

MANUAL DE ATIVIDADES PRÁTICAS DE FISIOLOGIA VEGETAL

HERMÍNIA MARI DE BASTOS FREITAS



EDUFBA

MANUAL DE FISIOLOGIA VEGETAL



Universidade Federal da Bahia

Reitor

Naomar Monteiro de Almeida Filho

Vice-reitor

Francisco José Gomes Mesquita



Editora da Universidade Federal da Bahia

Diretora

Flávia Mota Garcia Rosa

Conselho Editorial

Angelo Szaniecki Perret Serpa

Carmen Fontes Teixeira

Dante Eustachio Lucchesi Ramacciotti

Fernando da Rocha Peres

Maria Vidal de Negreiros Camargo

Sérgio Coelho Borges Farias

Suplentes

Bouzid Izerrougene

Cleise Furtado Mendes

José Fernandes Silva Andrade

Nancy Elizabeth Odonne

Olival Freire Junior

Sílvia Lúcia Ferreira

HERMÍNIA MARIA DE BASTOS FREITAS
ORGANIZAÇÃO E ADAPTAÇÃO

MANUAL DE FISIOLOGIA VEGETAL
MANUAL DE ATIVIDADES PRÁTICAS

SALVADOR
EDUFBA
2006

© 2006 by Hermínia Maria de Bastos Freitas
Direitos para esta edição cedidos à Editora da Universidade Federal da Bahia.
Feito o depósito legal.

Capa
ACHILES DO BRASIL

Projeto Gráfico
GABRIELA NASCIMENTO

Editoração
ANTONIO NEY S. OLIVEIRA FILHO

Preparação de Originais e Revisão
TANIÁ DE ARAGÃO BEZERRA
MAGEL CASTILHO DE CARVALHO

Biblioteca Central Reitor Macêdo Costa – UFBA

M294 Manual de fisiologia vegetal: manual de atividades práticas / Hermínia Maria de Bastos Freitas [organização e adaptação]. - Salvador : Edufba, 2006.
84p.

ISBN 85-232-0357-5

1. Fisiologia vegetal - Manuais, guias, etc. 2. Sementes-Fisiologia. 3. Plantas - Reprodução. I. Freitas, Hermínia Maria de Bastos. II. Universidade Federal da Bahia. Instituto de Biologia.

CDD - 581.1
CDU - 581.1

EDUFBA
Rua Barão de Geremoabo, s/n, Campus de Ondina, 40.170-290, Salvador-Bahia
Telefax: (71) 3263 6160 / 3263 6164 edufba@ufba.br www.edufba.ufba.br

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO 7

GERMINAÇÃO DE SEMENTES 9

- VIABILIDADE DE SEMENTES -TESTE DO TETRAZÓLIO 11
- VARIAÇÃO DA MASSA E DO VOLUME DE SEMENTES DURANTE O PROCESSO DE EMBEBIÇÃO 12
- PRESSÃO DE EMBEBIÇÃO EM SEMENTES 14
- ATIVIDADE DAS ENZIMAS α e β AMILASES NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES 16
- AVALIAÇÃO DA ESTRATIFICAÇÃO NA GERMINAÇÃO 18
- EFEITO DA ESCARIFICAÇÃO NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES 19
- RELAÇÕES ENERGÉTICAS DA EMBEBIÇÃO 21
- EFEITO DA LUZ NA GERMINAÇÃO 22

DESENVOLVIMENTO 25

- DETERMINAÇÃO DA ÁREA FOLIAR 27
- DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA DE ÓRGÃOS VEGETAIS 28
- ZONAS DE CRESCIMENTO DA RAIZ 30
- GRAVITROPISMO DE RAIZ 31
- GRAVITROPISMO DE CAULE 33
- EFEITO DE CITOCININA 6BA SOBRE A SENESCÊNCIA DE FOLHAS DESTACADAS 34
- EFEITO DO HORMÔNIO ETILENO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO 35
- EFEITO DA GIBERELINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE GEMAS EM TUBÉRCULOS 37
- INTERAÇÃO ABA/GA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES 38
- FOTOMORFOGÊNESE EM PLÂNTULAS 40
- INFLUÊNCIA DA LUZ NO CRESCIMENTO DE GEMAS DE BATATINHA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.) 41
- OBSERVAÇÃO DO FENÔMENO DA POLARIDADE EM ESTACAS HERBÁCEAS 42
- FORMAÇÃO DE RAÍZES E GEMAS ADVENTÍCIAS EM FOLHAS DA FORTUNA (*BRYOPHYLLUM CALLICINUM*) 44

RELAÇÕES HÍDRICAS 47

ÁGUA NA PLANTA

- PERMEABILIDADE DA MEMBRANA CELULAR 49
- PERMEABILIDADE CELULAR 50
- EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A PERMEABILIDADE DAS MEMBRANAS CELULARES 53
- TURGESCÊNCIA E PLASMÓLISE EM CÉLULAS VEGETAIS 55

CONDUÇÃO E PERDA DE ÁGUA PELA PLANTA

- ASCENSÃO DA ÁGUA NA PLANTA 57
- TRANSPIRAÇÃO PELO MÉTODO DA CAMPÂNULA 58
- TRANSPIRAÇÃO PELO MÉTODO DO PAPEL DE COBALTO 60
- TRANSPIRAÇÃO PELO MÉTODO DE PESAGENS SUCESSIVAS 61
- ABERTURA ESTOMÁTICA PELO MÉTODO DE INFILTRAÇÃO 62
- GUTAÇÃO 63

METABOLISMO ENERGÉTICO 67

FOTOSSÍNTESE

EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS EM TECIDOS FOLIARES 69

SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS PELA TÉCNICA DA CROMATOGRAFIA DE PAPEL 71

FOTOSSÍNTESE E PONTO DE COMPENSAÇÃO LUMINOSO 72

FOTOSSÍNTESE – LUZ, CLOROFILA E SÍNTESE DE AMIDO 75

FATORES QUE AFETAM A FOTOSSÍNTESE EM *ELODEA SP* 76

RESPIRAÇÃO

RESPIRAÇÃO ANAERÓBICA - FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA 79

AVALIAÇÃO DA RESPIRAÇÃO EM FOLHAS DESTACADAS 80

EFEITO DA CATALASE EM TUBÉRCULO DE BATATINHA 83

APRESENTAÇÃO

Este manual foi elaborado especialmente para estudantes do Curso de Ciências Biológicas. Na sua concepção, prevaleceu a intenção de despertar em cada aluno o interesse pelo estudo da fisiologia das plantas.

Um dos desafios do ensino da Fisiologia Vegetal é permitir ao aluno visualizar aspectos da dinâmica dos processos fisiológicos, de modo a contribuir para a sua compreensão. É justamente nesse sentido que a realização de atividades práticas apresenta-se como um instrumento valioso e imprescindível ao processo de aprendizagem.

Ao longo da prática no ensino da disciplina fomos selecionando de vários manuais de Fisiologia Vegetal, oriundos desta e de outras Instituições de Ensino Superior, atividades adequadas à compreensão dos processos fisiológicos. Daí surgiu a idéia de agrupá-las em um manual que pudesse integrar teoria e prática.

Este manual representa, portanto, um módulo de 39 atividades práticas, ordenadas conforme o conteúdo programático. Em muitas dessas atividades foram feitas modificações e/ou adaptações. Entretanto, algumas delas mantiveram-se praticamente inalteradas com relação às suas versões originais.

As atividades deverão ser desenvolvidas em equipe, devendo cada membro participar, ao máximo, da sua condução. Um bom proveito e que juntos, professor-aluno, alcancemos os nossos objetivos de ensinar e aprender.

Hermínia Bastos Freitas

GERMINAÇÃO DE SEMENTES

INTRODUÇÃO

A viabilidade de uma semente define a sua capacidade de germinar quando submetida às condições adequadas. Portanto, uma semente viável é uma semente viva, com embrião apto a retomar o crescimento.

A capacidade germinativa de uma semente pode ser avaliada através de várias técnicas ou testes, dentre os quais o Teste do Tetrazólio, o qual se baseia na existência de atividade metabólica no embrião.

OBJETIVO

Avaliar a viabilidade de sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris L*) e de milho (*Zea mays L*) pelo teste do Tetrazólio.

MATERIAL

- Sementes de feijão e grãos de milho, previamente embebidos em água corrente, por 12h;
- Solução a 0,5% de cloreto de 2,3,5 trifenil tetrazólio (TTC);
- Béquer, lâmina de barbear, pinças, bastão de vidro;
- Papel alumínio;
- Água destilada.

PROCEDIMENTO

1. Corte ao meio 10 sementes de feijão e 10 grãos de milho;
2. Separe 05 sementes de feijão e 10 grãos de milho e ferva por 15 minutos;
1. Imerja o material fervido na solução de TTC;
2. Imerja, igualmente, na solução TTC, as sementes não fervidas;
3. Observe os resultados após 60 minutos.

DISCUSSÃO

1. Considerando que a cor rosa indica a presença de tecido ativo, como explicar os resultados obtidos?
2. Por que usar sementes fervidas?
3. Qual o processo metabólico “indicado” pelo tetrazólio?
4. Como poderia ser explicada a presença de alguma semente corada no grupo das fervidas?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M.; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: UFBA, 1972.

VARIAÇÃO DA MASSA E DO VOLUME DE SEMENTES DURANTE O PROCESSO DE EMBEBIÇÃO

INTRODUÇÃO

A Germinação é definida como a retomada de crescimento do embrião, após o período de quiescência. Entretanto, para que um embrião viável e não dormente retome à atividade metabólica, é preciso que o mesmo absorva água e, com isto, se rehidrate. Assim, a 1ª fase da germinação corresponde à absorção de água, processo denominada de EMBEBIÇÃO.

A embebição é um processo físico correlacionado com as propriedades das substâncias coloidais e que resulta em um aumento de volume da semente.

OBJETIVO

Avaliar a variação da massa (peso) e do volume de sementes durante o processo de embebição.

MATERIAL

- Béquero de 100 mL;
- Proveta graduada de 50 mL;
- Balança de analítica;
- Papel absorvente, pinça;
- Placas de Petri;
- Sementes de feijão, milho, mamona, flamboyant, grão de bico, dentre outras.

PARTE I - Determinação do peso e da massa antes da embebição

1. Separe lotes de 10 sementes de cada uma das espécies (03 no mínimo);
2. Determine o peso (massa) de cada um desses lotes, pesando-o; anote na Tabela 1;
3. Determine o volume das sementes:
 - a) Colocando 10 ml de água em uma proveta e, em seguida, as 10 sementes, anteriormente pesadas. Se for o caso, agite a proveta de maneira a retirar bolhas de ar que poderiam interferir nos resultados;
 - b) Anote o volume encontrado. A diferença entre as 2 medidas (altura do nível da água sem e com sementes) representa o volume das sementes utilizadas;
4. Repita para cada um dos lotes de sementes o procedimento anterior, a fim de obter o volume das mesmas;
5. Coloque os valores encontrados na Tabela 1;
6. Coloque cada um dos lotes das sementes em béqueres separados, contendo água, deixando-os por 24h.

PARTE II - Determinação do peso e do volume após a embebição

1. Retire um dos lotes de sementes de um dos béqueres e seque-as, leve e rapidamente, com papel absorvente;
2. Pese-o novamente;
3. Determine o volume desse lote pelo processo indicado na Parte I deste exercício;
3. Faça o mesmo com cada um dos outros lotes de sementes embebidas;
4. Os valores de massa e de volume obtidos devem ser anotados na Tabela 1.

TABELA 1 - Massa e volume das sementes antes (secas) e após a embebição.

| Espécies | MASSA | | | VOLUME | | |
|----------|-------|-----------|-------------------|--------|-----------|-------------------|
| | Seca | Embebidas | Δ Peso (%) | Seca | Embebidas | Δ Peso (%) |
| | | | | | | |

DISCUSSÃO

1. Em que consiste a embebição?
2. Qual a consequência da embebição com relação à massa e ao volume das sementes?
3. Os diferentes tipos de sementes apresentaram o mesmo “grau” de embebição? A que se pode atribuir esse comportamento?
4. Como se comporta o tegumento das sementes após a embebição?
5. Existem plantas cujas sementes possuem tegumento espesso e impermeável. Neste caso, como ocorre a embebição para que elas germinem?
6. Qual o papel desempenhado pela água na germinação da semente?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M.; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

PRESSÃO DE EMBEBIÇÃO EM SEMENTES

INTRODUÇÃO

A imediata causa da germinação de uma semente, freqüentemente, é a simples embebição de água. Como na osmose, na embebição ocorre movimento de moléculas de água em resposta a um $\Delta\Psi$ de água. Contudo, diferentemente, não requer a presença de uma membrana semipermeável.

