UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ZOOTECNIA E ENGENHARIA DE ALIMENTOS

CELÍ APARECIDA CARDOSO

Demonstração de atividade bioelétrica em Capim Marandu (*Brachiaria
brizantha* cv. Marandu)

Pirassununga/SP

2013

CELÍ APARECIDA CARDOSO

**Demonstração de atividade bioelétrica em Capim Marandu (*Brachiaria
brizantha* cv. Marandu)**

(Versão Corrigida)

Dissertação apresentada à Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Zootecnia.

Área de Concentração: Qualidade e Produtividade Animal

Orientador: Prof. Dr. Ernane José Xavier Costa

Pirassununga/SP
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Serviço de Biblioteca e Informação da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos
da Universidade de São Paulo

C268d Cardoso, Celí Aparecida
Demonstração de atividade bioelétrica em capim
Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) / Celí
Aparecida Cardoso. -- Pirassununga, 2013.
79 f.
Dissertação (Mestrado) -- Faculdade de Zootecnia e
Engenharia de Alimentos - Universidade de São Paulo.
Departamento de Ciências Básicas.
Área de Concentração: Qualidade e Produtividade
Animal.
Orientador: Prof. Dr. Ernane José Xavier Costa.

1. *Brachiaria brizantha* 2. Atividade bioelétrica
3. Luz 4. Sombreamento. I. Título.

Agradecimentos

Primeiramente á Deus, pois sem ele nada eu teria conseguido realizar.

Á minha querida família pelo incondicional, grandioso e importantíssimo apoio.

Ao Professor Dr. Ernane José Xavier Costa, pela colaboração, orientação e seus conhecimentos repassados.

Ao Professor Valdo Rodrigues Herling pela colaboração na condução do experimento, por todo apoio e amizade.

Ao Professor Pedro Henrique de Cerqueira Luz pelo apoio e pela saudável e frutífera convivência.

Ao Professor Adriano Rogério Tech pela colaboração, companheirismo e apoio.

Ao Professor Armindo Antônio Alves pelo apoio, contribuição e amizade.

Á todo pessoal do LAFAC pela amável convivência, e também pelas deliciosas tardes de quinta, em especial aos técnicos Aldo e Gustavo.

Á todo pessoal das Agrárias, e do laboratório de análise de solo e plantas, em especial ao técnico responsável Marcos Ferraz.

Á todos os funcionários da FZEA sem distinção.

A todos os bons colegas de Mestrado da USP/FZEA com quem dividi alegrias e tristezas e que me ensinaram um pouco, sobre o que devo ser, e o que devo fazer; aos maus colegas também, pois me ensinaram o que não devo ser, e o que não devo fazer.

Enfim á todos aqueles que torceram por mim, e aqueles que influenciaram positivamente a minha vida. Sei que mesmo não estando aqui citados, vocês estão felizes por mais esta etapa e mais este degrau que estou subindo na minha vida, mas fiquem tranquilos, não será o último, ainda vou precisar de vocês e de sua torcida.....

Á CAPES pela concessão de bolsa de mestrado.

“As pessoas não sabem o que querem até mostrarmos á elas”.
Steve Jobs

RESUMO

Cardoso, C.A.C. **Demonstração de atividade bioelétrica em Capim Marandu (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu)**. 2013.79f. Dissertação (Mestrado)-Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2013.

O Brasil é sem dúvida um país de grandiosa extensão territorial e clima privilegiado, para o desenvolvimento dentre outras, das plantas herbáceas, propiciando assim excelentes condições para o desenvolvimento da pecuária. Levando-se em conta tal fato, a formação de boas pastagens é de enorme importância, sendo a melhor opção para a alimentação de nossos rebanhos, uma vez que se trata de um alimento disponível e barato e que oferece todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento com sucesso dos animais. Obter informações acerca das condições fisiológicas quem compõem estas áreas de pastagem é de extrema importância para boa manutenção das espécies vegetais e do rebanho. O objetivo do trabalho foi verificar se seria possível adquirir sinais bioelétricos de capim *Braquiária* (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu) utilizando método não invasivo. Foram utilizados na totalidade 29 vasos plásticos forrados com tela e uma camada de pedra, com capacidade para 9 kg de terra cada, onde foram semeados o Capim Marandu (*Brachiaria brizantha*). Foram estudados 12 vasos, sendo três cultivados sob uma situação de sol pleno (100% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo cultivados sob uma situação de sombreamento (70% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo cultivados sob uma situação de sombreamento (50% de luz) e recebendo a adubação de manutenção e por último três vasos cultivados sob uma situação de sol pleno (100% de luz) e não recebendo a adubação de manutenção. Para interpretar os dados coletados, métodos de análises de sinais foram aplicados, juntamente com o processamento dos dados no Matlab®. Foi positiva a realização da captação de sinais elétricos em Capim Marandu, em crescimento livre e nível distinto de sombreamento, por meio do emprego de técnicas de instrumentação eletrônica, como uma importante ferramenta no estudo da fisiologia das forragens. No entanto vale ressaltar que este presente trabalho é apenas o primeiro degrau para futuros estudos no campo da eletrofisiologia vegetal, requerendo assim pesquisas mais amplas e aprofundadas neste ramo da ciência das plantas.

