

Capítulo 9

Sensores para medir firmeza e hidratação vegetal desenvolvidos na Embrapa

Adonai Gimenez Calbo

1. Introdução

O estado de hidratação das plantas é geralmente determinado de maneira relativa através de variáveis práticas como o diâmetro do caule (ALVIM, 1975), teor de matéria seca e o teor relativo de água. Medições dos componentes físicos que representam o estado da água na planta, por outro lado, são em geral muito mais difíceis de medir, razão pela qual são variáveis consideradas principalmente no ambiente acadêmico (CALBO et al., 2011).

Uma linha de pesquisa voltada para o estudo destes componentes físicos do estado da água na planta e nos solos foi iniciada na Embrapa em 1986, em conexão com estudos de qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças. Os progressos iniciais nesses estudos foram facilitados, graças à recuperação de dois trabalhos israelenses (BERSTEIN; LUSTIG, 1981, 1985), nos quais a pressão de turgescência celular de bagas de uva foi estimada de acordo com a força para aplainar uma área na superfície desses frutos, que foram tratados presumidamente como se fossem uma bexiga envolta por membrana flexível e sob pressão igual à pressão das células individuais.

Estas referências iniciais nos abriram a noção de que é possível e promissor desenvolver métodos básicos para determinar de maneira mais adequada os componentes físicos do estado na água na planta. Nesta linha, ideias e hipóteses relativas a novos desenvolvimentos aplicados à pós-colheita, manejo de irrigação e ecofisiologia se acumularam porque as demandas agrícolas são fortes. Alguns destes desenvolvimentos são descritos a seguir, enfatizando os esforços de pesquisa, de difusão de tecnologia e de desenvolvimento industrial com a iniciativa privada.

2. Pressão de turgescência celular estimada pela técnica de aplanação

As pesquisas relativas aos componentes físicos que representam o estado da água na planta foram iniciadas com o que havia de mais simples e de mais clássico. A técnica da força externa de Berstein e Lustig (1981, 1985), que denominamos "técnica de aplanação", e o clássico método da câmara de Scholander (SCHOLANDER et al., 1964, 1965). O modelo de estudo foram raízes de cenoura submetidas a níveis crescentes de desidratação, induzida por ventilação forçada a 25 °C. Obteve-se uma correlação linear entre a redução pressão de turgescência nas raízes durante a desidratação, na comparação entre estes dois procedimentos, assunto que foi relatado em nosso primeiro trabalho sobre o tema (CALBO; CALBO, 1989). A boa linearidade e a declividade quase unitária obtidas foram tomadas como um sinal verde. Após isto, a técnica de aplanação foi avaliada em diversas frutas e hortaliças, enquanto havia uma crescente preocupação em modelar e aferir os resultados obtidos pela técnica de aplanação contra outros procedimentos de medição da pressão de turgescência celular mais seguros e difíceis.

O procedimento de uso da técnica de aplanação envolve: colocar o órgão sobre a base do instrumento (Figura 1) e, a seguir, apoiar a ponta de prova transparente sobre o órgão. A firmeza (F_z) é calculada, então, dividindo-se o peso da ponta de prova transparente (Força, em kgf) pela área aplanada em cm^2 entre o órgão e a placa de vidro (eq. 1).

$$F_z = \text{Força}/\text{Área} \dots\dots\dots(1)$$

A visualização da área aplanada sob a placa de vidro é usualmente fácil. No entanto, em alguns casos, pode ser necessária a aplicação de uma delgada camada de óleo mineral (de baixa viscosidade). Esta aplicação é feita com uma toalha de papel levemente impregnada de óleo. A área aplanada de forma presumidamente elíptica, utilizada na equação 1, é medida com paquímetro e calculada utilizando-se a equação 2.

$$\text{Área} = 0.784 \times D \times d \dots\dots\dots(2)$$

Onde D é o diâmetro maior e d é o diâmetro menor da figura de amassamento.

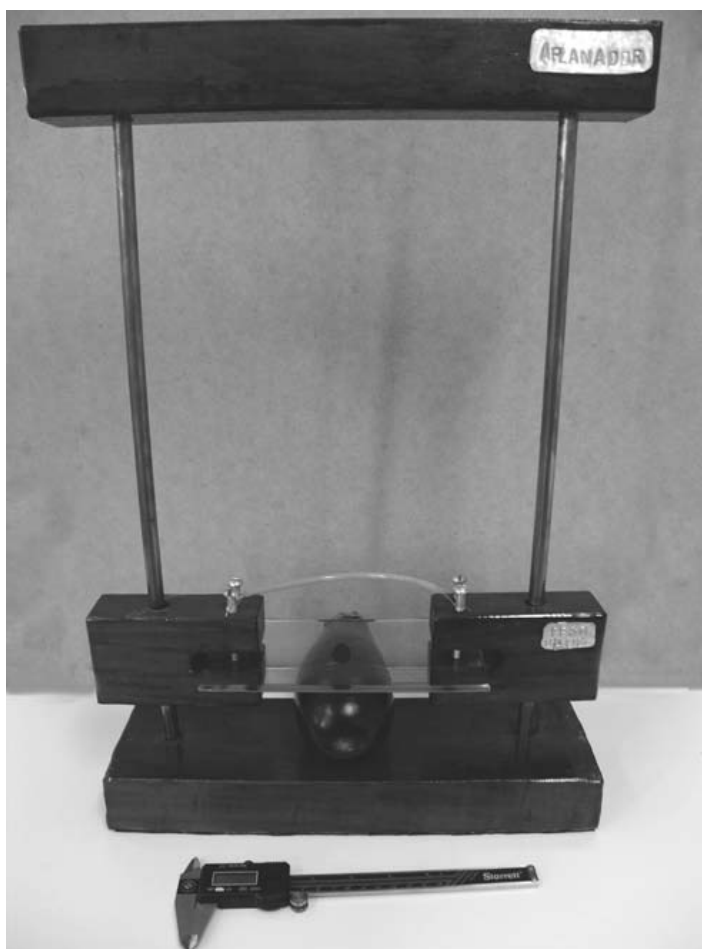


Foto: Camila Fernanda Borges.

Figura 1. Aplanador com ponta de prova transparente, em placa de vidro, com peso conhecido e alça para aplicar a ponta de prova sobre os objetos de estudo. A estimativa da pressão de turgescência celular é feita a partir das medições do peso da ponta de prova e da área do fruto aplainado, que é visível sob a placa de vidro transparente.

Ao longo do tempo vários laboratórios no Brasil passaram a utilizar a técnica de aplainação empregando o aplanador ilustrado na Figura 1, que foi desenvolvido por Calbo e Nery (1995), para determinar a perda de firmeza durante o amadurecimento. A seguir alguns exemplos para frutas: frutos de araçá (AMARANTE; MEGGUER, 2008), buriti (SANTELLI et al., 2009), butiá (DREHMER; AMARANTE, 2008), cubiu (STEFANELLO et al., 2010), goiaba (MATIUIZ; DURIGAN, 2001), mamão (JACOMINO et al., 2002) e tomate (MORETTI et

al., 2000). Em hortaliças como a berinjela e a beterraba (KLUGE et al., 1999) e na cenoura (CALBO, 2000; LUENGO et al., 2003), o método de aplanção tem sido usado para determinar a perda da pressão de turgescência celular e a firmeza causada pela desidratação induzida pela perda de água na transpiração.

