais quentes do dia, mesmo havendo boa disponibilidade de água no solo?

Porque nessas horas, em função da elevada temperatura, a taxa de transpiração é muito intensa. Como as aboboreiras apresentam folhas muito amplas e tenras, a superfície de perda de água é muito grande, contrapondo à menor capacidade das raízes em absorver água, o que resulta em déficit hídrico e murcha na parte aérea, ainda que o solo se encontre úmido.

Bibliografia:

DIXON, H. H.; JOLY, J. The path of the transpiration-current. *Annals of Botany*, v. 9, n. 3, p. 403-420, 1895.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratório de fisiologia vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 5.4 - Sucção da Copa e Coloração do Apoplasto Xilemático

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) **Fisiologia vegetal**: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A transpiração promove o fluxo em massa da seiva xilemática, no estado líquido, para fora dos traqueídeos, criando uma força de sucção (resultante do aumento na pressão hidrostática da água), que, devido à coesão entre as moléculas de água, “puxa” a coluna de seiva através do xilema. Essa força de sucção fez com que as moléculas ascendessem nos caules cortados até as folhas (sucção da copa). A utilização dos corantes possibilitou a observação nítida dos elementos condutores do xilema. A ascensão mais rápida da fucsina ácida é explicada pela natureza aniônica ($-\text{SO}_3^-$) da sua molécula, que sofre pouca adsorção pela matriz do xilema, que apresenta, predominantemente, cargas negativas nas paredes celulares. Em contraste, o azul de metileno, é um corante catiônico ($-\text{S}^+$) e, por isso, interage fortemente com as cargas negativas da parede do xilema (celulose e pectina), ficando mais retido.

A aula prática demonstrou a importância da sucção da copa e a existência de cargas elétricas nos tecidos funcionais do xilema, fenômenos que interferem na ascensão da água e dos íons (seiva xilemática) nesse sistema de condução das plantas. A ascensão mais rápida da solução de fucsina ácida (corante aniônico) mostrou que os vasos do xilema apresentam, predominantemente, cargas negativas (provenientes dos grupos carboxílicos e fenólicos da parede celular), retendo mais intensamente a solução contendo o azul de metileno, um corante catiônico.

Questionário:

1. Por que na aula prática foi necessário utilizar plantas sem o sistema radicular?

Como a intenção era demonstrar exclusivamente a sucção promovida pela parte aérea da planta, a retirada do sistema radicular elimina a resistência radicular, assim como a possibilidade de interferência da pressão radicular (pressão positiva). Como as plantas utilizadas no experimento não apresentavam raízes, conclui-se que o transporte dos corantes ocorreu por fluxo de massa, baseado apenas nas pressuposições da teoria tenso-coeso-transpiratória.

2. O xilema forma um sistema contínuo que, partindo das raízes, atravessa o caule chegando até as folhas. Existem dois mecanismos principais que contribuem para a ascensão da água no xilema. Quais são as principais diferenças observadas entre eles?

A ascensão da seiva no xilema pode se dar por pressão radicular ou em resposta ao fluxo transpiratório (sucção da copa). O movimento da seiva no xilema, resultante da pressão radicular, depende do acúmulo de íons nas células do estelo (cilindro vascular), tecidos localizados internamente à endoderme, nas raízes das plantas. Paralelamente ao transporte ativo dos ânions, que se processa contra o gradiente de cargas, ocorre a entrada de cátions, promovendo o balanço elétrico nas células das raízes. Devido ao acúmulo desses íons, a água é absorvida por osmose pelas raízes, promovendo o balanço hídrico em resposta ao gradiente de concentração entre esses tecidos e o solo. Como a quantidade de água absorvida pelas células das raízes é muito grande, a solução (água e sais minerais) extravasa abundantemente

para dentro do xilema, ascendendo em direção à parte aérea, preenchendo integralmente os vasos xilemáticos, perdendo-se, na forma líquida (gutação ou sudação), através dos hidatódios. Todavia, para que a gutação ocorra, é necessário que a umidade do ar esteja elevada, a temperatura da atmosfera amena e o solo úmido, condições que reduzem a transpiração e possibilitam a ocorrência da gutação. A pressão radicular, entretanto, não é suficiente para forçar a água a ascender até grandes alturas (para plantas o limite máximo encontra-se próximo a 10 m).

Quando a água se evapora das paredes celulares das folhas devido à transpiração, ela é repostada pela água proveniente do xilema (que se movimenta no apoplasto) e, eventualmente, pela água existente nas células do mesofilo. Todavia, quando a transpiração é excessiva, desenvolve-se uma grande tensão (pressão hidrostática negativa) nas folhas das plantas, que traciona (“puxa”) a água no xilema. A pressão negativa que causa a ascensão da água através do xilema desenvolve-se na superfície das paredes celulares da folha. Uma vez que a água adere à superfície das microfibrilas de celulose e a outros componentes hidrofílicos da parede celular, à medida que a água evapora das células no interior da folha, a superfície da água que permanece é sugada para dentro dos interstícios da parede celular, onde forma interfaces ar-água encurvadas (meniscos). Devido à alta tensão superficial das moléculas de água, a curvatura dessas interfaces causa tensão (pressão negativa da água; $P = -2T/r$). À medida que mais água é removida da parede, a curvatura dessas interfaces ar-água aumenta muito, tornando a pressão da água mais negativa. Devido à extraordinária coesão entre as moléculas de água, não ocorre quebra da coluna de água e essa tensão é transmitida por todo o caminho da água, da parte aérea, passando pelo caule, até as raízes, processo que resulta no fenômeno de sucção da copa.

3. Se o sistema radicular não tivesse sido retirado, haveria alguma diferença nos resultados?

Não, pois os corantes “subiriam” em direção às folhas da mesma maneira, seguindo o fluxo em massa de água e íons. Porém, sem o sistema radicular fica evidente que a força que traciona essas moléculas vem da transpiração foliar e não da pressão radicular. Todavia, o processo seria mais lento devido à presença da endoderme, estrutura responsável pela resistência radicular.

4. Como se explica a ascensão mais rápida da fucsina ácida em relação ao azul de metileno?

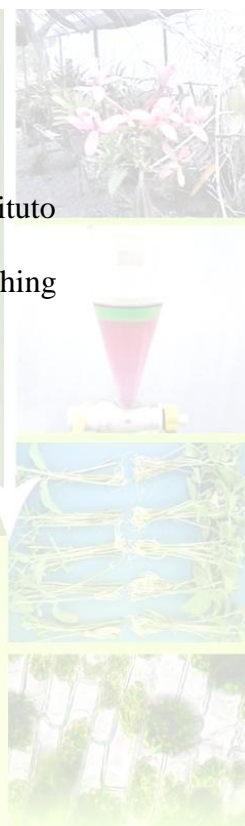
A ascensão mais rápida da fucsina ácida é explicada pela natureza química aniônica (SO_3^-) da molécula de fucsina ácida que não interage, por adsorção, com as matrizes do xilema, que apresentam, predominantemente, cargas negativas (devido à celulose, às pectinas e aos fenóis da sua estrutura) na sua superfície. Em contraste, o azul de metileno, um corante de natureza catiônica ($-S^+$), interage com as cargas negativas da parede do xilema, ficando mais retido. Por esse motivo, foi possível observar que os tecidos de condução do xilema da planta tratada com azul de metileno apresentou coloração mais intensa que os da planta imersa em fucsina ácida.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

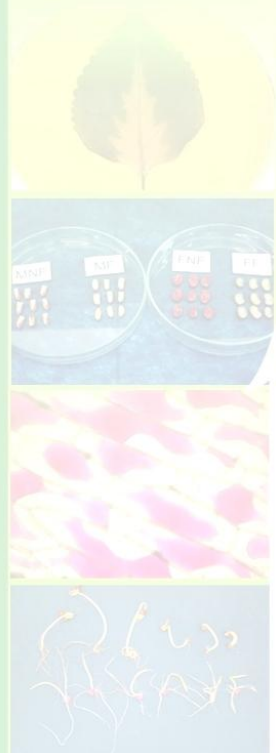
ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.5 - Anastomose nos Vasos Lenhosos das Plantas

Aula prática fundamentada em Ferri et al. (1987) Botânica: fisiologia, curso experimental. 2.ed. 1. reimp., Livraria Nobel-São Paulo, SP. 116 p.

Fundamentação teórica:

Uma anastomose ou abertura comunicante consiste em uma rede de canais que se bifurcam e recombinaem em vários pontos. Nas plantas, essa intercomunicação permite que as seivas sejam transportadas ao longo do sistema vegetal mesmo que partes dos tecidos de condução tenham sido comprometidas, evidenciando a existência de vias alternativas para a manutenção da hidratação e da nutrição mineral e orgânica nas plantas.

O fato de o corante ter se espalhado por todos os vasos do xilema mesmo com a sua interrupção parcial é explicado pelas características intrínsecas das células e dos tecidos de condução que compõem o xilema (parênquima, traqueídeos e elementos de vaso). O fluxo de água no interior dessas células e tecidos se faz no sentido longitudinal, ocorrendo, também, fluxo lateral entre vasos e células vizinhas. A passagem da água de um vaso para outro ocorre através das suas paredes primárias ou das membranas de pontuação (traqueídeos com pontuações areoladas). Os plasmodesmas também possibilitam a intercomunicação entre as células vivas que compõem os tecidos do xilema.

As regiões dos nós apresentam extensa rede de canais (anastomoses), o que foi demonstrado pelos resultados da prática, uma vez que a coloração dos vasos do xilema localizados acima do local bloqueado no caule **B** (apresentava um nó a mais que o **A**) foi muito maior que no caule **A**. O xilema é integrado por interconexões tridimensionais a vasos de outras regiões aparentemente isoladas. As interconexões são mais comuns nas folhas e nos nós, o que explica as diferenças encontradas entre os dois sistemas testados na aula.

A aula prática demonstrou a existência de comunicações (anastomoses) nos vasos do xilema das plantas, o que permite a manutenção da nutrição mineral e da hidratação, mesmo que danos de menor intensidade tenham ocorrido nos tecidos de condução.

Questionário:

1. Explique as diferenças na coloração encontrada nos cortes dos caules ao término do experimento.

A eosina é um corante que apresenta cargas negativas na sua molécula sendo, portanto, repelido pelas cargas negativas predominantes na superfície dos vasos do xilema. Em função disso, a ascensão desse corante nos vasos do xilema foi bastante rápida, o que ocorre em resposta à sucção da copa promovida pela transpiração do par de folhas mantido nos ramos.

No caule **B**, que possuía um nó a mais que o **A**, a ascensão da eosina até o ápice foi mais rápida, ocorrendo também a sua distribuição para outras porções (nervuras das folhas) localizadas acima do ponto de interrupção, o que não se verificou no caule **A**. Como o xilema é integrado por interconexões tridimensionais a vasos de outras regiões aparentemente isoladas, as anastomoses são mais comuns nas folhas e nos nós, o que explica as diferenças encontradas entre os dois sistemas testados na aula. A existência de um nó a mais contribui para a ocorrência de mais anastomoses e, conseqüentemente, para a manutenção da translocação no xilema mesmo acima do local da interrupção pela inserção da lâmina.

2. Qual é a importância da existência das “anastomoses” nos sistemas condutores de seiva das plantas?

Essas redes de canais existentes nos tecidos do xilema e do floema se bifurcam e se recombinam em vários pontos, possibilitando a ocorrência de vias alternativas para que as seivas sejam transportadas ao longo do sistema vegetal, mesmo que partes dos tecidos de condução tenham sido danificadas e/ou comprometidas.

3. Por que o termo “seiva bruta” é inadequado para designar a seiva do xilema?

Inicialmente, acreditava-se que a seiva do xilema era constituída apenas por água e sais minerais. No entanto, há bastante tempo se sabe que a seiva xilemática também contém moléculas metabolizadas e complexas como fitormônios (ácido abscísico e citocininas, principalmente), ureídeos e aminoácidos, dentre outras substâncias. Em função disso, o termo “seiva xilemática” é mais adequado para se denominar essa seiva. O mesmo ocorre com o termo “seiva elaborada” para a seiva do floema. Embora a seiva do floema apresente, predominantemente, substâncias orgânicas, ela também possui elementos inorgânicos em sua composição.

Bibliografia:

- ALONI, R.; BARNETT, J. R. The development of phloem anastomoses between vascular bundles and their role in xylem regeneration after wounding in *Cucurbita* and *Dahlia*. **Planta**, v. 198, n. 4, p.595-603, 1996.
- ALONI, R.; JACOBS, W. P. The time course of sieve tube and vessel regeneration and their relation to phloem anastomoses in mature internodes of *Coleus*. **American Journal of Botany**, v. 64, n. 6, p. 615-621, 1977.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.6 - Demonstração do Fluxo em Massa em Sistemas Físico e Biológico

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A ascensão das colunas de mercúrio nos tubos de vidro ilustrou o fenômeno de fluxo em massa de água, tanto em um sistema físico (massa de gesso) quanto em um sistema biológico (ramo da planta de eucalipto). Conforme a coluna de água subiu, em resposta à transpiração (sistema biológico) ou à evaporação (sistema físico), o mercúrio acompanhou o movimento da coluna de água em direção às folhas e à massa de gesso. Nas plantas, o fluxo de água das raízes até a parte aérea é um fenômeno de natureza física, o que foi demonstrado indiretamente utilizando-se uma matriz de superfície porosa (cone de gesso) conectada a um tubo de vidro contendo água e mercúrio. Como consequência da perda de água para a atmosfera na forma de vapor, os capilares da matriz do cone de gesso são preenchidos com água no estado líquido (por capilaridade), elevando a coluna de água e, conseqüentemente, o mercúrio no interior do tubo de vidro. A força motora desse tipo de movimento nas plantas é consequência da perda de água por transpiração nas folhas, processo que estimula a sucção da água ao longo dos vasos do xilema (“sucção da copa”).

Nas plantas os estômatos são barreiras à livre perda de água. Essas estruturas têm a função de controlar as trocas gasosas, mantendo a absorção de CO₂ para a fotossíntese e, ao mesmo tempo, minimizando a perda de água por transpiração. O funcionamento estomático depende tanto da sua morfologia quanto de processos fisiológicos e bioquímicos que ocorrem nas células do complexo estomático, especialmente nas células-guardas e subsidiárias.

A ascensão da coluna de mercúrio foi mais rápida e a altura final que a coluna atingiu foi muito maior no experimento utilizando o sistema biológico (ramo de eucalipto) porque as células do mesófilo, em conjunto com os estômatos (presentes apenas nesse sistema), proporcionaram uma maior superfície de perda de água e de aumento da tensão superficial ($P = - 2T / r$), o que resultou em uma maior perda de água e em uma força de sucção mais intensa que no sistema físico (massa de gesso).

Com o passar do tempo, a elevada tensão gerada pela transpiração resultou em quebras na coluna de água, conforme foi observado nos dois modelos testados na aula prática. Quando o peso da coluna de mercúrio superou a força de sucção (promovida pela evaporação na massa de gesso ou pela transpiração nas folhas), ocorreu a quebra da continuidade entre as colunas de água e de mercúrio. Essa quebra é comparável ao fenômeno da embolia observado nas plantas, condição que compromete o sistema de condução de seiva no xilema (a manutenção da integridade da coluna de água das raízes até os capilares do xilema nas folhas é uma das pré-suposições da teoria de Dixon e Joly). Por esse motivo, após algum tempo, a coluna de mercúrio se rompeu e retornou parcialmente ao recipiente, não ascendendo mais em direção às folhas ou à massa de gesso na mesma montagem.

A aula prática ilustrou a contribuição do fluxo em massa no processo de sucção da copa e no transporte de seiva no xilema, conforme um dos pressupostos da teoria tenso-coeso-transpiratória de Dixon e Joly.

Questionário:

1. Explique as diferenças encontradas nos resultados entre os sistemas físico e biológico.

As diferenças encontradas estão relacionadas à velocidade de ascensão da coluna e à altura final alcançada pela coluna de mercúrio, que foram maiores no sistema biológico do que no físico. A ascensão da coluna foi muito mais rápida e a altura final que a coluna de mercúrio atingiu foi muito maior no experimento utilizando o sistema biológico porque a cutícula e, principalmente, os estômatos, representaram uma superfície de perda de água muito maior do que no sistema físico (massa de gesso), o que resulta em uma maior perda de água na parte aérea e, conseqüentemente, em uma maior força de sucção do que no cone de gesso. Caso as superfícies de perda de água fossem equivalentes nos dois sistemas, as velocidades de subida e as alturas alcançadas seriam próximas.

2. Como o sistema físico pode ser utilizado para explicar o transporte de seiva no xilema?

A massa de gesso seco e sua superfície são porosas e apresentam finos capilares no seu interior, podendo ser comparada aos elementos condutores do xilema, à superfície do mesofilo e aos estômatos. A porosidade e a capilaridade são de extrema importância para que o fluxo em massa aconteça, uma vez que elas contribuem para o estabelecimento da diferença de pressão necessária à ascensão da seiva xilemática. Na aula, uma diferença importante entre o sistema físico e o biológico foi a extensão da superfície de perda de água. Devido à grande quantidade de folhas, a superfície evaporativa no ramo da planta de eucalipto foi maior, resultando em uma força de sucção mais intensa e, conseqüentemente, em maior ascensão da coluna de mercúrio.

3. Se em vez de utilizarmos ramos apicais de plantas de eucalipto fossem usados ramos de outras plantas, teríamos resultados diferentes dos obtidos?

Dependendo da espécie utilizada, os resultados poderiam ser diferentes, no que diz respeito à velocidade e à intensidade de ascensão da coluna de mercúrio, uma vez que a quantidade e a manutenção da abertura dos estômatos nos sistemas biológicos apresentam influência na intensidade de transpiração e, conseqüentemente, na magnitude da força de sucção ($P = -2T/r$) gerada nos ramos.

4. Por que é necessário efetuar um novo corte submerso em água no ramo de eucalipto após o primeiro realizado no campo? Por que a coleta do ramo deve ser realizada pela manhã?

O novo corte é realizado para se retirar o ar que penetra nos vasos do xilema após a realização do primeiro corte no campo. A coleta no início da manhã se justifica pela maior hidratação dos tecidos e pela menor transpiração nesse momento do dia, fazendo com que uma menor quantidade de ar entre no sistema devido à tensão mais reduzida. Caso o corte fosse realizado nas horas mais quentes do dia, a entrada de ar seria intensa, interpondo grande resistência ao fluxo de seiva, comprometendo o transporte no xilema e alterando os resultados da aula.

5. Considerando-se os resultados da aula, que cuidados devem ser tomados visando o prolongamento da qualidade em pós-colheita de flores de corte?

As flores de corte como a rosa, gébera, ave-do-paraíso, etc. devem ser colhidas preferencialmente antes de o dia nascer (de madrugada) ou logo no início da manhã, pois nesses horários, as plantas encontram-se mais bem hidratadas e a entrada de ar nos vasos do xilema, após o corte, será menor, uma vez que a tensão no sistema é reduzida nesses horários. O corte dos ramos em baixo da água é uma medida recomendada para se eliminar porções comprometidas por embolia no xilema, evitando a entrada de ar e permitindo uma rápida reidratação dos tecidos, o que irá contribuir para aumentar a durabilidade das flores em pós-colheita.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- MEYER, B. S.; ANDERSON, P. B.; SWANSON, C. A. **Curso prático de fisiologia vegetal**. trad. Fernando M. Catarino. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1969. 301 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HEMMINGSEN, E. A.; HAMMEL, H. T. Sap pressure in vascular plants. **Science**, v. 148, n. 3668, p. 339-346, 1965.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.7 - Gutação

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Devido à elevada umidade relativa do ar no interior da campânula, a transpiração se torna muito baixa. Em função disso, as plantas mantidas nos copos regados com água pura absorvem água pelas raízes, o que se processa devido às diferenças de potencial osmótico entre as células das raízes e o solo. Devido à pressão radicular, gerada pelo acúmulo de íons nas células de parênquima do estelo e do xilema, assim como em função do volume finito desse tecido de condução, a seiva, contendo predominantemente água e íons inorgânicos, ascende até as folhas pelos vasos do xilema, cujas terminações, no mesófilo foliar, apresentam conexão direta com os hidatódios. Por essas aberturas, a seiva xilemática é perdida no estado líquido (gotículas observadas nos bordos e pontas das folhas), resultando no fenômeno da gutação. As células de parênquima do xilema, em contraste às células do xilema adulto (traqueídeos e elementos de vaso), são células vivas. Elas eliminam substâncias osmoticamente ativas no interior dos vasos condutores. Em função disso, a água no interior do xilema, na altura das raízes, torna-se bastante concentrada de moléculas osmoticamente ativas, o que favorece o fluxo de água para dentro desses tecidos por osmose, gerando a pressão radicular que culmina com a gutação.

Todavia, no copo regado com solução de sal de cozinha (NaCl), o potencial hídrico do solo tornou-se muito baixo em função do aumento da sua pressão osmótica. Como a absorção da água é condicionada pelos potenciais osmóticos do solo e dos tecidos das raízes, a solução salina fez com que o solo ficasse com o potencial hídrico menor do que o do interior das raízes, impossibilitando a absorção de água. Em função disso, a pressão radicular não se estabeleceu, impossibilitando a ocorrência do fenômeno da gutação. Ao final de 1-2 semanas, as plantas de milho e de feijão irrigadas com a solução contendo sal de cozinha morreram, pois o reduzido potencial hídrico (muito negativo) do solo impediu a absorção de água. Além disso, o sódio (Na), em excesso, é um elemento tóxico para maioria das plantas cultivadas.

Questionário:

1. Por que não houve gutação no copo irrigado com solução salina?

Porque o potencial hídrico do solo no copo irrigado com solução salina ficou menor que o potencial hídrico no interior das raízes das plantas. Em função disso, a planta se desidratou e não absorveu água do solo, impedindo a ocorrência do fenômeno da gutação, sofrendo murcha permanente.

2. Qual é a força responsável pela gutação? Como ela se origina?

A força responsável pela gutação é a pressão radicular. Quando a transpiração é muito baixa, o gradiente de potencial hídrico gerado pelo acúmulo ativo de íons no estelo (tecidos de parênquima e de condução localizados internamente à endoderme) faz com que o potencial hídrico desses tecidos fique muito menor do que o potencial hídrico do solo. Em função disso, ocorre fluxo de água do solo para as raízes, fazendo com que a solução extravase em abundância para dentro do xilema, preenchendo totalmente o seu volume. Uma forte pressão

positiva é gerada, a pressão radicular, que força a ascensão da seiva (água contendo os íons em solução) no xilema, em direção às folhas, onde se encontram os hidatódios. As células de parênquima do xilema, em contraste às células do xilema adulto (traqueídeos e elementos de vaso), são vivas. Elas eliminam substâncias osmoticamente ativas no interior dos vasos condutores. Em função disso, a água no interior do xilema, na altura das raízes, torna-se bastante concentrada de moléculas osmoticamente ativas, o que favorece o fluxo de água para dentro desses tecidos por osmose, gerando a pressão radicular que culmina com a gutação. Como a transpiração é baixa e a água se encontra em abundância no interior da planta, não podendo extravasar para o solo, devido à barreira da endoderme, o fenômeno da gutação se manifesta. O excesso de seiva xilemática que chega ao mesófilo é liberado através dos hidatódios, no estado líquido, resultando no fenômeno da gutação.

3. Por que há necessidade de cobrir as plantas com uma campânula?

A cobertura das plantas com uma campânula é necessária para aumentar a umidade relativa do ar no interior da campânula e, com isso, reduzir a transpiração, fazendo com que o gradiente de potencial hídrico entre a folha e a atmosfera fique muito baixo, possibilitando a ocorrência de gutação.

4. Por que não devemos realizar adubações excessivas aplicando quantidades de fertilizantes além das recomendadas pelas análises de solos?

Devido à natureza salina dos adubos, a sua aplicação em excesso pode reduzir o potencial osmótico do solo, diminuindo o seu potencial hídrico, impedindo a absorção de água e, conseqüentemente, causar a morte das plantas. O processo poderá, em longo prazo, resultar em salinização e inutilização do solo. Além de ser um desperdício financeiro, a adubação excessiva também aumenta o risco de poluição de cursos e reservatórios de água.

5. Por que a maioria das plantas não tolera solos salinos?

Porque a maioria das plantas não consegue reduzir o potencial hídrico de suas células radiculares além de um determinado limite, o que as leva à morte quando o conteúdo de sais no solo encontra-se muito elevado. Para um grande número de plantas cultivadas, o Ψ_w do ponto de murcha permanente encontra-se próximo a -1,5 MPa. Todavia, existem espécies que apresentam o fenômeno de ajustamento osmótico e conseguem se desenvolver mesmo em solos salinos. Em algumas espécies halófitas, o sal é excretado ou transferido para glândulas de sal, o que possibilita a sua sobrevivência mesmo sob condições de intensa salinidade.

6. Em folhas sob gutação, qual é o sinal do potencial hídrico nos vasos do xilema? Positivo ou negativo? Por que isso ocorre? Qual é a principal evidência visível disso?

O potencial hídrico na planta sob gutação é positivo ou muito próximo a zero MPa, uma vez que o sistema encontra-se sob pressão radicular positiva, gerada osmoticamente devido ao acúmulo de íons nas células das raízes. Quando o fenômeno da gutação encontra-se operante, a transpiração desaparece e a ascensão da seiva xilemática até os terminais do xilema nas folhas é possível, tornando a lâmina foliar completamente hidratada, o que é evidenciado pela perda da seiva xilemática, no estado líquido, através dos hidatódios.

7. Encontre na literatura e represente esquematicamente a estrutura de um hidatódio, nominando os tecidos relacionados.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

FISHER, J. B.; EWERS, F. W.; LÓPEZ-PORTILLO, J. Survey of root pressure in tropical vines and woody species. **International Journal of Plant Sciences**, v. 158, n. 1, p. 44-50, 1997.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.8 - Translocação de Solutos Orgânicos

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é uma auxina sintética. As auxinas correspondem a uma classe de substâncias naturais ou sintéticas que estimulam o alongamento em células, tecidos e órgãos. Todavia, em excesso, as auxinas também estimulam a síntese de etileno, um fitormônio que tem como efeito marcante o estímulo à ocorrência de epinastia, fenômeno que se manifesta como enrolamento das folhas e pela curvatura dos ápices das plantas. Como o 2,4-D foi aplicado apenas na base das folhas, mas os seus efeitos (epinastia) foram observados à distância, é possível concluir que essa molécula, mesmo tendo origem sintética, pode ser translocada na planta. O sistema de transporte envolvido na translocação em várias direções é o floema. O transporte do 2,4-D no floema tornou-se ainda mais evidente pelos sintomas menos intensos de epinastia nas plantas mantidas no escuro, uma vez que, nessa condição, a translocação no floema é mais lenta devido à baixa disponibilidade de açúcares (sacarose) oriundos da fotossíntese. O acúmulo de sacarose no floema é responsável pelo aumento na pressão osmótica, que provoca o aumento da pressão de turgescência nos tecidos do floema e, conseqüentemente, possibilita o transporte de assimilados nesse sistema de condução de seiva. As auxinas são translocadas no floema conjuntamente com os assimilados.

A aula prática demonstrou a importância da luz no processo de translocação de assimilados nas plantas, assim como o transporte de uma auxina sintética no floema, o que também se observa para a maioria dos íons e para diferentes fitormônios, aminoácidos, açúcares e enzimas, dentre outras moléculas orgânicas.

Questionário:

1. Por que se observa maior deformação das folhas apicais da planta gotejada com 2,4-D e deixada à luz do que na planta mantida no escuro?

Como o 2,4-D foi aplicado apenas na base das folhas primárias, mas os efeitos de epinastia foram observados à distância (pelo enrolamento das folhas e curvatura do trifólio), é possível concluir que essa molécula, mesmo tendo origem sintética, é translocada na planta. O sistema de transporte nas plantas envolvido na translocação em várias direções é o floema.

O transporte do 2,4-D no floema fica ainda mais evidente pelos sintomas menos intensos de epinastia nas plantas mantidas no escuro, uma vez que a translocação no floema é muito menor nessa condição, devido à baixa disponibilidade de açúcares (sacarose) proveniente da fotossíntese. A sacarose gera a pressão osmótica que resulta na pressão de turgescência do floema e, conseqüentemente, no transporte de assimilados nesse sistema de condução de seiva.

Embora o transporte no floema ocorra nas direções acrópeta e basípeta, a força de dreno das regiões apicais fez com que o fluxo de assimilados fosse direcionado preferencialmente para as regiões em crescimento da parte aérea. Em função disso, os sintomas de epinastia nas plantas mantidas à luz foram observados principalmente nos trifólios mais jovens.

2. No experimento realizado nesta aula, caracterize a “fonte” e o “dreno” de assimilados.

No caso, as fontes são as folhas primárias, em cuja base foram aplicadas gotas de 2,4-D. Evidentemente, os assimilados são produzidos pelas folhas primárias, sendo translocados para as regiões em crescimento. O 2,4-D aplicado é absorvido e translocado conjuntamente com os fotoassimilados. O dreno, no caso, são as regiões meristemáticas apicais (no caso os trifólios jovens) em contínuo crescimento nas plantas de feijão, local onde a epinastia se manifestou.

3. Que evidências sugerem que a translocação do 2,4-D ocorre no floema?

Os efeitos do 2,4-D se expressam inicialmente na parte distal (afastada) do local de aplicação das gotas do regulador. Contudo, com o passar do tempo, os efeitos do 2,4-D também foram observados na proximidade do local de aplicação e abaixo deste, indicando que o fluxo de assimilados ocorre em um sistema de condução que transporta seiva para o ápice (acrópeto), para base (basípeto) e lateralmente. Além disso, os efeitos do 2,4-D à distância são percebidos mais rapidamente nas plantas expostas à luz, indicando interação entre a translocação do 2,4-D e a translocação dos fotoassimilados, que se realiza através do floema. Em contraste, o xilema transporta a sua seiva exclusivamente na direção acrópeta (da base para o ápice).

