

**FISIOLOGIA VEGETAL:
UMA ABORDAGEM PRÁTICA**

Marcelo Francisco Pompelli
Mauro Guida dos Santos
Jarcilene Silva de Almeida-Cortez
Antônio Fernando Morais de Oliveira
(Organizadores)

FISIOLOGIA VEGETAL: UMA ABORDAGEM PRÁTICA

Recife – 2010

Editora
Universitária  UFPE

Universidade Federal de Pernambuco

Reitor: Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

Vice-Reitor: Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

Diretora da Editora: Prof^ª Maria José de Matos Luna

Editora associada à



Comissão Editorial

Presidente: Prof^ª Maria José de Matos Luna

Titulares: André Luiz de Miranda Martins, Artur Stamford, Christine Paulette Yves Rufino, Elba Lúcia C. de Amorim, Emanuel Souto da Mota Silveira, José Dias dos Santos, José Wellington Rocha Tabosa, Maria do Carmo de Barros Pimentel, Livia Suassuna, Marcos Gilson Gomes Feitosa, Marlos de Barros Pessoa, Sônia Souza Melo Cavalcanti de Albuquerque.

Suplentes: Alexandre Simão de Freitas, Arnaldo Manoel Pereira Carneiro, Augusto César Pessoa Santiago, Benício de Barros Neto, Bruno César Machado Galindo, Carlos Alberto Cunha Miranda, Carlos Sandroni, Ivandro da Costa Sales, José Gildo de Lima, Luiz Carlos Miranda, Vera Lúcia Menezes Lima, Zanoni Carvalho da Silva

Editores Executivos: Elba Lúcia C. de Amorim, Carlos Alberto Cunha Miranda, Renato Dornelas Câmara Neto.

Créditos

Revisão: Autores

Revisão linguístico-gramatical: Jéssica Cristina dos Santos Jardim

Capa e Projeto Gráfico: EdUFPE

Catálogo na fonte:

Biblioteca Josely de Barros Gonçalves, CRB4-1748

F537	Fisiologia vegetal : uma abordagem prática / organizadores Marcelo Francisco Pompelli ... [et al.]. – Recife : Ed. Universitária da UFPE, 2010. 116 p. : il. – (Coleção Livro-Texto). Vários autores. Inclui bibliografias. ISBN 978085-7315-841-0 (broch.) 1. Biologia – Estudo e ensino. 2. Fisiologia vegetal. 3. Ecofisiologia vegetal. . I. Pompelli, Marcelo Francisco (Org.). II. Santos, Mauro Guida dos (Org.). III. Almeida-Cortez, Jarcilene Silva de (Org.). IV. Oliveira, Antônio Fernando Morais de (Org.). V. Série.	
570.7	CDD (22.ed.)	UFPE (BC2011-012)

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS. Proibida a reprodução total ou parcial, por qualquer meio ou processo, especialmente por sistemas gráficos, microfílmicos, fotográficos, reprográficos, fonográficos e videográficos. Vedada a memorização e/ou a recuperação total ou parcial em qualquer sistema de processamento de dados e a inclusão de qualquer parte da obra em qualquer programa juscibernético. Essas proibições aplicam-se também às características gráficas da obra e à sua editoração.

COLEÇÃO LIVRO-TEXTO

A Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, pautada pelos princípios da democracia, transparência, qualidade e compromisso social, assume o Ensino Superior como um bem público e um direito de todos os cidadãos. Neste sentido, estimula a melhoria das condições de trabalho docente, a inserção de metodologias de ensino inovadoras e a articulação dos conhecimentos teóricos e práticos nas diferentes áreas do saber como instrumentos de promoção da formação científica, humanística e artística que prepare nossos estudantes para a intervenção na realidade, segundo o compromisso com o desenvolvimento integral e sustentável, a equidade e a justiça social.

Assim, a UFPE, por intermédio da Pró-reitoria para Assuntos Acadêmicos e a Editora Universitária, ofertam à comunidade acadêmica e à sociedade mais uma coleção da Série Livro-Texto, com o objetivo de contribuir para a formação da biblioteca básica do estudante de graduação e divulgação do conhecimento produzido pelos docentes desta Universidade.

Os livros desta coleção, que contemplam diferentes áreas do saber, foram selecionados segundo as condições estabelecidas no Edital de Apoio ao Ensino de Graduação, lançado em 2010, e representam o esforço dos docentes e da Universidade com a produção, sistematização e divulgação do conhecimento, um de seus principais objetivos.

É, portanto, com grande satisfação que apresentamos os livros: *Taxonomia como ferramenta para a representação do conhecimento em portais corporativos*, de Luciane Paula Vital (CAC); *Fisiologia vegetal: uma abordagem prática*, de Marcelo Francisco Pompelli, Mauro Guida dos Santos,

Jarcilene Silva de Almeida-Cortez & Antônio Fernando Morais de Oliveira (CCB); *Mecanismos articulados*, de José Maria Bezerra Silva (CTG); *Teorias e práticas em avaliação*, de Fátima Maria Leite Cruz (CE); *República Brasileira em debate*, de Socorro Ferraz & Bartira Ferraz; *Novos contextos da saúde do adolescente: uma abordagem multidisciplinar*, de Ednaldo Cavalcante de Araújo & Ana Márcia Tenório de Souza Cavalcanti (CCS); *Temas em educação: diálogos contemporâneos*, de Alexsandro da Silva & Conceição Gislane de Lima Salles (CAA).

Recife, dezembro de 2010.

Ana Maria Santos Cabral

APRESENTAÇÃO

As disciplinas de fisiologia vegetal e ecofisiologia vegetal, como outras tantas nas ciências biológicas e biomédicas, demandam uma certa dedicação por parte do aluno e atitudes inovadoras por parte do professor. Neste sentido, para a obtenção de êxito na disciplina, deve haver uma harmonia entre a parte teórica, apresentada em sala de aula, e a parte prática, desenvolvida no laboratório. A aula teórica é de suma importância; mas, é no laboratório que o aluno tem a oportunidade de vivenciar aquele conteúdo na prática. Só assim, de forma integrada, conteúdo e prática, que se constrói um conhecimento científico / pedagógico viável e harmônico.

Dentro deste prisma é que se pensou neste livro, que nada mais é do que uma síntese do que já havia sendo praticado desde a criação do curso de Ciências Biológicas modalidade Bacharelado, na década de 1970, a partir do já extinto curso de História Natural. Para este livro, todas as práticas que já vinham sendo realizadas foram atualizadas e outras novas foram inseridas, de forma a propiciar ao aluno um ensino / aprendizagem mais integrado com a prática e com a profissão de biólogo.

Esperamos que esse livro, em sua primeira edição, sirva aos seus propósitos e que possamos, em breve, atualizar ainda mais as práticas, tornando-as parte fundamental do curso e que dele não possam mais ser dissociadas.

Os autores

PREFÁCIO

É com grande satisfação que aceitei o convite para elaborar o prefácio do livro “Fisiologia Vegetal: Uma abordagem prática”, para ser adotado nas disciplinas de Fisiologia Vegetal e Ecofisiologia Vegetal, do curso de graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). A obra está muito bem estruturada, seguindo o conteúdo das aulas teóricas ministradas nas disciplinas. Os autores destacam vinte e cinco práticas, subdivididas em seis seções: relações hídricas; nutrição mineral; fotossíntese e respiração mitocondrial; metabólitos secundários de plantas; germinação de sementes e fito-hormônios e o desenvolvimento vegetal. Para cada prática, foram escolhidas as plantas, bem como equipamentos de fácil manuseio, além de questões para verificação da aprendizagem e auxiliar o aluno na realização do relatório.

Ao ler este livro sobre práticas de fisiologia vegetal, me veio à mente o ano de 1966, quando os Professores Geraldo Mariz e Janduhy Moreira Leite tiveram a feliz iniciativa de elaborar um “Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal”, publicado pela Imprensa Universitária, Recife – PE. Esse Manual foi realizado com a mesma finalidade: de atender aos alunos da disciplina Fisiologia Vegetal do curso de graduação em História Natural da Faculdade de Filosofia da UFPE, tendo como Professor Titular o médico Valdemar de Oliveira.

Na condição de docente da UFPE, desde 1969, assumi a referida disciplina em 1982, depois da pós-graduação na Universidade de São Paulo, capital, com o mestrado (1976) na área de Fisiologia Vegetal e o doutorado (1981) na área de Ecofisiologia Vegetal, estendendo-se até 2004, com a minha aposentadoria.

De 1986 a 1996, o Professor Severino do Monte Prazeres e, de 1997 a 2007, a Professora Eliana Simabukuro colaboraram com a disciplina, o primeiro com mestrado em Botânica, área de Fisiologia Vegetal, pela Universidade Federal Rural de Pernambuco e a segunda com doutorado na área de Fisiologia de Criptógamos, pela Universidade de Campinas, São Paulo. A partir de 2006, os professores Mauro Guida dos Santos e Marcelo Francisco Pompelli passaram a ministrar a disciplina.

Finalizo recomendando esse livro para os alunos de graduação em Ciências Biológicas da UFPE, bem como de outras instituições de ensino superior do país, tendo em vista que publicações dessa natureza são importantíssimas para a preparação do aluno, tanto no aprendizado de técnicas como no desenvolvimento da experimentação pela prática do método científico, fundamentais à formação do futuro profissional.

Dilosa Carvalho de Alencar Barbosa

Sumário

RECOMENDAÇÕES PARA AS PRÁTICAS	13
REGRAS PARA A ELABORAÇÃO DE RELATÓRIOS	15
1. SEÇÃO RELAÇÕES HÍDRICAS	17
2. SEÇÃO NUTRIÇÃO MINERAL	37
3. SEÇÃO FOTOSSÍNTESE E RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL	43
4. SEÇÃO METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS	79
5. SEÇÃO GERMINAÇÃO DE SEMENTES	93
6. SEÇÃO FITORREGULADORES E O DESENVOLVIMENTO VEGETAL	103
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	115

Recomendações para as Práticas

O laboratório de práticas em fisiologia vegetal, a exemplo de outros laboratórios didáticos, demanda certa organização para seu bom funcionamento. É recomendado que os alunos frequentem o laboratório portando a bata, o material recomendado para as aulas e esse manual. A ausência de um dos materiais acima será considerada falta grave às regras.

Para cada uma das práticas, foram traçados objetivos específicos, com metas a serem cumpridas; então, recomenda-se que os alunos leiam atentamente o protocolo das práticas, antes de executá-las. Os experimentos são, em geral, realizados em grupos, portanto, a divisão equitativa das tarefas faz parte do bom funcionamento das práticas.

Em cada uma das práticas foram estabelecidos pontos a serem apresentados na redação do relatório. Sendo assim, recomenda-se que os alunos tomem nota de todos os procedimentos em sala de aula, inclusive as possíveis modificações propostas no momento das execuções, os resultados e as possíveis explicações apresentadas pelo professor e pelos monitores. Tais informações serão fundamentais quando da elaboração do relatório de aula prática. Assim, quaisquer dúvidas sobre as práticas devem ser sanadas com o professor ou mesmo com os monitores da disciplina antes do findar da mesma, ou então na próxima aula.

Ao final de cada prática, os alunos deverão deixar as bancadas limpas e organizadas, bem como todo o material utilizado limpo.

Para melhorar as práticas, é indispensável que os alunos adquiram os seguintes materiais e os tragam em todas as aulas práticas:

1 caderno de laboratório onde serão anotados os resultados das práticas;

1 estilete de ponta reta;

1 pinça;

1 régua de plástico de 30 cm ou mais;

1 paquímetro pequeno (pode ser adquirido em conjunto);

1 caixa de lâmina de barbear tipo “Gillete”;

1 caneta para marcação de CDs;

1 lápis preto;

1 borracha branca macia.

Regras para a elaboração dos relatórios

O relatório deve conter: *(i)* introdução integrada com o assunto da prática em questão, com, no máximo, duas páginas; *(ii)* objetivos específicos de cada prática, que devem acompanhar a introdução, ou mesmo em item à parte; *(iii)* material e métodos, onde é apresentada a metodologia utilizada na execução do experimento; *(iv)* resultados, que devem trazer apenas dados obtidos no experimento, preferencialmente apresentados na forma de gráficos, tabelas ou esquemas; *(v)* discussão, que deve apresentar as possíveis explicações para os fatos observados, bem como a forma com que a literatura pertinente tem tratado tais acontecimentos; *(vi)* referências bibliográficas, onde serão listadas apenas aquelas que foram citadas ao longo do relatório. Em um bom relatório, a citação consistente de oito referências bibliográficas é considerada adequada.

Adicionalmente, pode-se apresentar um item “Agradecimentos”, no qual o grupo agradece a uma pessoa, ou grupo de pessoas extras que auxiliou na interpretação dos dados ou na discussão.

Em todas as práticas descritas neste manual, há questões que deverão ser respondidas ao longo do relatório. As questões, entretanto, não serão respondidas como questionário, porém suas respostas devem estar inseridas no escopo do trabalho.

O relatório deve ser escrito em português formal, em fonte e tamanho compatível com o trabalho (aconselham-se Times New Roman ou

Arial, tamanho 12). O espaçamento entre as linhas deverá ser de 1,5 pontos.

Um fato que deve ser chamado à atenção é quanto à citação de bibliografias. Cite no seu relatório apenas as bibliografias que você realmente leu, evitando copiar termos e citações que outros autores utilizaram em seus trabalhos. Para tanto, aconselha-se a utilização de materiais de boa qualidade, como aqueles apresentados nas principais revistas nacionais e internacionais sobre o assunto (*e.g.* Brazilian Journal of Plant Physiology, Pesquisa Agropecuária Brasileira, Acta Botânica Brasílica, Revista Brasileira de Botânica, Journal of Plant Physiology, Environmental and Experimental Botany, Journal of Experimental Botany, Biologia Plantarum, Physiologia Plantarum). Essas revistas estão disponíveis *online* e podem ser acessadas por meio eletrônico através do site <http://scholar.google.com.br/schhp?hl=pt-BR>, porém o acesso está liberado apenas em computadores da UFPE ou naqueles que obtiveram acesso junto ao NTI.

01

Seção RELAÇÕES HÍDRICAS

Profº Dr. Marcelo Francisco Pompelli
Gilmara Martini Pompelli

Em boa parte da superfície terrestre, onde as temperaturas permitem o crescimento vegetativo, a ocorrência de árvores é controlada, principalmente, pelo suprimento de água fornecido às culturas. No cerrado e na caatinga, biomas brasileiros, bem como nos desertos e nas savanas, especialmente africanos, as árvores que ali ocorrem, em geral, suportam certa tolerância à falta de água, porém a distribuição sazonal destas plantas está condicionada à distribuição das chuvas de forma regular. Os demais biomas do planeta suportam somente uma leve falta de água, sendo esta fundamental para o estabelecimento das populações. Um adequado equilíbrio hídrico é essencial para as relações fotossintéticas e demais processos bioquímicos necessários à vida. Um fator importante nas relações hídricas, é a manutenção de uma quantidade suficiente de água para sustentar o turgor das células vegetais, assegurando o funcionamento normal dos processos fisiológicos e bioquímicos envolvidos no crescimento vegetativo. Assim, o significado ecológico da água está intimamente relacionado com a fisiologia e as relações hídricas.

Esta seção é composta por cinco práticas com o objetivo central de apresentar ao aluno noções básicas de relações hídricas nas plantas e sua importância ecofisiológica.

AULA PRÁTICA 1

DÉFICIT HÍDRICO EM PLANTAS DE MILHO E FEIJÃO

Introdução

A água, substância indispensável para a vida dos organismos vivos, está presente em abundância nas células vegetais, ocupando cerca de 90% do volume celular. Chega a constituir 80 a 95% da massa dos tecidos vegetais em crescimento. Numa planta, tanto o crescimento quanto o desenvolvimento e a translocação de fotoassimilados encontram-se ligados à disponibilidade hídrica do solo. No processo de fotossíntese, a falta de água influencia na deposição de matéria seca, limitando a disponibilidade de CO_2 e os processos de alongamento celular.

A água possui muitas propriedades incomuns, que são críticas para a vida: é um bom solvente, além de possuir alta tensão superficial ($0,07198 \text{ N m}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$). A água pura tem sua maior densidade a $3,984^\circ\text{C}$: $999,972 \text{ kg m}^{-3}$ (aproximadamente 1 kg m^{-3}) e tem valores de densidade menores com o abaixamento da temperatura, fato distinto do que ocorre com a elevação da mesma. Por ser uma substância estável na atmosfera, desempenha um papel importante como absorvente da radiação infravermelha, crucial no efeito estufa da atmosfera. Além disso, a água possui um calor específico peculiarmente alto ($75,327 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$), e desempenha um grande papel na regulação da temperatura e do clima globais. A água dissolve vários tipos de substâncias polares e iônicas, como sais e açúcares, facilitando a interação química entre as diferentes substâncias fora e dentro dos organismos vivos (metabolismos complexos).

Apesar disso, algumas substâncias não se misturam bem com a água, incluindo óleos e gorduras, podendo ser classificadas como insolúveis e, em alguns casos, hidrofóbicas. As membranas celulares, compostas por lipídios e proteínas, levam vantagem das propriedades hidrofóbicas para controlar as interações entre os seus conteúdos e o meio externo.

Os processos fisiológicos de importância para o vegetal são fortemente dependentes da condição hídrica da célula. Para cada grama de matéria orgânica produzida pela planta, aproximadamente 500 gramas de água são absorvidos pelas raízes, transportados através do corpo da planta e perdidos para a atmosfera.

Em se tratando de água na planta, é cabível apresentar que o potencial hídrico da folha descreve o estado energético dela, cujos gradientes explicam os fluxos da água no sistema solo-planta-atmosfera. Embora haja variação ao longo do dia, mesmo em plantas irrigadas, esse parâmetro descreve o estado hídrico da planta e tem sido muito utilizado em estudos das relações hídricas dos vegetais. Neste sentido, os estudos de déficit hídrico têm importância fisiológica e agrônômica.

Objetivos específicos desta prática

Demonstrar a importância da água para a planta, apresentando os efeitos biológicos da sua deficiência.

Identificar as principais características biológicas dos diversos tipos de plantas quando submetidas a graus diferenciados de hidratação do solo.

Materiais utilizados

- potes plásticos 120 mL;
- grãos de milho (*Zea mays* L.) e sementes de feijão (*Vigna unguiculata* L.);
- água desionizada ou destilada;
- areia para plantio das sementes;
- material comum de laboratório, descrito no início deste livro.

Tratamentos

- plantas de feijão irrigadas cinco vezes por semana;
- plantas de feijão irrigadas três vezes por semana;

- plantas de feijão irrigadas uma vez por semana;
- plantas de milho irrigadas cinco vezes por semana;
- plantas de milho irrigadas três vezes por semana;
- plantas de milho irrigadas uma vez por semana.

Procedimentos

Sementes de feijão e grãos de milho serão selecionados, com a finalidade de padronizar seus tamanhos e morfologia externa. Cinco sementes por repetição serão plantadas, pelo menos 10 dias antes da instalação dos experimentos, em potes plásticos de 120 mL e irrigadas três vezes por semana.

Na data programada da aula, os alunos receberão seis potes com cinco e, destas, serão selecionadas apenas duas por pote, sendo as demais cortadas na base, com auxílio de uma lâmina de barbear.

Na montagem dos experimentos, serão avaliadas as seguintes características: (i) altura total da planta; (ii) número de folhas verdadeiras; (iii) área foliar das folhas verdadeiras; (iv) diâmetro do colo a 2 cm do solo. Para a estimativa da área foliar (AF), as folhas verdadeiras terão sua largura e comprimento medidos com o auxílio de uma régua. De posse destes valores, serão aplicadas as fórmulas propostas por Lima *et al.* (2008) e por Argenta *et al.* (2002) para folhas de feijão caupi e milho, respectivamente, a saber, $AF = 0,99 \times (C \times L)^{0,91}$ e $AF = C \times L \times 0,75$; onde C e L representam comprimento e largura, respectivamente.

Cada grupo ficará responsável por um tratamento de regime hídrico, e para este deve dar seguimento. Após a avaliação no tempo zero, os potes serão umedecidos e transferidos para a casa de vegetação, onde serão irrigados com 50 mL de água nas datas pré-determinadas.

