

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA

Um modelo para a dinâmica de abertura e fechamento dos
estômatos de uma folha

Marcus Cima Ferraz

SBI-IFUSP



305M810T4358

*Dissertação apresentada
ao Instituto de Física da
Universidade de São Paulo
para a obtenção do título de
Mestre em Ciências*

Orientadora: Profa. Dra. Carmen Pimentel Cintra do Prado

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Carmen Pimentel Cintra do Prado (IFUSP)

Profa. Dra. Carla Goldman (IFUSP)

Prof. Dr. Ricardo Egydio de Carvalho (Unesp - Rio Claro)

INSTITUTO DE FÍSICA

Serviço de Biblioteca e Informação

Tombo:

T4358

SÃO PAULO

2005

Prof. Armando Corbani Ferraz
Presidente da Comissão de Pós Graduação

def. 16/08/05.

530.13

F381m

M

Ex. 1

FICHA CATALOGRÁFICA
Preparada pelo Serviço de Biblioteca e Informação
do Instituto de Física da Universidade de São Paulo

Ferraz, Marcus Cima

Um modelo para a dinâmica de abertura e fechamento dos estômatos de uma folha.

São Paulo 2005.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo
Instituto de Física - Departamento de Física Geral
Orientador: Profa. Dra. Carmen Pimentel Cintra do Prado

Área de Concentração: Física

Unitermos:

1. Mecânica Estatística;
2. Formação de Padrões;
3. Sistemas Dinâmicos Complexos;
4. Fisiologia Vegetal.

USP/IF/SBI-054/2005

Aos meus pais, Marcus e Denise,
e à minha irmã Renata.

AGRADECIMENTOS

Infelizmente não poderei agradecer todas as pessoas que estiveram ao meu lado durante esses anos, mas gostaria de ressaltar que todas elas foram extremamente importantes para o desenvolvimento deste trabalho. No entanto, desejo e sinto-me obrigado a destacar algumas dessas pessoas.

Agradeço à Carmen, pela amizade, pela dedicada orientação, pela paciência e pela crença em meu trabalho.

Ao Gustavo Maia Souza, pela atenciosa colaboração.

Ao CNPq, pelo auxílio financeiro.

Aos funcionários do departamento, principalmente à equipe técnica que faz a administração da rede de computadores.

À minha família que são, em última análise, as pessoas mais importantes e fundamentais da minha vida.

Aos meus amigos Enzo, Luiz e Washington, companheiros inquestionáveis e grandes incentivadores.

À Tati, à Paty e aos Tákions, pessoas que transformaram e transformam o meu cotidiano de forma positiva.

Aos meus amigos do departamento: Attila, Carlos, Darielder, Evaldo, Evandro, Fabiano, Fabio, Fernando, Henrique, Leonardo, Masayuki, Marco e, em especial, ao Tiago, que me auxiliou nos problemas computacionais.

À uma nova pessoa que surgiu em minha vida, fazendo-me reencontrar a motivação e o desejo pela pesquisa.

A Deus, por tudo!

ABSTRACT

When there is enough light, stomata - variable aperture pores distributed on plant's leaves - tend to open. This mechanism allows the absorption of CO₂ (and so the reaction of photosynthesis) as well as the evaporation of water. The plant can adjust its stomatal aperture over time, in order to maximize CO₂ uptake with an water loss compatible with environmental conditions. Recently, many experiments have shown that the aperture of a single stomata depends on its interaction with the neighbors, in an emergent complex behavior. Under water stress the opening and closing of stomata aperture often becomes synchronized in spatially extended patches, with a rich dynamical behavior. In this work we have studied this phenomena. We first reproduce a model proposed by Haefner and collaborators, in an attempt to better understand this phenomena. The model, however, has been unable to generate patches or an oscillatory behavior in the steady state, as claimed by the authors. We proposed then new models, that show better agreement with experiments. In particular, the model called by us Random Vein Model with Hysteresis was able to reproduce most of the behaviors observed in real leaves, including the formation of patches and an non-regular oscillations in the steady state.

RESUMO

Quando há luz suficiente, os estômatos - pequenos poros localizados na superfície das folhas, com abertura regulável - tendem a abrir. Isto permite a absorção de CO_2 (e, portanto, a fotossíntese), e a evaporação de água, que não pode, porém, ser excessiva. As plantas conseguem ajustar a abertura dos estômatos, otimizando a absorção de CO_2 e adequando-se, ao mesmo tempo, à disponibilidade de água no ambiente. Recentemente, inúmeras experiências mostraram que, ao contrário do que se supunha, a abertura de um estômato parece depender da interação deste com seus estômatos vizinhos. Sob estresse hídrico, o movimento de abrir e fechar, dos estômatos de uma região da folha, freqüentemente se sincroniza, formando padrões espaço-temporais persistentes. Este trabalho teve como objetivo o estudo da dinâmica desses padrões. Reproduzimos, num primeiro momento desse estudo, um modelo proposto por Haefner e colaboradores, para entender melhor o problema. Este modelo, no entanto, demonstrou ser ineficiente sob vários aspectos, ao contrário do que observaram os autores. Novos modelos foram então propostos, com resultados mais próximos aos observados nos experimentos. Em particular, destacamos o "Modelo de Veias Aleatórias com Histerese", que utiliza a hipótese da existência de um retardo e uma histerese no mecanismo de abertura e fechamento dos estômatos, com resultados que reproduzem a diversidade de comportamento da dinâmica estomática observada experimentalmente.

Conteúdo

1	Introdução	1
1.1	Formação de padrões espaciais	2
1.2	Morfologia e fisiologia dos estômatos	6
2	Alguns resultados experimentais	12
3	Modelo de aréolas	17
3.1	Introdução	17
3.1.1	Estrutura espacial	18
3.1.2	Hipóteses do modelo	19
3.1.3	Equações do modelo	20
3.1.4	Parâmetros do modelo	26
3.2	Interface gráfica	28
3.3	Resultados	29
3.4	Críticas ao modelo de aréolas	35
3.5	Estudos na aréola gigante	38
4	Um novo modelo	45
4.1	O modelo de Veias Aleatórias	46

4.2	Modelo VA com tecido epidérmico	56
4.3	Modelo VA com atraso na abertura	61
4.4	Modelo VA com histerese	65
5	Conclusões e perspectivas	79
	Bibliografia	84

Lista de Figuras

1.1	Dinâmica espaço-temporal da condutância dos estômatos associada ao fenômeno conhecido como “patchy stomatal closure”, induzida pela grande diferença de umidade relativa entre a planta e o meio ambiente. Essa figura foi obtida através da técnica de imagem de fluorescência e mostra três instantes distintos na mesma região da folha. Nas regiões mais escuras os estômatos encontram-se abertos e nas mais claras, mais fechados. Podemos notar que há regiões nas quais os estômatos estão com aberturas similares entre si, bem como uma grande diferença nos graus de abertura entre regiões adjacentes. Imagem reproduzida de [4].	3
1.2	Morfologia do estômato.	8
1.3	A região abaixo do estômato (abertura na superfície) é a câmara subestomática, onde se concentram os gases trocados entre a planta e o ambiente.	9
1.4	O mesófilo. A região superior, onde as células estão muito próximas, chama-se parênquima paliçada. A região abaixo, onde podemos notar que há um grande espaço intercelular, chama-se parênquima lacunoso. Este nome refere-se às lacunas existentes entre as células que permitem a difusão dos gases no mesófilo.	10

- 1.5 Mecanismo de abertura ou fechamento dos estômatos. 11
- 2.1 Série temporal da condutância média dos estômatos da planta *Xanthium strumarium*. Este resultado foi obtido através de um experimento de trocas gasosas, em que, no instante $t = 0$, o valor da umidade do ambiente foi diminuído de 37 mmol mol^{-1} para 18 mmol mol^{-1} . Acima, temos imagens de fluorescência da clorofila para alguns instantes específicos. Este resultado foi obtido de [12]. 13
- 2.2 Série temporal da condutância média dos estômatos de uma folha de girassol. O intervalo de tempo entre os pontos é 20s. Este resultado foi obtido de [13]. 14
- 2.3 A figura (a) mostra a transpiração da folha como função da diferença da pressão de vapor de água entre a folha e o ambiente, para dois valores de pressão parcial de CO_2 . A figura (b) mostra a condutância média em função da diferença da pressão de vapor de água entre a folha e o ambiente, para dois valores de pressão parcial CO_2 . Estes resultados foram obtidos de [14]. 15
- 2.4 Série temporal da condutância média de uma folha anfistomática da planta *H. annuus*. Este resultado foi obtido de [8]. 16
- 3.1 Estrutura espacial do modelo. Em (a) temos parte da rede que mostra a estrutura do modelo, formado por aréolas justapostas separadas por veias. Em (b) temos a ampliação de uma unidade estomática, onde é mostrada a forma como esses sítios interagem através dos fluxos hídricos. 18

- 3.2 Ilustração da influência da pressão de turgor da epiderme na pressão osmótica da célula guarda. No compartimento das células guarda, o número de solutos (N_g) é maior do que o encontrado na epiderme (N_e) e a pressão de turgor (P_g) é menor, o que provoca um fluxo hídrico durante a equalização (potenciais químicos iguais) dos dois compartimentos. 23
- 3.3 Ilustração do mecanismo de movimentação da parede celular que provoca a variação da abertura do estômato. A quantidade de água (Ψ) existente nos dois compartimentos, a e b , é a mesma, sendo a pressão osmótica do compartimento b maior, devido ao grande número de solutos. Assim, a pressão de turgor P do compartimento a é maior do que a do compartimento b , gerando uma pressão resultante que provoca a expansão do compartimento a e a compressão do compartimento b 25
- 3.4 Influência do posicionamento em relação às veias para a abertura dos estômatos. O sítio (1,1) possui cinco vizinhos veia, o sítio (2,1) possui três vizinhos veia e o sítio (2,2) não possui vizinhos veia (interior da aréola). Nesta simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$ 30
- 3.5 Imagem da aréola. Podemos notar que os estômatos localizados nos “cantos” (5 vizinhos veia) obtiveram maior abertura, já os estômatos no interior da aréola (0 vizinhos veia) adquiriram uma condutância menor. 31
- 3.6 Condutância média para os diferentes valores de C_e . O transiente de uma aréola, onde todas as UEs possuem um alto valor de C_e , tem maior duração e oscila mais que o transiente das aréolas que possuem um valor menor de C_e 32

- 3.7 A condutância média no estado estacionário de uma única aréola como função de Δw . A condutância média decresce hiperbolicamente com o aumento do valor de Δw 33
- 3.8 Condutância média no estado estacionário em função da evaporação. . . . 34
- 3.9 Evolução temporal da condutância média da aréola para valores distintos de Δw . O transiente possui maior tempo para Δws menores. As características dos transientes das simulações com Δws pequenos e grandes são bastante diferentes entre si. 34
- 3.10 Condutâncias dos estômatos na aréola. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 15$ 35
- 3.11 Condutâncias dos estômatos na aréolas com condições iniciais aleatórias. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 15$, $-3,0 \leq \pi_g \leq -1,5$ e $-2,0 \leq \Psi_e \leq 2,0$ 35
- 3.12 Abertura dos estômatos da rede. Podemos notar que os sítios localizados no interior da aréola fecharam-se no estado estacionário. Somente os sítios mais próximos à borda permaneceram abertos. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 6$ 39
- 3.13 Imagens da rede. Em $T=0$, todos os estômatos da rede estão abertos, pois seus valores de Ψ são iguais. No tempo $T=200$, podemos observar a “onda de fechamento” dos estômatos, os sítios mais próximos às veias já estão fechados. Já no passo $T=800$, há um número maior de estômatos fechados e em $T=2000$, somente um pequeno número de estômatos ainda manteve-se aberto. Parâmetros da simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 0$ 41

- 3.14 Condutância de 4 UEs com posições diferentes em relação às veias, em uma aréola de tamanho 50×50 . A UE (4,4) ficou fechada no estado estacionário. Somente os três primeiros sítios vizinhos das veias obtiveram uma condutância não nula no estado estacionário, o que deixou um grande “miolo” de estômatos fechados na aréola. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 5$ 42
- 3.15 Evolução temporal da condutância média da folha para diferentes valores do parâmetro Δw . Podemos notar as características de prolongamento do período transiente para os valores menores de Δw , bem como o aumento das condutâncias médias no estado estacionário. Também colocamos os dados de condutância média para uma aréola simulada com $\Delta w = 0$ e percebemos que seu período transiente demorou mais de 500 passos. O valor da condutância média no estado estacionário desta aréola é, como já havíamos comentado, nulo. 43
- 3.16 Valores da condutância média da folha em função de Δw no estado estacionário. 44
- 4.1 No modelo de aréolas as veias estão localizadas nas bordas, permitindo que um sítio veia seja vizinho de no máximo três UEs (figura a esquerda). No modelo VA (figura a direita) há a possibilidade de um sítio veia ser vizinho de oito UEs, aumentando, em média, a condutância média da folha. 47

- 4.2 Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores do parâmetro Δw . Os valores do parâmetro Δw são os mesmos utilizados nas simulações da figura 3.15 para podermos verificar os aumentos dos valores da condutância no modelo VA. Para $\Delta w = 0$, podemos notar a diminuição do tempo do período transiente em comparação com o tempo encontrado na aréola gigante. A forma dos transientes dos dois modelos é bastante similar entre si. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $v = 8$ 49
- 4.3 Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro Δw . Os quadrados verdes representam os sítios veia e os raios dos círculos pretos são proporcionais as aberturas das UEs. Exceto para $\Delta w = 0$ que, conforme havíamos calculado, os estômatos se fecham no estado estacionário, o valor da condutância média da folha diminui com o aumento desse parâmetro. Nas imagens acima podemos verificar o decréscimo nas aberturas, verificando a diminuição da quantidade de estômatos abertos e também a diminuição dos graus de aberturas das UEs próximas às veias. As inhomogeneidades apresentadas são muito similares as observações experimentais do PSC, mas o estado estacionário é estático. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $v = 8$ 51
- 4.4 Evolução temporal das condutâncias das UEs para diferentes números de vizinhos veia. Como esperado, o valor das condutâncias é maior quanto maior for o número de vizinhos veia. Percebemos que neste novo arranjo há um aumento do espectro de número de vizinhos veia de uma determinada UE. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 20$ e $\Delta w = 10$ 52

- 4.5 Evolução temporal das condutâncias das UEs para diferentes distâncias em relação às veias. As condutâncias possuem menores valores, no estado estacionário, para os estômatos mais distantes das veias. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 10$ e $\Delta w = 10$ 52
- 4.6 Evolução temporal das condutâncias médias em relação ao parâmetro v . Como esperado, há um aumento dos valores das condutância média no estado estacionário. A variação do número de passos necessários para o sistema atingir o estado estacionário é menor quando comparada ao parâmetro Δw , que aumenta de forma mais pronunciada o transiente com valores menores. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$ 53
- 4.7 Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro v . Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$ 54
- 4.8 Rede 100×100 . Com um número maior de estômatos as regiões de coordenação são mais aparentes. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 5$ e $v = 10$ 55
- 4.9 Valores da condutância média da folha em função de Δw no estado estacionário. 56
- 4.10 Evolução temporal do potencial hídrico de alguns sítios. O sítio A é um EP vizinho à duas veias e a dois EPs, o sítio B é um EP vizinho à uma veia e a dois EPs, o sítio C é uma UE vizinha à uma veia e a três EPs, o sítio D é uma UE vizinha a dois EPs e o sítio E é uma UE vizinha a um EP. Note que os sítios que possuem maior número de veias e EPs como vizinhos ficam com um potencial hídrico maior no estado estacionário. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 5$, $v = 10$ e $e = 20$ 58

- 4.11 Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores do parâmetro Δw , em uma rede com EPs. Os valores do parâmetro Δw são os mesmos utilizados nas simulações da figura 3.15 e 4.2. Podemos perceber que ocorreu um ligeiro aumento das condutância médias com a inserção dos EPs. Esse aumento torna-se mais pronunciado se aumentarmos o valor do parâmetro e . As características do transiente, para o valor do parâmetro e utilizado, são muito similares a do modelo VA. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 8$ e $e = 10$ 59
- 4.12 Evolução temporal das condutâncias médias em relação ao parâmetro e . Com o aumento do valor desse parâmetro ocorre uma diminuição do percentual de UEs na rede. Percebemos, então, que há um grande incremento nos valores das condutâncias médias no estado estacionário. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 10$ e $v = 8$ 60
- 4.13 Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro e . Podemos perceber a existência de UEs abertas em regiões que estão distantes das veias. Essa característica fica mais evidente para altos valores de e . Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 10$ e $v = 10$ 62
- 4.14 Forma como os potenciais hídricos são calculados no modelo VA com abertura atrasada. 63
- 4.15 Evolução temporal das condutâncias médias no modelo VA com atraso na abertura para vários parâmetros distintos. Podemos perceber que todos os estado estacionários, para todos os diferentes parâmetros, são estáticos. . . 64
- 4.16 Gráfico das funções de abertura utilizadas no modelo para $d = 13$. A função $A_1(\Delta P)$ está representada pela curva verde e a função $A_2(\Delta P)$ pela curva vermelha. 67

- 4.17 Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de Δw .
As oscilações surgem para altos valores desse parâmetro, o que é coerente com observação experimental. Nestas simulações: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $v = 8$ 68
- 4.18 Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de Δw .
Nestas simulações utilizamos as funções de abertura com os valores dos parâmetros citados acima. Podemos notar que o comportamento do sistema, principalmente para baixos valores de Δw , é bastante diferente do obtido nas simulações da figura 4.17. Quando $\Delta w = 7$, ocorrem pequenas oscilações em torno de um comportamento médio, que também oscila no tempo. Este resultado é muito similar ao resultado experimental apresentado na figura 2.4. Nestas simulações: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $v = 8$ 69
- 4.19 Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de v .
Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $\Delta w = 10$ 70
- 4.20 Condutancia média para diferentes tamanhos de intervalo dos valores do parâmetro d . Podemos perceber que nos dois primeiros casos há oscilações no estado estacionário, e que ocorre uma diminuição na amplitude dessas oscilações conforme o tamanho do intervalo de valores de d diminua. Para $d = 0$ não há oscilação. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 20$ e $\Delta w = 15$ 71

- 4.21 As duas primeiras imagens mostram a evolução temporal das condutâncias médias com inicializações aleatórias e a terceira imagem mostra a evolução temporal da condutância média com os valores $\Psi_e = -0,75$ e $\pi_g = -2,25$ iguais para todas as UEs. Podemos notar que os estados estacionários são iguais nas três simulações. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 10$ 72
- 4.22 Imagem da rede no estado estacionário para 4 tempos consecutivos. Utilizamos, para melhor visualização, uma rede 10×10 nessa simulação. Os quadrados verdes representam os sítios veia, os azuis representam os EPs e os raios dos círculos pretos são proporcionais as aberturas das UEs. Podemos observar as oscilações através dos diferentes graus de abertura que as UEs adquirem nesses consecutivos tempos. Essas oscilações são similares as que ocorrem no fenômeno PSC. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 15$ 74
- 4.23 A primeira figura mostra a evolução temporal da condutância de uma UE que possui um sítio veia como primeiro vizinho. Podemos notar que sua condutância oscila rapidamente entre altos e baixos valores. A segunda figura nos mostra a condutância de uma UE que possui um sítio veia como seu segundo vizinho. O tempo que estas UEs ficam com uma abertura intermediária é um pouco maior. A terceira figura mostra uma UE que é terceira vizinha de um sítio veia, podemos notar que essa UE fica bastante tempo fechada quando comparada com as duas UEs acima, no entanto, quando se abre, atinge um valor de condutância, comparável a UE que é primeira vizinha de um sítio veia. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 15$ 75

-
- 4.24 Evolução temporal das condutâncias médias, no modelo que o valor d^i , de cada UE, varia no tempo, para diferentes valores de Δw . Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 25$ e $v = 15$ 76
- 4.25 Evolução temporal das condutâncias médias em simulações que o parâmetro d , de cada UE, é igual e constante no tempo, para diferentes valores de Δw . Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 25$ e $v = 15$ 77

I

INTRODUÇÃO

O controle das trocas gasosas nas plantas é possível através da abertura e fechamento de poros localizados na superfície das folhas chamados estômatos. Quando abertos, eles permitem a entrada de gás carbônico (CO_2) necessário para a fotossíntese e a saída de água por evaporação. Sob determinadas circunstâncias, como condições climáticas adversas, os estômatos estão sujeitos a duas tendências contraditórias: precisam abrir para permitir a captação de CO_2 e a evaporação (essencial para manter estável a temperatura das plantas e o fluxo de seiva bruta proveniente da raiz) e, ao mesmo tempo, precisam fechar para evitar a excessiva perda de água.

Estudos recentes, realizados por laboratórios de todo o mundo, revelaram que o comportamento dos estômatos, em algumas circunstâncias, nem sempre é homogêneo e nem sempre converge para um estado estacionário estático. Dependendo de fatores ambientais, como a disponibilidade hídrica e a umidade do ar, eles podem permanecer constantemente abertos, produzir um movimento oscilatório de abertura, um fechamento contínuo ou apresentar um complexo padrão espaço-temporal, com a aparente formação de “clusters” sincronizados, num fenômeno que ficou conhecido entre os botânicos como “Patchy Stomatal Closure” (PSC) [1].

Neste trabalho vamos apresentar e discutir um modelo matemático - baseado em teorias conhecidas pelos botânicos, relacionadas com os mecanismos que governam a abertura e o fechamento de um único estômato e o transporte de água na planta - que

pretende descrever como os estômatos se acoplam e conseguem se auto-organizar em “clusters” aparentemente sincronizados, dando origem aos complexos padrões espaço-temporais observados experimentalmente. Temos como principal objetivo encontrar qual ou quais mecanismos são capazes de produzir esse comportamento. Este estudo não se encerra nesta dissertação de mestrado, no futuro iremos estudar, através de técnicas usuais de formação de padrões, a dinâmica associada aos estômatos.

1.1 Formação de padrões espaciais

Acredita-se que em um grande conjunto de condições ambientais, como a luminosidade, a concentração de CO_2 na atmosfera, a temperatura do ambiente e etc., a abertura dos estômatos de uma folha segue uma distribuição normal, com simetria em relação à uma abertura média [2]. No entanto, sob algumas condições específicas, observa-se uma alteração desta distribuição [1]. Nessas situações, ocorre uma coordenação do comportamento dos estômatos em uma pequena região da folha, juntamente com uma completa descorrelação dessa região com suas adjacentes, gerando uma enorme diferenciação do comportamento e das aberturas médias entre regiões distantes na folha [3]. Este fenômeno ficou conhecido como “Patchy Stomatal Closure” (PSC) ou “Stomata Heterogeneity” (ver figura 1.1).

A descoberta deste fenômeno é relativamente recente, pois experimentos tradicionais permitiam apenas medir a condutância¹ média em uma região da folha, numa escala de observação maior do que aquelas onde se observa a coordenação dos estômatos. O desenvolvimento de técnicas experimentais novas, como a técnica de imagem de fluorescência da clorofila, juntamente com o conflito entre cálculos

¹A condutância está associada à troca gasosa e é proporcional a abertura dos estômatos.

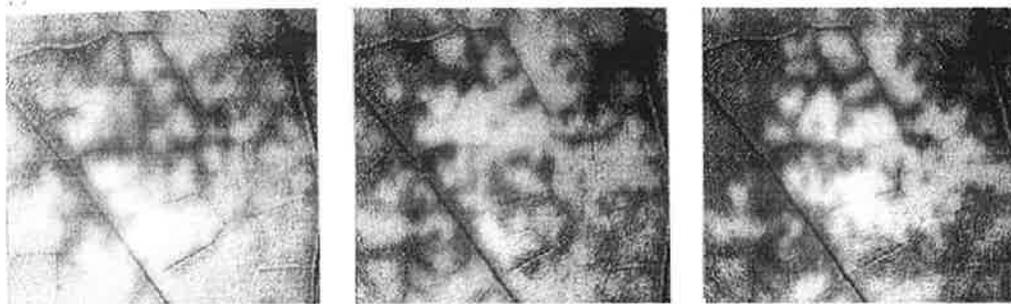


Figura 1.1: Dinâmica espaço-temporal da condutância dos estômatos associada ao fenômeno conhecido como “patchy stomatal closure”, induzida pela grande diferença de umidade relativa entre a planta e o meio ambiente. Essa figura foi obtida através da técnica de imagem de fluorescência e mostra três instantes distintos na mesma região da folha. Nas regiões mais escuras os estômatos encontram-se abertos e nas mais claras, mais fechados. Podemos notar que há regiões nas quais os estômatos estão com aberturas similares entre si, bem como uma grande diferença nos graus de abertura entre regiões adjacentes. Imagem reproduzida de [4].

bioquímicos e dados experimentais antigos mostraram a existência deste tipo de coordenação.

A importância de estudar esse fenômeno se deve, basicamente, a dois fatores:

1. Esse fenômeno pode afetar o cálculo da concentração intercelular de CO_2 , o que tem sérias implicações na interpretação de dados obtidos em experimentos de trocas gasosas;
2. O comportamento que os estômatos assumem neste fenômeno sugere a existência de um mecanismo de interação, até então desconhecido, que promove a sua coordenação em pequenas regiões da folha.