4. Como os resultados dessa aula suportam a teoria do fluxo em massa por pressão?

O transporte no floema é um processo dependente de energia (gasto de energia em certos pontos do sistema). Os solutos orgânicos são transportados no floema sempre no sentido fonte → dreno. O movimento ocorre em fluxo de massa, requerendo energia metabólica para o carregamento do floema na fonte (e em todo o percurso) e para o seu descarregamento no dreno. Os tecidos do floema, ao contrário dos tecidos do xilema, são vivos, apresentando membranas, organelas e outros componentes citoplasmáticos. Quando uma substância é transportada no floema ela segue o movimento da seiva, que se encontra sob pressão positiva, devido à pressão de turgescência gerada osmoticamente. Como a seiva do floema é constituída de água e de outros assimilados, o conceito de fluxo em massa se aplica, uma vez que esse mecanismo se caracteriza pelo transporte de grupos de moléculas em resposta a gradientes de pressão. Os efeitos do 2,4-D foram observados em locais afastados dos pontos de aplicação, o que suporta a teoria do fluxo em massa, uma vez que essa auxina sintética foi transportada em conjunto com outros solutos presentes na seiva do floema, exibindo sintomas dos seus efeitos em regiões localizadas acima, no local de aplicação, assim como abaixo deste local.

5. Caracterize os termos “fontes” e “drenos” de assimilados.

As fontes correspondem a todos os órgãos que exportam assimilados, sejam eles provenientes diretamente da fotossíntese ou da mobilização de reservas. Os drenos correspondem aos órgãos que importam assimilados e os utilizam para suas atividades metabólicas, de crescimento e respiração, armazenamento, dentre outras.

6. Por que, no presente exercício, foram utilizadas as folhas maduras e não as folhas velhas ou muito novas?

Porque folhas muito jovens se comportam como drenos, uma vez que consomem mais metabólitos por respiração e fotorrespiração do que os produzem pela fotossíntese. Folhas velhas, embora funcionem como fontes de certos nutrientes e moléculas orgânicas, podem exportar menos fotoassimilados que folhas adultas. No presente exercício, foi necessário que as folhas utilizadas se comportassem como fonte de fotoassimilados, nas quais há maior produção do que consumo de assimilados, permitindo a exportação de substâncias para outras regiões da planta.

7. Pelos resultados do experimento, pode-se deduzir que o carregamento do floema apresenta seletividade elevada?

Não, uma vez que o 2,4-D é uma molécula sintética e, mesmo assim, foi absorvida e posteriormente translocada. Isso também acontece, por exemplo, com alguns herbicidas e com outros agroquímicos que podem ser translocados nas plantas matando-as ou protegendo-as, dependendo do componente ativo. Embora sintéticos e xenobióticos (estranhos ao organismo), mesmo assim, algumas substâncias conseguem entrar nos tecidos do floema e se movimentar no corpo da planta. Em geral, tais substâncias apresentam similaridade estrutural com algum composto natural. Embora as células do floema não apresentem seletividade elevada, algumas moléculas como os açúcares redutores não conseguem atravessar as suas membranas e serem absorvidos, o que sugere maior seletividade para determinadas moléculas.

8. O transporte no floema, demonstrado nessa prática, é mais basípeto ou acrópeto?

Neste caso específico, é mais acrópeto, uma vez que os efeitos do 2,4-D se expressaram inicialmente na parte distal ao local de aplicação das gotas desse regulador. Esse movimento acrópeto se explica pela intensa força de dreno das regiões apicais (trifólio). Contudo, com o passar do tempo, os efeitos do 2,4-D também podem ser observados próximos ao local de aplicação e abaixo dele, indicando que o transporte nesse sistema de condução, ocorre nas direções acrópeta, basípeta e lateral.

9. Qual é a mobilidade relativa do 2,4-D nas plantas e de que depende essa mobilidade? Como o 2,4-D se compara ao AIA nessa característica?

O 2,4-D é uma auxina sintética que apresenta mobilidade moderada no floema, uma vez que os efeitos iniciais de epinastia apareceram somente entre o 2º e 5º dias. Por sua vez, o AIA é uma auxina natural, e seu transporte polar, no caule, se dá na direção basípeta, através das células de parênquima dos tecidos de condução. Esse transporte, envolvendo a participação de proteínas de efluxo de AIA⁻ (proteínas PIN) e de H⁺-ATPases, ocorre em menor velocidade do que a velocidade de translocação no floema. Além do transporte polarizado do AIA⁻, essa auxina natural também pode ser transportada de maneira não polar, através dos elementos de tubos crivados do floema.

10. Por que a maioria das plantas que sofre anelamento do tronco principal morrem após algum tempo? Por que plantas que sofrem anelamento de um ramo lateral não morrem?

Embora algumas plantas consigam regenerar a região anelada, a maioria das espécies que sofre anelamento do tronco principal morre, devido à interrupção do fluxo de suprimentos orgânicos (fotoassimilados) oriundos da parte aérea para as raízes. Posteriormente, a parte aérea também acaba morrendo, pois a absorção de água e sais minerais e a síntese de algumas moléculas metabolizadas são interrompidas no sistema radicular. Para que as raízes absorvam água e nutrientes e sintetizem moléculas orgânicas (fitormônios, por exemplo) elas precisam estar vivas.

Esses problemas não se verificam nas plantas que sofrem anelamento de um ramo lateral, uma vez que o ramo continua produzindo assimilados pela fotossíntese e recebendo seiva xilemática a partir das raízes. Em alguns casos, os frutos que se desenvolvem nesses ramos crescem mais, devido à restrição ao efluxo de assimilados a partir desses ramos.

11. No que consistem e qual é a importância do raleio natural de frutos, assim como, do desbaste controlado empregado na agricultura comercial?

Tanto o desbaste natural, observado durante a floração e início do desenvolvimento dos frutos, como o seu raleio, conduzido por agricultores, interferem na partição de assimilados, aumentando a disponibilidade de nutrientes para os frutos remanescentes. Devido ao aumento na força de dreno, o desbaste de frutos resulta na formação de frutos maiores, desde que a taxa assimilatória líquida seja mantida. As equações a seguir ilustram esse fato:

$$\text{Força da fonte} = \text{Tamanho (área foliar; m}^2\text{)} \times \text{Atividade (TAL; } \mu\text{mol CO}_2\text{/m}^2\text{/dia)}$$

TAL = taxa assimilatória líquida

$$\text{Força de dreno} = \text{Tamanho (massa; kg)} \times \text{Atividade (TCR; kg/kg/dia)}$$

TCR = taxa de crescimento relativo

U M Todavia, com o desbaste, a quantidade de frutos produzidos pela planta será menor, devendo o valor final agregado pelo maior desenvolvimento dos frutos remanescentes compensar os gastos resultantes dos aumentos nos custos de produção, associados à realização da prática do desbaste.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- PATE, J.S. **Exchange of solutes between phloem and xylem and circulation in the whole plant**. In: Zimmermann M.H., Milburn J.A. (Eds.) *Transport in plants I. Encyclopedia of plant physiology (New Series)*, vol 1. Berlin, Heidelberg: Springer, 1975. p. 451-473.
- SPANNER, D. C. Transport in the phloem. *Nature*, v. 232, n. 5307, p. 157-160, 1971.

Prática 5.9 - Construção do Modelo de Fluxo por Pressão no Floema (Modelo de Münch)

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O saquinho (membrana semipermeável) contendo sacarose (representando a fonte, na montagem) apresentava inicialmente potencial hídrico menor (mais negativo) do que o da solução na qual ele foi imerso (água pura, colorida com bicromato de potássio). Em função disso, a água (colorida com bicromato) foi transportada, por osmose, para dentro do saquinho, aumentando a pressão de turgescência, possibilitando o transporte da solução (água colorida+sacarose) pelo tubo em forma de “U”, até o outro saquinho (que, na montagem, representa o dreno). Como resultado, ocorreu redução no nível da água+bicromato no recipiente do lado em que o saquinho continha sacarose (fonte) e aumento no nível da água no outro recipiente (dreno).

Durante a execução do experimento, o sistema se manteve sob pressão positiva, pois o modelo de Münch foi montado contra o vetor gravidade (g), com o saquinho “dreno” permanecendo em posição mais elevada do que o saquinho “fonte” (a solução foi empurrada para cima, na direção fonte \rightarrow dreno). Além disso, os saquinhos se mantiveram túrgidos. A ocorrência de vazamentos no saquinho fonte ou no tubo em forma de “U” poderia inviabilizar o processo de transporte, uma vez que a manutenção da pressão positiva é condição fundamental para a ocorrência do transporte.

No modelo artificial de Münch, o transporte é interrompido quando as concentrações de sacarose nos saquinhos (fonte e dreno) se igualam. Isso não ocorre nas plantas, uma vez que há constantemente o carregamento do floema, nas fontes, e o seu descarregamento, nos drenos. Nas plantas, a sacarose é transportada ativamente para dentro das células do floema, o que resulta em diminuição no potencial osmótico dos elementos crivados (na fonte), reduzindo seu potencial hídrico. Em resposta ao gradiente de potencial hídrico, a água armazenada nas células de parênquima, localizadas próximo aos elementos de tubos crivados do floema é absorvida (por osmose), aumentando a pressão de turgescência. Como resultado, a seiva floemática é transportada, por fluxo em massa de água e solutos, em direção aos drenos, através das placas crivadas. Caso algum evento provoque lesões no floema, o “desabamento” das proteínas-P nas placas crivadas veda a região danificada, evitando a perda de pressão no sistema. A manutenção da pressão positiva no sistema é condição fundamental para a ocorrência do transporte da seiva no floema.

A aula prática ilustrou, por meio de um modelo artificial, o processo de transporte da seiva no floema, segundo o que é preconizado pela hipótese de Münch.

Questionário:

1. Como as três partes do modelo hipotético de Münch podem ser correlacionadas com as partes de uma planta viva?

O saquinho de diálise (membrana semipermeável) contendo sacarose concentrada representa as fontes, como, por exemplo, as folhas (ou, mais especificamente, as células do parênquima clorofiliano). O saquinho contendo apenas água pura representa as partes da planta que recebem a solução de sacarose como, por exemplo, os frutos, sementes, tubérculos,

etc. (drenos). Por sua vez, o vidro em forma de “U”, representa o tecido condutor (células dos elementos dos tubos crivados do floema, todavia sem as placas crivadas).

2. Qual é o papel do bicromato de potássio colocado no recipiente contendo sacarose?

O bicromato de potássio tem apenas a função de colorir a água para que se possa visualizar melhor a solução de sacarose chegando ao saquinho dreno, embora esse processo também possa ser registrado pela observação da maior densidade da solução que alcança esse saquinho. O bicromato de potássio não apresenta efeito osmótico, sendo utilizado em concentração muito baixa.

3. Na hipótese do fluxo em massa pelo modelo de Münch, qual é a força motriz para o movimento?

Na hipótese do fluxo em massa de Münch, a força motriz para o transporte dos assimilados é a pressão de turgescência, gerada osmoticamente, pelo fluxo de água através das membranas dos elementos de tubos crivados, o que permite o transporte da seiva floemática na direção fonte → dreno de assimilados, através das placas crivadas. O processo ocorre em fluxo de massa, que corresponde ao movimento de grupos de moléculas em resposta a gradientes de pressão. O carregamento do floema com sacarose (na fonte) aumenta a pressão osmótica das células dos elementos de tubos crivados gerando uma pressão de turgescência que permite o fluxo em massa de substâncias em direção aos drenos, local onde acontece o descarregamento do floema.

4. Quais são as evidências, no modelo artificial de Münch, de que a translocação de solutos orgânicos se dá sob pressão e não sob tensão?

Durante a execução do experimento, o sistema se manteve sob pressão positiva, pois o modelo de Münch foi montado contra o vetor gravidade (g), com o saquinho “dreno” permanecendo em posição mais elevada do que o saquinho “fonte” (a solução foi empurrada para cima, na direção fonte → dreno). Além disso, os saquinhos se mantiveram túrgidos. A ocorrência de vazamentos no saquinho fonte ou no tubo em forma de “U” poderia inviabilizar o processo de transporte, uma vez que a manutenção da pressão positiva é condição fundamental para a ocorrência do transporte.

5. No modelo artificial de Münch, o transporte da solução de sacarose paralisa-se após algum tempo. Como se explica que, numa planta viva, o fluxo se mantenha sustentado, sempre no sentido fonte → dreno de assimilados?

No modelo hipotético, quando a concentração de sacarose nos dois saquinhos se iguala o transporte é interrompido. Entretanto, nas plantas, a sacarose é carregada “ativamente” na fonte, ocorrendo o movimento osmótico de água para os tubos crivados, o que permite o transporte da solução em direção aos drenos. Nos drenos, a sacarose é descarregada ou removida ativamente dos elementos de tubos crivados. A saída da sacarose dos elementos de tubos crivados provoca o aumento no potencial hídrico e o conseqüente movimento de água para fora do floema, reduzindo a pressão de turgor na região dos drenos. A água retorna para as células de parênquima e recircula na planta pelo xilema. A sacarose pode ser utilizada para o crescimento, respiração e para outras atividades metabólicas ou fisiológicas, além de ser armazenada nos drenos. É devido aos mecanismos de carregamento e descarregamento

contínuos que, em uma planta viva, o fluxo no floema se mantém sustentado, uma vez que a diferença de pressão entre a fonte e o dreno é mantida, sendo sempre maior nas fontes.

Caso fosse possível adicionar mais sacarose ao saquinho fonte e retirá-la do saquinho dreno, o processo de transporte no sistema hipotético de Münch se manteria continuamente, tornando-se bastante próximo do que aparentemente ocorre nas plantas.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

KNOBLAUCH, M.; PETERS, W. S. Münch, morphology, microfluidics - our structural problem with the phloem. **Plant, Cell and Environment**, Oxford, v. 33, n. 9, p. 1439-1452, 2010.

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

SPANNER, D. C. Transport in the phloem. **Nature**, v. 232, n. 5307, p. 157-160, 1971.

ZIMMERMANN, M. H. How sap moves in trees. **Scientific American**, v. 208, n. 3, p. 132-143, 1963.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.10 - Exsudação da Seiva do Floema

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A intensa liberação de exsudatos coagulados, de coloração esbranquiçada, observada após a imersão dos cortes dos pecíolos das folhas de abobreira no álcool, ocorreu em consequência da elevada pressão de turgescência da seiva do floema e da reduzida solubilidade dos componentes da seiva em etanol. Devido à grande quantidade de açúcares solúveis (principalmente sacarose) presentes na seiva floemática, o sistema se mantém sempre com pressão positiva (gerada osmoticamente). Quando os tecidos do floema sofrem algum tipo de dano, a perda de seiva ocorre através das superfícies lesionadas. Todavia, as proteínas-P e outras inclusões celulares “desabam” e ficam presas junto aos poros das placas crivadas, promovendo a vedação do elemento de tubo crivado, evitando a perda de pressão. Em função disso, o volume de exsudatos se reduz gradativamente.

No caso das folhas murchas, a diferença de pressão entre a fonte e o dreno é menor e, conseqüentemente, a pressão de turgescência gerada também, justificando a menor intensidade de exsudação nesse material.

Questionário:

1. De que regiões do pecíolo saem os exsudatos?

Os exsudatos saem das células dos elementos de tubos crivados do floema funcional, localizadas na região cortada do pecíolo das folhas de abobreira. Essa seiva não pode ser proveniente do xilema, uma vez que, a direção de transporte da seiva xilemática é sempre ascendente (acrópeta).

2. Por que a exsudação paralisa após alguns minutos?

A diferença de pressão entre a fonte e o dreno é requisito fundamental para a hipótese de Münch (fluxo por pressão) de transporte no floema. A manutenção da pressão positiva no floema (pressão de turgescência) possibilita o transporte dos assimilados das fontes em direção aos drenos. Injúrias mecânicas podem resultar em perda de pressão nos elementos do floema e, portanto, as placas crivadas localizadas próximas ao local lesionado devem ser rapidamente vedadas. Quando se secciona um caule de uma planta, ocorre a imediata exsudação da seiva floemática. No entanto, o fluxo não demora muito a cessar, devido à deposição das proteínas-P (proteínas de precipitação), que obstruem as placas crivadas, suprimindo a perda de pressão. Ao contrário do xilema, todas as células do floema são vivas e as proteínas-P são pré-existentes nesse sistema de condução das plantas.

3. Qual é o estado normal da seiva do floema, sob pressão positiva ou sob tensão? Justifique sua resposta.

A seiva do floema encontra-se sempre sob pressão positiva. Essa condição é devida ao gradiente de potencial hídrico existente entre as células dos elementos de tubos crivados (ETC) e as células de parênquima adjacentes, localizadas no mesofilo. O gradiente é gerado pelo carregamento dos ETC com sacarose (substância osmoticamente ativa) proveniente das

células do floema, localizadas nas nervuras mais finas da lâmina foliar. A água, abastecida pela corrente transpiratória, entra osmoticamente nas células dos ETC devido à diferença de potencial hídrico entre os ETC e as células do mesofilo. Assim, a seiva é transportada em direção aos drenos, seguindo um gradiente de pressão positiva, gerado osmoticamente.

4. Nas folhas murchas ainda se observa exsudação da seiva do floema. Todavia, por que a intensidade da exsudação é menor do que na folha túrgida?

Nas folhas murchas, a diferença de potencial hídrico entre as células adjacentes e os elementos de tubos crivados do floema é menor. Consequentemente, a pressão gerada se reduz, justificando a menor intensidade da exsudação.

5. Qual é a composição da seiva do floema?

A seiva do floema tem como principal componente a água. O principal soluto transportado no floema é a sacarose, um açúcar não redutor e, portanto, menos reativo. Outros açúcares não redutores como rafinose (sacarose + galactose), estaquiase (sacarose+2-galactoses) e verbascose (sacarose+3-galactoses) também são transportados em menor quantidade, bem como álcoois-açúcares, como o manitol e o sorbitol. O floema também transporta nitrogênio, na forma de aminoácidos, proteínas essenciais para o funcionamento celular (cinases, por exemplo), vírus e nutrientes minerais, tais como o Mg^{2+} , PO_4^{3-} , Cl^- e K^+ . O K^+ , juntamente com a sacarose, são os principais componentes osmóticos da seiva do floema. O floema também transporta hormônios vegetais como as auxinas, giberelinas, citocininas e ácido abscísico, além de outras moléculas sinalizadoras, como o mRNA. Açúcares redutores, como a glicose e a frutose, se transformam rapidamente em sacarose ao entrar no floema, sendo encontrados em concentrações muito baixas nesse sistema de condução.

6. Por que se utiliza etanol e não água destilada para visualizar a saída do exsudado?

A utilização, no experimento, do etanol em lugar da água, se justifica pela baixa solubilidade da sacarose nesse solvente (0,9 g de sacarose/100 g de etanol), o que facilita a visualização do processo. Além disso, outros componentes da seiva floemática se coagulam quando a seiva entra em contato com o álcool, resultando na formação de um material coagulado esbranquiçado. Em contraste, a sacarose é muito mais solúvel em água (179 g de sacarose/100 g de água), o que dificultaria a observação do fenômeno.

7. De que modo os pulgões se alimentam das plantas e que relação tem isso com o estado da seiva do floema?

Os pulgões (afídeos) introduzem seu aparelho bucal (estilete) diretamente nos elementos dos tubos crivados do floema. Quando esses insetos são anestesiados, eles mantêm seus aparelhos bucais inseridos nos tubos crivados. Através da técnica do rostro seccionado, os estiletos (aparelhos bucais) dos pulgões são cortados e, nessa condição, a seiva continua exsudando através dos estiletos seccionados, uma vez que o floema encontra-se sob pressão positiva. Portanto, não é preciso que eles suguem, pois a seiva floemática, em função da pressão positiva do sistema, é bombeada espontaneamente para dentro de seus sistemas digestórios.

8. Os vasos laticíferos da seringueira estão sob pressão positiva ou sob pressão negativa (tensão)? Justifique.

Os vasos laticíferos da seringueira são elementos de tubos crivados modificados. Eles se encontram sob pressão positiva, uma vez que, quando cortados, exsudam o látex por algum tempo, paralisando em seguida. Em seringueira, a exudação do látex, pode atingir pressões de até 1,5 MPa, sendo os valores extremamente afetados pelo estado hídrico do ar e do solo. Pressões mais elevadas estão relacionadas ao melhor estado hídrico das plantas. Em seringueira, a maior produção de látex acontece antes do nascer do sol, apresentando um máximo de produção pela manhã, decrescendo acentuadamente durante o dia, o que mostra a importância da hidratação das plantas para a manutenção da produção de látex.

9. Como você poderia correlacionar a saída do exsudado nas folhas de aboboreira com o modelo da teoria do fluxo em massa, por pressão, de Münch?

Pelo modelo de Münch, a entrada de água no osmômetro fonte, contendo a sacarose, gera uma pressão de turgescência que força a subida (fluxo) de solução composta por água+sacarose pelo tubo em “U” em direção ao osmômetro no qual somente existia água (dreno). Nas plantas acontece praticamente o mesmo, com a diferença de que o carregamento e o descarregamento na fonte e no dreno são processos ativos e contínuos. O carregamento do floema ocorre nas folhas e em outras estruturas fotossintetizantes ou armazenadoras de assimilados, envolvendo a passagem dessas substâncias, oriundas dos plastídios, em direção aos tubos crivados. O acúmulo de assimilados nos tubos crivados, principalmente de sacarose, reduz seu potencial hídrico, deslocando água das células de parênquima adjacentes. Posteriormente, devido ao aumento na pressão de turgescência dos tubos crivados, os assimilados são transportados (por fluxo em massa) no sentido fonte → dreno. Os frutos, os tubérculos em formação, bem como outras regiões que necessitem do suprimento de assimilados para se desenvolver ou respirar, são drenos de assimilados.

10. Alguma outra estrutura ou órgão vegetal poderia ser utilizado para comprovar a existência da exsudação de seiva no floema?

Sim. Além das folhas de aboboreira, também é possível a utilização de pecíolos de flores e frutos, que também se encontram sempre sob pressão positiva. Também é possível comparar a intensidade de seiva exsudada efetuando-se cortes no pecíolo próximos ao limbo foliar ou mais afastado dessa região da folha.

11. Nas plantas, quando a regeneração dos tecidos do floema torna-se impossível, como ocorre a vedação definitiva das placas crivadas?

Quando a regeneração dos tecidos do floema torna-se impossível, a vedação definitiva das placas crivadas localizadas próximas ao local lesionado se processa pela deposição de calose, um polissacarídeo sintetizado pela *calose sintase*, enzima ativa nas membranas das células dos elementos de tubos crivados.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
SPANNER, D. C. Transport in the phloem. **Nature**, v. 232, n. 5307, p. 157-160, 1971.

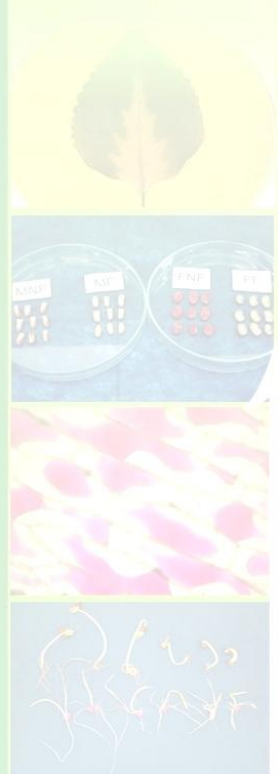
ZIMMERMANN, M. H. How sap moves in trees. **Scientific American**, v. 208, n. 3, p. 132-143, 1963.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.11 - Ascensão de Corantes em Matriz de Papel

Aula prática fundamentada em Ferri et al. (1987) Botânica: fisiologia, curso experimental. 2.ed. 1. reimp., Livraria Nobel-São Paulo, SP. 116 p.

Fundamentação teórica:

As taxas de ascensão no papel relacionam-se com as diferentes afinidades dos corantes pelas fases móvel e estacionária do sistema. As diferentes taxas de ascensão são devidas às diferenças de polaridade entre os corantes e, conseqüentemente, às diferentes interações dos mesmos com a fase estacionária. O papel é uma matriz formada por microfibrilas de celulose que apresenta cargas elétricas predominantemente negativas. A essas cargas se ligam moléculas de água, que funcionam como fase estacionária devido a sua forte adesão às microfibrilas de celulose. Como a água funciona como um dipolo, substâncias polares se ligam a esta molécula e ficam mais retidas, apresentando menor velocidade de ascensão no papel cromatográfico. Em contraste, pigmentos com menor polaridade são menos atraídos pelas cargas das microfibrilas de celulose e sobem mais rapidamente no papel.

A ordem de subida dos corantes no papel foi eosina, fucsina ácida e verde de metila, e azul de metileno. A eosina é um pigmento carregado negativamente e, em função disso, não interage com as cargas negativas predominantes nas microfibrilas de celulose, se distanciando muito da origem do cromatograma. Em contraste, o azul de metileno é um corante catiônico de elevada polaridade e, por isso, é bastante retido pela água, sofrendo elevada adsorção às microfibrilas de celulose. A fucsina ácida (aniônico) e verde de metila (catiônico), embora pertençam a classes iônicas distintas, apresentam polaridades próximas e, por isso, apresentaram velocidades de ascensão similares.

A aula prática mostrou que a ascensão de pigmentos em uma matriz de celulose depende de suas polaridades, resultado que pode ser extrapolado para se explicar o movimento de íons ao longo do xilema, assim como, a capacidade de troca de cátions (CTC) e a lixiviação de nutrientes no solo, processos dependentes da presença ou não de cargas e do tipo de íon envolvido (cátion ou ânion).

Questionário:

1. Explique as diferenças observadas nas velocidades de ascensão dos corantes no papel.

Os corantes possuem estruturas moleculares com cargas positivas ou negativas, além de alguns serem eletricamente neutros. Essas diferenças influenciam as taxas de ascensão dos corantes no papel cromatográfico, pois a carga elétrica da matriz de celulose pode causar repulsão ou adsorção dos pigmentos, que se ligam à água adsorvida à matriz (fase estacionária). Quanto menos polar é o corante, menor será a sua interação com a fase estacionária e, portanto, maior a sua velocidade de ascensão.

2. Que outros fatores podem influenciar a velocidade de ascensão dos corantes?

O tipo de papel utilizado, o grau de umidade no papel, a fase móvel e a temperatura são alguns fatores que podem influenciar a taxa de difusão. O papel utilizado influencia a taxa de difusão em função do tipo e gramatura da malha das fibras de celulose (matriz). A umidade do papel também influencia, uma vez que a água (polar) atua como fase estacionária, interagindo com o material a ser separado e com a fase móvel. O grau de polaridade/apolaridade da fase móvel, que faz parte do sistema de partição com a fase

estacionária, interfere na separação da amostra. A temperatura, por sua vez, afeta a energia cinética das moléculas, apresentando efeitos diretos sobre a mobilidade (capilaridade).

3. Por que a separação de uma mistura pode ser incompleta?

A separação de uma mistura pode ser incompleta quando os componentes apresentam propriedades químicas e elétricas muito próximas. Além disso, a separação de uma mistura pode ser incompleta (superposição de bandas) quando ocorre a movimentação do soluto de regiões de maior concentração para regiões de menor concentração ou quando há difusão lateral, fazendo com que o soluto e a fase móvel percorram diferentes distâncias (percursos laterais em determinadas regiões do papel). A separação também pode ser incompleta quando o fluxo ascendente é muito rápido, não proporcionando tempo suficiente de contato entre o soluto e as fases móvel e estacionária.

4. Por que a cromatografia em papel é considerada uma técnica de partição líquido-líquido?

Embora envolva fenômenos de interação iônica, a cromatografia em papel também é considerada uma técnica de partição líquido-líquido, pois o papel cromatográfico consiste de celulose praticamente pura, podendo adsorver até 22% de água. A água adsorvida ao papel funciona como fase estacionária líquida, interagindo com a fase móvel, também líquida. Os componentes da amostra são separados entre a fase estacionária e a fase móvel em movimento no papel. Os componentes que têm capacidade de formar ligações (ou “pontes”) de hidrogênio com a fase estacionária migram mais lentamente.

5. Como se dá a ascensão da fase móvel e por que é possível a separação de misturas de pigmentos em amostras?

Graças ao fenômeno físico-químico da capilaridade, o solvente (fase móvel) sobe pela superfície do papel, num processo denominado eluição. Na medida em que o solvente passa pela mistura, os componentes químicos são arrastados, de forma que a substância que possuir maior afinidade com o solvente (fase móvel) será deslocada a uma velocidade maior. O fluxo ascendente é, inicialmente, rápido, mas diminui gradativamente até parar quando a força ascendente da capilaridade é neutralizada pela força da gravidade.

Bibliografia:

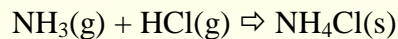
- AQUINO-NETO, F.R.; NUNES, D.S.S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. Rio de Janeiro: Interciência, 2003. 187 p.
- BRAGARD, J.; LEBON, G. Capillary ascension in porous media: a scaling law. **Transport in Porous Media**, v. 16, n. 3, p. 253-261, 1994.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

Prática 5.12 - Difusão dos Gases

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A formação do anel branco no interior do tubo é resultante da reação entre a amônia (NH_3) e o ácido clorídrico (HCl), formando NH_4Cl (cloreto de amônio; anel branco). Como os dois reagentes utilizados são voláteis, esses gases se difundem e rapidamente ocupam todo o espaço dentro do tubo. Ao se encontrarem, ocorre a reação química a seguir:



A velocidade de difusão de um gás depende da sua massa molar. A massa molar do HCl (36,5) é aproximadamente o dobro da massa molar da NH_3 (17,0). Em função disso, as moléculas de amônia (NH_3) percorreram um espaço maior no mesmo intervalo de tempo, encontrando as moléculas do ácido clorídrico (HCl) num ponto mais próximo ao lado onde esse ácido foi gotejado. Como os dois gases encontram-se à mesma temperatura, eles possuem a mesma energia cinética e as diferenças na velocidade de difusão são resultantes apenas das diferentes massas molares de cada um deles.

