

BT682 – Ecologia Vegetal

Aula prática

1) Transporte de água na planta

Sensores de fluxo de seiva

Sensores de fluxo de seiva permitem o monitoramento do fluxo de água no xilema da planta por longos períodos e fornecem dados com alta resolução temporal. A maioria dos sensores usados atualmente são baseados em métodos que usam o fluxo de calor no xilema para inferir a velocidade da água dentro deste. Um método bastante utilizado atualmente é o método da razão de calor (*heat ratio method*; HRM) desenvolvido por Burgess *et al.* (2001). Esse método usa duas agulhas com termopares (ou termistores) posicionadas a distâncias iguais (geralmente 0.5 ou 0.6 cm) de um elemento aquecedor central. Os termopares registram a temperatura antes e após a emissão de um pulso de calor pelo elemento aquecedor central. A velocidade do pulso de calor é calculada baseado na razão entre a mudança de temperatura da agulha acima e abaixo do aquecedor central, e na difusividade térmica da madeira. A velocidade do pulso de calor representa uma média da velocidade de difusão do pulso de calor tanto pela seiva quanto pela porção não condutora do tronco da planta. Portanto para calcular a velocidade do fluxo de seiva devemos também levar em consideração as áreas de xilema ativo (ou seja, que de fato transporta água) e tecido não condutor e as diferenças de densidade e calor específico entre esses tecidos.

A principal vantagem do HRM em relação a outros métodos comuns de monitoramento de fluxo de seiva é a sua capacidade de medir fluxos lentos e nas duas direções, e a precisão com a qual se pode estabelecer o fluxo zero de referência. Entretanto, o HRM pode subestimar o fluxo de seiva de plantas com taxas transpiratórias muito altas ($45 \text{ cm}^3 \text{ cm}^{-2} \text{ h}^{-1}$; Burgess *et al.* 2000; Green *et al.* 2009).

Dados de fluxo de seiva possuem diversas aplicações em diversas áreas da ecologia. O Monitoramento de fluxo de seiva fornece informações desde como plantas usam recursos em uma escala individual até fluxos de água em uma escala ecossistêmica.

Exemplos de aplicações de dados de fluxo de seiva em estudos ecológicos:

- Observação de redistribuição de água de camadas profundas do solo para camadas superficiais mediada por raízes de plantas (Oliveira *et al.* 2005. Hydraulic redistribution in tree amazonian trees. *Oecologia*). Estudo seguinte mostra como esse processo pode influenciar o clima global (Lee *et al.* 2005. Root functioning modifies seasonal climates. *PNAS*).

- Uso de dados de fluxo de seiva para estimativas de taxas evapotranspiratórias de um fragmento de floresta temperada indicam que o uso de água pela floresta não é reduzido significativamente em anos de seca (Oishi *et al.* 2010. Interannual Invariability of Forest Evapotranspiration and Its Consequence to Water Flow Downstream. *Ecosystems*)
- Uso de dados de fluxo de seiva para estimativas contínuas e com alta resolução temporal de assimilação de carbono da planta e produtividade primária bruta do ecossistema (Hu *et al.* 2010. Modeling whole tree carbon assimilation rate using observed transpiration rates and needle sugar carbon isotope ratios. *New Phytologist*)

Referências:

- Burgess *et al.* 2001. An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree Physiology*
- Burgess *et al.* 2000. Measurement of sap flow in roots of woody plants: a commentary. *Tree Physiology*
- Green *et al.* 2009. A re-analysis of heat pulse theory across a wide range of sap flows. *7th International Workshop on Sap Flow*

2) Potencial hídrico e curvas pressão volume

Potencial hídrico (Ψ_w): é o potencial químico da água em uma parte específica de um sistema comparado com o potencial da água pura na mesma temperatura e pressão atmosférica. É mensurado em unidades de pressão (MPa). O Ψ_w da água pura (temperatura de 25°C) é 0 MPa.

Em geral, o Ψ_w pode ser influenciado por dois principais fatores, sendo eles, o potencial osmótico – concentração de solutos (Ψ_p) e a pressão hidrostática (Ψ_p): $\Psi_w = \Psi_p + \Psi_p$. O Ψ_p é o potencial químico da água em uma solução (com solutos dissolvidos). O Ψ_p sempre apresenta um valor negativo, pois a água tende a mover por uma membrana semipermeável a partir de compartimentos que contenham água pura para compartimentos que contenham solutos. Ψ_p refere-se à pressão física exercida sobre a água no sistema. O movimento da água obedece a um gradiente de pressão, movendo de um alto para um baixo potencial hídrico.