A embebição é a adsorção de água pelos colóides e resulta da interação entre as moléculas da água e as superfícies sólidas. Isto leva a um aumento de volume do material embebido, em consequência do que é gerada uma substancial pressão denominada **Pressão de Embebição**.

OBJETIVO

Observar o desenvolvimento da pressão de embebição em sementes.

MATERIAL

- Sementes de milho (*Zea mays* L), grão-de-bico (*Cicer arietinum* L), feijão (*Phaseolus vulgaris*, L); dentre outras
- Cartolina;

- Vaselina em pasta; (opcional)
- Béquer pequeno (100 mL);
- Grampeador;
- Espátula;
- Papel absorvente;
- Tesoura.

PROCEDIMENTO

1. Confeccione 2 funis de cartolina. Para tanto, risque um disco em uma cartolina com 10 cm de diâmetro (utilizando a base de uma placa de petri), recorte e faça um corte radial; junte as bordas grampeando-as; Identifique-os escrevendo em um as letras **CS** (com semente) e **SS** (sem semente);
2. Passe vaselina em pasta na superfície interna dos funis e coloque-os sobre dois béqueres pequenos;
3. Pese 100g de gesso em uma bacia ou outro vasilhame plástico. Aos poucos, vá adicionando 100 mL de água, misturando sempre até obter uma massa uniforme. Aja rápido, pois o gesso endurece facilmente;
4. Tome o funil **SS** e preencha-o, completamente, com gesso. Em seguida, no funil **CS** coloque gesso até a metade, acrescente 5 sementes da espécie escolhida no centro e complete com gesso;
5. Coloque os funis sobre béqueres e aguarde o endurecimento do gesso.
6. Observe após 24h.

OBS.: Os funis podem ser substituídos por copos plásticos pequenos (tipo cafezinho).

DISCUSSÃO

1. O que ocorreu com os moldes de gesso?
2. Como explicar os resultados obtidos?
3. Se tivessem sido usadas sementes embebidas em lugar de secas, os resultados seriam os mesmos? Por que?

ATIVIDADE DAS ENZIMAS α e β AMILASES NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

INTRODUÇÃO

O amido é uma das principais reservas das sementes e representa uma importante fonte de energia para a retomada de crescimento do embrião durante o processo da germinação.

Por se encontrar, como as demais reservas, sob forma insolúvel, o amido precisa ser hidrolisado e, assim, tornar-se disponível para o embrião. A hidrólise pode ocorrer pelas vias fosforolítica e hidrolítica, esta última caracterizada pela participação das hidrolases (α e β -amilases).

OBJETIVO

Avaliar a reativação metabólica do embrião a partir da degradação do amido.

MATERIAL

- 4 placas de Petri;
- 12 sementes de milho (4 secas e 8 embebidas);
- 1g de ágar;
- 0,6g de amido;
- Béquer de 250 mL;
- Etiquetas;
- Lâmina de barbear;
- Lugol (iodeto de potássio (KI) 10g, iodo (I_3): 5g e água destilada: 100 mL);
- Pipeta e bastão de vidro;
- Fogareiro ou chapa aquecedora;

PROCEDIMENTO

PARTE I

1. Etiqueta cada placa com as seguintes indicações:
 - a) sementes embebidas;
 - b) sementes secas;
 - c) sementes embebidas e fervidas;
 - d) controle.

2. Ponha em um béquer 80mL de água, o ágar e o amido. Ferva esta mistura;
3. Distribua, igualmente, nas 4 placas de Petri a mistura de amido e ágar ainda quente. Deixar a mistura esfriar para solidificar;
4. Corte, com a lâmina de barbear, 4 sementes secas e 8 embebidas, ao longo do comprimento, e utilize apenas uma das metades;
5. Ferva, por 20 minutos, 4 das sementes embebidas;
6. Distribua as sementes conforme a seguinte orientação: na placa com indicação “sementes secas”, coloque as metades dessas com as faces cortadas em contato com o ágar. Cuidado para que as sementes não fiquem muito próximas umas das outras;
7. Faça o mesmo com as sementes embebidas e com as sementes fervidas;
8. Na placa com indicação “controle”, não coloque sementes;
9. Cubra cada uma das placas, deixando-as em local pouco iluminado, à temperatura ambiente, por 48h.

PARTE II

1. Retire as sementes de uma das placas;
2. Goteje lugol sobre a superfície do ágar de modo a cobri-la totalmente;
3. Espere alguns segundos e escorra o excesso de lugol;
4. Repita este procedimento para as demais placas, inclusive a controle;
5. Compare a superfície do ágar da placa controle com as demais placas.

DISCUSSÃO

1. Qual a finalidade da placa controle?
2. Após a colocação do lugol, foram evidenciadas modificações na região do ágar em contato com as sementes? Quais?
3. Como se justificam essas modificações nas regiões onde estavam as sementes?
4. Qual o papel da embebição na ativação das enzimas necessárias à germinação?
5. Quais enzimas estão envolvidas no processo de hidrólise do amido à glicose?
6. Qual a importância do amido de reserva da semente para o desenvolvimento inicial da plântula?

INTRODUÇÃO

Certas sementes requerem exposição prévia a uma temperatura crítica, para que possam superar a dormência. Esse tratamento com baixas temperaturas é denominado **Estratificação** e durante o mesmo ocorrem alterações fisiológicas e metabólicas que resultam na germinação da semente.

Este tipo de dormência tem sido, com frequência, associado à presença de inibidores da germinação no embrião. É provável que durante a estratificação ocorram alterações na relação entre inibidores-promotores, com redução nos níveis dos primeiros, possibilitando assim a retomada de crescimento do embrião.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da baixa temperatura sobre a germinação de sementes.

MATERIAL

- Sementes de alface (*Lactuca sativa L*) e melancia (*Citrullus sp.*);
- Placas de Petri;
- Algodão ou papel de filtro;
- Pinça.

PROCEDIMENTO

Parte I - Estratificação

1. Forre uma placa de petri com algodão ou papel de filtro, umedeça e distribua 50 sementes de alface. Tampe a placa e cubra-a com filme pvc e mantenha a 5°C por 48 h;
2. Repita o procedimento com sementes de melancia.

Parte II - Germinação

Prepare 8 placas de Petri forradas com algodão umedecido, etiquetando-as conforme a orientação a seguir:

1. AE/30°C (25 sementes de alface estratificadas) e AE/15°C (25 sementes de alface estratificadas);
2. ANE/30°C (25 sementes de alface não estratificadas) e ANE/15°C (25 sementes de alface não estratificadas);

3. ME/30°C (25 sementes de melancia estratificadas) e ME/15°C (25 sementes de melancia estratificadas);
4. MNE/30°C (25 sementes de melancia não estratificadas) e MNE/15°C (25 sementes de melancia não estratificadas).

OBS.: Coloque as placas nas temperaturas indicadas e, após 5-7 dias, conte o número de sementes germinadas, anotando em uma tabela.

DISCUSSÃO

1. Como se comportaram as sementes após a estratificação?
2. A resposta das sementes era esperada?
3. Como atua a estratificação na promoção da germinação?

Roteiro adaptado do Manual BIB – 201. *Fisiologia Vegetal*. Depto. de Botânica, Instituto de Biociências, USP, 1994.

EFEITO DA ESCARIFICAÇÃO NA GEMINAÇÃO DE SEMENTES

INTRODUÇÃO

Em certas sementes, a causa da dormência está no tegumento, por ser o mesmo impermeável à entrada da água e/ou troca de gases, ou ainda por se apresentar excessivamente resistente. Nesses casos, a escarificação mostra-se como um eficiente método para quebrar ou superar a dormência.

OBJETIVO

Avaliar três tipos de escarificação e demonstrar a importância desse método na germinação de sementes.

MATERIAL

- Sementes de *Adenantha pavonina* L (carolina, olho de pavão ou falso sândalo), *Erythrina speciosa* Andr, *Delonix regia* (Boj.) Raff (flamboyant), *Leucaena leucocephala* L (leucena), *Pterodon* sp (sucupira), dentre outras;
- Lixa de papel, papel de filtro ou algodão;
- Água destilada, béquer e placas de Petri (05).

1. Escarificação física ou com abrasivo:

- Forrar a placa de Petri com folha de papel de filtro ou simplesmente algodão umedecido com água destilada;
- Lixar 05 sementes de cada espécie lateralmente e distribuí-las na placa etiquetada;
- Na outra placa (controle) distribuir também 05 sementes não esscarificadas de cada espécie.

2. Escarificação química:

- Colocar ácido sulfúrico concentrado em um béquer;
- Mergulhar 05 sementes de cada espécie no ácido por 10 minutos;
- Decantar numa pia e lavar em água corrente por 20-30 minutos;
- Distribuir sementes tratadas e não tratadas, separadamente, em 2 placas forradas com papel de filtro ou algodão e umedecidas;
- Observar a germinação das sementes após 5 dias.

3. Escarificação com água fervente

- Manter água fervente em um béquer. Mergulhar 05 sementes de cada espécie por 1 minuto, no máximo.
- Distribuir as sementes fervidas e não fervidas em placas separadas e etiquetadas.

DISCUSSÃO

1. Defina os termos **dormência** e **qüiescência**.
2. A partir dos resultados obtidos, pode-se afirmar que as sementes usadas estavam dormentes? Por que?
3. Os métodos utilizados mostraram-se eficientes? E na natureza, como a dormência pode ser quebrada?
4. Quando o embrião é a sede da dormência, como proceder?

INTRODUÇÃO

A etapa inicial da germinação de uma semente quiescente envolve a absorção de água, processo este denominado de EMBEBIÇÃO.

A embebição é um processo físico relacionado com as propriedades dos colóides. Assim, ocorre independente de a semente estar viva ou não. Durante a embebição, moléculas de água interagem com as superfícies sólidas, resultando numa diminuição da energia livre da água no sistema, que resulta na liberação de calor.

Vários fatores interferem na velocidade deste processo e a temperatura é um deles. Temperaturas mais altas causam embebição mais rápida, vez que alteram a viscosidade e a energia cinética da água.

OBJETIVO

Observar a variação da temperatura quando da hidratação do amido.

MATERIAL

- Amido desidratado;
- Água quente e fria;
- Tubo de ensaio grande;
- Proveta de 5mL ou pipeta graduada de 5mL;
- Termômetro;
- Espátula e béquer.

PROCEDIMENTO

1. No tubo de ensaio, coloque uma camada de amido de milho (previamente desidratado e guardado em dessecador) de 2 a 3 cm de altura;
2. Mergulhe o bulbo de um termômetro na massa de amido e anote a temperatura;
3. Em um bequer à parte, misture água quente e fria até que se obtenha a mesma temperatura do amido;
4. Adicione ao amido cerca de 3mL desta água e observe imediatamente a variação de temperatura;
5. Observe até que a temperatura atinja o máximo.

1. Defina embebição e mencione as suas características;
2. Como justificar o aumento da temperatura do amido ao desidratado?
3. Se o amido usado já estivesse hidratado, o efeito sobre a temperatura seria o mesmo observado para o amido desidratado?

Roteiro adaptado do *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*. Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

EFEITO DA LUZ NA GERMINAÇÃO

INTRODUÇÃO

De modo geral, as sementes germinam independentes da luz e por isso são classificadas como Fotoblásticas Neutras. No entanto, algumas sementes requerem a presença da luz (**Fotoblásticas positivas**) ou a ausência da mesma (**Fotoblásticas negativas**) para germinarem e o fitocromo é o fotorreceptor envolvido no processo.

OBJETIVO

Avaliar o efeito dos comprimentos de onda vermelho curto (660nm) e vermelho longo (730nm) na germinação do maxixe.

MATERIAL

- Sementes de maxixe;
- Béquer, algodão;
- Placas de Petri;
- Papel de filtro, pinças e etiquetas.

PROCEDIMENTO

1. Etiqueta 04 placas de Petri com as seguintes indicações:
 - Luz fluorescente branca contínua;
 - Escuro contínuo;
 - Vermelho curto contínuo - VC;
 - Vermelho longo contínuo - VL;

2. Forre as 04 placas de Petri, já devidamente etiquetadas, com algodão ou papel de filtro e umedeça bem com água destilada;
3. Distribua 10 sementes por placa;
4. Submeta cada placa aos respectivos tratamentos:
 - Controle 1: mantenha as placas sob luz constante;
 - Controle 2: cubra as placas sem as tampas com plástico preto ou com papel alumínio de preferência;
 - Vermelho Curto contínuo: cubra as placas com sacos feitos com 2 folhas de papel celofane vermelho;
 - Vermelho Longo contínuo: cubra as placas sem as tampas com sacos feitos com 2 folhas de celofane vermelho e 2 folhas de celofane azul;
5. Disponha o ensaio sobre uma bancada, de modo que fique exposto à luz contínua. Após 5 dias, efetuar a contagem das sementes germinadas.