A difusão é o processo pelo qual uma substância se move de uma área de maior concentração para outra onde ela se encontra em concentração mais baixa. Em função disso, novas adições de NH_4OH ou de HCl a um dos dois lados, provoca a movimentação do anel de sua posição inicial.

Os resultados da aula ilustram o fenômeno da difusão, simulando os eventos envolvidos nas trocas gasosas das plantas, especialmente em relação à perda de vapor de água (transpiração) e à absorção de dióxido de carbono (CO_2) através dos estômatos.

Questionário:

1. Por que o anel branco de cloreto de amônio não se formou no meio do tubo?

O anel branco se formou mais próximo ao lado onde foi gotejado o HCl . Isso ocorreu porque a massa molar do HCl é maior (aproximadamente o dobro) da massa molar do gás NH_3 . Portanto, a velocidade de difusão do HCl é menor.

2. O que aconteceu quando foram adicionadas ao tubo em forma de “U” o NH_4OH ou o HCl , após a formação inicial do anel branco de $\text{NH}_4\text{Cl}(\text{s})$? Explique.

A adição dessas substâncias promoveu o deslocamento do anel para um dos lados. Esse fato é explicado pela difusão, que se caracteriza pelo movimento de moléculas em resposta a gradientes de concentração, ou seja, o gás se move de uma área mais concentrada para uma área de menor concentração, empurrando o anel para um lado ou outro dependendo da substância adicionada.

3. Calcule a taxa de difusão relativa dos dois gases (NH₃ e HCl) no sistema.

Dados: massas moleculares: 1 - m_1 : HCl = 36,5 g/mol; 2 - m_2 : NH₃ = 17,03 g/mol.

$$\frac{d_1}{d_2} = \frac{\sqrt{m_2}}{\sqrt{m_1}} \Rightarrow \frac{d_{HCl}}{d_{NH_3}} = \frac{\sqrt{17,03}}{\sqrt{36,5}} \Rightarrow \frac{d_{HCl}}{d_{NH_3}} = \frac{4,13}{6,04} \Rightarrow \frac{d_{HCl}}{d_{NH_3}} = 0,68 \Rightarrow d_{HCl} = 0,68 d_{NH_3}$$

O HCl apresenta taxa de difusão 68% mais lenta do que o NH₃.

4. Considerando que os estômatos controlam a entrada de dióxido de carbono e também a perda de água, que molécula se difunde mais facilmente através desses poros, o CO₂ ou a H₂O? Qual é a influência das diferenças na velocidade de difusão dessas moléculas sobre a eficiência do uso da água (EUA) pelas plantas?

Dados: massas moleculares: 1 - m_1 : CO₂ = 44 g/mol; 2 - m_2 : H₂O: 18 g/mol:

$$\frac{d_1}{d_2} = \frac{\sqrt{m_2}}{\sqrt{m_1}} \Rightarrow \frac{d_{CO_2}}{d_{H_2O}} = \frac{\sqrt{18}}{\sqrt{44}} \Rightarrow \frac{d_{CO_2}}{d_{H_2O}} = \frac{4,24}{6,63} \Rightarrow \frac{d_{CO_2}}{d_{H_2O}} = 0,64 \Rightarrow d_{CO_2} = 0,64 d_{H_2O}$$

Os cálculos mostram que o CO₂ apresenta taxa de difusão 64% mais lenta do que a H₂O. Como a eficiência do uso da água (EUA) é uma estimativa da relação entre a quantidade de CO₂ incorporado e a quantidade de água perdida, observa-se que sempre é mais fácil a planta perder H₂O do que absorver CO₂. Portanto, plantas com adaptações que lhes permitem apresentar valores elevados de EUA são mais indicadas para cultivos em regiões sujeitas à seca. Para melhor ilustrar essas diferenças, a entrada dos gases na fórmula pode ser invertida:

Dados: massas moleculares: 1 - m_1 : H₂O: 18 g/mol; 2 - m_2 : CO₂ = 44 g/mol

$$\frac{d_1}{d_2} = \frac{\sqrt{m_2}}{\sqrt{m_1}} \Rightarrow \frac{d_{H_2O}}{d_{CO_2}} = \frac{\sqrt{44}}{\sqrt{18}} \Rightarrow \frac{d_{H_2O}}{d_{CO_2}} = \frac{6,63}{4,24} \Rightarrow \frac{d_{H_2O}}{d_{CO_2}} = 1,56 \Rightarrow d_{H_2O} = 1,56 d_{CO_2}$$

Agora se percebe que a taxa de difusão da H₂O é 156% mais rápida do que a do CO₂, fato que reforça ser muito mais fácil a perda de H₂O pelos estômatos das folhas do que a entrada do CO₂.

Bibliografia:

- DEVLIN, R. M. **Plant Physiology**. 2nd. Ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1969. 446 p.
- FARQUHAR, G. D.; RICHARDS, R. A. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. **Australian Journal of Plant Physiology**, v. 11, n. 6, p. 539-552, 1984.
- MASON, E. A.; KRONSTADT, B. Graham's laws of diffusion and effusion. **Journal of Chemical Education**, v. 44, n. 12, p. 740, 1967.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Prática 5.13 - Observação Indireta da Transpiração Empregando Papel Embebido em Cloreto de Cobalto

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A transpiração é o fenômeno por meio do qual as plantas perdem água na forma de vapor. Ela ocorre, sobretudo, nas folhas, através dos estômatos e, em menor intensidade, pela cutícula. O cloreto de cobalto é um sal com a fórmula química CoCl_2 , que, quando seco, tem coloração azul. Em contraste, ao se hidratar ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), o cloreto de cobalto adquire a coloração rósea. Por causa dessa mudança na cor e pela facilidade da reação de hidratação/desidratação, o cloreto de cobalto é usado como um indicador da presença de água e da umidade em materiais diversos, como, por exemplo, na coloração da sílica gel azul. Em função disso, papéis impregnados de CoCl_2 podem ser utilizados para demonstrar a taxa de transpiração em folhas, analisando a velocidade com que eles mudam de cor ao se hidratar ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).

Os ensaios conduzidos na aula permitiram relacionar a velocidade de mudança de cor do papel de cobalto em cada uma das superfícies foliares com a densidade estomática. Para interpretação dos resultados, é necessário lembrar que, em geral, espécies mesófitas (de ambientes úmidos) apresentam estômatos nas duas epidermes (anfistomáticas) e, portanto, o papel de cobalto se revela, mudando da cor azul para a rósea, nos dois lados da folha analisada. Espécies xerófitas, na maior parte das vezes, apresentam estômatos apenas na epiderme inferior (abaxial), sendo classificadas como hipoestomáticas. Nessas folhas, o papel de cobalto é revelado apenas no lado de baixo. Geralmente, folhas de espécies aquáticas flutuantes possuem estômatos apenas na face superior (adaxial), sendo suas folhas classificadas como epistomáticas. Além desses tipos, existem plantas com distribuições estomáticas intermediárias, apresentando folhas com estômatos nas duas epidermes, porém com uma densidade estomática maior em uma delas. Assim, a revelação do papel de cobalto ocorre mais rapidamente na epiderme com maior número de estômatos por superfície foliar. Adicionalmente, observou-se na aula que as folhas recém-colhidas transpiram mais do que as folhas desidratadas e, por isso, a velocidade na mudança de coloração do papel de cobalto é maior nessas amostras. Folhas mantidas no escuro também transpiraram menos, uma vez que os estômatos diminuem a abertura nessa condição.

Em ensaios adicionais, podem-se comparar a transpiração de folhas destacadas com folhas intactas da mesma espécie e em diferentes horários do dia e/ou, ainda, folhas de plantas com diferentes níveis de rega ou mantidas no escuro.

A aula prática demonstrou a ocorrência do fenômeno da transpiração em diferentes tipos de folhas, assim como a distribuição dos estômatos nas faces abaxial, adaxial ou em ambas às faces das folhas.

Questionário:

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

1. Qual é a importância da transpiração para as plantas?

A transpiração é um componente importante na redução da temperatura foliar e da regulação térmica das plantas. Para a água a 25°C , o calor latente de vaporização é de 44 kJ mol^{-1} (586 cal), o valor mais alto para líquidos. Em função disso, a transpiração contribui efetivamente para o resfriamento das folhas. O balanço líquido de radiação solar estima que

aproximadamente $0,46 \text{ cal cm}^{-2} \text{ min}^{-1}$ são interceptados pelas folhas. Nessa condição, uma folha mantida sob a luz do sol alcançaria a temperatura de 100°C (“ferveria”) em apenas 1 minuto de exposição, caso ela não apresentasse a transpiração e outros mecanismos para a dissipação do calor.

Além disso, a transpiração é a responsável pelo desenvolvimento de tensão nos vasos do xilema, contribuindo para a ascensão de seiva xilemática e, conseqüentemente, para o transporte de elementos minerais, principalmente daqueles que não se retranslocam no floema (Ca e B, principalmente).

2. Por que o papel de cobalto muda de cor em contato com as folhas?

O cloreto de cobalto é um sal com formulação química CoCl_2 . Esse composto tem coloração azul. Em contraste, ao se hidratar ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), o cloreto de cobalto adquire a coloração rósea. Devido a essa marcante mudança de cor e pela facilidade da reação de hidratação/desidratação, o cloreto de cobalto é usado como um indicador ambiental para a presença de água e umidade em materiais diversos. Em função disso, papéis impregnados de CoCl_2 podem ser utilizados para estimar a taxa relativa de transpiração em folhas, devido a mudança de coloração.

3. Por que há diferenças na velocidade da mudança de cor do papel de cobalto em diferentes tipos de folhas?

A transpiração ocorre de forma distinta em cada planta. As plantas diferiram na velocidade de mudança de cor do papel de cobalto em função da presença de estômatos na face adaxial (epiestomática), na abaxial (hipoestomática) e/ou em ambas (anfiestomática). Folhas mantidas no escuro também transpiraram menos, uma vez que os estômatos reduzem a sua abertura nessa condição. De modo semelhante, folhas de plantas submetidas a déficit hídrico podem apresentar estômatos com menor abertura, exibindo menor transpiração.

4. Quando as folhas são prensadas entre duas lâminas embebidas em cloreto de cobalto, sempre ocorrerá mudança de cor nos dois lados?

Dependo da planta que for colocada em contato com o papel de cobalto apenas um dos lados pode mudar de cor. Isso ocorre devido à distribuição dos estômatos nas folhas das diferentes espécies. Algumas espécies apresentam estômatos em ambos os lados (anfiestomáticas), enquanto outras apresentam apenas na epiderme inferior (abaxial) ou superior (adaxial).

Todavia, deve-se considerar que sempre haverá alguma perda de água nas duas faces das folhas, devido à transpiração cuticular. Contudo, como a intensidade desse processo é baixa, a sensibilidade da técnica pode não permitir a detecção da transpiração cuticular.

5. Apresente exemplos de espécies vegetais com folhas anfi; hipo e epiestomáticas:

Anfiestomáticas: milho, feijão, trigo, soja, cana-de-açúcar, etc.

Hipoestomáticas: café, cupuaçu, espécies de restinga (*Rapanea guianensis*, *Couepia impressa*, *Psidium guineense*), espécies de citros (laranja, limão, tangerinas, etc.), espécies de bromélias do gênero *Aechmea* (*Aechmea bromeliifolia* (Rudge) Baker, *A. distichantha* Lem., *A. ornata* Baker, *A. nudicaulis* (L.) Griseb., *A. pectinata* Baker, *A. coelestis* (K. Koch) E. Morren, *A. cylindrata* Lindm. e *A. gracilis* Lindm.), falso Pau-Brasil (*Caesalpinia spinosa* (Molina) O. Kuntze), etc.

Epiestomáticas: representadas principalmente em plantas aquáticas flutuantes, com destaque para diversas espécies da família Nymphaeaceae (*Victoria amazonica* (Poepp.) J.C. Sowerby, *Nymphaea* Mart et Zucc, *Huperzia fontinaloides* (Spring) Trevis., etc.).

Bibliografia:

BAILEY, L. F.; ROTHACHER, J. S.; CUMMINGS, W. H. A critical study of the cobalt chloride method of measuring transpiration. **Plant Physiology**, v. 27, n. 3, p. 563-574, 1952.

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 5.14 - Absorção de Vapor de Água pelas Plantas

Fundamentação teórica:

Como não possuem cutícula e absorvem água por todo corpo vegetativo, as plantas poiquilohídricas apresentam taxa de hidratação diretamente dependente das variações de umidade atmosférica. Organismos poiquilohídricos são também denominados revivescerentes (ou de ressurreição), podendo sofrer desidratação extrema sem morrer e, após reidratação, retomarem as funções metabólicas normais. Esses organismos incluem, principalmente, as briófitas (hepáticas, antóceros e musgos), plantas que conseguem absorver água da atmosfera, uma vez que retêm externamente grandes quantidades de água por capilaridade. Quando a atmosfera encontra-se seca, elas perdem água. Entretanto, quando a umidade externa aumenta, devido à capilaridade e à ausência de cutícula, ocorre a reidratação, fazendo com que o tecido entre em equilíbrio com o meio.

Devido a essas características é que se constatou na aula prática o aumento de peso das plantas após a reidratação em câmara úmida.

Questionário:

1. Como as plantas insetívoras e espécies halófitas, marinhas e de mangues conseguem absorver água em seus ambientes?

Glândulas de sal são tricomas presentes nas folhas das plantas que ocupam ambientes salinos. Essas estruturas contribuem para a redução dos níveis de íons minerais tóxicos nos tecidos de plantas halófitas (que se desenvolvem em manguezais), excretando o excesso de sal na forma de soluções salinas. Por mais concentrada que seja a água do mar, as espécies marinhas se mantêm túrgidas. Isso somente é possível devido à manutenção de um potencial hídrico ainda menor em seus tecidos, o que ocorre devido à absorção ativa de íons, contra os seus gradientes de concentração.

2. Por que nessa aula prática foi necessária a criação de uma câmara úmida?

As briófitas (hepáticas, antóceros e musgos) acumulam água no apoplasto, no simplasto e, principalmente, na superfície externa (por capilaridade). Essa água capilar contribui intensamente para a tolerância à dessecação apresentada pelas briófitas. Quando a atmosfera encontra-se seca, elas perdem água. Entretanto, quando a umidade externa aumenta, a água é reabsorvida. Em função disso, foi necessária a manutenção das plantas em uma câmara úmida, onde a umidade relativa do ar encontrava-se próxima a 100%. Como existia elevada disponibilidade de água na atmosfera, os tecidos absorveram água até alcançarem o equilíbrio.

3. Algumas plantas são tão tolerantes à seca que são denominadas “plantas de ressurreição”. Apresente um exemplo e descreva algumas características dessa espécie.

Selaginella lepidophylla é uma planta conhecida popularmente como “Rosa de Jericó”. Essa espécie é famosa por sua capacidade de sobreviver à dessecação quase completa durante o período seco em seu habitat natural. Quando desidratada, ela perde clorofila e se enrola em forma de uma bola. Quando é novamente exposta à umidade, a planta se desenrola rapidamente, recuperando os pigmentos (clorofilas e carotenoides) e a capacidade

fotossintética em até 12 horas. Diversas pteridófitas e musgos também apresentam tolerância à extrema dessecação (xerofilia).

Bibliografia:

- BENNETT, A. W. Absorption of water by the leaves of plants. **The American Naturalist**, v. 13, n. 1, p. 20-24, 1879.
- GAUSLAA, Y. Rain, dew, and humid air as drivers of morphology, function and spatial distribution in epiphytic lichens. **The Lichenologist**, v. 46, n. 1, p.1-16, 2014.
- LIMM E. B.; SIMONIN, K. A.; BOTHMAN, A. G.; DAWSON, T. E. Foliar water uptake: a common water acquisition strategy for plants of the redwood forest. **Oecologia**, v. 161, n. 3, p. 449-459, 2009.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 6.1 - Determinação da Capacidade de Campo em Diferentes Tipos de Solos

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) **Fisiologia vegetal**: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A capacidade de campo (também denominada limite superior da água disponível) corresponde à quantidade máxima de água que o solo pode reter, após drenagem gravitacional (livre), sem novo suprimento de água na superfície do terreno. A capacidade de campo pode ser expressa na base de peso ou de volume. Os coloides do solo são considerados matrizes, pois apresentam extensa superfície de contato em seu interior pronta para interagir com os nutrientes minerais, com a água e com os microrganismos. Quando a matriz do solo retém toda a quantidade possível de água em seus capilares, a capacidade de campo do solo foi atingida. Solos arenosos possuem capilares maiores, de onde as plantas podem retirar facilmente a água, mas apresentam menor capacidade de retenção de água que os solos argilosos, que possuem capilares menores. Devido à extensa área de suas superfícies, da distribuição e do tamanho dos poros, a matéria orgânica tem grande capacidade de retenção de água. Em função da presença de cargas negativas na superfície da sua estrutura, a matéria orgânica é altamente higrófila, podendo reter um volume de água cerca de 4 a 6 vezes do seu peso.

Os resultados da aula prática mostraram que a capacidade de campo difere entre os diversos tipos de solos. Os valores mais expressivos (superiores a 20%) foram encontrados nos solos com proporções mais elevadas de matéria orgânica. A granulometria do solo também influencia nos resultados, uma vez que os solos arenosos apresentaram menor capacidade de retenção de água do que os argilosos. Por isso, o latossolo, um tipo de solo tipicamente argiloso, mostrou capacidade de campo elevada (23,9%), enquanto os solos arenosos apresentaram baixa capacidade de campo. Os resultados observados para a mistura latossolo+areia também confirmaram essas tendências. O substrato “terra vegetal”, constituído, por definição, de terra adicionada de restos decompostos de plantas (restos vegetais, xaxim desfibrado, etc.), livre de pedras e outros resíduos, vendido em agropecuárias, apresentou, surpreendentemente, reduzida capacidade de retenção de água, o que, possivelmente, pode ser resultado de uma baixa qualidade dos materiais utilizados na sua preparação.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Questionário:

1. Obtenha diferentes tipos de solo, pesando-os após secagem em estufa. Em seguida umedeça os solos e pese-os novamente. Deixe-os, então, secar mais uma vez em estufa. Complete a tabela abaixo para a determinação da capacidade de retenção de água nos diferentes tipos de solos:

Tipos de solo	Seco		2 horas		24 horas		72 horas	
	Peso	% de água	Peso	% de água	Peso	% de água	Peso	% de água
<i>Terra de mata</i>	100 g	0						
<i>Latossolo</i>	100 g	0						
<i>Terra + esterco</i>	100 g	0						
<i>Areia</i>	100 g	0						
<i>Terra Vegetal</i>	100 g	0						
<i>Latossolo + areia</i>	100 g	0						
<i>Substrato de enraizamento</i>	100 g	0						

2. O que representa a capacidade de campo do solo?

A capacidade de campo de um solo é alcançada quando, após a sua saturação, toda água livre se escoar, permanecendo retida apenas a água capilar e a água higroscópica. Quando isso ocorre, presume-se que a água liberou os macroporos do solo, que passam a ser ocupados pelo ar, e que a água encontra-se presente apenas nos microporos (capilares).

3. Na aula, qual tipo de solo reteve a maior quantidade de água e por que isso aconteceu?

O solo que reteve a maior quantidade de água foi o solo denominado “terra de mata”, que, certamente, continha maiores teores de matéria orgânica e argila, estruturas que contribuem para o aumento da capacidade de campo.

4. Quais são as principais vantagens da incorporação de matéria orgânica no solo?

A matéria orgânica aumenta a capacidade de retenção de água devido ao aumento da porosidade e à redução na densidade do solo. A matéria orgânica aumenta a aeração e a proporção dos tamanhos dos agregados, melhorando a capacidade de adsorção e a quantidade de cargas negativas do solo, o que contribui para a retenção de água (adsorção) e para a sua fertilidade. Em função da presença de cargas negativas na superfície da sua estrutura, a matéria orgânica é altamente higrófila, podendo reter um volume de água cerca de 4 a 6 vezes do seu peso. Além disso, a matéria orgânica aumenta a quantidade de microorganismos e é, após a sua decomposição (mineralização), fonte de nutrientes minerais.

5. Que fatores podem influenciar a capacidade de campo de um solo?

A capacidade de campo de um solo pode ser influenciada pela textura e estrutura do solo, pelo teor de matéria orgânica e pela disponibilidade de água.

6. Como pode ser determinado e qual a importância do potencial hidrogeniônico (pH) dos solos?

O pH do solo pode ser determinado em água, colorimetricamente ou potenciometricamente, utilizando-se para isso, uma amostra de solo em água. Nos solos, o pH não constitui um valor constante e característico, sofrendo inúmeras variações relacionadas ao teor de água, respiração, teor de matéria orgânica e origem (gênese) do solo. Nos solos, o pH varia na faixa de 4 a 8,5. Os pHs inferiores a 4,5 são prejudiciais ao desenvolvimento das plantas, uma vez que são desfavoráveis às atividades microbianas, além de proporcionarem a solubilização do Al, Fe e Mn, metais que, em excesso, são tóxicos. Além disso, pHs baixos podem reduzir a solubilidade de muitos nutrientes (P, S, Mo, Cu e Zn).

A calagem é a técnica utilizada para aumentar o pH dos solos, consistindo na aplicação de calcário calcítico ou dolomítico. Solos salinos, por sua vez, apresentam pHs elevados e, também, não são adequados para o cultivo da maioria das plantas. A correção desse tipo de solo é mais complexa e mais cara do que a dos solos ácidos.

7. Manter o solo na capacidade de campo é recomendado para o cultivo de plantas?

A manutenção do solo na capacidade de campo não é recomendada para a maioria das culturas. Embora um solo com maior capacidade de campo seja mais interessante para os cultivos, mantê-lo nessa condição, além de economicamente inviável, é inadequado, devido à perda excessiva de água por percolação. A percolação traduz o movimento subterrâneo da água através do solo, especialmente nos solos saturados ou próximos da saturação, podendo levar à lixiviação de nutrientes. Além disso, a oxigenação do solo pode ser comprometida, resultando na ativação do metabolismo fermentativo nas raízes de espécies não adaptadas a condições de hipoxia/anoxia.

8. O que representa o ponto de murcha permanente (PMP)? Qual é a influência do PMP para a maioria das espécies cultivadas?

O ponto de murcha permanente (PMP) representa o teor mínimo de água armazenada no solo em que as folhas de uma planta sofrem murcha irreversível. Considera-se, para plantas cultivadas, que o potencial hídrico no PMP equivale a uma tensão de água de - 1,5 MPa (- 15 atm). No PMP o conteúdo de água retida no solo (devido à pressão hidrostática) encontra-se em um nível abaixo do qual a maioria das plantas não consegue mais extrair água, entrando em murcha irreversível, o que ocasiona a sua morte. A pressão hidrostática de um solo é correspondente à equação ($P = - 2T/r$), onde **T** corresponde à tensão superficial da água e **r** ao raio de curvatura do menisco formado pela água nos interstícios das partículas do solo. Quando mais seco se encontra o solo, mais agudo torna-se o raio de curvatura do menisco, aumentando as forças de retenção da água no solo, levando ao PMP.

Bibliografia:

BIBBY, C. **Simple experiments in biology**. 1st. Revised Edition. London: Heinemann Educational Books, 1986. 228 p.

ISRAELSON, O. W.; WEST, F. L. Water holding capacity of irrigated soils. **Utah State Agricultural Experiment Station Bulletin**, v. 183, p. 1-24, 1922.

MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

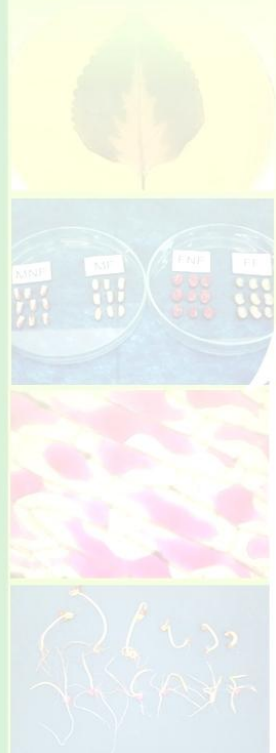
SOUSA, V. F.; MAROUELLI, W. A.; COELHO, E. F.; PINTO, J. M.; COELHO FILHO, M. A. **Irrigação e fertirrigação em fruteiras e hortaliças**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. 771 p.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 6.2 - Ascensão Capilar de Água no Solo

Fundamentação teórica:

A água das chuvas e da irrigação penetra no solo e infiltra-se gradualmente até chegar ao lençol freático. Uma parte da água infiltrada, a chamada água capilar, é retida e armazenada nos poros do solo. A quantidade de água retida no solo, como água capilar, e a água que se infiltra, como água gravitacional, depende da natureza do solo e das dimensões e distribuição dos seus poros. Poros menores que 10 μm de diâmetro retêm a água por capilaridade, enquanto os com poros maiores ($> 60 \mu\text{m}$ de diâmetro) permitem que a água infiltre mais rapidamente.

A água que permanece retida em um solo após a drenagem da água gravitacional é retida nos poros por capilaridade. Essa água pode ficar presa aos colóides do solo e, no caso dos solos salinos, pode ficar osmoticamente ligada aos íons. Assim, a energia livre da água no solo, tal como acontece no interior das plantas, é reduzida em resposta a essas interações. Na maioria dos solos, as contribuições do potencial osmótico e do potencial de pressão para o potencial hídrico total podem ser desprezadas. No potencial hídrico dos solos, o componente principal é o potencial matricial ou “capilar”, que representa a energia (intensidade) com que a água capilar é retida por forças superficiais. Esse potencial pode ter valores consideravelmente negativos para solos com poros muito finos. O componente capilar do potencial mátrico pode ser descrito pela fórmula:

$$\Psi_{\text{cap}} = - 4 \sigma/d \approx - 290/d \text{ [J Kg}^{-1}\text{]}$$

Na fórmula, o σ corresponde à tensão superficial da água e o d ao diâmetro do poro (em μm). A força com que a água é retida aumenta gradualmente à medida que o solo resseca, uma vez que os poros maiores vão ficando vazios e a água capilar permanece apenas nos poros mais finos (menores que $0,2 \mu\text{m}$). Em solos arenosos com uma estrutura granular mais larga, a transição é particularmente abrupta, enquanto que em solos argilosos, em que os poros são menores, o potencial hídrico varia mais gradualmente. A compactação do solo aumenta a porosidade capilar do solo, o que pode ser prejudicial. Em solos arenosos é comum a ascensão capilar de 30 a 50 cm de altura. A rápida ascensão capilar nesses solos é o principal fator limitante ao seu uso, uma vez que eles se desidratam muito rapidamente.

Na aula prática, os diferentes tipos de solos apresentaram taxas específicas de ascensão por capilaridade. As maiores taxas de ascensão capilar observadas no latossolo e na areia coincidem com as informações da literatura. Os solos mais ricos em matéria orgânica apresentaram uma menor ascensão de água por capilaridade, o que reflete a sua maior capacidade de retenção de água, reduzindo, assim, a velocidade de ressecamento do solo.

Questionário:

1. No que consiste a capilaridade?

Na física, a capilaridade é definida como a propriedade dos fluidos de subir ou descer em tubos muito finos e resulta da capacidade de o líquido molhar ou não a superfície do tubo. O termo capilaridade também se relaciona aos fenômenos associados à tensão superficial dos líquidos, particularmente em tubos capilares e em meios porosos como nos solos, onde se encontram interfaces gasosas, líquidas e sólidas. Quanto mais finas forem as partículas do solo, maior será a força capilar.

2. A água no solo compreende a *água gravitacional*, a *água higroscópica* e a *água capilar*. Caracterize cada uma dessas frações.

Água gravitacional: Ocupa poros maiores, sendo levemente retida pelas partículas e drenada pela força da gravidade. Essa água não é de utilidade para as plantas e pode causar problemas devido à lixiviação de íons, resultando na perda de nutrientes importantes ou, ainda, no movimento de partículas de argila, alterando as características físicas, químicas e biológicas do solo.

Água higroscópica: Encontra-se firmemente retida por adsorção às partículas minerais do solo. Não se move nem por capilaridade nem por gravidade. Somente se movimenta na forma de vapor de água. É uma forma de água indisponível para as plantas.

Água capilar: É retida pela tensão superficial em forma de películas ou capas de hidratação em torno das partículas do solo. É disponível para plantas, quase em sua totalidade.

3. Por que a compactação do solo, pelo seu uso intensivo e/ou devido à mecanização agrícola, pode ser prejudicial para o acúmulo de água.

A compactação do solo provoca o aumento da capilaridade do solo, o que pode causar um ressecamento rápido e intenso, principalmente quando o mesmo não se encontra coberto com matéria orgânica. Tal fato pode limitar a utilização do solo para cultivo agrícola, além de aumentar a erosão.

4. Quais cuidados devem ser tomados para se evitar a perda de água por capilaridade?

A água do subsolo pode chegar até a sua superfície por capilaridade. Essa ascensão capilar da água pode ser prejudicial em solos sem cobertura vegetal e expostos ao sol, devido ao esgotamento das reservas de água. Esse efeito negativo da capilaridade pode ser minimizado tomando-se algumas precauções como, por exemplo, conservar o solo coberto com vegetação viva; manter o solo coberto com os restos da capina ou a palhada da colheita (cobertura morta); promover aração rasa ou superficial. A agricultura moderna valoriza essas práticas, especialmente para a proteção dos microorganismos do solo e para a prevenção à erosão.