Não existe um consenso entre os biólogos no que se refere a uma definição precisa do fenômeno PSC. Uma das possíveis definições para esse fenômeno propõe que as variações (diferenças de abertura) que ocorrem em uma escala de observação maior

que uma aréola² qualifica a existência de “patchiness”. No entanto, esta não é uma definição consistente, pois existem em toda a extensão da folha diferentes tamanhos de aréolas e de densidades de estômatos, bem como diferentes condições hídricas, que formam gradientes de abertura estomática e provocam uma heterogeneidade que não pode ser caracterizada como um “patchiness”. Outra definição diz que o “patch” é uma pequena região da folha em que os estômatos coordenam o seu movimento, sendo este completamente distinto do dos estômatos localizados nas regiões adjacentes. Como não há dados experimentais sobre o comportamento individual dos estômatos (mesmo os experimentos com fluorescência captam o comportamento médio de uma certa região da folha) esta definição é pouco utilizada. A definição mais aceita atualmente estabelece que os padrões devem ter a aparência de um comportamento coordenado abaixo de um limiar de escala espacial juntamente com uma heterogeneidade em grandes escalas de observação [5]. De agora em diante associaremos “patches” a “regiões de coordenação dos estômatos (RCs)”.

Um dos primeiros estímulos conhecidos para a ocorrência das RCs foi a adição de ABA (ácido abscísico), que é um hormônio envolvido nos processos fisiológicos de plantas sob estresse hídrico. Atualmente sabe-se que muitos outros fatores podem fazer surgir esses padrões, tais como o estresse hídrico por falta de irrigação no solo ou baixa umidade, uma súbita mudança de luminosidade e etc ([6],[1],[7]).

Essas regiões, onde os estômatos estão sincronizados, podem variar em tamanho desde uma única aréola até alguns centímetros, sendo, em alguns tipos de folhas, delimitadas pela veias³ [6].

As características temporais apresentadas podem ser bastante complexas. Mui-

²Pequenas regiões da folha delimitadas pelo entrecruzamento das nervuras.

³Na realidade, este aspecto de delimitação pelas veias pode ser provocado pelas técnicas experimentais existentes, como em técnicas de infiltração de CO₂, em que o processo difusivo pode ser bloqueado pelas veias.

tas observações mostram que a abertura (condutância) média de algumas RCs podem oscilar enquanto que outras, na mesma folha, não oscilam [8]. A fase, o período e a amplitude dessas oscilações podem variar substancialmente entre essas regiões. Outras observações, no entanto, indicam a existência de RCs aparentemente não oscilantes, mas seus padrões se modificam com o tempo, ou seja, não há períodos e amplitudes de oscilação bem definidos [9]. Essa variabilidade de comportamento pode ser o resultado das diferenças das características médias dos estômatos em cada RC, ou talvez, a consequência da influência dominante de um certo número de estômatos dentro de uma região. Outra importante informação é que em folhas anfiestomáticas⁴ o padrão das RCs pode ser diferente nas duas superfícies da folha, sugerindo que o aparecimento desses padrões envolve somente a epiderme ou tecidos próximos à epiderme [10].

Não se sabe com certeza quais são os mecanismos responsáveis pelo surgimento das RCs, mas através de um grande número de experimentos e observações é possível obter suas características gerais. A observação de diferentes tamanhos e densidades de estômatos ao longo da folha parece excluir a possibilidade de que as RCs são o resultado dessa diversidade, pois se isto fosse verdade seu surgimento seria muito freqüente e persistiria para uma grande quantidade de condições. Entretanto existe uma grande quantidade de estímulos capazes de provocá-las, demonstrando que este fenômeno é inerente ao funcionamento natural dos estômatos e não um fato excepcional.

Os possíveis mecanismos, independentemente de quais sejam, devem produzir duas características importantes:

1. a coordenação do comportamento dos estômatos dentro da RC;

⁴Folhas que apresentam estômatos em sua superfície superior (adaxial) e inferior (abaxial).

2. a diferença do comportamento médio dos estômatos entre as RCs.

Existem várias hipóteses sobre os mecanismos que poderiam ser responsáveis pela coordenação. Um dos mecanismos poderia ser uma espécie de sinal generalizado, que afeta todos os estômatos, propagando-se através de um processo difusivo em uma área específica, tornando o comportamento destes estômatos similar. O ABA, o AIA⁵, íons de potássio, a concentração intercelular de CO₂ são componentes bioquímicos que poderiam realizar esta função. O outro mecanismo poderia ser uma espécie de interação local, na qual um estômato interfere no comportamento dos estômatos adjacentes à ele, fazendo com que esses estímulos se propaguem em uma região.

A aparente delimitação das aréolas pelas veias, que possuem grande potencial hídrico, juntamente com a rápida resposta dos estômatos a estímulos hidráulicos e a lenta difusibilidade dos sinais bioquímicos sugerem que o mecanismo de interação hidráulica seja um dos principais candidatos para a coordenação dos estômatos.

Nesta dissertação iremos estudar um modelo baseado num mecanismo de interação hidráulica, onde o transporte de água através da folha ocorre essencialmente pelas diferenças de potenciais hídricos⁶.

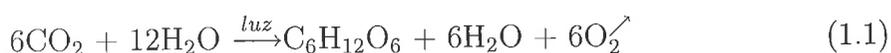
1.2 Morfologia e fisiologia dos estômatos

A fotossíntese, descrita pela equação 1.1, é o mecanismo fundamental de aquisição de energia nos vegetais. Esta ocorre na maioria das plantas, as que possuem clorofila, sendo a água, a luz e o gás carbônico os elementos fundamentais para a realização

⁵Ácido Indol Acético - função antagônica ao ABA.

⁶Pressões de água.

desse processo. A aquisição da água é realizada pelas raízes através do solo, gerando um fluxo de seiva bruta (água e sais minerais) que chega até as folhas pelos vasos condutores contidos no xilema⁷. Mas o que move a seiva bruta para cima, fazendo com que suba das raízes até a folha? A teoria de coesão tensão-transpiração ou teoria de Dixon é a mais aceita para explicar o transporte de seiva bruta na planta. Ela está baseada no fato de que, ao perder água por evaporação, as folhas exercem uma força de sucção que garante a ascensão de uma coluna de água pelo corpo do vegetal. Até 90% da água absorvida pelas raízes chega a ser perdida por evaporação, e apenas o restante é consumido na reação da fotossíntese. Dependendo da disponibilidade de água e da umidade do ambiente, essa perda de água precisa de algum modo ser controlada para evitar a desidratação da planta.



O tecido celular que recobre as folhas é chamado epiderme. Este tecido é permeável aos gases e devido à essa permeabilidade, a folha, se estivesse em contato direto com o meio ambiente, poderia perder um grande volume de água na forma de vapor. A solução encontrada na natureza para esse problema foi a produção de uma camada cerosa (material lipídico), chamada cutícula, que reveste a superfície das folhas. Entretanto se essa camada lipídica cobrisse toda a superfície da folha limitaria ou mesmo impediria a absorção de CO_2 e a perda de água por evaporação, fazendo, dessa forma, com que o processo de ascensão da seiva bruta não ocorra, inviabilizando a manutenção da temperatura da planta e a fotossíntese.

Para garantir a aquisição de CO_2 e também o controle da perda de água existem, em praticamente todas as folhas, poros epidérmicos que funcionam como válvulas

⁷Tecido responsável pelo transporte de água e sais minerais através do corpo do vegetal.

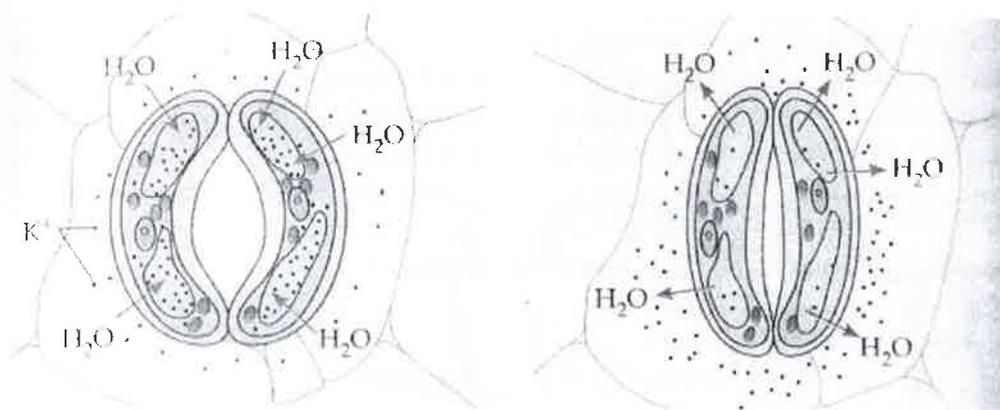


Figura 1.2: Morfologia do estômato.

reguláveis. Esses poros, que controlam as trocas gasosas da planta com o ambiente, são chamados estômatos. A densidade superficial média de estômatos na folha varia bastante entre espécies, mas para dar uma idéia de ordem de grandeza poderíamos colocar um intervalo de valores entre 30.000 a 50.000/cm².

Quando a planta está em um ambiente muito seco e com escassez de água no solo, as observações experimentais mostram que, em geral, uma grande quantidade de estômatos se fecham, impedindo que a planta perca água para o ambiente, não captando CO₂ da atmosfera. No entanto, quando a planta está em um ambiente úmido, observa-se uma grande quantidade de estômatos abertos, pois não há a possibilidade da planta se desidratar, captando, desta forma, o CO₂.

Um estômato possui duas células com morfologia similar a dois grãos de feijão, sendo estas dispostas de tal forma que suas concavidades ficam posicionadas frente a frente (ver figura 1.2) formando uma fenda estomática, chamada ostíolo. Essas células são chamadas *células guardas*.

As células guardas são células vegetais diferenciadas, suas paredes apresentam uma estrutura bastante complexa, com variações de espessura, sendo a região interna

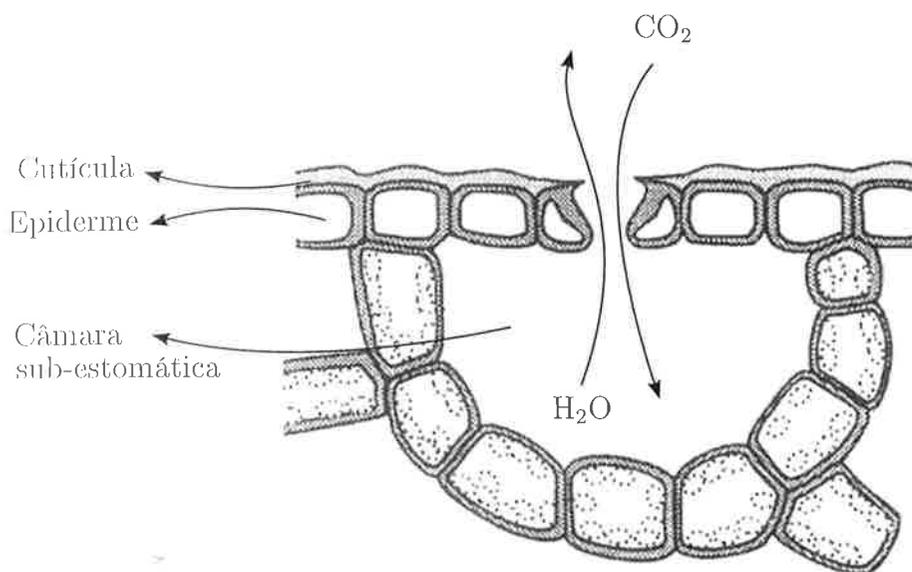


Figura 1.3: A região abaixo do estômato (abertura na superfície) é a câmara sub-estomática, onde se concentram os gases trocados entre a planta e o ambiente.

(próxima ao ostíolo) a mais espessa (menos flexível). Esta variação produz alterações na forma geométrica da célula quando esta enche-se de água (ficando túrgida) ou esvazia-se (ficando flácida) [11].

Abaixo da superfície epidérmica existe, em cada estômato, uma câmara sub-estomática (ver figura 1.3) responsável por armazenar os gases (vapor de água e CO_2) trocados com o ambiente. Esta câmara está em estreito contato com a parte lacunar do mesófilo ⁸ (ver figura 1.4), que é a região interior da folha. A água chega até a câmara sub-estomática partindo das veias e circulando por essa região lacunar.

⁸O mesófilo se compõe basicamente de 2 partes: a primeira, chamada parênquima paliádico, na qual as células estão unidas, ou seja, não há espaço intercelular, a outra parte chama-se parênquima lacunoso ou esponjoso, onde há grande espaço entre as células por onde os gases se difundem.

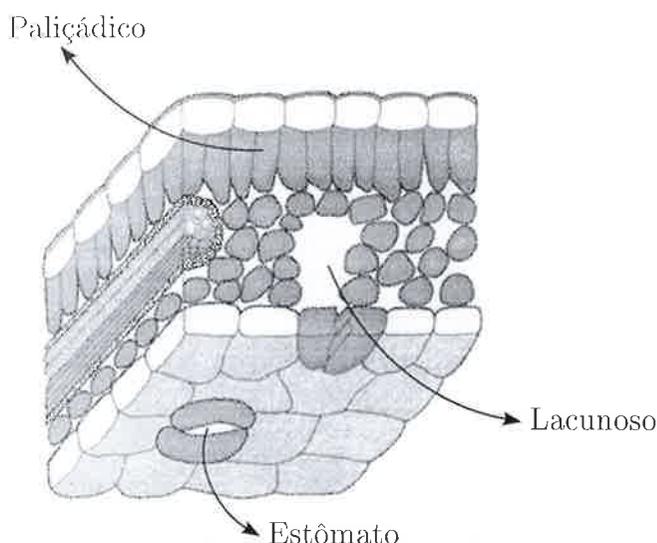


Figura 1.4: O mesófilo. A região superior, onde as células estão muito próximas, chama-se parênquima paliçáda. A região abaixo, onde podemos notar que há um grande espaço intercelular, chama-se parênquima lacunoso. Este nome refere-se às lacunas existentes entre as células que permitem a difusão dos gases no mesófilo.

Quando a reposição de água, realizada pelas células epidérmicas ao redor das guardas, chamadas de células subsidiárias, for inferior à taxa de transpiração, que é relacionada com a quantidade de água perdida para o ambiente, as células guardas se esvaziam e o estômato se fecha, impedindo a excessiva perda de água. Na situação contrária, em que há uma reposição suficiente de água, as células guardas ficam túrgidas e o estômato abre.

A figura 1.5 ilustra o processo de abertura e fechamento dos estômatos, que pode ser comparado com o de uma câmara pneumática com um revestimento interno mais espesso. Quando a câmara fica cheia de ar, a parte mais externa (revestimento mais fino) curva-se acentuadamente, esticando toda estrutura da câmara. A parte mais espessa possui pouca flexibilidade e, desta forma, a câmara fica com um formato curvo com uma abertura no centro.

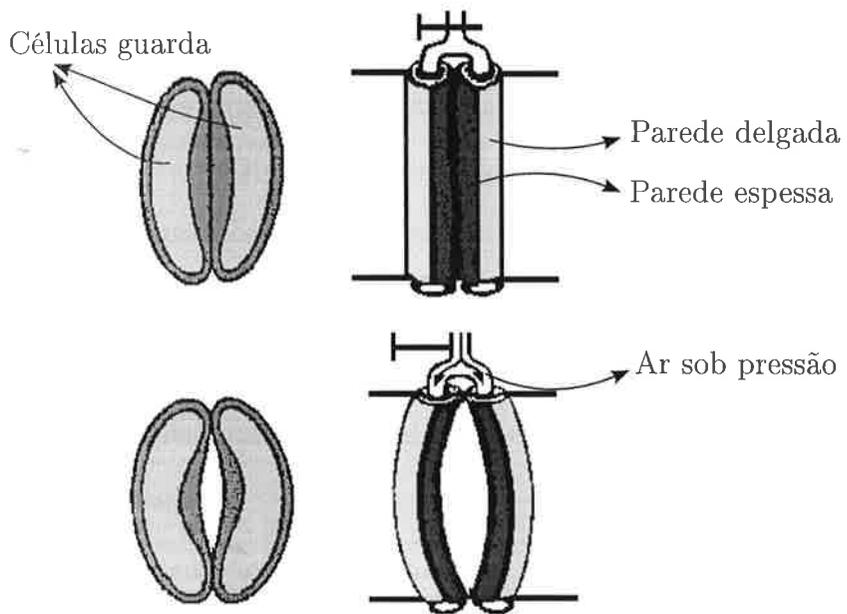


Figura 1.5: Mecanismo de abertura ou fechamento dos estômatos.

II

ALGUNS RESULTADOS EXPERIMENTAIS

Neste capítulo iremos apresentar e discutir alguns resultados experimentais sobre a dinâmica dos estômatos. É importante notar que existe uma grande diversidade de comportamento, que depende de uma enorme quantidade de fatores, como intensidade de luz, temperatura, concentração de CO_2 , umidade relativa do ar, condição hídrica do solo, etc. Portanto, queremos ressaltar que os dados experimentais apresentados neste capítulo procuram evidenciar essa diversidade de comportamento.

A figura 2.1 mostra a série temporal da condutância média da folha *Xanthium strumarium*. Podemos observar que após um pico inicial, a condutância média tende a se estabilizar em um valor constante.

Na figura 2.2 temos a série temporal da condutância média de uma folha de girassol. Podemos perceber, que apesar de ocorrer um pico inicial, como ocorreu nos dados da figura 2.1, o seu comportamento é bastante diferente, onde há pequenas oscilações em torno de um comportamento médio que não é constante no tempo.

A figura 2.3 mostra a transpiração da folha e a condutância média em função da diferença da pressão de vapor de água entre a folha e o ambiente, para dois valores de pressão parcial de CO_2 (3, 5 e 35 Pa). Podemos observar que a condutância média decresce hiperbolicamente com o aumento do valor da diferença da pressão de vapor de água.

Na figura 2.4 mostramos outro tipo de comportamento da série temporal da

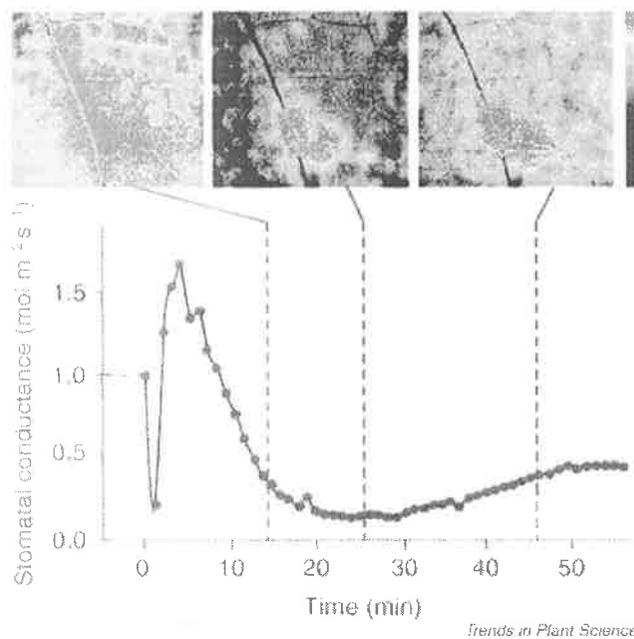


Figura 2.1: Série temporal da condutância média dos estômatos da planta *Xanthium strumarium*. Este resultado foi obtido através de um experimento de trocas gasosas, em que, no instante $t = 0$, o valor da umidade do ambiente foi diminuído de 37 mmol mol^{-1} para 18 mmol mol^{-1} . Acima, temos imagens de fluorescência da clorofila para alguns instantes específicos. Este resultado foi obtido de [12].

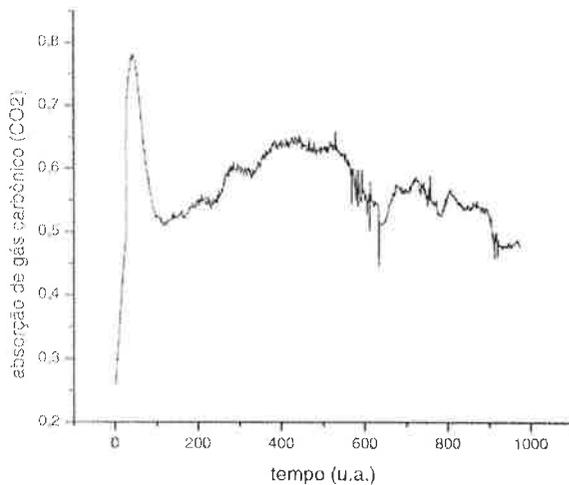


Figura 2.2: Série temporal da condutância média dos estômatos de uma folha de girassol. O intervalo de tempo entre os pontos é 20s. Este resultado foi obtido de [13].

condutância média, em uma folha anfiestomática. Podemos observar que, apesar de também existir pequenas oscilações em torno de um comportamento médio, este comportamento médio, agora, apresenta uma oscilação mais regular, com um período mais constante. Podemos observar que o comportamento médio das duas superfícies estomáticas também apresenta uma oscilação regular, e essas oscilações estão em fase, fazendo com que o efeito na condutância média da folha se amplifique.

Os resultados mostrados nos dão uma idéia da diversidade de comportamento existente para a dinâmica estomática, nas quais encontramos comportamentos estacionários estáticos, comportamentos oscilatórios com um período constante e comportamentos oscilatórios bastante irregulares. Todas essas características de comportamento dependem de uma série de fatores, mas é importante frisar que estas dinâmicas são observadas em condições bastante gerais, em um número muito grande de plantas. Nos capítulos seguintes, mostraremos os resultados obtidos pelos modelos matemáticos, que irão reproduzir muitas das características observadas em

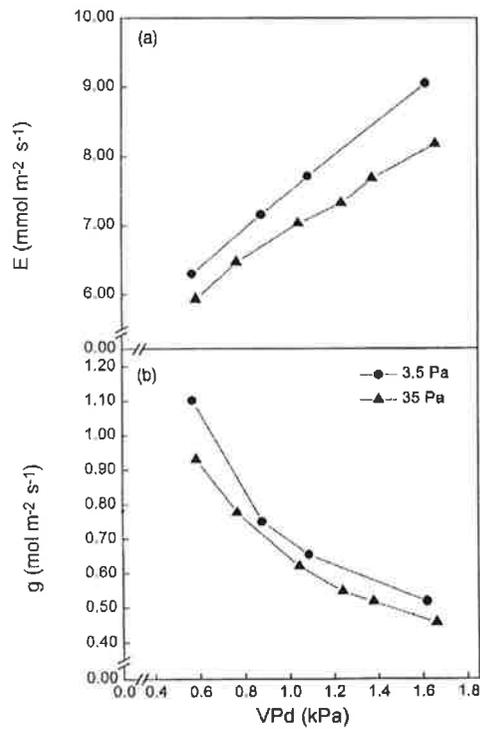


Figura 2.3: A figura (a) mostra a transpiração da folha como função da diferença da pressão de vapor de água entre a folha e o ambiente, para dois valores de pressão parcial de CO_2 . A figura (b) mostra a condutância média em função da diferença da pressão de vapor de água entre a folha e o ambiente, para dois valores de pressão parcial CO_2 . Estes resultados foram obtidos de [14].

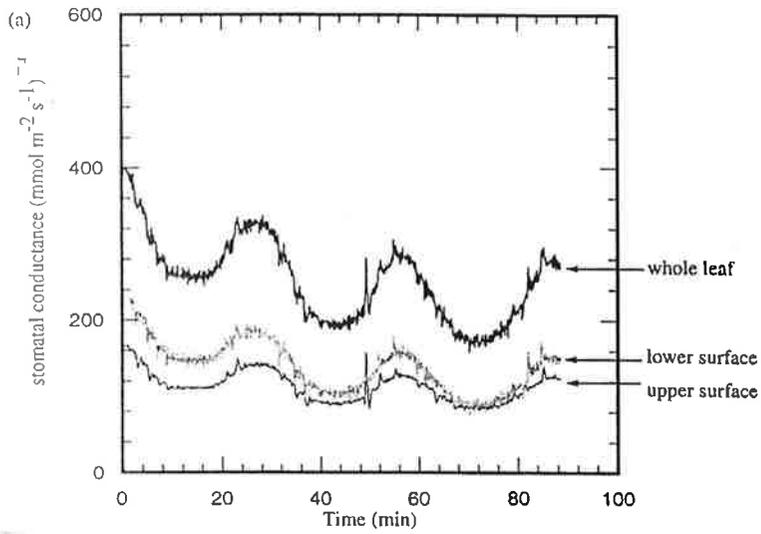


Figura 2.4: Série temporal da condutância média de uma folha anfistomática da planta *H. annuus*. Este resultado foi obtido de [8].

experimentos.



MODELO DE ARÉOLAS

3.1 Introdução

Muitos modelos sobre o funcionamento dos estômatos foram elaborados, variando em sua abordagem e seus objetivos. Alguns modelos, bastante detalhados, sobre os mecanismos que controlam o comportamento de um único estômato ([15]) foram criados, prevendo o seu comportamento estacionário e não estacionário. No entanto, esses modelos são geralmente muito complexos, pois possuem um enorme conjunto de parâmetros que são extremamente difíceis de serem obtidos com acurácia através de medidas experimentais. O uso deste tipo de modelo como base para o estudo de padrões espacialmente dinâmicos na folha é pouco útil, pois os aspectos subjacentes de um possível mecanismo de coordenação não são destacados, tornando difícil o estudo da formação das RCs.