Transcorridos sete dias da implantação dos experimentos, os potes serão novamente encaminhados ao laboratório, onde passarão por nova avaliação, esta denominada avaliação aos sete dias, na qual serão avaliados todos os itens

acima mencionados, além do teor relativo de água (TRA) em fragmentos foliares. Para a estimação do TRA, três fragmentos (1 cm²) serão retirados de uma folha em cada pote, tendo sua massa fresca (M_F) total aferida. Em seguida, os fragmentos serão embebidos em água desionizada por 1 hora, sendo novamente pesados, perfazendo a massa túrgida (M_T) e, posteriormente, os discos serão secos em estufa por 48 horas e novamente pesados, perfazendo a massa seca (M_S). Para o cálculo do TRA, será utilizada a seguinte fórmula:

$$TRA = \frac{M_F - M_S}{M_T - M_S} \times 100$$

Ao final de 15 dias, o experimento será finalmente desmontado, sendo as plantas, então, avaliadas. Ao proceder-se à última avaliação, as plantas serão segmentadas em parte aérea (PA) e sistema radicular (SR). Neste momento, as massas frescas e secas, da PA e do SR serão aferidas. Com os valores das massas secas será calculada a razão PA:SR, dividindo-se um valor pelo outro.

Os dados dos diferentes tratamentos deverão ser compartilhados entre os grupos e os dados, apresentados em tabelas e gráficos.

Para confecção do relatório, usar as normas estabelecidas no início deste caderno.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Houve sinais visíveis de deficiência hídrica em algum grupo de plantas? Se sim, quais? Como você explicaria tal fato?
- 2) A razão PA:SR foi diferente entre os seis grupos de plantas? Se sim, discuta os valores.
- 3) Qual a informação fisiologicamente importante que o TRA dos fragmentos foliares podem nos fornecer?

AULA PRÁTICA 2

ÁGUA NA CÉLULA VEGETAL E DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL OSMÓTICO PELO MÉTODO DE SCHARDAKOW

Introdução

Na maioria dos processos fisiológicos nos vegetais, o conhecimento do grau de saturação hídrica das células é de suma importância, mas estas nem sempre se encontram inteiramente saturadas, o que acarreta a formação de forças motoras para o fluxo de água através de tecidos ou órgãos da planta.

Diversas relações têm sido apresentadas entre o estado hídrico de uma célula ou tecido e a energia livre da água. Esta energia é afetada por diversos fatores físicos e químicos ou meramente mecânicos. A concentração de solutos no vacúolo determina o potencial osmótico (Ψ_s), enquanto a pressão hidrostática, condicionada pela parede celular, determina o potencial de pressão (Ψ_p). O potencial mátrico ou matricial (Ψ_m) é afetado pela quantidade de coloides ou de estruturas micelares da parede celular. Todos esses elementos compõem o potencial hídrico total (Ψ_w) da célula ou tecido, que, em última instância, significa dizer que sua capacidade de ganhar ou perder água está sob estas condições físico-químicas.

A mensuração da atividade metabólica de um tecido vegetal é afetada pelo *status* energético da água nos seus tecidos. Devido a isso, e levando-se em consideração que as moléculas de água se movem através de um gradiente de potencial osmótico, torna-se importante a determinação do *status* energético da água nos diferentes tecidos vegetais ou mesmo em determinados pontos da planta. O *status* energético das moléculas de água, nas células vegetais e nos tecidos, foi expresso, durante muitos anos, pelo déficit de pressão de difusão, termo que atualmente já caiu em desuso. A maneira, atualmente, correta de expressar o potencial químico da água é dada pelo potencial osmótico (Ψ_s).

O potencial químico da água pode ser determinado mais acuradamente pela medição do ponto de equilíbrio do vapor de água. Outros métodos têm sido descritos para a estimativa do potencial osmótico de um tecido vegetal, porém, em todos eles, há dificuldades que tornam os métodos pouco atrativos, fato que, muitas vezes, envolve um controle preciso da temperatura do sistema, o que dificulta, e muito, as medições.

Schardakow (ver KNIPLING, 1967) desenvolveu um método fácil e prático para determinação do potencial osmótico de um tecido vegetal. O método se baseia na facilidade de se medir o potencial osmótico de uma solução pela mensuração das mudanças específicas na gravidade de uma solução. Este método elimina a necessidade de grandes equipamentos ou mesmo controle preciso da temperatura do sistema. Como todo método, tem suas limitações, quando se pretende uma análise rápida, a técnica de Schardakow se torna muito útil.

Objetivos específicos desta prática

Determinar o potencial osmótico de um tecido foliar pelo método densimétrico proposto por Schardakow.

Materiais utilizados

- soluções de sacarose de 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 mM;
- tubos de ensaio grandes;
- tubos de ensaio pequenos;
- cristais de azul de metileno;
- pipetas de ponta capilar (pipeta Pasteur);
- material comum de laboratório, descrito no início deste livro;
- folhas de *Tradescantia* sp. ou *Coleos blumei*.

Procedimentos

Prepare 1 L de uma solução de sacarose a 1 molar, pesando 342 g, e dissolva os cristais, primeiramente, em 500 mL de água e, depois, completando

para 1 L. Em seguida, dilua a solução, recém-preparada, na seguinte bateria de concentrações: 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500 mM. Para tanto, utilize a fórmula $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$, onde M_1 é a concentração da solução inicial (1 M), V_1 é o volume que você precisa pipetar da solução inicial para obter a concentração desejada, M_2 é a concentração desejada e V_2 , o volume de solução a ser preparada, no nosso caso, 10 mL de cada concentração. Veja um exemplo, abaixo:

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1M \times V_1 = 0,1M \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1}{1} \Rightarrow V_1 = 1 \text{ mL, ou seja, utilize 1 mL da solução inicial mais 9 mL de água desionizada para a concentração de 100 mM}$$

Coloque cerca de 2 mL de cada uma das soluções de sacarose 100, 150, 200... 500 mM em tubos de ensaio grandes e a mesma série paralela de soluções, em tubos de ensaio pequenos.

Do material vegetal indicado, tome pequenos fragmentos (cortados com lâmina de barbear ou tesoura) e coloque-os em cada um dos tubos de ensaio grandes até nivelar os 2 mL das soluções de sacarose.

Após 1 hora, coloque um pequeno cristal de azul de metileno em cada tubo grande e agite, a fim de colorir as soluções que estavam em contato com os fragmentos.

Com o auxílio de uma pipeta de ponta capilar, recolha um pouco de cada solução colorida e solte, lentamente, uma gota no meio da solução de igual concentração que permaneceu sem fragmentos nos tubos de ensaio pequenos.

Observe, contra uma fonte de iluminação, se a gota se desloca para cima, para baixo, ou permanece mais ou menos estacionada (*i.e.* se o potencial osmótico do material estudado for superior, inferior ou igual ao da solução padrão). Caso a gota colorida não permaneça estacionada em nenhuma das soluções, pode-se repetir o ensaio, utilizando uma série de soluções cujas concentrações

sejam intermediárias entre as concentrações em que a gota desceu e subiu, respectivamente.

Determine o potencial hídrico do tecido em MPa, consultando a tabela a seguir, que relaciona as molaridades das soluções de sacarose às suas pressões osmóticas.

Tabela 1: Pressões osmóticas* de soluções molares de sacarose a 20°C (em –MPa)

Molaridades	Segundas Decimais									
	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,000	0,026	0,054	0,080	0,107	0,134	0,161	0,187	0,214	0,241
0,1	0,267	0,295	0,321	0,347	0,375	0,401	0,427	0,454	0,481	0,508
0,2	0,536	0,564	0,594	0,622	0,650	0,679	0,707	0,736	0,765	0,794
0,3	0,823	0,852	0,882	0,912	0,941	0,970	1,000	1,033	1,064	1,094
0,4	1,124	1,155	1,185	1,226	1,256	1,287	1,317	1,347	1,388	1,418
0,5	1,449	1,479	1,520	1,550	1,580	1,621	1,661	1,692	1,732	1,763
0,6	1,803	1,834	1,874	1,915	1,945	1,985	2,026	2,067	2,097	2,137
0,7	2,178	2,218	2,259	2,300	2,340	2,380	2,411	2,462	2,502	2,543
0,8	2,583	2,634	2,674	2,715	2,755	2,796	2,836	2,877	2,917	2,968
0,9	3,009	3,059	3,110	3,150	3,201	3,252	3,302	3,353	3,404	3,454
1,0	3,505	3,556	3,616	3,667	3,718	3,768	3,819	3,870	3,930	3,981

* O potencial osmótico de uma solução é calculado a partir da equação de van't Hoff: $\Psi_s = -ciRT$, onde c significa concentração, i a constante de dissociação (1, no caso da sacarose), R a constante dos gases perfeitos ($0,0802 \text{ litro atm}^{-1} \text{ mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) e T a temperatura absoluta medida em Kelvin ($1 \text{ K} = ^\circ\text{C} + 273$). O sinal negativo indica que os solutos dissolvidos sempre reduzem o potencial osmótico de uma solução qualquer em comparação com o estado de água pura.

Os resultados dos diferentes grupos deverão ser compartilhados e os dados, apresentados em tabelas e gráficos. Proceder ao relatório como anteriormente apresentando.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual o fundamento do método de Schardakow de determinação do potencial osmótico de tecidos vegetais? Ele é totalmente preciso? Se não, quais as limitações?
- 2) Por que o método de Schardakow, de determinação do potencial osmótico, é também denominado de método densimétrico?
- 3) Quais as vantagens e desvantagens do método densimétrico na determinação do potencial osmótico de tecidos vegetais?
- 4) Qual é a função do azul de metileno nessa prática? Se o tecido usado fosse de beterraba, haveria necessidade desse corante?

AULA PRÁTICA 3

VELOCIDADE DE EMBEBIÇÃO DE ÁGUA EM SEMENTES DESIDRATADAS

Introdução

Para a quase totalidade das espécies cultivadas, o período compreendido entre a semeadura e a emergência das plântulas representa uma das fases críticas do ciclo de vida das mesmas, de modo que a uniformidade e a porcentagem de emergência assumem grande importância na produção e qualidade final do produto. A água é o fator que exerce a mais determinante influência sobre o processo de germinação, devendo estar disponível para as sementes em quantidade e qualidade adequadas.

As sementes apresentam baixos potenciais hídricos em relação ao meio, por isso absorvem água. A água penetra através do tegumento da semente e difunde-se por todos os tecidos, provocando a turgescência das células, o que torna o tegumento mais permeável às trocas gasosas e proporciona aumento da atividade respiratória e de todos os outros eventos metabólicos necessários à retomada do crescimento do eixo embrionário (BEWLEY, 1997).

A absorção de água pela semente provoca, ainda, um aumento do seu volume, forçando o rompimento do tegumento e facilitando a emergência das estruturas internas da semente, as quais não teriam força suficiente para rompê-lo. Entretanto, por conta dos diferentes tipos de tegumentos, ocorrem variações na velocidade de embebição, assim como na capacidade de saturação hídrica. Outro fato que influencia na capacidade de captação de água é a quantidade de endosperma; em geral, quando há pouco endosperma, a embebição é menor.

Inicialmente, a semente absorve água num comportamento do tipo exponencial, em consequência da grande diferença de potencial hídrico entre a semente e o meio líquido. Posteriormente, a velocidade de embebição da semente diminui e o padrão é modificado (Pompelli *et al*, 2000b). Em geral, observa-se, em sementes típicas, um padrão trifásico de absorção de água e hidratação. Porém, o padrão trifásico nem sempre pode ser caracterizado, pois um grande intervalo entre as pesagens pode fazer com que se percam pontos de inflexão da curva de absorção, que caracterizam cada fase.

Objetivos específicos desta prática

Verificar como o tegumento e a quantidade de endosperma interferem na velocidade de embebição de sementes;

Construir gráficos comparativos entre as espécies e seus respectivos tempos de embebição.

Materiais utilizados

- potes plásticos 120 mL;
- sementes de flor-de-seda (*Calotropis procera*), ameixa vermelha (*Prunus* sp.); algodão (*Gossypium hirsutum* L.), graviola (*Anona muricata*) e uva (*Vitis vinifera*) ou outra espécie aconselhada pelo professor no momento da prática;
- frascos de vidro;
- água desionizada ou destilada;

- papel higiênico absorvente;
- balança analítica;
- papel milimetrado para confecção dos gráficos.

Procedimentos

No início da aula, as sementes das diferentes espécies serão entregues aos alunos pelo professor. De posse das sementes, deve-se proceder a uma seleção prévia, descartando as que apresentarem algum sintoma de má formação e padronizando o tamanho e coloração das mesmas. As sementes selecionadas serão agrupadas em cinco grupos de 10 sementes (ou conforme indicação do professor).

Cada grupo de semente (aqui denominado de repetição) será pesado, tendo sua massa fresca anotada. Em seguida as sementes serão mergulhadas em água desionizada por 0, 30, 60, 120 e 240 minutos, além de 24, 48, 72 e 96 horas. Em cada um dos tempos definidos, as sementes serão retiradas da água, enxugadas com papel absorvente e novamente pesadas.

As massas das sementes serão apresentadas numa tabela, conforme o modelo abaixo:

Tabela 2: Velocidade de embebição de sementes de Flor-de-seda (*Calotropis procera*)

Tempo (horas)	Massa média dos 5 grupos de 10 sementes (g)	Volume de água embebido (g H ₂ O g ⁻¹ MF)
0	0,220	0
0,5	0,322	0,461
1	0,346	0,572
2	0,396	0,800
4	0,420	0,987
24	0,476	1,163
48	0,501	1,273
72	0,549	1,194
96	0,560	1,545

Para o cálculo do volume de água embebido em cada tempo, será utilizado a fórmula proposta por Ferreira *et al.* (2008), a saber:

$VE = \frac{(t_2 - t_1)}{t_1}$, onde VE significa volume embebido, t_2 a massa no tempo atual e t_1 a massa no tempo zero antes da embebição. Os valores do VE deverão ser expressos em gramas de água embebida por grama de semente fresca ($\text{g H}_2\text{O g}^{-1}\text{ MF}$).

Os dados deverão ser apresentados em gráficos construídos manualmente em papel milimetrado (veja modelo abaixo) e discutidos amplamente com os resultados dos demais grupos, com consulta a bibliografias pertinentes.

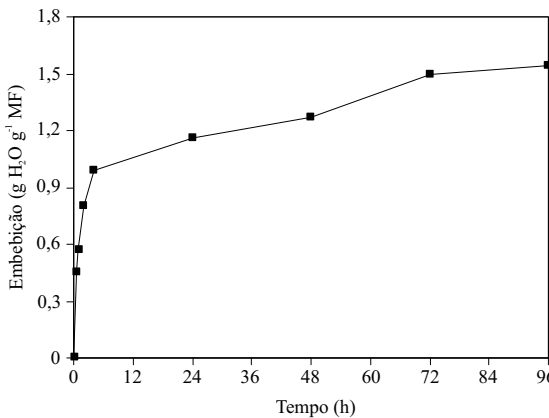


Figura 1: Velocidade de embebição de sementes de Flor-de-seda (*Calotropis procera*). Perceber que neste caso as sementes apresentam uma curva trifásica de absorção de água.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual o padrão de embebição dos diferentes tipos de sementes (bifásico, trifásico ou indefinido)?
- 2) Houve diferença no tempo de embebição das diferentes espécies? Por que isso ocorreu? Para responder a essa pergunta, leve em consideração a natureza do endosperma e da testa de cada tipo de semente.

AULA PRÁTICA 4

MENSURAÇÃO DA TRANSPIRAÇÃO EM PLANTAS

Introdução

A perda de água, na forma de vapor, pelas plantas através das folhas é chamada transpiração. A folha está em contato com o solo através do seu sistema vascular. Quando a umidade relativa do ar está alta e sem vento, a transpiração é baixa, mas quando a umidade do ar está baixa e há vento, a transpiração é elevada. A perda de vapor de água se dá por intermédio dos estômatos, pequenas aberturas presentes na epiderme das folhas.

Em ambientes desérticos ou mesmo em ambientes mais secos, como é o caso da caatinga, a transpiração é de fundamental importância para o resfriamento as folhas. Ela também está intimamente ligada com a fotossíntese, pois com o potencial hídrico formado, a água ascende pelo xilema, da raiz até as folhas, onde será utilizada na fotossíntese e em outros processos metabólicos.

Entretanto, a transpiração está intensamente relacionada com a abertura dos estômatos. Como eles se abrem ao amanhecer, a taxa de transpiração também aumenta com o decorrer do dia, atingindo seu máximo no final da manhã ou início da tarde, diminuindo até ficar com uma taxa baixa, durante o período noturno, quando os estômatos estão fechados. Esse padrão de abertura estomática pode ser alterado em função das condições edafoclimáticas do ambiente ou mesmo do metabolismo fotossintético desenvolvido pela planta em questão. Entretanto, de modo comum, quando a umidade relativa do ar é baixa, a transpiração tende a aumentar por conta do gradiente de potencial hídrico formado. Porém, esse fator aumenta com o aumento da temperatura. Portanto, para medirmos a transpiração em relação à umidade do ar, precisamos levar em consideração a temperatura. Em condições ideais de água, se a temperatura aumentar, pode-se observar um aumento na transpiração, pois a temperatura causa um efeito sobre o potencial hídrico. Porém, se o ar estiver

saturado de água e a folha apresentar uma temperatura superior à do ambiente, a planta continua transpirando. Os estômatos normalmente se fecham quando há pouca água no solo, diminuindo a absorção de CO_2 e a transpiração, para evitar a desidratação. Além disso, o movimento do ar (vento) sobre a folha também interfere na velocidade e intensidade de transpiração, pois retira o vapor de água presente na superfície, promovendo o aumento da transpiração. Assim, quando a velocidade dos ventos é alta, os estômatos costumam se fechar, mesmo havendo água no solo.

O conhecimento do volume de água utilizado no processo de transpiração é fundamental no manejo de irrigação localizada e fertirrigação, resultando em uma maior eficiência de uso de água e fertilizantes, com redução das perdas por evaporação e por drenagem, garantindo produtividade e redução no risco ambiental. Sendo assim, o conhecimento, mesmo que incipiente, da intensidade de transpiração, é de fundamental importância para a fisiologia vegetal.

Objetivos específicos desta prática

Mensurar a taxa de transpiração de uma planta a pleno sol e sob sombra e discutir o papel da água no controle da temperatura foliar.

Materiais utilizados

- sacos plásticos de 2 L;
- balança analítica;
- material comum de laboratório, descrito no início deste livro.

Procedimentos

Cada grupo, previamente definido, deve pesar, em balança analítica, seis saquinhos plásticos vazios e anotar seus respectivos valores no próprio saco plástico, ou em planilha à parte.

Deve-se escolher, no jardim do CCB, uma planta que possua folhas expostas a pleno sol e folhas expostas à sombra. Posteriormente, devem-se envolver completamente três folhas terminais de um ou mais ramos. Não se esquecer de

amarrar bem os saquinhos para evitar a entrada de água da atmosfera/chuva nos mesmos.

Os sacos plásticos devem ser deixados na planta por um período de 24 horas, quando devem ser recolhidos com cuidado e, novamente, pesados em balança analítica.

Em seguida, deve-se recolher a folha utilizada e mensurar sua massa fresca.

De posse do peso inicial e final dos saquinhos, proceder ao seguinte cálculo: $M_a = M_f - M_i$, onde: M_a significa massa de água acumulada, M_f , a massa do saquinho no tempo final e M_i , a massa do saquinho no tempo inicial. O valor encontrado é a massa de água que o saquinho acumulou naquele intervalo de tempo, que representa a quantidade de água que a planta transpirou naquele mesmo intervalo.

Após quantificar a massa de água transpirada, deve-se dividir aquele valor por 24 horas e pelo peso fresco da folha em questão. O resultado será expresso em gramas de água transpirada por hora por grama de matéria fresca ($\text{g H}_2\text{O transpirada h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$).

Apresente os dados numa tabela, comparando os dados das folhas expostas ao sol e à sombra e das diferentes espécies de plantas utilizadas pelos diferentes grupos.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) A taxa de transpiração das plantas de sol e de sombra foi diferente? A que você atribui isso?
- 2) O experimento foi feito durante 24 horas, período ao qual inclui uma noite, onde a taxa de transpiração é bem menor ou quase nula. Sendo assim, é provável que nossos valores estejam sendo subestimados. Como

você sugeriria que o experimento fosse realizado então, com vistas a termos uma taxa de transpiração (apresentada em $\text{g H}_2\text{O transpirada h}^{-1} \text{g}^{-1} \text{MF}$) mais confiável?

- 3) Faça um esquema do mesofilo de uma folha caracteristicamente de sol e outra caracteristicamente de sombra.

AULA PRÁTICA 5

VISUALIZAÇÃO DO EFEITO DA GUTAÇÃO EM PLANTAS DE MILHO JOVENS

Introdução

Já estudamos anteriormente que a transpiração é o processo pelo qual a água que ascendeu pelo xilema é perdida para a atmosfera de acordo com um gradiente de potencial hídrico. Neste sentido, a atmosfera, que, em geral, apresenta valores de potencial hídrico muito negativos (na ordem de -20 a -30 MPa), puxa a água dos tecidos vegetais.