Palavras-chave: *Brachiaria brizantha*, atividade bioelétrica, luz, sombreamento

ABSTRACT

Cardoso, C.A.C. **Demonstration of bioelectrical activity in Marandu grass (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu)**. 2013.79f. Thesis (MA) College of Animal Science and Food Engineering, University of São Paulo, Pirassununga, 2013.

Brazil is undoubtedly a country of great territorial extension and privileged climate, development among others, herbaceous plants, thereby providing excellent conditions for the development of livestock. Taking into account this fact, the formation of good pasture is of enormous importance, being the best option for feeding our livestock, since this is a food available and affordable and that offers all the nutrients needed for development successfully animals. Get information about the physiological conditions who compose these pastures is extremely important for proper maintenance of plant species and flock. The objective of this study was to investigate whether it would be possible to acquire bioelectrical signals grass *Brachiaria* (*Brachiaria brizantha*) using noninvasive method. 29 were used in all plastic pots lined with fabric and a layer of stone, with a capacity of 9 kg of earth where they were each seeded Marandu the grass (*Brachiaria brizantha*). We studied 12 vessels, three grown under a full sun situation (100% light) and receiving maintenance fertilization, three being grown under a situation of shading (70% light) and receiving maintenance fertilization, three being cultivated under a situation of shading (50% light) and receiving maintenance fertilization and last three vessels grown in a full sun situation (100% light) and not receiving fertilizer. Interpreting the collected data analysis methods were applied signals along with the data processing in Matlab ®. It was the realization of positive uptake of electric signals in Marandu grass, growing freely and distinct level of shading, through the use of electronic instrumentation techniques, as an important tool in the study of physiology fodder. However it is worth mentioning that this study is only the first step for future studies in the field of electrophysiology plant, thus requiring more extensive and in-depth research in this field of plant science.

Keywords: *Brachiaria brizantha*, bioelectrical activity, light, shading

SUMÁRIO

1 Introdução.....	9
2 Revisão de literatura	11
2.1 Histórico da ciência elétrica e da neurofisiologia	11
2.2 Transporte de solutos	13
2.3 Canais para passagem de água: Aquaporinas	21
2.4 O acondicionamento do transporte ativo primário á energia luminosa ou metabólica	21
2.5 A utilização da energia armazenada em gradientes de potencial eletroquímico no transporte ativo secundário	22
2.6 O sistema de sinalização em plantas	24
2.7 Obtenção de sinais elétricos em espécies vegetais.....	27
2.8 Gênero Brachiaria.....	30
2.9 Espécie forrageira	31
2.9.1 Fotossíntese: reações luminosas	32
2.9.2 Adaptação das plantas a sol e sombra	38
2.9.2.1 Processamento digital do sinal	40
3 Metodologia	43
4 Gênese do potencial de ação	46
5 Modelo biológico	52
6 Resultados e Discussão	57
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	71
8 CONCLUSÕES	73
9 Referências Bibliográficas	74

1 Introdução

O Brasil é sem dúvida um país de grandiosa extensão territorial e clima privilegiado, para o desenvolvimento dentre outras, das plantas herbáceas, propiciando assim excelentes condições para o desenvolvimento da pecuária.

Em nosso país, a pecuária tem sua fonte de alimentação para os rebanhos baseada nas pastagens, na forma de plantas forrageiras.

Levando-se em conta tal fato, a formação de boas pastagens é de enorme importância, sendo a melhor opção para a alimentação de nossos rebanhos, uma vez que se trata de um alimento disponível e barato e que oferece todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento com sucesso dos animais.

A pecuária representa uma expressiva fatia do Produto Interno Bruto (PIB) agrícola. A população de bovinos no Brasil é de aproximadamente 165 milhões de animais, sendo 72% deste total, concentrado nas regiões Sudeste, Sul e Centro-Oeste.

Um dos gêneros que compõem a pastagem para bovinos no Brasil é a *Brachiaria* que apresenta como principais características: alta resistência à seca, boa resistência ao pisoteio, boa resposta à adubação, e auxílio no controle de erosão.