Como foi comentado na seção 1.1, embora existam muitas hipóteses possíveis para a formação e persistência das RCs, a interação hidráulica aparentemente é a hipótese mais forte sobre o mecanismo que geraria essa coordenação e o modelo estudado neste capítulo sustenta-se basicamente nesse fato. Utilizando apenas o fluxo hídrico entre sítios vizinhos e mecanismos bastante conhecidos e gerais sobre o funcionamento dos estômatos, Haefner e colaboradores [4] propuseram, em 1997, um modelo que, daqui em diante, será denominado modelo de aréolas e que aparentemente seria capaz de reproduzir os padrões dinamicamente complexos observados

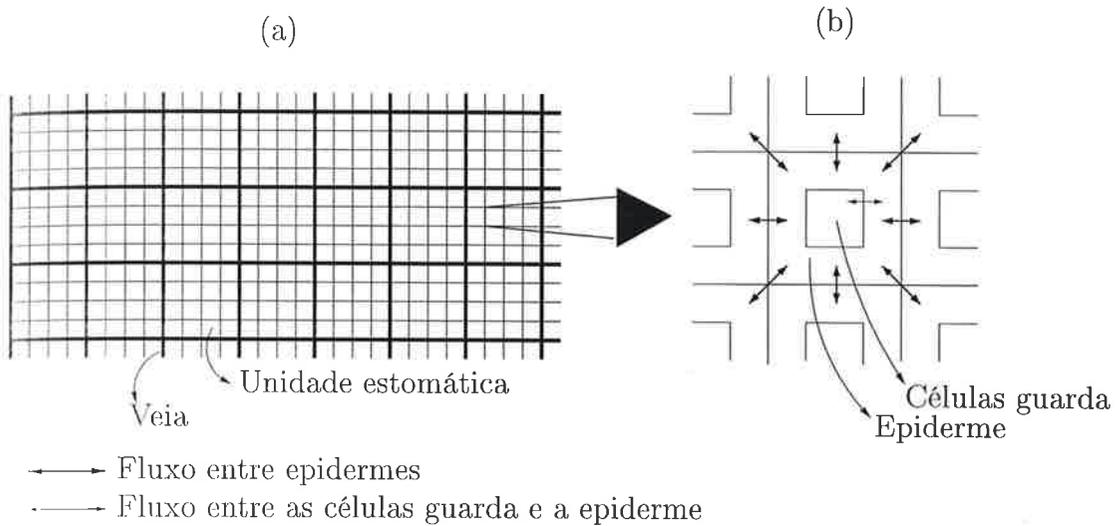


Figura 3.1: Estrutura espacial do modelo. Em (a) temos parte da rede que mostra a estrutura do modelo, formado por aréolas justapostas separadas por veias. Em (b) temos a ampliação de uma unidade estomática, onde é mostrada a forma como esses sítios interagem através dos fluxos hídricos.

experimentalmente. Outros fatores como a luz, concentração de CO_2 e temperatura foram desconsiderados e, por simplificação, fez-se uso de relações lineares ao invés de não-lineares em grande parte das variáveis que regem o modelo. A seguir, vamos descrever o modelo de aréolas em detalhe.

3.1.1 Estrutura espacial

O modelo é composto por um sistema de equações de diferenças finitas definidas em uma rede quadrada, sendo que essas equações descrevem a dinâmica em cada sítio da rede (unidade estomática - UE) e a interação deste com seus vizinhos. É um modelo de mapas acoplados. A figura 3.1 mostra a estrutura espacial (ou geométrica) do modelo e as interações consideradas.

A folha é formada pela justaposição de aréolas, sendo que cada aréola possui 16 (4×4) unidades estomáticas (UEs) e é delimitada pelas veias. Todas as UEs

possuem oito sítios vizinhos (vizinhança de Moore), mas suas posições na aréola determinam o tipo dos vizinhos que as cercam. Existem UEs com cinco, três e zero sítios vizinhos definidos como veia, o que gera diferenças em seus suprimentos hídricos. Cada UE é composta por um par de células guarda envolvidas por tecido epidérmico (várias células epidérmicas). Há portanto, em cada UE, um sítio de evaporação. São consideradas as interações entre cada UE e suas vizinhas, bem como no interior de uma UE, entre as células guarda e a epiderme.

3.1.2 Hipóteses do modelo

As hipóteses abaixo descritas são a base para as equações que definirão o comportamento do modelo de aréolas. Elas tentam sintetizar aspectos fundamentais do que se sabe experimentalmente sobre a estrutura mecânica das células que compõe o estômato, bem como o comportamento deste sob diversas condições observadas. Essas hipóteses são compatíveis, segundo os autores [4], com as observações experimentais.

1. A abertura dos estômatos é proporcional à diferença entre as pressões de turgor¹ das células guarda e da epiderme, sendo que a pressão de turgor da epiderme possui maior influência na abertura estomática do que a pressão de turgor das células guarda. O grau de influência de turgor da epiderme varia ligeiramente entre os estômatos de toda a folha.
2. O fluxo de água parte do xilema, que possui um potencial hídrico alto e constante, em direção ao sítio de evaporação no interior da folha. O fluxo ocorre devido a diferenças de potenciais hídricos, sendo o potencial hídrico do sítio de evaporação reduzido através da evaporação.

¹ Pressão intercelular gerada pela presença da parede celular.

3. O caminho exato que o fluxo hídrico percorre do xilema ao sítio de evaporação e a quantidade de vapor de água contida no mesófilo e epiderme são desconhecidos, ou seja, não há como discriminar a quantidade de vapor de água existente em cada um desses locais. Neste modelo os locais precisos dos sítios de evaporação não são especificados e assumiu-se que estes sítios estão em contato muito próximo com a epiderme, ou seja, os potenciais hídricos do mesófilo, da epiderme e das células guardas são considerados os mesmos.
4. A pressão osmótica das células guarda depende do potencial hídrico do sítio de evaporação, possibilitando a existência de um mecanismo de resposta para as mudanças da umidade relativa do ar, com uma ativa regulagem à essa variável.
5. O fluxo hídrico ocorre devido aos gradientes de potencial hídrico entre os compartimentos de água (UEs) vizinhos.

3.1.3 Equações do modelo

Um conjunto de equações foi elaborado com base nessas 5 hipóteses. Cada equação descreve a dinâmica de uma unidade estomática (UE), identificada pelo índice i .

O potencial hídrico Ψ_e^i , de uma determinada UE, é função do fluxo de água F_e que entra ou sai dessa UE através das trocas com as UEs vizinhas e também da perda de água devido à evaporação E .

$$\frac{d\Psi_e^i}{dt} = c(F_e^i - E^i), \quad (3.1)$$

onde c é um parâmetro cinético que, além de definir a velocidade do processo, é uma constante de proporcionalidade.

Esta equação foi transformada em uma equação de diferenças finitas, tornando mais fácil a computação numérica.

$$\Psi_{e,t+1}^i = \Psi_{e,t}^i + cF_{e,t}^i - cE_t^i. \quad (3.2)$$

De acordo com as hipóteses 2 e 5, o fluxo de uma determinada UE é definido como a diferença entre os potenciais hídricos dessa UE e de suas n UEs vizinhas. No modelo foi considerada a chamada vizinhança de Moore, onde cada sítio possui 8 vizinhos.

$$F_e^i = \sum_{j=1}^n (\Psi_e^j - \Psi_e^i), \quad (3.3)$$

onde o superescrito j refere-se às unidades estomáticas vizinhas a um determinado sítio i .

A evaporação E é definida como o produto da condutância do estômato g com a diferença de fração molar de vapor de água entre a planta e o ambiente Δw .

$$E^i = g^i \Delta w. \quad (3.4)$$

A condutância estomática g , por sua vez, é proporcional à abertura do estômato A :

$$g^i = qA^i, \quad (3.5)$$

onde q é um fator de escala empírico.

A abertura estomática A é definida como a diferença entre as pressões de turgor das células guarda P_g e da epiderme P_e , de acordo com a hipótese 1:

$$A^i = \begin{cases} C_g^i P_g^i - C_e^i P_e^i & \text{se } C_g^i P_g^i > C_e^i P_e^i \\ 0 & \text{caso contrário,} \end{cases} \quad (3.6)$$

onde C_e e C_g são os coeficientes de influência mecânica da epiderme e das células guarda, respectivamente. Através desses coeficientes é possível inserir no modelo a heterogeneidade das respostas dos estômatos da folha, observadas experimentalmente. Geralmente $C_e > C_g$, de acordo com hipótese 1, o que implica em uma maior influência da pressão de turgor das células da epiderme na abertura do estômato. Sem perda de generalidade pode se considerar $C_g = 1$. C_e é então medido em unidades de C_g .

As pressões de turgor das células guarda e da epiderme são as diferenças entre os respectivos potenciais hídricos e pressões osmóticas:

$$P_g^i = \begin{cases} \Psi_g^i - \pi_g^i & \text{se } \pi_g^i < \Psi_g^i \\ 0 & \text{caso contrário.} \end{cases} \quad (3.7)$$

O cálculo das pressões de turgor da epiderme é feito de forma análoga. Os potenciais hídricos (Ψ s) das células guarda e da epiderme foram considerados iguais em todo o processo ($\Psi_e = \Psi_g$), de acordo com a hipótese 3, e a pressão osmótica da epiderme π_e é suposta constante e igual a -1,5 MPa.

De acordo com a hipótese 4, a pressão de turgor da epiderme (P_e) interfere metabolicamente no cálculo da pressão osmótica das células guarda π_g , pois seu aumento impulsiona a entrada de solutos para dentro destas células, provocando o aumento da pressão osmótica. Este mecanismo foi introduzido no modelo através de uma variável chamada pressão osmótica estacionária da célula guarda $\pi_{g,ss}$, que representa o valor para o qual π_g tende assintoticamente. Esta variável possui duas

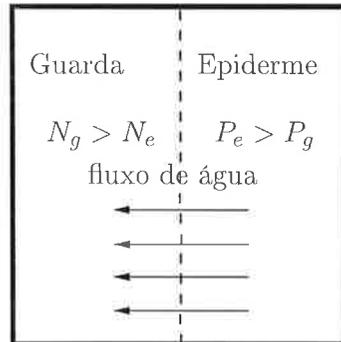


Figura 3.2: Ilustração da influência da pressão de turgor da epiderme na pressão osmótica da célula guarda. No compartimento das células guarda, o número de solutos (N_g) é maior do que o encontrado na epiderme (N_e) e a pressão de turgor (P_g) é menor, o que provoca um fluxo hídrico durante a equalização (potenciais químicos iguais) dos dois compartimentos.

importantes funções no modelo: (1) possibilita uma ativa resposta das células guarda às mudanças que ocorrem no potencial hídrico das células epidérmicas, na verdade da UE como um todo, e (2) coloca uma espécie de “retardo” nessas respostas, pois os processos bioquímicos não ocorrem de forma instantânea. A velocidade dessa resposta é dada por um parâmetro cinético α , que veremos a seguir. A pressão osmótica do estado estacionário, para qual π_g converge, é definida como:

$$\pi_{g,ss}^i = \pi_g^{min} + \left(\frac{P_e^i}{P_{max}^i}\right)(\pi_g^{max} - \pi_g^{min}). \quad (3.8)$$

A figura 3.2 nos mostra o processo osmótico que ocorre, no qual o fluxo hídrico entra no compartimento das células guardas, que possui maior número de solutos, fazendo com que as concentrações (potenciais químicos) dos dois compartimentos se equalizem. A equalização faz com que a pressão de turgor das células epidérmicas diminua e conseqüentemente a pressão osmótica assintótica das células guarda. Quanto menor for o valor da pressão osmótica das células guarda maior será a tendência à abertura do estômato.

A figura 3.3 é uma ilustração que demonstra como a pressão resultante em uma interface pode gerar a compressão e a expansão dos compartimentos que constituem um sistema. Esta ilustração pode ser interpretada como a “disputa” que ocorre entre as pressões de turgor das células guarda e da epiderme, que pode causar a expansão da parede celular da célula guarda e conseqüentemente a compressão da parede celular da epiderme, provocando a abertura do estômato. Supondo que os potenciais hídricos Ψ s dos dois compartimentos sejam iguais (mesma quantidade de água) e a pressão osmótica do compartimento b seja maior, devido ao maior número de solutos, temos que a pressão de turgor exercida pelo compartimento a na parede celular que divide os dois compartimentos (interface) é maior, causando a expansão deste compartimento.

A evolução temporal da pressão osmótica da célula guarda (π_g) é proporcional à diferença entre seu valor limite estacionário e o seu valor atual ($\pi_{g,ss}^i$), tornando a aproximação de π_g para o valor estacionário tão mais rápida quanto maior for essa diferença:

$$\frac{d\pi_g^i}{dt} = \alpha(\pi_{g,ss}^i - \pi_g^i). \quad (3.9)$$

Esta equação também foi transformada em uma equação de diferenças finitas como segue abaixo:

$$\pi_{g,t+1}^i = \pi_{g,t}^i + \alpha\pi_{g,ss,t}^i - \alpha\pi_{g,t}^i, \quad (3.10)$$

onde α é um parâmetro que define a duração do passo de integração.

Como $\Psi_g = \Psi_c$ e $\pi_c = \text{constante}$, temos, na prática, duas variáveis para considerar. Resumindo então, temos para cada UE:

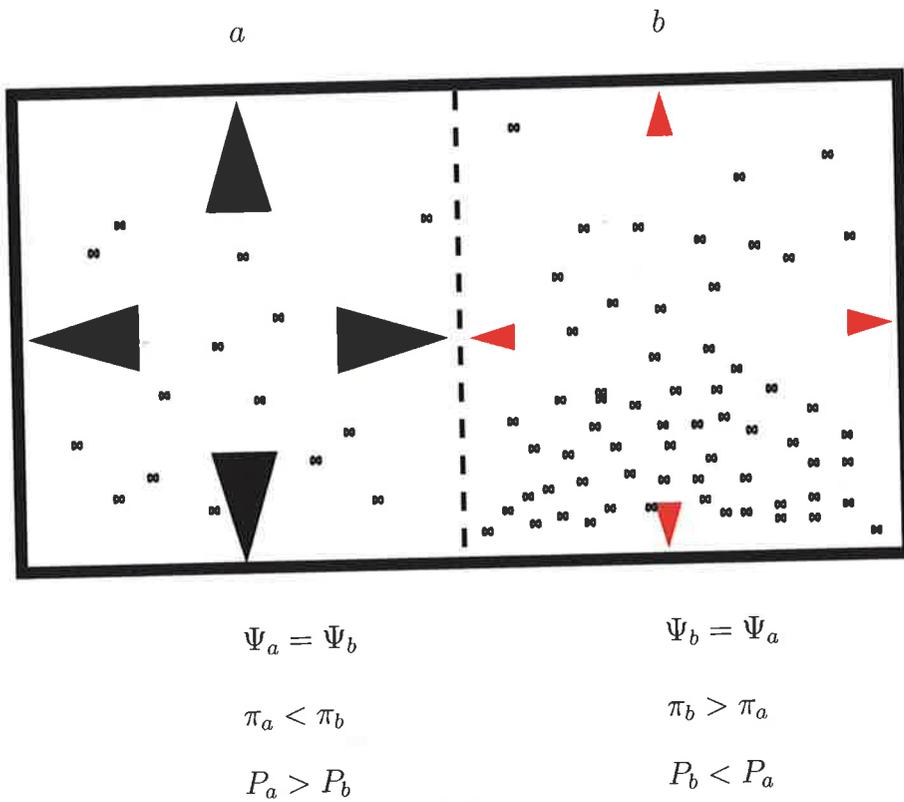


Figura 3.3: Ilustração do mecanismo de movimentação da parede celular que provoca a variação da abertura do estômato. A quantidade de água (Ψ) existente nos dois compartimentos, *a* e *b*, é a mesma, sendo a pressão osmótica do compartimento *b* maior, devido ao grande número de solutos. Assim, a pressão de turgor P do compartimento *a* é maior do que a do compartimento *b*, gerando uma pressão resultante que provoca a expansão do compartimento *a* e a compressão do compartimento *b*.

$$\begin{cases} \Psi_{c,t+1}^i = \Psi_{c,t}^i + c[F_{c,t}^i - E_t^i] \\ \pi_{g,t+1}^i = \pi_{g,t}^i + \alpha[\pi_{g,ss,t}^i - \pi_{g,t}^i] \end{cases} \quad (3.11)$$

com $F_{c,t}^i$, E_t^i e $\pi_{g,ss,t}^i$ definidos pelas equações 3.3, 3.4 e 3.8 respectivamente.

Este sistema de equações acopladas, coerente com as hipóteses enunciadas anteriormente, foi simulado em diferentes situações na tentativa de elucidar a influência dos diferentes parâmetros do modelo no comportamento dos estômatos.

Em [4], Haefner e colaboradores deram como resultado de suas observações do modelo, quando este foi simulado com uma distribuição aleatória dos valores de C_e , a existência da formação de regiões de coordenação (RCs), sendo que para Δw alto ocorrem oscilações, variando espacialmente as regiões de coordenação (RCs), sugerindo a dinâmica do PSC observada experimentalmente. Quando as simulações foram realizadas com os parâmetros espacialmente idênticos, os autores observaram que todas as aréolas se comportaram identicamente e para altos valores de Δw surgiram as oscilações. O parâmetro cinético c e o intervalo de valores de C_e utilizados em [4] são diferentes dos utilizados por nós. Na seção seguinte, mostraremos os parâmetros por nós utilizados e mais adiante daremos a justificativa para a utilização desses.

3.1.4 Parâmetros do modelo

Muitos parâmetros utilizados nas simulações foram extraídos de [4], que segundo os autores consta na literatura. Entretanto, os parâmetros cinéticos c e α foram ajustados de forma que os resultados parecessem qualitativamente razoáveis quando comparados aos dados experimentais que foram divulgados em [4].

A tabela 3.1 mostra a lista dos parâmetros que foram utilizados.

Parâmetro	Definição	Utilizado
c	parâmetro cinético da condutividade hidráulica	0,008
C_g	coeficiente mecânico da célula guarda	1,0
C_e^{min}	coeficiente mecânico mínimo da epiderme	1,5
C_e^{max}	coeficiente mecânico máximo da epiderme	1,7
θ	C_e/C_g	variável
Δw	diferença de fração molar de vapor de água entre a folha e o meio ambiente ($\times 10^{-3}$)	variável
π_e	pressão osmótica da epiderme	-1,5 MPa
π_g^{min}	pressão osmótica mínima da célula guarda	-3,0 MPa
π_g^{max}	pressão osmótica máxima da célula guarda	-1,5 MPa
P_e^{max}	pressão de turgor máxima da epiderme	1,5 MPa
α	taxa de bombeamento de íons	0,1

Tabela 3.1: Valores dos parâmetros utilizados nas simulações.

Em [4], foi utilizada uma distribuição triangular para os valores de C_e , com um mínimo em 1,35 e um máximo em 2,0, a moda da distribuição foi 1,56. Nós utilizamos uma distribuição homogênea dentro do intervalo [1,5...1,7]. Os resultados obtidos com essa simplificação foram bastante similares aos obtidos em [4], como veremos.

3.2 Interface gráfica

Para analisarmos e termos uma melhor intuição sobre o comportamento das UEs na rede, construímos uma interface gráfica utilizando a biblioteca “g2 graphical library”. Esta biblioteca permite a criação de figuras bi-dimensionais e suporta diversos tipos de saídas. Assim, pudemos observar a evolução do sistema em tempo real e também gerar figuras Postscript que, como veremos na próxima seção, auxiliam a visualização da rede e a compreensão da dinâmica do modelo.

A representação gráfica do modelo é simplesmente uma grade, onde cada célula representa uma UE e em cada UE há um círculo cujo raio representa o grau de abertura do estômato. O raio do círculo pode variar com a evolução do sistema, dando-nos a informação da dinâmica do modelo, ou seja, uma interpretação gráfica da mudança dos valores da abertura de cada estômato.

O uso dessa interface gráfica auxiliou e motivou o nosso estudo sobre este problema.

3.3 Resultados

Nesta seção apresentaremos e discutiremos o comportamento do modelo de aréolas tal qual proposto em [4]. Reproduzir e entender este modelo foi o primeiro passo desse trabalho. Destacaremos seus resultados, fazendo observações sobre sua dinâmica para diferentes valores dos parâmetros, tanto na distribuição idêntica como aleatória destes na rede. Em seguida apresentaremos uma seção de críticas à esse modelo.

Nas simulações com parâmetros espacialmente idênticos, todas as unidades estomáticas foram definidas com os mesmos coeficientes mecânicos C_e e as mesmas condições iniciais ($\Psi_e = \Psi_g = -0,75$ e $\pi_g = -2,25$)².

Como a rede é construída a partir da justaposição de subsistemas (aréolas) idênticos, que não interagem entre si (o potencial hídrico das veias é constante), obviamente o estado estacionário de todas as aréolas foram idênticos. Assim, não há a “sincronização” relatada em [4].

Verificou-se, no estado estacionário, que, em cada aréola, as UEs com maior número de vizinhos veia apresentavam maior condutância estomática (abertura), pois o fluxo hídrico positivo nesses sítios é maior (ver figura 3.4).

As oscilações observadas em [4], para grandes valores de Δw ($\Delta w > 15$), também foram reproduzidas por nós. No entanto, constatamos que esse comportamento é o resultado da imprecisão numérica relacionada ao uso de um passo de integração muito grande, embutido no valor do parâmetro c , o que provoca uma grande variação do fluxo entre dois tempos consecutivos para um determinado sítio, fazendo com que ocorra oscilações em torno do ponto de equilíbrio. Colocando valores menores do passo de integração, percebemos que as amplitudes das oscilações diminuiram até o

²Essas foram as mesma condições iniciais utilizadas em [4].

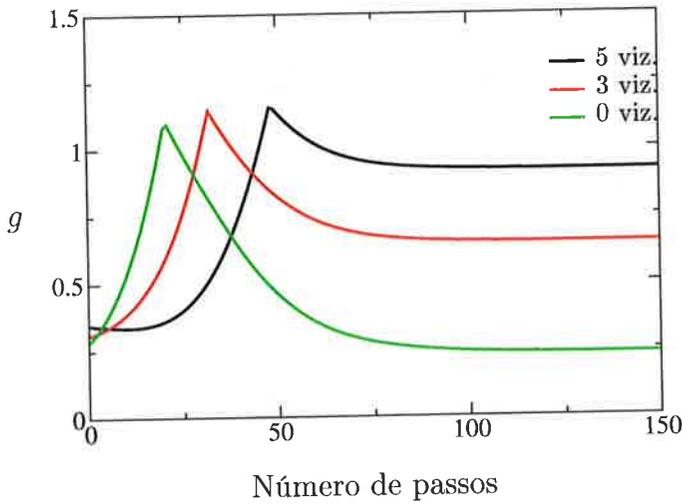


Figura 3.4: Influência do posicionamento em relação às veias para a abertura dos estômatos. O sítio (1,1) possui cinco vizinhos veia, o sítio (2,1) possui três vizinhos veia e o sítio (2,2) não possui vizinhos veia (interior da aréola). Nesta simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$.

momento em que cessaram.

As diferenças estruturais entre os estômatos que, segundo [4], são observadas na natureza, foram introduzidas no modelo através da atribuição de diferentes valores de C_e para cada UE. Os coeficientes C_e foram distribuídos de forma homogênea, dentro do intervalo especificado na tabela 3.1. Testamos a distribuição triangular, como foi utilizada em [4], mas não houve diferenças substanciais do comportamento do modelo em relação ao uso da distribuição homogênea. Portanto, preferimos adotar a distribuição homogênea, pois sua aplicação é mais simples.

Os estômatos neste modelo possuem três posições características, que influenciam substancialmente a abertura (condutância) no estado estacionário. Como foi mencionado na seção 3.1.1, os estômatos podem possuir cinco, três ou zero sítios vizinhos definidos como veia. Para os sítios com maior número de vizinhos veia os valores da condutância foram maiores, como mostra a figura 3.4.

Na figura 3.5 temos uma imagem da aréola no estado estacionário na mesma

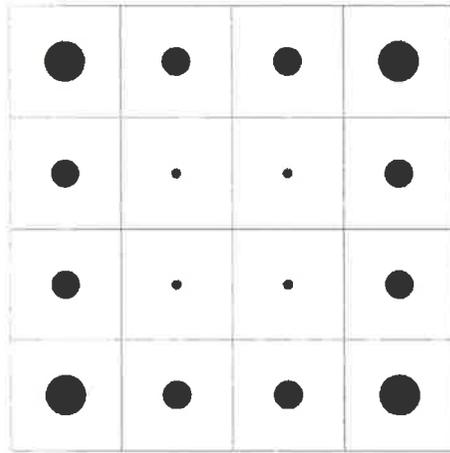


Figura 3.5: Imagem da aréola. Podemos notar que os estômatos localizados nos “cantos” (5 vizinhos veia) obtiveram maior abertura, já os estômatos no interior da aréola (0 vizinhos veia) adquiriram uma condutância menor.

simulação que gerou a figura 3.4. Os raios dos círculos são proporcionais aos graus de abertura dos estômatos. Através dessa imagem podemos perceber a localização espacial dos sítios e comprovar a influência do posicionamento nos valores da abertura.