OBS.: No tratamento escuro contínuo, as placas devem ser cobertas com papel alumínio ou plástico preto espesso ou colocadas em uma câmara escura.

Os tratamentos vermelho curto (VC) e vermelho longo (VL) serão simulados com o uso de saco feitos com papel celofane vermelho para o primeiro (VC) e celofane vermelho e azul para o segundo (VL), seguindo Fellipe *et al.* (1983).

DISCUSSÃO

1. Como classificar a semente usada quanto ao fotoblastismo?
2. Caracterize a ação do fitocromo no processo de germinação.
3. Justifique a utilização dos tratamentos vermelho curto contínuo e vermelho longo contínuo.

- FELIPPE, G.M.; VALIO, I.F.M.; PEREIRA, M.F.A.; SHARIF, R.R.; VIEIRA, S.R. *Fisiologia do desenvolvimento vegetal*. Rio de Janeiro: Ed. Campus, 1983. 66p.
- FOSKET, D.E. *Plant growth and development*. San Diego, California: Academic Press, Inc., 1994. 580p.
- MAYER, G.E. & MAYBER – POLJAKOFF. *The germination of seeds*. London: Pergamon, 1989. 270p.
- POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 1977.
- ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: Universidade Federal da Bahia, 1972. 165p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*. Depto. de Fisiologia Vegetal, Viçosa, 1994.
- UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. *Curso Prático de Fisiologia Vegetal*. Departamento de Botânica, Inst. de Biociências, 1994. 43p.

DESENVOLVIMENTO

INTRODUÇÃO

O crescimento é uma das características fundamentais dos seres vivos e pode ser definido como um aumento irreversível de massa, volume ou peso de uma célula, órgão ou organismo. Externamente, ele se manifesta por um aumento de volume.

Para a sua caracterização ou quantificação existem vários indicadores, dentre os quais: peso fresco, peso seco, comprimento e também área foliar que será objeto deste exercício prático.

OBJETIVO

Utilizar o parâmetro área foliar como medida de crescimento, numa condição de simulação.

MATERIAL

- Tesoura;
- Régua;
- Lápis e borracha;
- Papel p/ recorte;
- Ramo vegetal;
- Balança.

PROCEDIMENTO

1. Colete 01 ramo vegetal com várias folhas, evitando aquelas com bordos irregulares;
2. Risque, em um papel, um quadrado com as seguintes dimensões: 10 x 10cm; Recorte e pese;
3. Destaque as folhas, uma a uma; coloque-as sobre o papel e em seguida, contorne-as. Feitos os moldes das folhas, numere-os de acordo com a posição de cada folha no ramo.
4. Recorte cada decalque e pese-os separadamente, anotando os respectivos pesos;
5. Coloque os dados numa tabela e em seguida calcule a área foliar;
6. Elabore um gráfico utilizando os dados de área foliar, número da folha.

OBS.: O trabalho poderá ser desenvolvido em equipe, de 3 a 4 componentes, podendo cada grupo trabalhar com uma espécie vegetal.

DISCUSSÃO

1. Qual o objetivo do quadrado?
2. Por que foram pesados os recortes e não as folhas?
3. Correlacione a posição da folha no ramo, sua área foliar e também a sua idade. O que poderá ser concluído?

Fonte: Roteiro adaptado de ROCHA Z.M.M.;SILVA,C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: UFBA, 1972.

DETERMINAÇÃO DA BIOMASSA DE ÓRGÃOS VEGETAIS

INTRODUÇÃO

No processo de desenvolvimento de uma planta, as alterações de tamanho e de massa são definidas como **crescimento** enquanto as alterações na forma e estrutura, caracterizam a **morfogênese**.

O crescimento se manifesta por um constante aumento de tamanho e pode ser avaliado de diversas maneiras. Por ser difícil medir diretamente o aumento de protoplasma, é comum medir-se alguma quantidade que seja mais ou menos proporcional a ele, a exemplo da biomassa fresca, biomassa seca, comprimento, dentre outros.

OBJETIVO

Utilizar o parâmetro biomassa como medida de crescimento num contexto de simulação.

MATERIAL

- Folhas;
- Sacos plásticos;
- Sacos de papel;
- Tesoura;
- Balança;
- Estufa.

PROCEDIMENTO

29

1. Etiquete cada saco plástico e cada saco de papel com as indicações do material vegetal a ser coletado (folhas jovens, folhas maduras, folhas de sol, folhas de sombra, folhas, frutos etc.);
2. Colete o material vegetal, colocando-o imediatamente nos sacos plásticos, especialmente se o local de coleta for distante da sala de aula. Em caso contrário, pode-se dispensar o uso de sacos plásticos;
3. Retire do saco plástico e pese o material para determinar a biomassa fresca do mesmo;
4. Transfira o material para os sacos de papel já etiquetados (se necessário, cortar o material vegetal em pedaços pequenos). É aconselhável fazer alguns cortes/furos nos sacos;
5. Levar à estufa a 65°C até a obtenção de peso constante;
6. Retire os sacos da estufa e pese-os para determinar a biomassa seca do lote de material vegetal.

TABELA I – BIOMASSA FRESCA E SECA DE ÓRGÃOS VEGETAIS

| Planta | Órgão vegetal | B. Fresca | | B. Seca | |
|--------|---------------|-----------|-----|---------|-----|
| | | (g) | (%) | (g) | (%) |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

DISCUSSÃO

1. Compare os parâmetros biomassa fresca e biomassa seca quanto à precisão enquanto indicadores de crescimento.
2. Por que é importante que a biomassa seca somente seja determinada após a confirmação do peso constante?
3. Por que se deve colocar o material coletado em sacos plásticos?

INTRODUÇÃO

O crescimento é o aumento irreversível de tamanho e que, freqüentemente, conduz a um aumento de material seco.

As plantas, diferentemente dos animais, não crescem como um todo, mas apresentam zonas ou áreas específicas de crescimento, denominadas **meristemas**. Nos ápices dos caules e das raízes localizam-se os dois grandes meristemas primários, responsáveis pelo crescimento em altura dos vegetais.

OBJETIVO

Observar o crescimento inicial da raiz, resultante da atividade do meristema apical.

MATERIAL

- 3 sementes de milho em germinação com radículas retas medindo de 3 a 4cm de comprimento (aproximadamente 72h após a embebição);
- Espuma de nylon recortada em retângulo de 10 x 15cm;
- Béquer de 500mL ou de 1000mL, alfinetes entomológicos;
- Caneta nanquim, régua;
- Lâmina definitiva de tecido meristemático e microscópio.

PROCEDIMENTO

1. Selecione 03 sementes com radículas bem uniformes. Coloque-as sobre a bancada e com papel toalha remova, cuidadosamente, o excesso de umidade. Meça as radículas e anote;
2. Marque, com nanquim, 02 das três radículas a intervalos de 2mm de uma extremidade a outra. Faça a marcação de modo rápido e com muito cuidado para não danificar o órgão. A terceira radícula será o controle; Pode-se substituir o nanquim por caneta de retroprojeter. Mas, não esqueça de secar bem as radículas para não manchar a marcação;
3. Perfure o endosperma de cada uma das sementes com um alfinete e, em seguida, fixe-as na espuma de nylon, com as radículas em posição vertical e direcionadas para baixo;

4. Coloque, verticalmente, a espuma de nylon com as sementes em um béquer contendo um pouco de água. Tampe com uma placa de Petri;
5. Mantenha o bequer em local pouco iluminado, por um período de 24 a 48 horas;
6. Após esse período, meça novamente as radículas, observando os espaços em que se verificou maior crescimento;
7. Observe agora uma lâmina com meristema de raiz, atentando para a forma das células. Localize a zona meristemática e aquela acima da mesma;
8. Compare essa zona de crescimento com aquela de maior crescimento, evidenciada na radícula de milho a partir da marcação com nanquim.

DISCUSSÃO

1. O que a marcação de nanquim evidenciou em termos de crescimento?
2. Por que a radícula controle não foi marcada?
3. O que ficou comprovado com a radícula controle?
4. Caracterize as etapas de crescimento celular.
5. Como se dá a ação dos hormônios vegetais sobre o crescimento celular?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: UFBA, 1972.

GRAVITROPISMO DE RAIZ

INTRODUÇÃO

Tropismos são movimentos apresentados pelas plantas causados por crescimento desigual em resposta a um fator ambiental, a exemplo de: luz, temperatura, gravidade, dentre outros. A Auxina é o hormônio responsável por esse efeito fisiológico.

OBJETIVO

Avaliar a resposta gravitrópica positiva da raiz.

MATERIAL

- 6 grãos de milho em germinação com radículas retas medindo de 2 a 3cm de comprimento (aproximadamente 72h após a embebição);
- Esponja de nylon cortada em retângulos de 10x15cm, aproximadamente;
- Alfinetes entomológicos;
- Béquero de 1000mL e placa de Petri tamanho grande;
- Lâmina de barbear ou estilete.

PROCEDIMENTO

1. Corte o ápice da radícula de 03 grãos de milho em germinação, deixando os outros 03 intactos;
2. Marque com nanquim os grãos cortados para destacá-los dos demais;
3. Perfure cada grão com um alfinete entomológico. Com cuidado, faça o alfinete atravessar o endosperma, não atingindo o embrião;
4. Fixe-os na esponja, de maneira que 02 fiquem com o ápice voltado para cima, 02 para o lado e 02 para baixo;
5. Coloque a esponja no béquer contendo um pouco de água e em seguida tampe-o com uma placa de Petri;
6. Observe o comportamento das radículas após 48h.

DISCUSSÃO

1. Caracterize o comportamento das radículas;
2. Identifique o efeito fisiológico observado, mencionando o hormônio vegetal responsável pelo mesmo;
3. Como esse hormônio induz o gravitropismo;
4. Por que a remoção do ápice anula a resposta gravitrópica da raiz?

INTRODUÇÃO

Os tropismos são movimentos por crescimento em resposta a um fator ambiental unidirecional (luz, gravidade, água etc.). O gravitropismo, como todos os tropismos, é um crescimento diferencial causado por uma redistribuição da auxina, e que tem como fator desencadeador a gravidade.

OBJETIVO

Observar o gravitropismo de caule.

MATERIAL

- Ramos com 15-20cm de comprimento, aproximadamente, de bem-me-quer (*Wedelia* sp);
- 3 tubos de ensaio;
- 1 suporte universal;
- Algodão;
- Parafina sólida;
- Espátula e chapa aquecedora.

PROCEDIMENTO

1. Coloque água nos tubos de ensaio, sem enchê-los completamente;
2. Introduza um ramo em cada tubo de ensaio;
3. Coloque algodão como tampa, envolvendo o ramo;
4. Derreta parafina e impermeabilize o algodão para garantir a sua eficiência como tampa. Cuidado para não atingir o ramo com a parafina quente; Se preferir, substitua o algodão com parafina por rolhas perfuradas e utilize algodão envolvido em filtro transparente para a vedação;
5. Repita o procedimento para os ramos restantes;
6. Prenda os tubos no suporte universal, nas 03 seguintes posições: raízes orientadas para cima, para baixo e dispostas horizontalmente;
7. Deixe o conjunto em local iluminado, por 24-48 horas;
8. Observe os resultados, anotando-os.

1. Qual o comportamento apresentado pelos ramos?
2. A que se deve o comportamento observado?
3. Qual a participação da auxina no efeito fisiológico observado?
4. Mencione outros tipos de tropismo

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: UFBA, 1972

EFEITO DA CITOCININA 6BA SOBRE A SENESCÊNCIA DE FOLHAS DESTACADAS

INTRODUÇÃO

A senescência é um processo de degeneração progressiva e morte de um órgão ou do próprio organismo, no caso, as plantas anuais ou bianuais. É o que, comumente, se reconhece como o envelhecimento natural de órgãos e/ou organismos.

Quando ocorre nas folhas, a senescência comumente se expressa pelo aparecimento de clorose (perda de clorofila) e, em seguida, necrose (morte do tecido). A ação do Etileno é decisiva para desencadear este processo. No entanto, tem-se observado que essa ação pode ser antagonizada pela citocinina.

OBJETIVO

Avaliar a ação da 6-Benziladenina na senescência foliar.

MATERIAL

- Folha de *Crysanthemum sp* ou de *Wedelia sp* (Bem-me-quer)
- Placas de Petri, papel de filtro, bastão de vidro, balança semi-analítica
- Solução de 6-Benziladenina (10mg/L)

1. Forre com algodão ou papel de filtro 02 placas de Petri;
2. Etiquete as placas com as indicações: Controle e 6BA;
3. Prepare a solução de 6BA na proporção indicada;
4. Umedeça com solução de 6-benziladenina a placa correspondente e com água destilada a placa controle;
5. Selecione 3 a 4 folhas maduras e verdes, de preferência localizadas na parte inferior do caule, e coloque-as em cada uma das placas;
6. Acompanhe o experimento por 5 a 7 dias.

