

Fisiologia vegetal

2021-2022

Nutrição - Aula Prática

Todos nós temos a noção que cada um é aquilo que come. Nos dias de hoje, mais do que em qualquer outra época, a população (principalmente a dos países desenvolvidos) está preocupada com o corpo, a forma, e a longevidade, e tem a noção de que esses parâmetros estão muito associados à dieta. A população mais abastada e mais esclarecida tende a optar pela aquisição de produtos de agricultura biológica em detrimento dos de agricultura convencional, na convicção de que os produtos resultantes da agricultura biológica sejam mais saudáveis do que os resultantes das práticas convencionais (agricultura intensiva).

Por outro lado, o aumento crescente da população das cidades e a necessidade de promover a proximidade entre os locais de consumo e os locais de produção exige o desenvolvimento de técnicas de cultura mais sofisticadas e controladas. No entanto, a diferença nutritiva dos produtos agrícolas de acordo com o modo de produção é ainda uma assunto em discussão. O que não é muito óbvio para os cidadãos é que entre o modo de cultura e a qualidade nutritiva dos alimentos há um modelador muito importante - a **FISIOLOGIA** da planta.

O objectivo desta aula prática é chamar a atenção para a importância das respostas fisiológicas na qualidade alimentar das plantas. Para tal vamos tomar como exemplo a partição de biomassa entre a parte radicular e a parte aérea da planta, bem como a concentração de nitratos presente em alguns vegetais de acordo com várias formas de nutrição da planta.

Em sociedades e economias baseadas no conhecimento, as decisões do consumidor devem basear-se em critérios objectivos. Assim, cada aluno vai ser:

- confrontado com a tomada de decisão sobre quais as qualidades a privilegiar na aquisição de vegetais.
- convidado a determinar algumas características de produtos hortícolas cultivados de acordo com as técnicas da agricultura biológica e convencional.

A – Parâmetros não destrutivos:

A.1. SPAD

O medidor de clorofila pelo índice SPAD (SPAD, do acrónimo inglês Soil Plant Analysis Development) é um equipamento portátil usado para medir a cor verde com base nas respostas ópticas quando a folha é exposta à luz que, por sua vez é utilizada para estimar a concentração foliar de clorofila (Kariya et al. 1982). O medidor permite leituras instantâneas e não destrutivas de uma planta com base na quantificação da intensidade luminosa (comprimento de onda de pico: cerca de 650 nm: diodo emissor

de luz vermelho [LED]) absorvida pela amostra de tecido. Um segundo pico (pico de comprimento de onda: 940 nm, aproximadamente: LED de infravermelhos), é emitido simultaneamente com LED vermelho para compensar a espessura da folha (Hoel 1998). Pesquisas anteriores mostraram uma relação estreita entre a concentração de clorofila e de azoto na folha das plantas, porque uma grande parte do N foliar está contida na clorofila (Peterson et al., 1993). Consequentemente, o conteúdo de clorofila é amplamente utilizado para detectar deficiências de N e, posteriormente, melhorar a gestão do N no sector agrícola (Peterson et al 1993; Smeal e Zhang, 1994; Balasubramanian et al 2000).

B – Parâmetros destrutivos:

B.1. Biomassa

Biomassa é um parâmetro integrador da resposta da planta a determinadas condições de crescimento. Durante os anos da revolução verde, onde a preocupação máxima era arranjar alimento para uma população cada vez maior e mais exigente, o objectivo era desenvolver técnicas que permitissem produzir mais e mais rapidamente. Por isso houve uma seleção de cultivares de crescimento rápido. Hoje há uma preocupação acrescida, produzir alimentos de qualidade. A biomassa é determinada através do peso seco da planta. Normalmente determina-se a biomassa da parte aérea e da parte radicular dado que a partição de nutrientes e fotossintetizados entre uma e outra tem consequências muito distintas para a fisiologia da planta e para o rendimento do agricultor.

B.2. pH

O pH é uma característica determinante do metabolismo, da partição de nutrientes entre os vários compartimentos celulares e da própria aquisição de nutrientes. Por outro lado, o pH do vacúolo (o que se determina quando se faz um extrato aquoso) representa as soluções utilizadas pela planta para procurar manter estável o pH do citoplasma. Na aula prática vamos determinar o pH no extrato foliar feito com base numa diluição de 1 g de material vegetal para 5 ml de água.

B.3. Brix

O Brix é um parâmetro relacionado com o teor de açúcares de uma solução aquosa. Uma solução com 1 grau Brix contém 1 grama de sacarose em 100 g de solução, e representa a concentração da solução em percentagem com base no peso. Se a solução contiver sólidos dissolvidos, para além da sacarose, o Brix transforma-se numa aproximação ao teor de sólidos dissolvidos. O Brix é tradicionalmente utilizado nas indústrias de vinho, açúcar, sumos de frutas e mel. O Brix vai ser determinado no extrato foliar diluído, com um refractómetro.