Estudamos também a influência do coeficiente mecânico C_e no comportamento dos estômatos e notamos que este parâmetro estrutural provoca dois tipos de efeito. Fizemos essa análise colocando os mesmos valores de C_e para todos os estômatos de uma aréola e graficamos os valores da condutância média $\langle g \rangle$ com o tempo (ver figura 3.6). Utilizamos três valores distintos de C_e para observar as diferenças que ocorrem. Percebemos que quanto maior for o valor de C_e , maior será o número de passos necessários para o sistema atingir o estado estacionário, que é o valor de abertura condizente com o fluxo hídrico que entra na UE e a quantidade de vapor de água que é eliminada. Também notamos que há uma grande mudança na forma como o sistema atinge o estado estacionário (período transiente). Para o

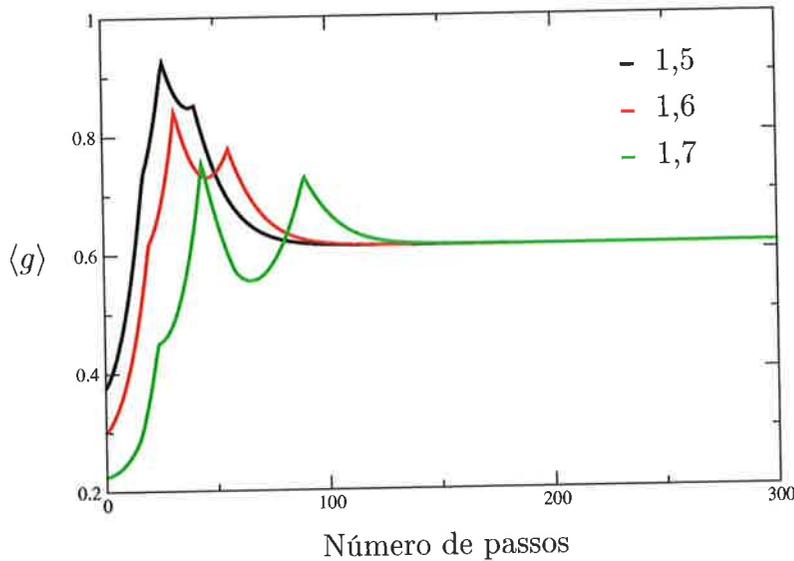


Figura 3.6: Condutância média para os diferentes valores de C_e . O transiente de uma aréola, onde todas as UEs possuem um alto valor de C_e , tem maior duração e oscila mais que o transiente das aréolas que possuem um valor menor de C_e .

valor de $C_e = 1,7$, podemos observar na figura 3.6 dois picos acentuados antes do sistema atingir o equilíbrio. Isto não ocorre para os outros valores de C_e colocados nas simulações que estão na figura 3.6. Observamos que o valor de $\langle g \rangle$, no estado estacionário, não se modificou para os diferentes valores do parâmetro estrutural, demonstrando que a abertura atingida pelas UEs independe de suas estruturas.

Analisamos a variação da condutância média $\langle g \rangle$ no estado estacionário em função do parâmetro Δw e percebemos que a condutância média decresce hiperbolicamente com o aumento desse parâmetro, mostrando a forma como os estômatos respondem, neste modelo, às alterações climáticas (ver figura 3.7).

Na figura 3.8 mostramos a condutância média $\langle g \rangle$ da aréola em função da evaporação média $\langle E \rangle$ para diversos valores de Δw . Obtivemos os mesmos resultados, observando qualitativamente, apresentados em [4]. Estes resultados são qualitativamente os mesmos que foram apresentados em [4] com uma distribuição triangular e,

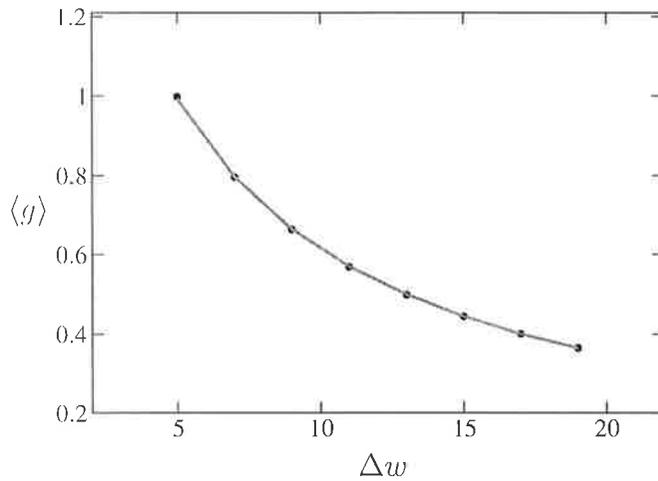


Figura 3.7: A condutância média no estado estacionário de uma única aréola como função de Δw . A condutância média decresce hiperbolicamente com o aumento do valor de Δw .

segundo os autores de [4], aos obtidos experimentalmente. Comparar, por exemplo, com as figuras 2.1 e 2.3-b do capítulo 2.

Para pequenos valores de Δw foi necessário um maior número de iterações para o sistema atingir o equilíbrio. Isto ocorre porque o potencial hídrico dos sítios próximos às veias sofre um forte incremento durante o período transiente, pois há pouca evaporação. Assim, as UEs levam um certo tempo para atingirem o potencial hídrico que faz com que a água que entra se equilibre com a água que sai por evaporação. A figura 3.9 mostra o número de passos necessários para o sistema atingir o estado estacionário para diferentes valores de Δw .

A figura 3.10 mostra que os valores estacionários das condutâncias de cada UE assumem sempre um entre três valores distintos, independentemente de eventuais inhomogeneidades (C_e s diferentes) entre os estômatos.

A conclusão é que o valor da abertura de cada estômato depende somente de dois fatores: (1) localização da UE na aréola e (2) a evaporação (determinada por Δw). Para comprovar esse fato, fizemos uma simulação com condições iniciais aleatórias

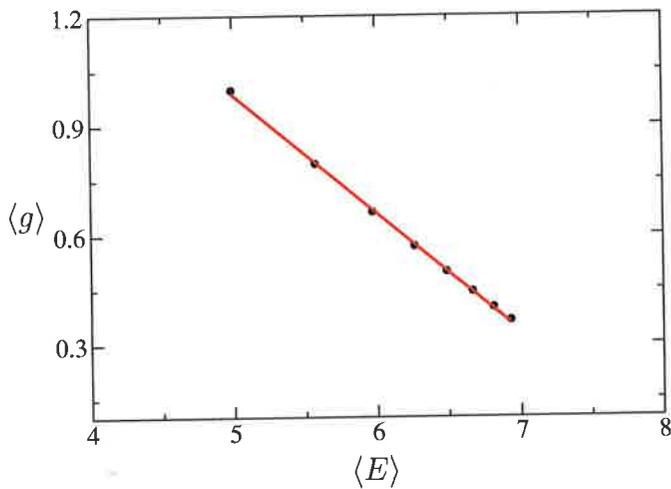


Figura 3.8: Condutância média no estado estacionário em função da evaporação.

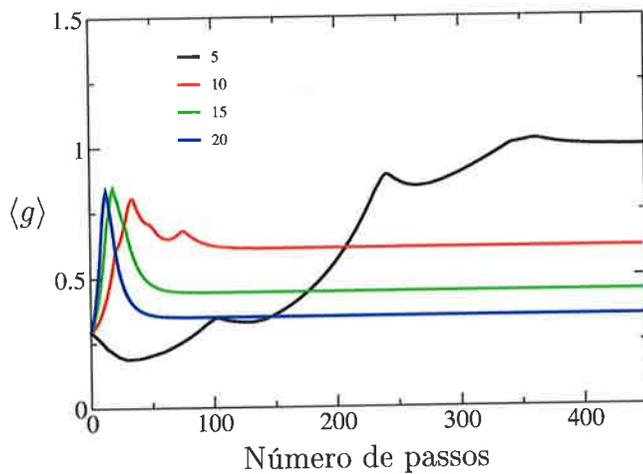


Figura 3.9: Evolução temporal da condutância média da aréola para valores distintos de Δw . O transiente possui maior tempo para Δw s menores. As características dos transientes das simulações com Δw s pequenos e grandes são bastante diferentes entre si.

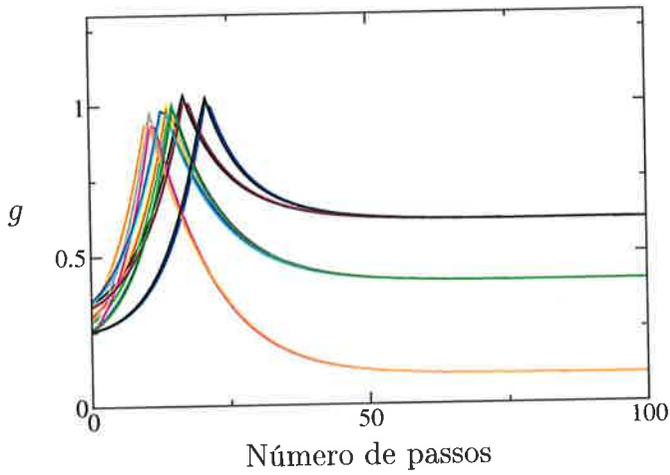


Figura 3.10: Condutâncias dos estômatos na aréola. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 15$.

e encontramos os

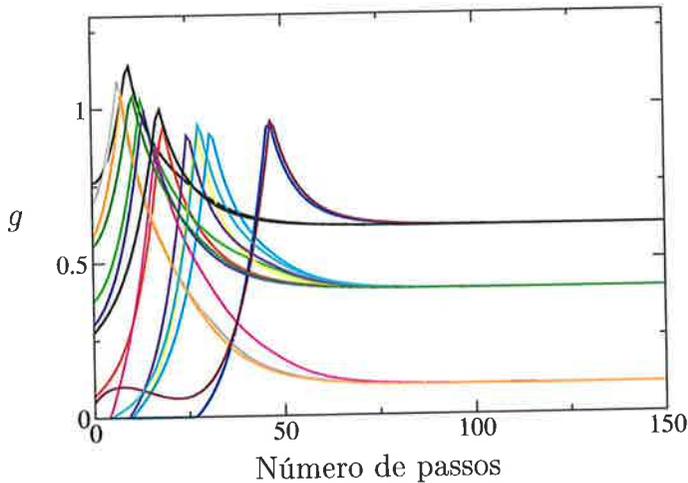


Figura 3.11: Condutâncias dos estômatos na aréolas com condições iniciais aleatórias. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 15$, $-3,0 \leq \pi_g \leq -1,5$ e $-2,0 \leq \Psi_e \leq 2,0$.

3.4 Críticas ao modelo de aréolas

Ao tentar reproduzir e entender os resultados apresentados em [4], percebemos inúmeros problemas.

A primeira crítica que podemos fazer a este modelo refere-se ao fato de que, na prática, não há interações entre mais de dezesseis UEs, pois as aréolas estão isoladas umas das outras pelas veias que as delimitam, cujos potenciais hídricos são mantidos constantes. Isto faz com que o comportamento de cada aréola seja independente das demais. Assim, o PSC que, de acordo com Haefner e colaboradores, foi observado em [4], é o resultado da observação da justaposição de um grande número de pequenas entidades independentes (cada aréola) que, por terem partido de condições distintas, apresentam comportamentos diferenciados entre si durante o período transiente.

Portanto, não é surpresa que, quando iniciadas de forma idêntica, as aréolas tenham o mesmo comportamento, mesmo durante o período transiente. A heterogeneidade entre aréolas, relatada em [4], é apenas o reflexo da desordem inicial ou da distribuição de diferentes coeficientes mecânicos, e não de um comportamento complexo que emerge devido às interações locais.

Outra importante observação refere-se a proporção entre sítios veia e unidades estomáticas. No modelo de aréolas temos vinte sítios veia para dezesseis UEs. Essa abundância relativa de sítios veia gera uma enorme disponibilidade de água, tornando extremamente difícil a reprodução de situações de estresse hídrico, nas quais o fenômeno PSC é observado experimentalmente.

Também notamos, ao reproduzir os resultados, que as oscilações persistentes, observadas para alguns valores de parâmetros em [4], não foram geradas pela dinâmica do modelo, mas sim pelo grande valor atribuído ao parâmetro que define o passo de integração (c), que induz uma diferença muito grande entre a entrada e a saída de água em tempos consecutivos em um determinado sítio. Ou seja, é efeito artificial da aproximação numérica.

Podemos notar ainda que a informação sobre as condições iniciais ($\Psi_{e,t=0}$ e $\pi_{g,t=0}$)

são perdidas durante a evolução temporal do sistema. Também reiteramos a observação de que as diferenças estruturais, entre os estômatos, não influenciam no comportamento estacionário do modelo, simplesmente mudam o transiente. Sabemos então que os valores de abertura do estado estacionário somente dependem dos valores de fluxo de água (F_e) e da diferença de fração molar de vapor de água entre a planta e o meio ambiente (Δw), que influencia na taxa de evaporação.

Além de todos os problemas mencionados acima também encontramos um conflito entre as equações que regem o modelo e o comportamento esperado e observado pelos botânicos. Com abundância de água e $\Delta w = 0$ (o que significa que não há perda de água por evaporação), os estômatos devem apresentar máxima abertura para tornar a fotossíntese mais eficiente, desprezando efeitos dos relógios biológicos. No entanto, nesse modelo, essas condições provocam o fechamento de todos os estômatos.

No estado estacionário, quando não há evaporação, pois $\Delta w = 0$, todas as UEs ficam com o valor do potencial hídrico das veias, tornando o fluxo nulo ($F_e = 0$). Quando $\Psi_e = 0$, $P_e = 1,5$ e $\pi_{g,ss} = -1,5$, fazendo com que $\pi_g \rightarrow -1,5$. Assim, $P_g = -1,5$. Como $A = C_g P_g - C_e P_e = 1,5 - 1,5 C_e$, e como $C_e > 1$, a abertura se anula.

Desta forma essas equações nos levam a uma situação em que os estômatos se fecham quando não há risco de desidratação da planta, com disponibilidade infinita de água, o que é contraditório com as observações experimentais e com os mecanismos de abertura dos estômatos conhecidos até o presente. Portanto este modelo - seja na sua concepção geométrica, seja na sua formulação matemática - não é capaz de descrever o fenômeno PSC.

3.5 Estudos na aréola gigante

Com o objetivo de estudar as mudanças que ocorrem no modelo com um maior número de UEs interagindo, trocamos o conjunto de pequenas aréolas justapostas por uma única aréola ampliada (50×50). A folha agora pode ser entendida como esta única aréola com as veias localizadas em sua borda ou como a justaposição dessas aréolas maiores. Essa nova estrutura abre a possibilidade de interação entre 2304 UEs e altera significativamente a relação entre o número de UEs e o número de sítios veia, que na proposição original demonstrou ser extremamente desfavorável para obtenção das condições de estresse hídrico. Agora somente 196 sítios veia são responsáveis pela entrada de água no sistema. A forma como as UEs interagem entre si e as relações entre os seus constituintes (célula guarda e epiderme) permaneceram inalteradas. Investigamos se (a) o aumento da demanda por água (maior número de UEs), (b) o maior número de elementos interagindo e (c) as diferenças estruturais dos estômatos seriam capazes de gerar, nestas condições, uma dinâmica mais parecida com as observadas experimentalmente.

Utilizamos, no estudo dessa “aréola gigante”, os mesmos parâmetros empregados originalmente, e assim comparamos as diferenças de comportamento provocadas pela mudança realizada.

Observamos, neste novo arranjo, que mesmo para valores baixos de Δw somente os sítios mais próximos às veias (bordas) mantiveram-se abertos e para valores de $\Delta w \geq 6$, no máximo os 2^{os} vizinhos dos sítios veia se abriram no estado estacionário (ver figura 3.12), deixando um grande “miolo” de estômatos fechados. O aumento da demanda por água, devido ao grande número de UEs, impossibilitou a abertura dos estômatos localizados na região mais interna da rede (ver figura 3.14), pois somente

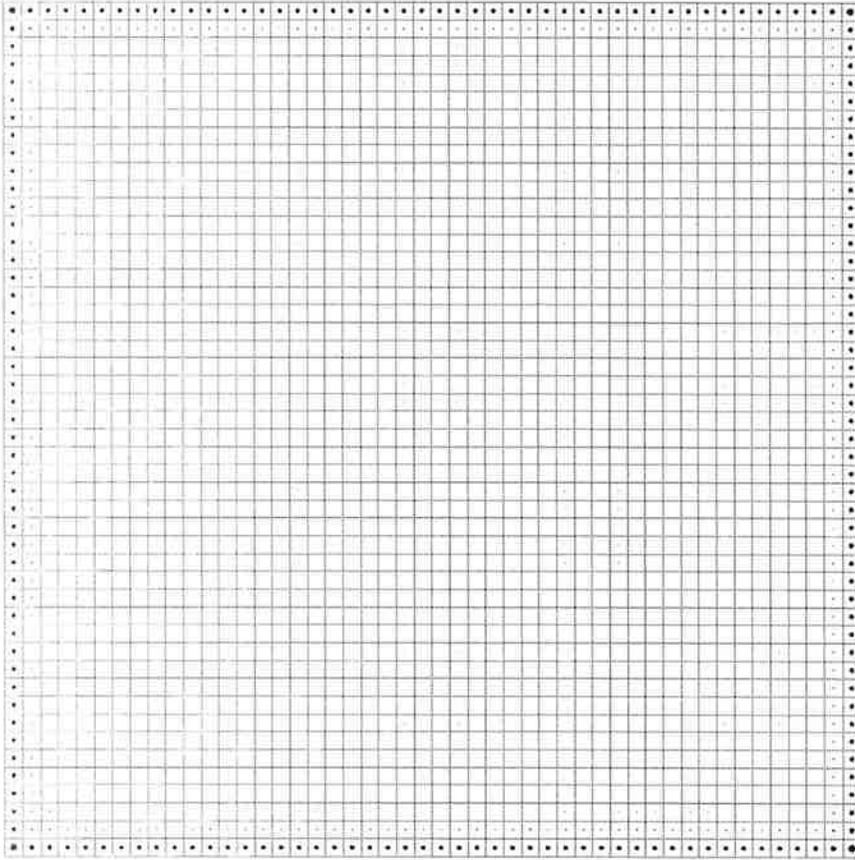


Figura 3.12: Abertura dos estômatos da rede. Podemos notar que os sítios localizados no interior da aréola fecharam-se no estado estacionário. Somente os sítios mais próximos à borda permaneceram abertos. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 6$.

as UEs próximas às veias possuem um fluxo hídrico positivo suficiente para convergir em um estado estacionário com abertura. Nas UEs mais internas, o fluxo hídrico é mínimo ou inexistente, deixando seus potenciais hídricos com baixíssimos valores, mantendo os estômatos fechados no estado estacionário.

Como vimos na seção 3.4, o aumento do valor do potencial hídrico ($\Psi \sim 0$) traz como consequência o fechamento dos estômatos, desta forma, quando a simulação foi realizada com $\Delta w = 0$, todos os estômatos se fecharam no estado estacionário, sendo esse processo iniciado nos sítios mais próximos às veias e encerrado no interior

da aréola (ver figura 3.13). Isto ocorreu porque as UEs mais próximas das bordas atingiram um potencial hídrico alto mais rapidamente do que as UEs localizadas no interior da folha, pois o fluxo hídrico possui o sentido borda-centro.

A figura 3.13 é uma seqüência de imagens que mostram a forma como o fluxo hídrico se propagou durante a simulação com $\Delta w = 0$.

A figura 3.14 mostra a evolução temporal da condutância de 4 UEs com distâncias diferentes em relação às veias. As aberturas dos sítios diminuem conforme a distância em relação às veias aumenta. O sítio localizado na posição (4,4) ficou com abertura nula. Este resultado é bastante similar ao encontrado nas aréolas de 16 estômatos, no entanto, com 16 estômatos é mais difícil encontrar uma situação na qual há uma UE com abertura nula. Isto ocorre porque a UE mais distante de uma veia é considerada como 2^a vizinha, o que demonstra que o suprimento hídrico na aréola gigante é incapaz de atender a demanda das UEs distantes da borda.

Na figura 3.15 mostramos a evolução temporal da condutância média para valores diferentes do parâmetro Δw . Quanto menor o valor desse parâmetro, maior será o número de passos necessários para o sistema atingir o estado estacionário e o valor das condutâncias médias também é maior. Esta característica também foi observada na aréola de 16 estômatos. Qualitativamente, os transientes são similares, no entanto é importante destacar que a altura dos picos é maior para Δws menores, além desses picos serem transladados para a direita.

Diferentemente do que ocorre no modelo de aréolas, na aréola gigante, para valores de Δw pequenos e diferentes de zero, não observamos o fechamento de todos os estômatos. Isto se deve ao aumento da demanda por água que, de modo geral, mantém os potenciais hídricos com valores mais baixos, tanto na região periférica quanto no interior da aréola. Assim, conseguimos traçar um gráfico da condutância

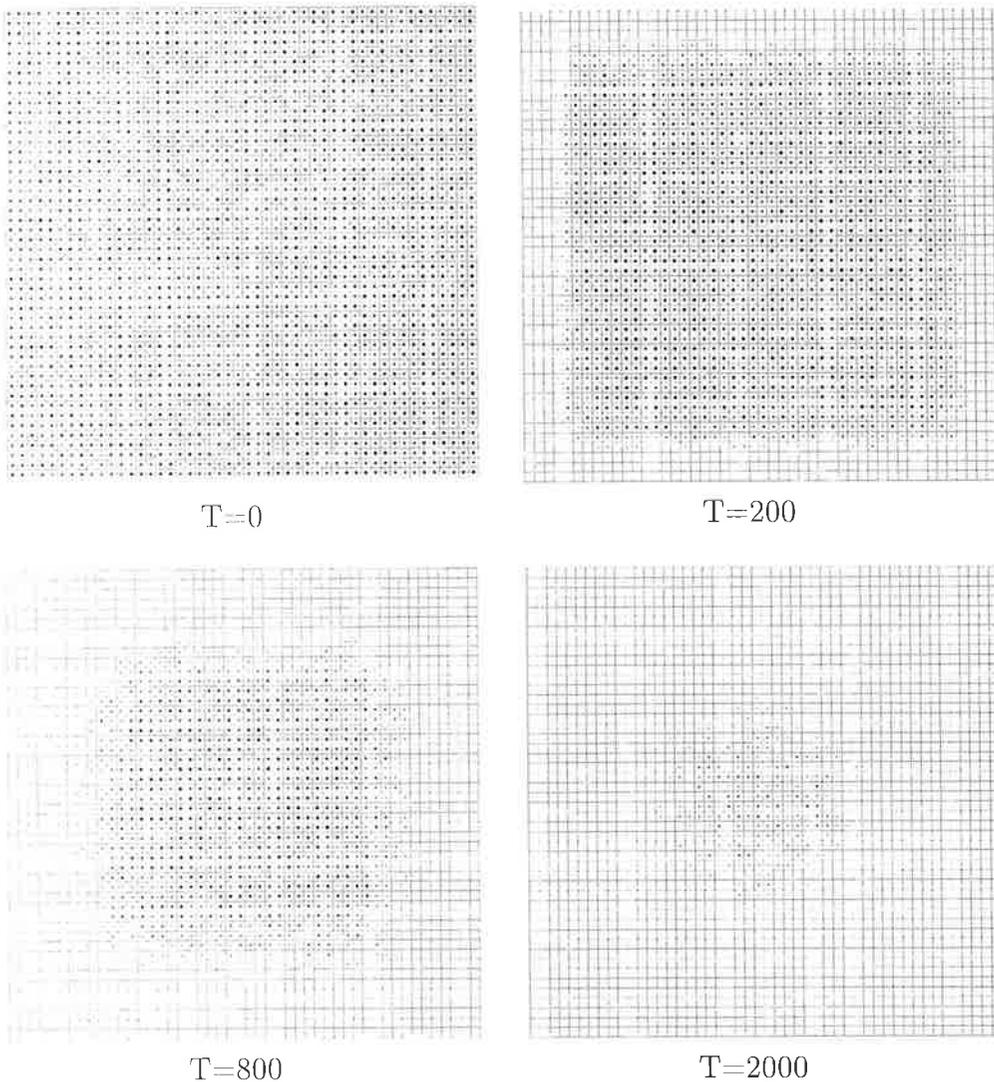


Figura 3.13: Imagens da rede. Em $T=0$, todos os estômatos da rede estão abertos, pois seus valores de Ψ são iguais. No tempo $T=200$, podemos observar a “onda de fechamento” dos estômatos, os sítios mais próximos às veias já estão fechados. Já no passo $T=800$, há um número maior de estômatos fechados e em $T=2000$, somente um pequeno número de estômatos ainda manteve-se aberto. Parâmetros da simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 0$.

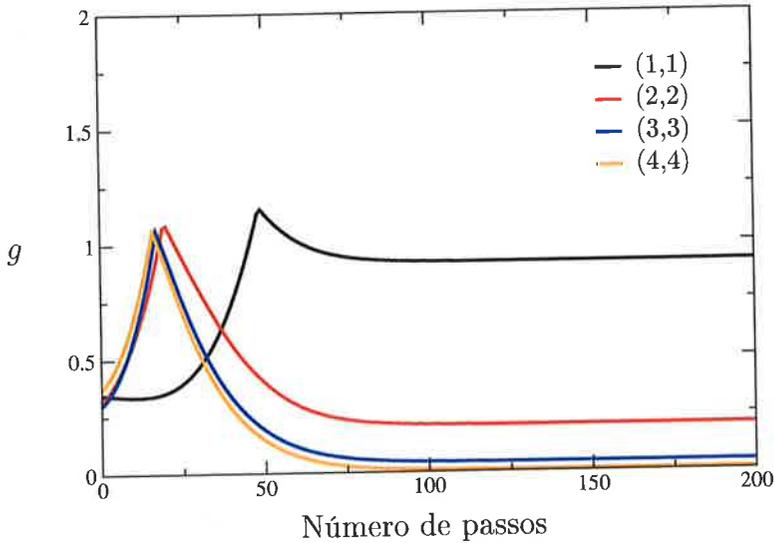


Figura 3.14: Condutância de 4 UEs com posições diferentes em relação às veias, em uma aréola de tamanho 50×50 . A UE (4,4) ficou fechada no estado estacionário. Somente os três primeiros sítios vizinhos das veias obtiveram uma condutância não nula no estado estacionário, o que deixou um grande “miolo” de estômatos fechados na aréola. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 5$.

estomática média para valores mais baixos de Δw , pois a condutância média é o valor da média das aberturas (ver figura 3.16).