Com o método de aplanção acompanha-se a perda de firmeza, com medições repetidas no mesmo órgão, sem danificá-lo. Esta característica do método de aplanção tem possibilitado a seleção de genótipos com maior capacidade de armazenamento. Para esta aplicação o prof. Wilson R. Maluf da UFLA desenvolveu um critério para a determinação da meia-vida de armazenamento de frutos de tomate, para a seleção dos genótipos com maior capacidade de armazenamento (ANDRADE JUNIOR et al., 2005; CÁ et al., 2006), que pode ser utilizado em diferentes tipos de frutos climatéricos.

A facilidade de medição de pressão de turgescência celular pela técnica de aplanção, juntamente com noções de deformação de células e dos seus complementos de volumes gasosos intercelulares, permitiu ampliar os conhecimentos sobre os efeitos fisiológicos do estresse de compressão em hortaliças como o tomate (PEREIRA, 1996; PEREIRA e CALBO, 2000), a batata e a batata-doce (CALBO et al., 1995; CALBO; NERY, 2001).

Medidas rápidas da turgescência celular de frutas e hortaliças também possibilitaram avanços em aplicações relativas à logística da distribuição de frutas e hortaliças. Isto foi possível graças a simples expressões matemáticas que foram desenvolvidas para relacionar a pressão de turgescência celular com as alturas potenciais de pilhas e as alturas potenciais de embalagens para frutas e hortaliças (LUENGO et al., 2003; LUENGO, 2005). Estas definições técnicas das alturas potenciais garantem definições das dimensões das embalagens para a adequada proteção dos produtos hortícolas.

As deformações celulares reversíveis e irreversíveis, que são induzidas por forças de compressão crescentes foram estudadas em diferentes sistemas de pesquisa prática e teórica, em algumas hortaliças (CALBO et al., 1995; CALBO; NERY, 2001; PEREIRA, 1996; PEREIRA; CALBO 2000). Sob o ponto de vista prático, o esforço foi para a avaliação dos estresses de armazenamento, particularmente dentro de embalagens inadequadas. Sobre o ponto de vista teórico, os estudos se beneficiaram de medições complementares de volumes gasosos intercelulares, que possibilitaram o acompanhamento das deformações celulares em função da pressão de turgescência celular. Nestes trabalhos básicos, tivemos a oportunidade de desenvolver novas expressões que relacionam a pressão de turgescência celular efetiva e suas estimativas obtidas pela técnica de aplanção, de acordo com parâmetros simples como a razão de compressão celular, isto é, a fração transversal do perímetro da parede celular em contato com células vizinhas; e da porcentagem de volume gasoso intercelular máximo, de um tecido (látice celular),

Capítulo 9 – Sensores para medir firmeza e hidratação vegetal desenvolvidos na Embrapa enquanto modelávamos as forças de cisalhamento celular induzidas pela pressão de turgescência celular (CALBO; NERY, 2001).

3. Instrumentos de referência para pressão de turgescência celular – a sonda termoelástica

A técnica da câmara de Scholander (SCHOLANDER et al., 1964, 1965) utilizada nos estudos com a cenoura (CALBO; CALBO, 1989) é considerada um método prático para medir a tensão com que a água é retida nas paredes celulares das plantas. Conforme Boyer (1967), estas medições da tensão de água, sob condições presumidas de equilíbrio físico-químico, são adicionalmente uma estimativa do potencial da água na planta, caso a água que impregna as paredes celulares contenham poucos solutos dissolvidos. Na aproximação um tanto irreal, de equilíbrio químico, que é indispensável para a aplicação do conceito de potencial da água, foram desenvolvidos alguns métodos indiretos, com os quais se postula estimar cada componente físico do estado da água na planta, incluindo-se a pressão de turgescência celular, mediante o emprego de procedimentos gráficos e matemáticos simplificados.

O significado dos estresses hídricos, medidos com a câmara de pressão de Scholander, vem sofrendo variadas interpretações na literatura especializada, inclusive por alguns expoentes como Zimmermann (BALLING; ZIMMERMANN, 1990), que argumentam que os elevados valores de tensão de água na planta, obtidos com esta câmara de pressão seriam artefatos, que não representariam a tensão da água nos vasos do xilema, o que seria correntemente medido apenas pela introdução da sonda de pressão celular no interior dos elementos de vaso de xilema. Canny (1995), por exemplo, não considera que a câmara de pressão de Scholander meça a tensão de água nos vasos do xilema e defende que a câmara de pressão de Scholander mediria apenas uma pressão de compensação, que é função da pressão com que os feixes vasculares comprimem e bombeiam água para o interior dos vasos do xilema.

Estas questões revelam a necessidade de novos métodos de campo, que possam, preferencialmente, serem aferidos em laboratório, em comparação com métodos de referência relativamente a cada variável do estado de água na planta a ser estudada. Para serem valiosos estes novos instrumentos de campo precisarão ser simples, robustos e adequadamente aferidos, para que possam ser utilizados em aplicações de manejo de irrigação, ecofisiologia e pós-colheita.

Resultados conflitantes sobre a leitura da tensão da água no xilema feita com a câmara de Scholander e com a sonda de pressão celular modificada a partir do trabalho de Hüsken et al. (1978) foram relatados inicialmente

por Balling e Zimmermann (1990), e posteriormente foram objeto de polêmicas relativamente a resultados e interpretações adicionais em diferentes plantas. Estas divergências foram, por exemplo, base da teoria de ascensão da seiva na planta intitulada "Cohesion supported by tissue pressure" (CANNY, 1995). Segundo esta teoria, as tensões de água no interior dos elementos de vaso de xilema seriam modestas, e o transporte da água na planta seria viabilizado graças à ocorrência de fortes pressões de turgescência nas células parenquimáticas e de floema que cercam os elementos nos feixes vasculares e outras estruturas de transporte de água na planta. Segundo esta teoria, a leitura da câmara de pressão de Scholander, ou do método psicrométrico, seria na prática apenas índices de estresse hídrico. Em defesa da teoria coeso-tenso-transpiratória de ascensão da seiva na planta, vários autores consideram que a câmara de Scholander mede sim a tensão da água na planta, como lê na argumentação de Milburn (1996), que usa uma abordagem praticamente similar àquela utilizada por Canny (1995), para assentar a sua visão contrastante.

Estas controvérsias foram motivações importantes, enquanto trabalhávamos com sondas de pressão celular, para medir pressão de turgescência celular e tensão de água nas paredes celulares, e também nos vasos do xilema. Para estas pesquisas, construímos alguns tipos de instrumentos de referência para medir corretamente estes componentes do estado da água na planta, tomando o método da sonda de pressão celular a volume constante de Hüsken et al. (1978) como base nos desenvolvimentos. Começamos desenvolvendo sondas muito parecidas como Hüsken et al. (1978), removendo alguns itens que não funcionaram bem no modelo original; a seguir derivamos para sondas de pressão celular mais simples, com mecanismo hidráulico (Figura 2) e com similar mecanismo pneumático. Na sequência, adicionalmente, vislumbramos as leituras dos componentes de pressão celular no simplasma e no apoplasma por um mecanismo no qual a compressibilidade e a expansibilidade de óleos minerais de baixa viscosidade possibilitaram a construção da sonda de pressão celular termoelástica, sem partes mecânicas externas. Este novo tipo de instrumento foi protegido pela patente BR 9906212-7 (PESSOA et al., 1999).