OBS.: a quantidade de água ou da solução 6BA nas placas deve ser verificada diariamente.

DISCUSSÃO

1. Como se comportaram as folhas nos 2 tratamentos?
2. Como explicar o efeito fisiológico observado, caracterizando a ação do 6BA.
3. Quais os hormônios envolvidos no processo de senescência e como se dá a ação dos mesmos?

Roteiro adaptado do Manual BIB 201, *Fisiologia Vegetal*. Deptº de Botânica/ Instituto de Biociências. USP, 1994.

EFEITO DO HORMÔNIO ETILENO SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE PLÂNTULAS DE FEIJÃO

INTRODUÇÃO

O Etileno (C_2H_4) é um hidrocarboneto insaturado que se apresenta sob forma gasosa nas condições fisiológicas de temperatura e pressão. Por ser um produto natural do metabolismo vegetal, mesmo sendo um gás, é considerado um hormônio vegetal, estando relacionado com vários processos fisiológicos, dentre os quais amadurecimento de frutos carnosos, abscisão foliar, formação de raízes adventícias, epinastia e gancho plumular.

Hidrocarbonetos similares ao etileno, a exemplo do acetileno, quando administrados em altas doses, podem induzir efeitos fisiológicos similares aos do etileno, ainda que não sejam hormônios.

OBJETIVO

Avaliar o efeito do etileno e do seu análogo, o acetileno, sobre o desenvolvimento inicial do feijão.

MATERIAL

- Sementes hidratadas de feijão (*Phaseolus vulgaris* L);
- Terra vegetal;
- Fruta em maturação (banana);
- 06 garrafas tipo peti (2 L);
- Carbureto (dois pedaços pequenos);
- Sacos plásticos e filme pvc;
- Copos plásticos de 200mL ou vasos;
- Fita crepe;
- Béquer pequeno;
- Campânula de vidro.

PROCEDIMENTO

1. Tome 6 garrafas transparentes (tipo peti) e corte a extremidade superior logo abaixo da região de estreitamento;
2. Tome 6 copos/vasos plásticos, coloque terra vegetal ou solo até a metade e umedeça adequadamente. Distribua 5 sementes de feijão, previamente embebidas, em cada;
3. Tome 2 desses copos/vasos e coloque, separadamente, dentro de 2 garrafas peti, que servirão como campânulas. Cubra as superfícies abertas com plástico, prendendo-o com a fita crepe. Coloque as etiquetas: controle/luz e controle/escuro;
4. Tome mais 2 copos/vasos e coloque, juntamente com as bananas, em cada uma das garrafas peti. Cubra as superfícies abertas com plástico, prendendo-o com a fita crepe. Coloque as etiquetas: etileno/luz e etileno/escuro;
5. Os 2 copos/vasos restantes serão colocados em campânulas ou outro vasilhame de vidro transparente, onde também se colocará o carbureto (uma pedrinha dentro de um béquer pequeno). Cubra as superfícies abertas com filme pvc e coloque as etiquetas: acetileno/luz e acetileno/escuro;
6. Disponha os tratamentos que exigem “escuro” em uma câmara ou armário, e aqueles que exigem luz, sobre a bancada, mantendo-se o ambiente permanentemente iluminado;
7. Observar por 5 a 7 dias e concluir.

1. Avalie o comportamento das plântulas nos diferentes tratamentos;
2. Qual a função da fruta em processo de maturação?
3. Qual a relação entre etileno e escuro?
4. Defina gancho plumular e explique a ação do etileno sobre o mesmo;
5. Justifique o uso do carbureto;
6. Caracterize a ação do etileno e acetileno sobre o desenvolvimento do feijão, a partir dos efeitos fisiológicos induzidos.

Roteiro adaptado do Manual BIB 201, *Fisiologia Vegetal*, Depto. de Botânica, Instituto de Biociências, USP, 1994.

EFEITO DA GIBERELINA SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE GEMAS EM TUBÉRCULOS

INTRODUÇÃO

As Giberelinas são diterpenos ácidos, de ocorrência geral nas plantas. Estão envolvidas em vários efeitos fisiológicos, a exemplo de: crescimento celular, hiperalongamento do caule, germinação e quebra de dormência de sementes, mobilização das reservas do endosperma no desenvolvimento do embrião, floração e desenvolvimento do fruto.

OBJETIVO

Observar a ação da giberelina no desenvolvimento de gemas.

MATERIAL

- Tubérculos de batata (*Solanum tuberosum* L);
- Placas de Petri;
- Béqueres de 300 mL (2);
- Solução de ácido giberélico (GA_3) - 34,63 mg/L.

1. Prepare a solução de GA_3 , conforme indicado;
2. Separe 8 tubérculos de batatinha de tamanhos equivalentes. Conte o número de “olhos” (reentrâncias com gemas) de cada um e anote em uma tabela;
3. Coloque 2 tubérculos na solução de ácido giberélico, por 1 minuto, e 2 tubérculos, por 5 minutos;
4. Coloque os outros 4 tubérculos em água. Retire 2 após 1 minuto, e os outros 2, após 5 minutos.;
5. Etiquete 4 placas de Petri com as seguintes indicações: 1. Tubérculo + GIB (1'); 2. Tubérculo + GIB (5'); 3. Tubérculo + água (1'); e 4. Tubérculo + água (5');
6. Transfira os tubérculos para as placas correspondentes, colocando-as próximas a uma fonte de luz natural;
7. Observe durante 2 semanas;
8. Elabore uma tabela e coloque os dados. Calcule o percentual de gemas desenvolvidas.

DISCUSSÃO

1. Como se comportaram as gemas dos tubérculos tratados e não tratados?
2. Justifique a resposta dada.

Roteiro adaptado do Manual BIB 201, *Fisiologia Vegetal* – Depto de Botânica, Instituto de Biociências, USP, 1994.

INTERAÇÃO ABA/GA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES

INTRODUÇÃO

No desenvolvimento da semente há significativa alteração nos níveis dos hormônios. Na maioria das espécies, nos estádios iniciais de desenvolvimento do embrião, os níveis de Citocinina, Auxina e Giberelina se mostram mais altos, e os de ABA, baixos. Ao final da embriogênese, os níveis destes hormônios declinam e, em contrapartida, os níveis de ABA se elevam.

Na germinação, a giberelina é necessária para a degradação das reservas. Em cevada e em outros cereais, enquanto a giberelina promove a ativação da maioria das hidrolases, especialmente α -amilase, o ABA age de modo inverso, inibindo a biossíntese desta enzima.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da interação ABA/GA₃ na germinação de sementes de maxixe, pepino e/ou alface.

MATERIAL

- Sementes da espécie escolhida;
- Placas de Petri;
- Papel de filtro e algodão;
- Béqueres de 100mL (04), bastão de vidro;
- Água destilada;
- Fita crepe ou etiquetas;
- Soluções de ABA a 26,43 mg/L e de GA₃ a 34,63 mg/L.

PROCEDIMENTO

1. Prepare as soluções nas concentrações indicadas;
2. Forre 04 placas de Petri com algodão e/ou papel de filtro e etiquete com as seguintes indicações:
 - Placa 1 – ABA
 - Placa 2 – GA₃
 - Placa 3 – ABA + GA₃
 - Placa 4 – Água;
3. Umedeça as placas conforme as indicações acima;
4. Distribua 30 sementes da espécie escolhida em cada placa;
5. Observe a germinação após 5-7 dias.

DISCUSSÃO

1. Explique os resultados obtidos;
2. Caracterize a ação dos hormônios GIB e ABA na germinação destas sementes.

Roteiro adaptado de Felipe, G. M. *Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal*. Rio de Janeiro: Campus, 1983.

INTRODUÇÃO

A importância da luz para as plantas não se limita à captação e transdução da energia para a fotossíntese, mas também à sua influência no desenvolvimento do vegetal. Os efeitos formativos da luz são denominados de Fotomorfogênese, estando mediados pelo Fitocromo. Dentre os processos fisiológicos controlados por este pigmento, acham-se: germinação, floração, crescimento de cotilédones, desenvolvimento de plântulas e outros.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da luz sobre o desenvolvimento de plântulas de milho (*Zea mays*, L), feijão (*Phaseolus vulgaris*, L), mostarda (*Sinapsis alba*, L.); alface (*Lactuca sativa*, L)

MATERIAL

- Sementes da espécie escolhida;
- Placas de Petri;
- Papel de filtro;
- Béquer;
- Água destilada;
- Algodão.

PROCEDIMENTO

1. Forre 03 placas de Petri com algodão e/ou papel de filtro;
2. Distribua 10 sementes, por placa, da espécie escolhida;
3. Umedeça as placas com água destilada;
4. Coloque as placas de Petri sob as seguintes condições luminosas:
 - placa 1 – luz fluorescente contínua;
 - placa 2 – luz de comprimento de onda de 730 nm (vermelho longo);
 - placa 3 – escuro;
5. Observe o desenvolvimento das plântulas após 5-7 dias.

OBS.: Para obtenção de vermelho longo, cobrir as placas com sacos feitos com duas folhas de papel celofane azul e duas vermelho (FELIPPE *et al.*, 1983). Para condição de escuro, usar papel alumínio ou câmara escura.

1. Como explicar os resultados obtidos?
2. Cite 03 efeitos formativos da luz apresentados pelas plântulas;
3. Os efeitos acima mencionados podem ser atribuídos à fotossíntese?
4. Por que se usou o vermelho externo e não o vermelho curto?

Roteiro adaptado de Felipe, G. M. *Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal*. Rio de Janeiro: Campus, 1983.

INFLUÊNCIA DA LUZ NO CRESCIMENTO DE GEMAS DE BATATINHA (*SOLANUM TUBEROSUM* L.)

INDICAÇÃO

A vida da Terra depende basicamente da luz, tanto como fonte de energia na fotossíntese, como regulando o desenvolvimento do vegetal. Processos morfogênicos como germinação e floração são exemplos do efeito formativo da luz no desenvolvimento da planta (Fotomorfogênese). O pigmento envolvido com esse processo é o Fitocromo, uma cromoproteína solúvel em água e de ampla ocorrência no reino vegetal.

OBJETIVO

Observar o efeito morfogenético da luz no desenvolvimento inicial da batatinha.

MATERIAL

- Tubérculo de batata;
- Vaso ou copo plástico;
- Areia úmida.

1. Corte um tubérculo de batatinha em duas metades, atentando para que fiquem com o mesmo número de gemas;
2. Transfira cada metade para um vaso/copo com areia úmida;
3. Numere os vasos/copos com: 1-Luz Natural e 2-Escuro. Coloque-os sob as condições indicadas, lembrando que o vaso 1 deverá ficar próximo a uma janela. O vaso 2 poderá ser colocado dentro de um armário ou câmara escura;
4. Observe o desenvolvimento das gemas (brotação) após 21 dias.

DISCUSSÃO

1. Caracterize os aspectos dos tubérculos crescidos sob luz e no escuro;
2. Como se justificam as diferenças observadas?
3. Comente sobre a ação do fitocromo no processo.

Roteiro adaptado de Felipe, G. M. *Fisiologia do Desenvolvimento Vegetal*. Rio de Janeiro: Campus, 1983.

OBSERVAÇÃO DO FENÔMENO DA POLARIDADE EM ESTACAS HERBÁCEAS

INTRODUÇÃO

Os vegetais exibem uma forma característica representada por um eixo longitudinal, cujas extremidades são completamente diferentes, e que serve de suporte aos órgãos laterais, como as folhas e frutos.

A polaridade do eixo longitudinal se estabelece desde a primeira divisão do zigoto e persiste por toda a vida da planta. É inerente aos tecidos e não depende da luz, gravidade ou outra condição externa.

Observar o fenômeno da polaridade em estacas, a partir da emissão de raízes adventícias e de gemas.

MATERIAL

- Estacas de *Coleus* (cróton) ou de Mimo-de-Vênus (*Antigonum* sp)
- Copos e sacos plásticos

PROCEDIMENTO

1. Selecione 10 estacas de 10-15cm de comprimento;
2. Coloque metade das estacas em um copo plástico, contendo um pouco d'água, com o ápice morfológico voltado para cima, e a outra metade, com o ápice morfológico para baixo. Marque as estacas de modo a distingui-las;
3. Cubra o copo com saco plástico ou coloque-o num béquer grande contendo um pouco d'água e com uma das suas paredes laterais revestida com um papel absorvente ou algodão, a fim de evitar o dessecação;
4. Observe os resultados durante 2-3 semanas.

DISCUSSÃO

1. O que é polaridade?
2. O que se observou, em termos de morfogênese, nas estacas com ápices para cima e naquelas invertidas? Como explicar essas respostas?