Bibliografia:

BEVEN, K.; GERMANN, P. Macropores and water flow in soils. **Water Resources Research**, v.18, n. 5, p. 1311-1325, 1982.

BEVEN, K.; GERMANN, P. Water flow in soil macropores: II. a combined flow model. **Journal of Soil Science**, v. 32, n. 1, p.15-29, 1981.

BRAGARD, J.; LEBON, G. Capillary ascension in porous media: a scaling law. **Transport in Porous Media**, v. 16, n. 3, p. 253-261, 1994.

DeBANO, L. F. The effect of hydrophobic substances on water movement in soil during infiltration. **Soil Science Society of American Journal**, v. 35, n. 2, p. 340-343, 1971.

GERMANN, P.; BEVEN, K. Water flow in soil macropores: I. an experimental approach. **Journal of Soil Science**, v. 32, n. 1, p 1-13, 1981.

LARCHER, W. **Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups**. 4th. Ed. Berlin: Springer, 2003. 514 p.

PASSIOURA, J. B. Soil structure and plant growth. **Australian Journal of Soil Research**, Collingwood, v. 29, n. 6, p. 717-728, 1991.

Prática 6.3 - Análise Visual da Estrutura e da Composição dos Solos

Fundamentação teórica:

O sal de cozinha (NaCl) aumenta a densidade da água, facilitando a flutuação da matéria orgânica e a sua consequente separação das partículas minerais (areia, silte e argila), assim como a precipitação gradual de cada uma dessas frações. A matéria orgânica acumulou-se na parte superior das provetas, principalmente nas amostras provenientes da “terra vegetal”, terra de mata e terra+esterco. Amostras de areia e de latossolo apresentaram quantidades reduzidas de matéria orgânica. Independentemente do tipo de solo utilizado, as amostras apresentam sempre a composição areia, silte, argila e matéria orgânica, em proporções variáveis, que se depositaram nas bases das provetas conforme suas densidades e tamanhos/massas (argila < 4 µm; silte > 4 µm < 64 µm; e areia > 64 µm < 2 mm).

A aula prática demonstrou a variação entre as proporções dos principais componentes da estrutura física do solo (areia, silte e argila), assim como o conteúdo de matéria orgânica em cada uma das amostras analisadas.

Questionário:

1. O que é o “solo”? Qual é a sua composição básica?

O solo pode ser definido como um corpo de material não consolidado, que recobre a superfície emersa da terra, localizado entre a litosfera (rochas) e a atmosfera. Em outra definição, o solo é considerado uma camada viva que recobre a superfície da terra, em evolução permanente por meio da alteração das rochas e de processos pedogenéticos, comandados por agentes físicos, químicos e biológicos.

Os solos são corpos naturais, ocupando porções na superfície terrestre, suportando as plantas e as edificações do homem e que apresentam propriedades resultantes da atuação integrada do clima e dos organismos, agindo sobre o material de origem, condicionado pelo relevo, durante um período de tempo. Os solos são constituídos de proporções e tipos variáveis de minerais, gases, água e húmus. São produtos do intemperismo sobre um material de origem, cuja transformação para solo ocorre em um determinado relevo, clima, bioma e ao longo do tempo. Os solos são constituídos de matéria mineral (areia, silte e argila), matéria orgânica (húmus, restos de plantas e animais), ar e água.

Os solos podem ser classificados segundo diversos parâmetros, dentre os quais pela proporção de partículas (arenosos, argilosos, siltosos, húmiferos, calcários), pelos horizontes constituintes e pela morfologia (textura, cor, estrutura, consistência, poros, fertilidade, facilidade para sofrer erosão, etc.).

2. Quais são os principais horizontes dos solos? Quais são as suas características?

Horizonte O: corresponde ao horizonte orgânico do solo; é bastante escuro. **Horizonte A:** corresponde ao horizonte superficial, com interferência do clima e da biomassa (microorganismos). É o horizonte de maior mistura mineral com húmus. **Horizonte E:** horizonte eluvial, ou seja, de exportação de material, geralmente argilas e pequenos minerais. Por isso são geralmente mais claros que os demais horizontes. **Horizonte B:** horizonte de maior concentração de argilas, minerais oriundos de horizontes superiores (e, às vezes, de solos adjacentes). É o solo com coloração mais forte, agregação e desenvolvimento. **Horizonte C:** porção de mistura de solo pouco denso com rochas pouco alteradas da rocha

mãe; corresponde ao saibro, muito empregado na construção civil. **Horizonte D ou R:** rocha matriz não alterada. De difícil acesso em campo.

3. Quais são as principais características dos solos *arenosos*, *argilosos* e *humíferos*?

Os solos *arenosos* são aqueles que têm a maioria das partículas de tamanho entre 2 mm e 0,075 mm, formados principalmente por cristais de quartzo e óxido de ferro (no caso de solos de regiões tropicais). Os solos arenosos apresentam boa aeração. Plantas e microorganismos medram com mais dificuldade nesses solos, devido à baixa umidade. Os solos arenosos possuem teor de areia superior a 70%. Também possuem argila e outros compostos em menor percentagem, mas devido à elevada porosidade, não retêm muita água. Esses solos são permeáveis e também são conhecidos como neossolos. Os grãos de areia são maiores e têm mais espaço entre si, facilitando a passagem da água.

Os solos *argilosos* não são tão arejados, mas armazenam mais água. Os grãos de argila são menores e bem próximos uns dos outros, dificultando a passagem da água. São menos permeáveis e, em função disso, a água é drenada mais lentamente, ficando, armazenada. Todavia, alguns solos brasileiros, mesmo apresentando muita argila, possuem elevada permeabilidade.

Os solos *humíferos* apresentam uma quantidade maior de húmus em relação aos outros. São solos geralmente férteis, ou seja, solos onde os vegetais encontram melhores condições de desenvolvimento. Possuem cerca de 10% de húmus em relação ao total de partículas sólidas. A presença de húmus confere uma coloração escura e, em geral, contribui para sua capacidade de reter água e sais minerais, aumentando a porosidade e a aeração.

4. Qual é a importância da adubação orgânica para as plantas?

A adubação orgânica é uma alternativa à adubação química, uma vez que a adição de restos de cultura, esterco e húmus pode suprir as necessidades nutricionais das plantas. Além de melhorar a estrutura e, conseqüentemente, a capacidade de retenção de água do solo, a adubação orgânica pode fornecer elementos essenciais às plantas. Todavia, para que a matéria orgânica possa efetivamente contribuir como fonte de nutrientes no solo, é necessário que ela seja decomposta e mineralizada, o que ocorre lentamente pela ação de microorganismos e/ou rapidamente como resultado de queimadas e incêndios naturais, eventos que aceleram a ciclagem de nutrientes, especialmente nos ecossistemas naturais.

5. Porque foi utilizado o sal de cozinha para o desenvolvimento da presente experiência?

O sal de cozinha (NaCl) aumenta a densidade da água, possibilitando a flutuação da matéria orgânica e a conseqüente separação das partículas minerais (areia, silte e argila), assim como a deposição gradual de cada uma dessas frações em função de seu tamanho e densidade. Como exemplo, a água do mar, a 30°C, possui densidade corresponde a 1,03 g/cm³. Por sua vez, a densidade da água pura, nessa mesma temperatura, equivale a 0,9956 g/cm³.

Bibliografia:

BROWN, K.; WHERRETT, A. **Measuring soil texture in the laboratory**. Department of Agriculture and Food, Western Australia. (<http://soilquality.org.au/factsheets/soil-texture-measuring-in-the-lab>). Acesso em 20/12/2017.

DAY, P. R.. **Particle fractionation and particle-size analysis**. In: Black, C. A. et al. (Eds.) Methods of soil analysis. Agronomy Series, 9. Madison: America Society of Agronomy, 1965. p.545-567.

KETTLER, T. A.; DORAN, J. W.; GILBERT, T. L. Simplified method for soil particle-size determination to accompany soil-quality analyses. **Soil Science Society of American Journal**, v. 65, n. 3, p. 849-852, 2001.

MARSCHNER, P. **Marschner's mineral nutrition of higher plants**. 3th. Edition, London: Academic Press, 2011, 651 p.

SURVEY STAFF. **Soil survey manual**. U.S. Department of Agriculture, Washington: Lulu.com, 2015. 318 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 6.4 - Adsorção pela Matriz do Solo

Aula prática fundamentada em Prado, C.H.B.A. & Casali, C.A. (2006) Fisiologia vegetal: práticas em relações hídricas, fotossíntese e nutrição mineral. 1ª. Ed., Editora Manole-Barueri, SP. 448 p.

Fundamentação teórica:

A capacidade de troca de cátions (CTC) é considerada um dos parâmetros mais importantes da fertilidade, pois, no solo, a maioria dos nutrientes produz íons positivos (cátions). Os cátions se ligam (adsorvem) mais facilmente às partículas de argila (matriz do solo), cuja superfície encontra-se predominantemente carregada com cargas negativas. A adsorção é fundamental, pois os cátions ficam retidos às partículas do solo, minimizando a lixiviação, enquanto os ânions são repelidos pelas cargas negativas presentes nas partículas de argila.

O azul de metileno é um corante catiônico (carregado positivamente) e, por isso, quando diluído, foi quase que integralmente adsorvido pela matriz do solo, não sendo observada a sua presença na água coletada na proveta. Por outro lado, quando a concentração do azul de metileno foi aumentada, acima da capacidade de retenção das partículas de areia, foi observada a presença do corante na solução coletada. A explicação para esse resultado é o esgotamento das superfícies livres de troca nos grãos de areia, que, a partir de certa concentração, foram completamente ocupadas, não conseguindo mais reter o azul de metileno. Fenômeno análogo ocorre nos solos como consequência de uma adubação excessiva. A eosina, por sua vez, é um corante com cargas negativas. Em função disso, ela não interagiu com a matriz da areia, não sofrendo adsorção às suas partículas. Como consequência, a eosina foi quase que integralmente coletada na proveta.

A aula prática ilustrou a retenção de um corante catiônico (azul de metileno) por uma amostra de areia e a lixiviação do corante com cargas negativas (eosina). Esse comportamento diferenciado pode ser relacionado à CTC do solo e extrapolado para as interações entre os nutrientes minerais catiônicos e aniônicos essenciais para as plantas e as partículas de argila, o que apresenta influência direta sobre a fertilidade e a lixiviação de nutrientes no solo.

Questionário:

1. O que é adsorção?

A adsorção resulta de uma interação favorável entre um sólido adsorvente e diferentes solutos. Interações como a atração eletrostática, ligação covalente e ligação de hidrogênio, dentre outras, podem contribuir para a adsorção e dessorção. A adsorção consiste na adesão de moléculas de um fluido (o adsorvido) a uma superfície sólida (o adsorvente). O grau de adsorção depende da temperatura, da pressão e da área da superfície (cargas). As forças que atraem o adsorvato podem ser químicas ou físicas (eletrostáticas). Sólidos porosos como o carvão, por exemplo, são ótimos adsorventes.

2. Quais são as diferenças entre cátions e ânions?

Os átomos dos elementos químicos encontrados na tabela periódica são partículas isentas de carga elétrica, isto é, apresentam mesmo número de prótons e de elétrons em sua estrutura. Entretanto, a maioria dos elementos químicos, excetuando-se os gases nobres, não existem naturalmente conforme são representados na tabela periódica. Assim, qualquer átomo

ou agrupamento atômico que apresenta desequilíbrio de cargas elétricas, isto é, diferenças entre o número de prótons e o de elétrons, são denominados íons.

Os íons são as unidades estruturais de todos os sais, tanto orgânicos quanto inorgânicos, e continuam a existir mesmo ao se dissolver o retículo do sal. A própria água pura está dissociada em íons, embora apresente um baixo grau de dissociação, ou seja, uma quantidade pequena de íons.

Dependendo da partícula excedente, prótons ou elétrons, os íons podem ser positivos ou negativos, sendo os primeiros originados pela remoção de elétrons de seus átomos e os segundos, pelo acréscimo. Os íons positivos (que apresentam mais prótons do que elétrons) são denominados cátions e os negativos (que apresentam menos prótons do que elétrons), são denominados ânions.

3. Porque a CTC é considerada um dos parâmetros mais importante da fertilidade do solo?

A capacidade de troca de cátions (CTC) é considerada um dos parâmetros mais importante da fertilidade do solo porque a maioria dos nutrientes do solo forma íons positivos (cátions) que se ligam (adsorvem) mais facilmente às partículas de argila (matriz do solo), predominantemente carregadas com polos negativos. Essa ligação é fundamental, pois os cátions ficam retidos (por atração eletrostática) às partículas do solo, evitando a sua lixiviação, enquanto ânions são repelidos pelas cargas negativas presentes nas partículas de argila.

4. Explique porque a eosina não foi adsorvida na matriz do solo, sendo quase que integralmente recolhida na proveta.

A estrutura cristalina das partículas do solo é constituída, sobretudo, por átomos de oxigênio, silício, alumínio ou magnésio. Nessa estrutura cristalina, os átomos de oxigênio ficam voltados para fora e, como são mais eletronegativos, a densidade da nuvem eletrônica é maior na eletrosfera do oxigênio, formando polos negativos. Como a eosina é um corante com cargas negativas, ela não interage com a matriz do solo, sendo, conseqüentemente, lixiviada.

5. Explique as diferenças encontradas quando foram utilizadas as soluções diluídas ou concentradas de azul de metileno.

Como o azul de metileno é um corante carregado positivamente (catiônico), em concentrações mais baixas ele fica totalmente adsorvido à matriz do solo. Entretanto, ao se aumentar a sua concentração em um nível superior à capacidade de adsorção do solo, as moléculas de azul de metileno não são mais retidas pela areia, sendo coletadas em grandes quantidades na proveta. A disponibilidade de sítios de interação (adsorção) na superfície da areia se esgota e o azul de metileno passa a sofrer lixiviação, mesmo sendo um corante catiônico. Esse fenômeno é similar ao que ocorre quando uma adubação excessiva é realizada, podendo resultar na contaminação do lençol freático e de reservatórios de água devido à lixiviação dos nutrientes.

6. Por que as adubações nitrogenadas e sulfurosas devem ser aplicadas parceladamente?

O nitrogênio e o enxofre são absorvidos pelas plantas principalmente nas suas formas aniônicas (NO_3^- e SO_4^{2-}). Como são ânions, esses íons tendem a ser repelidos pelas cargas predominantemente negativas presentes na superfície das argilas. Em função disso, caso

sejam aplicados de uma só vez (quantidade total recomendada na análise do solo), eles serão perdidos por lixiviação, uma vez que a adsorção desses íons às partículas do solo é menor.

7. Que analogia pode ser feita entre os resultados da prática e a realização de adubações pesadas nos solos?

Adubações excessivas podem resultar em desperdício de dinheiro e em danos às plantas, ao solo e ao meio ambiente. Como os adubos são sais, eles podem promover a salinização dos solos, além de provocar a contaminação do lençol freático e a eutrofização de rios e de reservatórios de água. O excesso de nutrientes será perdido pela limitada capacidade de retenção dos íons às partículas envolvidas nas trocas iônicas da solução do solo. A disponibilidade de sítios de interação (adsorção) na superfície das partículas do solo se esgota, levando à lixiviação dos nutrientes.

Bibliografia:

- ADEYEMO, A. A.; ADEOYE, I. O.; BELLO, O. S. Adsorption of dyes using different types of clay: a review. **Applied Water Science**, v. 7, n. 2, p. 543-568, 2017.
- GÜRSES, A.; DOGAR, Ç.; YALÇIN, M.; AÇIKYILDIZ, M.; BAYRAK, R.; KARACA, S. The adsorption kinetics of the cationic dye, methylene blue, onto Clay. **Journal of Hazardous Materials**, v. 131, n. 1-3, p. 217-228, 2006.
- JUANG, R. S.; WU, F. C.; TSENG, R. L. The ability of activated clay for the adsorption of dyes from aqueous solutions. **Environmental Technology**, v. 18, n. 5, p. 525-531, 1997.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 6.5 - Nutrição Mineral de Plantas

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Os elementos essenciais correspondem àqueles nutrientes sem os quais as plantas não completam seu ciclo de vida, não podendo ser substituídos por outros e que fazem parte do metabolismo ou de processos osmóticos das plantas. Os elementos essenciais são agrupados em duas categorias: os macro e os micronutrientes, cuja classificação é qualitativa, dependente das quantidades exigidas e dos níveis encontradas nos tecidos das plantas. Atualmente, 14 elementos com origem no solo são considerados essenciais. Seis são classificados como macronutrientes: N, P, K, Ca, S e Mg. Os micronutrientes incluem outros sete elementos: B, Cl, Fe, Mo, Zn, Cu, Mn e Ni.

Os sintomas de deficiência mineral nas plantas dependem de dois fatores principais: da função/funções dos elementos minerais no metabolismo da planta e da mobilidade desses elementos no floema. Os elementos minerais podem ser separados em três grupos quanto à mobilidade no floema: a) Elementos móveis: N, P, K, Mg e Cl; b) Elementos com mobilidade intermediária: Mn, Zn, Cu, Mo e S; c) Elementos imóveis: Fe, Ca e B. Em função disso, as plantas sob deficiência de Ca e de B mostraram morte dos brotos apicais, enquanto as deficientes em N, P, K e Mg mostraram sintomas de deficiência nas folhas mais velhas. As plantas de milho mostraram sintomas típicos da toxidez causada pelo Al, o que não ocorreu nas plantas de feijão. Certamente os genótipos de milho e feijão utilizados na preparação da aula apresentavam tolerância diferencial ao Al, sendo o milho sensível a esse elemento tóxico.

Questionário:

1. Por que é importante conhecer os sintomas de deficiência mineral?

O estado nutricional das plantas pode ser avaliado por meio da diagnose foliar (análise química de tecidos vegetais) e da diagnose visual (observação de sintomas de deficiências ou dos excessos). A análise química foliar é importante para o ajuste fino da adubação, visando maximizar a produtividade e aumentar a eficiência no uso dos nutrientes.

Para realizar-se uma diagnose visual com maior precisão, deve-se recorrer a algumas informações adicionais, como à análise do solo, textura e umidade, condições climáticas, adubos e defensivos agrícolas aplicados. É fundamental se fazer a adubação conforme recomendação apresentada nas análises do solo (ou das folhas), pois as deficiências nutricionais quando corrigidas tardiamente podem até desaparecer, mas, geralmente, comprometem a produtividade.

2. Quais são os principais sintomas de deficiências nutricionais apresentados pelas plantas?

Os principais sintomas de deficiência são: a) *clorose*: condição em que as folhas não produzem clorofila suficientemente; as folhas apresentam coloração diferente da normal como verde pálido ou amarelado; b) *mosaicos*: áreas com diferentes tonalidades de verde e amarelo; c) *encarquilhamento*: crescimento anormal das folhas e; d) *morte* de partes ou de toda a planta.

3. Por que, em alguns casos, os sintomas de deficiência são observados em folhas jovens e, em outros casos, nas folhas mais velhas?

Os sintomas de deficiência mineral nas plantas dependem de dois fatores principais: da função dos elementos minerais no metabolismo e da mobilidade dos elementos no floema. Os elementos minerais podem ser agrupados em três categorias considerando a sua mobilidade no floema: a) Elementos móveis: N, P, K, Mg e Cl; b) Elementos com mobilidade intermediária: Mn, Zn, Cu, Mo e S; c) Elementos imóveis: Fe, Ca e B.

A velocidade de aparecimento dos sintomas de deficiência mineral está diretamente relacionada à mobilidade dos elementos no floema. Nos elementos móveis (N, P, K, Mg e Cl), os sintomas aparecem primeiro nas folhas mais velhas, uma vez que as partes em crescimento (meristemas e gemas) demandam nutrientes e estes são disponibilizados a partir de tecidos mais velhos. Os sintomas de deficiência dos elementos imóveis no floema (Fe, Ca e B) são observados inicialmente nas partes jovens, geralmente resultando em morte dos brotos apicais. Uma vez que esses elementos não se encontram disponíveis no solo ou na solução nutritiva e, como eles são imóveis no floema, não podem ser mobilizados das partes mais velhas para suprir as necessidades e demandas dos meristemas e gemas apicais em crescimento. Em função disso, esses tecidos são os primeiros a mostrar os sintomas de deficiência.

4. Por que plantas de diferentes espécies apresentam sintomas específicos das deficiências nutricionais?

Porque as plantas apresentam diferentes exigências nutricionais. Níveis de elementos que são deficientes para algumas plantas podem ser adequados para outras. Níveis de elementos que são tóxicos para alguma espécie, podem não causar problemas para outras. Em função disso, a definição prévia da espécie a ser cultivada é necessária para a definição dos procedimentos de preparo do solo e para os cálculos das necessidades de calagem e adubação, maximizando a produção.

5. Quais são as principais vantagens e desvantagens do estudo de plantas em solução nutritiva?

O cultivo em soluções nutritivas é uma valiosa ferramenta para se estudar os mais variados aspectos relacionados à nutrição e ao metabolismo das plantas e suas relações com as variações edafoclimáticas. As principais vantagens da utilização desse sistema são: a definição prévia e a precisão da composição do meio; os sistemas radiculares das plantas podem ser mais facilmente obtidos para análises; os efeitos da deficiência ou do excesso dos nutrientes, assim como os sintomas de deficiência podem ser facilmente avaliados. Todavia, esse sistema apresenta algumas desvantagens, uma vez que as plantas requerem maiores cuidados (aeração, ajuste frequente de pH, iluminação, etc.), além de o sistema ser relativamente artificial.

6. Por meio dos sintomas de deficiência poderíamos estabelecer as possíveis funções dos elementos minerais?

Em parte, pois alguns sintomas se relacionam às funções que os elementos exercem. Por exemplo, o N e o Mg são componentes da clorofila e, por esse motivo, plantas deficientes nesses elementos apresentam-se amareladas. Por sua vez, o Ca é um dos principais componentes da lamela-média e, em função disso, plantas deficientes nesse elemento

apresentam necrose e morte dos brotos apicais, devido à formação deficiente da estrutura da parede celular.

7. Por que as plantas cultivadas em soluções nutritivas necessitam arejamento?

Porque como o meio é aquoso, os níveis de oxigênio tornam-se mais baixos do que no solo. Caso as plantas cultivadas nessas soluções não sejam espécies aquáticas (flutuantes ou subaquáticas), elas podem sofrer hipoxia/anoxia, estimulando o metabolismo respiratório fermentativo nas raízes, o que é prejudicial e pode causar a morte das plantas.

8. Descreva, sucintamente, os sintomas típicos de deficiência de cada elemento mineral incluído na demonstração da aula. Existem diferenças nos sintomas de deficiência entre as monocotiledôneas (milho) e as eudicotiledôneas (feijão)?

(*) Aparecimento de sintomas característicos

Solução nutritiva	Sintomas de deficiência (Maestri <i>et al.</i> , 1995; Salisbury e Ross, 1991; Taiz e Zeiger, 2017)	Eudicotiledônea (feijão)	Monocotiledônea (milho)
Completa	Plantas com desenvolvimento característico, coloração verde forte das folhas, sistema radicular bem desenvolvido.	Sim*	Sim
Sem K	Sintomas localizados (clorose com ou sem manchas necróticas nas folhas inferiores, podendo apresentar dessecamento). Folhas cloróticas com manchas grandes ou pequenas de tecido morto. Manchas necróticas pequenas, normalmente no ápice e nas internervuras, mais intensas nas margens das folhas, podendo ocorrer queda de folhas.	Sim (sintomas mais intensos nas folhas mais velhas e mais fortes que em milho)	Sim
Sem P	Sintomas generalizados por toda a planta (às vezes amarelecimento e morte das folhas inferiores). Folhagem verde-escura, crescimento retardado; folhas inferiores amarelas, às vezes entre as nervuras, mas comumente com tendência a desenvolver coloração púrpura, em particular, no pecíolo; queda prematura das folhas.	Sim	Sim
Sem Ca	Sintomas localizados nas folhas novas. Gema terminal geralmente morta. Deterioração nas pontas e nas margens das folhas. Muitas vezes, as folhas novas apresentam a ponta distintamente recurvada; morte das raízes precedendo os referidos sintomas.	Sim (sintomas característicos e mais rápidos do que em milho)	Sim
Sem N	Sintomas generalizados por toda a planta (às vezes amarelecimento e morte das folhas inferiores). Folhagem verde-clara. Plantas anãs com o caule lenhoso e pouco ramificado; folhas pequenas (as inferiores mais claras do que as superiores); amarelecimento, seguido de desidratação e aparecimento de uma cor marrom-clara; normalmente, queda reduzida de folhas.	Sim	Sim
Sem Mg	Sintomas localizados (clorose com ou sem manchas necróticas nas folhas inferiores, podendo apresentar dessecamento). Folhas cloróticas, que geralmente apresentam necrose mais tarde. Clorose entre as nervuras que permanecem geralmente verdes; margens das folhas reviradas para cima ou para baixo, podendo apresentar manchas necróticas.	Sim	Sim
Sem S	Sintomas localizados nas folhas novas. Gema terminal permanentemente viva (folhas cloróticas entre as nervuras, que permanecem verdes). Folhas jovens não murchas e aparecimento de clorose, acompanhada ou não de tecido morto. Manchas necróticas geralmente ausentes, clorose podendo ou não envolver as nervuras das folhas que podem apresentar cores claras.	Sim	Sim

Sem Fe	Sintomas localizados nas folhas novas. Gema terminal permanentemente viva (folhas cloróticas entre as nervuras, que permanecem verdes). Folhas jovens não murchas e aparecimento de clorose, acompanhada ou não de tecido morto. Pontuações necróticas geralmente ausentes. Em casos extremos, aparece necrose das margens para o interior do mesófilo invadindo grandes áreas. Somente as nervuras maiores permanecem verdes ou esverdeadas.	Sim	Sim (sintomas mais intensos do que na planta de feijão)
Sem boro	Sintomas localizados nas folhas novas. Gema terminal geralmente morta. Deterioração nas bases das folhas novas; caule e pecíolos quebradiços; morte das raízes, particularmente nas pontas meristemáticas.	Sim (sintomas mais intensos do que na planta de milho)	Sim
Com Al³⁺ (pH 4,0)	Raízes curtas, engrossadas, quebradiças e que adquirem coloração anormal. A parte aérea das plantas apresenta sintomas semelhantes à deficiência de fósforo e cálcio. A coloração das folhas é amarelada devido à redução na síntese de clorofilas. Ocorre redução do crescimento das plantas.	Não (plantas com desenvolvimento ligeiramente diferente do normal sem Al)	Sim (sintomas não muito severos)
Com Al³⁺ (pH 5,7)	Raízes curtas, engrossadas, quebradiças e que adquirem coloração anormal. A parte aérea das plantas apresenta sintomas semelhantes à deficiência de fósforo e cálcio. A coloração das folhas é amarelada devido à redução na síntese de clorofilas. Ocorre redução do crescimento das plantas.	Não (plantas com desenvolvimento próximo ao normal sem Al)	Sim
Justificativas:	As monocotiledôneas e as eudicotiledôneas apresentam características fisiológicas específicas, o que implica em exigências típicas entre elas em relação à deficiência/toxidez de cada um dos elementos essenciais. Os níveis de nutrientes que são limitantes para uma delas, podem não ser para outra. Começando pelo metabolismo fotossintético, plantas de milho (C ₄) diferem de plantas de feijão (C ₃), o que fornece uma ideia das diferenças existentes entre esses grupos vegetais. Todavia, os efeitos observados foram bastante parecidos nas duas plantas. Em relação ao Al, diferenças também foram observadas. Essas diferenças podem estar relacionadas, por exemplo, à liberação específica de ácidos orgânicos, o que confere tolerância diferencial ao Al ³⁺ entre essas plantas.		

Bibliografia:

- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water-culture method for growing plants without soil.** Davies: University of California, College of Agriculture, Agricultural Experiment Station. Circular 347, 1950. 32 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal.** Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant Physiology Laboratory Manual.** Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SMITHERS, A. G.; WILSON, K. Laboratory investigations in plant physiology: 1. metabolic absorption of mineral salts. **Journal of Biological Education**, v. 2, n. 3, p. 239-257, 1968.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.1 - Atuação Inespecífica de Auxinas em Segmentos Caulinares de Plântulas de Milho

Fundamentação teórica:

Os fitormônios são mensageiros químicos naturais produzidos em concentrações reduzidas pelas plantas. Eles atuam nos locais de síntese e/ou à distância e apresentam um amplo espectro de atividades biológicas. Os fitormônios podem ser mais ou menos inespecíficos, atuando no controle do crescimento e desenvolvimento vegetal, independentemente da sua origem, natural ou sintética.

O termo auxina é derivado da palavra grega “auxein” que significa “crescer”. As auxinas correspondem a uma classe de substâncias naturais ou sintéticas envolvidas no estímulo ao alongamento de células, tecidos e órgãos. O crescimento resulta de mudanças quantitativas irreversíveis em termos de massa seca, tamanho ou volume. O crescimento apresenta dois componentes básicos: a divisão celular, que ocorre especificamente nas células meristemáticas, e o alongamento (expansão) celular, que ocorre somente em células com paredes primárias. A expansão está diretamente relacionada ao aumento do tamanho do vacúolo, o que depende da pressão de parede associada ao acúmulo de substâncias osmoticamente ativas em seu interior, além da extensibilidade da parede celular, relacionada à ação de auxinas e de enzimas que atuam como “fatores de afrouxamento da parede”.