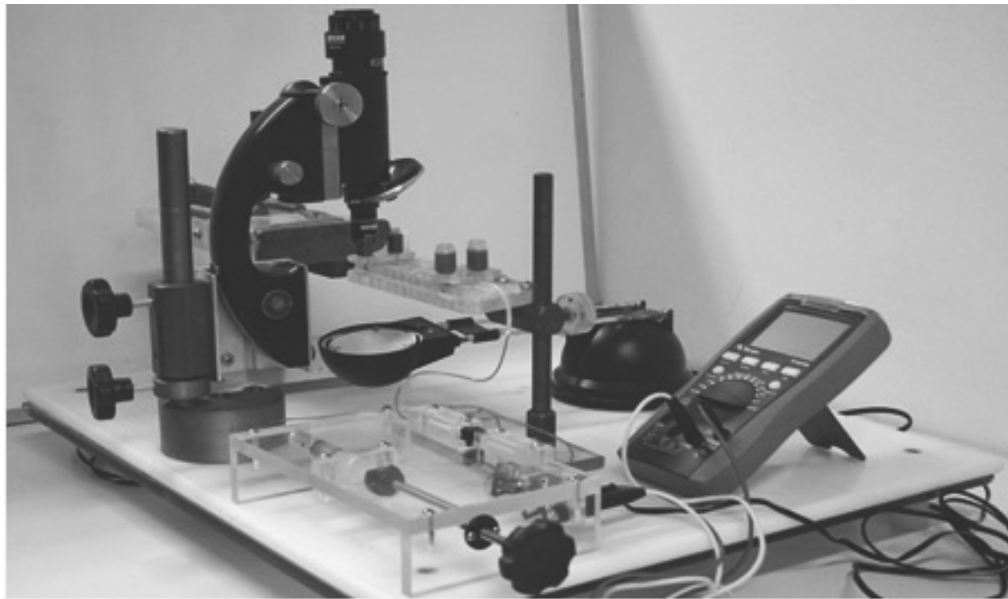


Foto: José Dalton Cruz Pessoa.

Figura 2. Sonda de pressão celular simples para medir a pressão de turgescência celular de órgãos fixados em um manipulador simples, contendo: transdutor de pressão, sistema de pressurização hidráulica com êmbolo e acionamento em manípula, um pedestal de fixação do capilar, iluminação e um microscópio para visualizar o menisco água/óleo no capilar durante as medições.

A Sonda Termoelástica possui ajuste térmico rigoroso, tipicamente igual ou melhor que $0,01\text{ }^{\circ}\text{C}$ graças ao uso de um “banho térmico”, à base de água, ou um corpo massivo de alumínio (Figuras 3 e 4). A operação deste tipo de instrumento (Figura 3) pode ser feita: a) sob volume celular constante mediante o uso de variação de temperatura para retornar o menisco a uma posição de referência, por ajuste fino da temperatura; b) sob temperatura constante, um método suave e ideal para leituras de tensão de água nas paredes celulares de raízes. De acordo com este método simplesmente se acompanha a movimentação do menisco para calcular a tensão da água nas paredes celulares, ou no xilema; c) sob pressão constante na qual a posição do menisco é controlada apenas mediante variação de temperatura – é um método utilizado para a microinjeção, de acordo com diferenciais térmicos aplicados, e ideal para a injeção de amostras com volumes entre microlitros e picolitros.

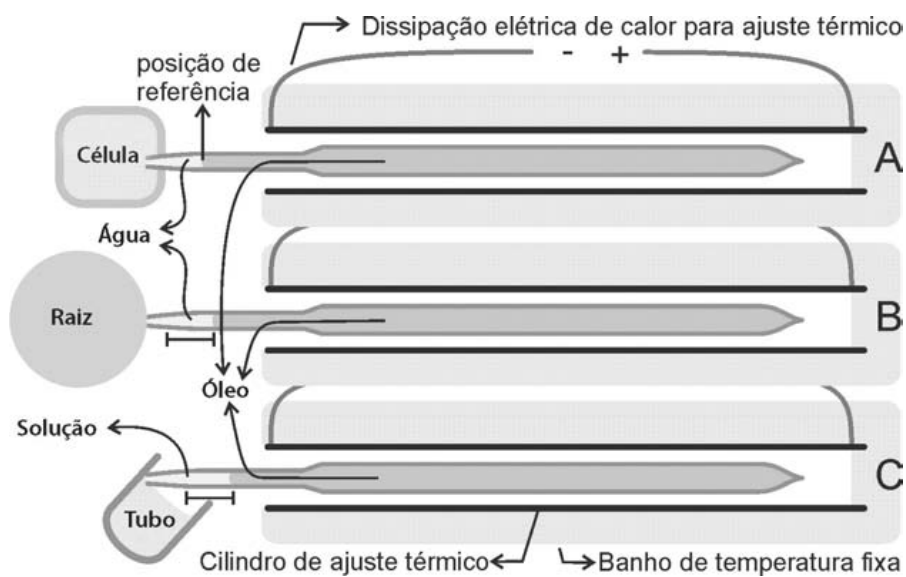


Figura 3. Formas típicas para operar uma sonda de pressão termoelástica. A – Manometria a volume constante, frequentemente utilizado para medir a pressão de turgescência celular, a temperatura é finamente aumentada com elevação da voltagem aplicada para devolver o menisco para a posição inicial de referência. O incremento da temperatura medida é usado para calcular a pressão celular. B – Manometria de temperatura constante, que é particularmente útil para os estudos de tensão de água nas paredes celulares planta. C – Volumetria de pressão constante, que possibilita procedimentos simples de microinjeção e microextração de amostras com volumes da ordem de picolitros.

Na operação a volume constante da Sonda de Pressão Celular Termoelástica (Figura 3 e Figura 4), que é mais comum, primeiro ajusta-se o menisco em uma posição de referência inicial (Figura 3), depois se insere a ponta do capilar na célula, e a pressão de turgescência celular é medida de acordo com o fluxo de calor (aquecimento) requerido para causar uma expansão térmica suficiente para compensar a redução do volume do líquido causada pela pressurização (CALBO; PESSOA, 1999; PESSOA; CALBO, 2004b). O incremento de temperatura que faz o menisco retornar à posição de referência permite a estimativa da pressão de turgescência celular.

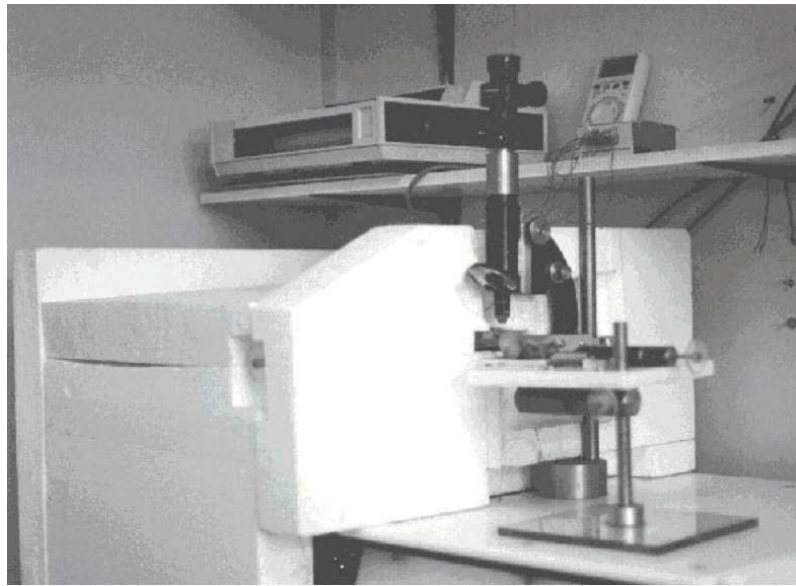


Foto: Adonai Gimenez Calbo.