PRÁTICA: A medida do Ψ_w foliar indica o status hídrico da planta. Como podemos medir a pressão negativa do xilema de ramos/folhas? Utilizaremos o método da Câmara de pressão ou Bomba de Scholander (Scholander *et al.* 1965).

Figura 1. Esquema do funcionamento da bomba de Scholander. Modificado de Cleary *et al.*, 2009.

Curvas pressão-volume: com essas curvas é possível determinar para uma mesma folha os componentes osmóticos e de pressão, ponto de perda de turgor e módulo de elasticidade da parede celular. Para construí-la utilizamos os valores do inverso do potencial hídrico ($1/\Psi$) plotados contra os valores do conteúdo relativo de água (CRA) do tecido.

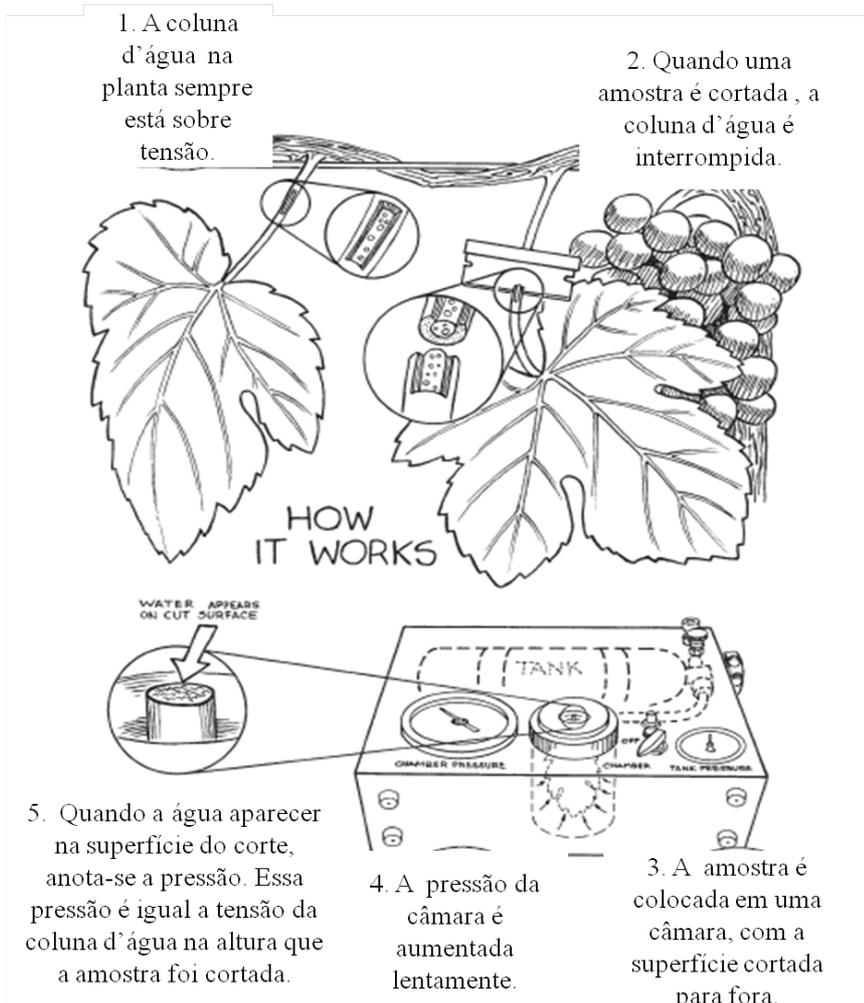
Alguns termos/conceitos importantes são:

- **Conteúdo relativo de água (CRA):** hidratação foliar;
- **Módulo de elasticidade:** determina a taxa com que a pressão de turgescência diminui com o decréscimo do volume de água na célula. A extensão na qual o potencial hídrico pode decrescer até o ponto de perda de turgor e a célula diminuir em volume é dependente da elasticidade da parede celular.
- **Ponto de perda de turgor:** momento em que as células tornam-se flácidas;

PRÁTICA: Durante a aula faremos alguns passos da curva pressão-volume.