As auxinas regulam diversos processos de crescimento e desenvolvimento pelo controle da expressão gênica. As respostas fisiológicas às auxinas são similares e uma das proteínas-chave que participa do processo de alongamento celular (fatores de afrouxamento da parede), a expansina, apresenta-se extremamente conservada nos diferentes grupos vegetais. Assim, tal como acontece com outros fitormônios, as auxinas são inespecíficas entre plantas da mesma espécie ou de diferentes famílias, atuando indiscriminadamente no controle do crescimento vegetal, independentemente de sua origem, natural ou sintética, conforme observado nos resultados desta aula prática.

Embora o AIB utilizado na aula tivesse origem exógena (produzido em laboratório), a ocorrência natural dessa auxina também é observada em todas as espécies. Em hipocótilos de plântulas de *Arabidopsis*, tanto o AIA quanto o AIB apresentam transporte basípeta. Nas raízes dessa planta, ambas as auxinas se movem em tecidos específicos nas direções basípeta e acropeta.

Questionário:

1. Por que foram utilizadas sementes trituradas de aveia como fonte de fitormônios endógenos. Qual é o objetivo de se colocar esse material em repouso por 1 hora?

O AIA é sintetizado nos meristemas e em tecidos jovens em divisão. Além dessas estruturas, frutos jovens, órgãos de reserva e sementes também contêm altos níveis de AIA. Como as auxinas são hidrossolúveis, ao se deixar as sementes trituradas em repouso na água, obtêm-se, por difusão, os exsudatos contendo as auxinas naturais (principalmente AIA) contidas nas sementes.

2. Por que os segmentos caulinares tratados com blocos de ágar adicionados de filtrados de aveia triturada ou de AIB apresentaram desenvolvimento mais rápido que aqueles que não foram tratados?

Os fitormônios são mensageiros químicos produzidos por células ou tecidos e modulam processos celulares locais ou à distância, interagindo com proteínas específicas (receptores). As auxinas são substâncias capazes de se difundir em tecidos e em matrizes de ágar, podendo ser armazenadas e, posteriormente, sofrer nova difusão para outros tecidos. Como os blocos de ágar foram tratados com o filtrado de aveia triturada, eles acumularam, por difusão, pequenas quantidades de AIA. A partir de tecidos que contenham os receptores do AIA, essas auxinas podem promover o alongamento celular, aumentando a extensibilidade da parede e promovendo um crescimento mais rápido dos segmentos caulinares que tiveram contato com os blocos de ágar que continham a auxina (AIA) proveniente das sementes de aveia. O tratamento ágar+AIB resultou em efeitos similares aos observados com o filtrado de aveia triturada. Na aula prática foi observada uma grande semelhança nos resultados provocados pelos fitormônios extraído das sementes de aveia (natural, predominantemente AIA) ou pelo regulador de crescimento (AIB, sintetizado em laboratório, mas também de ocorrência natural).

3. Qual seria o resultado do experimento caso fossem utilizadas outras monocotiledôneas?

Certamente, seriam muito similares aos obtidos com as plântulas decapitadas de milho, uma vez que, o efeito independe da fonte do AIA, pois sua estrutura é a mesma e os seus receptores foram conservados durante a evolução vegetal.

4. Como ocorre o alongamento celular pela ação das auxinas, considerando-se a “teoria do crescimento ácido”?

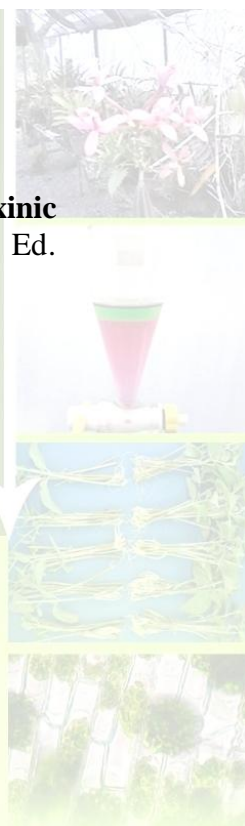
Logo após a administração de diferentes tipos de auxinas, uma forte acidificação da parede é observada como resultado do aumento no bombeamento de prótons (H^+), o que ocorre em resposta à ativação no funcionamento da H^+ -ATPase. Essa acidificação é o sinal para a ativação e/ou produção dos “fatores de afrouxamento da parede”, enzimas que promovem o aumento da extensibilidade da parede. Essas enzimas correspondem às pectinases, hidrolases, celulases, hemicelulases e às expansinas, proteínas que estão relacionadas à flexibilização das ligações cruzadas entre as microfibrilas de celulose (enfraquecimento das pontes de hidrogênio entre os polissacarídeos da parede), permitindo a expansão (alongamento) celular.

Em função das propriedades viscoelásticas das paredes primárias, elas sofrem um “amolecimento” irreversível, decorrente do que se denomina “relaxamento de estresse”, resultante do aumento na pressão de turgescência (entre 0,3 e 1,0 MPa) gerada pelos sais acumulados no vacúolo. Devido à geometria das células vegetais, essa pressão corresponde a um estresse tensil na parede entre 10 e 100 MPa, o que, certamente, é bastante elevado, permitindo o seu alongamento.

Bibliografia:

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

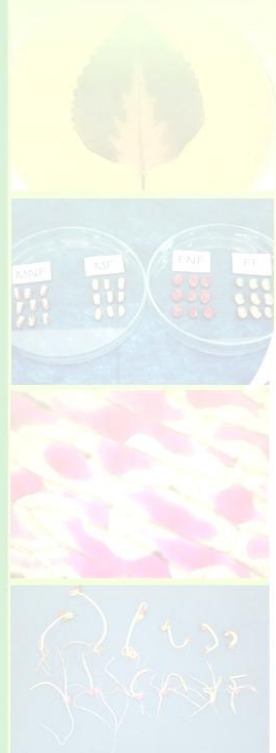
STERLING, T. M.; HALL, J. C. **Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicide.** In: *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology.* Ed. Roe, M. R.; Kuhr, R. J.; Burton, J. D. Amsterdam: IOP Press, 1997. p. 111-141.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.2 - Ação de Auxinas Endógenas ou Exógenas sobre Caules e Folhas

Fundamentação teórica:

As auxinas correspondem a uma classe de substâncias naturais ou sintéticas estimuladoras do alongamento celular. São sintetizados principalmente nos meristemas apicais caulinares e em primórdios foliares, em folhas jovens e em sementes em desenvolvimento. As auxinas produzidas nas gemas apicais se movimentam até outras partes da planta, principalmente para a base, onde se estabelece um gradiente de concentração. A auxina natural mais abundante na natureza é o ácido indol acético (AIA), derivado do triptofano, embora o ácido indol-butírico (AIB) também já tenha sido encontrado em tecidos de muitas espécies vegetais.

As auxinas são responsáveis por algumas das respostas násticas, com destaque para a epinastia e hiponastia. Os nastismos se caracterizam como respostas das plantas desencadeadas por estímulos ambientais não orientados. O principal agente causador de epinastia é o etileno, sendo essa resposta de crescimento típica dos efeitos desse fitormônio gasoso sobre a orientação dos microtúbulos. As auxinas estão diretamente relacionadas ao aumento na síntese do etileno, estimulando a conversão da *S*-adenosil-metionina (SAM) em ácido 1-carboxílico-1-amino-ciclo-propano (ACC), durante a biossíntese desse fitormônio. O etileno altera a deposição das microfibrilas de celulose na parede celular, levando à ocorrência de curvaturas e enrolamentos nos ramos e folhas, conforme foi observado na aula prática.

Embora as estruturas das auxinas ativas sejam quimicamente diversas, uma comparação dessas substâncias em pH neutro revela que todas possuem uma carga fortemente negativa no grupo carboxílico e uma carga positiva fraca na estrutura do anel. Essas cargas encontram-se separadas por uma distância de aproximadamente 0,5 nm, independentemente do tipo de auxina. A separação de cargas parece ser um requerimento estrutural essencial para que uma molécula tenha atividade auxínica, o que pode explicar os resultados praticamente idênticos encontrados nesta aula quando foram comparadas as pastas de lanolina contendo AIA (natural; extraído de sementes de aveia) ou AIB (sintético).

Questionário:

1. Conceitue o termo “fitormônio” e comente sobre as origens dessas substâncias.

Os fitormônios são mensageiros químicos produzidos pelas plantas (naturais), com atuação nos locais de síntese e/ou à distância, apresentando amplo espectro de atividade biológica. Na maioria das vezes, os fitormônios atuam em concentrações reduzidas (μM), embora existam algumas moléculas com atuação em concentração mais elevadas, na faixa de mM (poliaminas, salicilatos). Nas plantas, a síntese dos fitormônios encontra-se sob controle endógeno (genético e metabólico) e/ou ambiental.

Além dos fitormônios naturalmente produzidos no metabolismo das plantas, substâncias sintéticas (reguladores de crescimento) também podem apresentar atividade biológica análoga, controlando o crescimento e desenvolvimento vegetal. Essas moléculas, na maior parte das vezes, também atuam em concentrações reduzidas e apresentam mobilidade na planta.

2. Os sintomas observados nas plantas tratadas com o fitormônio de origem endógena (AIA) diferiram dos apresentados em resposta ao fitormônio de origem exógena (AIB)?

Independentemente da origem do fitormônio, endógena ou exógena, os sintomas apresentados foram os mesmos, sendo observada a ocorrência de epinastia nas folhas e nas gemas apicais das plantas tratadas com essas auxinas.

3. Como você poderia explicar os resultados obtidos na aula em resposta às aplicações do AIA ou do AIB sobre pecíolos e caules?

As curvaturas observadas na região apical do caule das plantas tratadas com pasta de lanolina adicionada de AIA ou de AIB são sintomas característicos de epinastia, fenômeno presumivelmente associado ao aumento na síntese e ação do etileno nos tecidos das plantas. A via biossintética natural do etileno tem a metionina como precursor inicial. Esse aminoácido é convertido em *S*-adenosil metionina (SAM) que, por sua vez, é transformado em ácido 1-carboxílico-1-amino ciclo propano (ACC). Finalmente, o ACC forma o etileno ($H_2C=CH_2$), um fitormônio gasoso. A conversão do SAM em ACC é estimulada por auxinas. Portanto, nas plantas em que se adicionou AIA (proveniente de sementes de aveia triturada) ou AIB (com origem exógena), sintomas de epinastia foram observados, sendo estes atribuídos a um aumento na produção e da ação do etileno.

4. Qual é a função da pasta de lanolina no processo?

A lanolina é um produto natural obtido a partir da cera de lã bruta, gerada pelos beneficiadores têxteis, como um subproduto de seu processamento. A sua afinidade por água, formando pseudo-emulsões, faz com que ela desempenhe importante papel, atuando como agente hidratante. A aderência proporcionada pela lanolina é muito explorada, formando películas protetoras sobre as superfícies tratadas, protegendo-as de maneira não oclusiva.

A função da lanolina na prática é de permitir o contato e adesão das auxinas (AIA ou AIB) no local de tratamento, promovendo a liberação lenta dessas substâncias.

Bibliografia:

ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

STERLING, T. M.; HALL, J. C. **Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicide**. In: *Herbicide activity: toxicology, biochemistry and molecular biology*. Ed. Roe, M. R.; Kuhr, R. J.; Burton, J. D. Amsterdam: IOP Press, 1997. p. 111-141.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.3 - Tropismos e Nastismos

Fundamentação teórica:

Tanto as plântulas de milho quanto as de feijão exibiram resposta fototrópica positiva nos caules, apresentando crescimento em direção à fonte de luz, independentemente da posição inicial em que as sementes foram colocadas no papel-filtro (para cima, para baixo ou lateralmente). Nas raízes, a resposta observada foi inversa à encontrada na parte aérea, com o crescimento na direção contrária à fonte de iluminação. As raízes apresentaram resposta gravitrópica positiva, com crescimento em direção ao módulo da força da gravidade (para baixo, no caso), enquanto os caules apresentaram resposta gravitrópica negativa (ou fototrópica positiva). Algumas plântulas apresentaram desenvolvimento anômalo, com curvaturas nas raízes e nas partes aéreas.

O gravitropismo consiste no crescimento direcional das plantas em resposta à força da gravidade. Normalmente, as raízes crescem em resposta ao vetor gravitacional (gravitropismo positivo), ao passo que os caules, geralmente, crescem na direção oposta (gravitropismo negativo). A maneira pela qual a gravidade é percebida envolve o movimento de corpos em queda ou em sedimentação. Os sensores nos ápices radiculares são amiloplastos especializados denominados estatólitos, presentes em organelas denominadas estatócitos. Na resposta gravitrópica em raízes primárias, a principal região de percepção do estímulo localiza-se na coifa. Nas partes aéreas e em coleóptilos, a gravidade é percebida na bainha amilífera, uma camada de células que circunda os tecidos vasculares. Quando plântulas de aveia crescidas no escuro são orientadas horizontalmente sobre uma superfície plana, os coleóptilos curvam-se na direção oposta à ação da gravidade. De acordo com o modelo de Cholodny-Went, em um coleóptilo mantido na posição horizontal, a auxina é transportada lateralmente para a metade inferior da sua estrutura, levando-a a crescer mais rapidamente do que a metade superior. Efeito inverso se observa nas raízes, onde concentrações elevadas de auxinas atuam inibindo o crescimento.

No fototropismo, os ápices da parte aérea, locais de maior produção das auxinas, são as regiões de maior sensibilidade ao estímulo luminoso. Porém, a região de curvatura localiza-se um pouco abaixo do ápice, sendo o fluxo de auxinas através da zona de crescimento no lado menos iluminado responsável pelo maior alongamento das suas células. Espectros de ação para a resposta fototrópica evidenciam que a radiação azul é a mais efetiva na indução da curvatura. As fototropinas, pigmentos cujos cromóforos são constituídos por flavinas, são proteínas autofosforilantes envolvidas na cascata de eventos que culmina com a resposta fototrópica. O gradiente de fosforilação das fototropinas induz o fluxo do AIA para o lado sombreado do coleóptilo. Uma vez alcançado a face sombreada, o AIA é transportado em direção basípeta para a zona de alongamento, estimulando a expansão das suas células. O aumento do crescimento das células no lado mais sombreado e a redução no lado iluminado resultam em crescimento diferencial, culminando com a curvatura do ápice em direção à fonte de luz.

A orientação das folhas das plantas de feijoeiro variou em resposta às mudanças de turgor nas células dos pulvinos, movimento típico da nictinastia. Durante o dia, as folhas apresentaram orientação perpendicular ao caule, interceptando os feixes da radiação luminosa. À noite, a orientação das lâminas foliares tornou-se paralela ao caule. Esses movimentos lentos encontram-se sob o controle do relógio biológico e do fitocromo, envolvendo a participação das turgorinas e o fluxo de K^+ e Cl^- nas células dos pulvinos.

Respostas sismonásticas puderam ser observadas utilizando-se plantas de dormideira (*Mimosa pudica*), cujos folíolos e foliólulos fecham-se rapidamente, em resposta aos estímulos mecânicos e ao aquecimento. A sismonastia é resultante de uma rápida mudança de

turgor nas células do pulvino e da base dos folíolos. A perda de água nessas células ocorre em resposta ao efluxo de íons potássio das células do pulvino para o apoplasto, por meio da abertura rápida de canais (despolarização). O acúmulo de íons no apoplasto é iniciado por uma queda no potencial hídrico, desencadeada por um acúmulo apoplástico de sacarose (proveniente no floema). É interessante notar, que apenas um folíolo precisa ser tocado ou aquecido para que o estímulo se propague para as outras partes das folhas e da planta. Esse processo de propagação do estímulo é mediado pelas turgorinas, moléculas com atividade sinalizadora e hormonal. O sítio de ligação das turgorinas localiza-se na membrana plasmática das células dos pulvinos. Os mecanismos de ação das turgorinas são semelhantes aos efeitos da acetilcolina na transmissão de estímulos nervosos nos animais. As plantas de *Mimosa pudica* também apresentam o fenômeno de nictinastia.

A aula prática ilustrou diferentes tipos de movimentos orientados (tropismos) e não orientados (nastismos) executados pelas plantas. Os tropismos e os nastismos são fundamentais para o ajuste do corpo da planta ao ambiente e para o controle do crescimento e desenvolvimento vegetal.

Questionário:

1. Quais são os principais movimentos de crescimento executados pelas plantas em resposta aos estímulos externos?

Nas plantas sésseis, os movimentos não envolvem locomoção, mas determinam a orientação delas no espaço. Orientações direcionadas no crescimento são importantes para o desenvolvimento de plantas mantidas em recipientes posicionados distantes de fontes de radiação luminosa ou para aquelas deixadas em ambientes sombreados. O mesmo se aplica às plantas crescidas em matas e estabelecidas próximas ou distanciadas de uma clareira. As plantas tendem a se desenvolver em direção às regiões onde a disponibilidade de luz é mais intensa. Quatro tipos principais de movimentos de crescimento são observados nas plantas: os tropismos, os nastismos, a tigmomorfogênese (alteração do padrão de crescimento em função de estímulos mecânicos) e o heliotropismo.

2. O que caracteriza as respostas classificadas como “tropismos”?

Os tropismos são movimentos de crescimento orientados realizados em direção às fontes dos estímulos ou na direção contrária a eles. Os mecanismos que levam às respostas de tropismos são praticamente os mesmos em diferentes situações. Normalmente, eles estão associados à distribuição desigual de auxinas nos tecidos da planta, fazendo com que o lado em que elas se acumulam em excesso ou estejam em nível reduzido cresça de forma mais lenta ou mais rápida do que o outro, promovendo, como consequência, uma resposta de crescimento orientada. Quando plântulas de aveia crescidas no escuro são orientadas horizontalmente sobre uma superfície plana, os coleótilos curvam-se na direção oposta à ação da gravidade. De acordo com o modelo de Cholodny-Went, em um coleótilo mantido na posição horizontal, a auxina é transportada lateralmente para a metade inferior da sua estrutura, levando-a a crescer mais rapidamente do que a metade superior. Efeito inverso se observa nas raízes, onde concentrações elevadas de auxinas atuam inibindo o crescimento. Os principais tipos de tropismos são o fototropismo e o gravitropismo.

3. Por meio de quais mecanismos as plantas respondem à luz?

No fototropismo, os ápices da parte aérea, locais de maior produção das auxinas, são as regiões de maior sensibilidade ao estímulo luminoso. Porém, a região de curvatura localiza-se um pouco abaixo do ápice, sendo o fluxo de auxinas através da zona de crescimento no lado menos iluminado responsável pelo maior alongamento das suas células. Espectros de ação para a resposta fototrópica evidenciam que a radiação azul é a mais efetiva na indução da curvatura. As fototropinas, pigmentos cujos cromóforos são constituídos por flavinas, são proteínas autofosforilantes envolvidas na cascata de eventos que culmina com a resposta fototrópica. O gradiente de fosforilação das fototropinas induz o fluxo do AIA para o lado sombreado do coleótilo. Uma vez alcançado a face sombreada, o AIA é transportado em direção basípeta para a zona de alongamento, estimulando a expansão das suas células. O aumento do crescimento das células no lado mais sombreado e a redução no lado iluminado resultam em crescimento diferencial, culminando com a curvatura do ápice em direção à fonte luminosa.

O heliotropismo ou rastreamento solar corresponde à movimentação de folhas e flores durante o dia, orientando-se perpendicular ou paralelamente aos raios solares. Ao contrário do fototropismo, o heliotropismo não resulta em crescimento assimétrico. Na maioria dos casos, esses movimentos envolvem alterações de turgescência nas células dos pulvinos localizadas nas bases das folhas e/ou folíolos. Em algumas espécies os pecíolos também parecem apresentar características pulvinares na maior parte ou ao longo de todo o seu comprimento. Existem dois tipos de heliotropismo. No dia-heliotropismo, as folhas permanecem perpendiculares aos raios do sol durante todo o dia, aumentando suas taxas fotossintéticas. Já no para-heliotropismo, as plantas evitam a luz solar direta (durante os períodos de seca, por exemplo), orientando suas lâminas foliares paralelamente aos raios de sol, reduzindo, assim, a temperatura das folhas e a perda de água por transpiração.

Exemplos de plantas que apresentam movimentos heliotrópicos são: o algodão, a soja, o lupino e, o mais conhecido, o girassol.

4. Por meio de quais mecanismos as plantas respondem à ação da gravidade?

O gravitropismo é um movimento de crescimento orientado que ocorre em resposta à força da gravidade. Essa resposta também envolve a redistribuição lateral de auxinas (AIA). Quando plântulas de aveia crescidas no escuro são orientadas horizontalmente sobre uma superfície plana, os coleótilos curvam-se na direção oposta à ação da gravidade. De acordo com o modelo de Cholodny-Went, em um coleótilo mantido na posição horizontal, a auxina é transportada lateralmente para a metade inferior da sua estrutura, levando-a a crescer mais rapidamente do que a metade superior. Efeito inverso se observa nas raízes, onde concentrações elevadas de auxinas atuam inibindo o crescimento.

A maneira pela qual a gravidade é percebida envolve o movimento de corpos em queda ou em sedimentação. Os sensores nos ápices radiculares são amiloplastos especializados denominados estatólitos, presentes em organelas denominadas estatócitos. Na resposta gravitrópica em raízes primárias, a principal região de percepção do estímulo está localizada na coifa. Nas partes aéreas e em coleótilos, a gravidade é percebida na bainha amilífera, uma camada de células que circunda os tecidos vasculares.

5. No que consistem os movimentos násticos?

Ao contrário dos tropismos, os nastismos são movimentos não orientados, embora também sejam desencadeados por estímulos ambientais. Alguns movimentos násticos das

plantas ocorrem em resposta a variações no crescimento, enquanto outros resultam de variações na turgescência. Os principais tipos de movimentos násticos são a epinastia/hiponastia, a nictinastia, a sismonastia, a fotonastia, a termonastia e a tigmonastia.

6. Apresente exemplos de movimentos násticos causados por variação no crescimento.

As principais respostas násticas causadas por variação no crescimento são a epinastia (maior crescimento do lado superior) e a hiponastia (maior crescimento do lado inferior). A maioria dos estudos sugere que o principal agente causador de epinastia/hiponastia em plantas é o etileno. Na presença desse fitormônio, o padrão transversal de alinhamento dos microtúbulos é alterado para uma orientação longitudinal. A mudança de 90° na orientação dos microtúbulos leva a uma deposição paralela das microfibrilas de celulose. O novo depósito de parede é reforçado mais na direção longitudinal do que na direção transversal, promovendo a expansão lateral em vez de alongamento, o que pode causar o engrossamento do caule ou à ocorrência de curvaturas (epinastia/hiponastia).

7. Apresente exemplos de movimentos násticos causados por variação na turgescência.

As principais respostas násticas, por variação na turgescência, são a nictinastia e a sismonastia. Os movimentos nictinásticos são decorrentes de mudanças no grau de hidratação (tamanho) de células parenquimáticas localizadas nos pulvinos, tecidos espessados localizados nas bases dos pecíolos/peciólulos das folhas/foliólulos, principalmente em espécies leguminosas. O movimento dos pulvinos está associado a mudanças no turgor decorrentes do fluxo de íons (K^+ e Cl^-) em células motoras, de modo similar ao observado nos estômatos. Esses movimentos encontram-se sob o controle das turgorinas, do fitocromo e do relógio biológico, persistindo por algum tempo mesmo se as plantas forem mantidas continuamente no escuro.

O sismonastismo é outro tipo de movimento nástico, sendo resultante de estimulação mecânica, térmica ou elétrica. Esses movimentos são típicos do comportamento da planta conhecida como dormideira (*Mimosa pudica*), cujos folíolos ou, às vezes, ramificações inteiras fecham-se muito rapidamente (0,1 s) em resposta ao toque, vibração, estímulo térmico ou elétrico. Em algumas situações, apenas um folíolo precisa ser estimulado para que a folha e/ou toda a planta se feche. Evidências indicam a participação de dois mecanismos distintos no controle desse processo: um elétrico e o outro químico. A resposta sismonástica é decorrente da abertura de canais de K^+ e de Cl^- nas membranas das células dos pulvinos, causando rápida despolarização (componente elétrico), o que resulta na perda de água e no murchamento dessas células. A reabertura dos folíolos, todavia, leva entre 10-20 min, uma vez que o mecanismo inverso, de repolarização da membrana, envolve transporte ativo de íons, processo mais lento que a despolarização resultante da perda de íons através de canais (mecanismo passivo).

A despolarização das membranas é muito rápida, o que causa alteração na voltagem (potencial de ação). O potencial de ação pode se propagar nos tecidos a uma velocidade de aproximadamente $2-10 \text{ cm s}^{-1}$, de modo similar à propagação de estímulos nervosos. Todavia, o potencial de ação não se propaga através dos pulvinos a menos que um mediador químico esteja envolvido. O italiano Ubaldo Ricca foi o primeiro a estudar esses mediadores inicialmente identificados como “Fator Ricca”. Posteriormente, essas substâncias foram denominadas turgorinas, devido ao seu papel no estado de turgor das células dos pulvinos. Os movimentos nictinásticos são exibidos por leguminosas (*Mimosa*, *Albizia* e *Samanea*), e também por membros da família Oxalidaceae. O movimento sismonástico, entretanto, é restrito a poucas espécies (*Mimosa pudica* L., *Mimosa velloziana* Mart. e *Oxalis stricta* L.).

Algumas turgorinas (Fatores de Movimentos Periódicos em Folhas = FMPFs) foram isoladas em tecidos de plantas de *Mimosa* (FMPF1 e FMPF7) e de *Oxalis* (FMPF1 e FMPF3), sendo quimicamente identificadas como β -glicosídeos do ácido gálico (ácido gálico-4-O-(β -D-glicopiranosil-6'-sulfato)).

Bibliografia:

- FELIPPE, G. M.; VÁLIO, I. F. M.; PEREIRA, M. F. A.; SHARIF, R. R.; SANTOS, S. R.V. **Fisiologia do desenvolvimento vegetal**. 2ª. Ed. Unicamp. 1985. 66 p.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- FONDEVILLE, J. C.; SCHNEIDER, M. J.; BORTHWICK, H. A.; HENDRICKS, S. B. Photocontrol of *Mimosa pudica* L. leaf movement. **Planta**, v. 75, n. 3, p. 228-238, 1967.
- HILLMAN, W. S., KOUKKARI, W. L. Phytochrome effects in the nyctinastic leaf movements of *Albizia julibrissin* and some other legumes. **Plant Physiology**, v. 42, n. 10, p. 1413-1418, 1967.
- JUNIPER B. E.; FRENCH, A. The distribution and redistribution of endoplasmic reticulum (ER) in geoperceptive cells. **Planta**, v. 109, n. 3, p. 211-224, 1972.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- SATTER, R. L.; GALSTON, A. W. Potassium flux: a common feature of *Albizia* leaflet movement controlled by phytochrome or endogenous rhythm. **Science**, v. 174, n. 4008, p. 518-520, 1971.

VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.4 - Efeitos das Auxinas Sobre o Crescimento Direcional das Plantas

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

As auxinas correspondem a uma classe de substâncias naturais ou sintéticas que estimulam o alongamento de células, tecidos e órgãos. Elas são sintetizadas principalmente nos meristemas apicais caulinares e em primórdios foliares, nas folhas jovens e em sementes em desenvolvimento. As auxinas se movimentam até outras regiões da planta, principalmente para a base, onde se estabelece um gradiente de concentração.

As auxinas participam diretamente de algumas respostas násticas, com destaque para a epinastia/hiponastia. Os nastismos são movimentos das plantas desencadeados por estímulos ambientais, embora não sejam orientados por eles. A maioria dos resultados sugere que o principal agente causador de epinastia/hiponastia é o etileno, sendo essas respostas típicas da ação desse fitormônio sobre a orientação dos microtúbulos, o que altera a deposição das microfibrilas de celulose. As auxinas estão diretamente relacionadas ao aumento da síntese do etileno, promovendo o estímulo à conversão do SAM em ACC.

A planta tratada lateralmente com pasta de lanolina+AIA no entrenó situado logo abaixo do trifolíolo mais novo apresentou curvatura (epinastia). Tal fenômeno se explica pela liberação do AIA pela pasta de lanolina e pelo posterior estímulo à síntese de etileno. A epinastia é uma das principais respostas associadas ao etileno. Na planta tratada apenas com pasta de lanolina, a epinastia não foi observada. As plantas tratadas com lanolina+AIA abaixo da inserção cotiledonar não apresentaram curvaturas nos seus ápices. Todavia, elas apresentaram espessamento nessa região, o que também parece estar associado à ação do etileno sobre esses tecidos.

Questionário:

1. Explique o mecanismo fisiológico do alongamento celular induzido pelas auxinas.

As células vegetais se expandem em pelo menos três etapas: absorção osmótica de água através da membrana plasmática; aumento na pressão de turgescência devido à rigidez da parede celular; e afrouxamento bioquímico da parede, permitindo a expansão celular. De acordo com a hipótese do crescimento ácido, íons hidrogênio agem como intermediários entre a auxina e o afrouxamento da parede celular. A fonte apoplástica de hidrogênios é a H^+ -ATPase da membrana plasmática, cuja atividade é aumentada em resposta às auxinas. Com o aumento da atividade das H^+ -ATPases, ocorre acidificação da parede celular, o que resulta na promoção da síntese das enzimas envolvidas na formação dos “fatores de afrouxamento da parede celular”.

2. Explique os resultados encontrados no experimento realizado nesta aula.

As auxinas participam diretamente de algumas respostas násticas, com destaque para a epinastia e a hiponastia. Os nastismos são movimentos das plantas desencadeados por estímulos ambientais, embora não sejam orientados por eles. O principal agente causador de epinastia/hiponastia é o etileno, sendo essas respostas típicas da ação desse fitormônio gasoso. O etileno atua sobre a orientação dos microtúbulos afetando, conseqüentemente, o

alongamento e a organização das microfibrilas de celulose. As auxinas estão diretamente relacionadas ao aumento na síntese do etileno, promovendo o estímulo à conversão do SAM em ACC.