Concluimos então que os efeitos da mudança realizada não levaram a formação da dinâmica observada no PSC, pois o estado estacionário apresentou um comportamento extremamente simples, no qual os estômatos mais próximos às veias mantiveram-se com uma abertura constante e não nula para $\Delta w \neq 0$ (estático). Qualitativamente não há diferenças entre as duas estruturas, pois todos os resultados mostrados acima foram obtidos nas aréolas de 16 estômatos. Com uma aréola maior ocorreu um enorme aumento da demanda por água e o número de sítios veia (196) demonstrou ser insuficiente para promover a abertura de regiões mais internas da rede. A existência de somente estados estacionários estáticos e, principalmente, a ausência de condutância no interior da folha fizeram com que pensássemos em um

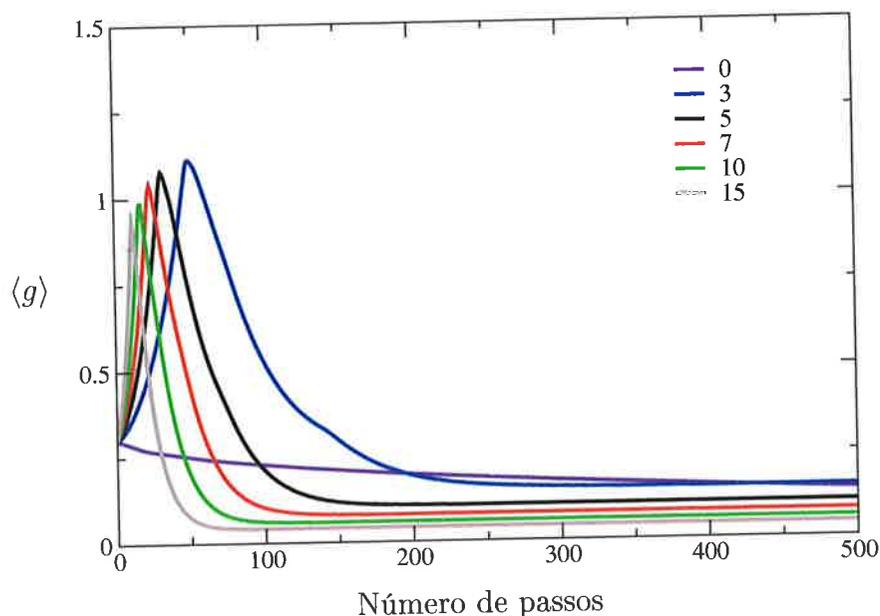


Figura 3.15: Evolução temporal da condutância média da folha para diferentes valores do parâmetro Δw . Podemos notar as características de prolongamento do período transiente para os valores menores de Δw , bem como o aumento das condutâncias médias no estado estacionário. Também colocamos os dados de condutância média para uma aréola simulada com $\Delta w = 0$ e percebemos que seu período transiente demorou mais de 500 passos. O valor da condutância média no estado estacionário desta aréola é, como já havíamos comentado, nulo.

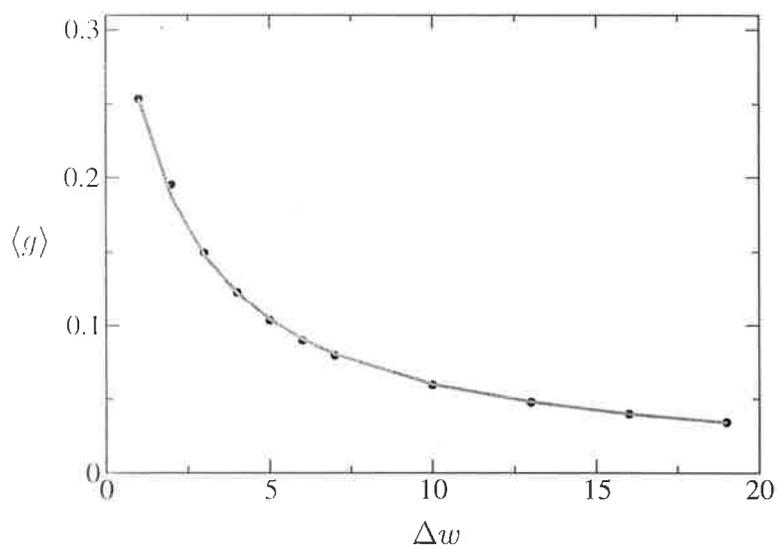


Figura 3.16: Valores da condutância média da folha em função de Δw no estado estacionário.

novo modelo, com uma estrutura espacial diferente: Condições periódicas de contorno e sítios veja distribuídos aleatoriamente em seu interior. No capítulo seguinte, apresentaremos e discutiremos esas mudanças detalhadamente.

IV

UM NOVO MODELO

O modelo de aréolas - uma contribuição inicial para a modelagem do comportamento coletivo dos estômatos em uma folha - não demonstrou ser capaz de reproduzir os padrões espaço-temporais observados nos experimentos. Assim, pensamos em possíveis alterações que produzissem resultados mais próximos aos observados experimentalmente.

Iremos apresentar e discutir um novo modelo, que possui uma geometria diferente da apresentada no modelo de aréolas, mas ainda essencialmente baseado nos mesmos mecanismos de transporte e na mesma dinâmica de abertura dos estômatos (ou seja, nas mesmas hipóteses e equações). Chamaremos esse modelo de Modelo de Veias Aleatórias (VA).

Este modelo possui uma estrutura espacial diferente da apresentada no modelo de aréolas. É mais similar à estrutura, muito mais assimétrica, observada em folhas reais, principalmente no que se refere ao modo como a seiva bruta (e portanto a água) chega até os sítios de evaporação a partir das veias. Numa folha real as aréolas não estão isoladas umas das outras pelas veias. O transporte de água se dá através do mesófilo, que interliga todos os sítios de evaporação, e portanto, a água, na forma de vapor, chega aos estômatos de forma muito mais homogênea ao longo da folha. Consideramos também, num segundo momento, a existência de tecido epidérmico sem estômatos, de forma que os sítios de evaporação também se distribuam de forma

mais irregular, e torne possível o transporte de água sem perda entre eles.

Depois, introduzimos algumas modificações na dinâmica de cada estômato, ou seja, na maneira como o estômato reage às mudanças de seu potencial hídrico, introduzindo (a) um limiar de sensibilidade e (b) diferentes comportamentos para a abertura e fechamento. Também estudamos os efeitos de um retardo temporal na resposta do estômato. Apresentaremos a seguir, em detalhe, as conseqüências de cada uma das alterações propostas por nós.

4.1 O modelo de Veias Aleatórias

Como já foi dito, no modelo VA os sítios veia (para os quais o potencial hídrico é mantido constante em seu valor máximo) foram retirados das bordas e distribuídos aleatoriamente no interior da folha, de forma homogênea. Um novo parâmetro foi inserido, v , que determina o percentual de sítios da rede que deverão ser veias. Também consideramos condições de contorno periódicas (toróide), abrindo a possibilidade de estudarmos o comportamento da folha sem os efeitos da borda, pois as medidas experimentais são geralmente realizadas nas partes mais internas da folha.

Essa modificação se justifica pois, numa folha real, as veias não obedecem a um padrão geométrico regular. Acrescentamos também que o transporte de água não se dá somente pelo tecido epidérmico, ocorrendo também através do mesófilo, fazendo com que as aréolas não estejam isoladas entre si. Essa nova disposição de veias faz com que haja um mecanismo de entrada de água completamente diferente do anteriormente apresentado.

A inserção de sítios veia no interior da rede criou uma configuração quantitativa diferente no que se refere ao número de UEs que são vizinhas de sítios veia. Este

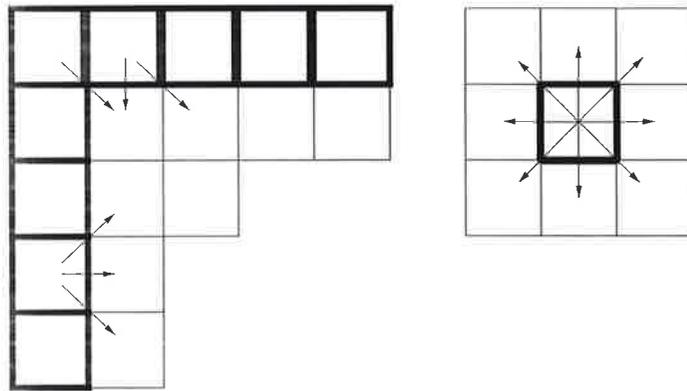


Figura 4.1: No modelo de aréolas as veias estão localizadas nas bordas, permitindo que um sítio veia seja vizinho de no máximo três UEs (figura a esquerda). No modelo VA (figura a direita) há a possibilidade de um sítio veia ser vizinho de oito UEs, aumentando, em média, a condutância média da folha.

novo arranjo abriu a possibilidade de um único sítio veia ser vizinho de um número superior a três UEs e uma UE possuir um número maior do que cinco sítios veia como vizinhos. Isto causou uma ampliação no espectro de abertura dos estômatos, diferentemente do que ocorre no modelo de aréolas, onde temos somente três graus de abertura diferentes entre si. Devido a estes fatores e a característica de constância do potencial hídrico das veias, observamos um aumento nos valores das condutâncias médias da folha, nas mais variadas situações, quando comparamos os resultados do modelo VA com os resultados dos estudos na aréola gigante.

A figura 4.1 ilustra a mudança quantitativa na relação entre UEs e sítios veia no modelo VA.

Nas vizinhanças das veias observamos uma maior concentração de estômatos com maior grau de abertura, ao passo que em regiões mais longínquas os estômatos mantiveram-se fechados ou com uma pequena abertura, no estado estacionário. Essa observação foi feita sob diversas condições diferentes, mostrando uma clara correlação entre o grau de abertura dos estômatos e a distância em relação à veia. Devido a

anisotropia gerada pela distribuição das veias no interior da rede, no estado estacionário, é possível observar regiões que possuem uma grande quantidade de estômatos abertos (de maior condutância) e regiões com uma pequena ou inexistente quantidade de estômatos abertos (de menor condutância). Essas irregularidades, ao longo da rede, assemelham-se às regiões de coordenação observadas experimentalmente. No entanto, apesar da existência de uma configuração que sugere a existência das regiões de coordenação, o estado estacionário sempre foi estático, inexistindo as oscilações ou os padrões espaço-temporais característicos do PSC.

A figura 4.2 mostra a evolução temporal das condutâncias médias na folha simulada para diferentes valores do parâmetro Δw . Ajustamos o parâmetro v para um valor similar ao número de veias encontradas na aréola gigante. Desta forma pudemos verificar o aumento substancial nos valores da condutância média no modelo VA. O tempo de duração do transiente para $\Delta w = 0$ é bastante inferior ao encontrado na aréola gigante, isto ocorre devido ao aumento do número de UEs vizinhas a um determinado sítio veia, o que provoca um grande aumento na entrada de água no sistema.

A figura 4.3 mostra o estado estacionário da rede para quatro valores distintos de Δw . Os sítios veia são representados pelos quadradinhos verdes e os raios dos círculos pretos são proporcionais aos graus de abertura das UEs. Estas imagens nos auxiliam a visualizar os estados de abertura das UEs, bem como onde ocorrem as regiões de maior condutância. Também podemos observar a forma irregular dos posicionamentos dos sítios veia gerada pela distribuição aleatória destes. Como já havíamos dito, a maior concentração de UEs abertas se deu nas vizinhanças dos sítios veia. Essas inhomogeneidades sugerem a formação das RCs. No entanto todos esses padrões são estáticos no estado estacionário. Pode-se notar, através dos graus

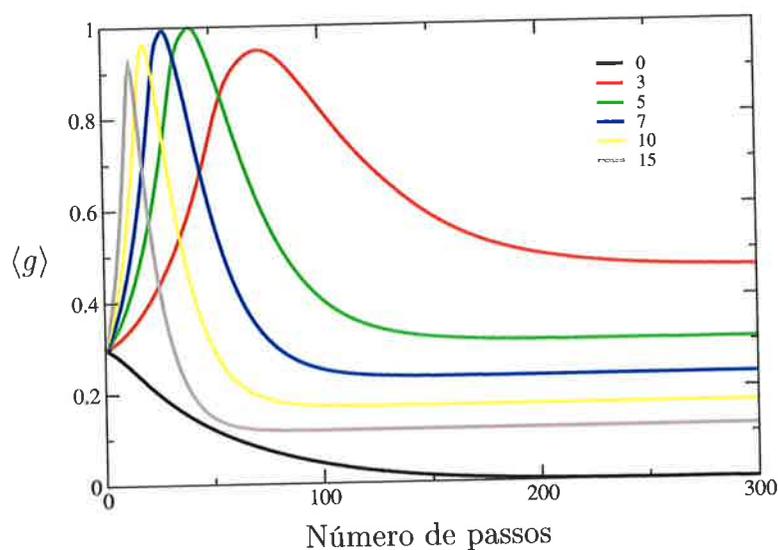


Figura 4.2: Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores do parâmetro Δw . Os valores do parâmetro Δw são os mesmos utilizados nas simulações da figura 3.15 para podermos verificar os aumentos dos valores da condutância no modelo VA. Para $\Delta w = 0$, podemos notar a diminuição do tempo do período transiente em comparação com o tempo encontrado na aréola gigante. A forma dos transientes dos dois modelos é bastante similar entre si. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $v = 8$.

de abertura e quantidade de estômatos abertos, que a condutância média na folha decresce com o aumento de Δw .

Na figura 4.4 vemos, para uma simulação com $\Delta w = 10$, como se deu a evolução no tempo da abertura de alguns estômatos típicos, com número distintos de vizinhos veias. Neste novo arranjo obtivemos estômatos com um número intermediário de vizinhos (1,2 e 4 vizinhos veia) em comparação com a proposição inicial. Como esperado, através das observações anteriores, os valores das condutâncias, no estado estacionário, aumentam conforme o número de vizinhos veia a uma determinada UE aumenta.

Observamos, através da figura 4.5, a evolução temporal das condutâncias das UEs em relação às distâncias dos sítios veia. Os valores das condutâncias decresceram conforme a distância em relação às veias aumentou.

Estudamos também a influência do parâmetro v nos valores das condutâncias médias da folha. Podemos observar na figura 4.6, onde simulamos a rede com diferentes valores desse parâmetro, o aumento das condutâncias com o aumento do valor do parâmetro. As formas dos transientes são muito similares entre si, mostrando que esse parâmetro não influencia, com a mesma intensidade que o parâmetro Δw , o número de passos necessários para o sistema convergir para o equilíbrio.

As figuras 4.7 mostram o estado estacionário da rede para diferentes valores do parâmetro v . Estas imagens nos auxiliam a entender os resultados apresentados na figura 4.6. Podemos perceber claramente a diferença na quantidade e nos graus de abertura das UEs com o aumento do parâmetro v . A maior concentração de UEs abertas na vizinhança dos sítios veia sugere a formação das RCs. No entanto, como havíamos comentado, todos esses padrões são estáticos no estado estacionário.

Se aumentarmos o tamanho da rede para 100×100 , podemos notar com maior

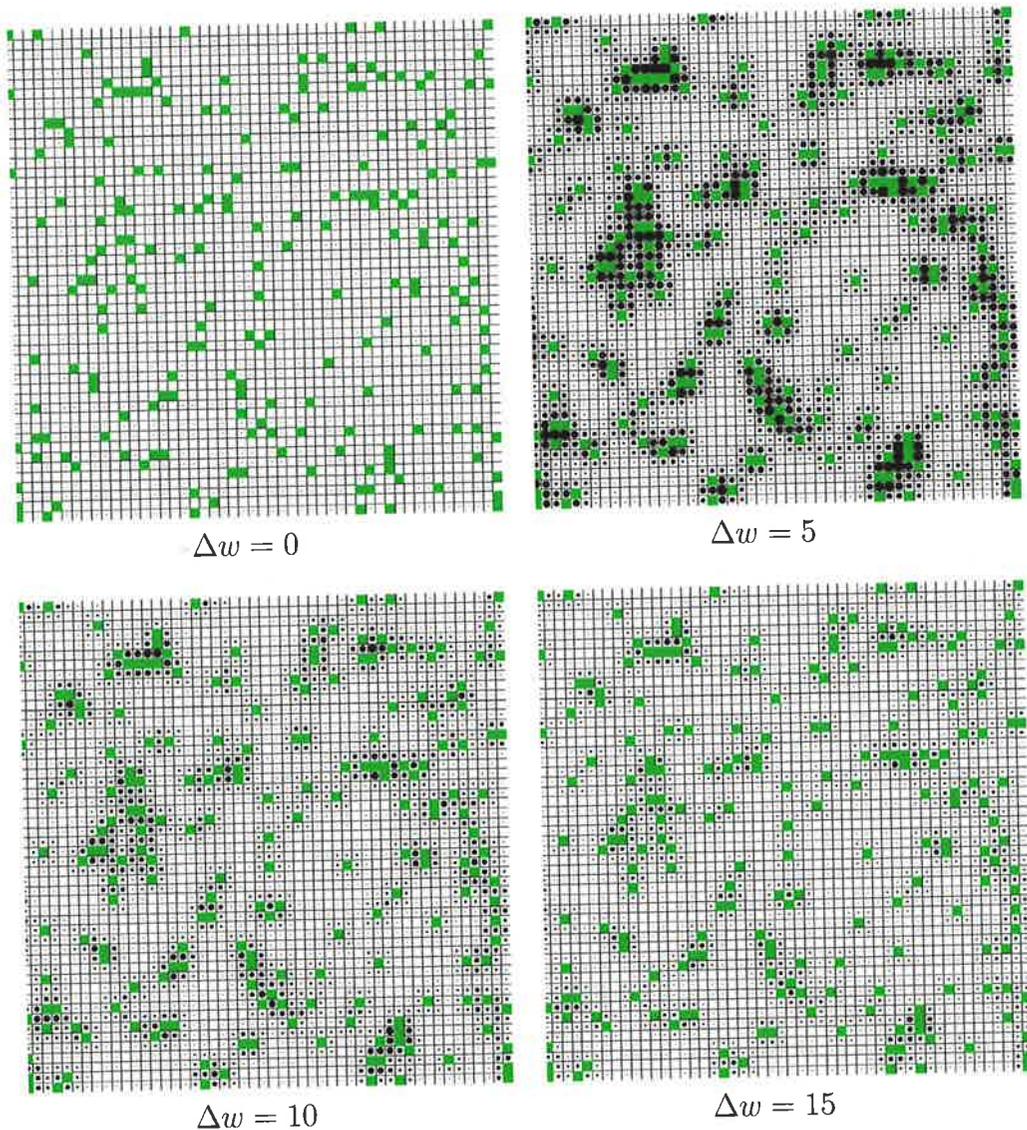


Figura 4.3: Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro Δw . Os quadrados verdes representam os sítios veia e os raios dos círculos pretos são proporcionais as aberturas das UEs. Exceto para $\Delta w = 0$ que, conforme havíamos calculado, os estômatos se fecham no estado estacionário, o valor da condutância média da folha diminui com o aumento desse parâmetro. Nas imagens acima podemos verificar o decréscimo nas aberturas, verificando a diminuição da quantidade de estômatos abertos e também a diminuição dos graus de aberturas das UEs próximas às veias. As inhomogeneidades apresentadas são muito similares as observações experimentais do PSC, mas o estado estacionário é estático. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $v = 8$.

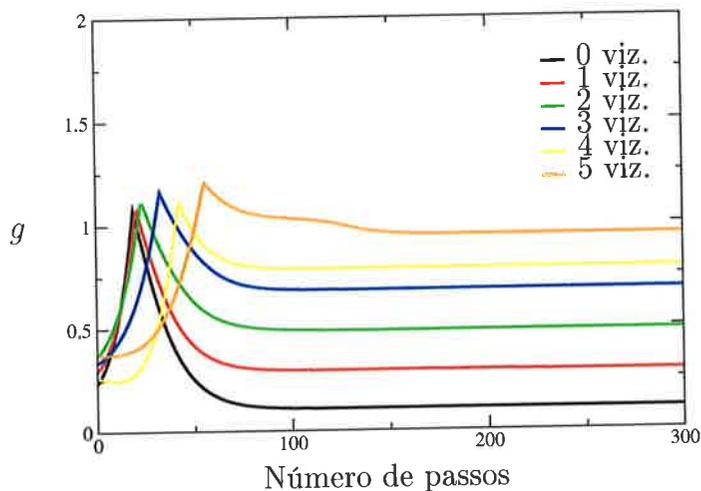


Figura 4.4: Evolução temporal das condutâncias das UEs para diferentes números de vizinhos veia. Como esperado, o valor das condutâncias é maior quanto maior for o número de vizinhos veia. Percebemos que neste novo arranjo há um aumento do espectro de número de vizinhos veia de uma determinada UE. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 20$ e $\Delta w = 10$.

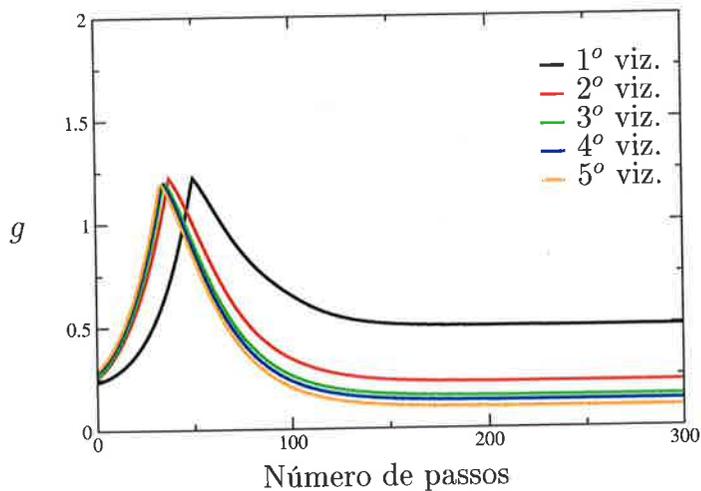


Figura 4.5: Evolução temporal das condutâncias das UEs para diferentes distâncias em relação às veias. As condutâncias possuem menores valores, no estado estacionário, para os estômatos mais distantes das veias. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 10$ e $\Delta w = 10$.

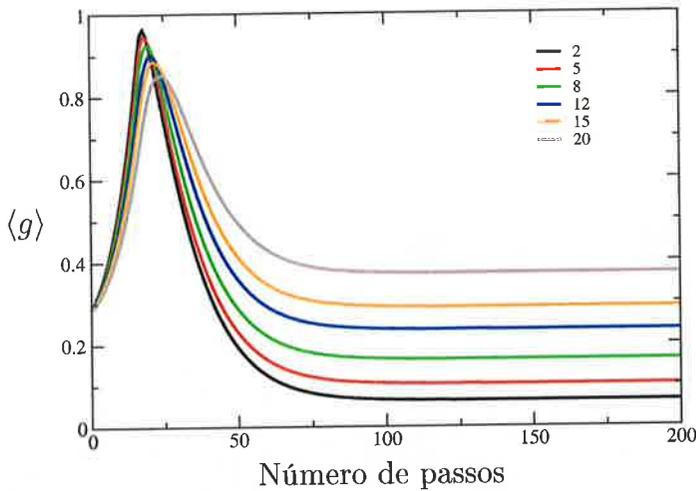


Figura 4.6: Evolução temporal das condutâncias médias em relação ao parâmetro v . Como esperado, há um aumento dos valores das condutância média no estado estacionário. A variação do número de passos necessários para o sistema atingir o estado estacionário é menor quando comparada ao parâmetro Δw , que aumenta de forma mais pronunciada o transiente com valores menores. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$.

nitidez a existência das regiões de coordenação próximas às veias (ver figura 4.8).

Novamente observamos o comportamento das condutâncias médias em relação ao parâmetro Δw . O comportamento qualitativo se manteve, pois as alterações realizadas no modelo ocorreram somente em sua estrutura espacial. Quantitativamente, claro, os valores de $\langle g \rangle$ são superiores se $v = 20$ ao invés de $v = 10$ (ver figura 4.9).