Para a confecção da curva precisaremos da Bomba de Scholander e de uma balança de precisão. As folhas/ramos cortados precisam se hidratar por 24 horas antes de iniciarmos a curva. Faremos a 1ª medida do peso da folha/ramo para determinarmos o seu peso túrgido (Pt) e mediremos o seu potencial hídrico correspondente.

Deixaremos a folha secar por alguns minutos naturalmente sobre a bancada e repetiremos as medidas de peso fresco



(PF) e potencial hídrico. Realizaremos essas medidas até que o peso da folha não oscile mais.

Por fim, deixaremos a folha secar em estufa a 70°C por 48 horas para obtermos o peso seco (PS). Com esses dados calcularemos o CRA através da fórmula $CRA = ((PF - PS) / (PT - PS)) * 100$. Com esses dados podemos construir a curva e calcular o ponto de perda de turgor e módulo de elasticidade.

3) Arquitetura hidráulica de plantas

3a) Condutividade Hidráulica

A arquitetura hidráulica de plantas pode ser definida, de forma simplificada, como o estudo dos elementos que compõe o sistema de transporte de água, e a sua distribuição espacial desses elementos através da planta.

Dentro os elementos que compõe o sistema condutor de plantas, o mais importante e que mais tem recebido atenção é o xilema. Dentre as diversas características estruturais e fisiológicas do xilema, a condutividade hidráulica tem sido uma das mais extensivamente estudadas.

A condutividade hidráulica por unidade de gradiente de pressão (K_h) é definida como a razão entre a o fluxo de água (F , Kgs^{-1}) através de um segmento de ramo excisado e a pressão do gradiente causando o fluxo de água (dP/dx , $MPam^{-1}$):

$$K_h = F / (dP/dx)$$

A condutividade hidráulica é influenciada pelo diâmetro do segmento do caule que se está medindo, isso porque quanto maior o diâmetro do caule maior o número de elementos condutores (xilema) por área de secção transversal. Desse modo, ao comparar a relação de K_h e arquitetura hidráulica de plantas precisamos dividir K_h pela secção transversal de xilema funcional no segmento do caule ou pela área foliar fixada a extremidade terminal desse segmento.

Referências

Tyree, M. & Ewers, F. W. (1991) The hydraulic architecture of trees and other wood plants. *New Phytologist*, 119: 345-360.

Zimmermann, M. H. (1983) *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer Series in Wood Science, 143 páginas.

3b) Anatomia ecológica

Em seu ambiente, as plantas podem estar sujeitas a condições de extremo frio ou calor, sol ou sombra, seca ou umidade e deficiências ou excesso de nutrientes minerais. Para sobreviver a essas condições, as plantas apresentam diversas especializações.

Especializações ecológicas podem ser morfológicas, histológicas ou fisiológicas. Essas especializações influenciam a condução de seiva (água e alimento), taxa de transpiração e temperatura dos tecidos da planta (Dickison, 2000). As especializações estruturais e químicas podem ainda fornecer proteção contra herbívoros. No entanto, o investimento em uma determinada especialização pode ter benefícios para outras condições. Por exemplo, uma folha que recebe mais investimentos em estrutura contra herbivoria pode ser mais resistente à seca e ao sol. Com relação às especializações histológicas, as plantas podem ser divididas segundo a disponibilidade de água no ambiente. As plantas de ambientes secos são denominadas xerófitas. As plantas de ambientes úmidos são chamadas mesófitas, e as de ambientes parcial ou totalmente alagados, hidrófitas.

As folhas dessas plantas possuem especializações histológicas características. As plantas xerófitas, por exemplo, possuem folhas menores, para reduzir a incidência de luz, mais espessas, para proteger os tecidos fotossintetizantes, podendo ter epiderme plurisseriada, que reflete o excesso de luz, com mais parênquima por área, mais camadas de parênquima paliçádico para proteger o aparato fotossintético. Elas podem possuir ainda tricomas tectores abundantes, que aumentam a camada limítrofe e mantem o ar úmido na superfície da folha, cutinização da epiderme que torna as paredes celulares mais rígidas e menos permeáveis; e cutícula espessa, uma vez que a cera reflete a luz e reduz a taxa de transpiração. Os estômatos podem estar em criptas, sem contato direto com o ar seco, para evitar a perda de água. Especializações contra dessecação apresentadas por essas plantas também podem reduzir a palatabilidade dessas folhas, e reduzir a pressão de herbivoria. Já as plantas mesófilas possuem folhas maiores, que aumentam a superfície de captação de luz, mais finas, epiderme unisseriada, parênquima paliçádico mal definido, com muitos espaços intercelulares, que aumentam as trocas gasosas com o parênquima e maior conteúdo de clorofila por área, para compensar a taxa fotossintética em baixa luminosidade. As plantas hidrófitas possuem especializações para transporte ou armazenamento de gases, como a presença de aerênquima, que compensem a baixa oferta de oxigênio na água, ou permitem flutuação. Em plantas totalmente submersas, as folhas podem apresentar redução do número de estômatos, e redução na quantidade de tecidos de proteção, condução e suporte, uma vez que a água fornece suporte e nutrientes para as plantas. Em plantas flutuantes, as folhas possuem tecidos que armazenam ar e evitam que a planta afunde, mas também apresentam cutícula espessa que possibilite resistir à incidência luminosa fora da água. Em plantas parcialmente submersas e