É por meio dos estômatos que o vapor de água é perdido para a atmosfera em troca do gás carbônico para a fotossíntese. Já vimos também que os estômatos são formados por duas células epidérmicas especiais que, na sua junção, formam um espaço – o poro estomático (ostíolo). Na medida em que o turgor das células se eleva, em função da captação de água das células vizinhas, o poro estomático se abre. Efeito contrário ocorre quando a água é perdida para a atmosfera, e os sais que antes provocaram a captação de água pelas células estomáticas são translocados para as células adjacentes.

Entretanto, há um tipo especial de estômatos que perderam a capacidade de abrir e fechar, permanecendo o tempo todo abertos; estas estruturas são denominadas de hidatódios, que se localizam em geral nos bordos de plantas herbáceas.

Em dias frios e úmidos, estando o solo bem hidratado, as raízes absorvem água e esta pode ascender pelo xilema por pressão radicular. Após saturar as células da planta, a água, não podendo ser evaporada porque os estômatos estão fechados, sai pelos bordos da folha através dos hidatódios. Fenômeno este denominado sudação ou gutação.

A gutação é um processo comum em plantas nativas de locais úmidos, onde a água precisa ser eliminada do organismo rapidamente. Essa umidade deve ser elevada tanto no solo quanto na atmosfera, pois a saída de água nas plantas ocorre naturalmente na forma de vapor. A gutação ocorre quando a transpiração é muito lenta ou ausente, o que em geral acontece durante a noite, especialmente quando a temperatura está baixa e a umidade relativa do ar é elevada. Em geral, em solos salinos, o fenômeno da gutação é alterado, uma vez que as células podem ser prejudicadas com o excesso de sal, provocando uma espécie de queima nos tecidos da raiz.

Objetivos específicos desta prática

Avaliar as condições necessárias para a ocorrência do fenômeno de gutação;

Verificar o papel do sal de cozinha sobre o processo de gutação.

Materiais utilizados

- 1) vasos com plântulas de milho;
- 2) solução de NaCl a 5%;
- 3) água desionizada;
- 4) campânula ou cubra de vidro.

Procedimentos

Cada grupo receberá quatro vasos com plântulas de milho. Dois dos vasos devem ser regados com água desionizada e os outros dois, com água salina.

Em seguida, cubra os vasos com uma campânula de vidro e acompanhe o processo, durante 2 horas.

Ao final do processo avalie as plantas, fotografando-as, se possível.

Anote os resultados, discuta com os demais grupos e proceda ao relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que não houve gutação no vaso irrigado com solução salina, mas ocorreu no vaso irrigado com água desionizada? Elabore uma explicação mais abrangente do que aquela apresentada na introdução desta prática.
- 2) Qual é a força responsável pela gutação, e como se origina?
- 3) Por que há a necessidade de se cobrir as plantas com uma campânula?

02

Seção NUTRIÇÃO MINERAL

Profº Dr. Marcelo Francisco Pompelli
Profº Dr. Alfredo Jarma Orozco
Marciel Teixeira de Oliviera

Uma adequada nutrição mineral é essencial para o desenvolvimento vegetativo. Infelizmente, deficiências minerais são comuns em muitas localidades e estas geralmente limitam o desenvolvimento das plantas, sejam elas lenhosas ou herbáceas. A deficiência de nitrogênio, por exemplo, é particularmente bem documentada por todo o mundo, enquanto que a deficiência de fósforo ocorre na Austrália, Nova Zelândia e no sudeste dos Estados Unidos, além de em muitos outros países tropicais. Em solos das regiões semi-áridas, como os de caatinga, a deficiência de nitrogênio, fósforo, potássio e, frequentemente, boro limitam a produtividade vegetal (MAIA, XAVIER *et al.*, 2008). A redução do crescimento das plantas e, conseqüentemente, a morte são associadas, além de à falta de água, ao desequilíbrio mineral. Em algumas localidades, a deficiência mineral é acentuada em tal grau, que chega a ser crônica com resultados catastróficos à produção vegetal.

Esta seção é composta por uma prática com o objetivo central de identificar os principais efeitos da carência de alguns nutrientes minerais na nutrição da planta e sua participação no desenvolvimento da mesma.

AULA PRÁTICA 6

NUTRIÇÃO MINERAL

Introdução

O estudo da nutrição vegetal e do crescimento das plantas envolve a caracterização de elementos minerais essenciais. Um nutriente essencial é aquele sem o qual a planta não cresce normalmente nem completa o seu ciclo de vida, a menos que uma quantidade mínima desse nutriente lhe seja fornecida. Na natureza, estão à disposição das plantas, envolvendo quase todos os elementos da tabela periódica, e só se conhecerão os nutrientes minerais necessários a um ótimo crescimento vegetal através de uma análise das cinzas desse mesmo vegetal. No entanto, esta análise não invalida o estudo do crescimento vegetal, uma vez que alguns compostos, como o nitrogênio e o enxofre, volatilizam durante a combustão.

Os estudos do crescimento vegetal podem ser efetuados em culturas hidropônicas ou em culturas em meio arenoso. O cultivo hidropônico permite a planta o crescimento fora do solo, pois consiste no suprimento de minerais através de uma solução nutritiva. A maior parte dos elementos é absorvida da solução na forma iônica, embora alguns também sejam retirados do ar (*e.g.* CO₂, O₂, N₂). Através da cultura hidropônica pode-se isolar nutrientes, verificando, dentre aqueles, quais são essenciais a uma dada planta e estudar as carências que se originam em função do nutriente, local onde, mais frequentemente, ocorre a carência e a mobilidade do nutriente no corpo da planta.

Tal como em culturas hidropônicas as culturas em meio arenoso propiciam às plantas um meio físico de sustentação ao qual são adicionados os nutrientes a serem testados. Contudo, esta técnica não possibilita o conhecimento efetivo da composição do meio, o que pode ser desprezível dependendo do nutriente a ser testado. Nos estudos do crescimento vegetal é comum haver um controle efetivo do pH da solução, pois este fator pode interferir no desenvolvimento

das plantas e na disponibilidade dos nutrientes na solução. Além da areia, existem outros suportes, como o uso de resinas trocadoras de íons, técnica que pode introduzir parte da complexidade encontrada no solo, e, portanto, não adequada para o presente estudo.

Objetivos específicos desta prática

Estudar o papel dos macro e micronutrientes na nutrição mineral de plantas de milho.

Identificar os principais efeitos da carência de alguns nutrientes minerais na nutrição da planta e à participação no desenvolvimento da mesma.

Materiais utilizados

- solução de Hoagland;
- potes plásticos tipo pet 2 L;
- areia fina lavada ;
- sementes de milho;
- pipetas de 1 e 5 mL.

Tratamentos

- solução nutritiva de Hoagland completa (100%);
- solução nutritiva de Hoagland – solução de Ferro;
- solução nutritiva de Hoagland – solução de Micronutrientes;
- solução nutritiva de Hoagland a 50%;
- solução nutritiva de Hoagland a 20%;
- água deionizada ou destilada.

Modo de preparo da Solução Estoque

Tabela 3: Solução de Hoagland proposta por Epstein (1972)

Solução	Sal	Concentração (g L ⁻¹)	Usar da solução mãe (mL L ⁻¹)
Macronutrientes	KH ₂ PO ₄	24,2	5
	KNO ₃	101,1	5
	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,1	5
	MgSO ₄ .7H ₂ O	98,6	5
Solução de Ferro	EDTA. Na ₂	6,64	5
	NaOH	0,73	
	FeSO ₄ .7H ₂ O	5,0	
Micronutrientes	H ₃ BO ₃	0,572	5
	MnCl ₂	0,362	
	ZnSO ₄	0,044	
	CuSO ₄	0,016	
	H ₂ MoO ₄	0,018	

Procedimentos

Cada grupo, previamente definido, deve preparar sua solução nutritiva, conforme especificado acima. Para tanto, no preparo da solução completa deve-se pipetar 5 mL de cada uma das soluções e, lentamente, misturá-las em um frasco âmbar. Em seguida, completar o volume para 1 litro. Para o preparo das soluções deficientes em ferro e em micronutrientes, estas soluções não devem ser inseridas; no entanto, as demais soluções devem ser adicionadas sem alteração. Já para o preparo da solução nutritiva a 50 e a 20%, deve-se diminuir o volume a ser pipetado para 2,5 mL e 1 mL, respectivamente, de cada solução nutritiva.

Com as soluções nutritivas preparadas, prepararemos os potes onde serão plantadas as sementes. Então, reserve potes plásticos, preenchendo-os com areia lavada. Em seguida, espalhe cuidadosamente cinco sementes de milho sobre o substrato, recobrando-as com uma fina camada de areia.

A partir desse momento, as sementes serão irrigadas três vezes por semana, sempre com as soluções nutritivas preparadas acima.

Transcorridos 15 dias, as plantas serão encaminhadas ao laboratório, onde serão avaliadas as seguintes características: (i) altura total da planta; (ii) número de folhas verdadeiras; (iii) área foliar das folhas verdadeiras e (iv) diâmetro do colo a 2 cm do solo. Para a estimativa da área foliar, as folhas verdadeiras terão sua largura e comprimento medidos com o auxílio de uma régua. De posse destes valores, aplicar-se-á as fórmulas propostas por Argenta *et al.*, (2002) para folhas de milho: $AF = C \times L \times 0,75\%$; onde C e L representam comprimento e largura, respectivamente.

Ao final de 21 dias, o experimento será finalmente desmontado, sendo as plantas, então, avaliadas de forma semelhante ao apresentado acima. Por fim, as plantas serão segmentadas em parte aérea (PA) e sistema radicular (SR). Neste momento, as massas frescas e secas da PA e do SR serão aferidas. Com os valores da massa seca, calcular a razão PA:SR, dividindo-se um valor pelo outro.

Os dados dos diferentes tratamentos deverão ser compartilhados entre os grupos e os dados, apresentados em tabelas e gráficos.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que as principais formulações de fertilizantes adquiridos no comércio são à base de N, P e K?
- 2) Por que utilizamos, nesta prática, areia lavada, e não solo comum?
- 3) Se uma espécie pantanosa qualquer for privada, no solo, de enxofre e, assim, for incapaz de sintetizar os aminoácidos metionina e cisteína, ela pode morrer por falta de proteínas? Explique.
- 4) Sabendo que o solo é carregado negativamente e que muitos íons importantes carregados positivamente são atraídos pelas partículas de solo, mas outros, igualmente importantes, carregados negativamente, são lixiviados, por que tal lixiviação não causa um desequilíbrio elétrico no solo? (Dica: considere a ionização das moléculas de água no solo).

03

Seção

FOTOSSÍNTESE E RESPIRAÇÃO MITOCONDRIAL

Profº Dr. Marcelo Francisco Pompelli
Profº Dr. Gilberto Dias Alves

A fotossíntese é o processo pelo qual a energia luminosa é capturada pelas plantas verdes e usada na síntese de compostos carbonados reduzidos, a partir de gás carbônico e água. Toda a matéria viva se inicia com o processo da fotossíntese, sendo esse processo considerado como a base da vida no planeta Terra. Lieth (1975) estimou que as plantas terrestres produzem, aproximadamente, 100×10^9 toneladas métricas de matéria seca por ano. A respiração mitocondrial, por outro lado, está entre os principais processos bioquímicos que ocorrem nos organismos vivos. É através da respiração que os organismos oxidam os produtos químicos estocados para a geração de energia, necessária para os processos metabólicos. Os conhecimentos de como estes dois complexos processos bioquímicos ocorrem requerem certo conhecimento prévio de bioquímica e biologia celular.

Nesta seção, vamos englobar práticas simples de executar, porém, com importância ímpar no estudo da fisiologia vegetal. A seção é composta por nove práticas que, conjuntamente, têm o objetivo de demonstrar ao aluno a importância desses processos, além de demonstrar como a funcionalidade das membranas biológicas interfere nesses mecanismos.

neo diminui geometricamente à medida em que a espessura da camada aumenta aritmeticamente. A lei de Beer não se refere a uma concentração qualquer, mas às soluções muito diluídas, como é o caso da espectroscopia ultravioleta. Os desvios são pequenos. Estas leis podem ser relacionadas pela fórmula:

$\varepsilon = \frac{A}{c L}$, onde ε é o coeficiente de extinção molar; A é a absorvância, C é a concentração molar da substância e L, o caminho óptico do feixe de luz, que geralmente é igual a 1 cm.

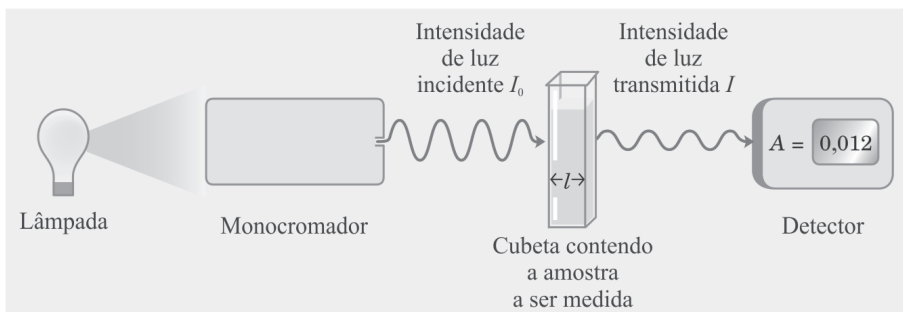


Figura 2: Esquema demonstrando o funcionamento básico de um espectrofotômetro

Objetivos específicos desta prática

Determinar o espectro de absorção do azul de anilina e calcular seu coeficiente de extinção molar.

Materiais utilizados

- solução de azul de anilina a $0,025 \text{ g L}^{-1}$;
- balão de volumes diversos;
- béqueres de volumes diversos;
- pipetas de 5 mL;
- repipetador;
- espectrofotômetro de luz visível acoplado com cubeta de acrílico, capacidade 4 mL.

Procedimentos

A partir de uma solução de azul de anilina $0,05 \text{ g L}^{-1}$, dilua-a na proporção 1 : 1, obtendo a concentração de $0,025 \text{ g L}^{-1}$.

Com o auxílio de uma pipeta de 5 mL e do repipetador, encha uma das cubetas do espectrofotômetro com 4 mL de água destilada e a outra com a solução de azul de anilina recém-preparada inserindo, posteriormente, as duas cubetas na posição 1 e 2 do carrossel do espectrofotômetro, respectivamente.

Com o espectrofotômetro ligado a, pelo menos, 30 minutos, faça uma varredura no espectro, utilizando-se de comprimentos de onda de 340 a 800 nm com intervalos de 20 nm (340, 360, 380 ... 800 nm). Para cada comprimento de onda, verifique a absorvância registrada no aparelho.

Construa uma tabela e um gráfico (em papel milimetrado) com estes valores (veja exemplo na figura 3):

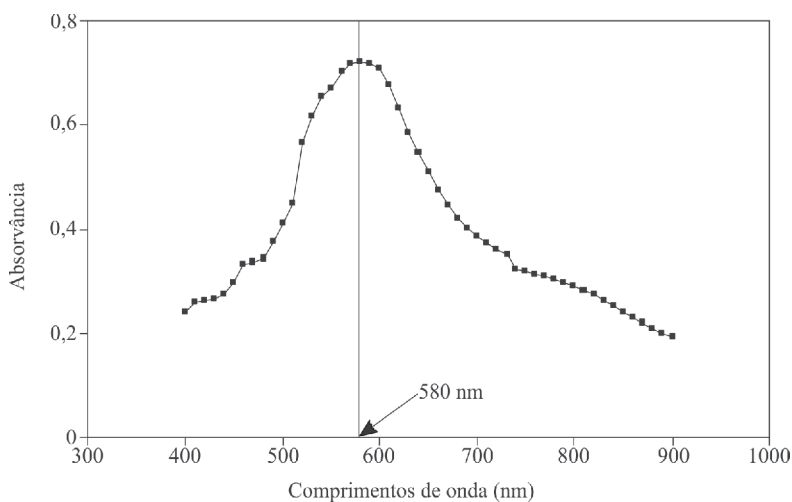


Figura 3: Espectro de absorção do azul de anilina. Perceber que o pico máximo de absorção de luz pela substância foi de 580 nm.

É possível que você perceba que o máximo de absorção do azul de anilina, dentro da faixa pesquisada, foi no comprimento de onda de 580 nm. Dize-

mos, então, que, para a substância *Azul de anilina*, o comprimento de onda de 580nm é o que melhor determina a quantidade exata do produto numa amostra qualquer.

Agora que determinamos qual o melhor comprimento de onda para se determinar uma dada concentração de anilina, vamos determinar seu coeficiente de extinção molar. Para tanto, lembre-se da fórmula, descrita acima.

A partir da solução inicial com concentração de $0,025 \text{ g L}^{-1}$, vamos, então, preparar 7 diferentes concentrações de azul de anilina (ver tabela abaixo). Para cada concentração, faça 3 repetições e leia-as no espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 580 nm. Obs.: inicie as leituras partindo da menor concentração.

azul de anilina (mL)	Água (mL)	Concentração final (g L^{-1})	Aborvâncias (nm)		
0,5	3,5	0,003	0,091	0,087	0,094
1,0	3,0	0,006	0,163	0,171	0,165
1,5	2,5	0,009	0,255	0,263	0,262
2,0	2,0	0,0125	0,355	0,358	0,340
2,5	1,5	0,0156	0,443	0,441	0,442
3,0	1,0	0,0187	0,526	0,523	0,520
4,0	0,0	0,025	0,720	0,719	0,723

Faça uma média das 3 leituras de absorvância de cada concentração acima e construa um gráfico utilizando o eixo x para a concentração e o eixo y para a absorvância. Com isso, você terá um gráfico semelhante à figura 4.

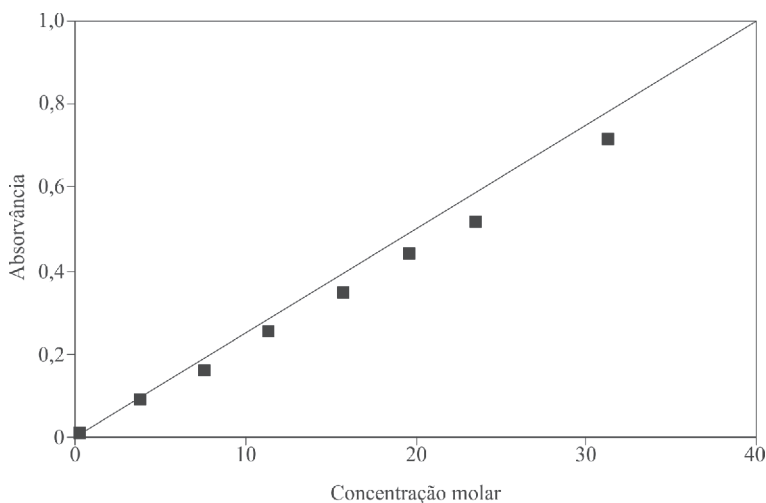


Figura 4: Curva de regressão com os valores de concentração (em g L⁻¹) e a absorvância respectiva.

Pronto, você agora tem seu gráfico onde é possível calcular o coeficiente de extinção molar da substância.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

1) Calcule o coeficiente de extinção molar da substância para cada concentração utilizada acima.

2) Calcule o coeficiente de extinção molar médio da substância.

3) O que representa esse tal coeficiente de extinção molar?

4) A partir de agora, toda vez que você tiver que dosar a concentração de azul de anilina em uma amostra qualquer e não tiver mais o pó de azul de anilina para fazer uma curva de calibração (como acima), é possível calcular a concentração dele numa determinada amostra? Justifique sua resposta. Dica: o peso molecular do azul de anilina é de 799,6 g L⁻¹.

AULA PRÁTICA 8

EXTRAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Introdução

A fotossíntese representa o caminho pelo qual praticamente toda a energia penetra na biosfera. Sem a existência desse fluxo de energia proveniente do sol e canalizado através dos cloroplastos (nas células eucarióticas), a vida neste planeta se extinguiria por completo.

As plantas convertem energia solar (luminosa) em energia química utilizável por todos os demais sistemas biológicos. Os produtos da fotossíntese são carboidratos formados a partir de CO_2 e H_2O . Esses produtos são importantes para os vegetais por duas razões: (i) são a fonte de energia para o vegetal, ou seja, podem ser hidrolisados pela respiração celular para liberação de energia necessária para os processos vitais; e (ii) podem ser modificados de várias formas para compor diversos tipos moleculares importantes biologicamente (e.g. proteínas, lipídios, enzimas).