Figura 4. Sonda de pressão termoelástica para medições de pressão celular de acordo com os ajustes de temperatura. As medições são feitas com auxílio de capilares de vidro com bulbo cheio de óleo mineral de expansibilidade e compressibilidade conhecidas. No instrumento, coberto por chapas grossas de poliestireno, um banho de água absorve o calor dissipado em uma resistência elétrica ao redor do cilindro de temperatura controlada. Um tubo de aço inoxidável teve ambas as extremidades ligadas a uma fonte de energia elétrica (não representada) e foi centrado em um difusor de calor preparado em alumínio sobre o banho de água. Além disso, um tubo de microscópio, uma fonte de luz (não mostrada) e um suporte de amostra que deslizam sobre uma base de náilon plana e estável completaram o instrumento. Para o posicionamento da amostra, o deslocamento micrométrico manual foi realizado com auxílio de botões paralelos e ortogonais ao tubo de temperatura ajustável, no qual o capilar de medição foi inserido.

Os resultados obtidos com a sonda termoelástica a volume constante foram similares aos obtidos com uma sonda de pressão celular convencional em medições de pressão de turgescência celular. Também a volume constante, os capilares com óleo/água, e sem tratamentos especiais, suportaram em média tensões de água da ordem $-1,80 \pm 0,30$ MPa. Estes valores suportados pelos capilares de vidro foram bem maiores do que as tensões de

água que se conseguiu medir durante o estabelecimento de estresse hídrico das raízes de cenoura durante a perda de água causada por transpiração, na qual as leituras aumentaram 0,38 MPa (CALBO; PESSOA, 1999), quando ocorreu a cavitação. Estas medições de tensão de água nas paredes celulares foram efetuadas acompanhando-se a movimentação do menisco enquanto o bulbo de óleo do capilar era mantido sob temperatura constante.

As bases físicas das sondas de pressão de Hüsken et al. (1978) e da sonda de pressão celular termoelástica de Pessoa et al. (1999) foram estudadas com o intuito de aplicações automatizadas (BERTUCCI-NETO, 2005; BERTUCCI-NETO et al., 2006; BERTUCCI-NETO; CRUVINEL, 2008), como parte de um desenvolvimento de um sistema de sua automatização por captura da posição do menisco por método óptico.

As sondas de pressão celular descritas nesta seção usam procedimentos rigorosos e, portanto, servem para a aferição de sistemas de campo mais práticos e robustos. As sondas de pressão celular de referência descritas são instrumentos estritamente laboratoriais, por depender de capilares frágeis cuja posição do menisco água/óleo precisa cuidadosa medição sob microscópio. Outros tipos de instrumentos mais simples e robustos, portanto, são demandados para propiciar aplicações práticas de medição de pressão de turgescência celular e de tensão de água na planta que possam ser voltadas a usos para manejo de irrigação, ecofisiologia e pós-colheita.

4. Novas interpretações sobre o crescimento vegetal demandarão novos tipos de resultados experimentais

Além dos aspectos práticos, estes estudos sobre instrumentação foram acompanhados de um aprendizado sobre a natureza e as implicações das variáveis do estado da água na planta para o frescor, o crescimento e o encolhimento dos órgãos vegetais, de acordo com o estado de hidratação da planta.

Uma introdução avançada sobre como o estresse hídrico induz forças que moldam a aparência, a firmeza e o crescimento das plantas é contida no artigo "A plant growth re-analysis. An extension of Lockhart's equation to multicellular plants" (CALBO; PESSOA, 1994), que trata o assunto utilizando as dimensões de tensão da água no apoplasto (parede celular) e a pressão de turgescência celular. A inter-relação destas forças, no interior das paredes celulares, determina em conjunto, de um lado a expansão elástica e de outro o crescimento (deformações plásticas "irreversíveis") dos tecidos vegetais, que ocorrem mais facilmente nas fases de crescimento, sob condições de adequada disponibilidade de água e nutrientes minerais e orgânicos. Complementarmente, nas paredes celulares, ocorre também o encolhimento (plástico) dos tecidos vegetais, que pode, em casos particulares, vir

acompanhado de uma resposta de recuperação da turgescência celular. O crescimento vegetal é uma variável dependente do órgão e do estágio de desenvolvimento, que é bioquimicamente modulado através de parâmetros físicos como a extensibilidade intrínseca das paredes celulares sob a ação de forças de tracionamento. De maneira inversa, o encolhimento celular também pode ocorrer, e neste caso é modulado bioquimicamente por um parâmetro análogo, denominado de compressibilidade plástica intrínseca. Tanto o crescimento quanto o encolhimento ocorrem de acordo com forças no interior das paredes celulares, como reação à pressão de turgescência celular e à tensão com que a água é retida nas paredes celulares, o que pode ser expresso com simplicidade em termos de compressões/trações resultantes locais.

Para a validação deste modelo de fisiologia vegetal, no entanto, a instrumentação disponível para pesquisa ainda parece ser insuficiente. O ensaio do modelo requer medições simultâneas da pressão de turgescência celular, da tensão de água nas paredes celulares e da fração de paredes celulares, na secção transversal do tecido. Destas três variáveis, a mais decisiva e de maior magnitude esperada é a tensão de água no apoplasto. Infelizmente, para plantas ainda não há tensiômetros de planta disponíveis que possam medir a tensão da água nas paredes celulares (apoplasto) de maneira direta, simples e contínua. Em suma, medir a tensão da água nas paredes celulares talvez seja o mais importante dos desafios instrumentais para o desenvolvimento da fisiologia vegetal.

O modelo, apesar da falta de uma validação experimental, oferece explicação plausível para a recuperação experimental de 60% da pressão de turgescência de raízes cenoura "Brasília" durante o armazenamento, em relação ao controle. Nas raízes de cenoura, a perda de água foi induzida rapidamente por transpiração sob ventilação forçada a 25 °C, até terem sua pressão de turgescência reduzida a zero, o que ocorreu com uma perda de massa de cerca de 20%. A recuperação da pressão de turgescência celular ocorreu durante 67 dias de armazenamento refrigerado (5 ± 2 °C), dentro de embalagens plásticas, cuja função foi diminuir a transpiração. Resultados anteriores e similares de recuperação da pressão de turgescência celular também foram relatados para folhas de repolho (LEVITT, 1986). Este do modelo, poderá, adicionalmente ser a base para explicar outras respostas como o do endurecimento de tecidos vegetais vivos, como a batata-doce, durante etapas de desidratação relativamente intensas.