parcialmente emersas, as folhas podem apresentar heterofilia, ou seja, apresentar folhas com diferentes estruturas, dependendo da submersão.

A anatomia ecológica pode ser abordada de três formas diferentes. A primeira forma de estudar anatomia ecológica é a abordagem florística que examina e caracteriza uma assembleia de espécies não necessariamente aparentadas em um determinado ambiente. A segunda forma é por meio de uma abordagem sistemática, na qual um grupo de espécies aparentadas apresenta radiação adaptativa ao longo de um gradiente ambiental. A última forma é a abordagem experimental, analisando-se uma mesma espécie sujeita a condições diferentes. Por exemplo, pode-se estudar uma espécie de áreas alagadas no período de alagamento e na seca.

Roteiro prático:

1. Apresentação rápida das técnicas de montagem de lâminas de anatomia vegetal
2. Apresentação de lâminas de folhas de plantas xerófitas (*Nerium oleander* e *Simarouba amara*), hidrófita (*Nymphaea sp.*) e mesófito (*Citrus sinensis*).

Anatomia do xilema

O xilema secundário das plantas desempenha três funções importantes: fornece suporte mecânico para as plantas, conduz água e nutrientes ao longo do contínuo solo-planta-atmosfera e funciona como um estoque de nutrientes, carboidratos, compostos químicos de defesa secundária, lipídios e água. Algumas características do xilema secundário estão relacionadas à segurança na condutividade hidráulica, são mecanismos que permitem uma menor vulnerabilidade a cavitação dos vasos, ou seja, a formação de bolhas nos vasos e ruptura da coluna de água, tornando os vasos preenchidos por esses gases. A cavitação ocorre quando a demanda de água é maior do que a disponibilidade de água para a planta, ou mesmo relacionada com congelamento em climas temperados. O sistema de transporte de água no xilema secundário, chamado de arquitetura hidráulica influencia na quantidade de água que pode ser transportada pela planta e nas angiospermas é composto por diferentes tipos celulares: fibras, parênquima, elementos de vaso e em algumas angiospermas basais traqueídes.

As fibras são células de sustentação, responsáveis pela rigidez ou flexibilidade da madeira, são células alongadas de extremidades afiladas e a parede dessas células geralmente são as mais espessas que as demais células do xilema secundário. As células parenquimáticas são células de parede fina, no lenho frequentemente estão lignificadas e são responsáveis principalmente por armazenamento e transporte a curtas distâncias de

água. O elemento de vaso é o tipo de célula condutora mais importante em angiospermas, são células mortas na maturidade que sofreram dissoluções nas paredes terminais denominadas placas de perfurações. Ocorrem em fileiras longitudinais que se comunicam através dessas placas de perfuração, constituindo os vasos.

O diâmetro e frequência dos vasos estão intimamente relacionados com a capacidade de transporte de água. Há um trad-off entre eficiência no transporte hidráulico e segurança a cavitação. Outra característica relacionada a segurança a cavitação é a matriz em que os elementos de vaso estão inseridos. Desta forma, elementos de vaso inseridos em matriz de fibras, bem como elementos de vaso com paredes mais espessas são menos vulneráveis a falha hidráulica. A espessura da parede das fibras e a proporção de fibra e parênquima no xilema secundário são as principais responsáveis por contrabalancear o suporte mecânico e armazenamento de substância, logo um maior investimento em fibras, essas de paredes mais espessas e mais frequentes, está relacionado à alta densidade da madeira*.