A má conservação das condições das pastagens gera aumento de prejuízos econômicos, uma vez que contribui para a ascensão de doenças e perda de peso no rebanho (CRIAR e PLANTAR, 2009 e MOREIRA et al., 2009).

Muitas são as pesquisas relacionadas à propagação de *B. brizantha*¹, mas são inexistentes na literatura informações a respeito do estudo de sinais bioelétricos na espécie.

É real a sustentação literária quanto à presença de sinais elétricos em plantas complexas, os quais surgem como decorrência de processos fisiológicos normais ou em resposta a estímulos fotoelétricos e mecânicos (PICKARD, 1974).

Sob o foco biológico, uma das maiores diferenças entre as plantas e os animais é que os últimos podem coordenar suas atividades por meio de

estímulos elétricos conhecidos como potenciais de ação (action potentials - AP), os quais se propagam ao longo de uma rede de células nervosas. Por sua vez, plantas não possuem tal coordenação, no entanto, existem espécies vegetais cujo singular comportamento é mediado por potenciais de ação, como por exemplo, "*Mimosa pudica*" (sensitiva ou dormideira), cujas folhas se fecham em resposta a qualquer pequena perturbação vibratória (PICKARD, 1974). Outro exemplo é a planta insetívora "*Dionaea muscipula*" cujas ágeis folhas se fecham prendendo insetos que andam sobre as mesmas, com o objetivo de conseguir fontes adicionais de N₂ em sua nutrição.

Segundo Lehninger (2006), a movimentação rápida (menos de 0,5 s) da folha de *Dionaea muscipula* sob o foco da bioquímica é resultado da alteração da pressão de turgescência nas células mesófilas, em consequência da liberação de íons K⁺ das células e consequente efluxo, por osmose, da água. Mesma reação pode também ser observada na *Mimosa pudica*.

Sibaoka (1966; 1969) e Pickard (1973), demonstraram que a propagação de sinais na "*Mimosa pudica*" apresenta características semelhantes às APs nervosas, e dessa forma demonstraram que plantas mais complexas, utilizam sinais elétricos para regular suas funções fisiológicas.

As plantas apresentam uma característica de excitabilidade, sendo que esta é utilizada pelas células, tecidos e órgãos para trocar suas condições internas e externas (VOLKOV, COLLINS e MWESIGWA, 1999). Conhecer tais informações é de extrema importância para manutenção das espécies vegetais, então neste contexto o objetivo deste trabalho foi testar a seguinte hipótese: É possível adquirir sinais bioelétricos de capim Braquiária (*Brachiaria decumbens* Stapf) usando método não invasivo realizando a aquisição de sinal da atividade elétrica em *Brachiaria brizantha* aplicando técnicas de processamento digital de sinal para caracterizar o sinal bioelétrico e realizar um estudo acerca da remoção de artefatos e as principais características freqüenciais do sinal.

2 Revisão de literatura

2.1 Histórico da ciência elétrica e da neurofisiologia

Foi longa a era na qual, teorias vitalistas sustentavam que a vida somente poderia ser compreendida através de leis intrínsecas aos organismos vivos e os questionamentos acerca das peculiaridades de um ser considerado vivo relacionam-se intimamente com os estudos sobre eletricidade.

Ao passo que a eletricidade e o magnetismo iam se tornando foco de estudos e investigação científica, caía por terra o antigo conceito de “espíritos animais”, muito provavelmente herdado dos tempos pré-históricos e muito utilizado na antiguidade, por muitas vezes não se conseguir explicar algum fato, concomitantemente também ressurgiu o discurso sobre as causas da contração muscular e condução nervosa (BISCHOF, 1994).

Robert Whytt, um dos precursores da neurologia, encontrou um "princípio sensível" no estudo com os nervos e acabou ridicularizando a tendência de contemporâneos que atribuíam tudo ao trabalho elétrico .

Albrecht Von Haller, no entanto adotou o conceito de "irritabilidade" - propriedade da matéria viva para reagir a estímulos ou "irritação", de Francis Glisson, demonstrando experimentalmente que a contração é produzida pelos nervos e iniciada por um estímulo.

A estimulação elétrica então, entre músculos e nervos passou a ser um procedimento padrão nos laboratórios de fisiologia da época; contudo Haller, atentou para o fato de que a tal estimulação nos tecidos vivos só mostrou que a eletricidade era um poderoso estímulo, mas não necessariamente provava que também era a causa da contração, ele concluiu naquele momento que ninguém poderia decidir sobre a identidade da eletricidade e do espírito animal.