Além da importância para o próprio organismo fotossintético, todos os organismos vivos que utilizam o oxigênio na respiração celular são dependentes da sua produção pelos vegetais. E não para aí a importância da fotossíntese: o carvão e os combustíveis fósseis que usamos hoje representam produtos fotossintéticos de milhões de anos atrás.

Plantas, algas e cianobactérias são produtores que obtêm sua energia do solo. A cada ano, esses organismos produzem bilhões de toneladas de alimentos. A energia química estocada nesses alimentos supre as reações químicas que sustentam a vida.

Os pigmentos fotossintéticos são essenciais para o desenvolvimento das plantas, pois são responsáveis pela captura da energia solar incidente usada na fotossíntese. Além das clorofilas e dos carotenoides, que são lipossolúveis, as plantas sintetizam outros pigmentos, como os flavonoides, que constituem

uma série de compostos relacionados, solúveis em água, tendo como estrutura básica um esqueleto C_{15} de flavona. Os flavonoides ocorrem universalmente nas plantas superiores, mas são incomuns entre as criptógamas. Encontram-se dissolvidos em água, no suco celular (no interior do vacúolo) tanto de folhas como de frutos e de raízes, mas se acumulam especialmente nas flores, conferindo-lhes as cores características. Desses pigmentos, os mais conhecidos são as antocianinas, cada qual com uma cor distinta, que varia, conforme o pH, do azul ao vermelho, embora algumas sejam incolores. Além de sua importância como atrativo para insetos polinizadores, parecem ter a função de inibidores de bactérias e têm sido utilizadas como marcadores, por taxonomistas, na classificação de plantas. As antocianinas ocorrem na forma de glicosídeos ligados comumente a uma ou duas unidades de glicose ou de galactose. A parte molecular sem o açúcar ainda mantém a coloração e é denominada antocianidina (mais detalhes em POMPELLI *et al.*, 2007). O acúmulo de antocianinas em caules, folhas ou frutos é estimulado pelos altos níveis de luz, por deficiências de certos nutrientes (nitrogênio, fósforo, enxofre e outros) e por temperaturas baixas.

Com isso, a detecção dos pigmentos relacionados com a fotossíntese é de suma importância para a compreensão do processo fotossintético como um todo.

Objetivos específicos desta prática

Observar a separação de pigmentos hidrossolúveis e lipossolúveis, por meio de sua partição em solventes não miscíveis.

Acompanhar as variações das propriedades de alguns destes pigmentos, em função das variações do pH do meio ou de sua hidrólise parcial.

Materiais utilizados

- folhas de alface, brócolis, pétalas coloridas;
- grau com pistilo;
- proveta de 50 mL;

- tubos de ensaio;
- funil separador;
- funil de vidro;
- acetona 80%;
- éter etílico;
- papel filtro;
- chumaço de algodão;
- pipetas de 10 ou 15 mL;
- NaOH 0,1M;
- HCl 0,1 M;
- KOH 3 M.

Procedimentos

A sala será dividida em três grandes grupos, que receberão uma folha de alface, cinco folhas de brócolis ou 10 pétalas de rosa vermelha (ou de outra cor de interesse). Podem-se usar também pétalas de flores de cor amarela, ou mesmo raiz de cenoura para a visualização de carotenoides.

Os materiais vegetais deverão ser homogeneizados em 20 mL de acetona 80%. O homogenato deve ser filtrado através de um chumaço de algodão para retirar as partículas sólidas e, em seguida, em papel-filtro, para completar o processo de filtração.

Do filtrado, retire 10 mL e aplique em um funil separador, adicionando, em seguida, igual quantidade de éter etílico e água destilada (nesta mesma ordem). Os solventes devem ser introduzidos no sistema lentamente, sempre escorrendo pelas paredes do funil. Posteriormente, execute movimentos rotativos leves no funil separador para que os solventes sejam misturados.

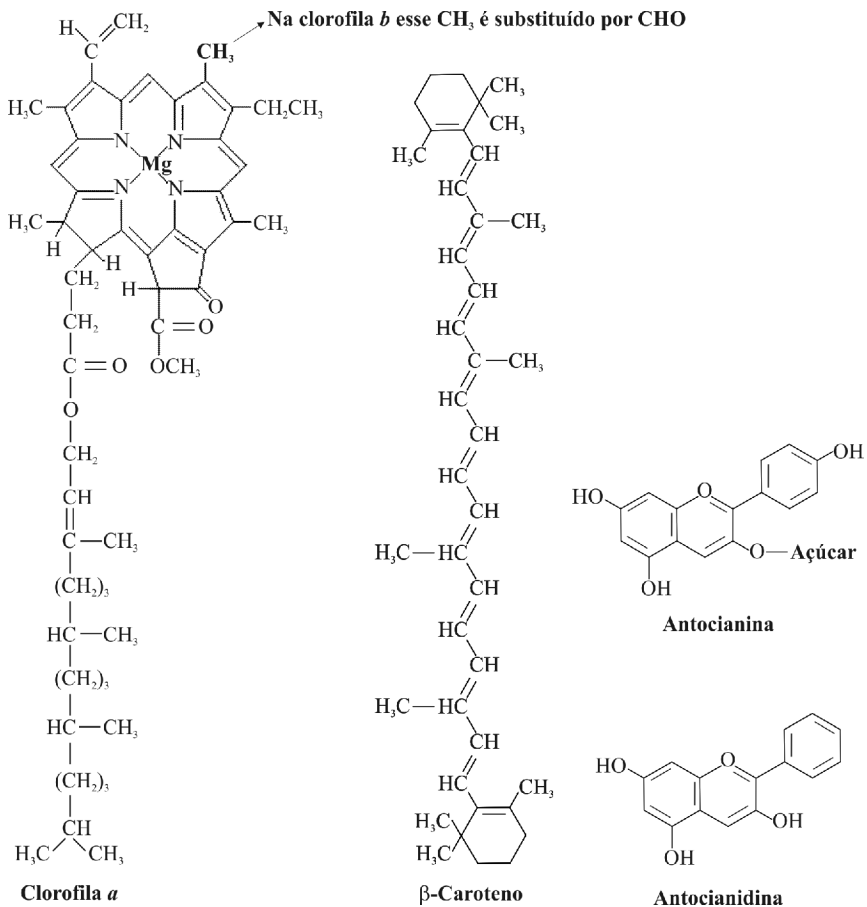


Figura 5: Estrutura molecular dos pigmentos fotossintéticos e fotoprotetores. Verificar que a clorofila *b* se diferencia da clorofila *a* apenas pela presença de um grupamento CHO, em vez do grupamento CH₃ no anel porfirina. Verifica-se também que as antocianinas se diferenciam das antocianidinas pela presença de um monossacarídeo em sua estrutura.

Depois de misturados todos os solventes, aguarde cerca de 10 minutos para que ocorra a separação de fases no funil separador. Desenhe ou fotografe o fato ocorrido. Uma vez que esteja clara a separação das fases, recolha, num tubo de ensaio, cerca de 5 mL da fase inferior e a mesma quantidade da fase superior, identificando os tubos.

Introduza, em cada tubo, mais 5 mL de água destilada, agite levemente os tubos, guarde cerca de 5 minutos e observe o ocorrido.

Acrescente, agora, na camada inferior, 2 mL de NaOH 0,1 M, observe o ocorrido e anote os resultados. Em seguida, adicione ao mesmo tubo 2 mL de HCl 0,1 M, observe o ocorrido e anote os resultados. No tubo identificado como fase superior, acrescente 2 mL de KOH, observe o ocorrido e anote os resultados. Caso desejado, pode-se inserir, neste tubo, uma solução de HCl 0,1 M. Neste caso, verifique o efeito do pH sobre a fase superior.

Ao final, recolha os dados dos demais grupos e discuta os resultados amplamente.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

1) Represente esquematicamente a partição dos pigmentos lipossolúveis e hidrossolúveis nas fases da mistura de solventes.

2) Onde se localizam, na célula, os pigmentos lipossolúveis das plantas verdes? Quais são estes pigmentos?

3) Quais são os pigmentos hidrossolúveis e em que partes das células eles se encontram?

4) Por que podemos afirmar, com certeza, que as antocianinas não participam da fotossíntese?

5) Por que certos frutos ficam mais vermelhos quando expostos à luz solar?

6) No extrato vegetal das pétalas da flor vermelha, que tipo de pigmento foi encontrado? O que aconteceu quando o pH da solução foi alterado?

Obs.: Para responder às questões 2 e 3 use outras referências, não se limite ao que foi apresentado na introdução desta prática.

AULA PRÁTICA 9

DETERMINAÇÃO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DOS PIGMENTOS CLOROPLASTÍDICOS

Introdução

As folhas absorvem mais fortemente as radiações das faixas do azul-violeta e do laranja-vermelho, mas transmitem ou refletem quase toda a radiação da faixa do verde e do amarelo. Os pigmentos cloroplastídicos são os responsáveis por essa absorção. Cada fóton da radiação absorvida irá excitar um elétron na molécula de clorofila ou carotenoide nos tilacoides dos cloroplastos.

Quando a luz incide sobre uma substância, uma parte da energia é absorvida seletivamente pela substância conforme sua estrutura molecular e atômica. Todas as substâncias possuem um nível de energia, que é uma característica específica das moléculas que a constituem. Quando uma luz que tem energia igual à diferença entre a energia no estado fundamental e a energia no estado excitado incide sobre a substância, os elétrons no estado fundamental são transferidos para o estado excitado e parte da energia da luz correspondente àquele comprimento de onda é absorvida. Os elétrons excitados perdem energia pelo processo de radiação, retornando ao estado fundamental inicial (STEINFELD, ZARE *et al.*, 1965). Assim, um espectro de absorção é obtido quando deixamos diferentes luzes monocromáticas incidirem sucessivamente sobre uma substância e medimos o grau de absorção. Os comprimentos de onda (em nm) são plotados na abscissa e os graus de absorção (transmitância ou absorbância), na ordenada. Assim, através de técnicas simples, podemos purificar um tipo de pigmento e determinar, com o auxílio de um colorímetro ou espectrofotômetro, sua absorbância relativa nos diferentes comprimentos de onda e, assim, construir seu “espectro de absorção”.

Quando se estuda o efeito da luz de diferentes comprimentos de onda (usando quantidades não saturantes) num processo como a fotossíntese,

obtém-se um “espectro de ação”. O espectro de ação, comparado com o espectro de absorção do pigmento, ajuda a elucidar a possível participação de um pigmento no processo.

Objetivos específicos desta prática

Determinar o espectro de absorção dos pigmentos dos cloroplastídios.

Materiais utilizados

- extrato cetônico de pigmentos cloroplastídicos, obtido de uma folha verde;
- extrato cetônico de pigmentos cloroplastídicos, obtido de uma raiz de cenoura;
- acetona 80%;
- colorímetro ou espectrofotômetro.

Procedimentos

Utilizando extrato cetônico de pigmentos foliares, determine a absorbância nos comprimentos de onda disponíveis no colorímetro ou espectrofotômetro. Caso o extrato esteja muito concentrado, dilua-o com acetona. Use a acetona 80% para ajustar o zero de absorbância (ou 100% de transmitância).

Construa um gráfico e coloque na abscissa os comprimentos de onda e na ordenada, as respectivas absorbâncias.

Da mesma forma, determine o espectro de absorção de uma preparação de carotenoides e compare com o espectro anterior (veja modelo na figura 6).

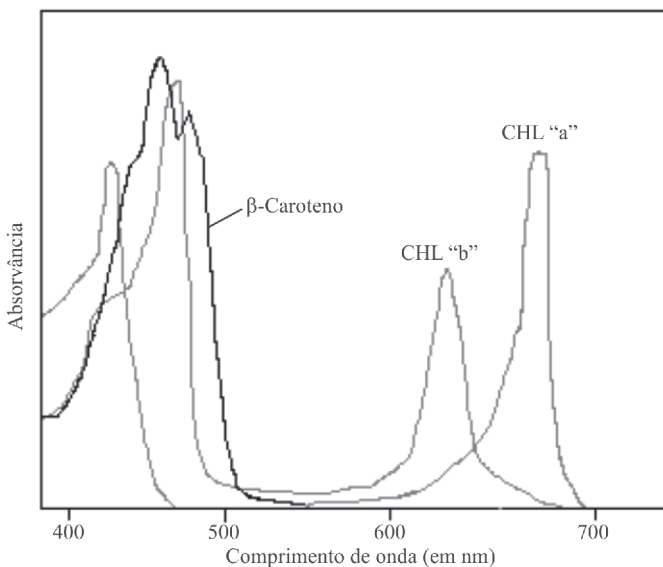


Figura 6: Espectro de absorção dos pigmentos fotossintéticos e dos carotenoides totais.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que a absorvância é menor na região da luz verde?
- 2) Os carotenoides apresentam espectro de absorção semelhante ao das clorofilas?
- 3) Para quantificar as clorofilas a e b de um extrato cetônico ou de pigmentos por meio de um fotocolorímetro, podem-se utilizar comprimentos de onda na faixa da luz azul? E da luz vermelha?
- 4) Qual é o princípio básico do funcionamento de um colorímetro (ou espectrofotômetro)? Para responder a essa pergunta, revise os conceitos da Lei de Lambert-Beer, proposta em 1852 (mais detalhes em MAI-KALA, 2009 e NELSON e COX, 2006).

AULA PRÁTICA 10

TEOR DE CLOROFILA E CAROTENOIDES EM FOLHAS

Introdução

A clorofila é o pigmento que está presente em todos os vegetais, sendo responsável pela captação da energia luminosa para produção de energia química, resultando na formação de biomassa. Ela é encontrada em maior quantidade nas folhas, mas pode ser encontrada ainda em caules jovens ou mesmo em frutos em desenvolvimento. As principais clorofilas são: *a* e *b*, sendo a primeira considerada como o pigmento essencial, parte fundamental dos centros de reação, enquanto a segunda se comporta como um pigmento acessório, presente principalmente nos centros coletores de luz dos fotossistemas (Figura 2). Ambas absorvem diferentes comprimentos de luz (ver prática 8). Seus teores nas folhas podem ser empregados para estimar o potencial fotossintético das plantas, bem como a capacidade de adaptação a diversos ambientes.

As membranas tilacoidais das plantas aclimatadas às baixas irradiâncias possuem uma grande concentração de pigmentos-antena (*e.g.* clorofila *b*, β -caroteno, xantofilas) associados aos centros de reação dos fotossistemas e uma menor quantidade de componentes de transporte de elétrons (ANDERSON, 1986). A elevação na concentração de carotenoides *e/ou* uma redução da concentração de clorofilas pode auxiliar as plantas a minimizar a foto-oxidação (CORCUERA, MORALES *et al.*, 2005). Dessa forma, uma menor concentração de clorofilas nas plantas cultivadas a pleno sol é uma característica de uma gama de plantas. Nesse contexto, a menor concentração de clorofilas pode ser considerada como um mecanismo de ajuste entre a absorção e a utilização fotoquímica da luz (Pompelli, Martins *et al.*, 2010)

Embora uma das principais respostas frequentemente observadas em plantas desenvolvidas à sombra seja o decréscimo da razão clorofila *a/b* esse padrão de respostas nem sempre é percebido em todas as plantas (CHAVES, TEN-CATEN *et al.*, 2008; POMPELLI, MARTINS *et al.*, 2010). Em algumas

plantas, portanto, tal razão parece responder pouco ou nada às variações na irradiância. Ademais, pode haver pequena ou nenhuma alteração na razão clorofilas/carotenoides entre plantas ao sol e sob sombra, quando o padrão esperado de resposta seria um decréscimo relativo nessa razão nas plantas à plena exposição solar, de modo a permitir-lhes uma maior capacidade de dissipação da energia de excitação, principalmente via operação do ciclo das xantofilas (MA, HOLT *et al.*, 2003).

Através de método espectrofotométrico é possível detectar e quantificar o conteúdo destes pigmentos em função dos valores de coeficiente de absorção específico de cada um deles. Assim sendo, o estudo do papel das clorofilas na aclimação das plantas aos diferentes ambientes de luz é uma característica intrínseca da fisiologia vegetal.

Objetivos específicos desta prática

Quantificar o conteúdo de clorofila *a*, *b*, clorofila total e carotenoides totais em folhas de plantas expostas a condições de sol e de sombra, bem como em folhas de plantas com mecanismo fotossintético C_3 e C_4 .

Materiais utilizados

- folhas de sombra, de sol e de plantas C_3 e C_4 ;
- balança de precisão;
- espectrofotômetro de luz visível;
- acetona a 80%;
- carbonato de Cálcio ($CaCO_3$);
- almofariz e pistilo de porcelana;
- tesoura;
- papel de filtro;
- funil pequeno;
- balões volumétricos de 25 ml.

Tratamentos

- folhas de sol (folhas da copa expostas diretamente à luz solar);
- folhas de sombra (folhas no interior da copa, que recebem apenas luz difusa);
- folhas de gramíneas ou *Cyperaceae* (C_4);
- folhas de plantas C_3 .

Procedimentos

Para cada tratamento, coletar três folhas maduras. Pesar 500 mg de tecido foliar, sem a nervura principal, e colocar em um almofariz com uma pitada de CaCO_3 . Adicionar 10 mL de acetona a 80% e macerar por alguns minutos.

Em seguida, filtrar o extrato utilizando funil com papel de filtro. Verter o extrato filtrado em balões volumétricos (25 mL) e completar o volume com acetona a 80%. Agitar bem os balões para homogeneizar o extrato. Em seguida, proceder à leitura dos extratos em espectrofotômetro nos seguintes comprimentos de onda: 480 nm, 645 nm, 663 nm e 710 nm. Lembrar de calibrar o zero do espectrofotômetro com acetona a 80%, antes da leitura das amostras.

Para calcular os teores de clorofila utilizar as equações abaixo:

$$\text{Clorofila } a = \frac{(12,25 \times A_{663}) - (2,79 \times A_{645}) \times \text{volume (em litros)}}{\text{MF (em Kg)}}$$

$$\text{Clorofila } b = \frac{(21,5 \times A_{645}) - (5,1 \times A_{663}) \times \text{volume (em litros)}}{\text{MF (em Kg)}}$$

$$\text{Clorofila total} = \frac{(7,15 \times A_{663}) + (18,71 \times A_{645}) \times \text{volume (em litros)}}{\text{MF (em Kg)}}$$

$$\text{Carotenoides totais} = \frac{(1000 \times A_{480}) - (1,82 \times \text{Clorofila } a) - (85,02 \times \text{Clorofila } b) \times \text{volume (em litros)}}{\text{MF (em Kg)}}$$

Os teores de clorofila são expressos em g kg^{-1} MF.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual o tratamento que apresentou os maiores teores de clorofilas?
- 2) Explicar a razão do teor de clorofila **b** ser maior nas folhas expostas a baixa luminosidade (folhas de sombra). Caso esse comportamento não tenha sido verificado, justificar tal comportamento.
- 3) Qual a importância de existirem diferentes teores de clorofilas nas plantas?
- 4) É possível separar os diferentes grupos de plantas em função da relação clorofila a/b? Justifique.
- 5) Por que, mesmo as clorofilas não absorvendo fótons no comprimento de onda de 710 nm, deve-se medir a absorbância nesse comprimento de onda?

AULA PRÁTICA 11

FATORES QUE AFETAM A FOTOSSÍNTESE EM *Elodea canadensis*

Introdução

As plantas são seres autótrofos. Graças à presença de clorofila em suas folhas, elas são capazes de captar energia luminosa do sol e utilizá-la na síntese de moléculas orgânicas que lhes servirão de alimento. Esse processo, que será explicado a seguir, é chamado de fotossíntese.

Fotossíntese significa síntese pela luz. Excetuando as formas de energia nuclear, todas as outras formas de energia utilizadas pelo homem moderno

provêm do sol. A fotossíntese pode ser considerada como um dos processos biológicos mais importantes na Terra. Por liberar oxigênio e consumir dióxido de carbono, a fotossíntese transformou o mundo no ambiente habitável que conhecemos hoje.

De forma direta ou indireta, a fotossíntese supre todas as nossas necessidades alimentares e nos fornece um sem-número de fibras e materiais de construção. A energia armazenada no petróleo, gás natural, carvão e lenha, que são utilizados como combustíveis em várias partes do mundo, vieram a partir do sol via fotossíntese. Assim sendo, a pesquisa científica da fotossíntese possui uma importância vital.

A taxa de fotossíntese, entretanto, é afetada por vários fatores, tais como intensidade luminosa, temperatura e concentração de gás carbônico (CO_2). Em uma planta mantida em um ambiente com temperatura e CO_2 constantes, por exemplo, a quantidade de fotossíntese realizada passa a depender exclusivamente da luminosidade.