Roteiro adaptado do *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*. Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

FORMAÇÃO DE RAÍZES E GEMAS ADVENTÍCIAS EM FOLHAS DA FORTUNA (*BRYOPHYLLUM CALLICINUM*)

INTRODUÇÃO

Em algumas espécies vegetais, a exemplo da *Bryophyllum callicinum*, conhecida como folha da fortuna, é comum observar-se o aparecimento de plântulas ou mudas ao longo das margens das folhas a partir das gemas aí situadas. Este fenômeno é conhecido como epifilia e resulta da ação balanceada dos hormônios auxina e citocinina.

OBJETIVO

Observar o fenômeno da epifilia.

MATERIAL

- 6 Folhas de fortuna (*Bryophyllum callicinum*), de tamanho e forma comparáveis;
- Placas de Petri (06);
- Etiquetas e tesoura.

PROCEDIMENTO

1. Coloque areia lavada em 6 placas de Petri e umedeça-as conforme a orientação que se segue:
 - placas 1 e 2 – água
 - placas 3 e 4 – solução de BA (10mg/L)
 - placas 5 e 6 – solução de AIB (10mg/L)
2. Separe 3 folhas inteiras e coloque-as nas placas 1, 3 e 5;
3. Corte as três folhas restantes em pedaços, de tal forma que fique uma reentrância da borda por pedaços e coloque-os nas placas 2, 4 e 6;
4. Durante 3 semanas, observe o número de reentrâncias que contém gemas e/ou raízes. Coloque os dados na tabela a seguir.

Tabela – Número de gemas e raízes nos diferentes tratamentos

| | ÁGUA | | BA | | AIB | |
|-------------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| | Gemas | Raízes | Gemas | Raízes | Gemas | Raízes |
| Folhas Inteiras | | | | | | |
| Folhas Recortadas | | | | | | |

DISCUSSÃO

1. Analise os resultados obtidos com base na % de formação de gemas;
2. Compare a formação das gemas nos tratamentos que utilizaram folhas inteiras;
3. Idem para as placas nas quais foram colocados os fragmentos das folhas.

Roteiro adaptado do Manual BIB-201, *Fisiologia Vegetal*, Depto. Botânica, Instituto de Biociências, USP, 1994.

FOSKET, D.E. *Plant Growth and Development*. Inc. San Diego, California: Academic Press, 1994. 580p.

HOOLEY, R. *Plant Growth Regulators*. New York: Chapman and Hall, 1986. 190p.

HOPKINS, W.G. *Introduction to Plant Physiology*. Inc. New York: John Wiley C. Sons, 1995. 464p.

ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: Univ. Federal da Bahia, 1972. 165p.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. *Plant Physiology*. Inc. California: W. PUBLISHING Company, 1992.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*. Insc. California: The Benjamin/Cummings Publishing company, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. trad. Eliane Romanato Santarém...[et al.]. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*, Depto. de Biologia Vegetal, Viçosa, 1994.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. *Curso Prático de Fisiologia Vegetal*, Departamento de Botânica, Inst. de Biociências, 1994. 43p.

RELAÇÕES HÍDRICAS

PERMEABILIDADE DA MEMBRANA CELULAR

INTRODUÇÃO

Ao se colocar uma célula numa solução qualquer, ela perderá ou ganhará água em resposta ao seu potencial de água (Ψ de água). Quando o seu Ψ é maior ou mais energético do que o da solução, a célula perderá água para o meio, contraindo o seu volume até separar-se da parede celular. Esse fenômeno é denominado de **Plasmólise**. Ao contrário, quando o Ψ da célula é mais negativo do que o da solução, ocorrerá uma entrada de água na mesma, levando-a à **Turgescência**.

Turgescência e Plasmólise são processos que decorrem justamente da propriedade de permeabilidade seletiva, característica das membranas celulares.

OBJETIVO

Observar os processos de Turgescência e Plasmólise em células de tecido vegetal.

MATERIAL

- Fragmentos de bulbo de cebola;
- Lâminas de barbear;
- Pincéis, pinças e conta-gotas;
- Béquer;
- Vidro de relógio;
- Lâminas e lamínulas;
- Água destilada, solução aquosa de Vermelho Neutro a 0,25% e solução de NaCl.

PROCEDIMENTO

1. Retire, descolando, um fragmento da epiderme interna de um bulbo de cebola;
2. Coloque esse fragmento sobre uma lâmina e goteje a solução de vermelho neutro;
3. Observe ao microscópio, atentando para a forma das células nessa CONDIÇÃO 1;
4. Prepare, em um béquer pequeno, uma solução concentrada de NaCl;

5. Substitua a solução de vermelho neutro da lâmina contendo o fragmento, pela de NaCl. Para isto, use o conta-gotas e goteje a solução de NaCl em uma das extremidades da lamínula, colocando uma tira de papel filtro na extremidade oposta;
6. Observe ao microscópio, acompanhando as alterações do volume celular e denomine o processo que se evidencia nessa CONDIÇÃO 2;
7. Substitua a solução de NaCl do fragmento por água destilada, procedendo como no item 5;
8. Observe mais uma vez ao microscópio, denominando o processo evidenciado nessa CONDIÇÃO 3.

DISCUSSÃO

1. O que se observa quanto ao movimento da água na CONDIÇÃO 2? Como definir a célula em tal estado?
2. O que ocorre ao substituir-se a solução salina por água destilada? Por que isto acontece?
3. Defina POTENCIAL DE ÁGUA e, a partir disso, atribua valores hipotéticos para célula e solução que justifiquem os movimentos da água observados nas CONDIÇÕES 2 e 3.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z. M.M., SILVA, C. P. *Manual de Fisiologia Vegetal*. Salvador: UFBA, 1972.

PERMEABILIDADE CELULAR

INTRODUÇÃO

As moléculas da água numa solução estão em contínuo movimento, colidindo umas com as outras e liberando energia cinética. Todo e qualquer movimento da água decorre da sua condição energética de realizar trabalho ou simplesmente do seu potencial de água (Ψ de água). A água fluirá sempre em resposta ao um $\Delta\Psi$ e esse fluxo será da condição mais energética para a menos energética.

Quando ocorre um movimento livre de partículas de uma região mais concentrada para uma região menos concentrada, dá-se o nome de Difusão. Caso essa difusão se dê através de uma membrana com permeabilidade seletiva, será denominada Osmose. Através da osmose, a célula poderá perder água para o meio em resposta a um $\Delta\Psi$, tornando-se **Plasmolisada** ou, ao contrário, poderá absorver água do meio, tornando-se **Túrgida**.

OBJETIVO

Verificar os processos de difusão, turgescência e plasmólise.

MATERIAL

- 04 Béqueres;
- Pedra de anil;
- Papel celofane, papel de filtro, barbante;
- Vareta de madeira;
- Placas de Petri;
- Lâminas e lamínulas;
- 02 Tubérculos de batata;
- NaCl (sal de cozinha);
- Glicerina.

PROCEDIMENTO

1. DIFUSÃO

- Coloque água até a metade de um béquer ou copo;
- Acrescente uma pedra de anil;
- Deixe em repouso por meia hora mais ou menos.

2. OSMOSE

- Corte um quadrado de celofane e coloque dentro um pedaço pequeno de anil;
- Amarre com um barbante formando um saquinho com a pedra de anil dentro;
- Amarre o saquinho na vareta de madeira;
- Suspenda o saquinho em um béquer ou copo com água, sem encontrar o fundo;
- Deixe em repouso até o dia seguinte;
- Descreva o resultado, justificando o fato observado.

3. PLASMÓLISE E DESPLASMÓLISE

- **Observação macroscópica:**

- Coloque em duas placas de Petri 30mL de água e acrescente na primeira placa um pouco de sal;
- Corte 2 fatias de batata e, em seguida, pese-as;
- Coloque as 2 fatias de batata nas placas e aguarde por 10 minutos;
- Retire as batatas, pese-as e depois verifique o volume de água. Compare os resultados e justifique corretamente.

- **Observação em nível celular:**

- Retire, através da técnica do rasgão, uma película transparente da epiderme de *Tradescantia sp* ou do bulbo de uma cebola;
- Coloque uma gota de água sobre a lâmina e depois o tecido vegetal cobrindo com uma lamínula. Retire o excesso de água com papel filtro;
- Examine o material ao MO no menor aumento. Registre em desenho no maior aumento;
- Com papel filtro, retire em uma das bordas a água e acrescente no lado oposto uma gota de glicerina ou de solução concentrada da NaCl;
- Observe e registre;
- Faça a troca da glicerina ou NaCl por água e registre.

DISCUSSÃO

1. Defina: Difusão e Osmose.
2. Que direção toma o fluxo de água quando se coloca a glicerina?
3. Como se apresentam as células após a introdução de glicerina?
4. É possível distinguir a membrana plasmática da parede celular?
5. O que ocorre quando se substitui a glicerina por água?

Roteiro adaptado da Apostila de aula prática. Universidade Federal de Santa Maria/RS, 1994.

EFEITO DA TEMPERATURA SOBRE A PERMEABILIDADE DAS MEMBRANAS CELULARES

INTRODUÇÃO

Uma importante propriedade das membranas celulares é a permeabilidade seletiva, em consequência do que algumas substâncias a atravessam facilmente, enquanto outras não. A água flui livremente, o que não acontece com os solutos.

O pigmento vermelho e hidrossolúvel da beterraba (*Beta vulgaris L*) pertence ao grupo das Betacianinas e apresenta como característica o fato de não atravessar a membrana plasmática, nem tampouco o tonoplasto, uma vez que essas estruturas mostram-se impermeáveis aos mesmos. Entretanto, determinados fatores podem alterar essa permeabilidade, dentre os quais a temperatura.

OBJETIVO

Avaliar o efeito da temperatura sobre a permeabilidade das membranas celulares.

MATERIAL

- Raízes de beterraba;
- Pinça;
- Faca ou bisturi;
- Papel toalha;
- 04 tubos de ensaio;
- Papel alumínio;
- Fogareiro;
- 03 Béqueres;
- Termômetro;
- Água destilada
- Pipetas;
- Suporte para tubos de ensaio;
- Placas de Petri.

1. Etiquete 4 tubos de ensaio com as indicações:
 - freezer (-10 a -20°C)
 - geladeira
 - ambiente (controle)
 - 70°C
2. Coloque, 10 mL de água destilada em temperatura ambiente, em cada um dos tubos de ensaio e tampe-o com papel laminado ou rolha;
3. Corte 4 fragmentos de beterraba com as dimensões 0,03m x 0,05m x 0,01m;
4. Coloque os fragmentos de beterraba em um béquer com água destilada e lave-os bem até que a água saia limpa. Seque, rapidamente, em papel absorvente;
5. Tome dois desses fragmentos, enrole cada um em um papel laminado e coloque um deles no freezer e o outro na geladeira, por 20 minutos;
Ao retirá-los do freezer e da geladeira, coloque-os nos tubos correspondentes.
6. Aqueça a água em um béquer à temperatura de 70°C e mergulhe o 3º fragmento de beterraba por 2 minutos. Transfira-o para o tubo etiquetado 70°C;
7. O último fragmento deve ser colocado diretamente no tubo etiquetado ambiente;
8. Após 30 minutos, agite os tubos e compare os tratamentos com o tubo controle, considerando a intensidade de difusão da betacianina.

DISCUSSÃO

1. Como explicar o resultado obtido no tubo de ensaio contendo o fragmento de beterraba submetido a 70°C?
2. Compare os resultados dos tubos de ensaio correspondentes aos fragmentos de beterraba submetidos aos tratamentos geladeira e freezer. Como explicar o efeito da baixa temperatura sobre a permeabilidade das membranas celulares?
3. Qual a importância de se lavar os fragmentos de beterraba antes da montagem do ensaio?
4. Por que os frutos são normalmente armazenados em temperaturas baixas, porém nunca abaixo de zero?

Roteiro adaptado da UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*, Minas Gerais, 1984.

INTRODUÇÃO

O estado interno de água de uma célula vegetal está constantemente variando para que ela se ajuste às mudanças no ritmo metabólico e às flutuações de água no ambiente.

A água se move em função da sua energia, da sua capacidade de realizar trabalho, ou seja: do Ψ de água. Toda vez que existir um gradiente de potencial de água ($\Delta\Psi$), ocorrerá movimento da água sempre do meio de maior condição energética para o de menor energia. Portanto, uma célula vegetal, quando colocada em uma solução, absorverá ou perderá água, caso exista um gradiente de potencial de água ($\Delta\Psi$) entre a mesma e a solução. Quando o Ψ de água do tecido é maior do que o da solução, a água sairá da célula, tornando-a plasmolisada. Na condição inversa, a água entrará na célula, levando-as à turgescência.

OBJETIVO

Observar os processos de plasmólise e desplasmólise em células de tecido caulinar.