A planta que foi tratada com pasta de lanolina+AIA no entrenó situado logo abaixo do trifolíolo mais novo apresentou epinastia. Essa resposta é resultado da liberação lenta do AIA contido na pasta de lanolina e do conseqüente estímulo à síntese de etileno. Na planta tratada apenas com a lanolina pura não foi observada epinastia. As plantas tratadas abaixo da inserção cotiledonar com lanolina+AIA também não apresentaram curvaturas nos seus ápices. Todavia, elas apresentaram espessamento nessa região, o que também pode estar relacionado aos efeitos do etileno sobre esses tecidos.

3. Os resultados encontrados na aula podem ser relacionados com algum tipo de tropismo de caule?

Tropismos são crescimentos direcionais observados em resposta a estímulos externos (luz, gravidade, potencial hídrico, contato, etc.). Embora os resultados observados na aula tenham sido de epinastia, um movimento nástico tipicamente não orientado, a curvatura dos ápices ocorreu para o lado contrário ao que a pasta de lanolina+AIA foi aplicada, se assemelhando, portanto, a uma resposta orientada, similar a um tropismo negativo.

Bibliografia:

FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.

NITSCH, J. P.; NITSCH, C. Studies on the growth of coleoptile and first internode sections: a new sensitive straight-growth test for auxins. **Plant Physiology**, v. 31, n. 2, p. 94-111, 1956.

FISIOLOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.5 - Atividade Herbicida do 2,4-D

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O 2,4-D é uma auxina sintética que, em baixa concentração, apresenta atividade auxínica, estimulando o alongamento celular em conformidade à teoria do crescimento ácido. Porém, quando utilizado em concentrações relativamente elevadas, o 2,4-D atua como um potente herbicida, matando plantas de eudicotiledôneas, embora, na mesma faixa de concentração, não apresente efeito herbicida sobre monocotiledôneas.

Substâncias com atividades auxínicas, mesmo em baixas concentrações, podem estimular a produção de etileno e alguns dos efeitos que aparecem nas plantas são devidos a esse hormônio gasoso. Na biossíntese do etileno, as auxinas aumentam a conversão do SAM (*S*-adenosil metionina) em ACC (ácido carboxílico amino ciclopropano), o que resulta em aumento na produção desse hormônio gasoso. As monocotiledôneas são menos sensíveis ao 2,4-D, possivelmente devido à menor quantidade de receptores hormonais em suas membranas.

O 2,4-D é utilizado como herbicida seletivo quando aplicado em pós-emergência (após a germinação e estabelecimento das plantas invasoras), eliminando plantas eudicotiledôneas infestantes em campos cultivados com monocotiledôneas (milho, cana, arroz, sorgo, etc.). Nas eudicotiledôneas, o 2,4-D, mesmo em concentração reduzida, promove a ativação de genes inativos, alterando os tipos de RNA sintetizados, aumentando a atividade das polimerases de RNA e DNA, afetando o funcionamento de enzimas respiratórias. Além disso, o 2,4-D estimula a síntese do etileno. Em função dessas alterações metabólicas, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que estimulam a senescência das folhas e a morte das plantas, conforme foi observado com as plantas de feijão utilizadas nesta aula. Todavia, o uso excessivo desse herbicida pode causar intoxicação em animais e contaminação de cursos de água, prejudicando o meio ambiente.

A aula prática evidenciou o potencial de utilização do 2,4-D como herbicida seletivo e os efeitos causados por essa molécula de natureza hormonal.

Questionário:

1. Apresente, em ordem cronológica, os sintomas da toxidez causada pelo 2,4-D nas plantas de feijão utilizadas na aula.

O primeiro sintoma observado nas plantas de feijão foi a epinastia, com a curvatura dos ápices e o enrolamento das folhas. Em seguida, ocorreu o amarelecimento (clorose) das folhas e necroses. Finalmente, as folhas exibiram sintomas severos de desidratação e senescência, culminando com a sua morte.

2. Pesquise na literatura a fórmula estrutural do ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D)?

3. Quais são as possíveis explicações para os efeitos seletivos do 2,4-D?

As monocotiledôneas são menos sensíveis ao 2,4-D, possivelmente devido à menor quantidade de receptores hormonais em suas membranas. Em eudicotiledôneas, o 2,4-D, mesmo em quantidades reduzidas, promove a ativação de genes inativos, alterando os tipos de

RNA sintetizados, aumentando a atividade das polimerases de RNA e DNA, afetando, também, o funcionamento de enzimas respiratórias. Além disso, o 2,4-D estimula o aumento da síntese de etileno. Em função dessas alterações metabólicas, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que estimulam a senescência das folhas e a morte das plantas. A grande vantagem do uso de 2,4-D como herbicida é a sua seletividade, com efeitos que se manifestam apenas em eudicotiledôneas (latifoliadas).

4. Por que o 2,4-D causa epinastia em muitas eudicotiledôneas?

Substâncias com atividades auxínicas, como o 2,4-D, por exemplo, mesmo em baixas concentrações, podem estimular a produção de etileno e alguns dos efeitos que aparecem na planta são devidos a esse hormônio gasoso. Na biossíntese do etileno, as auxinas promovem a conversão do SAM (*S*-adenosil metionina) em ACC (ácido 1-carboxílico-1-amino ciclopropano), o que resulta em aumento na sua produção.

5. Quais são os possíveis modos de ação do 2,4-D em nível celular?

O 2,4-D, após ser reconhecido pelos receptores de membranas, promove a ativação de genes inativos, alterando os tipos de RNA sintetizados, aumentando a atividade das polimerases de RNA e DNA, afetando o funcionamento de enzimas respiratórias. Além disso, o 2,4-D estimula o aumento da síntese de etileno. Em função dessas alterações metabólicas, ocorre a formação de espécies reativas de oxigênio (EROs) que estimulam a senescência das folhas e a morte das plantas.

6. Como o 2,4-D pode induzir ação estimulante em vez de ação herbicida?

Em níveis muito baixos, o 2,4-D, como qualquer outra auxina, estimula o alongamento celular, induzindo a acidificação da parede celular pelo aumento na atividade da H^+ -ATPase (teoria do crescimento ácido), estimulando a produção dos fatores de afrouxamento de parede que promovem o aumento do tamanho (alongamento) das células.

7. O 2,4-D poderia ser utilizado para combater, por exemplo, uma infestação de arroz vermelho, uma monocotiledônea contaminante comum em áreas de plantio de arroz para sementes?

Não, pois tanto o arroz vermelho quanto outras variedades tradicionais de arroz (*Oriza sativa* L.) são monocotiledôneas e ambas são tolerantes ao 2,4-D e ao etileno. Nem mesmo outras espécies de monocotiledôneas poderiam ser eliminadas seletivamente.

8. As monocotiledôneas são tolerantes ou resistentes ao 2,4-D?

Elas não são resistentes, mas tolerantes, uma vez que se o 2,4-D for aplicado em concentração muito elevada, mesmo as monocotiledôneas sofrerão efeitos prejudiciais e poderão morrer. Devido a sua natureza hormonal, os efeitos do 2,4-D dependem significativamente da concentração utilizada.

9. Com qual finalidade o 2,4-D foi utilizado durante a guerra do Vietnam? Quais foram as consequências dessa utilização para animais, seres humanos e para o ambiente?

Durante a guerra do Vietnam, o exército dos EUA procurava uma substância para utilização militar, visando promover a desfolha das árvores nas florestas tropicais daquele país. O 2,4-D foi um dos componentes do “agente laranja”, uma mistura de ésteres *n*-butílicos de 2,4-D e de 2,4,5-T (ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético), outra auxina sintética. Infelizmente, na síntese do 2,4,5-T não foram tomadas as devidas precauções. Posteriormente, descobriu-se que o 2,4,5-T, durante a sua síntese, foi contaminado com tetracloro-dibenzodioxina (2,3,7,8-TCDD), uma dioxina tóxica e cancerígena, prejudicial aos animais e seres humanos. Muitas áreas no Vietnam e do sudeste asiático ainda encontram-se intensamente contaminadas com essa substância.

Bibliografia:

- ABELES, F. B.; RUBINSTEIN, B. Regulation of ethylene evolution and leaf abscission by auxin. **Plant Physiology**, v. 39, n. 6, p. 963-969, 1964.
- BUCKINGHAM, W. **Operation Ranch Hand: the airforce and herbicides in Southeast Asia 1961-1971**. Washington: Office of Air Force History-USAF, 1992. 253 p.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia-curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HOLM, R. E.; ABELES, F. B. The role of ethylene in 2,4-D-induced growth inhibition. **Planta**, v. 78, n. 3, p. 293-304, 1968.
- JACKSON, M. B.; OSBORNE, D. J. Ethylene, the natural regulator of leaf abscission. **Nature**, v. 225, n. 5237, p. 1019-1022, 1970.
- MCSTEEN, P. Auxin and monocot development. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 3, p. a001479, 2010.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.
- STELLMAN, J. M.; STELLMAN, S. D.; CHRISTIAN, R.; WEBER, T.; TOMASALLO, C. The extent and patterns of usage of agent orange and other herbicides in Vietnam. **Nature**, v. 422, n. 6933, p. 681-687, 2003.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.6 - Efeitos do 2,4-D no Alongamento de Raízes

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Auxinas em excesso causam aumentos na produção do etileno, principalmente pelo estímulo à conversão do SAM em ACC na sua rota biossintética. O etileno promove o rearranjo da orientação dos microtúbulos (aproximadamente 90°), tendo, como consequência, o aumento em espessura das paredes celulares causado pelo alongamento desordenado das microfibrilas de celulose.

O ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) é um hormônio vegetal que possui efeito análogo ao das auxinas naturais (AIA). O AIA é produzido nas folhas e em ápices caulinares. Em estacas de caules, o seu transporte basípeto (ápice → base) está relacionado à formação de raízes adventícias. Todavia, as raízes são muito mais sensíveis às auxinas do que os caules (cerca de 2000 vezes). Portanto, quando ocorre um aumento muito grande na concentração de auxinas, há, proporcionalmente, um aumento na produção de etileno. Assim, as paredes celulares aumentam sua espessura, tornando-se mais rígida, o que reduz o alongamento celular. Isso explica os resultados de inibição no alongamento das raízes encontrados na aula, tanto para as plântulas de milho quanto de feijão em resposta ao aumento da concentração de 2,4-D.

Questionário:

1. Por que pode ser vantajoso utilizar soluções de 2,4-D em meio tamponado (tampão fosfato, 10 mM, pH 6,0) para a realização dessa aula?

Porque o tampão mantém o pH aproximadamente constante, evitando os efeitos da acidificação no crescimento das raízes, uma vez que a simples acidificação do meio pode estimular a produção dos fatores de afrouxamento da parede, enzimas que atuam nos processos de alongamento das raízes, interferindo nos resultados.

2. Considerando os resultados desta aula, o que podemos concluir sobre os efeitos do 2,4-D sobre o alongamento das raízes?

Em concentrações muito reduzidas, o 2,4-D também apresenta ação auxínica típica, estimulando o alongamento das raízes em conformidade à teoria do crescimento ácido. Entretanto, sob concentrações elevadas, o 2,4-D inibe progressivamente o alongamento das raízes, o que possivelmente é explicado pelo estímulo à produção de etileno.

3. Por que concentrações elevadas de 2,4-D provocam o engrossamento das raízes?

As auxinas, em excesso, causam aumento na produção do etileno, principalmente pelo estímulo à conversão do SAM em ACC na sua rota biossintética. O etileno promove o rearranjo dos microtúbulos, causando alterações na orientação dessas estruturas, tendo, como consequência, o aumento em espessura das paredes celulares devido ao alongamento desordenado das microfibrilas de celulose. É possível, portanto, que o engrossamento das raízes provocado por auxinas, em concentrações supraótimas, seja devido ao aumento na produção de etileno pelo tecido radicular.

4. Pelas suas observações, raízes e caules apresentam a mesma resposta à aplicação de 2,4-D? Explique sua resposta?

Não, pois as raízes são cerca de 2.000 vezes mais sensíveis às auxinas do que os caules. Assim, uma determinada concentração de 2,4-D que promove o alongamento do caule pode ser excessiva para as raízes, inibindo o seu alongamento. Quando ocorre um aumento muito grande na concentração de auxinas, há um aumento proporcional na concentração de etileno. Assim, a parede celular aumenta sua espessura tornando-se mais rígida, o que reduz o alongamento celular. É possível, portanto, que a inibição no alongamento das raízes por auxinas, em concentrações elevadas, seja devido ao aumento na produção do etileno pelo tecido radicular.

5. Altas concentrações de 2,4-D podem ser consideradas inibidoras da germinação. Por quê?

Especificamente à germinação não, uma vez que, mesmo sob a concentração mais alta de 2,4-D (10 mg L^{-1}), a germinação da maioria das sementes não foi inibida (considerando-se como parâmetro de germinação a protrusão da radícula). O 2,4-D, todavia, devido ao estímulo à síntese de etileno, inibe o estabelecimento posterior das plântulas, o que ocorre como consequência da inibição no alongamento das partes aéreas e, especialmente, das raízes.

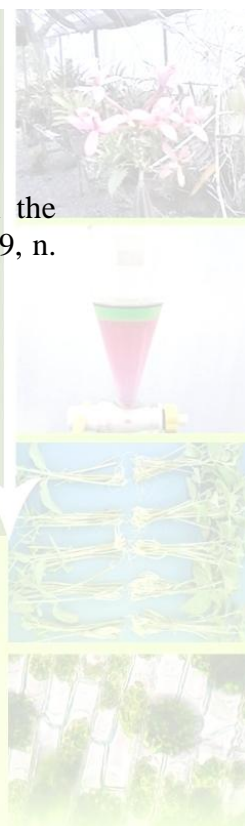
6. Por que a aplicação de 2,4-D em solos com sementes em germinação geralmente acarreta a morte de todas as plântulas, sejam essas monocotiledôneas ou eudicotiledôneas?

Os efeitos seletivos do 2,4-D somente se manifestam em pós-emergência, ou seja, quando as plântulas já estão estabelecidas. Em pré-emergência, todavia, o 2,4-D não é seletivo, impossibilitando o estabelecimento das plântulas de mono- e de eudicotiledôneas, em função da inibição que ele causa no alongamento das raízes de ambas as espécies (milho e feijão), possivelmente em resposta aos efeitos do etileno.

Bibliografia:

- ANDREAE, W. A.; VENIS, M. A.; JURISIC, F.; DUMAS, T. Does ethylene mediate root growth inhibition by indole-3-acetic acid? **Plant Physiology**, v. 43, n. 9, p. 1375-1379, 1968.
- APELBAUM, A.; BURG, S.P. Altered cell microfibrillar orientation in ethylene-treated *Pisum sativum* stems. **Plant Physiology**, v. 48, n. 5, p. 648-652, 1971.
- CHADWICK, A. V.; BURG, S. P. An explanation of the inhibition of root growth caused by indole-3-acetic acid. **Plant Physiology**, v. 42, n. 3, p. 415-420, 1967.
- CHADWICK, A. V.; BURG, S. P. Regulation of root growth by auxin-ethylene interaction. **Plant Physiology**, v. 45, n. 2, p. 192-200, 1970.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- MCSTEEN, P. Auxin and monocot development. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 2, n. 3, p. a001479, 2010.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

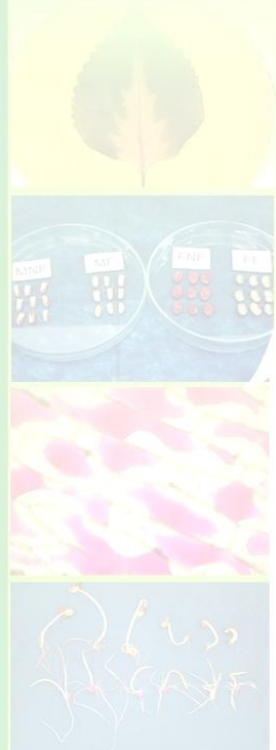
SARGENT, J. A.; ATACK, A. V.; OSBORNE, D. J. Orientation of cell growth in the etiolated pea stem: effect of ethylene and auxin on cell wall deposition. **Planta**, v. 109, n. 2, p. 185-192, 1973.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.7 - Indução de Raízes Adventícias em Estacas

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

Todas as raízes que se desenvolvem independentemente da raiz primária do embrião, a partir da base de caules, folhas ou mesmo de outras raízes, são denominadas adventícias. As auxinas, de maneira geral, induzem o enraizamento em estacas. Algumas espécies vegetais enraízam facilmente e podem ter a rizogênese estimulada por auxinas, existindo outras espécies que não enraízam facilmente. Os níveis endógenos de auxinas naturais (AIA) são controlados durante a síntese, por conjugação e compartimentação e pela degradação. Contudo, as auxinas sintéticas (ANA e 2,4-D, por exemplo) não sofrem um controle tão estrito, permanecendo estáveis nas estacas. A indução de raízes adventícias depende muito dos níveis endógenos de auxinas naturais e também de outros fatores, como o grau de umidade, época do ano, tipo de estaca e composição do meio, dentre outros.

Embora o alongamento das raízes seja inibido por concentrações de auxinas superiores a 10^{-8} M, a iniciação de raízes laterais é estimulada por concentrações relativamente altas desse regulador de crescimento. A formação de raízes laterais tem início em pequenos grupos de células localizadas no periciclo. O acúmulo de auxinas (AIA), resultante do transporte polar (basípeto) no parênquima vascular da raiz estimula a ocorrência de divisões celulares no periciclo, promovendo a formação de primórdios radiculares adventícios.

Os resultados da prática demonstraram que, até certo limite, o enraizamento das estacas aumenta proporcionalmente ao incremento na concentração de AIB. Todavia, em concentrações muito elevadas dessa auxina (como de qualquer outra), o alongamento das raízes é inibido, o que parece ser resultado dos efeitos do etileno. Nos tratamentos em que foram utilizadas estacas com folhas, houve um enraizamento adequado mesmo nas estacas mantidas sob as concentrações mais baixas de AIB, o que se atribui à contribuição das auxinas endógenas produzidas nas folhas e transportadas para a base das estacas, onde estimulam células radiculares iniciais pré-formadas e/ou a diferenciação de células do periciclo, aumentando a formação de raízes adventícias.

Questionário:

1. O que são raízes adventícias? Qual é a origem anatômica das raízes adventícias em estacas?

As raízes não originadas da radícula e que se formam em outras partes da planta como nos caules, folhas ou, até mesmo, a partir de outras raízes são denominadas adventícias. Elas ocorrem naturalmente em plantas de milho, cujas raízes adventícias são observadas próximas ao colo das plantas e, também, em algumas espécies arbóreas, como em *Ficus bengalensis*. Apesar de terem origem em regiões específicas nos caules (periciclo e outras porções de caules), as raízes adventícias possuem funções e características análogas às raízes de origem embrionária.

2. Em quais tratamentos ocorreu maior enraizamento das estacas? Houve diferenças entre os tratamentos quanto ao tamanho das raízes?

Em todas as estacas de *Lippia alba* utilizadas na aula ocorreu enraizamento. Essa espécie apresenta facilidade de enraizamento, mesmo sem o tratamento com auxinas. Todavia, o número de primórdios radiculares formados aumentou em resposta ao incremento na concentração de AIB. Em contraste, o alongamento das raízes foi reduzido em resposta ao aumento na concentração dessa auxina, o que parece ser resultado dos efeitos do etileno, produzido em resposta a concentrações mais elevadas de AIB.

Nas estacas enfolhadas, o enraizamento foi mais intenso do que nas estacas sem folhas, especialmente nas concentrações mais baixas de AIB, o que demonstra a importância das folhas, como fonte de carboidratos e, principalmente, de auxinas naturais (AIA) para o enraizamento das estacas.

3. Porque as estacas de determinadas espécies somente enraízam se estiverem enfolhadas, enquanto estacas de outras espécies enraízam mesmo sem folhas?

As folhas são sítios importantes de produção de auxinas naturais (AIA). Existem espécies que necessitam da auxina natural (AIA) sintetizada nas folhas para estimular a sua rizogênese, não respondendo bem à aplicação de auxinas sintéticas. Além disso, o fluxo de assimilados provenientes da fotossíntese também pode contribuir para o sucesso do enraizamento.

4. Explique os possíveis modos de ação de auxinas sobre o enraizamento de estacas.

Em estacas caulinares, as auxinas estimulam a formação de primórdios radiculares, originando raízes adventícias nas suas bases morfológicas. A manutenção dessa orientação ou polaridade é controlada pelo transporte polar basípeto de auxinas no sentido ápice → base morfológica. Esse transporte envolve gasto de energia e é direcionado por proteínas de membranas denominadas “proteínas carreadoras de efluxo de AIA” (proteínas PIN) que apresentam localização orientada nas porções basais das células de parênquima dos tecidos de condução, por onde acontece o transporte polarizado do AIA.

As auxinas transportadas em direção às extremidades basais, no parênquima vascular, atuam estimulando iniciais radiculares pré-formadas existentes no periciclo, podendo também induzir a formação adventícia de raízes por divisões celulares.

5. Porque não se empregam soluções de auxinas em concentrações elevadas no método lento de enraizamento de estacas?

O uso de concentrações elevadas de auxina pode inibir o crescimento posterior tanto das raízes como do próprio caule em decorrência do estímulo à síntese de etileno. Além disso, devemos considerar os efeitos tóxicos das próprias auxinas, que, em excesso, podem causar a toxidez e morte das estacas.

6. Outras classes de hormônios, que não as auxinas, poderiam estimular o enraizamento de estacas?

Sim. O etileno é um hormônio que estimula a formação de raízes, havendo sempre uma forte interação entre os efeitos das auxinas e do etileno na rizogênese em geral, dificultando a percepção da diferenciação dos efeitos desses dois reguladores na rizogênese.

Até mesmo algumas citocininas podem estimular o enraizamento em determinadas espécies, embora este seja um acontecimento pouco comum.

7. Quais espécies de interesse econômico têm a sua propagação baseada na reprodução assexuada?

Diversas espécies de interesse agrônomo têm na clonagem a sua principal forma de propagação. Dentre as culturas mais propagadas por clonagem vegetal merecem destaque a batata, a mandioca, a cana-de-açúcar, o alho, várias espécies frutíferas e ornamentais. As grandes empresas de reflorestamento em todo o mundo têm no enraizamento de estacas (enraizamento adventício) a base de seus programas de produção de mudas, principalmente nas culturas de eucalipto e pinheiro.

8. Quais são as vantagens e as desvantagens da propagação assexuada?

As plantas produzidas por meio da propagação assexuada são clones e, por isso, são geneticamente uniformes, o que traz inúmeras vantagens, mas, também, algumas desvantagens, pois os indivíduos formados apresentam as mesmas sensibilidades a fatores edafoclimáticos prejudiciais e a problemas fitossanitários (vulnerabilidade dos clones). Dentre as vantagens da propagação assexuada destacam-se a uniformidade de cor, tamanho, sabor, produtividade, etc.

Bibliografia:

- ALONI, R.; ALONI, E.; LANGHANS, M.; ULLRICH, C. I. Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism. **Annals of Botany**, v. 97, n. 5, p. 883-893, 2006.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 8th. Ed. London: Prentice Hall, 2010. 928 p.
- MÜLLER, L. E. **Manual de laboratório de fisiologia vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.8 - Polaridade em Estacas

Aula prática fundamentada em Maestri et al. (1995) Fisiologia Vegetal - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

O transporte polar de auxinas ocorre do ápice para a base, independentemente da posição em que as estacas sejam colocadas. Quando estacas são mantidas em câmara úmida, raízes adventícias se formam nas extremidades basais, mesmo que as estacas estejam invertidas.

Em estacas caulinares, as auxinas estimulam a formação de primórdios radiculares, originando raízes adventícias nas suas bases morfológicas. A manutenção dessa orientação (ou polaridade) é controlada pelo transporte de auxinas no sentido ápice → base morfológica (basípeto). Esse transporte envolve gasto de energia e é direcionado por proteínas de membranas denominadas “proteínas carreadoras de efluxo de AIA” (proteínas PIN), que se localizam especificamente nas porções basais das células do parênquima jovem ao redor dos tecidos de condução, por onde acontece o transporte polarizado do AIA.

O AIA, produzido nas folhas e meristemas, quando no citoplasma das células do parênquima dos tecidos de condução, encontra-se predominantemente na forma aniônica (AIA^-) devido ao pH próximo a 7,0 observado nesse ambiente. Esse pH é mantido graças à atividade das H^+ -ATPases, que bombeiam prótons (H^+) ativamente para o meio extracelular. Inicialmente, o AIA^- se acumula no meio intracelular, até ser transportado para o apoplasto, através das proteínas PIN. Nesse ambiente, devido à grande quantidade de H^+ , o pH é ácido (próximo a 5,5) e, assim, o AIA^- é rapidamente transformado na sua forma molecular e sem carga (AIAH). O AIAH é capaz de se movimentar passivamente através das membranas plasmáticas das células adjacentes. Esse processo se repete continuamente até a base morfológica das estacas ou mesmo nos caules intactos, onde o fluxo de AIA para as raízes também ocorre.

Quando se utilizam estacas sem folhas, as gemas que estavam dormentes brotam e formam ramificações que apresentam resposta gravitrópica negativa. A brotação das gemas é dependente da quebra da dominância apical, em decorrência da retirada das folhas jovens e das gemas durante o processo de preparo das estacas.

Os resultados da aula demonstraram o fenômeno da polaridade, uma vez que as raízes se formaram nas extremidades basais das estacas e os brotos nas extremidades apicais, independentemente da orientação inicial das estacas (polaridade normal ou invertida).

Questionário:

1. Somente os caules apresentam o fenômeno da polaridade? Caso sua resposta seja negativa, exemplifique.

Não. Todos os órgãos apresentam polaridade, que é mantida graças ao transporte polarizado do AIA (basípeto tanto nos caules quanto nas raízes). Os fenômenos de regeneração em plantas fornecem evidências básicas da polaridade. Estacas de plantas formam raízes nos terminais basais e gemas brotam nas extremidades apicais independentemente do tamanho ou posição em que a estaca for colocada.

Quando um segmento de caule é deixado na posição horizontal (mesmo no escuro), observa-se a formação de raízes na base morfológica, caracterizando uma resposta

gravitrópica positiva. Brotações se desenvolvem no ápice morfológico, que apresenta resposta gravitrópica negativa.

2. Como os tecidos vegetais percebem a gravidade e apresentam respostas gravitrópicas que refletem a sua polaridade?

A gravidade não afeta o movimento polar de auxina, mas pode afetar a sua distribuição lateral em uma parte da planta mantida horizontalmente. Os candidatos óbvios para a percepção da gravidade nos ápices radiculares são amiloplastos modificados (grandes e densos) presentes em muitas células. Esses amiloplastos especializados apresentam alta densidade em relação ao citoplasma, de modo que eles se sedimentam rapidamente na superfície inferior da célula em resposta à ação da força da gravidade. Os amiloplastos que funcionam como sensores de gravidade são denominados estatólitos e as células especializadas em perceber o estímulo gravitacional na quais eles ocorrem são denominadas estatócitos. Os estatólitos funcionam, portanto, como sensores da gravidade nas raízes e nas partes aéreas.

Ainda não está claro se os estatócitos conseguem detectar o movimento descendente dos estatólitos, à medida que eles passam pelo citoesqueleto, ou se o estímulo é percebido apenas quando o estatólito atinge a superfície inferior da célula. Na resposta gravitrópica em raízes primárias, a principal região de percepção do estímulo está localizada na região da coifa. Nas partes aéreas e em coleóptilos, a gravidade é percebida na bainha de amido, uma camada de células que circunda os tecidos vasculares da parte aérea. A bainha de amido é similar à endoderme da raiz. Todavia, ao contrário da endoderme, que apresenta as estrias de Caspary, a bainha de amido apresenta amiloplastos. Os estatólitos e a bainha de amido interferem na distribuição lateral do AIA nos tecidos de estacas mantidas horizontalmente, influenciando o tipo de resposta, que é gravitrópica positiva nas raízes e negativa na parte aérea. Em plântulas colocadas horizontalmente sob uma superfície plana, o fluxo de auxinas no lado de baixo do caule estimula o alongamento das células, resultando em uma curvatura gravitrópica negativa. Nas raízes, o movimento das auxinas para o lado de baixo resulta em concentrações excessivas, inibindo o crescimento dessa porção, o que provoca uma curvatura gravitrópica positiva.

3. Por que, ainda que as estacas sejam colocadas em orientação invertida, não ocorre mudança na polaridade?

Não ocorre mudança de polaridade mesmo que as estacas sejam colocadas invertidas porque a manutenção desse processo se baseia no transporte do AIA, que é basípeto (polar e ativo), independentemente da posição em que a estaca é deixada. Em estacas caulinares, as auxinas estimulam a formação de primórdios radiculares, originando raízes adventícias nas suas bases morfológicas. A manutenção dessa orientação ou polaridade é controlada pelo transporte de auxinas no sentido ápice → base morfológica. Esse transporte envolve gasto de energia e é direcionado por proteínas de membranas denominadas “proteínas carreadoras de efluxo de AIA” (proteínas PIN), que se localizam nas porções basais das células de parênquima jovens dos tecidos de condução, por onde acontece o transporte polarizado do AIA.

O AIA, produzido nas folhas e meristemas, quando no citoplasma das células, encontra-se predominantemente na forma aniônica (AIA^-) devido ao pH próximo a 7,0 observado nesse ambiente. Esse pH é mantido graças à atividade das H^+ -ATPases, que bombeiam prótons (H^+) ativamente para o meio extracelular. Inicialmente, o AIA^- se encontra no meio intracelular, até poder ser transportado para o apoplasto através das proteínas PIN.