Muitas informações sobre a influência de fatores como luz e temperatura sobre a fotossíntese podem ser obtidas com facilidade, contando-se o número de bolhas produzidas pela planta aquática *Elodea canadensis*, submetida a várias condições do meio. Algumas experiências são feitas usando-se um pequeno ramo da planta submerso em água (frequentemente em solução de 0,1% de KHCO_3) com o ápice para baixo, dentro de um tubo de ensaio. Deve-se escolher, de preferência, a ponta de um ramo novo. As bolhas a serem contadas sairão do caule, pela parte seccionada. Deve-se compreender que, em experimentos dessa natureza, os resultados obtidos nem sempre são perfeitos, pois o tamanho das bolhas e, portanto, o número podem variar durante a experiência, por alterações mecânicas na região cortada ou mesmo por variações na solubilidade do oxigênio, com mudanças de temperatura, entre outros. De qualquer modo, o método das bolhas é muito útil para aulas, em virtude de sua simplicidade.

Objetivos específicos desta prática

Verificar o efeito dos fatores externos (luz e temperatura) na fotossíntese de *Elodea canadensis*.

Materiais utilizados

- provetas de vidro de 250 mL;
- bastão de vidro;
- cordão para amarrar;
- pinça comprida de ponta fina;
- béqueres de 600 mL;
- fonte de luz 200 W;
- termômetro;
- banho-maria;
- lâmina de barbear;
- ramos de *Elodea canadensis*;
- solução de 0,1% de KHCO_3 .

Procedimentos

Primeiramente, vamos verificar o efeito da intensidade luminosa sobre a fotossíntese e, posteriormente, o efeito da temperatura.

Para verificação do efeito da intensidade luminosa, coloque um ramo de *Elodea canadensis* em uma proveta de vidro de 250 mL.

Com a proveta situada a 1,0 m de uma lâmpada de 200 W ($30 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), aguarde 5 minutos para estabilização da condição e determine o número de bolhas produzidas por minuto. Recente o número de bolhas por, pelo menos, três vezes e faça uma média desses valores.

Em seguida, aproxime a lâmpada para 30 cm da planta, de modo a obter uma densidade de fluxo fotônico de $170 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Espere 5 minutos at\u00e9 a estabiliza\u00e7\u00e3o da nova condi\u00e7\u00e3o e fa\u00e7a a mesma contagem de bolhas por minuto, repetindo a contagem pelo menos tr\u00eas vezes, procedendo, em seguida, a uma m\u00e9dia dos valores obtidos.

Finalmente, ap\u00f3s aproximar a lâmpada para 10 cm da planta ($750 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) e aguardar um intervalo de 5 minutos, fa\u00e7a a contagem das bolhas, \u00e0 semelhan\u00e7a das anteriores.

Normalize os dados, considerando 100% o n\u00famero m\u00e1ximo de bolhas e os outros em rela\u00e7\u00e3o a ele. Por exemplo, se na dist\u00e2ncia de 30 cm o n\u00famero m\u00e9dio de bolhas por minuto for igual a 50 e o n\u00famero m\u00e9dio de bolhas por minuto na dist\u00e2ncia de 10 cm de 82 ent\u00e3o 82 est\u00e1 para 100, enquanto 50 est\u00e1 para x, ou seja, 61, que quer dizer que na dist\u00e2ncia de 30 cm a intensidade de fotoss\u00edntese \u00e9, em m\u00e9dia, 61% da intensidade de fotoss\u00edntese a 10 cm da fonte luminosa.

Fa\u00e7a um gr\u00e1fico dos resultados do experimento, colocando na ordenada a intensidade da fotoss\u00edntese (expressa pelo n\u00famero relativo) e na abscissa a intensidade luminosa.

Ap\u00f3s o t\u00e9rmino dessa primeira parte da pr\u00e1tica, vamos verificar o efeito da temperatura sobre a fotoss\u00edntese em *Elodea canadensis*. Para isso, coloque o mesmo sistema utilizado na pr\u00e1tica acima a 30 cm da lâmpada. Ap\u00f3s 5 minutos de estabiliza\u00e7\u00e3o, determine o n\u00famero de bolhas produzidas por minuto. Refa\u00e7a a contagem pelo menos tr\u00eas vezes.

Em seguida, substitua a \u00e1gua do copo por \u00e1gua a 50°C e a 10°C , fazendo as mesmas contagens de bolhas.

Normalize os dados conforme acima. Agrupe os dados das duas pr\u00e1ticas, apresente os dados em tabelas e gr\u00e1ficos e discuta amplamente.

Encaminhamentos para o relat\u00f3rio

Ao final deste experimento, o aluno dever\u00e1 ter condi\u00e7\u00f5es de responder \u00e0s seguintes perguntas:

- 1) Por que o aumento da intensidade luminosa faz também aumentar a fotossíntese em *Elodea canadensis*?
- 2) Por que nos dois extremos de temperatura a intensidade de fotossíntese diminuiu em relação àquela mostrada a 30°C?
- 3) Por que as águas contendo plantas aquáticas são, em geral, mais ácidas à noite do que durante o dia?

AULA PRÁTICA 12

VISUALIZAÇÃO DE AMIDO EM FOLHAS

Introdução

O produto da fotossíntese é um açúcar de três carbonos, a triose fosfatada, que pode seguir diferentes caminhos dependendo nas necessidades do vegetal. Esse açúcar de três carbonos pode então ser translocado para o citosol, onde servirá para a síntese de sacarose, ou permanecer no cloroplasto para a síntese de amido primário. Portanto, os principais produtos que se acumulam no vegetal como resultado da atividade fotossintética são a sacarose e o amido. Hexoses livres, como glicose e frutose, são menos abundantes. Poucas espécies acumulam frutanas ou, em menor quantidade, polissacarídeos semelhantes.

A sacarose é o principal açúcar transportado no floema e pode ser acumulada em grandes quantidades em certos tecidos de algumas plantas, como a cana-de-açúcar. Entretanto, a reserva mais importante, na grande maioria das plantas, é o amido.

O amido forma-se sempre em plastídios, em que aparece como grãos de estrutura característica. Nas folhas, ele é sintetizado nos cloroplastos, mas, em tecidos não clorofilados, os grãos de amido são formados nos amiloplastos (leucoplastos).

Nas folhas, o teor de amido aumenta durante o dia, em virtude da translocação não acompanhar a taxa de acúmulo promovida pela fotossíntese, e cai durante à noite, já que a translocação continua e a respiração consome o amido. Plantas mantidas no escuro, por não fazerem fotossíntese, consomem suas reservas de amido presentes nos cloroplastos.

Folhas de *Coleus blumei* são variegadas; as regiões mais externas das folhas são verdes, mas a região interna é branca. Ambas as regiões contêm tecidos saudáveis; a única diferença está no fato de a clorofila estar presente somente nas regiões externas e ausente nas regiões mais internas da folha. Por não possuírem clorofila, não possuem cloroplastos. Sem cloroplastos, as taxas fotossintéticas são nulas e o acúmulo de amido também.

A finalidade dessa prática é verificar a presença e a distribuição de grãos de amido em folhas de *Coleus*, bem como em outras folhas recém-colhidas e folhas das mesmas espécies mantidas do escuro por pelo menos 12 horas.

Objetivos específicos desta prática

Relacionar a presença de amido com a de clorofila em folhas variegadas e não variegadas.

Demonstrar a importância da luz para que o amido se acumule nas folhas.

Materiais utilizados

- folhas variegadas (*Coleus blumei* ou *Epipremnum pinnatum* – jiboia) colhidas frescas;
- folhas variegadas colhidas pelo menos 12 horas antes e mantidas no escuro;
- solução de lugol;
- banho-maria;
- vidro de relógio ou placa de Petri;

- béqueres de 250 mL e de 1000 mL;
- álcool etílico comercial;
- ebulidor de água.

Procedimentos

Preparação do lugol

Deve-se dissolver 0,5 gramas de iodeto de potássio mais 0,1 grama de iodo em 100 mL de álcool etílico à 80% (80 mL de álcool e 20 mL de água). Agite bem a solução para ocorrer a dissolução dos solutos mais rapidamente. Identifique essa solução como SOLUÇÃO DE LUGOL FORTE. Na hora do uso, dilua-a a 2% em álcool 80%.

Efeito da clorofila na síntese de amido

Observe as folhas de todas as plantas, variegadas ou não, fazendo um desenho destas ou fotografando-as para posterior comparação. Nas folhas variegadas é muito importante que se identifique os limites das manchas brancas e verdes.

Mergulhe a folha por um período de 3 minutos em água fervente, transferindo-a, em seguida, para um béquer contendo álcool etílico em banho-maria (30°C), deixando-a até que ocorra a despigmentação completa. A despigmentação pode levar de alguns poucos minutos a horas, então recomenda-se que a prática se inicie no dia anterior.

Ressuspender as folhas em água desionizada para que ocorra a reidratação dos tecidos.

Com a folha totalmente despigmentada com a face adaxial para cima, cubra-a com algumas gotas da solução de lugol 2%, deixando o corante agir por 3 minutos, em seguida lave o excesso de lugol, estique a folha e observe a presença de manchas marrom-acastanhadas nas folhas.

Apresente os dados de forma visual, com figuras ou fotografias no relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Em que parte de uma folha variegada se verifica a presença de amido? O mesmo acontece com as demais folhas?
- 2) Qual o papel da luz na síntese de amido? E na biogênese de cloroplastos?
- 3) Uma folha verde e branca apresentou reação positiva ao lugol nas partes claras. Como você explica isso?
- 4) Tecidos internos de um caule não apresentam cloroplastos desenvolvidos, no entanto, o teste com lugol acusa a presença de amido nesses tecidos. Explique.
- 5) Quais são as organelas celulares que acumulam amido? Descreva-as.
- 6) Qual a diferença entre amido de reserva e amido primário? Onde são sintetizados e armazenados?

AULA PRÁTICA 13

DEMONSTRAÇÃO DA ATIVIDADE RESPIRATÓRIA E VITALIDADE DE SEMENTES

Introdução

Alguns corantes podem agir como aceptores de hidrogênio, mudando de cor com a sua redução. Por exemplo: sais de tetrazólio são incolores e solúveis quando oxidados e produzem sais de formazana insolúveis e coloridos quando reduzidos. Com o uso de sais de tetrazólio, é possível verificar a presença *in situ* da atividade de desidrogenases, uma vez que as formazanas precipitam onde esta ocorre.

O teste se baseia na atividade das enzimas desidrogenases, particularmente a desidrogenase do ácido málico, que reduz o sal de tetrazólio nos tecidos vivos das sementes, onde íons de H^+ são transferidos para o referido sal. Quando a semente é imersa na solução de tetrazólio, ocorre a reação de redução nas células vivas, resultando na formação de um composto vermelho, não difusível, conhecido como trifenilformazana, indicando haver atividade respiratória nas mitocôndrias e, conseqüentemente, que o tecido é viável (vivo). Tecidos mortos (não viáveis) não reagem com a solução, conservando a sua cor natural.

Trata-se de um teste que, pela observação da coloração obtida nas diferentes partes da semente, permite determinar a presença, a localização e a natureza das alterações nos tecidos das sementes, permitindo ainda identificar, muitas vezes, as causas da perda da viabilidade e do vigor. O teste de tetrazólio se tem mostrado como uma alternativa interessante pela qualidade e rapidez na determinação da viabilidade e do vigor da semente, permitindo obter resultados, de modo geral, em menos de 24 horas.

Várias concentrações da solução de tetrazólio podem ser utilizadas no teste, dependendo da espécie avaliada, do método de preparo das sementes e da permeabilidade da casca, sendo as mais utilizadas 0,075%, 0,1%, 0,2%, 0,5% e 1,0%. Entretanto, são recomendadas as menores concentrações do sal, por possibilitarem melhor visualização da coloração dos tecidos e dos diferentes tipos de injúrias. O período de coloração depende da temperatura, da concentração da solução e da espécie em análise, mas geralmente encontra-se entre 30 e 240 minutos. A precisão do teste de tetrazólio não é afetada por temperaturas entre 20 e 45°C, mas a coloração se estabelece mais rapidamente nas temperaturas mais elevadas. Por esse motivo, essa prática tem a finalidade de testar diferentes temperaturas na revelação da cor de sementes viáveis e não viáveis de milho.

Objetivos específicos desta prática

Demonstrar a atividade desidrogenativa de sementes, o que evidencia a atividade respiratória e a viabilidade das sementes.

Determinar a ocorrência e a localização da atividade de desidrogenases em sementes.

Materiais utilizados

- sementes de milho ou feijão;
- solução de tetrazólio 0,075%;
- beckeres de vidro de 50 mL;
- pipetas volumétricas;
- estilete ou lâmina de barbear;
- banho-maria;
- ebulidor de água;
- papel alumínio;
- termômetro.

Tratamentos

- sementes, controle sob temperatura ambiente;
- sementes fervidas sob temperatura ambiente;
- sementes, controle sob temperatura de 45°C;
- sementes fervidas sob temperatura de 45°C.

Procedimentos

Reserve cinco sementes de feijão ou milho. Corte-as pela metade, dispondo cada metade em um béquer e identifique-os com os tratamentos acima. As sementes que serão fervidas devem ser dispostas em água fervente por cerca de 10 minutos.

Disponha sobre as sementes cerca de 10 mL de solução de tetrazólio 0,075%. Envolve cada béquer com papel alumínio e leve-os às temperaturas indicadas em cada tratamento por 60 minutos. A solução sob temperatura

ambiente deve ser deixada sob a bancada e o tratamento a 45°C, disposto em banho-maria com temperatura controlada. Atenção: as sementes devem ser mantidas no escuro, pois a solução de tetrazólio é fotossensível, e a luz pode alterar a coloração e comprometer os resultados do teste.

Observe as mudanças de cor que ocorrerão.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) O teste de tetrazólio é específico para determinar a atividade de que tipo de enzima?
- 2) Em que regiões da semente aparece a coloração vermelha? Justifique sua resposta.
- 3) Descreva a reação enzimática que conduz ao aparecimento da cor vermelha.
- 4) Zonas meristemáticas de raízes vivas apresentam reação positiva ao teste de tetrazólio, porém partes suberosas de raízes dão resultado negativo ao mesmo tipo de teste. Justifique essa afirmativa.

AULA PRÁTICA 14

ATIVIDADE DE CATALASE EM TUBÉRCULOS DE BATATA

(Solanum tuberosum)

Introdução

A respiração celular é o processo de conversão das ligações químicas de moléculas ricas em energia que pode ser usada nos processos vitais, sendo

o processo de obtenção de energia mais utilizado pelos seres vivos. Na respiração, ocorre a liberação de dióxido de carbono e energia e o consumo de oxigênio e glicose, ou outra substância orgânica. A organela responsável pela respiração é a mitocôndria. É nessa organela que se realiza a respiração e a consequente produção de energia (*i.e.* ATP).

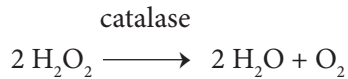
Do ponto de vista fisiológico, a respiração é o processo pelo qual um organismo vivo troca oxigênio e dióxido de carbono com o seu meio ambiente. Do ponto de vista da bioquímica, a respiração celular é o processo de conversão das ligações químicas de moléculas ricas em energia que possam ser usadas nos processos vitais. Do ponto de vista mais básico, a respiração celular é a oxidação da glicose, que pode ser expressa pela seguinte equação química: $C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 6H_2O + \text{energia}$. Entretanto, além da glicose, outras moléculas químicas, como outros açúcares, lipídios, aminoácidos, também podem ser oxidadas a CO_2 , água e energia.

A respiração é um fenômeno de fundamental importância para o trabalho celular e, portanto, para manutenção de vida de um organismo. Enquanto a fotossíntese depende da presença de luz solar para que possa ocorrer, a respiração celular, inclusive nas plantas, é processada tanto na presença ou mesmo na ausência de luz, ocorre em todos os momentos da vida de organismo e é realizada por todas as células vivas que a constituem. Se o mecanismo respiratório for paralisado num indivíduo, suas células deixam de dispor de energia necessária para o desempenho de suas funções vitais; inicia-se, então, um processo de desorganização da matéria viva, o que acarreta a morte do indivíduo.

Na respiração, grande parte da energia química liberada durante a oxidação do material orgânico se transforma em calor. Essa produção de calor contribui para a manutenção da temperatura corpórea em níveis compatíveis com a vida, compensando o calor que normalmente um organismo cede para o ambiente, sobretudo nos dias de frio.

Durante a respiração celular, pode haver a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que é tóxico para as células. Sabe-se que essa substância é um

potente inibidor de muitas enzimas, devendo existir, portanto, um mecanismo enzimático nos tecidos que promova sua destruição. As células geralmente contêm enzimas denominadas catalases, que desmutam o H_2O_2 em água em oxigênio:



Assim, uma das formas de mensurar a atividade respiratória em um material vivo é detectar a atividade da enzima catalase.

Objetivos específicos desta prática

Observar a atividade de catalases em tubérculos de batatinha.

Materiais utilizados

- peróxido de hidrogênio 100 mM;
- placa de Petri;
- tubérculos de batatinha;
- pipetas de Pasteur.

Procedimentos

De posse do tubérculo de batatinha, lave-o com água em abundância para retirar quaisquer resíduos de sujeira. Em seguida, descasque-o e corte-o em fatias finas. Coloque as fatias do tubérculo sob uma placa de Petri e cubra-a com a solução de peróxido de hidrogênio. A evolução de bolhas de oxigênio indica a presença de catalase.

Repita o experimento acima com fatias de batatinha mais grossas. Observe os resultados.

Agora, vamos pegar outras fatias de batatinha e vamos fervê-las durante 5 minutos e repetir o experimento.

Anote os resultados, discuta com os demais grupos e proceda o relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Ao cobrir fatias de batatinha com peróxido de hidrogênio, observa-se maior evolução de bolhas de oxigênio nos tecidos mais próximos da periferia do que nos tecidos internos. Por quê?
- 2) Que diferenças existem entre catalases, peroxidases e desidrogenases quanto às reações que catalisam?
- 3) Explique a principal diferença entre enzimas “pré-existentes” e as sintetizadas “de novo”.

AULA PRÁTICA 15

EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A PERMEABILIDADE DAS MEMBRANAS CELULARES

Introdução

Todas as células eucarióticas possuem um elaborado e complexo sistema de membranas, tendo como funções gerais o controle das trocas de solutos e água entre a célula e o meio externo e/ou entre as várias organelas celulares, além de criar compartimentos e superfície de reação para importantes funções celulares. Dentre estas membranas, destacam-se a membrana plasmática, que constitui o limite externo do protoplasto, o tonoplasto (ou membrana vacuolar), que separa o conteúdo dos vacúolos do citoplasma, e as várias membranas de organelas como: cloroplastos, mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi e outros.

Investigações da composição química, da ultraestrutura e das funções destas membranas têm mostrado que algumas características são comuns, enquanto outras são específicas. De modo geral, todas elas são constituídas de proteínas e de lipídios que, grosso modo, estão na proporção de 1:1, organizados em bicamadas assimétricas, conforme modelo proposto por Singer & Nicolson (1972). Outra característica geral das membranas é a sua permeabilidade diferencial, isto é, todas elas são capazes de controlar o fluxo de nutrientes e de água para dentro ou para fora dos compartimentos que estão delimitando. O controle, evidentemente, não só depende da membrana envolvida, mas ocorre em vários graus de intensidade e envolve diferentes mecanismos.

Raízes de beterraba (*Beta vulgaris*) possuem em suas células um pigmento de cor violácea chamado betacianina, dissolvido no suco vacuolar. *In vivo*, as duas membranas, plasmática e vacuolar, que separam o vacúolo do meio externo são essencialmente impermeáveis a este pigmento. *In vitro*, entretanto, há a saída deste pigmento numa taxa que depende das condições a que está sujeito o tecido radicular. A permeabilidade das membranas e os efeitos dos vários fatores físicos e químicos sobre a permeabilidade destas membranas serão avaliados em cilindros de raízes de beterraba.

O tonoplasto e a membrana plasmática são essencialmente impermeáveis às antocianinas e betalínas. Entretanto, com tratamentos adequados, a permeabilidade pode aumentar, fazendo com que estes pigmentos saiam das células. Vários fatores ambientais podem afetar, ou mesmo desorganizar, a permeabilidade diferencial das membranas, como a temperatura.

A fotossíntese e a respiração são processos biológicos que ocorrem essencialmente sobre as membranas celulares. Qualquer processo químico ou físico que provoque uma desorganização da estrutura das membranas biológicas vai, por conseguinte, afetar as taxas de fotossíntese e respiração. Em função disso, o estudo da integridade das membranas se torna essencial para o estudo da fisiologia vegetal.