MATERIAL

- Caule de abóbora ou de cocó (*Alocasia* sp);
- Bisturi ou lâmina de barbear;
- 2 béqueres de 50 mL;
- Pinça metálica;
- Solução de sacarose a 0,6 M ou de NaCl a 10%.

PROCEDIMENTO

1. Corte dois pedaços do caule (aproximadamente 0,06 m) e, em uma das extremidades, faça quatro cortes no sentido longitudinal, a uma profundidade de 0,02 m;
2. Pese os dois pedaços de caule, anotando os respectivos valores;
3. Prepare a solução sugerida, colocando-a num dos béqueres. No outro, coloque apenas água destilada. Etiquete-os devidamente;
4. Coloque um dos pedaços de caule no béquer contendo a solução previamente preparada, e o outro, no béquer com água destilada;

- 56
5. Deixe por uns 15 minutos e observe. Após esse período, retire cada fragmento de caule e pese, após secá-lo levemente;
 6. Retorne os fragmentos aos béqueres, invertendo a ordem; aquele que se encontrava na solução deverá ficar na água destilada e vice-versa;
 7. Aguarde 15 minutos, acompanhando o aspecto desses fragmentos. Pese-os novamente.

DISCUSSÃO

1. Com base no conceito de Ψ_w , explique os resultados em ambas as situações.
2. Seria possível não observar qualquer alteração no peso desses fragmentos? Justifique a sua resposta.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

ASCENSÃO DA ÁGUA NA PLANTA

INTRODUÇÃO

A água absorvida pelas raízes ascende através do xilema, alcançando as folhas, e depois, por transpiração, a atmosfera. As forças propulsoras para a ascensão da água pelo xilema envolvem a tensão gerada pela transpiração, a coesão entre as moléculas da água e a adesão dessas às superfícies dos vasos e dos traqueídes.

OBJETIVO

Demonstrar a existência de tensões internas na planta, através da absorção de corante solúvel em água.

MATERIAL

- Planta de caule herbáceo, a exemplo de alfavaca de cobra (*Peperomia pellucida*, Kunt) ou ramos com flores de margarida (*Chrysanthemum sp*);
- 2 frascos erlenmeyer de 100 mL;
- Solução de azul de metileno a 0,1%;
- Solução de eosina a 0,2%;
- Lâmina de barbear.

PROCEDIMENTO

1. Coloque em um dos frascos um pouco da solução de azul de metileno a 0,1% e, no outro, a de eosina a 0,2%;
2. Selecione 2 ramos de tamanhos aproximados da espécie herbácea, cujas raízes e parte do caule estejam submersos em água; seccione-os com uma lâmina de barbear;
3. Mergulhe os ramos cortados, um em cada solução;
4. Coloque os frascos em local bem iluminado e acompanhe por um período entre 2 a 3h, a ascensão das soluções nos ramos, em especial a da eosina.

Obs.: No caso de usar capítulos de margarida, cortá-los sob água, deixando o pedúnculo com 5cm de comprimento.

1. As soluções apresentaram a mesma velocidade de ascensão? Por que?
2. Caracterize o xilema, o tecido condutor da água;
3. Explique o mecanismo da coesão-tensão;
4. Nas condições do ensaio, é possível a existência de pressão de raiz?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M.; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

TRANSPIRAÇÃO PELO MÉTODO DA CAMPÂNULA

INTRODUÇÃO

No balanço hídrico de uma planta, enquanto uma pequena parte da água absorvida pelas raízes é utilizada para o crescimento, a maior parte é eliminada para a atmosfera pelo processo de transpiração, sob a forma de vapor.

A atmosfera terrestre é relativamente seca, o que favorece a desidratação. Ao perder água para a atmosfera, a planta evita o aquecimento excessivo em decorrência da absorção de luz para a fotossíntese, assim como refrigera as superfícies expostas, impedindo ou dificultando o dessecamento.

A transpiração pode ser observada quando se coloca uma planta ou sua parte aérea sob uma campânula de vidro. Após algum tempo, surgem gotículas de água, como resultado do aumento do vapor d'água na atmosfera desse ambiente fechado.

OBJETIVO

Observar o processo de transpiração em ramos cortados.

MATERIAL

- Campânula de vidro transparente;
- Vaselina ou fita crepe;
- Erlenmeyer de 250 mL com rolha perfurada;
- Algodão hidrófilo;

- Fonte de luz (lâmpada de de 60W);
- Ramos de *Eritrina sp* ou de outra árvore ou arbusto qualquer, recém-cortado em água.

PROCEDIMENTO

1. Colete um ramo com 20 cm de comprimento, cortando-o sob água;
2. Coloque água de torneira no erlenmeyer, tampando-o com uma rolha;
3. Introduza o ramo coletado no orifício da rolha, vedando com algodão, se necessário;
4. Coloque o erlenmeyer com o ramo sob a campânula de vidro;
5. Passe vaselina ou uma fita crepe larga no contato da campânula com a bancada de modo a vedar totalmente o sistema;
6. Ilumine o ramo. Aguarde uns 30 minutos e observe a parede interna da campânula.

DISCUSSÃO

1. Nas condições do ensaio, como a transpiração ficou comprovada?
2. Qual a via preferencial de transpiração?
3. Por que a luz é importante para a transpiração? E nas condições deste ensaio, qual a sua função?
4. Espera-se que a intensidade do processo de transpiração, nessas condições, seja mantida? Justifique corretamente.
5. O processo de gutação pode ser observado sob as condições deste ensaio? Por que?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C. P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

INTRODUÇÃO

Aproximadamente 99% da água absorvida pela planta é perdida pelas folhas, sob forma de vapor, a partir da transpiração. Dessa água perdida, estima-se que apenas 5% ocorram através das cutículas e, 95% restantes, pelos estômatos.

As células-guarda dos estômatos funcionam como válvulas hidráulicas multissensoriais, controlando o fluxo transpiratório.

OBJETIVO

Observar o processo de transpiração pelo método do papel de cobalto.

MATERIAL

- Lâminas (O4), pregadores de roupa (O4);
- Tiras de papel de cobalto (tiras de papel de filtro nas dimensões de 2cmx4cm, embebidas em solução de CoCl a 5% e, posteriormente, secas em estufa);
- Um ramo com folhas inteiras e largas de uma espécie qualquer, a exemplo de *Sanchesia sp*, ou imerso em água ou outra espécie qualquer envasada.

PROCEDIMENTO

1. Colete o ramo sob água ou use uma planta envasada;
2. Escolha duas folhas e coloque uma tira de papel de cobalto sobre cada face das mesmas;
3. Cubra cada tira de papel de cobalto com uma lâmina seca, prendendo as extremidades com um pregador de roupa ou uma presilha qualquer;
4. Observe, após alguns minutos, a alteração na cor das tira de papel de cobalto.

DISCUSSÃO

1. Explique as alterações observadas nas tiras de papel de cobalto.
2. Por que o ensaio foi montado em ambas as faces das folhas?
3. O que os resultados comprovaram?
4. Explique o mecanismo de abertura estomática.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C. P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA,1973.

INTRODUÇÃO

A transpiração ou perda de água na forma de vapor é um fenômeno comum a todas as plantas terrestres. A quantidade total de água absorvida por qualquer planta é enorme, contudo, aproximadamente 99% dessa água é liberada para a atmosfera pela transpiração. Estimativas indicam, por exemplo, que o milho, o tomate e a batata podem perder 200, 125 e 95 litros de água respectivamente, nos períodos de crescimento.

Vários são os métodos que servem para medir a transpiração. Dentre eles, um freqüentemente empregado consiste em acompanhar a perda de peso da folha ao longo de um tempo.

OBJETIVO

Avaliar a transpiração pelo método da balança.

MATERIAL

- Balança semi-analítica;
- Folhas recém-colhidas;
- Barbante;
- Pregador de roupa.

PROCEDIMENTO

1. Colete uma folha de um vegetal qualquer, deixando-a com parte do pecíolo. Amarre o pecíolo com um cordão e pese imediatamente. Anote o dado numa tabela;
2. Pendure a folha pelo cordão de modo que ambas as faces fiquem nas mesmas condições de arejamento. Não deixe incidir luz diretamente sobre a folha, nem tampouco forte ventilação;
3. Repita a pesagem a cada 15 minutos, registrando os dados na tabela, por um tempo de 60 a 90 minutos;
4. Faça um gráfico plotando os dados de pesagens no eixo das ordenadas e os de tempo no das abscissas.

1. A que se deve atribuir a perda de peso registrada?
2. Qual a participação dos estômatos na transpiração?
3. O que leva um estômato a se abrir?
4. Por que a perda de peso observada não se mantém crescente após algum tempo?
5. Explique o mecanismo de fechamento de um estômato.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

ABERTURA ESTOMÁTICA PELO MÉTODO DE INFILTRAÇÃO

INTRODUÇÃO

O método de infiltração foi desenvolvido por Alvim e Havis (1954) e permite avaliar a abertura relativa dos estômatos. Consiste em aplicar uma gota de um líquido de fácil penetração numa face da folha e observar a penetração ou não do mesmo no tecido.

Trata-se de uma técnica qualitativa, na qual uma série de soluções é preparada com o líquido de diferentes tensões superficiais, a exemplo de óleo mineral neutro, Nujol e Xilol.

OBJETIVO

Ter uma idéia aproximada da abertura relativa dos estômatos.

MATERIAL

- Frascos conta-gotas;
- Plantas diversas;
- Mistura Nujol: Xilol nas proporções especificadas a seguir;

Mistura Nujol : Xilol

63

| Nº da mistura | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|---------------|-----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| Xilol (prop.) | 100 | 90 | 80 | 70 | 60 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 | 0 |
| Nujol(prop) | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 | 70 | 80 | 90 | 100 |

PROCEDIMENTO

1. Coloque uma gota de cada solução na superfície da folha. A abertura relativa dos estômatos corresponderá ao número da última solução que penetrou visivelmente no tecido dentro de 1 minuto, no máximo;
2. Repita este procedimento em folhas expostas a condições diferentes de irradiância (sol/sombra), de estresse hídrico (turgida/murcha) e de idade (nova/velha).

DISCUSSÃO

1. Esta técnica deve ser aplicada em ambas as faces de folha? Por que?
2. Explique o mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos.
3. Quais as vantagens e desvantagens de utilização de método de infiltração.

Roteiro adaptado do Manual do Laboratório de Fisiologia Vegetal, Depto. de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

GUTAÇÃO

INTRODUÇÃO

A gutação ou sudação é a perda de água sob a forma líquida, observada em certas espécies herbáceas, quando submetidas a determinadas condições ambientais. Esse processo, verificado freqüentemente ao entardecer ou nas primeiras horas da manhã, se manifesta pela perda da água na forma de gotas, que se dá através de poros de abertura fixa, associados com um tecido parenquimatoso modificado (hidatódios).

Na gutação, a água ascende através do xilema sob uma pressão criada na raiz, denominada pressão radicular. Nessas condições, a planta não está transpirando, o solo acha-se bem suprido em água e a umidade relativa do ar é alta.

OBJETIVO

Estudar as condições necessárias para a ocorrência do fenômeno da Gutação.

MATERIAL

- 2 vasos com 3 plantas jovens de milho (3 a 6 dias de idade) ou vasos com Bem-me-quer (*Sphagneticola trilobata* (L) Pruski) ou *Tradescantia sp*;
- Solução de NaCl a 5% (sal de cozinha);
- Campânula de vidro;
- Béquero.

PROCEDIMENTO

1. Etiqueta os vasos com as indicações: água e NaCl;
2. Regue-os com NaCl a 5% e água, conforme a identificação das etiquetas;
3. Tampe-os com uma campânula ou um frasco invertido;
4. Observe as margens da folha durante 2-3h;

Obs.: Usar vasos cujos solos estejam bem secos.

DISCUSSÃO

1. Compare os resultados, justificando o comportamento da espécie em ambas as situações.
2. Como é gerada a pressão de raiz? Nessas condições, existirá tensão no xilema? Justifique.
3. Quais as condições ambientais que favorecem a gutação?
4. Por que as plantas ficaram sob uma campânula?

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1973.

KRAMER, P. J. *Relaciones hídricas de suelos e plantas. Una síntese moderna*. Trad. Leonor P. J. México: Centro Regional de Ayuda. Técnica, 1974.

ROCHA, Z.M.M.; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: Universidade Federal da Bahia, 1972, 165p.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. *Plant Physiology*. Inc. California: W. PUBLISHING Company, 1992.

SUTCLIFFE, J. F. *As plantas e a água*. São Paulo, 1979.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant Physiology*. Insc. California: The Benjamin/Cummings Publishing company, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia Vegetal*. trad. Eliane Romanato Santarém...[et al.]. 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. Apostila de aula prática.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal, Depto. de Biologia Vegetal, Viçosa, 1994.