No ano de 1759, um médico - Galvani, colocou em questionamento a teoria de irritabilidade de Haller e realizou até meados de 1880, experimentos acerca da estimulação elétrica em peixes elétricos, onde pode concluir que haveria possibilidade de uma ligação entre o fluido nervoso e a eletricidade .

Os experimentos do médico utilizando pernas de rã, com o intuito de estudar a existência de uma "eletricidade animal", se constituíram de três etapas (HOFF, 1936).

Na primeira etapa ele trabalhou com contrações nervo-músculo de rã, onde as pernas e patas foram afixadas de modo a expor a coluna vertebral e o nervo ciático. Ao passo que o nervo era tocado por um bisturi faíscas eram lançadas a partir da máquina elétrica do outro lado da sala. Com isso, ele não só tinha mostrado a contração muscular por estimulação elétrica, mas também descobriu a ação de ondas eletromagnéticas (EM) à distância.

Em uma segunda etapa, o pesquisador pode notar que os experimentos onde as rãs estavam penduradas por ganchos de cobre em uma grade de ferro de uma varanda contraíram, ele então, começou a investigar as condições que propiciaram tal fato. Galvani verificou se trovões poderiam ser responsáveis pelas contrações e viu que não eram ele também usou diferentes combinações de metais, onde todos provocaram contrações, porém em intensidades distintas, dependendo do metal utilizado.

A terceira etapa do experimento foi utilizada a mesma preparação com rãs, presas por uma pata, enquanto a outra tocava a coluna vertebral. Nessa condição, ou quando a coluna vertebral caía sobre a coxa, os músculos contraíram vigorosamente. Esta etapa foi realizada sem o uso de qualquer metal e provou definitivamente a existência de uma eletricidade na fisiologia do animal.

Para o pesquisador, ficou claro que a função da corrente elétrica não era fornecer a energia para a contração muscular, mas sim, simular um estímulo que existia naturalmente, transmitidos através de potenciais elétricos. Galvani supunha que havia um fluido elétrico, de origem cerebral, transmitido pelos nervos, responsável pelos espasmos observados na rã; ele então passou crer e divulgar acerca da existência de uma eletricidade artificial ou animal, além da natural, produzida nas tempestades (NASA NEUROLAB WEB, 2012).

Em trabalhos realizados por Matteucci e Du Bois-Reymond, no ano de 1842, demonstrou que uma terminação nervosa intacta produzia uma voltagem significativamente diferente da mesma com dano ou ferimento.

Observaram ainda, que vários estímulos causaram a despolarização da membrana (reduzindo o potencial de propagação), descreveram o fenômeno de propagação, criaram os termos de potencial de ação (PA) e corrente de ação e demonstraram que a passagem do impulso nervoso podia ser detectada eletricamente.

Du Bois-Reymond desenvolveu grande parte de métodos e aparelhos para eliminar erros de medição e evitar as dificuldades que causaram falhas para seus antecessores. Os experimentos desses autores, ainda que rudimentares, mensurou o que mais tarde tornou-se conhecido como potencial de membrana ou potencial de repouso de células nervosas .

Em 1912 Julius Bernstein publicou, que a membrana celular seria excitável, isto depois de 1890 ter proposto "teoria mecanicista da vida". Tomado por base o trabalho do físico-químico Walther Nernst sobre a difusão iônica de eletrólitos na década de 1880, a teoria assumiu que a membrana era seletivamente permeável aos íons de potássio no estado de repouso e subitamente revertia para um aumento de permeabilidade para todos os íons, quando excitada.

Nernst desenvolveu também teorias moleculares sobre a estimulação elétrica, e foi um dos pioneiros sobre a abordagem atômica e molecular dos processos naturais.

A idéia básica de Bernstein de que a bioeletricidade é o resultado de mudanças na distribuição iônica entre o citoplasma e o meio extracelular posteriormente foi apoiada e estendida por N. Rashevsky (1933), A.M.Monnier (1934), A.V.Hill (1936), K.S.Cole e A.J.Curtis (1939) e A.L.Hodgkin e A.F.Huxley (1952).

Os estudos de Bernstein possibilitaram a medição direta do valor do potencial de membrana através da introdução de microeletrodos (micropipetas de vidro preenchidas com KCl- um condutor) em células vivas, para registros intracelulares, do potencial real da membrana. Esta nova técnica foi aplicada em cefalópodes como *Loligo* e *Sepia* e em algas verdes.