Do ponto de vista de motivação para o desenvolvimento de instrumentos, os modelos matemáticos explicitados por Calbo e Pessoa (1994), e Pessoa e Calbo (2004a), são importantes porque evidenciam que o crescimento e as variações de volume dos órgãos da planta também dependem da tensão da água nas paredes celulares da planta. Adicionalmente,

estes modelos indicam que o crescimento das plantas, provavelmente, não depende apenas da pressão de turgescência celular, como é postulado no modelo de Lockhart (1965) para células com paredes celulares finas, e que tem sido a base teórica da maioria dos trabalhos experimentais e dos textos didáticos recentes. Estes novos modelos deixam evidente que a pressão de turgescência celular e a tensão de água nas paredes celulares (apoplasma) são variáveis interdependentes, de acordo com funções matemáticas simples, relativas a forças de tração e de compressão, mediadas por parâmetros de elasticidade e da plasticidade celular bioquimicamente controladas.

Diferentemente do que ocorre em solos (RICHARDS, 1942; CALBO; SILVA, 2006), faltam tensiômetros de planta simples e de leitura contínua para serem lidas as elevadíssimas tensões de água que presumidamente ocorrem nas paredes celulares das plantas. As medições da tensão de água nos vasos do xilema são de tipo diferente, porém não menos difíceis (PESSOA; CALBO, 2001; BALLING; ZIMMERMANN, 1990) do que as medições da tensão da água nas paredes celulares da epiderme de raízes de cenoura anteriormente descritas. Esta diferença de significado entre a leitura de tensão da água no apoplasma e a leitura de tensão da água nos vasos do xilema é tratada de uma maneira muito interessante CANNY (1995), que deixa transparecer que a tensão da água nas paredes das células das folhas certamente é de magnitude muito maior que as tensões de água medidas nos vasos do xilema.

A variável “tensão de água” no apoplasma, adicionalmente, é fundamental para o funcionamento do sistema coeso-tenso-transpiratório de ascensão de seiva bruta nas plantas, em que pese a possibilidade localizada do transporte de água através de feixes vasculares positivamente pressurizados e pontuados de vasos de xilema fechados nas pontas (CANNY, 1995). Nestes elementos de vaso de xilema de comprimento geralmente menor que 60 cm, a pressão da água oscila entre valores negativos até valores ocasionalmente positivos, que são importantes para o preenchimento com água de elementos do xilema cheios de ar, após períodos de estresse hídrico.

Para mensurar a tensão da água no interior das paredes celulares, correntemente há indicativos de que o sistema de Sensor Diédrico (CALBO et al., 2010), possa evoluir a ponto de se tornar o primeiro instrumento que possa medir esta variável de maneira contínua nas plantas. Caso isto ocorra, então a caracterização dos parâmetros que governam a ascensão da seiva e também o crescimento vegetal, nos moldes propostos por CALBO e PESSOA (1994), poderão brevemente ser estudados.

5. Sobre a história dos instrumentos – casos Wiltmeter e Turgometer

As tecnologia Wiltmeter e Turgometer são duas modificações da técnica de aplanção para medir pressão de turgescência celular. Esses instrumentos estendem o uso da técnica de aplanção e viabilizam a medição da turgescência celular em folhas e em órgãos volumosos, mesmo que possuam irregularidade superficiais, que seriam impeditivas para o uso dos aplanadores anteriormente descritos (CALBO, 1991, 2000; CALBO; CALBO, 1989; CALBO; NERY, 1995). A primeira publicação nesta linha foi a respeito de um antecessor do Wiltmeter para medir a pressão de turgescência celular das folhas, denominado Turgômetro (CALBO, 1991). A ponta de prova cilíndrica do turgômetro, que era adaptada a um êmbolo, no entanto, causava certa deformação circular nas folhas. Este problema técnico foi resolvido vários anos mais tarde em um instrumento mais prático, que possibilitou a elaboração do documento de patente intitulado “Sistema de aplanção para avaliar a firmeza dependente da pressão celular em folhas e segmentos de face plana de órgão macios” (CALBO; PESSOA, 2007). Para este instrumento, atualmente em fase de desenvolvimento industrial, a Embrapa registrou a marca Wiltmeter® (Figura 5).

- 1- Placa de aplanação com elemento poroso
- 2- Entrada de ar e ranhuras do elemento poroso
- 3- Folha
- 4- Membrana para aplicar compressão
- 5- Manômetro
- 6- Manômetro do fluxímetro
- 7- Porca do fechamento
- 8- Mola
- 9- Porca de articulação
- 10- Compressor
- 11- Regulador de pressão
- 12- Bifurcação
- 13- Restrição de entrada
- 14- Restrição do fluxímetro
- 15- Seringa

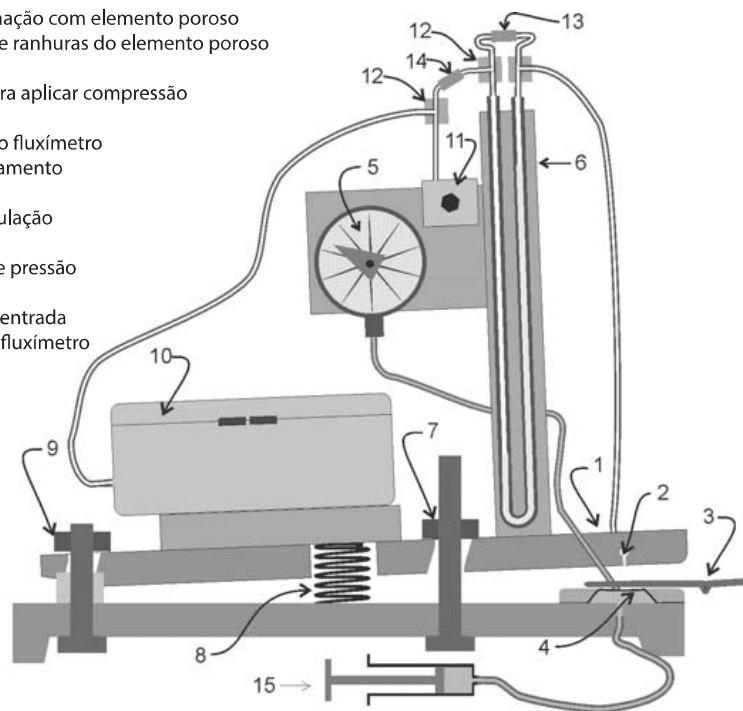


Figura 5. Esquema de um protótipo de Wiltmeter, a placa inferior com membrana de borracha aperta a folha contra o elemento poroso da placa de aplanação. Compressor, sistema de ajuste de fluxo de ar com regulador de pressão e restrições para ajustar a passagem de ar entre a folha e a placa de aplanação, seringa para aplicar compressão e monômetro complementam o instrumento.

5.1 Aplicações experimentais do Wiltmeter

Com protótipos de Wiltmeter similares ao ilustrado na Figura 5 (CALBO et al., 2010) foram realizados alguns estudos relativos a pós-colheita e a ecofisiologia. Com a finalidade de comprovar que o Wiltmeter mede a pressão de turgescência celular, Ferreira e Calbo (2010) fizeram medições comparativas com o Wiltmeter e com a sonda de pressão celular em folhas de alface, chicória e couve. As medições ocorreram enquanto as folhas perdiam a turgescência em função da desidratação induzida por transpiração às folhas destacadas. As leituras de pressão de turgescência celular do Wiltmeter foram altamente correlacionadas e, em todos casos, entre 8 e 15%, menores que as leituras obtidas com a sonda de pressão celular. Os resultados foram considerados muito bons, visto que o Wiltmeter é um instrumento robusto e simples que pode inclusive ser utilizado campo. Tecnicamente, a diferença de leitura observada foi interpretada como consequência da espessura da parede celular, que nas folhas não poder ser considerada negligível (Calbo et al., 2010).