<http://www.ufba.br/~qualibio> (Água na planta).

METABOLISMO ENERGÉTICO

EXTRAÇÃO E SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS EM TECIDOS FOLIARES

INTRODUÇÃO

Os pigmentos presentes nas plantas superiores incluem as clorofilas **a** e **b** e os carotenóides (fotossintéticos) e também os flavonóides, entre os quais estão as antocianinas. Enquanto os pigmentos fotossintéticos acham-se localizados nos cloroplastos, as antocianinas encontram-se dissolvidas em água no suco celular.

As antocianinas ocorrem como glicosídeos, geralmente possuindo uma ou duas unidades de glicose ou galactose. Apresentam coloração sensível ao pH, que varia de azul ao vermelho, ainda que existam algumas incolores. São responsáveis pelo colorido das flores, embora também possam ocorrer em folhas, frutos e raízes.

OBJETIVO

Observar as classes de pigmentos lipossolúveis e hidrossolúveis em tecidos foliares através da partição em solventes não miscíveis.

MATERIAL

- almofariz;
- Folhas de *cóleos* ou de *Tradescantia sp* e folhas verdes de qualquer espécie;
- Tubos de ensaio (2);
- Acetona a 80%;
- Proveta de 50 ou 100 mL (1);
- Éter etílico;
- Funil separador (1);
- Papel de filtro;
- Funil de vidro (1);
- Algodão;
- Pipetas de 5 ou 10 mL (2).

PROCEDIMENTO

1. Macere 10 a 15 folhas variegadas e verdes em 100mL de acetona a 80%;
2. Filtre o homogenado em dois discos de papel de filtro, tendo uma camada de algodão entre os mesmos;
3. Filtre novamente, usando apenas duas folhas de papel de filtro. Repita o procedimento por mais 2-3 vezes;
4. Tome 20mL de filtrado num funil separador e adicione, inicialmente, 20 mL de éter etílico e depois 20 mL de água destilada, girando sempre o funil; observe o que acontece;
5. Transfira 5 mL da camada inferior para um tubo de ensaio e acrescente 5 mL de água destilada;
6. Faça o mesmo com a camada superior, observando as diferenças.

DISCUSSÃO

1. Com base nas características das camadas, identifique aquela onde estão os pigmentos fotossintetizantes.
2. Qual a característica desses pigmentos que justifica a resposta anterior?
3. Qual a função desses pigmentos no processo fotossintético?
4. Como caracterizar as antocianinas quanto à solubilidade?
5. Qual a localização celular das antocianinas e qual a particularidade das mesmas com relação ao pH do meio?

Roteiro adaptado do Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS PELA TÉCNICA DA CROMATOGRAFIA DE PAPEL

INTRODUÇÃO

Os pigmentos fotossintéticos das plantas superiores acham-se localizados nos cloroplastos e compreendem as clorofilas **a** e **b** e os carotenóides. Desses, apenas a clorofila **a** participa diretamente do fluxo de elétrons, enquanto os demais atuam indiretamente, transferindo energia luminosa para a clorofila **a**.

A cromatografia de papel é uma das técnicas usadas na separação dos pigmentos cloroplastídicos, que se baseia na partição líquido-líquido dos compostos, quando tiras de papel de filtro servem como suporte de uma fase aquosa e uma fase móvel orgânica se dirige para o ápice ou extremidade da cromatografia.

OBJETIVO

Separar e identificar os pigmentos fotossintéticos pela técnica da cromatografia de papel.

MATERIAL

- Folhas verdes de qualquer espécie e variegadas de côleos ou de Tradescantia sp;
- Lâmina de barbear ou bisturi;
- Almofariz;
- Acetona e algodão hidrófilo;
- Funil de vidro, tubos de ensaio (2) e suporte;
- Fonte de luz e discos de papel de filtro;
- Solução de NaOH a 0,1N e de HCl a 0,1N.

PROCEDIMENTO

Parte 1 - Observação do fenômeno da Fluorescência

1. Corte 6-10 folhas verdes e variegadas em pedaços pequenos num almofariz;
2. Coloque um pouco de acetona e macere;
3. Filtre o homogenado em algodão e papel de filtro e receba o filtrado em um tubo de ensaio;
4. Observe a coloração do extrato sob a ação de luz direta e refletida;

Parte 2 – Cromatografia em papel

1. Marque o centro de um disco de papel de filtro com um ponto a lápis (não use tinta e nem dobre o papel).
2. Com uma pipeta ou conta-gotas, coloque uma gota do extrato. Deixe a gota secar um pouco e coloque outra gota. Continue gotejando (5-7 gotas), sempre sobre o mesmo ponto, até que surjam vários círculos coloridos no disco ou na tira;
3. Se preferir faça a cromatografia em coluna; para tanto coloque uma pequena alíquota do extrato em um bequer pequeno e em seguida, imerja uma tira de papel de filtro (6cm x 2cm), apenas a extremidade inferior, com o cuidado de deixar o papel apoiado à parede do bequer.
4. Se surgirem círculos azulados ou avermelhados (no disco ou na coluna) coloque uma gota de solução ácida (HCl) ou básica (NaOH) sobre os mesmos. Observe o que acontece.

DISCUSSÃO

1. Identifique os pigmentos presentes no extrato, caracterizando-os quanto a faixas de absorção de luz, solubilidade e localização celular.
2. Caracterize a participação dos mesmos no processo fotossintético.
3. Como explicar o comportamento da clorofila quando exposta à luz direta e refletida?
4. Caso tenham surgido os círculos azulados ou avermelhados, identifique os pigmentos responsáveis pelos mesmos e explique o comportamento dos mesmos em presença do ácido ou de uma base.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1972.

FOTOSSÍNTESE E PONTO DE COMPENSAÇÃO LUMINOSO

INTRODUÇÃO

Quando as condições se mostram desfavoráveis para a fotossíntese, a assimilação de CO_2 pode ocorrer em uma proporção apenas suficiente para compensar as perdas provenientes da respiração e da fotorrespiração. Nesta condição, a troca de CO_2 entre a planta e o meio é zero, ou seja: não há trocas gasosas líquidas e a planta

se encontra em seu “ponto de compensação”. Em caso de ser a luz o fator limitante, diz-se que a intensidade luminosa na qual a fotossíntese líquida é zero corresponde ao ponto de compensação luminoso ou irradiância de compensação.

O ponto de compensação luminoso varia com as espécies e com os fatores luz, temperatura, disponibilidade de nutrientes e concentração de CO_2 .

OBJETIVOS

Determinar o ponto de compensação luminoso em folhas isoladas (de sol e de sombra), bem como verificar o efeito do déficit hídrico sobre a fotossíntese.

MATERIAL

- Folhas verdes de sol e de sombra de espécies C_3 ;
- Solução indicadora de vermelho de cresol (NaHCO_3 (84mg/L), KCl (7,46g/L) e vermelho de cresol (10mg/L) com pH ajustado a 8,1);
Esta solução serve para indicar o teor de CO_2 no ar. Quando o CO_2 aumenta, a solução torna-se mais ácida e sua cor passa para amarelo (fotossíntese menor do que a respiração); quando o CO_2 diminui, torna-se mais alcalina, e sua cor passa a rosa púrpura (fotossíntese maior do que a respiração). Se não ocorrer variação em sua cor, significa que o CO_2 do ar permaneceu constante (fotossíntese igual à respiração);
- Tubos de ensaio grandes(9);
- Suporte para os tubos de ensaio(5);
- Rolhas de cortiça ou borracha (8);
- Papel alumínio, pipeta graduada de 10 mL(1), lâmpada refletora e luxímetro;
- Hastes fixadoras (8 segmentos de arame de cobre com 5 cm de comprimento, tendo uma das extremidades curvada, similar a de um anzol).

PROCEDIMENTO

1. Coloque 2 mL da solução indicadora nos 9 tubos de ensaio, fechando-os bem com tampa de cortiça ou borracha, onde já devem estar presas as hastes fixadoras;
2. Separe 5 tubos e fixe, nas hastes, 4 a 5 folhas túrgidas ou fragmentos das mesmas (dependendo do tamanho) em cada um deles. Coloque os tubos a distâncias de: 5, 50, 100, 150 e 200cm da fonte de luz. Com o luxímetro, meça a intensidade luminosa a que está submetido cada tubo;

3. Proceda do mesmo modo com o 6º tubo, mas enrole-o completamente em papel alumínio e o exponha à luz;
4. Fixe no 7º tubo 4 a 5 folhas murchas e coloque-o frente à luz forte;
5. Reserve o 8º tubo como testemunha;
6. Tome o 9º tubo ensaio que contém apenas a solução indicadora, sobre-o seguidamente e observe a mudança de coloração da solução. Em seguida, acrescente algumas gotas de uma solução alcalina (NaOH a 0,1N, por exemplo) e observe o que acontece com a solução indicadora;
7. Após 60-90 minutos, observe a coloração da solução indicadora nos diversos tubos de ensaio e determine o ponto de compensação luminoso da espécie em estudo.

Obs.: Sugere-se que parte do grupo trabalhe com uma espécie de sombra e, a outra, com uma de sol.

DISCUSSÃO

1. Justifique o comportamento das folhas nos diferentes tubos de ensaio.
2. Defina ponto de compensação luminoso e explique o que ele representa para uma planta.
3. As folhas murchas poderiam imprimir um tom vermelho mais intenso à solução? Explique a sua resposta.
4. Plantas de sol são transferidas para um local sombreado. Que efeito isto traria ao desenvolvimento das mesmas?

Roteiro adaptado do Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

INTRODUÇÃO

Na fase bioquímica da fotossíntese, o CO_2 é reduzido a carboidrato, os principais produtos acumulados são: sacarose e amido. Enquanto a sacarose é a principal forma de açúcar translocável no floema, o amido representa o açúcar de reserva para a maioria das plantas. O amido é sintetizado nos plastídeos, mais especificamente nos cloroplastídeos, quando a síntese ocorre nas folhas, e amiloplastídeos nas demais partes da planta. Nas folhas, o seu teor varia, aumentando durante o dia, uma vez que a exportação não acompanha a taxa de acúmulo, em decorrência da fotossíntese. À noite, a situação se inverte e o teor decresce, não só pelo consumo na respiração como pelo fato da translocação continuar.

O amido é constituído por amilose (cadeias não ramificadas) e amilopectina (cadeias ramificadas), e ambas colorem-se pelo lugol, o que permite detectar a sua presença na célula.

OBJETIVO

Determinar o papel da clorofila e da luz no acúmulo de amido nas folhas.

MATERIAL

- Folhas variegadas de *Coleus*;
- Béquer ou copo de 250 mL (1);
- Azulejo branco e placa de Petri (grande), pipeta ou conta-gotas;
- Álcool etílico de uso doméstico, Fogareiro elétrico;
- Solução de Lugol: iodeto de potássio (KI) 10g, iodo (I_3) 5g e água destilada 100 mL.

PROCEDIMENTO

Parte 1 - Efeito da clorofila

1. Retire uma folha variegada de *Coleus sp*;
2. Faça um desenho dessa folha, indicando as áreas verdes e de outros tons;
3. Determine a presença do amido, em toda a folha. Para isso, mergulhe a folha, pelo período de meio a um minuto, em água fervente e transfira-a para o béquer ou copo contendo álcool etílico em banho-maria (ou por refluxo em banho-maria), até a sua despigmentação completa;

4. Coloque a folha, com a face abaxial para cima, sobre um azulejo branco ou placa de Petri e trate-a com algumas gotas de lugol. Uma coloração azulada, quase preta, indica a presença de amido;

Parte 2 - Efeito da luz

1. Retire uma folha de *Coleus sp* de um ramo que tenha permanecido por uns três dias no escuro com a extremidade seccionada dentro d'água ou uma folha de milho ou feijão de plantas que tenham sido igualmente mantidas no escuro, por uns três dias;
2. Retire uma folha da mesma espécie cujo ramo ou planta tenha permanecido sob luz intensa. Procedendo da forma anterior, faça o teste do amido nas folhas dos dois tratamentos e compare os resultados.

DISCUSSÃO

1. Explique a alteração observada da folha, após a imersão em água quente;
2. Idem para a imersão no álcool;
3. Em que parte da folha variegada se observou a presença do amido?
4. Qual a função dos cloroplastídeos e da luz na síntese do amido?
5. Tecidos sem cloroplastídeos podem apresentar reação positiva ao lugol?

Roteiro adaptado da UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Viçosa, 1994.