Embora o modelo VA seja capaz de gerar heterogeneidades, formando padrões espaciais que se assemelham às regiões de coordenação (RC) observadas em experimentos, os padrões obtidos são estáticos no estado estacionário, não ocorrendo oscilações de estômatos e nem mudança nas posições das regiões de coordenação. É importante observar que as aberturas das UEs ocorreram somente em regiões próximas às veias, o que nem sempre ocorre na dinâmica observada no PSC. Apesar das mudanças quantitativas, geradas pela inserção dos sítios veia no interior da rede, não observamos nenhuma mudança significativa no comportamento qualitativo da

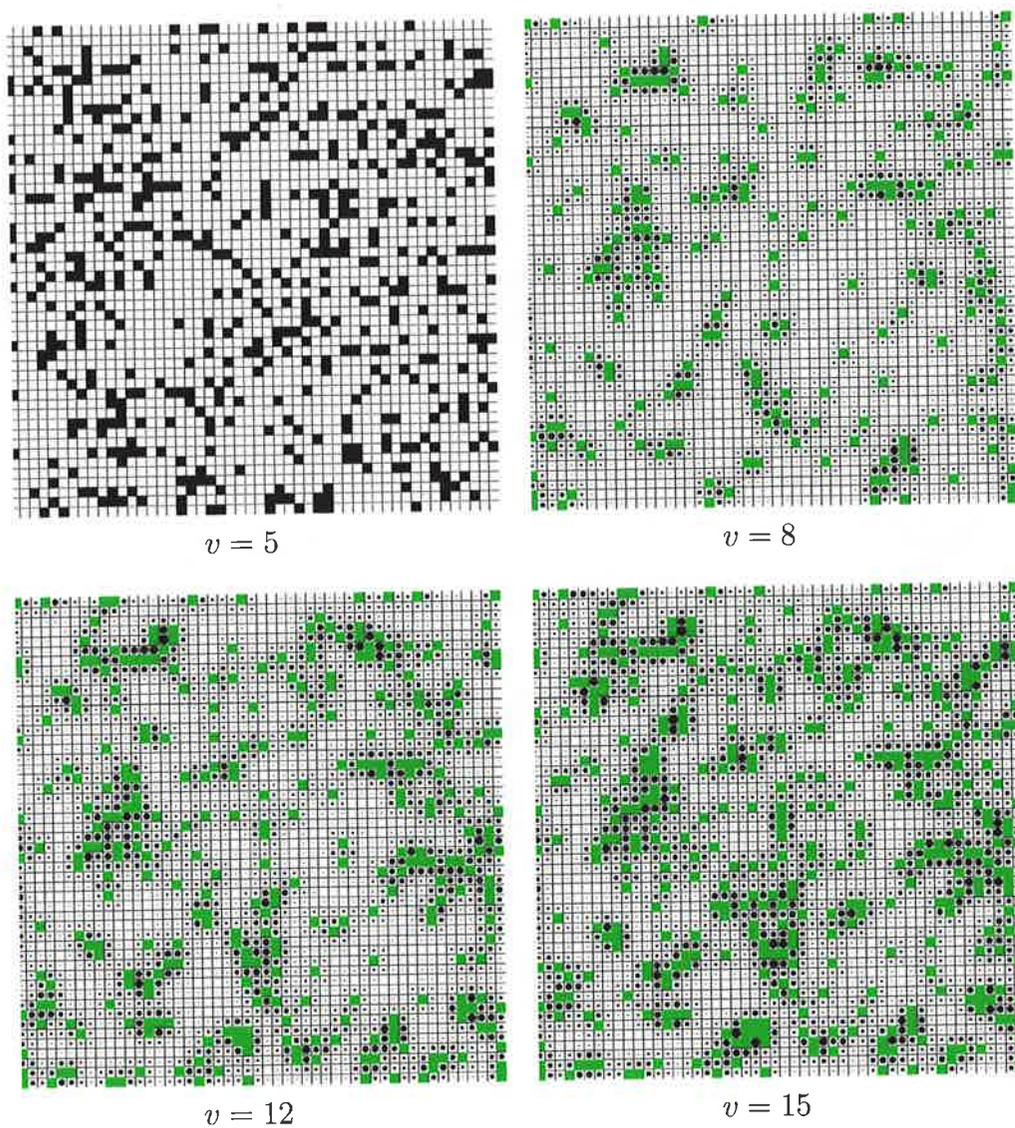


Figura 4.7: Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro v . Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$ e $\Delta w = 10$.

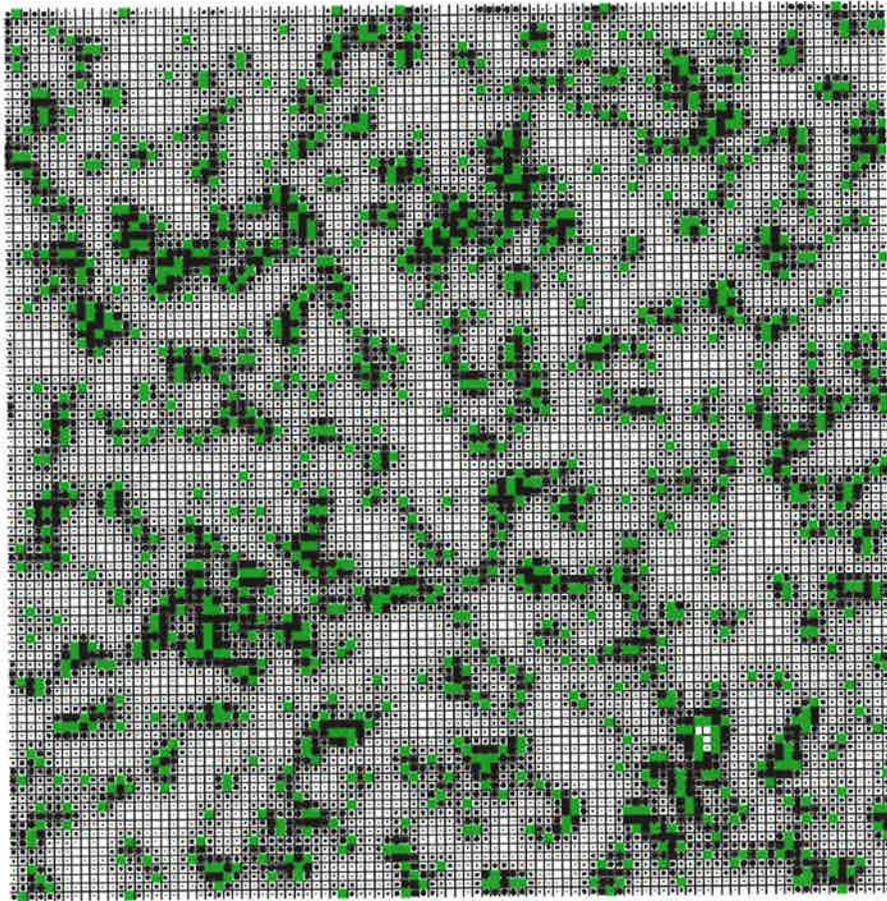


Figura 4.8: Rede 100×100 . Com um número maior de estômatos as regiões de coordenação são mais aparentes. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 5$ e $v = 10$.

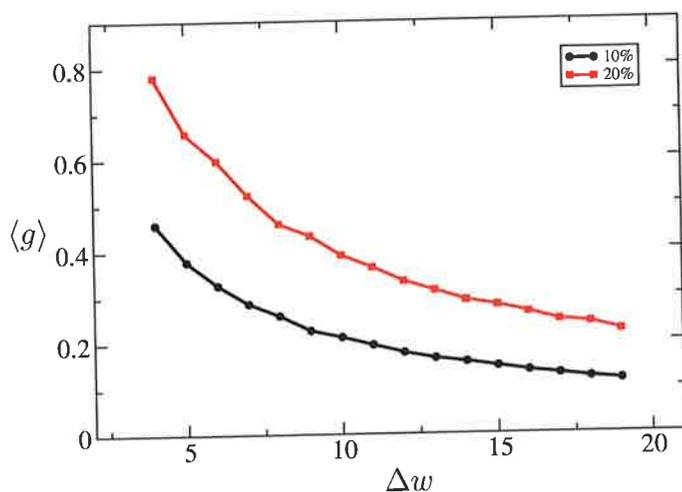


Figura 4.9: Valores da condutância média da folha em função de Δw no estado estacionário.

dinâmica do sistema. Devido a existência exclusiva de estômatos abertos em regiões próximas às veias, inserimos um novo tipo de sítio no modelo VA, que são os sítios que se comportam como tecido epidérmico sem estômatos (EPs). A inserção deste tipo de sítio abre a possibilidade da água circular em regiões mais distantes das veias, tornando possível a existência de estômatos abertos em qualquer região da folha. Na próxima seção iremos mostrar a forma como esses sítios foram colocados, bem como os resultados dessa mudança.

4.2 Modelo VA com tecido epidérmico

Observamos, através dos resultados acima, que no modelo VA os estômatos se abrem somente nas imediações dos sítios veia. No entanto, através de observações experimentais, sabe-se que o fenômeno PSC possui uma dinâmica na qual há a possibilidade dos estômatos se abrirem em qualquer região da folha. Na tentativa de encontrar essa característica no modelo VA, inserimos, através de uma distribuição

homogênea, sítios epidérmicos que não possuem estômatos EPs no interior da rede, ou seja, não são sítios de evaporação, abrindo a possibilidade da água circular, através desses sítios, sem ser perdida para a atmosfera. Essa característica, em princípio, possibilita a existência de UEs abertas em regiões distantes das veias, pois, como veremos, o potencial hídrico dos sítios epidérmicos somente varia de acordo com o fluxo estabelecido entre os sítios vizinhos ao EP. Também esperamos que os valores das condutâncias média aumentem, pois como haverá um menor número de sítios de evaporação na rede, as UEs terão que compensar esse desfalque. Agora, um novo parâmetro é inserido ao modelo, o parâmetro e , que representa a porcentagem dos sítios da rede que se comportarão como EP.

Os sítios epidérmicos sem estômatos (EPs) foram criados fazendo a imposição de que suas aberturas serão sempre nulas ($A^i = 0$) durante todo o processo evolutivo do sistema. Assim, a equação (3.1) que rege a variação do potencial hídrico ficará para os EPs:

$$\frac{d\Psi_e^i}{dt} = cF_e^i, \quad (4.1)$$

fazendo a transformação para diferenças finitas temos:

$$\Psi_{e,t+1}^i = \Psi_{e,t}^i + cF_{e,t}^i. \quad (4.2)$$

Desta forma, observamos que a variação temporal do potencial hídrico dos EPs depende somente do fluxo estabelecido entre os sítios vizinhos a esse EP.

Na figura 4.10 temos a evolução temporal dos potenciais hídricos de EPs e UEs em variadas posições, onde podemos perceber as diferenças que ocorrem no sistema com esses novos sítios. Os EPs funcionam como uma espécie de extensão das veias,

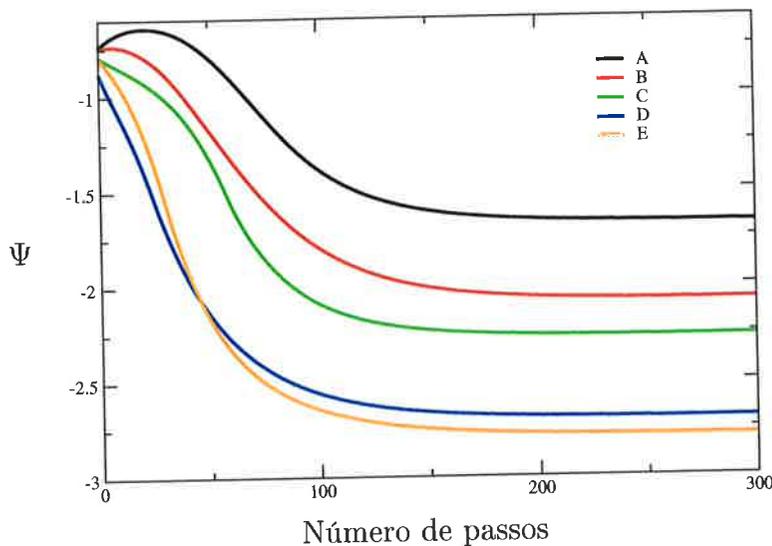


Figura 4.10: Evolução temporal do potencial hídrico de alguns sítios. O sítio A é um EP vizinho à duas veias e a dois EPs, o sítio B é um EP vizinho à uma veia e a dois EPs, o sítio C é uma UE vizinha à uma veia e a três EPs, o sítio D é uma UE vizinha a dois EPs e o sítio E é uma UE vizinha a um EP. Note que os sítios que possuem maior número de veias e EPs como vizinhos ficam com um potencial hídrico maior no estado estacionário. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 5$, $v = 10$ e $e = 20$.

transportando a água para as regiões em que se conectam. Assim, os potenciais hídricos das UEs que possuem uma grande quantidade de EPs como vizinhos é maior do que o das UEs que não possuem EPs como vizinhos, mesmo que essas UEs estejam a mesma distância das veias, pois toda a água que uma determinada EP adquire é transportada para a UE vizinha sem haver perda por evaporação.

Analisamos as condutâncias médias na rede com o parâmetro $e = 10$ para diferentes valores de Δw . Os valores de Δw são os mesmos utilizados nas figuras 3.15 (aréola gigante) e 4.2 (modelo VA) para podermos comparar as diferenças que ocorrem com a inserção dos EPs. As condutâncias médias, com essa nova característica, são ligeiramente maiores que as do modelo VA, para esse valor do parâmetro e . Esse resultado mostra que o valor adquirido pela aberturas dos estômatos foi maior, pois,

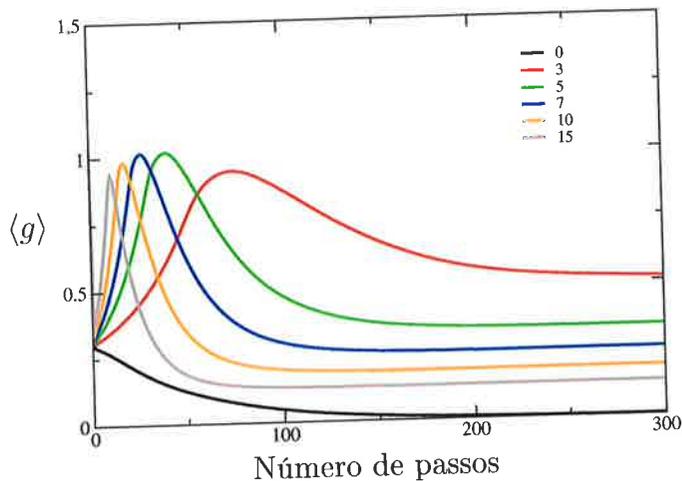


Figura 4.11: Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores do parâmetro Δw , em uma rede com EPs. Os valores do parâmetro Δw são os mesmos utilizados nas simulações da figura 3.15 e 4.2. Podemos perceber que ocorreu um ligeiro aumento das condutâncias médias com a inserção dos EPs. Esse aumento torna-se mais pronunciado se aumentarmos o valor do parâmetro e . As características do transiente, para o valor do parâmetro e utilizado, são muito similares a do modelo VA. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $v = 8$ e $e = 10$.

como esperávamos, há uma maior quantidade de água circulando na rede sem ser perdida e as UEs compensam a evaporação que não ocorre nos EPs.

Estudamos também a influência de diferentes valores do parâmetro e na condutância média da folha (ver figura 4.12). De acordo com o que observamos na figura 4.11, quando comparamos com os modelos anteriores, as condutâncias médias aumentam com a inserção dos EPs. Essa característica torna-se mais clara para altos valores do parâmetro e , como podemos notar na simulação com $e = 60$. Todas essas simulações foram realizadas com $v = 8$, assim, na simulação com $e = 60$, os 32% de sítios restantes da rede são UEs, sendo estas responsáveis pelas evaporação que “deveria” ocorrer nos EPs, e devido a grande quantidade de água existente na rede, essas UEs ficaram com um valor de abertura bastante alto.

As figuras 4.13 mostram o estado estacionário da rede para diferentes valores

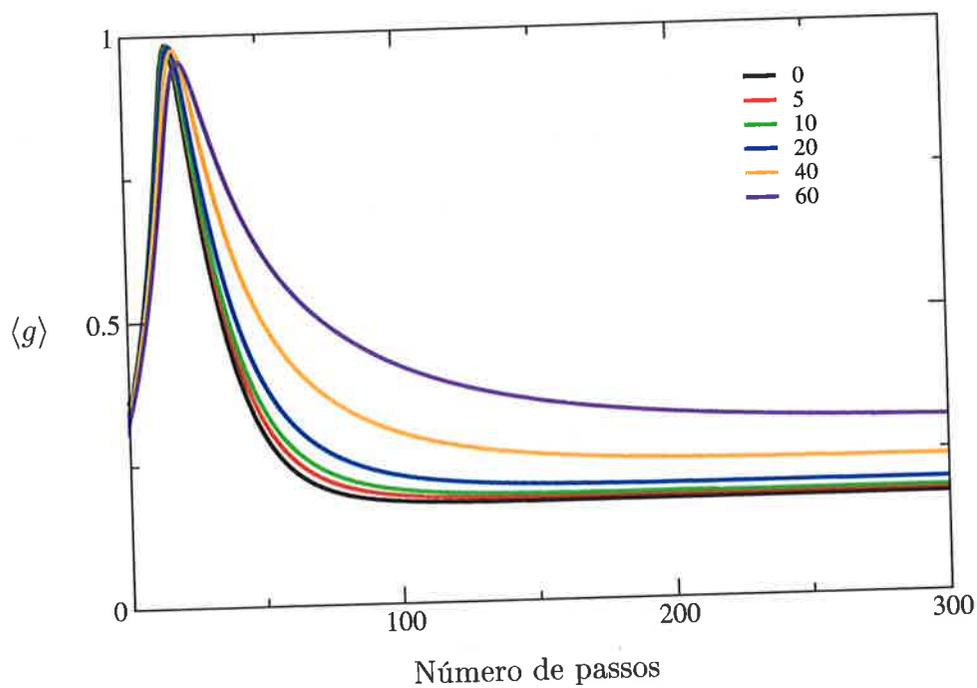


Figura 4.12: Evolução temporal das condutâncias médias em relação ao parâmetro e . Com o aumento do valor desse parâmetro ocorre uma diminuição do percentual de UEs na rede. Percebemos, então, que há um grande incremento nos valores das condutâncias médias no estado estacionário. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 10$ e $v = 8$.

do parâmetro e . Podemos notar, através dessas imagens, que há UEs abertas em regiões distantes das veias. Desta forma, através da inserção dos EPs, conseguimos obter a característica de abertura de UEs em regiões distantes das veias.

Concluimos que a inserção dos EPs gerou uma das características que buscávamos para a obtenção da dinâmica das UEs no fenômeno PSC. No entanto, percebemos que essa modificação não foi capaz de gerar estados estacionários oscilantes. Desta forma, percebemos que as mudanças na estrutura geométrica da rede e a inserção de um novo tipo de sítio não são capazes de produzir a dinâmica desejada. Assim, partimos para novas modificações, onde procuramos alterar as equações de abertura das UEs, visando alcançar estados estacionários oscilatórios.

4.3 Modelo VA com atraso na abertura

Nas seções anteriores fizemos modificações na estrutura espacial do modelo e também inserimos um novo tipo de sítio (EP) para tentar reproduzir os aspectos observados na dinâmica do PSC. No entanto, notamos que essas modificações não foram suficientes para a obtenção da dinâmica desejada. As mudanças realizadas, até o presente momento, propiciaram a obtenção de algumas características interessantes, como a existência de condutância (UEs abertas) no interior da folha, bem como RCs, e a existência de UEs abertas em regiões distantes das veias. Porém, ainda não foi possível obter os padrões oscilatórios observados experimentalmente. Assim, na tentativa de obter as oscilações no estado estacionário, fizemos uma alteração na forma como se calculam os potenciais hídricos dos estômatos, colocando uma espécie de retardo das respostas das UEs em relação às mudanças que ocorrem no potencial hídrico.

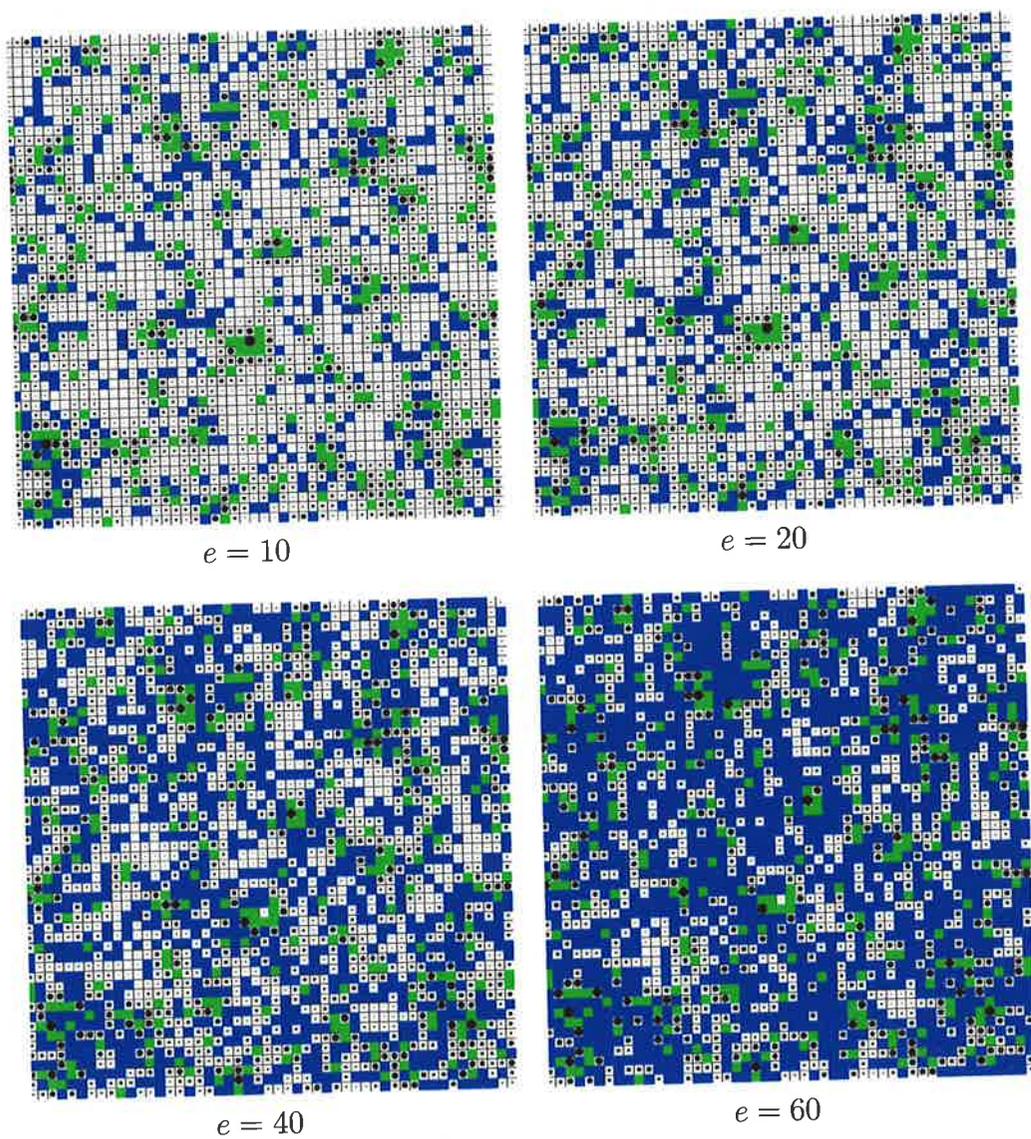


Figura 4.13: Imagens da rede com diferentes valores do parâmetro e . Podemos perceber a existência de UEs abertas em regiões que estão distantes das veias. Essa característica fica mais evidente para altos valores de e . Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $\Delta w = 10$ e $v = 10$.

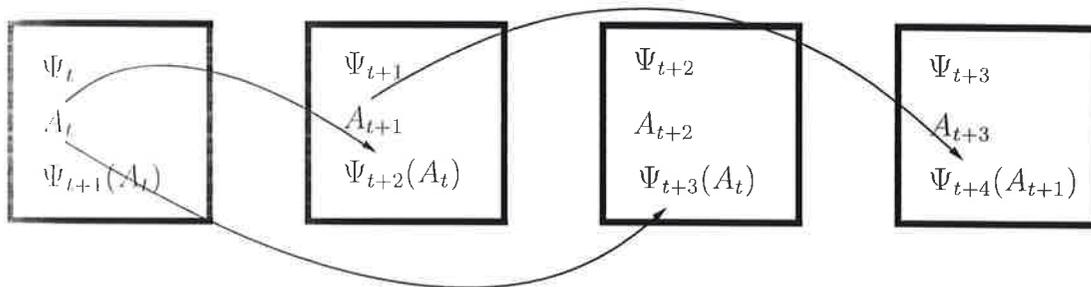


Figura 4.14: Forma como os potenciais hídricos são calculados no modelo VA com abertura atrasada.

Nos modelos anteriores, vimos que os cálculos dos potenciais hídricos, que serão utilizados no tempo seguinte, são feitos com o valor atual das aberturas ($\Psi_t(A_t)$). No entanto, no atual processo, o potencial hídrico será calculado com uma abertura adquirida em um tempo anterior ($\Psi_t(A_{t-n})$), sendo $n > 1$ o parâmetro que define o tempo anterior ao atual. Essa inércia reflete, do ponto de vista biológico, uma percepção atrasada para as variações das pressões de água, dos compartimentos que constituem o estômato, em relação à abertura do estômato. Há vários processos metabólicos envolvidos na variação das pressões de água entre estômatos, bem como entre as células que o formam. Processos envolvendo íons, gradientes de pressão osmótica, gradientes de pressão de turgor e etc. Quando inserimos no modelo essa inércia, estamos trabalhando com a hipótese de que os diferentes processos não ocorrem simultaneamente, possuindo escalas de tempo diferentes entre si. Acreditamos, assim, ser bastante razoável o uso deste cálculo para os potenciais hídricos das UEs.

A figura 4.14 mostra a forma como foi colocado essa inércia no modelo.

Fizemos simulações com atraso na abertura de até seis tempos anteriores ($n \leq 6$), mudando as proporções de EPs, sítios veia e UEs. Mudamos também as condições climáticas (Δw) e observamos que todos os estados estacionários, por mais diferenciados entre si que sejam os parâmetros, foram sempre estáticos. A figura 4.15 mostra

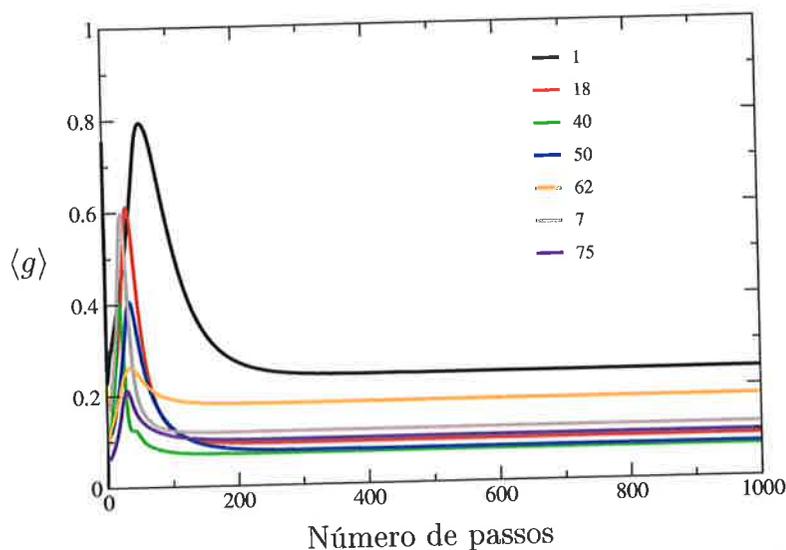


Figura 4.15: Evolução temporal das condutâncias médias no modelo VA com atraso na abertura para vários parâmetros distintos. Podemos perceber que todos os estado estacionários, para todos os diferentes parâmetros, são estáticos.

esses resultados.