Posteriormente, a tecnologia Wiltmeter foi utilizada para definir níveis limiares de pressão de turgescência, para facilitar o controle de qualidade de folhosas (FERREIRA e CALBO, 2010) e em estudo da pós-colheita de flores de crisântemos (SPRICIGO et al., 2012).

Do ponto de vista de ecofisiologia, estudou-se o efeito de déficits hídricos no solo sobre o estado da água de plantas de mamoneira, de acordo com medições efetuadas em Câmara de Scholander e no Wiltmeter. Neste estudo Brixner et al. (2011) verificaram que o Wiltmeter é uma ferramenta prática e adequada para o estudos de ecologia e manejo de irrigação. Em maracujazeiro, Sampaio et al. (2013) acompanharam as variações diárias da pressão de turgescência celular das folhas de maracujazeiros submetidos a diferentes tratamentos de adubação. Em folhas de mamoeiro, Dutra et al. (2011) verificaram uma relação linear entre o teor relativo de água e a pressão de turgescência celular estimada com o Wiltmeter. Em melhoramento vegetal, os diferentes estados de ploidia da bananeira puderam ser detectados de acordo com diferenças de pressão de turgescência celular na folha, com auxílio do Wiltmeter (SILVA, 2012). Calbo e Ferreira (2011), por outro lado, compararam os resultados de Wiltmeter com alguns outros métodos para estudar o estresse hídrico em folhosas e concluíram que o Wiltmeter pode ser valioso, tanto por suas medidas diretas do estado da água, quanto pela facilidade com que possibilita medições rápidas do módulo de elasticidade volumétrico desses órgãos.

A tecnologia Wiltmeter® foi licenciada para duas empresas: a Marconi Equipamentos para Laboratório Ltda e a Hidrosense Comércio de Sistemas Para Irrigação Ltda. Trata-se portanto de um instrumento em fase de desenvolvimento industrial e com interessante potencial nos campos da pós-colheita, do manejo de irrigação e da ecofisiologia.

5.2 O Turgormeter

O desenvolvimento do Turgormeter (Figura 6) ocorreu paralelamente ao do Wiltmeter e envolveu a elaboração de numerosos protótipos experimentais. Um destes protótipos, feito com uma célula de carga pelo Dr. José Dalton Cruz Pessoa, foi denominado de firmômetro e foi utilizado sem descrição técnica, por questões de sigilo, em algumas publicações relativas à pós-colheita de frutas e hortaliças (LUENGO, 2005; LUENGO et al., 2003). O uso antecipado deste tipo particular de Turgormeter ocorreu em função da demanda por dados de pressão de turgescência celular das mais importantes frutas e hortaliças comercializadas. A necessidade advinha da possibilidade de se estimar matematicamente a altura máxima de pilhas e de embalagens de frutas hortaliças, para as quais o uso da técnica de aplanção, conforme descrito por Calbo e Nery (1995), era inviável.

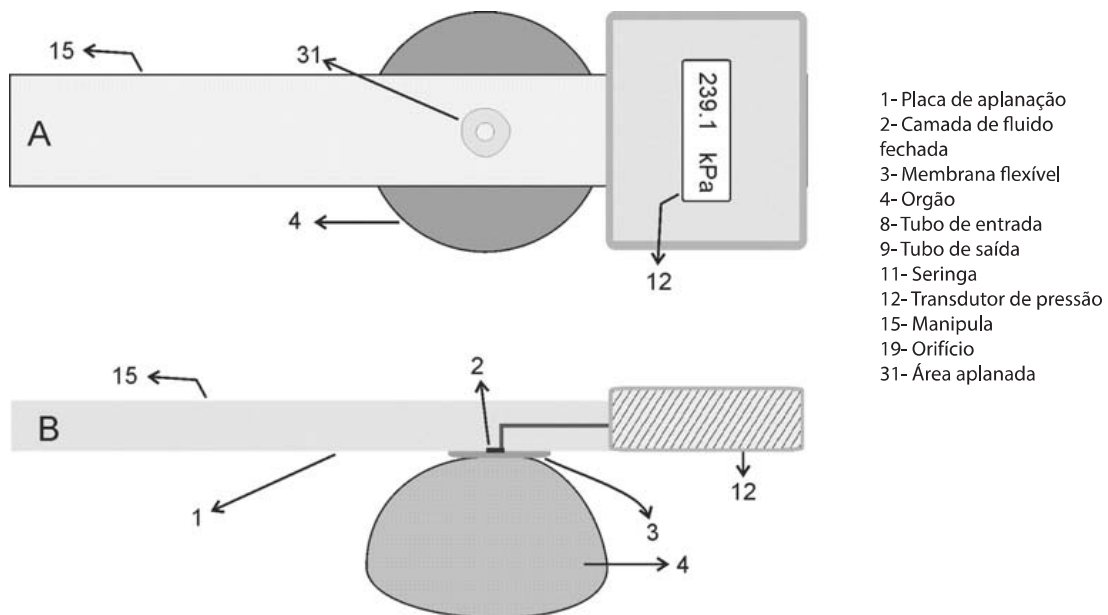


Figura 6. Esquema de um Turgormeter manual para medir pressão de turgescência de órgãos da planta (4) pelo método da manometria a volume constante. A) Vista de cima; B) Vista em corte longitudinal.

A tecnologia Turgometer Sensor, por outro lado, refere-se aos diferentes sistemas para medir a pressão de turgescência de células em órgãos vegetais como caules, raízes e frutas. A tecnologia possui aplicações no campo, em laboratório e em casa de vegetação. O sistema (CALBO et al., 2011) foi desenvolvido para medições e controles com instrumentos portáteis e estacionários, que podem funcionar no modo aberto, no modo fechado (com transdutor de pressão) e no modo força. Em instrumentos portáteis, úteis em aplicações de pós-colheita e ecofisiologia, a medição ocorre enquanto o instrumento está apertado contra a superfície dos órgãos da planta, de modo a manter uma área aplainada que inclua um diminuto sensor de pressão de turgescência celular, que pode ser um sistema de medir força ou de medir pressão.

Nos instrumentos estacionários, para aplicações em ecofisiologia e manejo de irrigação, a medição ocorre enquanto o sensor estacionário de turgescência permanece fixado à planta, sob aperto contínuo entre as células da planta. Por conseguinte, a leitura deste sensor miniatura, incluído na área de aplainamento, é feita a qualquer momento. Estes sensores estacionários, de inserção ou de fixação lateral, são adequados à aquisição continuada de dados.

Utilizando-se sensores operados no modo aberto, pode-se controlar automaticamente a irrigação, com o emprego de pequenos sensores estacionários de pressão de turgescência. Estes sensores que operam no modo aberto são de construção simples e de baixo custo. Nesta automação, o fluxo de água para irrigação localizada de cada planta é liberado sempre que há uma redução do estado de hidratação abaixo de um valor especificado de pressão de turgescência celular.