2.2 Transporte de solutos

Figura 1 - Transporte de nutrientes via simpalsto e apoplásto. O nutriente chega à raiz por meio de difusão, interceptação radicular e fluxo de massa. (SANTOS, 2004)

Quando sais se difundem através de uma membrana, um potencial elétrico de membrana (voltagem) pode se desenvolver. Para entender melhor, podemos considerar duas soluções de KCl separadas por uma membrana, onde os íons de K^+ e Cl^- vão permear a membrana de forma independente e se difundir a favor de seu potencial eletroquímico, uma vez que a permeabilidade para os dois íons diferem.

Em consequência a essas permeabilidades distintas, K^+ e Cl^- irão inicialmente se difundir pela membrana sob taxas diferentes, como resultado ocorrerá uma leve separação de cargas, que instantaneamente criará um potencial elétrico através da membrana.

Nos sistemas biológicos, as membranas normalmente são mais permeáveis ao K^+ do que ao Cl^- , em razão disso, o K^+ irá difundir-se para fora da célula, mais rapidamente do que o Cl^- fazendo com que a célula desenvolva uma carga elétrica negativa em relação ao meio (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Para se compreender melhor o transporte de uma determinada substância através das membranas celulares temos que considerar, primeiramente, as propriedades físico-químicas das moléculas que serão transportadas, a saber, quanto à presença de cargas e polaridade e tamanho da molécula.

As membranas biológicas funcionam como barreiras seletivas à passagem de elementos químicos (íons e moléculas sem carga elétrica), e possuem locais específicos (proteínas específicas) para o transporte de cada soluto. No entanto, moléculas apolares de pequeno diâmetro (como O_2) ou moléculas polares pequenas (como CO_2 e H_2O) podem atravessar as

membranas celulares livremente por difusão. A observação de que moléculas hidrofóbicas podiam se difundir facilmente através da membrana plasmática forneceu a primeira evidência sobre a natureza lipídica da membrana. Entretanto, a maior parte das substâncias que as células necessitam para manter seu metabolismo são polares (ex: glicose, frutose) ou carregadas eletricamente (íons). Para estas moléculas, a matriz lipídica da membrana representa uma barreira significativa.

Nas células, o transporte de moléculas polares e de íons é mediado por proteínas especializadas no transporte. Normalmente a proteína transportadora é específica para determinado íon (ex: K^+ ou Na^+) ou molécula (ex: sacarose ou determinado aminoácido), daí a razão para o caráter altamente seletivo das membranas celulares. A seletividade e acúmulo de certas substâncias dentro ou fora das células ocorrem através da ação de proteínas específicas para determinado íon ou molécula. As proteínas transportadoras podem ser agrupadas em três classes: bombas, canais e carreadores, como demonstrado na figura 2 abaixo.

Figura 2: Resumo dos tipos de transporte e da atividade dos carreadores, bombas e canais. (SANTOS, 2004).

Figura 3: Membrana mitocondrial interna. (LEON, 2011)

As bombas são proteínas integrais ativadas por energia química (ATP) ou luminosa, são conhecidas bombas do plasmalema do tipo H^+ -ATPases e Ca^{2+} -ATPases, e bombas do tonoplasto do tipo V-ATPases e V-PPases (ATPases e pirofosfatases vacuolares). Na figura 3 acima é demonstrado as proteínas transportadoras da membrana interna da mitocôndria.

Nas células vegetais, as bombas de prótons (H^+ -ATPases) utilizam a energia liberada pela hidrólise do ATP para transportar um próton através da membrana. No plasmalema e no tonoplasto trabalham continuamente H^+ -ATPases bombeando prótons para fora das células ou seja, jogando prótons para a parede celular no caso das bombas localizadas no plasmalema) ou para dentro dos vacúolos (bombas localizadas no tonoplasto), respectivamente. bombas também são chamadas de bombas eletrogênicas, por gerarem diferenças de potencial elétrico através das membranas, sendo responsáveis pela geração de um gradiente de prótons através das membranas (transporte ativo primário).

O transporte de inúmeras substâncias químicas através as membranas vegetais, mediada por carreadores, encontra-se acoplado à existência deste gradiente de prótons (transporte ativo secundário). Desta forma, o transporte feito contra um gradiente de concentração é realizado a favor de um gradiente energético ou de potencial elétrico, promovido pelas bombas eletrogênicas ou

ATPases gradiente transmembrana de potencial elétrico. As ATPase são responsáveis pelo acúmulo de H^+ no exterior das células vegetais (BUCHANAN, GRUISSEM, e JONES 2000).

Figura 4: Entrada da sacarose através da membrana plasmática por transporte ativo. (SIMBIÓTICA, 2012).