Os estados estacionários, neste modelo, foram sempre estáticos pelo fato das aberturas das UEs, após um tempo t grande (após o transiente), ficarem constantes ($A_t = A_{t-n} = \text{constante}$). Assim, o atraso colocado para calcular os potenciais hídricos foi ineficaz para a obtenção das oscilações no estado estacionário, pois após o período transiente, o modelo com atraso se comportou igualmente ao modelo VA sem atraso na abertura. A única mudança adquirida, com esta proposta de cálculo dos potenciais hídricos, foi a alteração do transiente do modelo para alguns parâmetros. Desta forma, fizemos uma nova mudança em nosso modelo, alterando a equação de abertura das UEs, fazendo com que os processos de abertura e fechamento fossem realizados através de uma função tangente hiperbólica, que também reflete um retardo das respostas dos estômatos. Colocamos também uma diferenciação entre o comportamento de abertura e fechamento dos estômatos (histerese), na tentativa de

gerar uma assimetria que possa trazer um estado estacionário com oscilações.

4.4 Modelo VA com histerese

Vimos, na seção anterior, que o mecanismo de atraso colocado nos cálculos dos potenciais hídricos não foi capaz de gerar oscilações no estado estacionário do modelo. Agora, iremos mostrar uma nova mudança realizada na tentativa de obter a dinâmica oscilatória no estado estacionário.

Alteramos a equação de abertura das UEs (equação 3.6), de forma que a resposta dos estômatos seja não linear com a diferença entre as pressões de turgor das células guarda e da epiderme. Também consideramos que uma vez iniciada a abertura ou o fechamento, estes processos sejam rápidos, fazendo com que o estômato fique, na maior parte do tempo, com um alto valor de abertura ou com um baixo valor de abertura. Essas características foram obtidas fazendo as aberturas A^i iguais a função tangente hiperbólica da diferença entre as pressões de turgor das células guarda e da epiderme ($\Delta P = P_g - P_e$). Supusemos também a existência de uma inércia no comportamento de cada estômato, ou seja, estes não respondem instantaneamente às mudanças que ocorrem na disponibilidade de água ao seu redor. Desta forma, os estômatos obedecem uma determinada função $A_1(\Delta P)$ quando estão abrindo ($\Delta P_t > \Delta P_{t-1}$) e uma outra função $A_2(\Delta P)$ quando estão fechando ($\Delta P_t < \Delta P_{t-1}$). Há portanto, caminhos distintos para os processos de abertura e fechamento dos estômatos (histerese). Assim, a equação 3.6 foi substituída pela equação 4.3:

$$A^i = \begin{cases} A_1 = \{\tanh[(\Delta P) * \gamma - (d + c)] + 1\}/2, & \text{se } \Delta P_t \geq \Delta P_{t-1} \\ A_2 = \{\tanh[(\Delta P) * \gamma - c] + 1\}/2, & \text{se } \Delta P_t < \Delta P_{t-1} \end{cases} \quad (4.3)$$

onde o fator γ define as velocidades de abertura e fechamento e o parâmetro de histerese d define as diferenças entre as duas curvas. É importante observar que ΔP pode assumir qualquer valor entre 0 e 1,5, portanto este será o domínio dessas funções, sendo que estas possuem valor máximo igual a 1 e valor mínimo igual a 0. Desta forma, não iremos fazer comparações quantitativas entre os valores de condutância média obtidos neste modelo e os obtidos nos modelos anteriores.

No modelo de aréolas, a heterogeneidade entre os estômatos foi colocada através do coeficiente mecânico da epiderme C_e , considerado diferente para cada estômato. No modelo atual, as heterogeneidades serão colocadas supondo diferentes valores d^i para cada UE. Assim, cada UE terá uma histerese particular, que definirá a inércia de sua resposta às mudanças que ocorrem na disponibilidade de água. Testamos diversos valores para γ , c e para o intervalo de valores de d e utilizamos os que produzem resultados mais próximos aos observados experimentalmente. Os valores são: $\gamma = 30$, $c = 12$ e o intervalo de valores de d é $[0, 13]$. Os valores de d foram distribuídos de forma homogênea neste intervalo.

O gráfico destas funções para $d = 13$, que representa a maior discrepância para as respostas de abertura e fechamento da UE, é mostrado na figura 4.16.

Resumindo, quando $\Delta P_t > \Delta P_{t-1}$, a função $A_1(\Delta P)$ é utilizada; se ΔP ultrapassa um determinado valor crítico, que varia de UE para UE, de acordo com o seu valor d^i , o estômato se abre rapidamente (a velocidade depende do valor do parâmetro γ). No entanto, se $\Delta P_t < \Delta P_{t-1}$, a função utilizada é a $A_2(\Delta P)$, e, neste caso,

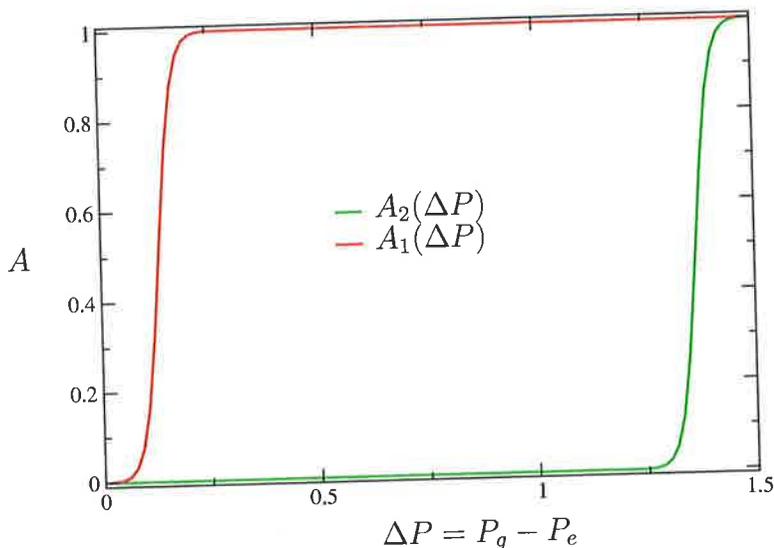


Figura 4.16: Gráfico das funções de abertura utilizadas no modelo para $d = 13$. A função $A_1(\Delta P)$ está representada pela curva verde e a função $A_2(\Delta P)$ pela curva vermelha.

se $\Delta P \sim 0,5$, os estômatos começa a fechar rapidamente. Este tipo de mecanismo faz com que a abertura das UEs esteja sempre próxima de seus extremos (abertura máxima ou abertura nula), gerando grande perda ou grande acúmulo de água. Este tipo de comportamento representa, do ponto de vista biológico, uma inércia das respostas dos estômatos às mudanças que ocorrem no potencial hídrico do tecido epidérmico que os cercam.

Na figura 4.17 temos a evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de Δw . Podemos notar que surgem oscilações persistentes para altos valores de Δw , o que está de acordo com a observação experimental de que, apenas nas condições de estresse hídrico (altos valores de Δw) os estômatos oscilam. Este é um importante resultado, que até o presente momento não havia sido obtido, sugerindo que nossas hipóteses, sobre o mecanismo de abertura dos estômatos, podem estar corretas. As condutâncias médias diminuem com o aumento de Δw , o que também é coerente com a observação experimental, mas este é um resultado que já

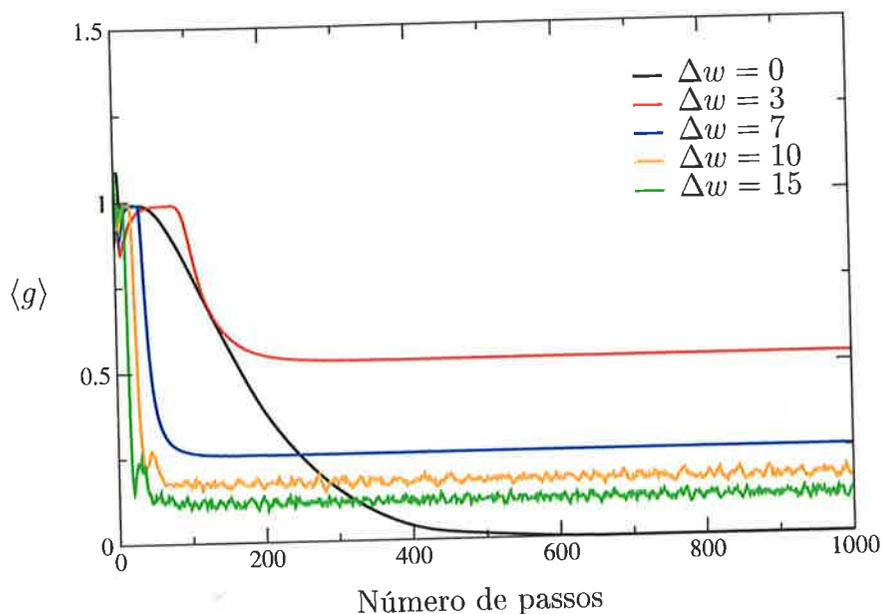


Figura 4.17: Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de Δw . As oscilações surgem para altos valores desse parâmetro, o que é coerente com observação experimental. Nestas simulações: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $v = 8$.

foi observado nos modelos anteriores.

Na figura 4.18 mostramos a evolução temporal das condutâncias médias para os mesmos valores de Δw , que foram utilizados na figura 4.17, porém $c = 4$ e $d \in [0, 37]$. O comportamento do modelo, para estes novos valores dos parâmetros, é diferente, principalmente para pequenos valores de Δw . Isto serve para exemplificar a diversidade de comportamento que o sistema pode ter quando os parâmetros são modificados. Escolhemos, para as simulações seguintes, os valores $\gamma = 30$, $c = 12$ e $d \in [0, 13]$, a menos que seja explicitamente indicado.

Na figura 4.19 apresentamos o comportamento da condutância média para diversos valores do parâmetro v . Como esperado, $\langle g \rangle$ é maior para maiores valores desse parâmetro. Os transientes, as amplitudes das oscilações e os comportamentos dos estados estacionários são bastante similares para os diferentes valores de v , o

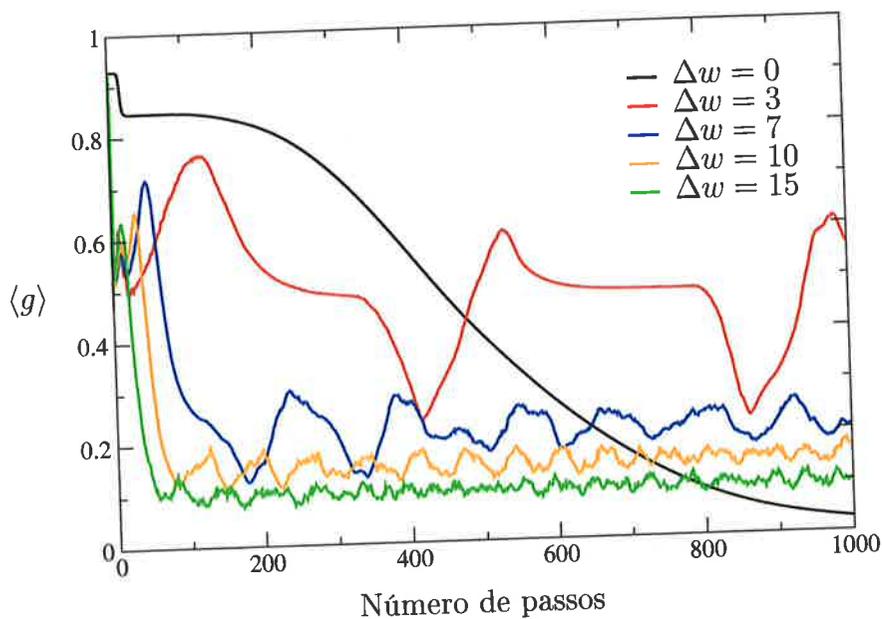


Figura 4.18: Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de Δw . Nestas simulações utilizamos as funções de abertura com os valores dos parâmetros citados acima. Podemos notar que o comportamento do sistema, principalmente para baixos valores de Δw , é bastante diferente do obtido nas simulações da figura 4.17. Quando $\Delta w = 7$, ocorrem pequenas oscilações em torno de um comportamento médio, que também oscila no tempo. Este resultado é muito similar ao resultado experimental apresentado na figura 2.4. Nestas simulações: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $v = 8$.

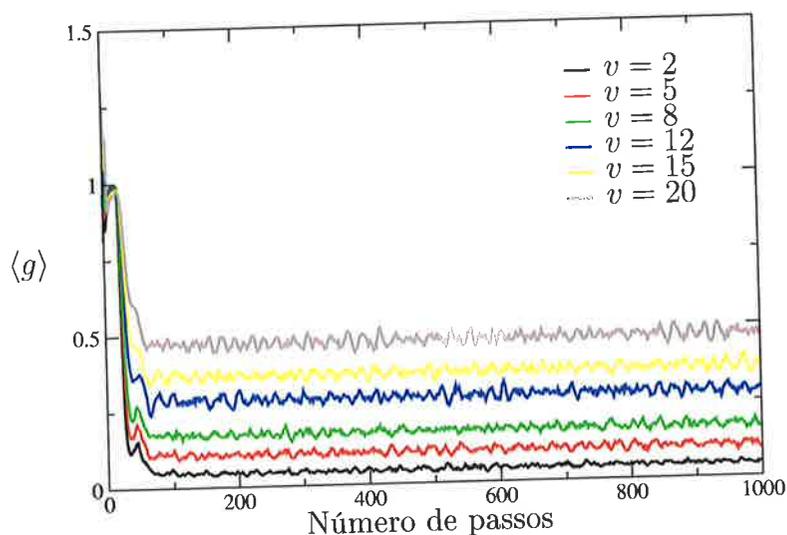


Figura 4.19: Evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores de v . Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 10$ e $\Delta w = 10$.

que mostra que o modelo é robusto e que a dependência de Δw é a fundamental.

As amplitudes das oscilações diminuem se o tamanho do intervalo de valores para d é menor, ou seja, se a diferença entre as funções $A_1(\Delta P)$ e $A_2(\Delta P)$ é menor, demonstrando que as oscilações acontecem devido à existência da histerese das respostas dos estômatos. A figura 4.20 mostra essa observação para os seguintes tamanhos de intervalo dos valores do parâmetro d : $d \in [0, 30]$, $d \in [0, 5]$ e $d = 0$.

Outra observação importante é que as condições iniciais não alteram os resultados obtidos no estado estacionário. Para mostrar isso, fizemos simulações com condições iniciais aleatórias, distribuindo diferentes valores de Ψ_e^i e π_g^i para as UEs, dentro dos seguintes intervalos: $-3 \leq \Psi_e^i \leq 0$ e $-3 \leq \pi_g^i \leq -1,5$. Comparamos os resultados dessas simulações com os resultados obtidos nas simulações em que todas as UEs possuem inicialmente $\Psi_e^i = -0,75$ e $\pi_g^i = -2,25$ (utilizada na maioria das simulações anteriores). A figura 4.21 mostra esses resultados.

A figura 4.22 mostra o estado estacionário da rede em quatro tempos consecuti-

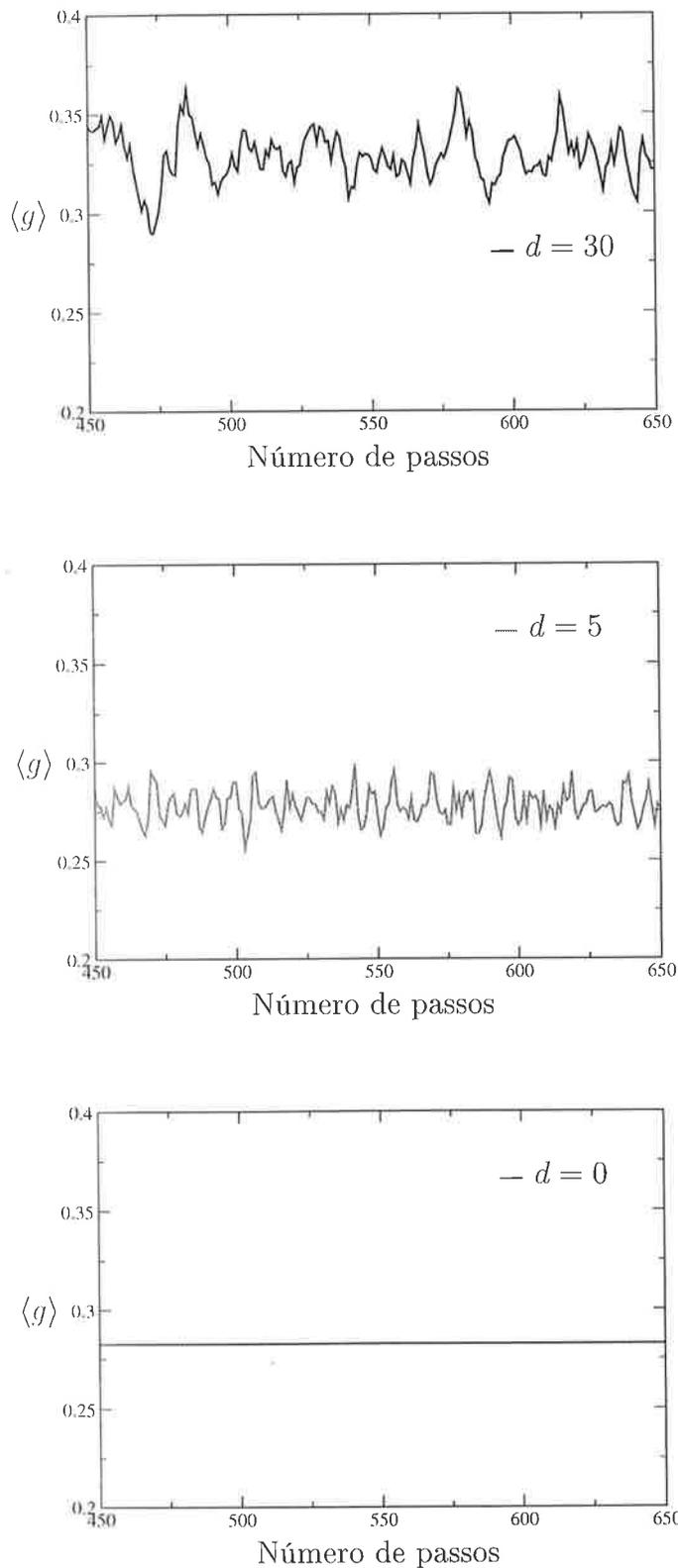


Figura 4.20: Condutancia média para diferentes tamanhos de intervalo dos valores do parâmetro d . Podemos perceber que nos dois primeiros casos há oscilações no estado estacionário, e que ocorre uma diminuição na amplitude dessas oscilações conforme o tamanho do intervalo de valores de d diminui. Para $d = 0$ não há oscilação. Nessas simulações: $c = 0.008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 20$ e $\Delta w = 15$.

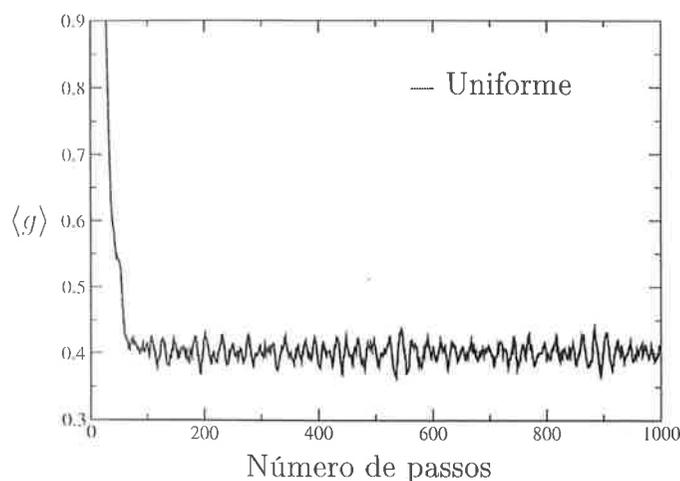
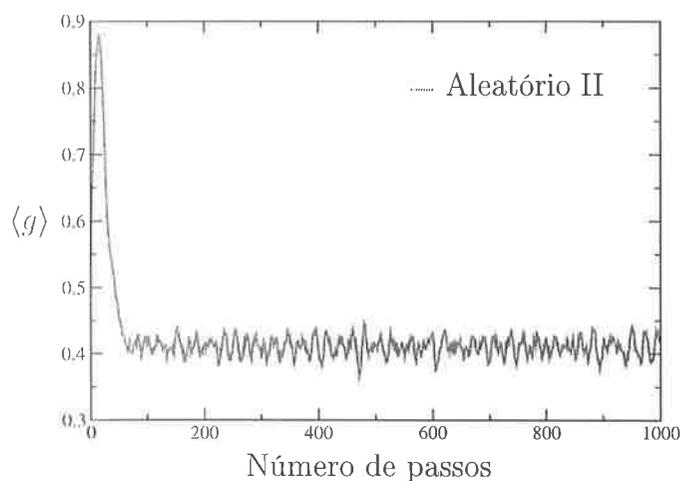
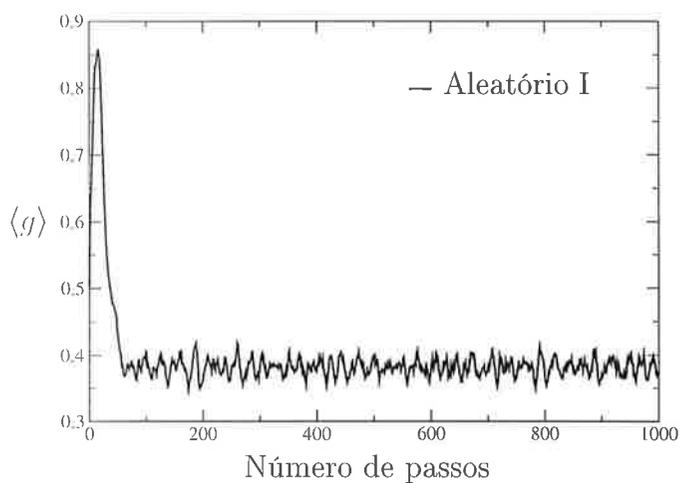


Figura 4.21: As duas primeiras imagens mostram a evolução temporal das condutâncias médias com inicializações aleatórias e a terceira imagem mostra a evolução temporal da condutância média com os valores $\Psi_e = -0,75$ e $\pi_g = -2,25$ iguais para todas as UEs. Podemos notar que os estados estacionários são iguais nas três simulações. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 10$.

vos. Os sítios veia são representados pelos quadrados verdes, os EPs pelos quadrados azuis e os raios dos círculos pretos são proporcionais aos graus de abertura das UEs. Podemos notar as oscilações que ocorrem na rede com essas novas funções para o cálculo das aberturas.

Através da figura 4.22 pode-se notar que as UEs mais distantes dos sítios veia oscilam no estado estacionário. Neste modelo é interessante observar que a correlação de abertura das UEs com relação à localização das veias é menos evidente que no caso dos modelos anteriores. Notamos que os sítios mais distantes das veias demoram mais tempo para abrir do que os sítios mais próximos, pois o novo mecanismo de abertura somente permite que um estômato se abra quando ΔP ultrapassar um valor crítico. Assim, as UEs mais distantes das veias esperam maior tempo para obter uma disponibilidade de água que permita um valor de ΔP maior que o valor crítico. Conseguimos, desta forma, obter altos valores de abertura para as UEs mais distantes das veias, o que não era possível nos modelos anteriores, mas que é observado nos experimentos. A figura 4.23 mostra a evolução temporal das condutâncias de três UEs com diferentes distâncias em relação às veias.

Comentaremos, brevemente, o resultado obtido para duas pequenas variações nesse modelo, que procuram evidenciar o papel da desordem no sistema.