A proposta da aula é:

- Observar as técnicas básicas de corte, coloração e montagem de lâminas de madeira.
- Compreender como calcular a frequência, diâmetro e espessura da parede de elementos de vaso, proporção da matriz onde os elementos de vaso estão inseridos (fibras e parênquima) em imagens de cortes de xilema secundário de duas espécies, bem como aplicar a fórmula para determinação da condutividade hidráulica potencial.
- O grupo deverá expor oralmente que compreendeu os métodos e interpretação dos resultados. A discussão será relacionada aos dados de duas espécies e deverá estar relacionada com a condutividade hidráulica potencial (principalmente a respeito da contribuição do diâmetro dos vasos na fórmula), proporção de fibras e parênquima na matriz que os elementos de vaso estão inseridos, bem como espessura de parede dos elementos de vaso de duas espécies.

Descrição resumida dos métodos

Confecção das lâminas

Com auxílio do micrótomo de deslize, fazer cortes transversais nas amostras. Clarificar os cortes em hipoclorito por 5 minutos, lavar em água e colocar por 5 minutos no

Astrablau. Utilizaremos esta coloração pois trata-se de uma combinação de dois corantes: Azul de Astra que cora a celulose das paredes em azul e a Safranina cora a lignina e suberina de vermelho. Após a coloração, montar os cortes em glicerina e cobrir com a lamínula evitando a formação de bolhas. Para análise do material, utilizar o microscópio óptico e as medidas de diâmetro e proporção de fibras e parênquima, utilizar o programa ImageJ.

Condutividade hidráulica potencial

Calcular o diâmetro dos elementos de vaso e densidade por mm². Para cálculo da condutividade hidráulica potencial, utilizar a seguinte fórmula baseada na lei de Poiseuille (Sterck et al., 2008)

$$Kp = \left(\frac{\pi p_w}{128 n}\right) \cdot VD \cdot D_h^4$$

Kp é a condutividade potencial (em kg m MPa⁻¹ s⁻¹),

n é a viscosidade da água a 20° C (1.002.10⁻³ Pa a 20°C),

Pw é a densidade da água a 20°C (998.2 kg m⁻³ a 20°C),

VD é a densidade do elemento de vaso e

Dh é o diâmetro do vaso (em m) calculado a partir da próxima fórmula.

Medidas de proporções de fibras e parênquima

Para a medida de proporção da matriz em que os elementos de vaso estão inseridos, as medidas da área devem ser transformadas em porcentagem.