A tecnologia Turgometer Sensor foi recentemente licenciada em 2013 para a empresa Hidrosense Comércio de Sistemas para Irrigação Ltda, que deverá desenvolver produtos com esta tecnologia e também com tecnologia Wiltmeter® para aplicações em manejo de irrigação, ecofisiologia e pós-colheita.

6. Perspectivas futuras

As pesquisas sobre a fisiologia do estado da água na planta deverão contemplar o desenvolvimento de conhecimentos e de alternativas instrumentais novas, que possibilitem alternativas acessíveis aos agricultores, seja através de métodos para manejo e controle de irrigação baseado na resposta das plantas, seja através de métodos para a conservação da qualidade dos produtos após a colheita, em termos de frescor e de firmeza ao tato (pressão de turgescência celular).

Correntemente há uma expectativa otimista de que nos próximos anos diferentes modelos de instrumentos como o Wiltmeter®, para a

medição da pressão de turgência celular de folhas e o Turgometer para medir a pressão de turgescência celular de frutas, hortaliças e outros produtos, estejam disponíveis para que os pesquisadores e os agricultores solucionem algumas das variadas demandas em manejo da irrigação, ecologia e em pós-colheita.

Em médio prazo, espera-se que as pesquisas correntes avancem e possibilitem a medição da tensão da água nas paredes celulares das plantas, de maneira simples e contínua. Estes avanços, talvez se originem de promissores empregos da tecnologia Sensor de Diedro (CALBO, 2011), que é detalhada no capítulo sobre sensores para solos. Estes futuros tensiômetros de planta possibilitarão aplicações técnicas em ecofisiologia e em pós-colheita sem as limitações anteriormente relatadas para as sondas de pressão (HÜSKEN et al., 1978; WEI et al., 1999), ou para as dúvidas correntes em relação a interpretações dos resultados obtidos com câmara de pressão de Scholander (BALLING; ZIMMERMANN, 1990; MILBURN, 1996), que também não possibilita leituras continuadas e não destrutivas.

Referências

- ALVIM, P. T. A new dendrometer for monitoring cambium activity and changes in the internal water status of plants. **Turrialba**, [S. I.], v. 25, p. 445-447, 1975.
- AMARANTE, C. V. T.; MEGGUER, C. A. Qualidade pós-colheita de frutos de butiá em função do estágio de maturação na colheita e do manejo da temperatura. **Ciência Rural**, [S. I.], v. 38, p. 46-53, 2008 .
- ANDRADE JUNIOR, V. C.; MALUF, W. R.; FARIA, M. V.; BENITES, F. R. G.; SANTOS JUNIOR, A. M. Produção e qualidade de frutos de tomateiros portadores de alelos mutantes de amadurecimento e coloração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. I.], v. 40, n. 6, p. 555-561, 2005.
- BALLING, A.; ZIMMERMANN, U. Comparative measurements of the xylem pressure of Nicotiana plants by means of the pressure bomb and pressure probe. **Planta**, [S. I.], v. 182, p. 325-338, 1990.
- BERNSTEIN, Z.; LUSTIG, I. A new method of firmness measurement on grape berries and other juicy fruits. **Vitis**, [S. I.], v. 20, p. 15-21, 1981.
- BERNSTEIN, Z.; LUSTIG, I. Hydrostatic methods of measurement of firmness and turgor pressure of grape berries (*Vitis vinifera* L.). **Scientia Horticulturae**, [S. I.], v. 25, p. 129-136, 1985.
- BERTUCCI-NETO, V.; PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G.; CRUVINEL, P. E. **Modelagem e automação de uma sonda termoelástica para medidas de parâmetros relativos a fisiologia vegetal**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006. 27 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 14).

BERTUCCI-NETO, V. **Modelagem e automação em nova técnica de medida para relações de água e planta**. 2005. 159 f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) – Departamento de Engenharia Elétrica, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2005.

BERTUCCI-NETO, V.; CRUVINEL, P. E. **Reconstrução de sinal de medida em sistema de medida de pressão em células vegetais**. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2008. 14 p. (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Documentos, 38).

BOYER, J. S. Leaf water potentials measured with a pressure chamber. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 42, p. 133-137, 1967.

BRIXNER, G. F.; PINTO, M. A. B.; TIMM, L. C.; REISSER JUNIOR, C; LOPES, F. S. Respostas fisiológicas da mamoneira a diferentes tensões de água no solo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 17., 2011. Guarapari. [S. I.: s. n], 2011. 5 p.

CÁ, J. A.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. A.; NASCIMENTO, I. R.; FARIA, M. V.; LICURSI, V.; MORETTO, P. Híbridos de tomateiro longa-vida com frutos de maior intensidade de coloração. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. I.], v. 41, p. 1377-1384, 2006.

CALBO, A. G. Desenvolvimento de um equipamento para medir turgor em folhas e outros órgãos (Turgômetro). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL SOCIEDADE BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL, 3., 1991, Viçosa. [S. I.: s. n], 1991. p. 13.

CALBO, A. G. Influência da desidratação na recuperação da firmeza e na brotação em cenoura. **Bragantia**, [S.I.], v. 59, p. 7-10, 2000.

CALBO, A. G. **Sensor diédrico para avaliar tensão, potencial e atividade de líquidos**. Patente WO 2011/079367, 2011.

CALBO, A. G.; CALBO, M. E. R. Medição e importância do potencial de parede. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, [S. I.], v. 1, n. 1, p. 41-45, 1989.

CALBO, A. G.; FERREIRA, M. D. Evaluation of hydration indexes in kale leaves. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 23, p. 141-149, 2011.

CALBO, A. G.; FERREIRA, M. D.; PESSOA, J. D. C. A leaf lamina compression method for estimating turgor pressure. **HortScience**, [S. I.],v. 45, n. 3, p. 418-423, 2010.

CALBO, A. G.; NERY, A. A. Medida de firmeza em hortaliças pela técnica de aplanção. **Horticultura Brasileira**, [S. I.], v. 12, n. 1, p. 4-18, 1995.

CALBO, A. G.; NERY, A. A. Compression induced intercellular shaping for some geometric cellular lattices. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, [S. I.], v. 44, n. 1, p. 41-48, 2001.

CALBO, A. G.; NERY, A. A.; HERRMANN, P. S. P. Intercellular deformation in compressed organs. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 76, p. 365-370, 1995.

CALBO, A. G.; PESSOA, J. D. C. A plant growth re-analysis. An extension of Lockhart's equation to multicellular plants. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, [S. I.], v. 6, p. 3-89, 1994.