Nesse ambiente, devido à grande quantidade de H^+ , o pH é ácido (próximo a 5,5) e, assim, o AIA^- é rapidamente convertido na forma molecular ($AIAH$) sem carga e capaz de entrar passivamente na célula adjacente. Esse processo se repete continuamente até a base morfológica das estacas ou mesmo nos caules intactos, onde o fluxo de AIA para as raízes também ocorre.

4. Como se explica a brotação das gemas no ápice morfológico das estacas?

Quando uma estaca sem folhas é colocada para enraizar, as gemas rapidamente são estimuladas a brotar. Essa brotação é resultante da quebra da dominância apical provocada pelo transporte basípeto e polarizado do AIA. Quando as folhas encontram-se presentes, o fluxo de auxinas para a base mantém essas gemas inibidas. Além da influência das auxinas, as citocininas e outros reguladores também podem provocar a brotação de gemas, o que sugere a importância da relação auxina/citocinina para o controle desse processo.

5. Qual é o provável papel das auxinas no fenômeno da polaridade?

Em estacas caulinares, as auxinas estimulam a formação de primórdios radiculares, originando raízes adventícias nas suas bases morfológicas. A manutenção dessa orientação ou polaridade é controlada pelo transporte de auxinas no sentido ápice \rightarrow base morfológica. Esse transporte envolve gasto de energia e é direcionado por proteínas de membranas denominadas “proteínas carreadoras de efluxo de AIA” (proteínas PIN), que se localizam nas porções basais das células de parênquima dos tecidos de condução, por onde acontece o transporte polarizado do AIA.

O AIA, produzido nas folhas e meristemas, quando no citoplasma das células, encontra-se predominantemente na forma aniônica (AIA^-), devido ao pH próximo a 7,0 observado nesse ambiente. Esse pH é mantido graças à atividade das H^+ -ATPases que bombeiam prótons (H^+) ativamente para o meio extracelular. Inicialmente, o AIA^- se encontra no meio intracelular, até poder ser transportado para o apoplasto através das proteínas PIN. Nesse ambiente, devido à grande quantidade de H^+ , o pH é ácido (próximo a 5,5) e, assim, o AIA^- é rapidamente convertido na forma molecular ($AIAH$) sem carga, que é capaz de entrar passivamente na célula adjacente. Esse processo se repete continuamente até a base morfológica das estacas ou mesmo nos caules intactos, onde o fluxo polar ativo de AIA para as raízes também ocorre.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
QUATRANO, R. S. Development of cell polarity. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 29, p. 487-510, 1978.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.9 - Dominância Apical

Aula prática fundamentada em Maestri *et al.* (1995) **Fisiologia Vegetal** - Exercícios Práticos. Caderno Didático 20, Editora UFV-Viçosa, MG. 91 p.

Fundamentação teórica:

A adição da pasta de lanolina contendo AIA ao ápice decapitado das plantas de feijoeiro resultou em inibição da brotação das gemas laterais. Na maioria das angiospermas, a gema apical inibe o desenvolvimento das gemas laterais. As folhas novas da gema apical produzem grandes quantidades de auxinas, sinal correlativo da dominância apical. Como as gemas apicais são produtoras de auxinas, o movimento basípeto desse hormônio inibe a brotação das gemas laterais (basais). A retirada da gema apical resultou na interrupção do transporte polar de auxinas. Com isso, a razão auxinas/citocinas nas gemas laterais foi alterada, promovendo a brotação dessas gemas. Como uma baixa relação auxina/citocinina na gema lateral promove o seu desenvolvimento, também se pode supor que o suprimento de citocininas para as gemas laterais seja regulado pelas auxinas da gema apical.

Os resultados da aula confirmaram a participação das auxinas no fenômeno da dominância apical, uma vez que as gemas laterais da planta decapitada e tratada apenas com a pasta de lanolina (sem adição de AIA) apresentaram brotação devido à supressão da inibição correlativa, o que não se observou na planta tratada com pasta de lanolina+AIA.

Questionário:

1. Como você explica o desenvolvimento das gemas laterais após a retirada da gema apical?

Na maioria das espécies vegetais, a gema apical inibe o desenvolvimento das gemas basais. As folhas novas da gema apical produzem grandes quantidades de auxinas, sinal correlativo da dominância apical. O fluxo basípeto de auxinas inibe a brotação das gemas laterais (basais). A retirada da gema apical resulta na interrupção da produção de auxinas e na diminuição no seu transporte polar, possibilitando a brotação das gemas basais (laterais).

2. De que modo a auxina aplicada na parte decapitada do caule estaria agindo para inibir o crescimento das gemas laterais?

O suprimento externo de AIA, via pasta de lanolina, possibilita a manutenção do transporte polar de auxinas mesmo sem a presença das gemas apicais, fazendo com que as gemas laterais permanecessem inibidas.

3. De uma modo geral, quais outros tratamentos poderiam estimular a brotação das gemas laterais nas plantas?

A poda é um tratamento que provoca a brotação de gemas laterais. O mesmo acontece com a decapitação de algumas espécies agrícolas (fumo), aumentando a formação de ramos laterais. A aplicação de citocininas via pulverização foliar também promove a quebra da dominância apical, resultando em brotação de gemas laterais. O ataque por microorganismos nas gemas apicais também pode provocar a quebra da dominância apical, como, por exemplo, se observa em plantas de cacauzeiro (*Theobroma cacao*) infectadas pelo fungo causador da doença conhecida como vassoura de bruxa (*Moniliophthora perniciosa*).

4. Como se explica o aumento do volume do caule no local seccionado em resposta ao tratamento com a pasta de lanolina adicionada de AIA?

A auxina aplicada no caule decapitado aumentou a força de dreno para essa região, que passou a funcionar de modo similar a uma folha em desenvolvimento (dreno), drenando assimilados, aumentando o seu volume.

5. Somente as auxinas estão envolvidas na dominância apical ou outros fitormônios também podem estar envolvidos nesse fenômeno? Explique.

Não. As folhas novas das gemas apicais produzem grandes quantidades de auxinas, sinal correlativo da dominância apical. Como as gemas apicais são produtoras de auxinas, o movimento basípeto desse hormônio inibe a brotação das gemas laterais. A retirada da gema apical resulta na interrupção da produção de auxinas e na redução do seu transporte polar.

Outros reguladores de crescimento, como as citocininas, as giberelinas e o ácido abscísico também parecem estar envolvidos no fenômeno da dominância apical e na inibição das gemas basais. Recentemente descobriu-se que as estrigolactonas também podem inibir a brotação das gemas.

6. Pelo fato de o AIA poder substituir a gema terminal na manutenção da dominância apical, você poderia dizer que esse hormônio "inibe" a brotação das gemas laterais? Que outra explicação plausível você poderia dar?

Os efeitos podem ser indiretos e não especificamente de inibição. Como em calos uma baixa relação auxina/citocinina promove o desenvolvimento de parte aérea, pode-se supor que o suprimento de citocininas para as gemas laterais seja regulado pelas auxinas da gema apical (altas concentrações de auxina na gema apical orientariam o transporte de citocininas ou de seus precursores para si). As auxinas da gema apical também poderiam afetar a síntese de citocininas ou a sua utilização nas gemas laterais.

7. Um técnico obteve duas amostras, sendo uma de citocinina (benzil-amino-purina, BAP) e outra de ácido indolacético (AIA), mas esqueceu-se de rotulá-las, não podendo, portanto, identificá-las. Como você poderia ajudar esse técnico na identificação, utilizando os estudos da dominância apical como teste?

Poderíamos propor a aplicação dessas duas amostras a caules decapitados de feijoeiro, adicionadas a pastas de lanolina. Naquele caule em que a brotação das gemas laterais se mantivesse inibida, certamente a substância adicionada, utilizando-se da pasta de lanolina tratada, corresponderia ao AIA. Naquele em que a brotação das gemas não fosse inibida, a substância adicionada à pasta de lanolina corresponderia ao BAP.

Bibliografia:

- Paulo H. P. Peixoto (Coord.)
CLINE, M. G. Apical dominance. *The Botanical Review*, v. 57, n. 4, p. 318-358, 1991.
FELIPE, G. M.; VÁLIO, I. F. M.; PEREIRA, M. F. A.; SHARIF, R. R.; VIEIRA, S. R.
Fisiologia do desenvolvimento vegetal, 2ª. Ed. Campinas: Editora Unicamp, 1985. 66 p.
FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
MÜLLER, L. E. **Manual de laboratorio de fisiología vegetal**. Turrialba: Instituto Interamericano de Cooperacion para la Agricultura (IICA), 1964. 165 p.

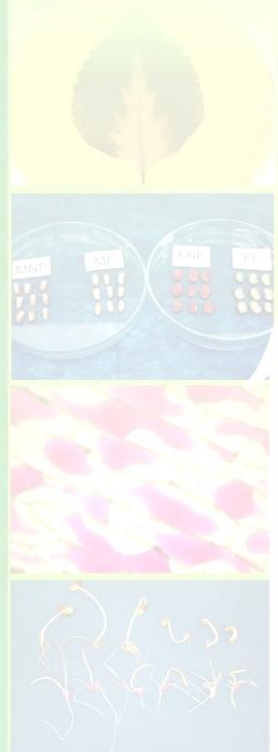
WICKSON, M.; THIMANN, K. V. The antagonism of auxin and kinetin in apical dominance.
Physiologia Plantarum, v. 11, n. 1, p. 62-74, 1958.



FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.10 - Efeitos Gerais do Etileno

Fundamentação teórica:

A laranja é um fruto não climatérico e, portanto, produz pouco etileno durante a maturação. Na campânula contendo a banana, um fruto climatérico, ao contrário, ocorreu grande produção de etileno. Por sua vez, o carbureto de cálcio é um composto que, em contato com a água, libera grande quantidade de acetileno, um análogo químico do etileno. Em função dessas diferenças, nas campânulas onde cada um deles foi adicionado, os efeitos foram específicos. Plantas de milho (monocotiledôneas) são quase insensíveis ao etileno, enquanto que as plantas de feijoeiro (latifoliadas) apresentam alta sensibilidade. Os ramos destacados de *flamboyant* sofreram senescência rápida, possivelmente em virtude da eliminação de suprimentos radiculares de íons, de citocininas e de outras moléculas que atuam protegendo os tecidos foliares contra a senescência. As plantas de feijoeiro das campânulas contendo o fruto de banana e, principalmente, as mantidas na presença do carbureto de cálcio, apresentaram forte senescência, com queda de todas as folhas, ficando intactos apenas os seus ápices, regiões de maior produção de AIA. As folhas do *flamboyant* caíram mais rapidamente nas campânulas com a banana e com o carbureto de cálcio do que naquela em que o fruto de laranja foi mantido, o que se explica pela elevada produção de etileno e acetileno, respectivamente na presença da banana e do carbureto.

Na campânula contendo a banana e, principalmente, na campânula onde o carbureto foi adicionado, observou-se a formação de raízes adventícias no caule, embora em menor quantidade na primeira (banana) do que na segunda (carbureto). Esses resultados são explicados pela capacidade que o etileno e, também o acetileno, têm de estimular a rizogênese a partir dos caules (formação de raízes adventícias).

Questionário:

1. Como podemos classificar os frutos carnosos quanto ao amadurecimento?

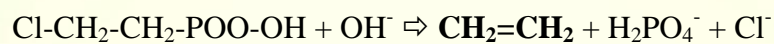
Quanto ao amadurecimento, os frutos carnosos podem ser classificados em dois grupos: climatéricos e não-climatéricos. No processo de maturação dos frutos climatéricos, ocorre um aumento temporário intenso (pico) na taxa respiratória que coincide, paralelamente, com o aumento na produção do etileno, eventos que estimulam e aceleram o amadurecimento. O etileno é um fitormônio gasoso que se difunde nos espaços entre as células, desempenhando papel fundamental na maturação dos frutos climatéricos. Os frutos climatéricos maduros liberam esse gás provocando, por autocatálise, o amadurecimento de outros frutos climatéricos ainda verdes, ou o rápido apodrecimento de frutos já maduros. Frutos não climatéricos não produzem muito etileno e, também, respondem pouco à aplicação desse fitormônio.

2. Apresente exemplos de frutos climatéricos e de frutos não-climatéricos.

Como exemplos de frutos climatéricos, é possível citar o tomate, caqui, pêssego, manga, melão, abacate, banana, maçã, figo, goiaba, mamão, pera e ameixa, dentre outros. Em relação aos frutos não climatéricos, tem-se como exemplos a cereja, abacaxi, morango, uva, melancia, laranja, limão e a pimenta doce.

3. Como o etileno ou moléculas geradoras desse gás podem ser utilizados na agricultura comercial?

O etileno é um fitormônio gasoso cuja contribuição e efeitos são reconhecidos na agricultura comercial. Ele pode ser obtido por meio da queima de serragem, que libera o gás etileno em câmaras especiais, promovendo o amadurecimento de bananas verdes. Em câmaras lacradas, a utilização do etileno também é comum na promoção da maturação de outros tipos de frutos. Todavia, em ambientes abertos, a utilização do etileno se torna inviável, uma vez que, por sua natureza gasosa, ele se perderia por difusão, não entrando em contato com os órgãos ou estruturas de interesse. Em função disso, como alternativa, têm sido utilizadas moléculas geradoras de etileno ou do seu análogo acetileno. Uma substância bastante utilizada é o ethephon (ácido 2-cloro-etil-fosfônico), conhecido como Ethrel®. Essa substância, após ser absorvida, é decomposta no citosol (meio básico), liberando o gás etileno, conforme a seguinte reação:



O ethephon tem sido utilizado na maturação de frutos e também na indução de florescimento em algumas espécies, com destaque para o abacaxi e para algumas espécies de bromélias, assim como para diferentes variedades de manga.

4. Porque as bordas das campânulas devem ser lacradas com a massa de modelar?

O etileno é um hormônio gasoso que pode se difundir facilmente por pequenas aberturas. Como o objetivo do experimento era analisar os efeitos do etileno sobre as plantas de milho e feijão e sobre os ramos de flamboyant, foi preciso garantir que esse hormônio gasoso ficaria encerrado dentro das campânulas, o que se conseguiu com o uso da massa de modelar.

5. Explique porque pode haver o aparecimento de raízes laterais (adventícias) nos caules das plantas mantidas nas campânulas que continham a banana e o carbureto.

A formação de raízes adventícias é um processo que envolve a participação de auxinas e do etileno. O etileno também estimula a formação de raízes e dos pelos radiculares. A aplicação de auxinas também pode estimular esse fenômeno. Todavia, esse processo não se observa em mutantes insensíveis ao etileno tratados com auxinas, o que indica que os efeitos promotores das auxinas podem mesmo ser mediados pelo etileno.

6. Como se explica que laranjas, reconhecidamente frutos não climatéricos, possam estimular a maturação de bananas?

O primeiro relato associando o etileno como um produto natural das plantas foi feito em 1910, por Herbert H. Cousins. Ele observou que as “emanações” provenientes de laranjas armazenadas em uma câmara provocavam o amadurecimento em bananas, cujo efeito era semelhante ao da aplicação de auxinas. Todavia, como laranjas não produzem muito etileno, possivelmente elas se encontravam infectadas com o fungo *Penicillium*, produtor de grandes quantidades desse gás. Em função disso, é possível concluir-se que esse foi um efeito indireto e não decorrente das emanações de etileno a partir dos frutos de laranja.

Bibliografia:

- ABELES, F. B.; RUBINSTEIN, B. Regulation of ethylene evolution and leaf abscission by auxin. **Plant Physiology**, v. 39, n. 6, p. 963-969, 1964.
- BATTEN, D. J.; MULLINS, M. G. Ethylene and adventitious root formation in hypocotyl segments of etiolated mung-bean (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) seedlings. **Planta**, v. 138, n. 3, p. 193-197, 1978.
- BURG, S. P.; BURG, E. A. Ethylene action and the ripening of fruits. **Science**, v. 28, n. 3674, p. 1190-1196, 1965.
- COUSINS, H. H. Agricultural Experiments: Citrus. **Annual Report of the Jamaican Department of Agriculture**, 7-15, 1910.
- IBRAHIM, K. E.; ABU-GOUKH, A. A. AND YUSUF, K. S. Use of ethylene, acetylene and ethrel on banana fruit ripening. **University of Khartoum Journal of Agricultural Science**, v. 2, n. 1, p. 73-92, 1994.
- MULLINS, M. G. **Auxin and ethylene in adventitious root formation in *Phaseolus aureus* (Roxb.)**. In: Carr, D. J. (Eds) *Plant Growth Substances*. Berlin-Heidelberg: Springer, 1970. p. 526-533.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Prática 7.11 - Efeitos do Tiosulfato de Prata e do Ácido Salicílico na Conservação Pós-Colheita de Flores

Fundamentação teórica:

O etileno é um hormônio vegetal de natureza gasosa. Sua biossíntese se inicia a partir da metionina, que, por sua vez, reage com ATP para formar um composto conhecido como *S*-adenosil-metionina (SAM). O SAM é quebrado em dois compostos diferentes, um dos quais o ACC (ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano). Posteriormente, a enzima *ACC-oxidase* (enzima formadora de etileno) converte o ACC em etileno. O etileno atua em diversos processos fisiológicos, com destaque para a senescência e abscisão.

Em condições naturais, a biossíntese desse fitormônio é acelerada e/ou promovida em resposta a diferentes substâncias, assim como por danos mecânicos e por tecidos senescentes. Em contraste, diversas substâncias podem proteger contra a ação do etileno ou inibir a sua biossíntese. Dentre as soluções preservativas mais utilizadas, destacam-se aquelas à base de íons prata, como o nitrato de prata e o tiosulfato de prata (STS). A prata atua como inibidora da ação do etileno, com conseqüente redução na taxa de senescência foliar e floral. A prata também pode inibir a síntese do etileno pelo bloqueio da autocatálise que ocorre em flores com comportamento climatérico da respiração e da produção de etileno, como se observa em cravos e orquídeas. O complexo iônico tiosulfato de prata, uma associação entre íons de prata e tiosulfato de sódio, é bastante utilizado para a conservação de flores de corte.

O ácido salicílico (AS) é outra molécula que, em alguns casos, também pode ser utilizada na preservação de flores de corte, uma vez que ele inibe a conversão do ACC em etileno, na etapa final da via de biossíntese desse fitormônio. Todavia, tanto o STS quanto o ácido salicílico (e seu análogo ácido acetil salicílico) podem ser fitotóxicos e o ajuste do tempo de exposição e da concentração aplicada devem ser cuidadosamente estudados.

As plantas tratadas com AS ou com STS apresentaram um aumento significativo no tempo de vida em prateleira (atraso na senescência), em comparação às plantas do controle. Em função da atuação dessas substâncias na biossíntese (AS) e na ação do etileno (STS), é possível inferir que a senescência encontra-se estritamente associada a esse hormônio gasoso. Além disso, também foi possível observar que, em excesso, tanto o AS quanto o STS podem ser fitotóxicos, provocando senescência nos tecidos dos verticilos florais.

Questionário:

1. Como ocorre a biossíntese do etileno?

A biossíntese de etileno inicia-se a partir da metionina, um aminoácido que reage com o ATP para formar uma molécula denominada *S*-adenosilmetionina (SAM). O SAM é quebrado em dois compostos diferentes, um dos quais o ACC (ácido 1-carboxílico-1-aminociclopropano). Posteriormente, a enzima *ACC-oxidase* transforma o ACC em etileno, gás carbônico e íon amônio.

2. Como o ácido salicílico e o tiosulfato de prata interferem na biossíntese e na atuação do etileno?

O ácido salicílico atua impedindo ou reduzindo a conversão do ACC em etileno. A prata atua como inibidora da ação do etileno, com conseqüente redução da taxa de senescência floral e foliar. A prata também pode inibir a síntese de etileno pelo bloqueio da

autocatálise que ocorre em flores com comportamento climatérico da respiração e da produção de etileno, como em cravos e orquídeas.

3. Qual é a utilidade de compostos conservantes em flores de corte?

Pela atuação no controle da síntese e/ou ação do etileno, esses compostos podem ser utilizados para aumentar a “vida de prateleira” de flores de corte, impedindo ou atrasando sua senescência, proporcionando um maior tempo de vida para as mesmas. O complexo iônico tiosulfato de prata é uma associação entre íon prata e o tiosulfato de sódio. O STS é utilizado comercialmente em flores de corte, visando o atraso na senescência. Para retardar o processo de senescência, o tiosulfato de prata tem-se mostrado eficiente na prevenção da abscisão de botões florais, folhas, flores e pétalas em plantas cortadas. O uso de ácido acetilsalicílico pode aumentar a vida em vaso das flores pelo bloqueio da conversão do ACC em etileno, o que ocorre devido a sua ação inibitória sobre a atividade da enzima *oxidase do ACC*.

4. Objetivando-se atrasar a senescência em jarros contendo flores, como é explicada a ação do antitérmico “ácido acetyl salicílico” (AAS)?

Os efeitos da adição do ácido acetilsalicílico (AAS) visando prolongar a vida de jarro em flores de corte podem ser explicados pela ação fisiológica dessa molécula sintética que, em solução aquosa, se transforma parcialmente em ácido salicílico (AS). O AS atua inibindo a enzima responsável pela última etapa da via de biossíntese do etileno (*oxidase do ACC*). O etileno é sintetizado em muitos tecidos em resposta a estresses ambientais, como, por exemplo, ao aumento da temperatura, aos danos mecânicos ou à falta de água. De modo geral, pode-se dizer que o etileno é o gás responsável pela senescência de folhas, flores e frutos. Sabe-se que a enzima *oxidase do ACC* catalisa a última etapa da síntese do etileno. Por esse motivo, diversas pesquisas têm sido desenvolvidas com o objetivo de promover a inibição do gene que codifica para a *oxidase do ACC*, a fim de retardar o processo de senescência nas plantas, que provoca, entre outros efeitos, abscisão de folhas, flores e frutos.

Bibliografia:

- BEYER JUNIOR, E. Silver ion: a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. **HortScience**, v. 11, n. 3, p. 195-196, 1976.
- CAMERON, A. C.; REID, M. S. Use of silver thiosulfate to prevent flower abscission from potted plants. **Scientia Horticulturae**, v.19, n. 3-4, p. 373-378, 1983.
- NOWAK, J.; RUDNICKI, R. M. Long term storage of cut flowers. **Acta Horticulturae**, v. 91, p. 123-134, 1979.
- REID, M. S. The role of ethylene in flower senescence. **Acta Horticulturae**, n. 261, p.157-169, 1989.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.12 - Efeitos do GA₃ e do Paclobutrazol sobre o Crescimento das Plantas

Fundamentação teórica:

O tamanho em altura (porte) das plantas depende diretamente dos níveis endógenos de giberelinas (GAs). As GAs estimulam o alongamento do caule, mas quando se encontram em excesso, podem causar o tombamento (acamamento) das plantas, facilitando a quebra dos caules e colmos. Os mecanismos de ação das GAs envolvem aumentos na divisão e no alongamento celular, além de aumentos nas mitoses nos meristemas subapicais e na extensibilidade da parede celular. Todavia, o alongamento celular estimulado pelas GAs não envolve a acidificação da parede, conforme ocorre com as auxinas. As GAs também estimulam a transcrição de cinases relacionadas com o ciclo celular nos meristemas intercalares das gramíneas, o que parece contribuir para o seu alongamento.

Os “retardantes de crescimento” correspondem a diferentes compostos químicos que reduzem a divisão e, principalmente, o alongamento celular em tecidos e brotos, sem causar efeitos sobre o seu desenvolvimento. Os retardantes de crescimento são substâncias que inibem a síntese das GAs. Essas substâncias têm sido utilizadas com o intuito de reduzir o crescimento das plantas (porte), reduzindo, por exemplo, a frequência de podas e evitando problemas com as redes elétricas. Também são utilizadas para se evitar o acamamento de algumas espécies anuais cultivadas, especialmente gramíneas. Os principais compostos utilizados como retardantes de crescimento são o Cicocel (CCC), o Amo-1618 e, mais recentemente, o Paclobutrazol (Bonzi). O Paclobutrazol é um retardante de crescimento que bloqueia as reações de oxidação do *ent*-caureno para ácido *ent*-caurenóico, no caminho de síntese de substâncias giberelínicas, promovendo, também, uma série de alterações fisiológicas nas plantas, incluindo a partição de carboidratos e as respostas ao estresse hídrico.

Os efeitos observados na aula são bastante ilustrativos da ação dessas substâncias, uma vez que as plantas tratadas com GA₃ cresceram exageradamente, chegando a sofrer quebra (milho) do caule e tombamento. Em contraste, as plantas tratadas com o Paclobutrazol tiveram seu crescimento inibido em comparação ao controle.

Questionário:

1. Como ocorreu a descoberta das giberelinas?

A descoberta das GAs ocorreu no ano de 1926, por Eiichi Kurosawa, um fitopatologista japonês que identificou o fungo *Gibberella fujikuroi* como agente causador do acamamento (tombamento) em plantas de arroz. Esse fungo libera exsudatos constituídos por GAs, sendo os responsáveis pelo crescimento excessivo dos internódios e o tombamento das plantas.

2. Quais são as principais funções das giberelinas no crescimento e desenvolvimento vegetal?

Além de promoverem o crescimento vegetativo das plantas por meio do estímulo à expansão longitudinal das células, as giberelinas promovem a quebra da dormência de sementes fotoblásticas e de gemas vegetativas em plantas. Nesse fenômeno, as giberelinas atuam como mensageiros químicos dos sinais do ambiente que induzem a quebra da dormência (baixas temperaturas e variações no fotoperíodo e qualidade da radiação). Esses hormônios também promovem o florescimento em espécies de dias longos (PDL) ou que

precisam de um período de frio para a indução das gemas reprodutivas (vernalização). A aplicação de giberelinas induz o florescimento nessas espécies, substituindo, em alguns casos, a necessidade de exposição das plantas ao frio ou a dias longos.

As giberelinas são importantes no controle da germinação de sementes de cereais por estarem envolvidas na mobilização das reservas do endosperma para o embrião em desenvolvimento. Ao serem liberadas pelo embrião, as giberelinas estimulam as células da camada de aleuroma a secretarem enzimas hidrolíticas responsáveis pela quebra das macromoléculas de reserva. As GAs podem, em alguns casos, reverter plantas fisiologicamente adultas ao estágio de juvenildade, como ocorre em hera (*Hedera helix*). As GAs, juntamente com as auxinas e as citocininas, estão fortemente relacionadas ao estabelecimento e crescimento de frutos, o que ocorre pela produção e liberação de GAs a partir dos grãos de pólen e das sementes. As GAs, bem como as auxinas, podem promover a formação de frutos partenocárpicos (frutos sem sementes), cuja polinização pode até ocorrer, mas sem a fertilização (sem fusão de gametas). Por não atuarem na via metabólica de síntese do etileno, a utilização de GAs apresenta vantagens em relação às auxinas na indução do alongamento de plantas intactas. A aplicação de GAs para a indução de partenocarpia em uva é uma prática importante para a produção de uvas de mesa e passas (ambas sem sementes). Nas plantas, a GA₁ regula o alongamento dos ramos. Essa giberelina encontra-se presente durante estádios jovens de desenvolvimento. A GA₁ apresenta a GA₂₀ como precursora. Todavia, algumas plantas crescem bastante na ausência da GA₁. O fotoperíodo pode regular o metabolismo das giberelinas, pois dias longos geralmente estimulam a biossíntese de GAs ativas.

3. Onde são produzidas e como ocorre o transporte das GAs?

As folhas jovens são sítios importantes de síntese de giberelinas, assim como ocorre com as auxinas. Sementes imaturas e raízes também são locais de síntese de giberelinas. Remoções sistemáticas de partes do sistema radicular acarretam um decréscimo acentuado na concentração de giberelinas das partes aéreas, sugerindo que uma parcela significativa das giberelinas é suprida pelas raízes. Conclui-se, portanto, que o transporte de giberelinas pode ser feito tanto pelo floema quanto pelo xilema.

4. Quais são os retardantes de crescimento mais utilizados na agricultura?

Os principais compostos utilizados como retardantes de crescimento na agricultura são o Cicocel (CCC), o Amo-1618 e, mais recentemente, o Paclobutrazol (Bonzi).

5. Quais são as principais aplicações dos retardantes de crescimento na agricultura e na arborização urbana?

Em função de seus efeitos sobre a síntese de giberelinas, os retardantes de crescimento são utilizados para se evitar o acamamento em algumas variedades de arroz e de cana de açúcar, assim como para reduzir a frequência de podas em árvores plantadas sob redes elétricas. A aplicação de retardantes vegetais é uma técnica usada de forma intensiva na floração de algumas espécies. Por meio da utilização de Paclobutrazol, os produtores podem controlar a época de floração e, conseqüentemente, de frutificação das plantas.

6. Quais são os principais usos comerciais das giberelinas?

As giberelinas têm sido utilizadas comercialmente na viticultura para a produção de uvas sem sementes (parternocárpicas) e para a obtenção de cachos mais abertos, devido ao maior comprimento dos pedúnculos. Em função de seu envolvimento na estimulação da síntese de amilases, as giberelinas são utilizadas em cervejarias para aumentar o rendimento do malte (sementes em germinação, água, glicose e produtos da fermentação), durante a fabricação de cervejas. O tratamento de plantas de pepino com giberelinas promove a formação de flores masculinas, o que é útil para a produção de sementes híbridas. Nessa espécie, as auxinas estimulam a formação de flores femininas. As giberelinas (especialmente GA₄ e GA₇) provocam o desenvolvimento de frutos partenocárpicos (sem sementes) em algumas espécies, o que sugere a participação dessas GAs no controle natural do desenvolvimento dos frutos. Outro efeito importante das giberelinas é o retardamento da senescência em folhas e frutos de citros. O aumento da produção em cana-de-açúcar (aumento no tamanho dos internódios) e florescimento precoce (redução da juvenilidade) em coníferas também estão associados aos efeitos de GAs.