Literatura

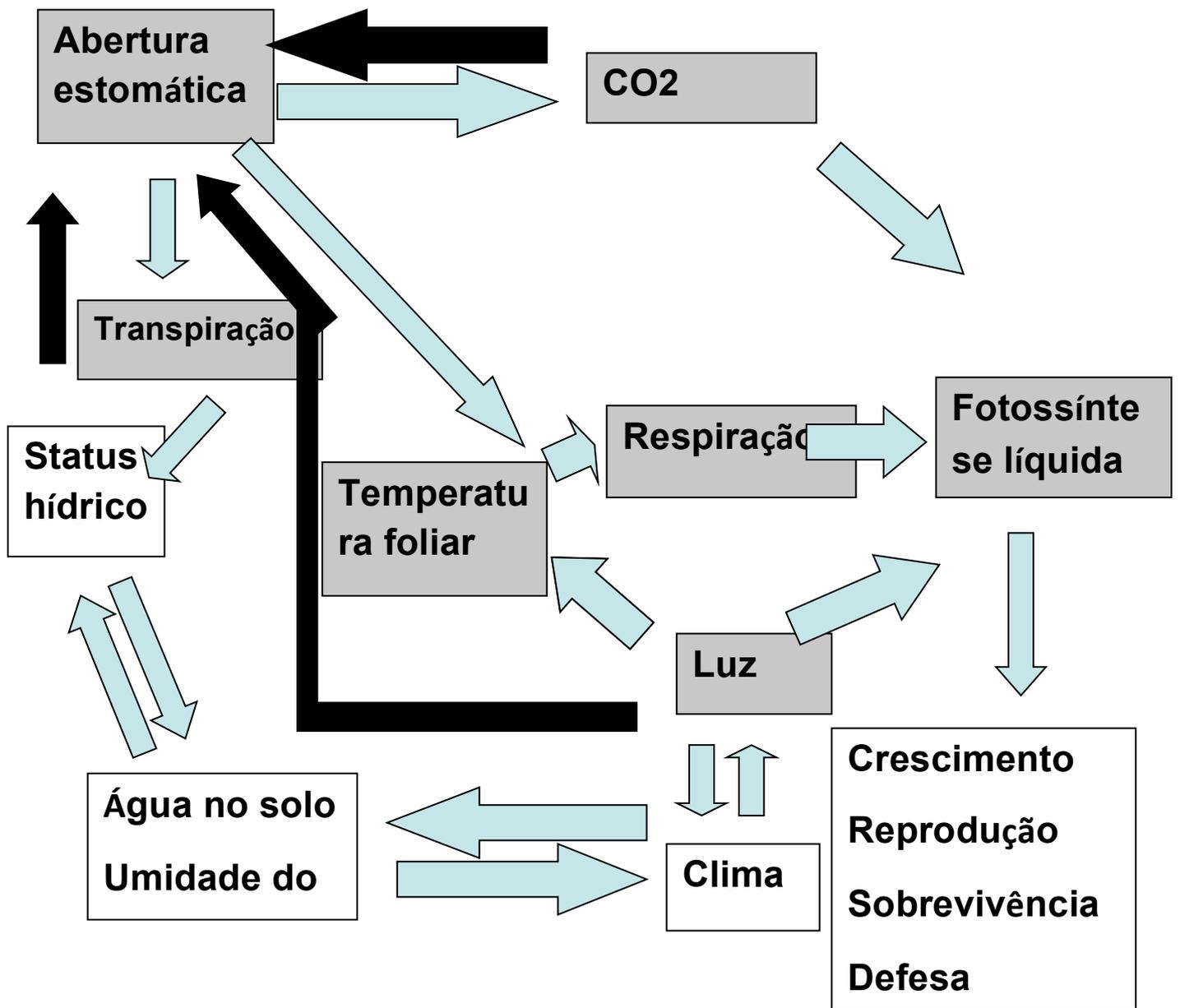
Chave, J., Coomes, D., Jansen, S., Lewis, S.L., Swenson, N.G. & Zanne, A.E. (2009). Towards a worldwide wood economics spectrum. **Ecology Letters**.12: 351–366.

Meinzer, F.C., Andrade, J.L., Goldstein, G., Holbrook N.M., Cavelier, J., & Jackson, P. (1997) Control of transpiration from the upper canopy of a tropical forest: the role of stomatal, boundary layer and hydraulic architecture components. **Plant, Cell and Environment**, 20, 1241-1252

Poorter, L.; McDonald, I.; Alarco, A.; Fichtler, E; Licona, J.C.; Penã-Claros, M. Sterck, F. Villegas, Z. and Sass-Klaassen, U. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. **New Phytologist** 185: 481–492

Sterck FJ, Zweifel R, Sass-Klaassen U, Chowdhury Q. (2008). Persisting soil drought reduces leaf specific conductivity in Scots pine (*Pinus sylvestris*) and pubescent oak (*Quercus pubescens*). **Tree Physiology** 28: 529536.