Os canais são proteínas complexas que possuem sítios de translocação (poros que atravessam as membranas) para íons específicos, os quais podem ser abertos ou fechados por alterações na conformação da proteína. Por eles, é possível a passagem de um grande número de íons, sempre a favor de um gradiente de potencial eletroquímico (diferenças de concentração de íons e de potencial elétrico), e funcionam como um portão.

O tamanho do poro e a densidade das cargas na superfície interior do canal determinam a afinidade do íon a ser transportado, em uma região do canal denominada filtro de seletividade. Um único canal aberto pode permitir a passagem de mais de 100.000 íons por segundo. No entanto, os "portões" abrem ou fecham o canal em resposta a estímulos externos, além do tempo de abertura de um canal ser muito curto.

A desativação, ou fechamento de um canal de transporte iônico, ocorre quando existe uma baixa diferença de potencial eletroquímico (corrente elétrica) entre os lados da membrana. A inativação de um canal iônico se refere ao fechamento permanente de um canal, mesmo a membrana estando sob potenciais de formação de corrente elétrica, e pode ocorrer por interações do canal transportador com um íon inespecífico (como íons de metais pesados). A difusão (passagem) dos íons através de um canal é controlada de forma

bastante eficiente pelos os "portões" do canal, que são proteínas sensoras do potencial eletroquímico transmembrana.

Os carreadores transportam íons ou moléculas polares individualmente através das membranas aumentando em 100 a 1.000.000 vezes a sua permeabilidade quando comparado com a matriz bilipídica (ausência dos carreadores) em situações deste tipo, os carreadores se ligam a uma molécula ou íon em um lado da membrana e sofrem modificações conformacionais, liberando este elemento do outro lado da membrana .

Sendo a velocidade do transporte da ordem de 10⁵ íons por segundo; isto representa uma capacidade de transporte 1000 vezes menor do que a de um canal.

Os carreadores são seletivos, atuam no transporte de poucas espécies iônicas, e estão presentes nas membranas do plasmalema e do tonoplasto, realizando o transporte de um lado para outro da membrana utilizando a força próton motriz gerada pelas bombas eletrogênicas, para realizar transportes contra gradientes eletroquímicos (BUCHANAN ,GRUISSEM e JONES 2000).

Quando um soluto atinge o equilíbrio, através de sua distribuição pela membrana, o fluxo passivo J (a quantidade de soluto cruzando uma unidade de área da membrana por unidade de tempo) é o mesmo nas duas direções (de dentro para fora e de fora para dentro).

A equação de Nernst, dita que, em equilíbrio, a diferença na concentração de um íon entre dois compartimentos é balanceada pela diferença de voltagem entre os dois compartimentos.

Todas as células vivas demonstram um potencial de membrana devido à distribuição assimétrica de íons entre o lado de dentro e de fora da célula. Esses potenciais de membrana podem ser determinados se inserindo um micro eletrodo na célula e medindo a diferença de voltagem entre o lado de dentro da célula e o meio externo onde a mesma está banhada, como apresentado por Taiz e Zeiger (2006), onde um, de dois eletrodos (extremidade com abertura < 1 μm de diâmetro) de micropipeta de vidro foi inserido no compartimento celular estudado (normalmente vacúolo ou citoplasma), enquanto que o outro eletrodo foi mantido em solução eletrolítica que serve como referência.

Os microeletrodos foram conectados a um voltímetro (Figura 5) que mediu a diferença do potencial elétrico entre o compartimento celular e a

solução, potenciais de membrana típicos através das membranas celulares vão de -60 a -240 mV.

Figura 5: Diagrama de um par de microeletrodos usado para medir potenciais de membrana (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Íons diferentes permeiam ao mesmo tempo as membranas das células vivas, mas K^+ , Na^+ e Cl^- , tem as concentrações internas maiores em células vegetais, uma versão da equação de Nerst, a equação de Goldman, apresenta esses três íons, sendo assim, fornece um valor mais acurado para o potencial de difusão nessas células.

Com a equação de Goldman (equação tal) se consegue calcular o potencial da membrana, relacionando concentrações iônicas no interior e exterior da célula e permeabilidades iônicas; na lei de Nerst parte-se do princípio que a permeabilidade é total. Na lei de Goldman é aplicada também a condutância iônica a determinado íon como apresentado na equação 1 :

$$EMF = -60 \log_{10} \frac{[Na^+]_i P(Na^+) + [K^+]_i P(K^+) + [Cl^-]_e P(Cl^-)}{[Na^+]_e P(Na^+) + [K^+]_e P(K^+) + [Cl^-]_i P(Cl^-)} \quad (1)$$

Onde P (permeabilidade iônica).