7. O que é Paclobutrazol e qual é a sua relação com as giberelinas?

O Paclobutrazol é um composto de nomenclatura química ((2*RS*,3*RS*)-1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-pentanol-3-ol). Sua fórmula molecular é C₁₅H₂₀ClN₃O. O Paclobutrazol apresenta massa molecular de 293,8 g. É um sólido cristalino branco, com solubilidade em água de 22-26 mg L⁻¹, a 20°C. O Paclobutrazol reduz a divisão e, principalmente, o alongamento celular em tecidos e brotos sem afetar seu desenvolvimento. Esse composto inibe a síntese dos terpenóides e, conseqüentemente, a síntese de giberelinas, sendo, por isso, considerado um retardante de crescimento. É comercializado nas denominações Bonzi, Cultar, Parlay e Piroutte, dentre outras.

Bibliografia:

- CURREY, C. J.; LOPEZ, R. G. **Applying plant growth retardants for height control.** Purdue Extension HO-248-W. Purdue: Purdue University, 2010. 7 p.
- DOUGLAS, T. J.; PALEG, L. G. Plant growth retardants as inhibitors of sterol biosynthesis in tobacco seedlings. **Plant Physiology**, v. 54, n. 3, p. 238-245, 1974.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- GROSSMANN K. **Plant growth retardants: their mode of action and benefit for physiological research.** In: Karssen, C.M.; van Loon, L.C., Vreugdenhil, D. (Eds.) Progress in Plant Growth Regulation. Current Plant Science and Biotechnology in Agriculture, vol 13. Dordrecht: Springer, 1992. p. 788-797.
- RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 501-531, 2000.

Prática 7.13 - Reprodução Assexuada e Clonagem Vegetal

Fundamentação teórica:

A clonagem vegetal refere-se à produção de indivíduos idênticos a partir de células ou segmentos de tecidos vegetais. A palavra clone deriva etimologicamente do grego *klón*, que significa ‘broto’, o que pressupõe, portanto, a existência de um indivíduo gerador e a ocorrência de brotação nos vegetais, possibilitando a reprodução assexuada. A ideia de cultivar células isoladas de plantas surgiu no início do século XX com o botânico alemão Gottlieb Haberlandt, como uma estratégia capaz de materializar os conceitos relacionados à teoria celular, proposta por Schwann e Schleider, por volta de 1839. A teoria celular sugeriu, pela primeira vez, que as células eram as menores unidades biológicas, autônomas e capazes, em princípio, de originar um organismo inteiro. Segundo essa teoria, as células maduras do corpo de um organismo pluricelular (célula somática) apresentam material genético em condições de originar um indivíduo idêntico à matriz doadora (expressão máxima do conceito da totipotência celular), comportando-se, dessa forma, como se fosse uma célula-ovo ou zigoto. A questão, pois, era descobrir como fazer uma célula madura e especializada (diferenciada), programada para a realização de funções específicas, voltar ao estágio embrionário. Pelo menos vinte espécies de plantas de valor comercial reproduzem-se vegetativamente por meio de estruturas especializadas, que têm a função primária de garantir a sobrevivência da espécie, enquanto outras, por meio da apomixia, formam embriões assexuados.

Os resultados encontrados na aula prática ilustraram formas diversas utilizadas para a produção de clones de plantas a partir de diferentes técnicas, incluindo a estaquia, a partir de folhas, a brotação de tubérculos e o emprego das técnicas de mergulhia e de alporquia, dentre outras práticas existentes de reprodução assexuada.

Questionário:

1. Em que conceito biológico se baseia a reprodução assexuada ou clonagem vegetal?

Na propagação assexuada, partes somáticas são empregadas na produção dos clones, conceito biológico que representa o conjunto dos descendentes gerados a partir de uma única planta, por meio de métodos assexuados. A clonagem se baseia no conceito da totipotência celular, princípio biológico que assegura a todas as células vivas e nucleadas (não necessariamente meristemáticas) a capacidade potencial de regeneração de um novo indivíduo geneticamente idêntico àquele de onde ela foi retirada.

2. Quais são os principais tipos de reprodução assexuada em vegetais?

Na reprodução assexuada ou vegetativa não há fusão de gametas, sendo os novos indivíduos produzidos a partir de partes de outro indivíduo. As principais técnicas de reprodução assexuada são a estaquia, a mergulhia, a alporquia e a enxertia. Além dessas técnicas, outras mais sofisticadas também podem ser utilizadas, com destaque para a micropropagação (cultivo *in vitro*), a cultura de protoplastos e a cultura de embriões nucelares. A produção de sementes sintéticas (somáticas) também é outra técnica disponível.

Os embriões nucelares são produzidos assexuadamente por divisões mitóticas de células somáticas do nucelo. Embriogênese somática, adventícia ou assexual são termos usualmente empregados para designar o processo pelo qual células haplóides ou somáticas se desenvolvem, passando por diferentes estádios embriogênicos, dando origem a uma planta,

sem que ocorra a fusão de gametas. A tecnologia de sementes sintéticas ou artificiais consiste em um conjunto de procedimentos que visa o emprego de embriões somáticos como sementes funcionais. As principais vantagens desse método relacionam-se com a produção de grande quantidade de propágulos em curto espaço de tempo, a manutenção da identidade clonal, a semeadura direta em campo, eliminando estruturas caras de aclimatização, sementeiras e viveiros e o baixo custo por planta. Para espécies florestais, pode-se acrescentar que a produção de sementes sintéticas em laboratório poderia ocorrer ao longo de todo o ano, eliminando as perdas por condições climáticas desfavoráveis, ataques de pragas e doenças ou anos de baixa produção, aspectos limitantes à produção de sementes em espécies florestais.

3. Ressalte as principais diferenças entre a reprodução sexuada e a assexuada.

A reprodução assexuada ocorre quando partes somáticas de uma planta e porções nucelares da semente são utilizadas para obtenção de um ou mais indivíduos idênticos (clones). A reprodução assexuada se apoia no conceito da totipotência celular. A principal característica dos clones é a uniformidade genética. Por sua vez, a reprodução sexuada envolve a fusão de gametas, possibilitando a recombinação gênica e a variabilidade genética entre os indivíduos produzidos.

4. Quais são as principais vantagens e desvantagens da reprodução assexuada (clonagem vegetal)?

A grande vantagem da clonagem é a manutenção de caracteres desejáveis (qualidade de frutos, sabor, resistências a fatores adversos bióticos e abióticos, etc.) que geralmente resultam em um maior valor comercial do produto e/ou em maior produtividade. Todavia, não apenas os caracteres superiores são transmitidos. Características indesejáveis também são passadas aos clones e, por esse motivo, uma grande uniformidade nos plantios empregando-se plantas clonadas pode levar à perda de toda a área plantada em decorrência de fatores edafoclimáticos ou fitopatológicos prejudiciais, uma vez que todos os indivíduos serão sensíveis aos mesmos problemas. Essa limitação é conhecida como “susceptibilidade ou vulnerabilidade dos clones”.

5. Destaque as principais culturas brasileiras propagadas por meio de métodos assexuais (clonagem).

A propagação vegetativa por estacas ou por outras técnicas como a enxertia são as principais formas de propagação de diversas espécies frutíferas como os citros (laranjas, mexericas, etc.), manga, uva, maçã, pera, nêspera, etc. Espécies ornamentais também são propagadas vegetativamente, com destaque para a rosa, a violeta, a begônia, etc. Além dessas plantas, espécies de destaque no cenário agrícola e também propagadas por meio de métodos assexuados são a batata, a mandioca e a cana-de-açúcar, dentre outras.

Bibliografia:

- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B.; LAMBERTI, A. **Botânica: Fisiologia - curso experimental**, 2ª. Ed. São Paulo: Editora Nobel, 1987. 116 p.
- HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices**. 8th. Ed. London: Prentice Hall, 2010. 928 p.
- ROSS, C. W. **Plant physiology laboratory manual**. Belmont: Wadsworth Publishing Company, 1974. 200 p.

Prática 7.14 - Efeitos da Chuva Ácida sobre as Plantas

Aula prática fundamentada em Hershey, D.R. (1995) Plant biology science projects. John Wiley & Sons, Inc. New York. 165 p.

Fundamentação teórica:

O termo chuva ácida é utilizado para caracterizar qualquer forma de precipitação atmosférica, cuja acidez seja substancialmente maior do que a resultante da dissociação do dióxido de carbono (CO_2) atmosférico dissolvido na água. A principal causa da acidificação é a presença na atmosfera terrestre de gases e partículas ricas em enxofre e nitrogênio reativo, cuja hidrólise no meio atmosférico produz ácidos fortes. Assumem particular importância os compostos nitrogenados (NO_x), gerados pelas altas temperaturas da queima de combustíveis fósseis e os compostos de enxofre (SO_x), produzidos pela oxidação das impurezas sulfurosas existentes na maior parte dos carvões e petróleos. Os efeitos ambientais da precipitação ácida (sintomas de necrose em plantas e perda de produtividade de culturas, entre outros) levaram à adoção de medidas legais restritivas na queima de combustíveis ricos em enxofre, obrigando à adoção de tecnologias de redução das emissões de nitrogênio reativo na atmosfera.

A queima de carvão e de combustíveis fósseis e os poluentes industriais lançam dióxido de enxofre e dióxido de nitrogênio na atmosfera. Esses gases se combinam com o hidrogênio presente na atmosfera, sob a forma de vapor de água, resultando em chuvas ácidas. As águas da chuva, assim como a geada, neve e neblina ficam carregadas de ácido sulfúrico ou ácido nítrico. Ao caírem na superfície, alteram a composição química do solo e das águas, podendo interferir nas cadeias alimentares, destruir florestas e lavouras, além de promover a corrosão de estruturas metálicas, monumentos e edificações.

O termo chuva ácida foi usado pela primeira vez por Robert Angus Smith, químico e climatologista inglês. Ele usou a expressão para descrever a precipitação ácida que ocorreu sobre a cidade de Manchester no início da Revolução Industrial. Com o desenvolvimento e avanço industrial, os problemas inerentes às chuvas ácidas têm-se tornado cada vez mais graves. Um dos problemas das chuvas ácidas é a possibilidade de elas serem transportadas por grandes distâncias, podendo precipitar em locais onde não há queima de combustíveis ou áreas industriais.

Os resultados da aula mostraram que as plantas de milho e de feijão utilizadas apresentaram sintomas de danos (necroses) nas folhas que entraram em contato com as gotas da solução ácida, podendo, portanto, ser utilizadas como bioindicadoras da ocorrência de chuva ácida.

Questionário:

1. O que são e como se formam as chuvas ácidas?

Em 1872, Robert Angus Smith cunhou o termo “chuva ácida”, descrevendo precipitações ácidas em Manchester, Inglaterra, após a Revolução Industrial. Trata-se do acúmulo demasiado de dióxidos de carbono e enxofre na atmosfera que, ao reagirem, formam ácidos que permanecem dissolvidos nas gotículas de chuva e partículas de aerossóis. A chuva ácida não necessariamente ocorre no local de formação, pois tais poluentes ao serem lançados na atmosfera são levados pelos ventos podendo provocar a reação em regiões distantes. A água já é naturalmente ácida, devido a uma pequena quantidade de dióxido de carbono (CO_2) dissolvido na atmosfera.

O termo “chuva ácida” é atribuído a qualquer forma de precipitação atmosférica, cuja acidez seja substancialmente maior do que a resultante da dissociação natural do dióxido de carbono (CO₂) atmosférico dissolvido na água precipitada. A principal causa da acidificação é a presença na atmosfera terrestre de gases e partículas ricas em enxofre e nitrogênio reativo, cuja hidrólise no meio atmosférico produz ácidos fortes. Assumem particular importância os compostos nitrogenados (NO_x), gerados pelas altas temperaturas de queima de combustíveis fósseis, e os compostos de enxofre (SO_x), produzidos pela oxidação das impurezas sulfurosas existentes na maior parte dos carvões e petróleos.

A chuva ácida adquire um efeito corrosivo para a maioria dos metais, para o calcário e outras substâncias. Quando não é natural (de origem vulcânica, principalmente), a chuva ácida é originada principalmente por fábricas (siderurgia e carvão mineral, principalmente) e por carros, que queimam combustíveis fósseis (petróleo e gás natural). Parte dessa poluição se precipita na forma sólida, depositando-se sobre o solo, árvores, monumentos, etc. Outra parte circula na atmosfera e se mistura com o vapor de água, podendo precipitar-se na forma de chuva ácida.

2. Quais são os efeitos da chuva ácida nas plantas e nos ambientes?

As nuvens contendo compostos ácidos podem viajar por até 500 km por dia, dependendo da direção e força do vento. Devido a sua composição, as chuvas resultantes dessas nuvens podem alterar a composição química do solo, provocar envenenamento dos cursos de água, fauna e flora, atingindo a cadeia alimentar. Também são responsáveis pela corrosão de metais, rochas, edifícios e monumentos.

3. Apresente alguns possíveis prejuízos para o homem e para o meio ambiente em decorrência das chuvas ácidas.

A chuva ácida é prejudicial para seres humanos e animais, pois libera compostos tóxicos no ar e no solo, comprometendo a sobrevivência de espécies não tolerantes. Além disso, a acidificação do solo pode promover a solubilização do Al³⁺ e do Mn²⁺, elementos tóxicos para a maioria das plantas. A chuva ácida também pode corroer materiais usados nas construções de prédios, casas, monumentos, turbinas de hidrelétricas, etc. A vida aquática em rios e lagos pode ser prejudicada pelos efeitos da chuva ácida, pois esses ambientes podem tornar-se ácidos. A chuva ácida pode provocar a abertura de clareiras, comprometendo o equilíbrio florestal. Em casos extremos, a chuva ácida pode causar morte em seres humanos, como ocorreu em Londres, em 1952, quando aproximadamente 4000 pessoas morreram vítimas de um *smog* muito espesso que atingiu a cidade, devido à queima intensa de carvão mineral contendo muito enxofre.

4. Por que as plantas podem ser utilizadas como bioindicadores de poluição, em especial da ocorrência de chuvas ácidas?

Os bioindicadores, de uma maneira geral, são seres vivos (de natureza diversa, vegetais ou animais), utilizados para avaliação da qualidade ambiental. Podem ser utilizados de forma passiva, quando se efetua a avaliação dos seres que habitam a área em estudo, ou de forma ativa, expondo os bioindicadores ao ambiente poluído. A exposição possibilitará, a partir dos efeitos observados, a avaliação da qualidade ambiental do local. A vantagem do uso de bioindicadores sobre os métodos convencionais de avaliação da qualidade ambiental está em seu baixo custo, podendo, inclusive, indicar a ocorrência cumulativa de eventos ocorridos em um determinado período de tempo, resgatando um histórico ambiental não passível de

detecção ou medição por outros métodos. Existem plantas mais sensíveis e outras mais tolerantes à chuva ácida, podendo ser empregadas na avaliação da intensidade de precipitações ou do *smog* ácido em um ambiente.

5. No que consiste a técnica da fitorremediação? Como a fitorremediação pode ser utilizada para minimizar os efeitos danosos das chuvas ácidas?

A fitorremediação consiste no uso de plantas para remover, imobilizar ou tornar inofensivos ao ecossistema diferentes tipos de contaminantes orgânicos e inorgânicos presentes na atmosfera, no solo ou na água. Sob o termo geral de fitorremediação estão incluídas diferentes técnicas com objetivos específicos, como a fitoextração, que consiste no uso de plantas para remoção de metais dos solos, mediante absorção pelas raízes, transporte e concentração na biomassa da parte aérea; a fitoestabilização, que emprega plantas para minimizar a mobilidade de metais em solos contaminados, mediante a acumulação nas raízes ou precipitação na rizosfera; e a fitovolatilização, baseada na capacidade das plantas volatilizar metais do solo, método aplicável, por exemplo, em casos de contaminações com selênio e mercúrio.

Em relação às chuvas ácidas, dependendo da composição e dos metais presentes na atmosfera, plantas tolerantes podem ser utilizadas para limpar os solos submetidos a essa precipitação. Para a correção do solo acidificado pelas precipitações ácidas, a alternativa mais simples é a calagem, que consiste na aplicação de calcário calcítico ou dolomítico no solo. A calagem aumenta o pH do solo e precipita o alumínio tóxico (Al^{3+}) na forma insolúvel $Al(OH)_3$, inacessível e, portanto, inofensiva para as plantas.

Bibliografia:

CETESB (2017) Bioindicadores: o uso de bioindicadores vegetais no controle da poluição atmosférica. Acesso em 18/12/2017 (<http://cetesb.sp.gov.br/solo/bioindicadores/>).

HERSHEY, D. R. **Plant biology science projects**. New York: Wiley, 1995. 165 p.

KRUG, E. C; FRINK, C. R. Acid rain on acid soil: a new perspective. **Science**. v. 221, n. 4610, p. 520-5, 1983.

WELLBURN, A. **Air pollution and acid rain: the biological impact**. London: Longman Higher Education, 1988. 288 p.

Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

Prática 7.15 - Micropropagação Vegetal

Fundamentação teórica:

A micropropagação é uma das áreas mais importantes da biotecnologia, contribuindo com inúmeras linhas de pesquisa, nos mais diversos campos da biologia vegetal. A micropropagação é um procedimento de produção de plantas a partir de porções de tecidos, denominados explantes, extraídos e cultivados *in vitro* sob condições assépticas. A principal vantagem da micropropagação é o potencial que ela apresenta de aumentar a velocidade e o rendimento da propagação clonal, bem como de produzir plantas saudáveis sob o aspecto fitossanitário. Esse método, geralmente, é o indicado para a propagação de espécies vegetais que se multiplicam muito lentamente e/ou que não podem ser clonadas por meio dos métodos tradicionais. A cultura de brotos axilares consiste numa miniaturização da produção de plantas por estaquia, divisão ou mergulhia, a partir de meristemas laterais ou terminais. Plântulas obtidas por meio desse procedimento tendem a reproduzir fielmente o genótipo das plantas que forneceram os explantes em processo típico de clonagem. A diferenciação de brotos adventícios ocorre diretamente, a partir dos explantes, ou indiretamente, a partir de calos. A micropropagação apresenta diversas aplicações práticas que são amplamente utilizadas na agricultura. Dentre elas podem ser destacadas a clonagem vegetal, o melhoramento genético e a produção de mudas livres de problemas fitossanitários.

Questionário:

1. O que é a micropropagação vegetal e em quais fundamentos biológicos ela se baseia?

A micropropagação é uma das áreas mais importantes da biotecnologia, contribuindo com inúmeras linhas de pesquisa, nos mais diversos campos da biologia vegetal. A micropropagação é um procedimento de produção de plantas a partir de porções de tecidos, denominados explantes, extraídos e cultivados *in vitro* sob condições assépticas. Para o início desses cultivos podem ser utilizados órgãos e suas partes (embriões, brotos, folhas, raízes e flores) e, também, tecidos, calos e/ou, até mesmo, células vegetais sem a parede celular (protoplastos). Os estudos relacionados à micropropagação tiveram seu início com a formulação da “teoria celular” por Schleiden e Schwann, em 1838. Conforme previsto pela teoria da totipotência celular, toda célula vegetal viva e nucleada apresenta potencial genético para desenvolver uma planta inteira e geneticamente idêntica a que lhe deu origem.

2. Quais são as principais vantagens da micropropagação em relação aos métodos tradicionais de propagação de plantas?

A principal vantagem da micropropagação é o potencial que ela apresenta de aumentar a velocidade e o rendimento da propagação clonal, bem como o de produzir plantas saudáveis sob o aspecto fitossanitário. Esse método, geralmente, é o indicado para a propagação de espécies de plantas que se multiplicam muito lentamente e/ou que não podem ser clonadas por meio dos métodos tradicionais. A cultura de brotos axilares consiste numa miniaturização da produção de plantas por estaquia, a partir de meristemas laterais ou terminais. Plântulas obtidas por meio desse procedimento tendem a reproduzir fielmente o genótipo das plantas que forneceram os explantes em processo típico de clonagem. A diferenciação de brotos adventícios ocorre diretamente, a partir dos explantes, ou indiretamente, a partir de calos.

3. Apresente alguns exemplos de aplicações da micropropagação vegetal.

Os principais tipos de cultivos e aplicações da micropropagação são a propagação em larga escala, a recuperação de plantas livres de vírus (limpeza clonal), a microenxertia, a conservação e o intercâmbio *in vitro* de recursos genéticos, a suspensão celular, a polinização e a fertilização *in vitro*, a cultura de embriões, a cultura de ovários, a cultura de protoplastos, a obtenção de mutantes *in vitro*, a embriogênese somática e a produção de haploides e de duplos haploides, dentre outros.

Bibliografia:

GEORGE, E. F.; HALL, M. A.; DE KLERK, G. J. **Plant propagation by tissue culture: v. 1. the background.** 3rd. Ed. Dordrecht: Springer, 2007. 502 p.
HARTMANN, H. T.; KESTER, D. E.; DAVIES, F. T.; GENEVE, R. L. **Plant propagation: principles and practices.** 8th. Ed. London: Prentice Hall, 2010. 928 p.
SMITH, R. H. **Plant tissue culture: techniques and experiments.** 3rd. Ed. San Diego: Academic Press, 2012. 208 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA

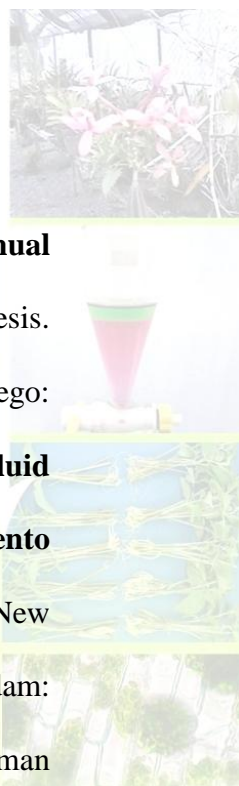
Paulo H. P. Peixoto (Coord.)



Referências Bibliográficas:

- ALVARENGA, A. A.; NERY, F. C.; RODRIGUES, A. C. **Experimentação em fisiologia vegetal**. Lavras: Editora UFLA, 2015. 171 p.
- ARDITTI, J.; DUNN, A. **Experimental plant physiology: experiments in cellular and plant physiology**. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1969. 312 p.
- AROCA, R. **Plant responses to drought stress: from morphological to molecular features**. Berlin: Springer-Verlag, 2012. 466 p.
- BAJRACHARYA, D. **Experiments in plant physiology: a laboratory manual**. New Delhi: Narosa Pub House, 1999. 186 p.
- BARRS, H.D. Determination of water deficits in plant tissue. In: KOZLOWSKI, T.T. (Ed.) **Water deficits and plant growth**. London: Academic Press, 1968. p. 235-368.
- BASRA, A. **Plant growth regulators in agriculture and horticulture: their role and commercial uses**. Binghamton: CRC Press, 2000. 264 p.
- BENDRE, A.; KUMAR, A. **A textbook of practical botany**. vol. 2, Meerut: Rastogi Publications, 2004. 464 p.
- BIDLACK, J.; JANSKY, S.; STERN, K. **Laboratory manual for stern's introductory plant biology**. 13th Ed. Columbus: McGraw-Hill Education, 2013. 256 p.
- CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A.; PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, 2005. 650p.
- COPELAND, L. O.; MCDONALD, M. **Principles of seed science and technology**. 4th Ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 2001. 488 p.
- DARWIN, C. **The power of movement in plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 2010. 608 p.
- DARWIN, F.; ACTON, E. H. **Practical physiology of plants**. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. 366 p.
- DAVIES, P. **Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular biology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995. 833 p.
- EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E.; RAVEN, P. H. **Biologia vegetal**, 8^a. Ed., Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2014. 876 p.
- EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E.; RUSSIN, W. **Laboratory topics in botany**. 7th Ed. New York: W. H. Freeman, 2005. 300 p.
- FICK, A. Über Diffusion. **Annalen der Physik**, Berlin, v. 170, n. 1, p. 59-86, 1855.
- GREEN, B. R. & DURNFORD, D. G. The chlorophyll-carotenoid proteins of oxygenic photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 47, p. 685-714, 1996.
- HART, J. W. **Plant tropisms: and other growth movements**. Berlin: Springer Science & Business Media, 1990. 208 p.
- HILMAN, J. R. **Apical dominance and correlations by hormones**. In: BOPP, M. (Ed.) **Plant Growth Substances**. Proceedings of the 12th International Conference on Plant Growth Substances, Berlin: Springer, 1985. 341-349 pp.
- HOHMANN-MARRIOTT, M.F.; BLANKENSHIP, R.E. Evolution of photosynthesis. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, p. 515-548, 2011.
- INAM, A. **A Laboratory manual of plant, physiology, biochemistry and ecology**. Jodhpur: Agrobios, 2012. 156p.
- KARP, G. The structure and function of the plasma membrane. **Cell and molecular biology: concepts and experiments**, 6th. Ed., New York: Wiley, 2009. 832 p.
- KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. 2^a. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 452p.

- KIRKHAM, M. B. **Principles of soil and plant water relations**, 2nd. Ed. New York: Academic Press, 2014. 598 p.
- KIRSCHBAUM, M. U. Direct and indirect climate change effects on photosynthesis and transpiration. **Plant Biology**, v. 6, n. 3, p. 242-253, 2004.
- KNIPLING, E. B. **Investigation of the Schardakow method for the measurement of diffusion pressure deficit**, Thesis, Duke University, 1963. 72 p.
- KRAMER, P. J.; BOYER, J. S. **Water relations of plants and soils**. London: Academic Press, 1995. 495 p.
- KYTE, L.; KLEYN, J.; SCOGGINS, H.; BRIDGEN, M. **Plants from test tubes: an introduction to micropropagation**. 4th. Ed. Portland: Timber Press, 2013. 272 p.
- LAIDLER, K. J.; MEISER, J.; SANCTUARY, B. C. **Physical chemistry**. 4th Ed., Salt Lake City: Brooks Cole, 2002. 1088 p.
- LAVERGNE, S. Biodiversity and climate change: integrating evolutionary and ecological responses of species and communities. **Annual Review Ecology and Evolution Systematic**, v. 41, p. 321-350, 2010.
- MACDOUGAL, D. T. **Experimental plant physiology**. Kyiv: Leopold Classic Library, 2015. 102 p.
- MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**, 3rd Ed. Amsterdam: Elsevier, 2011. 651 p.
- MARTIN, C.; SMITH, A. M. Starch Biosynthesis. **The Plant Cell**, v. 7, n. 7, p. 971-985, 1995.
- MEIDNER, H. **Class experiments in plant physiology**. Boston: George Allen & Unwin Hyman, 1984. 180 p.
- MELLANBY, K. **Air pollution, acid rain and the environment**. Dordrecht: Springer, 1988. 129 p.
- MILLAR, H.; WHELAN, J.; SOOLE, K. L.; DAY, D. A. Organization and regulation of mitochondrial respiration in plants. **Annual Review of Plant Biology**, v. 62, p. 79-104, 2011.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO **Regras para análise de sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 398 p.
- MOORE, T.C. **Research experiences in plant physiology: a laboratory manual**. 2nd Ed. Berlin Heidelberg: Springer. 1981. 348 p.
- MORISON, J. I. L.; MORECROFT, M. D. **Plant growth and climate change**. Oxford: Wiley-Blackwell. 2006. 232 p.
- MÜNCH, E. Dynamik der saftströmungen. **Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft**, v. 44, p. 68-71, 1926.
- NOWAK, J. **Postharvest handling and storage of cut flowers, florist greens, and potted plants**. Dordrecht: Springer, 1990. 210 p.
- OKPODU, C. M. **Investigating plant physiology laboratory manual**. Englewood: Morton Publishing Company, 2001. 112 p.
- PANSU, M.; GAUTHEYROU, J. **Cation exchange capacity**. In: Handbook of soil analysis. mineralogical, organic and inorganic methods. Berlin Heidelberg: Springer, 2006. 709-754 pp.
- PHILLIPS, I. D. J. Apical Dominance. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 26, p. 341-367, 1975.
- RADEMACHER, W. Growth retardants: effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 51, p. 501-531, 2000.
- ROBERTS, J. A. **Plant growth regulators**. New York: Springer, 1988. 190 p.

- 
- SAN PIETRO, A. G. **Experimental plant physiology**. Saint Louis: Mosby, 1974. 176 p.
- SMITH, H. Physiological and ecological function within the phytochrome family. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 46, p. 289-315, 1995.
- SMITH, J. H. C.; FRENCH, C. S. The major and accessory pigments in photosynthesis. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 14, p. 181-224, 1963.
- SMITH, R. H. **Plant tissue culture: techniques and experiments**. 3rd. Ed. San Diego: Academic Press, 2012. 208 p.
- SUTERA, S.P.; SKALAK, R. The history of Poiseuille's law. **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 25, p. 1-19, 1993.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MØLLER, I.M.; MURPHY, A. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. 6^a. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. 888 p.
- WAREING, P. F.; PHILLIPS, I. D. J. **Growth and differentiation in plants**. 3rd Ed. New York: Pergamon Press, 1981. 356 p.
- WAYNE, R. **Plant cell biology: from astronomy to zoology**. Amsterdam: Elsevier/Academic Press, 2009. 408 p.
- WELLBURN, A. **Air pollution and acid rain: the biological impact**. London: Longman Higher Education, 1988. 288 p.
- ZWEIG, G.; SHERMA, J. **Paper chromatography and electrophoresis**. New York: Academic Press, 1971. 614 p.

FISILOGIA VEGETAL

UMA ABORDAGEM PRÁTICA EM MULTIMÍDIA



Paulo H. P. Peixoto (Coord.)