- CALBO, A. G.; PESSOA, J. D. C. Thermoelastic pressure probe to test the cohesion theory. Liquid expandability, compressibility and pressure measurements. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, [S. I.], v. 11, n. 3, p. 129-136, 1999.
- CALBO, A. G.; PESSOA, J. D. C. **Sistema de aplanção para avaliar a firmeza dependente da pressão celular em folhas e segmentos de face plana de órgãos macios**. Patente de invenção BR0705830-6. 16 jul. 2007.
- CALBO, A. G.; PESSOA, J. D. C.; FERREIRA, M. D. **Sistema para medir pressão de turgescência celular e para automatizar a irrigação**. 22 dez. 2011.
- CALBO, A. G.; SILVA, W. L. C. **Sistema Irrigas para manejo de irrigação: fundamentos, aplicações e desenvolvimentos**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças, 2005. 186 p.
- CALBO, A. G.; SILVA, W. L. C. Gaseous irrigation control system: description and physical tests for performance assessment. **Bragantia**, [S. I.], v. 65, p. 501-510, 2006.
- CANNY, J. C. A new theory for the ascent of sap – cohesion supported tissue pressure. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 75, p. 343-357, 1995.
- DREHMER, A. M. F.; AMARANTE, C. V. Conservação pós-colheita de frutos de araçá-vermelho em função do estágio de maturação e temperatura de armazenamento. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S. I.], v. 30, p. 322-326, 2008.
- DUTRA, A. D.; SAMPAIO, A. H. R.; GUIMARÃES, M. J. M.; SILVA, R. O.; CALBO, A. G.; COELHO FILHO, M. A. Relação entre conteúdo relativo de água e potencial de turgor obtido com wiltmeter em folhas de mamoeiro. In: SIMPÓSIO DO PAPAYA BRASILEIRO, 5., 2011, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2011. 1 CD-ROM. PDF. T37.
- FERREIRA, M. D.; CALBO, A. G. **Wiltmeter®** - aplicações e usos. São Carlos, SP: Embrapa Instrumentação, 2010. 20 p. (Embrapa Instrumentação. Documentos, 53).
- HÜSKEN, D.; STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U. Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 61, p. 158-163, 1978.
- JACOMINO, A. P.; KLUGE, R. A.; BRACKMANN, A.; CASTRO, P. R. C. Amadurecimento e senescência de mamão com 1-metilciclopropeno. **Scientia Agricola**, [S. I.], v. 59, p. 303-308, 2002.
- KLUGE, R. A.; ANTONININ, A. C. C.; ROBLES, W. G. R.; TESSARIOLI NETO, J.; JACOMINO, A. P.; SCARPE FILHO, J. A. Avaliação de cultivares de berinjela em armazenamento refrigerado. **Scientia Agricola**, [S. I.], v. 56, n. 4, p. 1045-1050, 1999.
- LEVITT, J. Recovery of turgor by wilted, excised cabbage leaves in the absence of water uptake. **Plant Physiology**, [S. I.], v. 82, n. 1, p. 147-153, 1986.
- LOCKHART, J. A. An analysis of irreversible plant cell elongation. **Journal of Theoretical Biology**, [S. I.], v. 8, p. 264-275, 1965.
- LUENGO, R. F. A. **Dimensionamento de embalagens para comercialização de hortaliças e frutas no Brasil**. 2005. 75 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Escola

Conceitos e aplicações da instrumentação para o avanço da agricultura

Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.

LUENGO, R. F. A.; CALBO, A. G.; JACOMINO, A. P.; PESSOA, J. D. C. Avaliação da compressão em hortaliças e frutas e seu emprego na determinação do limite físico da altura da embalagem de comercialização. **Horticultura Brasileira**, [S. I.], Brasília, v. 21, n. 4, p. 704-707, 2003.

MATTIUZ, B.; DURIGAN, J. F. Efeito de injúrias mecânicas na firmeza e coloração de goiabas das cultivares Paluma e Pedro Sato. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [S. I.], v. 23, p. 277-281, 2001.

MILBURN, J. A. Sap ascent in vascular plants: challengers to the cohesion theory ignore significance of immature xylem and the recycling of Munch water source. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 78, n. 4, p. 399-407, 1996.

MORETTI, C. L.; SARGENT, S. A.; BALABAN, M.; PUSCHMANN, R. Nariz eletrônico: tecnologia não destrutiva para a detecção de desordem fisiológica causada por impacto em frutos de tomate. **Horticultura Brasileira**, [S. I.], Brasília, v. 18, p. 20-23, 2000.

PEREIRA, A. V. **Deformações em frutos de tomateiro sob compressão**. 1996. 37 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 1996.

PEREIRA, A. V.; CALBO, A. G. Elastic stresses and plastic deformations in 'Santa Clara' tomato fruits caused by package dependent compression. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, [S. I.], v. 35, n. 12, p. 2429-2436, 2000.

PESSOA, J. D. C., CALBO, A. G., CRUVINEL, P. E. **Equipamento para medida de turgescência celular e sucção de órgãos vegetais**. Patente, BR 9906212-7, 1999.

PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G. Metodologia para medir tensão de água em raízes de cenoura. **Engenharia Agrícola**, [S. I.], v. 21, p. 2010-217, 2001.

PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G. Apoplasm hydrostatic pressure on growth of cylindrical cells. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, [S. I.], v. 16, n. 1, p. 17-24, 2004a.

PESSOA, J. D.; CALBO, A. G. Pressure measurement using thermal properties of materials. **Review of scientific instruments**, [S. I.], v. 75, n. 6, p. 2213-2215, 2004b.

RICHARDS, L. A. Soil moisture tensiometer materials and construction. **Soil Science**, [S. I.], v. 53, p. 241-248, 1942.

SAMPAIO, A. H. R.; ELVIS, T.; DIAS, I. M.; MOREIRA, F. E. Potencial de turgescência foliar de maracujazeiro estimado com o uso do Wiltmeter®. In: SIMPÓSIO DE PRODUTIVIDADE EM PESQUISA E ENCONTRO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO IFPI - ENCIPRO, 5., 2013, Teresina, PI. [S. I.: s. n.], 2013. 6 p.

SANTELLI, P.; CALBO, M. E. R.; CALBO, A. G. Fisiologia pós-colheita de frutos da palmeira *Mauritia vinifera* Mart. (Arecaceae). **Acta botânica brasílica**, [S. I.], v. 23, p. 697-702, 2009.

- SCHOLANDER, P. F.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A.; BRADSTREET, E. D. Hydrostatic pressure and osmotic potential of mangrove and some other plants. **Proceedings of the National Academy of Science**, USA, v. 52, p. 112-119, 1964.
- SCHOLANDER, P. F.; BRADSTREET, E. D.; HAMMEL, H. T.; HEMMINGSEN, E. A. Sap pressure in vascular plants. **Science**, [S. I.], v. 148, p. 339-346, 1965.
- SILVA, M. R. **Caracterização física e anatômica de folhas de acessos de bananeira com diferentes ploidias**. 2012. 59 f. Tese (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, Bahia, 2012.
- SPRICIGO, P. C.; FERREIRA, M. D.; CALBO, A. G. Turgescência de crisântemos após a colheita utilizando o equipamento Wiltmeter®. **Ciência Rural**, [S. I.], v. 42, p. 255-260, 2012.
- STEFANELLO, S.; SCHUELTER, A. R.; SCAPIM, C. A.; FINGER, F. L.; PEREIRA, G. M.; BONATO, C. M.; ROCHA, A. C. S.; SILVA, J. M. Amadurecimento de frutos de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) tratados com Etefon. **Acta Amazonica**, [S. I.], v. 40, p. 424-434, 2010.
- WEI, C.; STEUDLE, E.; TYREE, M. T. Water ascent in plants: do ongoing controversies have a sound basis. **Trends in Plant Science**, [S. I.], v. 4, p. 372-375, 1999.