O K^+ na maioria das células tem tanto a maior concentração interna, quanto a maior permeabilidade na membrana, sendo assim o potencial de difusão pode aproximar E_k (potencial de equilíbrio do K^+) o potencial de Nerst para o K^+ .

Figura 6: Representação hipotética do mecanismo do portão de seletividade do canal de potássio. (SANTOS, 2004)

Em tecidos como os nervos, por exemplo, o potencial de repouso normal da célula pode se aproximar de E_k , porém este não é o caso das plantas, que podem apresentar valores de potencial de membrana medidos experimentalmente (geralmente de -200 a -100 mV) muito mais negativos do que aqueles calculados a partir da equação de Goldmam, que são geralmente apenas de -80 a -50 mV, então além do potencial de difusão, o potencial de membrana tem um outro e importante elemento: H^+ -ATPase eletrogênica da membrana plasmática.

Toda vez que um íon se move para dentro ou para fora de uma célula sem ser balanceado pelo movimento contrário de um íon de carga oposta, uma voltagem é criada através da membrana, qualquer mecanismo de transporte ativo que resulte no movimento de uma carga elétrica líquida tenderá a afastar o potencial de membrana do valor previsto pela equação de Goldmam, esse mecanismo de transporte, comum em células vivas é chamado de bomba eletrogênica.

Então, os potenciais de membrana das células vegetais apresentam dois componentes: um potencial de difusão e um componente resultante do transporte iônico eletrogênico (transporte que resulta na geração de um potencial de membrana) (TAIZ e ZEIGER, 2006).

A energia necessária para o transporte ativo é fornecido pela hidrólise de ATP. Nas plantas, se pode estudar a dependência do potencial de membrana com relação ao ATP, observando o efeito do cianeto (CN^-); que com rapidez envenena as mitocôndrias, esgotando o ATP. Com isso o potencial de

membrana cai para o nível do potencial de difusão de Goldman, o qual se deve aos movimentos passivos de K^+ , Na^+ e Cl^- .

Quando o cianeto inibe o transporte iônico eletrogênico, o pH do meio externo aumenta, enquanto o citosol se torna ácido, devido os íons H^+ permanecerem dentro da célula, tal fato evidencia que o transporte ativo de H^+ para fora da célula que é eletrogênico (capacidade de gerar um potencial elétrico).

Uma mudança no potencial de membrana causada por bomba eletrogênica mudará as forças propulsoras para a difusão de todos os íons que atravessam a membrana, por exemplo, o transporte para fora de H^+ pode criar uma força propulsora para a difusão passiva de K^+ para dentro da célula; H^+ é transportado eletrogenicamente através da membrana plasmática, não somente nas plantas, mas também nas bactérias, fungos, algas e algumas células animais como, por exemplo, do epitélio do fígado (TAIZ e ZEIGER, 2006).

2.3 Canais para passagem de água: Aquaporinas

Descoberta por Peter Agre, a família de proteínas integrais – as aquaporinas (AQPs), fornecem canais para a movimentação rápida de moléculas de água através de todas as membranas plasmáticas. Na planta *Arabidopsis thaliana*, existem 38 genes que codificam vários tipos de aquaporinas, demonstrando o papel crítico que a água tem na fisiologia desse vegetal. Oscilações na pressão de turgor, por exemplo, necessitam de uma movimentação rápida de água através de uma membrana. Nos vegetais podemos destacar dois tipos de aquaporina, o TIP (regula a pressão de turgor nos tonoplastos) e PIP (membrana plasmática vegetal) (LEHNINGER, 2006).

2.4 O condicionamento do transporte ativo primário à energia luminosa ou metabólica

O transporte ativo primário é diretamente acoplado a uma fonte de energia, como a hidrólise de ATP, uma reação de oxidação-redução (a cadeia de transporte de elétrons dos cloroplastos e mitocôndria ou absorção de luz pela proteína carregadora (em halobactéria).

As bombas iônicas que realizam o transporte ativo podem ainda ser denominadas de eletrogênicas ou eletroneutras, o transporte eletrogênico se

refere ao transporte de íons envolvendo o movimento líquido de cargas pela membrana; transporte eletroneutro por sua vez não envolve nenhum movimento líquido de cargas.