FATORES QUE AFETAM A FOTOSSÍNTESE EM *ELODEA sp*

INTRODUÇÃO

Vários fatores, dentre os quais: luz, temperatura e concentração de CO_2 afetam a intensidade do processo fotossintético. Uma maneira simples, sob condições de laboratório, de se avaliar a influência desses fatores neste processo é através do “método das bolhas”. O mesmo se fundamenta na velocidade de produção de O_2 gás

pouco solúvel em água, que ao ser desprendido forma bolhas facilmente visíveis. Assim, contando-se o número de bolhas, por unidade de tempo, produzidas por um ramo de *Elodea* submerso em água, poder-se-á ter uma estimativa da taxa de fotossíntese.

OBJETIVOS

Verificar o efeito da luz e da temperatura sobre a fotossíntese e comprovar a utilização de CO_2 na mesma.

MATERIAL

- 04 tubos de ensaio médios, proveta de 250 mL;
- 04 bequeres ou copos de 600 mL;
- Suporte para tubos de ensaio;
- Refletor com lâmpada de 150 ou 200 watts;
- Cronômetro e termômetro;
- Lâmina de barbear, pinça de ponta fina, bastão de vidro, barbante;
- *Elodea* recentemente colhida;
- Solução de bicarbonato de sódio a 1%.

PROCEDIMENTO

Fator luz

1. Tome um ramo de *Elodea* e amarre-o a uma extremidade do bastão de vidro;
2. Coloque-o no interior da proveta e acrescente solução de bicarbonato de sódio, de modo que esta ultrapasse o ramo em 5 cm, aproximadamente;
3. Transfira a proveta com o ramo para um béquer, contendo água à temperatura ambiente;
4. Acenda uma lâmpada de 150 ou 200W a 10 cm do ramo;
5. Determine o número de bolhas produzidas por minuto, durante três minutos consecutivos;
6. Aumente a distância da lâmpada para 20 cm e proceda como no item anterior;
7. Repita o procedimento, após aumentar a distância para 40cm da fonte de luz.

Obs.: Toda vez que a lâmpada for mudada de posição, esperar 5 minutos antes de iniciar nova contagem.

No decorrer do experimento, verifique a temperatura do béquer. Caso esta aumente mais de 2°C , resfrie com água gelada.

Fator temperatura

1. Prenda o tubo contendo a *Elodea* a um suporte distante 30 cm da lâmpada de 200W. Mergulhe o tubo em um copo contendo água à temperatura ambiente, aproximadamente, 20°C;
2. Determine o número de bolhas produzidas por minuto, durante 5 minutos consecutivos;
3. Substitua a água do copo, sem mexer no tubo, por água a 30°, 40° e 50°, fazendo-se as mesmas contagens de bolhas, por 5 minutos, em cada temperatura;

Obs.: Cada vez que a água for mudada, esperar 5 minutos antes de iniciar.

Fator CO₂

1. Coloque 40mL de água em um béquer e adicione uma certa quantidade de uma solução de KHCO₃ a 0,1%, suficiente para dar uma coloração levemente rósea com fenolftaleína, aproximadamente 5 gotas;
2. Encha 3 tubos de ensaio com esta água e coloque, em dois deles, um ou dois ramos de *Elodea*;
3. Disponha um dos tubos com *Elodea* próximo a uma lâmpada de 150 ou 200W. Faça o mesmo com o tubo com água e coloque o outro tubo com *Elodea* no escuro;
4. Após duas horas, coloque uma ou duas gotas de fenolftaleína em cada tubo e observe se há alguma diferença na intensidade de coloração dos mesmos.

DISCUSSÃO

1. Comente sobre o papel da luz sobre a fotossíntese em *Elodea*, correlacionando o aumento da intensidade de radiação luminosa e a velocidade do processo;
2. Faça o mesmo para avaliar a temperatura e explique o efeito de altas temperaturas no processo fotossintético;
3. Explique a mudança de coloração em presença de fenolftaleína nos três tubos.

Roteiro adaptado do *Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal*, Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

RESPIRAÇÃO ANAERÓBICA - FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA

INTRODUÇÃO

A respiração promove a liberação gradual da energia armazenada nas moléculas orgânicas e implica em perda de matéria seca e trocas gasosas.

Os métodos para medir a respiração baseiam-se na determinação de algum desses parâmetros. Aqueles baseados nas trocas gasosas são mais sensíveis e não são destrutivos.

Nesta atividade, a respiração será avaliada por um método físico-químico, com base no CO_2 liberado.

OBJETIVO

Avaliar a respiração a partir das trocas gasosas.

MATERIAL

- Suspensão de levedo (5g de levedo + 25mL de H_2O);
- Solução de sacarose (150g de sacarose + 100mL de H_2O);
- Solução de hidróxido de cálcio a 10%;
- 1 frasco erlenmeyer de 250mL, com tampa perfurada;
- 1 tubo de ensaio;
- 1 tubo de borracha ou plástico;
- 1 béquer de 500mL;
- Bastão de vidro;
- Termômetro;
- Fogareiro elétrico.

PROCEDIMENTO

1. Coloque 100mL da solução de sacarose no erlenmeyer;
2. Acrescente 25mL da suspensão de levedo e agite com o bastão;
3. Tampe o erlenmeyer com uma rolha de borracha totalmente justa. A rolha deve ser atravessada por uma das extremidades do tubo plástico, tendo-se o cuidado de não deixá-lo tocar na solução de sacarose;

4. Introduza a extremidade livre do tubo plástico no tubo de ensaio contendo a solução de hidróxido de cálcio. A extremidade do tubo deve imergir na solução;
5. Aguarde 30 minutos e observe. Para acelerar a reação, coloque o erlenmeyer em um béquer contendo água na temperatura de 30°C.

DISCUSSÃO

1. Como a fermentação ficou evidenciada?
2. Qual a função do hidróxido de Ca?
3. Caracterize o tipo de fermentação, os produtos finais e o rendimento energético da mesma?
4. Explique a seqüência de reações que leva à degradação do substrato utilizado.

Roteiro adaptado de ROCHA, Z.M.M., Silva, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: UFBA, 1973.

AVALIAÇÃO DA RESPIRAÇÃO EM FOLHAS DESTACADAS

INTRODUÇÃO

Durante o processo respiratório ocorre a liberação do CO₂ para o meio e também o consumo de O₂ quando em condições aeróbicas ou simplesmente liberação de CO₂, em meio anaeróbico. O CO₂ liberado, quando em presença de água, forma ácido carbônico, acidificando o meio. Em razão disso, uma técnica freqüentemente utilizada para demonstrar a respiração, em sistema fechado, consiste no uso de um indicador de pH, a exemplo do Azul de Bromotimol. Em meio neutro, esta substância se apresenta verde. Já em meio ácido, se torna amarela e azul, em pH básico. Assim, num sistema fechado, a presença do Azul de Bromotimol na fase aquosa acusará as mudanças na concentração do CO₂, liberado pela respiração, no meio.

Demonstrar qualitativamente a produção de CO_2 na respiração.

MATERIAL

- 06 Rolhas de borracha ou cortiça;
- 04 Tubos de ensaio pequenos contornados por uma alça de metal;
- 09 Tubos de ensaio de tamanho médio;
- Suporte para tubos de ensaio;
- Canudo de refresco ou pipeta;
- 04 suportes metálicos;
- Conta-gotas;
- Suspensão de levedo em solução de sacarose a 10%;
- Suspensão de levedo em água destilada;
- Solução de Azul de Bromotimol a 1%;
- HCl 0,1 N e NaOH 0,1N;
- Água contendo CO_2 (água mineral gasosa);
- Sementes de feijão, milho, arroz ou de outra espécie, em germinação;
- Peça retangular de uma folha qualquer ou uma folha inteira.

PROCEDIMENTO

1. Tome os tubos de ensaio de tamanho médio e numere-os de 1 a 8;
2. Coloque 5 gotas de Azul de Bromotimol nos 08 tubos de ensaio de tamanho médio;
3. Separe um dos tubos de ensaio pequenos e coloque suspensão de levedo, preparada em solução da sacarose a 10% até a metade do mesmo. Introduza este tubo, segurando-o pela alça ou suporte metálico, no **tubo de ensaio 1**, deixando-o a aproximadamente 1cm acima do nível do indicador. Vede o tubo maior com uma rolha de cortiça ou de borracha;
4. Tome o **tubo de ensaio 2** e proceda da mesma maneira que a anterior, usando agora suspensão de levedo fervida;
5. Tome o **tubo de ensaio 3** e proceda da mesma forma, usando agora suspensão de levedo preparada em água;
6. Coloque 5–10 sementes recém-germinadas da espécie escolhida no tubo de ensaio pequeno e introduza-o no **tubo de ensaio 4**;

7. Prenda pedaços ou folhas inteiras à rolha por um gancho e introduza-as no **tubo de ensaio 5**, de modo que fiquem acima do indicador. Enrole o tubo de ensaio em papel de alumínio, para evitar a entrada de luz.
8. Vede o **tubo de ensaio 6** e deixe-o como controle.
9. Aguarde 60 a 90 minutos e observe os resultados. Acompanhe as reações a partir da mudança na coloração do indicador.
10. Enquanto isto, tome o **tubo de ensaio 7** e adicione uma gota de HCl 0,1N. Observe o resultado.
Adicione, agora, uma solução de Na OH 0,1N, gota a gota, até que haja nova mudança de cor. Explique o resultado.
11. Tome o **tubo de ensaio 8** e sobre a solução com a ajuda de uma pipeta ou canudo. Observe o que acontece e explique a reação ocorrida.

DISCUSSÃO

1. Avaliando o experimento, compare os resultados obtidos nos diferentes tubos de ensaio.
2. Como se justificam as diferenças observadas nos tubos com levedura fervida e não fervida.
3. Por que se adicionou sacarose à suspensão de levedo?
4. O tubo com folhas poderia ter sido mantido descoberto?
5. O que comprovou o tubo com sementes? Como ficaria a solução caso as sementes não estivessem viáveis?
6. Comparando o material usado (levedura, folhas e sementes) como caracterizar (aeróbica ou anaeróbica).

Roteiro adaptado do Manual de Laboratório de Fisiologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa/MG, 1994.

INTRODUÇÃO

As células, normalmente, contêm enzimas chamadas **catalases**, que são capazes de destruir compostos tóxicos oriundos do próprio metabolismo celular. Um exemplo é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formado durante a respiração e responsável pela inibição de muitas enzimas.

OBJETIVO

Observar a atividade da catalase em tubérculos de batatinha.

MATERIAL

- Água oxigenada a 20 volumes;
- Placa de Petri;
- Tubérculo de batatinha;
- Pinça, papel toalha e bisturi;
- Béquer;
- Chapa aquecedora.

PROCEDIMENTO

1. Retire uma fatia fina de tubérculo de batatinha e coloque-o na placa de Petri.
2. Cubra a fatia com uma solução diluída (30:1) de peróxido de hidrogênio.

OBS: A evolução de bolhas de oxigênio indica a presença da catalase.

3. Repita o procedimento com uma fatia de tubérculo de batatinha fervido por 5 minutos.
4. Observe o resultado.

DISCUSSÃO

1. Compare os resultados obtidos com as fatias fervidas e não fervidas.
2. Apresente a reação da catalase, indicando o substrato e o produto.

FELIPPE, G.M.; VALIO, I.F.M.; PEREIRA, M.F.A.; SHARIF, R.R.; VIEIRA, S.R. *Fisiologia do desenvolvimento vegetal*. Rio de Janeiro: Ed. Campus, 1983. 66p.

FOSKET, D.E. *Plant growth and development*. New York: Academic Press, Inc. 1994. 580p.

POPINIGIS, F. *Fisiologia da semente*. Brasília: AGIPLAN, 1977.

ROCHA, Z.M.M.; SILVA, C.P. *Manual de Fisiologia Vegetal*, Salvador: Univ. Federal da Bahia, 1972, 165p.

SALISBURY, F.B. & ROSS, C. *Plant physiology*. California: W. Publishing Comp. Inc., 1992.

STRYER, L. *Bioquímica*. Trad. João Paulo de Campos, Luis Francisco Macedo e Paulo Motta. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 3. ed, 1993. 881p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Plant physiology*. California: The Benjamin/Cummings Publishing Co. Inc., 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. *Fisiologia vegetal*. trad. Eliane Romanato Santarém...[et al.]. 3.ed. Porto Alegre: Artmed. 2004.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA. *Manual de laboratório de fisiologia vegetal*, Depto. de Biologia Vegetal, Viçosa, 1994.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Curso prático de fisiologia vegetal. Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, 1994. 43p.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA. Apostila de aula prática.

COLOFÃO

| | |
|--------------------------|--|
| Formato | 17 x 24 cm |
| Tipologia | NewsGoth BT e Lt BT |
| Papel | Alcalino 75 g/m ² (miolo) Cartão Supremo 250 g/m ² (capa) |
| Impressão | Setor de reprografia da EDUFBA |
| Capa e acabamento | Cartograf |
| Tiragem | 400 exemplares |



Universidade Federal da Bahia
www.ufba.br