- **Modelo VA com parâmetro d variando no tempo**

Neste modelo, os valores d^i , de cada UE, variam a cada instante de tempo. Inicializamos a rede com uma determinada distribuição de valores d^i , dentro do intervalo [0..13], para cada UE. No tempo seguinte, uma nova distribuição foi realizada, alterando, dessa forma, o valor d^i de cada UE. A justificativa para esse tipo de modelo reside na observação de que muitos processos biológicos se comportam dessa forma, ou seja, a resposta do sistema, a uma determinada

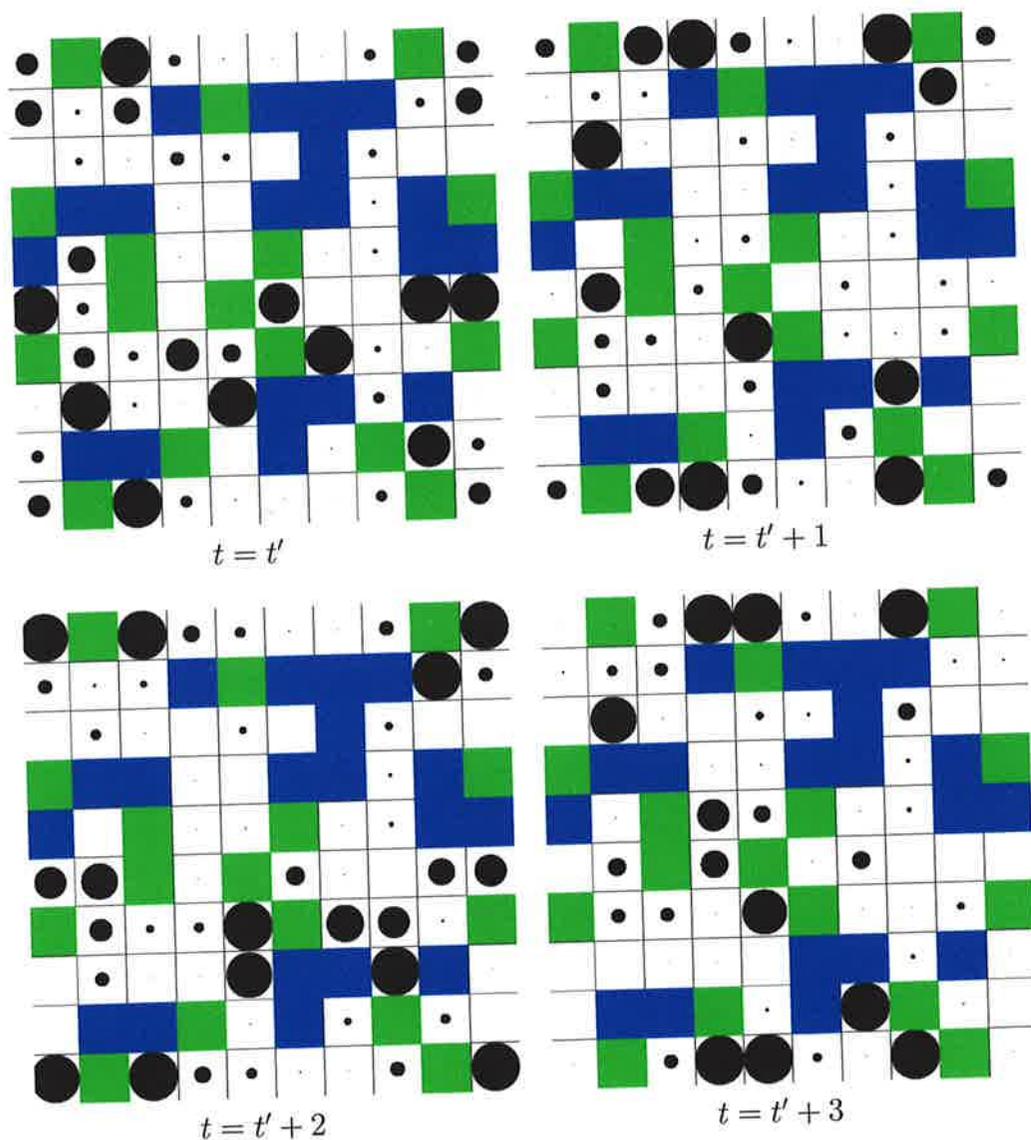


Figura 4.22: Imagem da rede no estado estacionário para 4 tempos consecutivos. Utilizamos, para melhor visualização, uma rede 10×10 nessa simulação. Os quadrados verdes representam os sítios veia, os azuis representam os EPs e os raios dos círculos pretos são proporcionais as aberturas das UEs. Podemos observar as oscilações através dos diferentes graus de abertura que as UEs adquirem nesses consecutivos tempos. Essas oscilações são similares as que ocorrem no fenômeno PSC. Nessa simulação: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 15$.

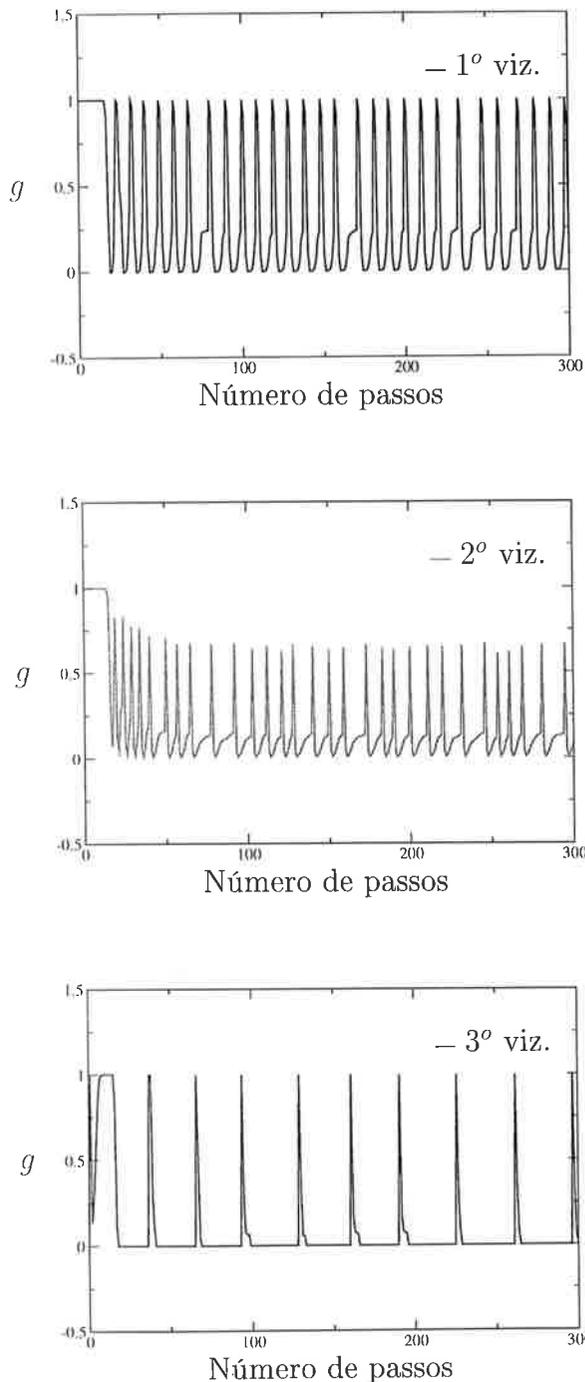


Figura 4.23: A primeira figura mostra a evolução temporal da condutância de uma UE que possui um sítio veia como primeiro vizinho. Podemos notar que sua condutância oscila rapidamente entre altos e baixos valores. A segunda figura nos mostra a condutância de uma UE que possui um sítio veia como seu segundo vizinho. O tempo que estas UEs ficam com uma abertura intermediária é um pouco maior. A terceira figura mostra uma UE que é terceira vizinha de um sítio veia, podemos notar que essa UE fica bastante tempo fechada quando comparada com as duas UEs acima, no entanto, quando se abre, atinge um valor de condutância, comparável a UE que é primeira vizinha de um sítio veia. Nessas simulações: $c = 0,008$, $\alpha = 0,1$, $e = 25$, $v = 15$ e $\Delta w = 15$.

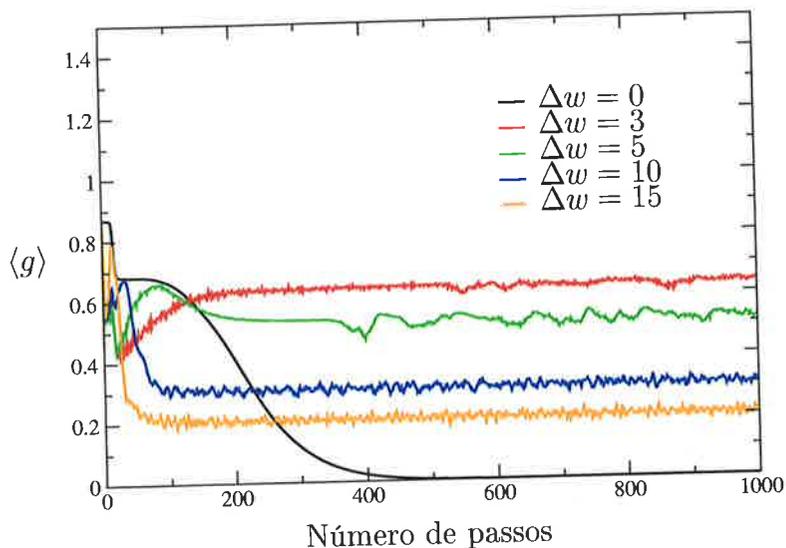


Figura 4.24: Evolução temporal das condutâncias médias, no modelo que o valor d^i , de cada UE, varia no tempo, para diferentes valores de Δw . Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 25$ e $v = 15$.

condição, nem sempre é a mesma.

A figura 4.24 mostra a evolução temporal das condutâncias médias para diferentes valores do parâmetro Δw . A forma como a condutância média evolue para $\Delta w = 3$ é bastante diferente quando comparada à evolução ocorrida na simulação em que os valores d^i são constantes no tempo. No entanto, para Δw s maiores, não há uma diferença perceptível entre os comportamentos dos modelos com parâmetro d variável e constante no tempo.

• Modelo VA com parâmetro d fixo

Este modelo possui um valor $d^i = d = 13$ constante no tempo e igual para todas as UEs. Assim, todas os estômatos possuem a mesma resposta para as mudanças das condições hídricas, e não há elementos aleatórios.

A figura 4.25 mostra a evolução das condutâncias médias neste modelo para

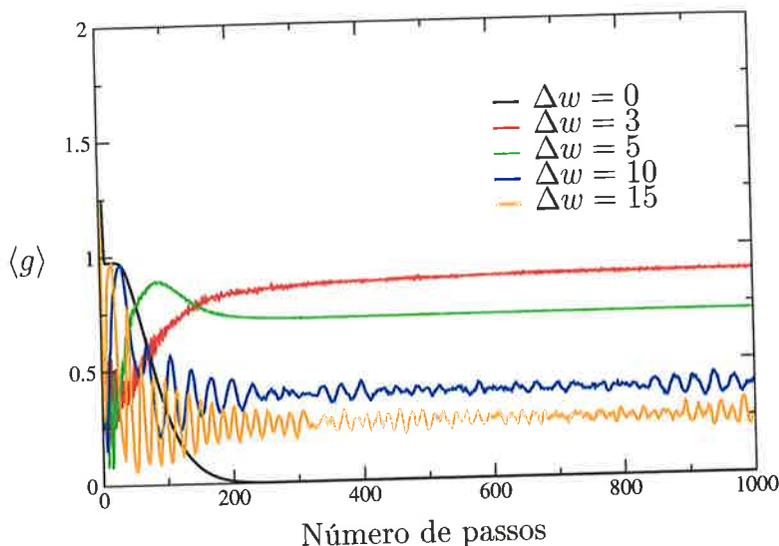


Figura 4.25: Evolução temporal das condutâncias médias em simulações que o parâmetro d , de cada UE, é igual e constante no tempo, para diferentes valores de Δw . Nesta simulação: $c = 0.008$, $\alpha = 0.1$, $e = 25$ e $v = 15$.

diferentes valores do parâmetro Δw . A forma como o sistema atinge o estado estacionário, para Δw s pequenos, é bastante similar a que ocorre no modelo com o parâmetro d variando no tempo, no entanto, observamos oscilações de maior amplitude muito mais persistente e regulares no início das simulações. Isto ocorre porque não existem UEs com respostas intermediárias. Sendo grande a diferença entre as funções $A_1(\Delta P)$ e $A_2(\Delta P)$ (d tem seu valor máximo), observamos, no período transiente, grandes amplitudes de oscilação. Quando diminuimos o valor do parâmetro d , as oscilações diminuem no período transiente (não mostrado).

Concluimos, assim, que as oscilações que ocorrem com essa modificação na equação da abertura são devidas às diferenças entre as funções $A_1(\Delta P)$ e $A_2(\Delta P)$, sendo a amplitude dessas oscilações diretamente relacionada com essa diferença. O comportamento não linear de A com ΔP parece não ser muito relevante. Através das

observações da rede, com o uso da biblioteca gráfica, notamos que todos os estômatos oscilam, eliminando, portanto, a forte correlação que existia entre a abertura das UEs e a localização em relação às veias. As UEs mais próximas dos sítios veia permanecem menos tempo fechadas do que as UEs mais distantes, porém estas conseguem obter altos valores de condutância. A existência de altos valores de condutância para sítios distantes das veias não havia sido obtida nos modelos anteriores, quando somente observávamos um decréscimo do valor das aberturas conforme aumentava-se a distância das UEs em relação às veias. Outro resultado importante obtido com este modelo, é o surgimento das oscilações nas condições de estresse hídrico (Δw alto), o que também não havia sido obtido nos modelos anteriores. A diversidade de comportamento gerada pelo atual mecanismo de abertura é bastante coerente com algumas observações experimentais da dinâmica estomática. Portanto, gostaríamos de ressaltar que as características do presente modelo são muito mais próximas das características observadas na ocorrência do fenômeno PSC. É importante observar que a mudança realizada nas equações introduz, como perspectiva de discussão para os botânicos, a possibilidade da existência de diferentes respostas dos estômatos durante o processo de abertura e de fechamento.

V

CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

O modelo de aréolas, proposto por Haefner e colaboradores, foi estudado por nós num primeiro instante, para verificar seus resultados e a origem da complexa dinâmica dos estômatos que emerge durante o fenômeno PSC. No entanto, observamos, através de nossas análises, que este modelo não foi capaz de gerar o comportamento observado experimentalmente, ou relatado em [4]. Em todas as simulações realizadas, para as diversas combinações dos parâmetros, encontramos somente estados estacionários estáticos, onde os estômatos convergem para um valor de abertura constante, nos quais se estabelece o equilíbrio entre o fluxo hídrico e a evaporação presentes em cada UE. As características estruturais de cada UE, representadas pelos valores de C_e , ou as condições iniciais não alteram os valores das aberturas que as UEs adquirem no estado estacionário. Esses parâmetros simplesmente alteram o transiente. A observação que Haefner e colaboradores fazem em [4] sobre a obtenção da dinâmica do PSC, não foi reproduzida por nós. Acreditamos que, neste trabalho, os padrões observados por Haefner associados à dinâmica do PSC referem-se a observação do período transiente da composição de um grande número de aréolas iniciadas de forma diferente. No entanto, sabemos que o PSC é um fenômeno que persiste durante um longo período de tempo, fruto da interação existente entre os estômatos da folha. Também gostaríamos de ressaltar que a estrutura geométrica do modelo de aréolas é muito diferente da encontrada em folhas reais, nas quais

a difusão da água ocorre dentro do mesófilo, de forma muito mais homogênea. A disposição das veias neste modelo faz com que somente uma pequena quantidade de UEs se comuniquem (as que pertencem a uma única aréola). No entanto, sabemos que a água circula “livremente” através do mesófilo, permitindo a interação de uma grande quantidade de estômatos.

O modelo VA, tanto do ponto de vista geométrico, como do ponto de vista do mecanismo de difusão da água, é mais próximo da realidade. No entanto, alguns de seus resultados se assemelham bastante aos obtidos no modelo anterior, pois, como vimos, suas equações são as mesmas que foram utilizadas no modelo de aréolas. Entretanto, através deste modelo, conseguimos obter uma importante característica que surge no PSC, que é a formação das regiões de coordenação (RCs). Os principais resultados obtidos no modelo VA foram: (a) a formação de padrões heterogêneos na rede, ou seja, a formação de RCs nas regiões próximas dos sítios veia, (b) o aumento nos valores obtidos para as condutâncias e condutâncias médias, pois estabeleceu-se uma relação de vizinhança entre os sítios diferente da apresentada em [4] e (c) a ampliação do espectro de abertura das UEs. Com a dispersão de sítios veia no interior da rede, sem provocar o isolamento de regiões, temos uma estrutura com propriedades muito mais próximas da estrutura das folhas reais, do ponto de vista da difusão da água, onde há uma maior homogeneidade na distribuição desta, bem como a possibilidade de interação de um grande número de UEs. Embora sejam estáticos, no estado estacionário, os padrões espaciais obtidos com esse modelo são mais sugestivos do fenômeno PSC do que os obtidos com o modelo de aréolas.

Quando distribuimos sítios epidérmicos no interior da rede, obtivemos outra característica importante que, até então, não havia sido obtida. Essa característica é a existência de UEs abertas em regiões distantes dos sítios veia, o que também

é observado experimentalmente durante a ocorrência do PSC. Assim, os padrões espaciais, obtidos no modelo VA com tecido epidérmico, tornaram-se mais próximos dos observados no PSC, apesar de seus estados estacionários serem estáticos.

Buscando obter um comportamento oscilatório, durante o estado estacionário do sistema, fizemos a primeira alteração na forma como as grandezas do modelo são calculadas. Criamos, então, o modelo VA com atraso na abertura. Neste modelo, os cálculos dos potenciais hídricos de cada UE são realizados com base na abertura calculada em um tempo anterior ao atual, inserindo uma inércia que reflete, do ponto de vista biológico, um atraso nas respostas de diferentes processos metabólicos. Esse tipo de característica é muito comum, sendo encontrada em diversos processos biológicos. Com este novo tipo de cálculo fizemos uma série de simulações, nas mais diferentes combinações dos parâmetros, e percebemos que essa mudança foi ineficaz para a obtenção de estados estacionários com oscilações. Notamos que os cálculos desse modelo recaíam nos mesmos tipos de cálculos realizados nos modelos anteriores, após o período transiente, produzindo, assim, os mesmos resultados.

Então, substituímos a equação de abertura das UEs 3.6 pela equação 4.3, criando o Modelo VA com histerese, visando obter um comportamento no qual os estômatos demoram um certo tempo para alterar suas aberturas em relação às mudanças de disponibilidade de água ao seu redor, e que essas alterações, quando ocorrem, são realizadas de forma súbita, fazendo com os estômatos adquiram um alto valor de abertura (ou abertura total) ou um baixo valor de abertura (ou abertura nula) rapidamente. Este tipo de mecanismo nos propiciou a obtenção de uma característica na qual as UEs não conseguem ajustar precisamente suas aberturas de acordo com o fluxo hídrico e a evaporação, fazendo com que ocorra uma perda excessiva de água em alguns instantes e um ganho excessivo em outros. Obtivemos, desta forma, estados

estacionários nos quais os estômatos oscilam, e que apresentam uma grande diversidade de comportamento dependendo dos parâmetros utilizados na equação 4.3 e na forma como a não homogeneidade dos estômatos é introduzida. Para um determinado conjunto de valores dos parâmetros, obtivemos uma importante característica, observada experimentalmente, que é o surgimento de oscilações na condutância média, em condições de estresse hídrico (Δw alto), e um comportamento que converge para um estado estacionário estático se Δw é pequeno. A observação dos estados estacionários destes modelos, para as mais variadas condições, nos permite afirmar que seus resultados são muito mais próximos aos obtidos nos experimentos, o que indica que nossas hipóteses sobre o mecanismo de abertura dos estômatos podem estar corretas. A dinâmica, agora obtida, possui maior número de características da dinâmica observada no PSC, como a existência de altos valores de condutância para UEs distantes das veias, do que a dinâmica apresentada pelos outros modelos.

Todas as modificações propostas neste trabalho, sejam na geometria, sejam na dinâmica do modelo (a maneira como cada estômato abre ou fecha), embora representem um progresso, não foram capazes de reproduzir todos os aspectos observados na dinâmica do PSC. Em particular, embora seja um fato que há heterogeneidade nas respostas dos estômatos, não sabemos exatamente se existe uma diferença significativa destas durante o processo de abertura e fechamento, como foi sugerido por nós. Algumas características importantes dos mecanismos de transporte da água no interior da folha não foram adequadamente introduzidas nos modelos propostos até o momento, pois sabe-se que coexistem, no interior da folha, água na forma líquida e gasosa, e que mecanismos de difusão (além de gradientes de pressão) devem exercer papel importante no transporte de água na região do mesófilo. Pretendemos continuar esse estudo no projeto de doutorado, olhando esse problema sob outros

aspectos, com diversas técnicas desenvolvidas no contexto de sistemas dinâmicos e mecânica estatística fora do equilíbrio, procurando obter resultados analíticos e numéricos, num estudo de formação de padrões.

Bibliografia

- [1] J. Pospisilova e J. Santrucek, *Biologia Plantarum* **36(4)**, 481-510 (1994).
- [2] A. Laisk, V. Oja e K. Kull, *Journal of Experimental Botany* **31**, 49-58 (1980).
- [3] I. Terashima, S. C. Wong, C. B. Osmond e G. D. Farquhar, *Plant, Cell and Environment* **29**, 385-394 (1998).
- [4] J. W. Haefner, T. N. Buckley e K. A. Mott, *Plant, Cell and Environment* **20**, 1087-1097 (1997).
- [5] K. A. Mott e T. N. Buckley, *Journal of Experimental Botany* **49**, 407-417 (1998).
- [6] W. Beyschlag e J. Eckstein, *Stomatal Patchiness*, Progress in Botany, Springer-Verlag (1998).
- [7] I. terashima, *Photosynthesis Research* **31**, 195-212 (1992).
- [8] Z. G. Cardon, K. A. Mott e J. A. Berry, *Plant, Cell and Environment* **17**, 995-1007 (1994).
- [9] P. F. Daley, K. Raschke, J. T. Ball e J. A. Berry, *Plant Physiology* **90**, 1233-1238 (1989).

- [10] K. A. Mott, Z. G. Cardon e J. A. Berry, *Plant, Cell and Environment* **16**, 25-34 (1993).
- [11] P. J. H. Sharpe, H. Wu e R. D. Spence, *In Stomatal Function* (eds E. Zeiger, G. D. Farquhar e I. R. Cowan), Stanford University Press, 91-114 (1987).
- [12] K. A. Mott e T. N. Buckley, *Trends in Plant Science* **5(6)**, 258-262 (2000).
- [13] G. M. Souza, R. F. de Oliveira e V. J. M. Cardoso, *Brazilian Archives of Biology and Technology* **47**, 423-431 (2004).
- [14] J. W. H. Yong, S. C. Wong e G. D. Farquhar, *Plant, Cell and Environment* **20**, 1213-1216 (1997).
- [15] H. Wu, P. J. Sharpe e R. D. Spence, *Plant, Cell and Environment* **8(4)**, 269-274 (1985).
- [16] W. Beyschlag, J. Eckstein, *Acta Oecologica* **22**, 161-173 (2001).
- [17] P. J. Franks, I. R. Cowan, e G. D. Farquhar, *Plant, Cell and Environment* **21(1)**, 94 (1998).
- [18] D. Peak, J. D. West, S. M. Messinger e K. A. Mott, *PNAS* **101**, 918-922 (2004).
- [19] T. N. Buckley e K. A. Mott, *Plant, Cell and Environment* **25**, 407-419 (2002).
- [20] T. N. Buckley, G. D. Farquhar e K. A. Mott, *Plant, Cell and Environment* **20**, 867-880 (1997).
- [21] K. A. Mott, F. Denne e J. Powell, *Plant, Cell and Environment* **20**, 1098-1107 (1997).

- [22] T. N. Buckley, K. A. Mott e G. D. Farquhar, *Plant, Cell and Environment* **26**, 1767-1785 (2003).
- [23] K. A. Mott e P.J. Franks, *Plant, Cell and Environment* **24**, 657-662 (2001).
- [24] B. W. Kernighan e D. M. Ritchie, *C, a linguagem de programação padrão ANSI*, editora Campus, 14^a tiragem, 1989.

- [Née49] L. NÉEL. Preuves expérimentales du ferromagnétisme et de l'antiferromagnétisme. *Ann. Inst. Fourier* **1** (1949) 163–183. In French.
- [Née52] L. NÉEL. Antiferromagnetism and ferrimagnetism. *Proc. Phys. Soc. A* **65** (1952) 869–885. <http://dx.doi.org/10.1088/0370-1298/65/11/301>.
- [NH02] U. NORINDER AND M. HAEBERLEIN. Computational approaches to prediction of the blood-brain distribution. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **54** (2002) 291–313. [http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00005-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00005-4).
- [NVB⁺04] E.A. NEUWELT, P. VÁRALLYAY, A.G. BAGÓ, L.L. MULDOON, G. NESBIT, AND R. NIXON. Imaging of iron oxide nanoparticles by MR and light microscopy in patients with malignant brain tumours. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* (2004). <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2990.2004.00557.x>.
- [NW95] K.M. NASHOLD AND D.P. WALTER. Investigations of optical limiting mechanisms in carbon particle suspensions and fullerene solutions. *J. Opt. Soc. Am. B* **12** (1995) 1228–1237.
- [OB83] K. O'GRADY AND A. BRADBURY. Particle analysis in ferrofluids. *J. Magn. Magn. Mater.* **39** (1983) 91–94. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-8853\(83\)90407-9](http://dx.doi.org/10.1016/0304-8853(83)90407-9).
- [OKC⁺01] C.J. O'CONNOR, V. KOLESNICHENKO, E. CARPENTER, C. SANGREGORIO, W.L. ZHOU, A. KUMBHAR, J. SIMS, AND F. AGNOLI. Fabrication and properties of magnetic particles with nanometer dimensions. *Synth. Met.* **122** (2001) 547–557. [http://dx.doi.org/10.1016/S0379-6779\(01\)00328-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0379-6779(01)00328-9).
- [PBMPS97] W.S. PRESTVIK, A. BERGE, P.C. MØRK, AND J. UGELSTAD P.M. STENSTAD. *Preparation and applications of monosized magnetic particles in selective cell separation*. Kluwer Academic Press/Plenum Publishers, Amsterdam, 1st edition, 1997.
- [PHJ⁺99] P.N. PRASAD, G.S. HE, M.P. JOSHI, J. SWIATKIEWICZ, G. MANCHALA, M. LAL, A. BISWAS, AND K.S. KIM. Nanostructured materials and composites for optical power limiting. *Nonlinear Opt.* **21** (1999) 39–47.
- [PK89] T. PANNAPARAYIL AND S. KOMARNENI. Synthesis and characterization of ultrafine cobalt ferrites. *IEEE Trans. Magn.* **25** (1989) 4233–4235.
- [PM02] A.P. PHILIPSE AND D. MAAS. Magnetic colloids from magnetotactic bacteria: Chain formation and colloidal stability. *Langmuir* **18** (2002) 9977–9984. <http://dx.doi.org/10.1021/la0205811>.