B.4. Concentração foliar de nitrato

A concentração foliar de nitrato resulta do balanço entre a aquisição de nitrato pelas plantas e respectiva transferência para as folhas e a sua utilização no metabolismo

através da sua redução a amónio, reação catalisada pela nitrato reductase. O conteúdo de nitrato nos vegetais pode ser letal para os animais herbívoros e omnívoros. No caso da alimentação humana, o conteúdo de nitrato presente nas folhas (como alface e espinafre) encontra-se regulado por lei (European Commission Regulation (EC) No. 194197) não podendo os produtos ser comercializados se as concentrações de nitrato excederem os valores determinados. No entanto é também fundamental que a alimentação humana contenha um valor mínimo de nitratos, como é o caso da dieta mediterrânica. O nitrato foliar vai ser determinado no extracto foliar diluído através da utilização de um eléctrodo seletivo.

Esquema da aula

- 1 - Introdução e discussão com os alunos ± 15 min
- 2 - Distribuição e observação das plantas por grupo ± 15 min
- 3 - Preparação das plantas e determinação do índice SPAD, biomassa e peso das folhas para os extratos ± 60 min
- 4 - Preparação dos extractos e determinação de pH, NO_3^- e Brix ± 45 min
- 5 - Preparação do material para a aula seguinte ± 15 min
- 6 - Discussão dos resultados ± 15 min
- 7 - Arrumação da sala ± 10 min

Nota: nesta aula os alunos têm a possibilidade de trazer material cultivado de forma biológica e de forma convencional para determinação de pH, NO_3^- e Brix.

Tratamentos das plantas

As plantas de alface (*Lactuca sativa* L.) foram obtidas a partir de plântulas de viveiro. Após os tratamentos, as plantas foram mantidas no parque de Estufas da FCUL durante 45 dias.

Os tratamentos consistiram em:

- Plantas com **0% de fertilização** e **SEM inoculação microbiana** (branco)
- Plantas com **100% de fertilização** e **SEM inoculação microbiana** (azul)
- Plantas com **50% de fertilização** e **SEM inoculação microbiana** (vermelho)
- Plantas com **50% de fertilização** e **COM inoculação microbiana** (verde e amarelo)

As plantas de todos os tratamentos receberam fosfato mineral sob a forma de fosfato tricálcico (forma de fosfato não solúvel e não disponível para as plantas). Os restantes nutrientes foram disponibilizados através da adição semanal de 25 mL de solução nutritiva (1/4 de Hoagland) sem fósforo.

Os microrganismos (biofertilizantes) constituem uma alternativa ao uso de fertilizantes com vantagens para a eficiência do uso dos nutrientes e para a qualidade da produção. As plantas inoculadas com microrganismos receberam 1 mL de uma cultura com 10^9 células (10^9 células mL^{-1} planta $^{-1}$). As plantas inoculadas com bactérias foram inoculadas 2x com um intervalo de 1 semana.

Procedimentos

Material por grupo	Equipamento:
1 alface de cada tratamento por grupo Tabuleiro(s) para desvascular Papel de laboratório Tesoura Papel para pesar Marcador Tabuleiro para armazenar o material Almofariz Quadrado de gaze Funil Tubos de 10 ml com tampa Envelopes para secar as plantas	Balança Máquina fotográfica Estufa para secar material biológico Eléctrodo pH Eléctrodo seletivo nitrato Refractómetro SPAD

Preparação de material para a próxima aula (efeito anti-senescente das citocininas)

Material por grupo

8 caixas de Petri (diâmetro de 5 cm)
8 discos de papel de filtro (diâmetro de 5 cm)
Pipeta automática de 1 mL
4 mL de solução de cinetina (10^{-2}g L^{-1})
4 mL de água destilada
Furador \pm 0,5 cm diâmetro
8 tubos de plástico com tampa
Suportes para os tubos (para ficarem armazenados no frigorífico)
40 mL de metanol

Procedimento

Pipete para quatro caixas de Petri (diâmetro de 5 cm), forradas com papel de filtro, 1 mL de solução de cinetina (10^{-2}g L^{-1}).

Pipete para quatro caixas de Petri (diâmetro de 5 cm), forradas com papel de filtro, 1 mL de água.

Remova 6 discos de folhas de cada tratamento.

Coloque os discos nas caixas de Petri com a página adaxial para baixo.

Deixe as caixas a incubar à temperatura ambiente e no escuro durante 2-3 dias.

Prepare tubos com 5 mL de metanol. Feche-os, identifique-os e envolva-os em papel de alumínio. E coloque-os no frigorífico.

Discussão dos resultados