4) Comportamento Estomático e Fotossíntese



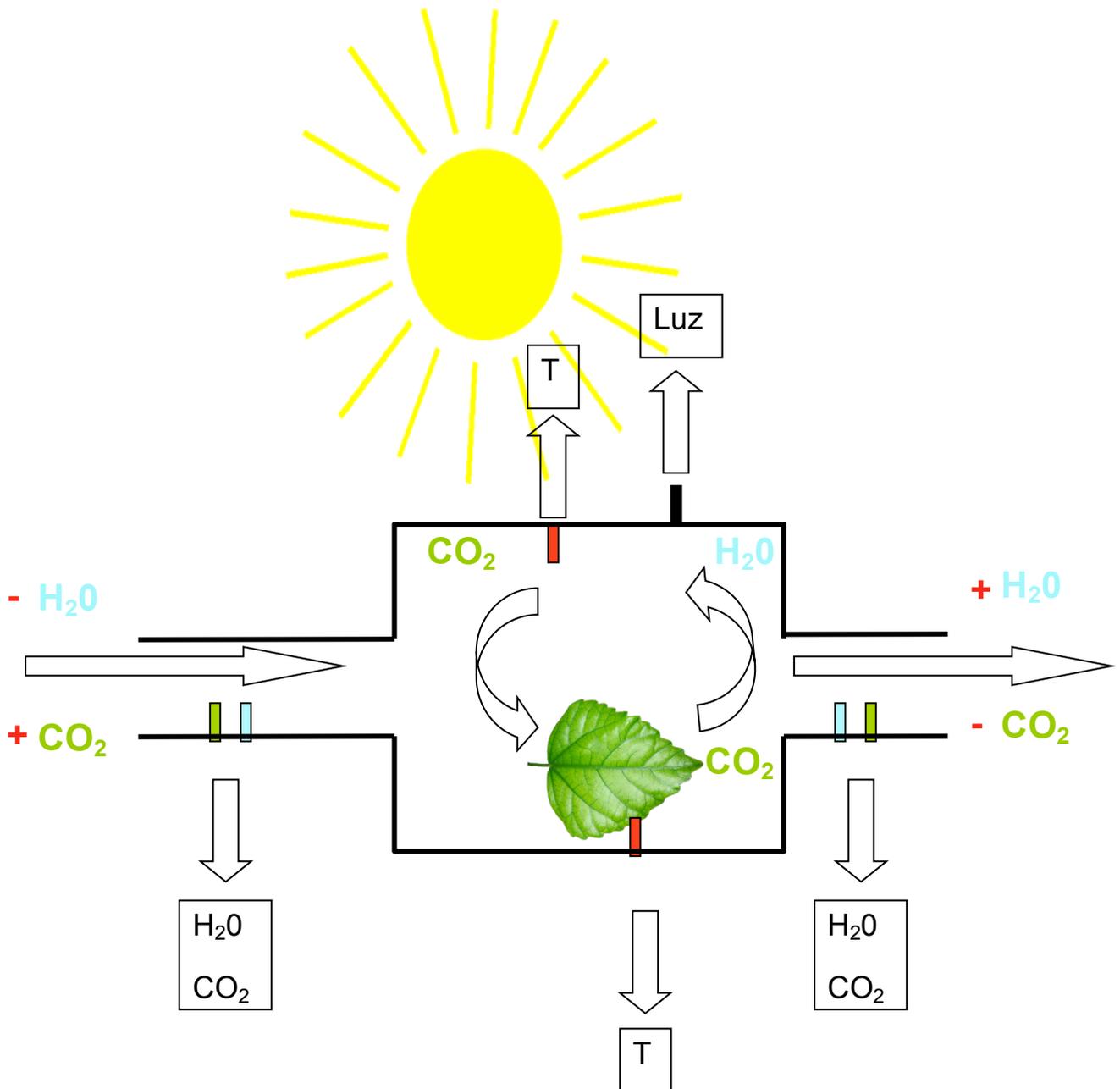
4 a) Condutância estomática

Folhas constituem a principal interface de trocas de energia entre a planta e atmosfera. Além disso, são órgãos extremamente plásticos em resposta a variações ambientais. A principal estrutura de regulação das trocas gasosas das folhas são os Estômatos. Eles são estruturas celulares presentes nas folhas que regulam as trocas gasosas da folha com o ambiente. Geralmente, para a absorção de gás carbônico, matéria-prima para a fotossíntese, as plantas perdem muita água através da transpiração estomática. Deste modo, há um constante conflito entre a assimilação de gás carbônico, a regulação da temperatura e a economia hídrica, principalmente quando os recursos hídricos são limitantes.

Uma maneira de investigar como as plantas estão regulando a abertura ou o fechamento estomático é através da análise de dois parâmetros fisiológicos quantitativos: a condutância estomática e a resistência estomática. A condutância estomática (g) é uma medida cuja unidade de medida geralmente adotada é $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, ou seja, quantos micro mols de vapor de água estão sendo trocados com o ambiente por metro quadrado de área foliar por segundo. Deste modo, é intuitivo achar que plantas devem apresentar menores valores de condutância em situações de deficit hídrico do sistema. A resistência estomática é uma medida inversa a condutância. Para se obter tais parâmetros é possível usar um equipamento chamado Porômetro. Este equipamento mede o tempo em que a folha libera vapor de água suficiente para alterar a umidade relativa em uma pequena câmara de área conhecida. Quanto mais a planta libera água, mais ela altera a umidade relativa do câmara de leitura do porômetro, e assim o equipamento calcula em numero de micro mols de vapor de água que a planta está liberando.

4b) Fotossíntese

IRGA – Infrared Gas Analyser



Fotossíntese = CO₂saída – CO₂entrada

Abertura estomática = H₂Osaída – H₂Oentrada