Objetivos específicos desta prática

Avaliar a permeabilidade das membranas plasmática e vacuolar em tecidos de raízes de beterraba.

Avaliar os efeitos de alguns fatores físicos e químicos sobre a permeabilidade das membranas celulares.

Materiais utilizados

- raízes de beterraba;
- tubos de ensaio;
- pipeta de 20 mL;
- perfurador de rolha;
- banho-maria;
- suporte para tubo de ensaio.

Procedimentos

Retire, com um furador de rolhas de cerca de 10 mm de diâmetro, cilindros de uma raiz de beterraba vermelha. Corte oito fragmentos de coloração homogênea, com 20 mm de comprimento, lavando-os, em seguida, por cerca de 5 minutos em água corrente ou até que não saiam mais pigmentos pelas superfícies cortadas.

Tratamentos

- cilindros sob temperatura ambiente (30°C);
- cilindros sob temperatura de geladeira (3-5°C);
- cilindros sob temperaturas congelantes (-10°C);
- cilindros em temperaturas elevadas (50°C).

Reserve dois cilindros para cada tratamento. Introduza-os em tubos de ensaio, identificando-os, e os encaminhe às temperaturas devidas. Todos os cilindros permanecerão em suas devidas temperaturas por cerca de 1 hora.

Passado o tempo estipulado, retire os cilindros das devidas temperaturas e introduza em cada tubo de ensaio cerca de 10 mL de água desionizada, agitando bem o tubo.

Transfira o conteúdo dos tubos de ensaio para uma cubeta de espectrofotômetro e leia as respectivas absorbâncias, a 525 nm. Em seguida, construa um gráfico em que as temperaturas fiquem nas abscissas e as absorbâncias, nas ordenadas. Na ausência de um espectrofotômetro, o resultado também pode ser interpretado visualizando os tubos contra uma fonte de luz branca.

Anote os resultados, discuta com os demais grupos e proceda ao relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que a absorbância é bastante baixa nos cilindros que permaneceram entre 3 e 30°C e aumenta em temperaturas elevadas?
- 2) Por que a absorbância é alta quando se congela o cilindro de beterraba?
- 3) Cilindros de batatinha poderiam ser utilizados para se estudar o efeito das temperaturas sobre a permeabilidade das membranas, através do método colorimétrico? Justifique.
- 4) Por que os fruticultores geralmente armazenam seus frutos em temperaturas baixas, mas nunca em temperaturas inferiores a zero?
- 5) Qual a importância da lavagem dos cilindros de beterraba durante 5 minutos em água corrente antes do experimento?
- 5) Represente, esquematicamente, a estrutura química das betalaínas, alvo desta prática.

04

Seção

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS

Prof^a Dr^a. Jarcilene Silva de Almeida-Cortez
Prof^o Dr. Antônio Fernando Morais de Oliveira

O metabolismo secundário de plantas compreende um grupo diverso de moléculas envolvidas na adaptação das plantas ao ambiente. Os compostos do metabolismo secundário são originados de outras vias do metabolismo primário. Em geral, os termos *compostos do metabolismo secundário*, *fitoquímicos*, *fatores antinutricionais* e *xenobióticos vegetais* têm sido usados, na literatura, para se referenciar a esse grupo tão diverso de compostos (MAKKAR, SIDDHURAJU *et al.*, 2007). Há pelo menos 24 000 estruturas, incluindo muitos compostos que são antinutricionais e possuem efeitos tóxicos em mamíferos. Esse número, entretanto, não inclui os compostos polifenólicos oligoméricos (*e.g.* proantocianidinas e taninos hidrolizáveis), que são compostos mais recentemente estudados e que podem elevar o atual número de compostos conhecidos. Muitos compostos secundários encontrados em plantas são inibidores de proteases, lectinas, alcaloides, aminoácidos não proteicos, glicosídeos cianogênicos, saponinas e taninos. Estes compostos estão envolvidos com a defesa da planta contra a herbivoria e patógenos em geral. Também podem estar envolvidos na regulação da simbiose, controle da germinação das sementes e na inibição química contra plantas invasoras (aleloquímicos) e, então, ser partes integrais das interações das espécies com as demais comunidades vegetais e animais e uma adaptação da planta ao seu ambiente.

Nesta seção, estão inseridas quatro práticas que visam a identificar alguns compostos do metabolismo secundário do vegetal, de forma a integrar o metabolismo primário com o secundário. As práticas, conjuntamente, têm o objetivo de demonstrar ao aluno a importância ecológica dos compostos na adaptação das plantas ao seu ecossistema.

AULA PRÁTICA 16

DETECÇÃO DE SAPONINA EM DIFERENTES MATERIAIS BIOLÓGICOS

Introdução

As saponinas, também chamadas saponosídeos, formam um grupo particular de heterosídeos derivados dos triterpenos tetracíclicos. O nome deve-se ao fato de formarem espuma abundante quando agitadas na água, à semelhança do sabão. Esta propriedade decorre de sua estrutura química, na qual açúcares solúveis estão ligados a esteroides lipofílicos ou triterpênicos (HARBORNE e BAXTER, 1995). São caracterizadas pelas suas propriedades tensoativas (*i.e.* reduzem a tensão superficial da água e apresentam ações detergentes e emulsificantes). Em geral, quando em solução aquosa, formam espuma persistente e abundante. Além disso, as saponinas apresentam elevada solubilidade, agindo sobre membranas, causando a desorganização das mesmas, além de complexarem com substâncias esteroidais (SCHENKEL, GOSMANN *et al.*, 2001). Nos animais, elas contribuem com um sabor amargo a acre quando da ingestão de folhas com concentrações elevadas de saponinas.

A classificação das saponinas geralmente é feita de acordo com o núcleo fundamental aglicona, podendo ser denominadas saponinas esteroidais ou saponinas tripterpênicas (Figura 7). As saponinas esteroidais são encontradas quase que exclusivamente nas monocotiledôneas; já as saponinas triterpênicas encontram-se predominantemente nas dicotiledôneas, principalmente nas famílias Sapindaceae, Sapotaceae, Polygonaceae, Caryophyllaceae e Araliaceae (SCHENKEL, GOSMANN *et al.*, 2001). As saponinas, apesar de muito usadas na indústria farmacêutica, apresentam propriedades tóxicas aos seres humanos (VICKERY e VICKERY, 1981). Para animais de sangue frio, como insetos e moluscos, as saponinas costumam ser tóxicas e letais, mesmo em baixas concentrações.

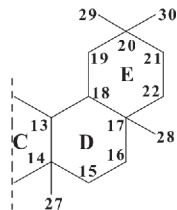
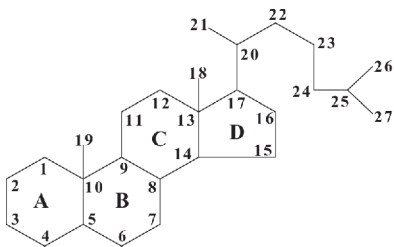


Figura 7: Esqueleto esteroidal das saponinas esteroidais (à esquerda) e esqueleto triterpênico das saponinas triterpênicas (à direita)

Objetivos específicos desta prática

Verificar a presença de saponinas em diferentes materiais vegetais.

Materiais utilizados

- tubos de ensaio;
- banho-maria;
- material vegetal triturado de *Ilex paraguariensis* (erva mate), *Calotropis procera* (flor de cera) ou outro material de escolha do professor.

Procedimentos

Coloque cerca de 2 gramas de material vegetal em cada um dos tubos fornecidos pelo monitor. Sobre o material, disponha 10 mL de água desionizada e ferva o material por cerca de 2 minutos em banho-maria a 100°C.

Após a fervura, agite vigorosamente os tubos, por cerca de 20 segundos, deixando, em seguida, descansar por mais 15 minutos.

Passado o tempo, marque com uma caneta hidrocor a altura da espuma. Após mais 15 minutos, verifique novamente a altura da espuma. A presença de saponina é marcada pela permanência da espuma nos tubos, sendo que o desaparecimento da mesma indica sua inexistência ou mesmo existência em baixas concentrações.

Anote todas as observações, fotografando, se possível; discuta os dados com os demais grupos e proceda ao relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento o aluno, deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que a extração do material vegetal que será testado para saponinas é feito com água fervente?
- 2) Qual a finalidade de agitar vigorosamente os tubos de ensaio na vertical contendo o extrato?
- 3) Explique por que material com saponinas forma um anel de espuma persistente.

AULA PRÁTICA 17

DETECÇÃO DE TANINOS EM DIFERENTES MATERIAIS BIOLÓGICOS

Introdução

Os taninos são componentes polifenólicos distribuídos em plantas, alimentos e bebidas (MAKKAR e BECKER, 1998), os taninos encontram-se amplamente distribuídos nas plantas superiores, ocorrendo em aproximadamente 30% das famílias (PANSERA, SANTOS *et al.*, 2003), compreendem um grande grupo de substâncias naturais, complexas, de natureza fenólica, hidrossolúvel, que possuem peso molecular compreendido entre 500 e 3000 Dalton e que, além das reações clássicas dos fenóis, apresentam a propriedade de precipitar alcaloides, gelatina e outras proteínas, formando complexos insolúveis em água com estes compostos (MAKKAR, SIDDHURAJU *et al.*, 2007). A capacidade dos taninos de se combinarem com as proteínas e outros polímeros como os polissacarídeos se explica por sua adstringência causada pelas precipitações das proteínas e das glucoproteínas da saliva.

Nos vegetais, encontramos quantidades relativamente importantes de compostos fenólicos. Sua função é, essencialmente, proteger os tecidos contra o ataque dos insetos, fungos ou de bactérias. É considerado um sistema de defesa passiva relativamente eficaz. As plantas podem igualmente produzir grandes quantidades de compostos fenólicos a partir de uma alteração na superfície das células vivas: é a defesa ativa. Os taninos geralmente representam a parte principal do extrato polifenólico total.

Costuma-se classificar os taninos, segundo a natureza das moléculas elementares, em dois grupos distintos: (i) os taninos condensados, presentes na uva e nos vinhos, que são polímeros dos flavonoides. Nos mostos e nos vinhos estão presentes, sobretudo, a catequina e a epicatequina, que são as unidades estruturais de base; (ii) os taninos hidrolisáveis, que compreendem os galitaninos e os elagitaninos, liberados, respectivamente, do ácido gálico e do ácido elágico após hidrólise ácida, são constituídos também de uma molécula de glicose (Figura 8). Estas diferentes moléculas são hidrossolúveis e passam rapidamente em solução nos meios hidroalcoólicos, tais como o vinho e as aguardentes. Estes taninos são encontrados, principalmente, na madeira do carvalho e outras espécies vegetais.

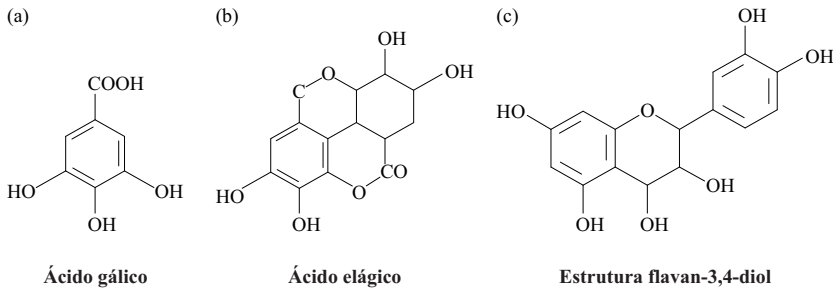


Figura 8: Estrutura química básica dos taninos hidrolisáveis (a e b) e condensado (c).

Objetivos específicos desta prática

Verificar a presença de taninos em diferentes materiais vegetais.

Materiais utilizados

- tubos de ensaio;
- banho-maria;
- becker;
- funil e papel filtro;
- água desionizada ou destilada;
- material vegetal triturado de *Ilex paraguariensis* (erva mate), *Calotropis procera* (flor de cera) ou outro material de escolha do professor;
- solução de FeCl_3 1% em metanol.

Procedimentos

Coloque cerca de 2 gramas de material vegetal em cada um dos tubos fornecidos pelo monitor. Sobre o material, disponha 30 mL de água desionizada e ferva o material por cerca de 20 minutos em banho-maria a 100°C.

Após a fervura, aguarde até que o mesmo esfrie e, então, o filtre. Identifique essa amostra como Solução extrativa A. Da solução extrativa A pipete 2 mL, transferindo-a para outro tubo, onde será acrescentado mais 10 mL de água desionizada e 2 gotas de uma solução de FeCl_3 1% em metanol.

Após a estabilização da cor, verifique o ocorrido e anote os resultados. Para interpretação dos dados saiba que a cor azul denota a presença de taninos hidrolisáveis ou ácido gálico e a cor verde, a presença de ácidos condensáveis do tipo catéquicos.

Anote todas as observações, fotografando, se possível; discuta os dados com os demais grupos e elabore o relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Diferencie taninos hidrolisáveis de taninos condensados.
- 2) Por que a presença de taninos condensados reage com a solução FeCl_3 , dando cor verde?
- 3) Qual a importância dos taninos para as plantas?

Obs.: Para responder as questões 1 e 3 use outras referências, não se limite ao que foi apresentado na introdução desta prática.

AULA PRÁTICA 18

DETECÇÃO DE ALCALOIDES EM DIFERENTES MATERIAIS BIOLÓGICOS

Introdução

Os alcaloides (*álcali*, básico, com o sufixo *-oide*, “-semelhante a”) são *substâncias de caráter alcalino derivadas* principalmente de plantas (mas não somente, podendo ser também derivadas de fungos, bactérias e até mesmo de animais) que contêm, em sua fórmula, basicamente, nitrogênio, oxigênio, hidrogênio e carbono. Seus nomes comuns e os quais estamos mais habituados a ver, geralmente terminam com o sufixo *ina*: cafeína (do café, que é chamada de pseudoalcaloide por ser, na verdade, uma xantina), cocaína (da coca), pilocarpina (do jaborandi), papaverina/morfina /heroína/codeína (da papoula), bromelina (do abacaxi), papaína (do mamão), psilocibina, do cogumelo *Psilocybe cubensis*, almíscar, que é extraído de uma glândula do cervo-almíscarado, etc (Figura 9). São geralmente sólidos brancos (com exceção da nicotina). Nas plantas, podem existir no estado livre, como sais ou como

óxidos. Eles também correspondem aos principais terapêuticos naturais com ação: anestésica, analgésica, de psicoestimulantes, de neurodepressores, etc. Os alcaloides podem ser classificados quanto à sua atividade biológica, quanto à sua estrutura química e quanto à sua origem biossintética (maneira de produção na planta).

As eudicotiledôneas são as que apresentam maior número de famílias com espécies alcaloídicas, embora alcaloides possam aparecer em algumas monocotiledôneas e, menos frequentemente, nas gimnospermas. Eles distribuem-se por toda a planta, mas tendem a se acumular em certas regiões, em particular nos tecidos externos, no tegumento das sementes e nas cascas dos caules e raízes. Em cada planta existe sempre uma mistura própria de vários alcaloides com estrutura química semelhante e, geralmente, observa-se predomínio de um deles (alcaloide principal) (MAKKAR, SIDDHURAJU *et al.*, 2007). As funções destes compostos nas plantas não estão bem esclarecidas. Inicialmente, foram atribuídos aos alcaloides os papéis de proteção, resultante da toxicidade elevada que conferem ao vegetal. No entanto, acredita-se que os alcaloides atuem também como reserva da síntese de proteínas, estimulantes ou reguladores do crescimento, do metabolismo interno ou da reprodução sendo, ainda, agentes finais da desintoxicação e da transformação simples de outras substâncias, cujo acúmulo pode ser nocivo ao vegetal (SARAIVA, PINTO *et al.*, 2006).

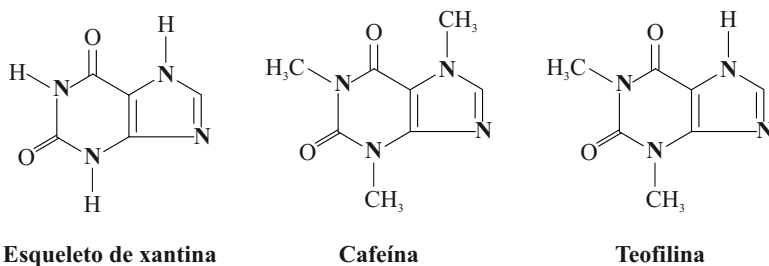


Figura 9: Estrutura química das xantinas, com destaque para a cafeína, muito comum em folhas, frutos e sementes de *Coffea* sp., para a teofilina, muito presente em folhas de *Camellia* sp..

Objetivos específicos desta prática

Verificar a presença de alcaloides em diferentes materiais vegetais.

Materiais utilizados

- tubos de ensaio;
- banho-maria;
- subnitrato de bismuto;
- ácido nítrico;
- iodeto de potássio;
- material vegetal triturado de *Ilex paraguariensis* (erva mate), *Calotropis procera* (flor de cera) ou outro material de escolha do professor.

Procedimentos

Preparação do reagente de Dragendorff

Dissolva 8 g de subnitrato de bismuto em 20 mL de ácido nítrico diluído a 30%. Dissolva, em separado, mais 22,8 g de iodeto de potássio em um volume mínimo de água. Verta a primeira solução pouco a pouco sobre a segunda. Deixe em repouso durante algumas horas e filtre. Complete o volume com água desionizada para 100 mL e guarde a solução em frasco âmbar, ao abrigo da luz.

Identificação da presença de alcaloides

Coloque cerca de 2 gramas de material vegetal em cada um dos tubos fornecidos pelo monitor. Sobre o material, disponha 20 mL de água desionizada e ferva o material por cerca de 2 minutos em banho-maria a 100°C.

Após a fervura, aguarde até que o mesmo esfrie e, então, o filtre. Ao filtrado, acrescente 3 gotas de ácido clorídrico a 50%, deixando o tubo em repouso por cerca de 2 minutos. Em seguida, acrescente mais 3 gotas do reagente de Dragendorff.

Verifique nos tubos a presença de turvação ou precipitado, sabendo-se que a presença de alcaloides é dada pela reação positiva à turvação e à precipitação. A ausência desses fenômenos indica que o material vegetal não apresenta alcaloides ou apresenta em concentração muito baixa, que não seja identificável por esta técnica.

Anote todas as observações, fotografando, se possível; discuta os dados com os demais grupos e elabore o relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que a reação positiva para alcaloides forma precipitados?
- 2) Qual a importância dos alcaloides?
- 3) Qual a importância de acrescentar o ácido clorídrico antes do reagente de Dragendorff?

AULA PRÁTICA 19

ANÁLISE DE LIPÍDIOS CUTICULARES

Introdução

Uma das características adaptativas que permitiu o controle da perda excessiva de água e garantiu a conquista do ambiente terrestre pelas plantas foi a aquisição de uma camada lipídica protetora, denominada cutícula. A cutícula reveste todos os órgãos aéreos primários das plantas e, assim, representa a interface entre esses órgãos e o ambiente.

Quimicamente, a cutícula é formada por uma matriz biopolimérica constituída por cutina, cutano, ou ambos, e um segundo componente predominan-

temente alifático de baixa polaridade: as ceras cuticulares. As ceras cuticulares são formadas por diferentes classes de constituintes. Estes podem ser de natureza cíclica e alifática de cadeia longa, que pode ser classificada de acordo com sua estrutura e grupo funcional. Em cada classe são encontradas substâncias que diferem quanto ao número de carbonos, constituindo uma série homóloga (Figura 10).

Os hidrocarbonetos, notadamente os *n*-alcanos, são os compostos mais comuns encontrados na superfície vegetal. Hidrocarbonetos alifáticos oxigenados correspondem à segunda classe mais importante, destacando-se os ésteres, os ácidos graxos livres, os álcoois primários e secundários, as cetonas, as β -dicetonas, as hidroxicetonas e os aldeídos; *n*-alcanos, cetonas, β -dicetonas e álcoois secundários possuem homólogos com números ímpares de átomos de carbonos (C19 a C37), enquanto que as demais classes possuem números pares de átomos de carbono, num limite de C12 a C36 átomos ou, às vezes, até 60 átomos de carbono, como em alguns ésteres (RIEDERER e MULLER, 2006).

Os compostos cíclicos representam a terceira categoria de substâncias encontradas nas ceras cuticulares. Enquadram-se nesse grupo os triterpenoides. Em menor proporção podem ainda ser encontrados flavonoides, esteroides, hidrocarbonetos aromáticos e alcaloides. Nas ceras cuticulares, raramente são encontrados dióis e glicerídeos, polissacarídeos e polipeptídeos.

A cutícula vegetal participa de numerosos processos ecofisiológicos na vida de uma planta. Quando os estômatos estão fechados, por exemplo, a perda de água se processa, muito lentamente, através da cutícula (*i.e.* transpiração cuticular). Em situações de estresse severo, as dessecação e sobrevivência das plantas são dependentes quase que exclusivamente da permeabilidade cuticular. Além de evitar a perda excessiva de água durante a transpiração, a cutícula também contribui com as trocas gasosas, reduz a lixiviação na superfície foliar, prevenindo, assim, a perda de nutrientes, funcionando como anteparo à radiação solar e protegendo a planta contra o resfriamento. Os componentes

cuticulares influenciam a interação trófica na superfície vegetal. Ora atraem, ora repelem insetos dos mais diversos tipos, bem como atuam como barreira à entrada de micro-organismos fitopatogênicos.

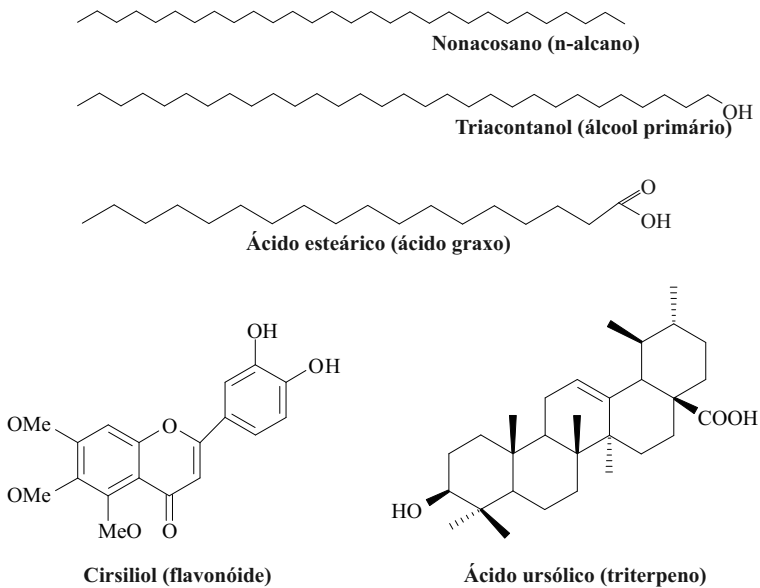


Figura 10: Alguns representantes identificados na cera cuticular de plantas.

Objetivos específicos desta prática

Analisar as principais classes de lipídios cuticulares que compõem a superfície aérea das plantas.

Materiais utilizados

- sílica gel G 60;
- hexano e diclorometano;
- fluoresceína sódica 0,02%;
- água desionizada;

- capilares;
- placas de vidro 15 x 20 cm;
- cuba para cromatografia;
- luz negra;
- becker 1000 ml e Erlenmyer 125 ml;
- funil e bastão de vidro ;
- papel de filtro;
- material vegetal indicado pelo professor ou pelo monitor.

Procedimentos

Coloque em um becker 20 folhas inteiras do material biológico fornecido pelo monitor (as folhas não podem estar danificadas). Sobre as folhas, adicione diclorometano num volume suficiente para cobri-las. Agite suavemente o becker em movimento circular, durante 30 segundos. Filtre o extrato obtido e repita a operação mais uma vez.

Com o auxílio de um capilar faça uma cromatografia em camada delgada (CCD), utilizando como fase móvel o sistema hexano/diclorometano (73:27 v/v). Após o desenvolvimento do processo cromatográfico, retire a placa da cuba e espere secar. Visualize os spots (classes químicas) sob luz negra.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Quais as principais classes de constituintes encontradas na espécie estudada? Desenhe um cromatograma indicando as principais classes.
- 2) Qual a consequência na utilização de folhas danificadas para obtenção dos lipídios cuticulares?
- 3) Qual a finalidade da fluoresceína sódica no processo cromatográfico?

05

Seção GERMINAÇÃO DE SEMENTES

Prof^a Dr^a. Dilosa Carvalho de Alencar Barbosa
Marcos Vinícius Meiado

As sementes são óvulos maduros contendo um embrião e nutrientes estocados dentro de um tegumento. As sementes são o produto da reprodução sexuada da maioria das plantas vasculares (*i.e.* gimnospermas e angiospermas) e são a maneira pela qual as plantas se reproduzem e geneticamente divergem. Em geral, as sementes maduras se mantêm dormentes por dias, ou até mesmo anos. Neste estágio, são capazes de tolerar as mais diversas condições ambientais estressantes (*e.g.* calor intenso, fogo, seca, escuro, salinidade) que não poderiam ser suportadas pela grande maioria das plantas em estágio vegetativo ou reprodutivo (BASKIN e BASKIN, 1998). Na natureza, o pequeno volume da semente e o comportamento da mesma fazem dela uma unidade móvel da planta, podendo ser transportada a longas distâncias, promovendo a dispersão das plantas matrizes. Os fatores bióticos e abióticos que afetam as sementes, entretanto, têm importância ímpar na demografia e na evolução das plantas (WALL, FORGET *et al.*, 2002).

Nesta seção, estão inseridas duas práticas que visam a testar o efeito da escarificação química e física sobre a germinação das sementes. Pretende-se, ainda testar o efeito dos diferentes comprimentos de onda sobre a fisiologia da germinação. As práticas, conjuntamente, têm o objetivo de demonstrar ao

aluno a importância ecológica das sementes e os processos que elas têm de enfrentar na natureza antes da efetiva germinação.

AULA PRÁTICA 20

MÉTODOS PARA SUPERAÇÃO DE DORMÊNCIA TEGUMENTAR

Introdução

Após sua formação, as sementes podem ser dispersas para que germinem no solo, assim que encontrarem condições favoráveis para tanto. Estas condições favoráveis estão relacionadas com os fatores ambientais (*i.e.* temperatura, luz, disponibilidade de água e oxigênio) que controlam a germinação de sementes em seu ambiente natural. Porém, algumas espécies produzem sementes que não germinam mesmo sob condições favoráveis. Estas são classificadas como sementes dormentes e a germinação ocorrerá apenas quando a dormência for superada.

Em geral, a dormência bloqueia a germinação em diferentes graus dentro de uma população e protege as sementes da deterioração, sendo superada ao longo do tempo, sob condições naturais ou de alterações climáticas. Além de impedir a germinação, alguns tipos de dormência podem favorecer a manutenção da espécie na comunidade, em longo prazo, pois fazem com que as sementes mantenham-se protegidas no solo por mais tempo.

Diferentes tipos de dormência são reconhecidos em sementes de diversas espécies. Estes tipos podem ser divididos em dois grandes grupos: (*i*) dormência embrionária ou endógena e (*ii*) dormência extra-embriônica ou exógena. Um dos exemplos de dormência extra-embriônica mais documentados em espécies tropicais é a dormência física, também conhecida como dormência tegumentar. Os envoltórios seminais das espécies que possuem sementes com este tipo de dormência evitam a exposição do embrião ao estímulo ambiental, impedindo a absorção de água e, conseqüentemente, a germinação. À medida que esta dormência é superada, as sementes conseguem absorver água, reidratar seus tecidos e reativar o metabolismo celular, iniciando o processo germinativo.

Entre os métodos mais utilizados para superação de dormência tegumentar, destacam-se a escarificação mecânica, com a utilização de superfícies abrasivas e a escarificação química, a partir da imersão das sementes em soluções de natureza ácida, ou mesmo água em ebulição. Dessa forma, a utilização de tratamentos pré-germinativos para superação da dormência é importante quando se deseja promover a germinação das sementes dormentes, pois acelera e uniformiza o processo germinativo.

Objetivos específicos desta prática

Avaliar a eficiência da escarificação física e química como método de superação de dormência tegumentar em sementes de algaroba (*Prosopis juliflora* DC).

Materiais utilizados

- placas de Petri de 9 cm de diâmetro;
- papel filtro;
- água desionizada;
- pinça;
- sementes de algaroba (*Prosopis juliflora*);
- lixa d'água;
- béqueres de 200 mL;
- bastões de vidro;
- peneira;
- ácido sulfúrico.

Tratamentos

- escarificação física:
 - ✓ controle (não escarificado);

- ✓ escarificadas (lixadas).
- escarificação química:
 - ✓ imersão em ácido sulfúrico por 0, 5, 15, 30, 60 e 90 minutos.

Procedimentos

Para cada tratamento, prepare três placas de Petri de 9 cm de diâmetro, forrando-as com duas folhas de papel filtro e umedecendo-os com água desionizada. As sementes utilizadas nos experimentos devem ser homogêneas quanto a tamanho, formato, textura e cor e não devem apresentar nenhuma característica de má formação ou predação.

Para o grupo controle, selecione as sementes e coloque-as nas placas de Petri sem submetê-las a nenhum tipo de tratamento pré-germinativo. No tratamento de escarificação física, lixe as sementes na região oposta ao hilo, com o auxílio de uma lixa d'água. No tratamento de escarificação química, mantenha as sementes em béqueres contendo ácido sulfúrico concentrado por diferentes períodos de acordo com o tratamento (0, 5, 15, 30, 60 e 90 minutos).

Após cada período de escarificação química, verta o ácido sulfúrico em um recipiente de descarte, com o auxílio de um bastão de vidro. Lave as sementes em água corrente, durante 5 minutos, com o auxílio de uma peneira.

Com o auxílio de uma pinça, disponha dez sementes de algaroba em cada placa de Petri, totalizando 30 sementes por tratamento. Mantenha todas as placas de Petri em câmaras de germinação ou em sala de cultivo, sob fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C.

A contagem do número de sementes germinadas em cada tratamento deverá ser efetuada diariamente, por um período de até cinco dias após o início do experimento. Ao final do experimento, calcule para cada placa a porcentagem final de germinação, o tempo médio de germinação, a partir da fórmula:

$$t = \frac{\sum n_i \cdot t_i}{\sum n_i} \quad \text{onde } t_i \text{ é o tempo entre o início do experimento e a } i\text{ésima observação (dia), e } n_i \text{ é o número de sementes germinadas no}$$

tempo i . Calcule também a velocidade média de germinação, através da seguinte

fórmula: $v = \frac{1}{t}$.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual tratamento é mais indicado para superar a dormência tegumentar da espécie estudada?
- 2) Qual é o tempo mínimo necessário para o ácido sulfúrico superar a dormência tegumentar das sementes de turco?
- 3) O aumento do tempo de imersão em ácido sulfúrico aumenta a porcentagem final de germinação da espécie estudada?
- 4) Sementes que passaram mais tempo em contato com o ácido sulfúrico germinam mais rápido?
- 5) Há algum tratamento prejudicial para a germinação de sementes da espécie estudada?

AULA PRÁTICA 21

INFLUÊNCIA DA LUZ NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE

Introdução

A germinação de sementes é uma das fases mais críticas do ciclo de vida dos vegetais. Esta fase é influenciada por diversos fatores bióticos, como, por exemplo, o ataque de predadores de sementes e patógenos, e abióticos, tais como temperatura, luz e disponibilidade de água no solo. Estes fatores deter-

minam o sucesso reprodutivo das espécies e a ocorrência das plantas em seu ambiente natural.

A luz é um dos principais fatores abióticos que influenciam a germinação. De acordo com a resposta da semente à exposição à luz, encontram-se sementes que germinam somente após a exposição à luz (fotoblásticas positivas), outras em que a germinação é desencadeada somente no escuro (fotoblásticas negativas) e sementes indiferentes à luz (fotoblásticas neutras ou afotoblásticas).

Na luz solar, são observados diferentes comprimentos de ondas e o fitocromo é o pigmento receptor responsável pela captação dos diferentes sinais luminosos. Estas moléculas representam uma classe de fotorreceptores que estão envolvidos em inúmeros processos de desenvolvimento, como, por exemplo, a germinação. O modo de ação desse pigmento depende do tipo de radiação incidente. Na maioria das espécies vegetais, a molécula de fitocromo apresenta-se de duas formas interconvertíveis, isto é, que podem transformar-se uma na outra e vice-versa: a forma Fv (fitocromo vermelho) transforma-se na forma Fve (fitocromo vermelho-extremo) quando absorve luz vermelha no comprimento de onda em torno de 667 nm, promovendo a germinação da maioria das sementes fotoblásticas. Por outro lado, a luz vermelho-extremo, com comprimento de onda em torno de 730 nm, pode levá-lo a assumir a forma inativa (Fv), impedido a germinação. Desse modo, os fitocromos podem funcionar como um “interruptor biológico”, ativando e desativando reações. Além desses dois tipos básicos, tem-se proposto a existência de um terceiro tipo de fitocromo, o Fve* (RYU, KIM *et al.*, 2005). Neste sentido, o fitocromo, além de se autoconverter, quando do sensoramento de luz, pode ser convertido pela ação de enzimas fosfatases e cinases, sendo que a primeira deixa-o mais ativo e completamente estável, enquanto a segunda sinaliza-o para a degradação ou mesmo para a interconversão em Fv e, portanto, na inativação (figura 11, detalhes em Taiz & Zeiger, 2009).

Objetivos específicos desta prática

Determinar o fotoblastismo e avaliar se a qualidade da luz influencia na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa* L. – Asteraceae).

Materiais utilizados

- placas de Petri de 5 cm de diâmetro;
- papel filtro;
- água desionizada;
- pinça;
- sementes de alface (*Lactuca sativa* L.);
- bastões de vidro;
- saco plástico preto;
- papel celofane vermelho, azul e verde.

Tratamentos

- fotoblastismo
 - ✓ luz
 - ✓ escuro
- qualidade da luz
 - ✓ luz vermelha
 - ✓ luz vermelho-extremo
 - ✓ luz verde

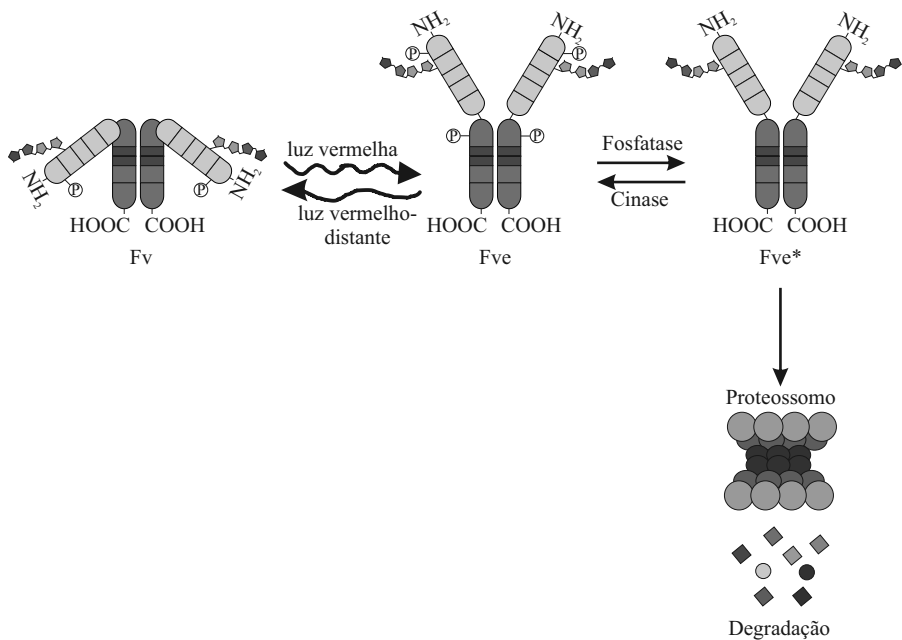


Figura 11: Ação da luz vermelha e da luz vermelho-distante na interconversão das formas Fv e Fve do fitocromo. A forma Fve compreende um fitocromo ativo, porém lábil e transientemente interconvertível na forma Fv. Sob ação de uma fosfatase (provavelmente PAPP5), o Fve pode ser convertido na forma Fve*, tornando-se completamente ativo e estável. Esta forma pode sofrer a ação de uma proteína cinase e retornar à forma Fve, interagir com outras proteínas nucleares ou simplesmente ser degradado pela ação dos proteossomas. Desenhado por Pompelli, MF com base em Ryu *et al.* (2005).

Procedimentos

Para cada tratamento, prepare três placas de Petri de 5 cm de diâmetro, forrando-as com duas folhas de papel filtro e umedecendo-as com água destilada.

Com o auxílio de uma pinça, disponha 25 sementes de alface em cada placa de Petri. Para avaliar o fotoblastismo da espécie, mantenha metade das placas de Petri sob luz e a outra metade no escuro, envolvendo-as com saco plástico preto.

Para submeter as sementes a diferentes espectros de luz, envolva as placas em: (i) celofane verde (para simular um filtro de cor verde – 550 nm), (ii) em celofane vermelho (para simular um filtro de cor vermelho – 660 nm) e (iii) em celofane vermelho + celofane azul (para simular um filtro de cor vermelho-distante – 680 nm).

Após isso, mantenha todas as placas de Petri em câmaras de germinação, sob luz contínua e temperatura de 25°C.

A contagem do número de sementes germinadas deverá ser efetuada sete dias após o início do experimento, para a determinação da porcentagem final de germinação, conforme já apresentado na prática 19.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual o fotoblastismo da espécie estudada?
- 2) A qualidade de luz influenciou a porcentagem final de germinação das sementes de alface? Apresente justificativas para o fato, se sua resposta for sim.

06

Seção

FITORREGULADORES E O DESENVOLVIMENTO VEGETAL

Profº Dr. Mauro Guida dos Santos

Enquanto os metabólitos, como os carboidratos, e os compostos nitrogenados providenciam a energia e os materiais para a “construção” dos tecidos, hormônios endógenos regulam o crescimento, a diferenciação e o desenvolvimento das plantas. Eles atuam em concentrações muito ínfimas, muitas vezes abaixo daquelas em que atuam os demais compostos celulares. Embora os hormônios sejam sintetizados em várias partes do corpo do vegetal, as principais fontes de fitorreguladores são os meristemas apicais e as folhas. Outra fonte importante de fitorreguladores é o meristema apical da raiz, local em que são produzidos as citocininas, as giberelinas, e o ácido abscísico (CORNISH e ZEEVART, 1985). As auxinas foram os primeiros fitorreguladores descobertos; descritas como uma substâncias capazes de regular a resposta de crescimento num determinado tecido, seja ele próximo ou distante do local de produção. Os sistemas hormonais, sejam eles animais ou vegetais, sempre envolvem uma cascata de sinalização que envolve, muitas vezes, mensageiros secundários como os íons cálcio e o inositol fosfato (IP_3). Atualmente, é conhecido que os fitohormônios são transportados pelo corpo do vegetal e iniciam uma resposta, em geral, em tecidos localizados muito distantes do seu local de produção. Exemplo disso é o ácido abscísico que é produzido pelas raízes, em

resposta ao déficit hídrico, mas atua principalmente nas folhas, no mecanismo de fechamento estomático.

Nesta seção estão inseridas quatro práticas que visam a demonstrar ao aluno o efeito dos diferentes fitorreguladores no desenvolvimento vegetal e suas interações.

AULA PRÁTICA 22

FOTOMORFOGÊNESE E MOVIMENTOS EM PLANTAS

Introdução

Durante as aulas de fotossíntese, foram discutidas a importância e a influência da luz sobre o ciclo de vida das plantas. Aliás, importância esta qualitativa e quantitativa, já destacada desde a germinação das sementes (ver práticas 19 e 20). Agora, vamos observar o efeito das qualidades e intensidades luminosas sobre o desenvolvimento morfológico das plantas: “fotomorfogênese”.

A luz é um sinal ambiental que, ao ser percebido pelos cloroplastos, desencadeia alterações no metabolismo e desenvolvimento das plantas. A radiação afeta a diferenciação e, portanto, a estrutura da planta em nível subcelular (*e.g.* diferenciação do cloroplasto) e em nível celular, bem como de órgãos (*i.e.* fotomorfogênese).

Para que tais alterações possam ocorrer, em primeiro lugar a radiação precisa ser captada e “traduzida”. Neste sentido, uma variedade de fotorreceptores (*e.g.* os fitocromos) se encarregaram de transformar esse sinal ambiental em atividade fotoquímica. Fotorreceptores são pigmentos que absorvem a luz em diferentes comprimentos de onda. O seu papel principal se divide em três partes: “captar” a luz ambiente; “traduzir” o conteúdo informativo presente na luz do ambiente e transformá-lo em uma ação primária no interior das células. Em outras palavras, o fotorreceptor torna-se fotoquimicamente ativo, e desencadeia uma cascata de eventos bioquímicos (com participação de mensageiros secundários); “transmissão” que resultará em respostas metabólicas e de desenvolvimento (BRUTNELL, 2009).

Outra alteração causada nas plantas por fatores ambientais (*e.g.* a luz) são os movimentos, que podem ser classificados de duas formas: tropismos (direcionados) e nastismos (sem direcionamento). Quando se fala em movimentos em plantas, imaginamos árvores andando como em filmes de “hollyhood”; no

entanto, trata-se de movimentos sutis de algumas partes da planta (folhas, flores, ramos ou raízes). Durante estes movimentos, pode ocorrer aumento de tamanho e/ou número de células, sendo, nesse caso, irreversível; outra possibilidade seria a variação de turgor (reversível).

Objetivos específicos desta prática

Alterar o desenvolvimento morfológico de plântulas devido à variação luminosa;

Induzir o movimento de plantas devido ao geotropismo.

Materiais utilizados

- plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) e milho (*Zea mays* L.);
- plantas de *Coleus* sp..

Procedimentos

Procedimento 1 (fotomorfogênese)

Cada grupo receberá seis vasos onde serão plantadas sementes de milho ou feijão previamente embebidas por quatro horas. Os vasos serão mantidos: (i) sob a bancada do laboratório, sob luz normal de ambiente iluminado, (ii) no escuro total e (iii) em casa de vegetação. A cada dois dias os vasos serão irrigados para manter a umidade do substrato.

Os potes serão mantidos nessas condições por 15 dias, com uma avaliação no décimo dia. Durante o transcorrer da prática, deve-se fotografar as plântulas dos diferentes tratamentos e anotar os resultados, discutindo com os demais grupos os principais resultados. Agrupe os dados, discuta os resultados e proceda ao relatório.

Procedimento 2 (movimentos)

Um único experimento será instalado com três vasos contendo uma planta de *Coleus* sp.. Os vasos serão mantidos em: (i) posição vertical, (ii) de cabeça para baixo e (iii) na horizontal à superfície do solo. As plantas permanecerão nestas posições por aproximadamente 15 dias. Durante o transcorrer do

experimento, as plantas devem ser avaliadas quanto a sua morfologia, aspectos gerais e fisiológicos.

Finalizados os experimentos, os dados resultantes devem ser organizados em tabelas e gráficos, discutidos com os demais grupos e deve-se proceder à escritura do relatório.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Por que as plântulas mantidas no escuro estão estioladas e com coloração pálida?
- 2) Por que as plântulas dentro do laboratório também estão estioladas em relação às plantas mantidas na casa de vegetação?
- 3) O que ocorreu para que a parte aérea das plantas de *Coleus* mudasse a direção do seu crescimento?

AULA PRÁTICA 23

EFEITO DAS AUXINAS SOBRE PLÂNTULAS JOVENS DE FEIJÃO E COLEUS

Introdução

O curso de fisiologia vegetal tem seu início obedecendo a uma sequência lógica que é melhor compreendida no momento em que se inicia o estudo dos sinalizadores químicos que controlam o desenvolvimento dos vegetais. Para que essas substâncias integrem toda a planta (*i.e.* raiz, parte aérea, folhas, ramos e frutos), é necessário o movimento de água (relações hídricas), que depende das trocas gasosas. Uma vez que para a água se movimentar pelo

corpo do vegetal deverá haver uma pressão de turgor, necessária para o crescimento celular. No entanto, não verificaremos nenhum desses eventos se a planta não tiver nutrientes para o seu equilíbrio nutricional. Partindo do princípio de que para esse quadro acima ocorrer, deverá haver a transformação da energia luminosa em energia química, ou seja, a fotossíntese, dessa forma se completa a lista de todos os assuntos vistos no transcorrer da disciplina de fisiologia vegetal até o momento.

As auxinas (do grego *auxein* = crescer) foram os primeiros fitorreguladores a serem descritos pelos cientistas. E, durante muito tempo, era tudo o que se sabia dessas substâncias nos vegetais. Tudo começou com os experimentos de fototropismo de Charles Darwin (1880), quando este observou que um estímulo de crescimento era produzido no ápice de coleótilos e transmitido para a zona de crescimento. Tal comportamento promotor de crescimento foi demonstrando ser de natureza química em 1919 e, finalmente, se conheceu a estrutura da auxina em 1930 com ajuda de técnicas avançadas de bioquímica e biologia molecular.

A principal função das auxinas é atuar no alongamento celular, bem como na manutenção da dominância apical e na diferenciação celular. A principal auxina nos vegetais superiores é o ácido indol-3-acético (AIA), mas há outras como o AIB, ANA, 2,4-D e Dicamba (Figura 12).

Objetivos específicos desta prática

Estimular a manutenção da dominância apical em plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) decapitadas;

Induzir o desenvolvimento diferenciado de plantas de *Coleus* sp. devido à aplicação de AIA na parte aérea.

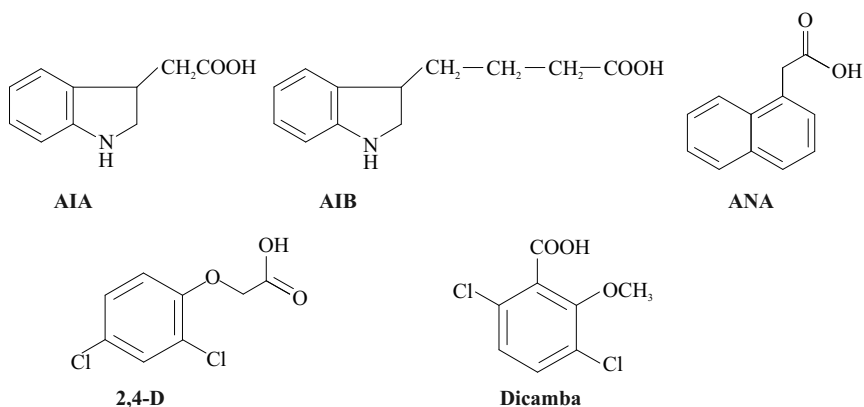


Figura 12: Alguns representantes das auxinas: ácido indol-3-acético (AIA), ácido indol-3-butírico (AIB), ácido naftalenoacético (ANA), 2,4-Diclorofenoxiacético (2,4-D) e ácido 3,6 Dicloro-2-metoxibenzoico (Dicamba).

Materiais utilizados

- plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.);
- plantas de *Coleus* sp.;
- pasta de lanolina + AIA 0,1%.

Procedimentos

Procedimento 1 (dominância apical)

Sementes de feijão serão deixadas para germinar em casa de vegetação por pelo menos 15 dias, quando devem apresentar pelo menos 1 par de folhas verdadeiras – trifoliada.

As plantas serão divididas em dois grupos. No primeiro grupo, o meristema apical será decapitado e receberá uma aplicação de AIA + pasta de lanolina. No segundo grupo, as plantas também terão seu meristema apical decapitado e receberão uma aplicação de lanolina pura.

Ao longo de 15 dias, os alunos serão instruídos a anotar os resultados, discutir os resultados com os demais grupos e, em seguida, relatar os fatos ocorridos.

Procedimento 2 (alteração no desenvolvimento da parte aérea de Coleus)

Um único experimento será instalado com três vasos contendo uma planta de *Coleus* sp. cada um. Os potes serão mantidos em casa de vegetação por 15 dias (com lanolina + AIA; somente lanolina e sem aplicação). Durante 15 dias os dados serão anotados e as diferenças, discutidas com os demais grupos.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento o aluno deverá ter condições de responder as seguintes perguntas:

- 1) Como as auxinas são capazes de controlar a dominância apical?
- 2) O que ocorreu para que a parte aérea das plantas de *Coleus* mudassem a direção do seu crescimento?

AULA PRÁTICA 24

EFEITO DAS GIBERELINAS SOBRE O MERISTEMA LATERAL EM PLÂNTULAS JOVENS DE FEIJÃO

Introdução

As giberelinas constituem um grupo de fitorreguladores bastante abundante nos vegetais. As giberelinas foram descobertas devido a pesquisas para solucionar um problema de fitopatologia causado por um fungo *Gibberella fujikuroi* em plantas de arroz no Japão. Atualmente, são conhecidas aproximadamente 126 substâncias identificadas com características de giberelinas (Figura 10). Esse fitorregulador tem como principal papel regular a altura da planta; portanto, possui forte interação com as auxinas na promoção do crescimento. Dessa forma, não podemos falar de ação de fitorreguladores de forma isolada, ou seja, todas as classes agem de forma integrada. Por isso, para se entender a ação de um fitorregulador, é necessário pensar no balanço entre

eles. Outro papel de destaque desempenhado pelas giberelinas é na germinação de sementes, fundamental após a embebição da semente.

Os trabalhos com plântulas de ervilha indicam que as enzimas biossintéticas de giberelina estão especificamente localizadas nas gemas apicais, folhas, assim como nos entrenós jovens e tecidos em crescimento ativo. No entanto, gemas apicais e folhas jovens parecem ser os principais sítios de síntese. As giberelinas sintetizadas na parte aérea da planta podem ser translocadas via floema para o sistema radicular. Além disso, os intermediários na síntese de GA podem ser translocados também, ou seja, a síntese se inicia em um tecido, e sua transformação para forma ativa ocorre em outro. Alguns estudos têm demonstrado que as raízes também podem sintetizar GA e transportá-la à parte aérea através do xilema (TAIZ e ZEIGER, 2009).

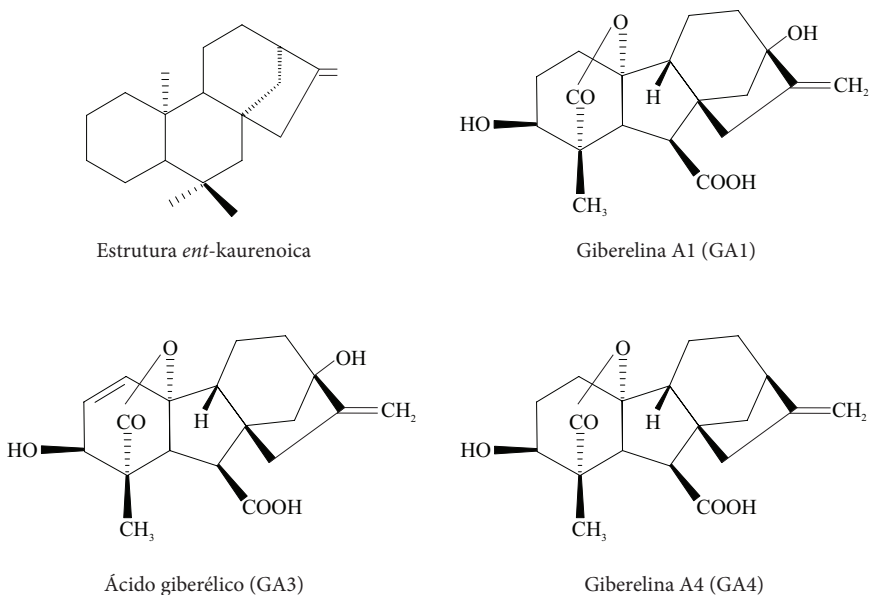


Figura 13: Alguns representantes das giberelinas.

Objetivos específicos desta prática

Promover o desenvolvimento de gema lateral em plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), após decapitação do meristema apical.

Materiais utilizados

- plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.);
- solução de giberelina 50 mg L⁻¹.

Procedimentos

Sementes de feijão serão deixadas para germinar em casa de vegetação, por pelo menos 15 dias, quando devem apresentar pelo menos 1 par de folhas verdadeiras – trifoliada.

Metade das plântulas terá seus meristemas apicais decapitados e receberá uma aplicação de solução de GA localizada. A outra metade das plântulas também terá seu meristema apical decapitado e receberá uma aplicação de água pura localizada.

Ao longo de 15 dias, anote os resultados, discuta com os demais grupos e em, seguida, relate o experimento.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Como as giberelinas atuam na parte aérea da planta?
- 2) Por que as plantas não apresentavam o mesmo comportamento antes da aplicação da giberelina?

AULA PRÁTICA 25

EFEITO DO ETILENO SOBRE PLÂNTULAS DE FEIJÃO RECÉM-GERMINADAS

Introdução

Único fitorregulador gasoso, o etileno (C_2H_4) foi descoberto por acaso e antes de ser classificado como fitorregulador causou grande controvérsia dentro da comunidade científica. O fato é que o etileno é sintetizado pelos vegetais e regula diversos fatores durante o desenvolvimento dos mesmos. Ao contrário das auxinas, citocininas e giberelinas o etileno não é um promotor do crescimento, e sim um inibidor. Sua síntese se intensifica em plantas sob condições de estresses ambientais. Pode ser sintetizado em qualquer parte dos vegetais, logo após é volatilizado, causando o seu efeito. Algumas vezes, atua como inibidor da síntese dos promotores de crescimento; além disso, possui o papel de antagonista aos promotores.

Um dos efeitos mais estudados do etileno é na fase de maturação de frutos. Nessa fase, a maioria dos frutos se dividem em frutos climatéricos e não-climatéricos, *i.e.*, os primeiros apresentam uma intensa taxa de respiração e um pico de produção de etileno alguns dias após o seu desligamento da planta-mãe. Por sua vez, os não-climatéricos não apresentam tal comportamento. Como exemplo de frutos climatéricos tem-se o mamão, o abacate, a banana, o maracujá, o tomate, entre outros; e dentre os não-climatéricos tem-se a laranja, o abacaxi, a uva, a melancia. Outro efeito indesejado do etileno durante o período de pós-colheita é sobre as flores ornamentais. Este fitorregulador acelera a senescência delas, diminuindo o tempo hábil para comercializá-las.

Esse conhecimento pode gerar a possibilidade de comércio de frutos e flores ornamentais de forma lucrativa para quem o faz. Dominar os fatores que levam os frutos e flores a reduzirem ou retardarem a produção de etileno, significa prolongar o tempo de viabilidade desses órgãos após a colheita.

Objetivos específicos desta prática

Verificar as alterações ocorridas em plântulas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) recém-emergidas (ainda com o gancho apical).

Materiais utilizados

- plântulas de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) com gancho plumular ainda presente.

Procedimentos

Sementes de feijoeiro serão postas para germinar pelo menos cinco dias antes da realização da prática. As plantas devem apresentar, ainda, o gancho plumular. As plântulas serão, então, divididas em quatro grupos e mantidas em: (i) luz natural, em casa de vegetação, (ii) luz natural, em presença de uma banana madura, (iii) no escuro e (iv) no escuro em presença de uma banana madura. Os potes serão vedados devidamente para evitar a troca de gases.

Transcorridos sete dias, os resultados serão devidamente anotados e discutidos com os demais grupos. Em seguida, relate o experimento.

Encaminhamentos para o relatório

Ao final deste experimento, o aluno deverá ter condições de responder às seguintes perguntas:

- 1) Qual é o papel do etileno sobre o gancho plumular de feijão?
- 2) Como o etileno promove a resposta tríplice em plântulas de leguminosas?

LEITURA ADICIONAL

ANDERSON, J. M. Photoregulation of the composition, function and structure of thylakoid membranes. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol* [S.I.], v. 37, p. 93-136, 1986.

ARGENTA, G. *et al.* Parâmetros de planta como indicadores do nível de nitrogênio na cultura do milho. *Pesq Agropec Bras* [S.I.], v. 37, p. 519-527, 2002.

BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. *Seeds: Ecology, biogeography and evolution of dormancy and germination*. San Diego, California: Academic Press, 1998.

BEWLEY, J. D. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* [S.I.], v. 9, p. 1055-1066, 1997.

BRUTNELL, T. Fitocromo e a luz: Controle do desenvolvimento vegetal. In: TAIZ, L.; ZEIGER, E. (Ed.). *Fisiologia Vegetal*. Porto Alegre: Artmed, 2009. p. 417-443.

CHAVES, A. R. M. *et al.* Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* [S.I.], v. 22, p. 351-361, 2008.

CORCUERA, L. *et al.* Seasonal changes in photosynthesis and photoprotection in a *Quercus ilex* subsp. *ballota* woodland located in its upper altitudinal extreme in the Iberian Peninsula. *Tree Physiol* [S.I.], v. 25, p. 599-608, 2005.

CORNISH, K.; ZEEVART, J. A. D. Abscisic acid accumulation by roots of *Xanthium strumarium* L. and *Lycopersicon esculentum* Mill. in relation to water stress. *Plant Physiol* [S.I.], v. 79, p. 653-658, 1985.

HARBORNE, J. B.; BAXTER, H. *Phytochemical Dictionary: A handbook of bioactive compounds from plants*. London: Taylor & Francis, 1995.

KNIPLING, E. B. Measurement of leaf water potential by the dye method. *Ecology* [S.I.], v. 48, p. 1038-1041, 1967.

LIETH, H. Primary productivity of the major vegetation units of the world. In: LIETH, H.; WHITTAKER, R. H. (Ed.). *Primary productivity of the Biosphere*. Berlin: Springer-Verlag, 1975. p. 203-215.

LIMA, C. J. G. S. *et al.* Modelos matemáticos para estimativa de área foliar de feijão caupi. *Rev Caatinga* [S.I.], v. 21, p. 120-127, 2008.

MA, Y.-Z. *et al.* Evidence for direct carotenoid involvement in the regulation of photosynthetic light harvesting. *Proc Natl Acad Sci USA* [S.I.], v. 100, p. 4377-4382, 2003.

MAIA, S. M. F. *et al.* Frações de nitrogênio em Luvissole sob sistemas agroflorestais e convencional no semi-árido cearense. *Rev Bras Ciênc Solo* [S.I.], v. 32, p. 381-392, 2008.

MAIKALA, R. V. Modified Beer's Law - historical perspectives and relevance in near-infrared monitoring of optical properties of human tissue. *Int J Ind Ergon* [S.I.], v. in press, p. 1-10, 2009.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Do tannins in leaves of trees and shrubs from African and Himalayan regions differ in level and activity? *Agrofor Syst* [S.I.], v. 40, p. 59-68, 1998.

MAKKAR, H. P. S. *et al.* *Plant secondary metabolites*. Totowa, New Jersey: Humana Press, 2007. (Methods in Molecular Biology, n. 393).

NELSON, D. L.; COX, M. M. *Lehninger, Princípios de Bioquímica, 4.ed.* São Paulo: Sarvier, 2006.

PANSERA, M. R. *et al.* Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn* [S.I.], v. 13, p. 17-22, 2003.

POMPELLI, M. F. *et al.* Biotechnologies for ornamental plants: some insights to the Brazilian productive chain. *Int J Hort Sci* [S.I.], v. 13, p. 51-59, 2007.

_____. Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *J Plant Physiol* [S.I.], v. 167, p. 1052 - 1060, 2010 a.

_____. Environmental influence on the physico - chemical and physiological properties of *Jatropha curcas* seeds. *Aust J Botany* [S.I.], v. 58, p. 421-427, 2010 b.

RIEDERER, M.; MULLER, C. *Biology of the plant cuticle*. Oxford: Wiley-Blackwell, 2006.

RYU, J. S. *et al.* Phytochromenext term-specific type 5 phosphatase controls light signal flux by enhancing phytochrome stability and affinity for a signal transducer. *Cell* [S.I.], v. 120, p. 395-406, 2005.

SARAIVA, R. C. G. *et al.* Triterpenos e alcaloide tipo cantinona dos galhos de *Simaba polyphylla* (Cavalcante) W.W. Thomas (Simaroubaceae). *Quím Nova* [S.I.], v. 29, p. 264-268, 2006.

SCHENKEL, E. P. *et al.* Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* (Ed.). *Farmacognosia da planta ao medicamento*. 3. ed. Florianópolis: UFSC, 2001. p. 711-740.

SINGER, S. J.; NICOLSON, G. L. The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science* [S.I.], v. 175, p. 720-731, 1972.

STEINFELD, J. I. *et al.* Spectroscopic constants and vibrational assignment for the state of iodine. *J Chem Phys* [S.I.], v. 42, p. 25-33, 1965.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*, 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. *Secondary plant metabolism*. Hong Kong: The Macmillan Press Ltd., 1981.

WALL, S. B. V. *et al.* Seed Fate Pathways: Filling the gap between parent and offspring. In: FORGET, P.-M. *et al* (Ed.). *Seed Fate: Predation, dispersal and seedling establishment*. Wallingford, UK: CABI Publishing, 2002. p. 1-8.

FISIOLOGIA VEGETAL: UMA ABORDAGEM PRÁTICA

FORMATO

15,5 x 22 cm

TIPOGRAFIA

Swiss 721 Cn BT

Minion Pro

PAPEL

Capa em Triplex 250g/m²

Miolo em Offset 75g/m²

Montado e impresso na oficina gráfica da

Editora
Universitária  **UFPE**

Rua Acadêmico Hélio Ramos, 20 | Várzea, Recife - PE CEP:

50.740-530

Fones: (0xx81) 2126.8397 | 2126.8930 | Fax: (0xx81) 2126.8395

www.ufpe.br/edufpe | edufpe@nlink.com.br | editora@ufpe.br