Na membrana plasmática de plantas, o H^+ é o principal íon bombeado eletrogênicamente, criando gradientes de pH e potencial elétrico que governam o transporte de muitas outras substâncias ; logo as bombas principais são as de H^+ e Ca^{2+} , e a direção do bombeamento é para fora, outro mecanismo então se faz necessário para administrar a absorção ativa da maioria dos nutrientes minerais. Outra importante forma pela qual os solutos podem ser ativamente transportados através das membranas, contra seus gradientes de potenciais eletroquímicos, é acoplando o transporte contra o gradiente de um soluto a favor do gradiente de outro, esse tipo de co-transporte é mediado por carreadores, e administrado indiretamente por bombas, é denominado transporte ativo secundário (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Figura 7: Representação hipotética do mecanismo de co-transporte de um carreador. (SANTOS, 2004)

2.5 A utilização da energia armazenada em gradientes de potencial eletroquímico no transporte ativo secundário

Os prótons são excluídos do citosol por H^+ -ATPases eletrogênicas que trabalham na membrana plasmática e na membrana do vacúolo, em razão disso, um potencial de membrana e um gradiente de pH são criados pela hidrólise de ATP, esse gradiente de potencial eletroquímico para H^+ , representa energia livre armazenada na forma de um gradiente de H^+ .

A força gerada pelo transporte eletrogênico de H^+ é utilizada no transporte ativo secundário para administrar o transporte de muitas outras

substâncias contra seus gradientes de potencial eletroquímico. Existem dois tipos de transporte secundário: simporte (onde duas substâncias se movem na mesma direção através da membrana) e antiporte (o transporte ativo de um soluto na direção oposta).

A grande maioria dos gradientes iônicos gerados através da membrana de plantas superiores é gerada e mantida por gradientes de potencial eletroquímico de H^+ , tais gradientes por sua vez são gerados por bombas eletrogênicas de prótons; evidências sugerem que nas plantas o Na^+ é transportado para fora da célula por um transportador tipo antiporte – NaH^+ ; Cl^- , NO_3^- , $H_2PO_4^-$, sacarose, aminoácidos e outras substâncias entram na célula via transportadores tipo simporte de prótons específicos; K^+ pode ser absorvido , quando em concentrações externas muito baixas, por proteínas transportadoras tipo simporte ativas, porém em concentrações maiores ele pode entrar na célula por difusão através dos canais específicos para K^+ .

No entanto, o mesmo influxo através dos canais é impulsionado pela H^+ -ATPase, no sentido que a difusão do K^+ é administrada pelo potencial de membrana, o qual é mantido a um valor mais negativo do que o potencial de equilíbrio para K^+ , pela ação da bomba eletrogênica de H^+ , por outro lado, o efluxo de K^+ requer que o potencial de membrana seja mantido a um valor mais positivo do que E_K , que pode ser alcançado se for permitido o efluxo de Cl^- .

Foi aqui descrito, até agora o transporte celular em termos energéticos, no entanto, o transporte celular também pode ser estudado pelo uso da cinética enzimática, uma vez que envolve a ligação e a dissociação de moléculas a sítios ativos nas proteínas de transporte (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Figura 8: Panorama geral dos vários processos de transporte na membrana plasmática de células vegetais. (ÉNEAS FILHO, MIRANDA e SILVEIRA, 2012).

2.6 O sistema de sinalização em plantas

Ao menos um bilhão de anos de evolução se passaram desde que os ramos das plantas e animais se divergiram, refletindo assim nos diferentes mecanismos de sinalização : alguns mecanismos das plantas no entanto alguns mecanismos de plantas são conservados , ou seja , são semelhantes aqueles nos animais (proteínas quinases , proteínas andaimes , nucleotídeos cíclicos , bombas iônicas eletrogênicas e canais iônicos), alguns são semelhantes aos sistemas de dois componentes bacterianos , e alguns são únicos para as plantas (mecanismos de detectar luz por exemplo).

Como também pode ser observado nos animais, as plantas vasculares necessitam encontrar maneiras de se comunicar com os tecidos para ordenar e direcionar o crescimento e o desenvolvimento ; para se adaptar às condições de O_2 , nutrientes, luz e temperaturas ,assim como para avisar da presença de químicos nocivos e patógenos lesivos .

Figura 9: Alguns estímulos que produzem respostas em plantas. (LEHNINGER, 2006).

Figura 10: Esquema dos dois principais tipos de células eucarióticas e estruturas únicas para ambas (em preto). (LEHNINGER, 2006).

Figura 11- Hierarquia estrutural na organização molecular na célula vegetal . (LEHNINGER, 2006).

Muitas das espécies de compostos que induzem sinais em plantas são similares a certas moléculas sinalizadoras nos mamíferos, como por exemplo, em vez das prostaglandinas, os vegetais possuem jasmonato; no lugar de hormônios esteróides, brassinoesteróides. Por volta de 100 diferentes pequenos peptídeos funcionam como sinalizadores nas plantas, e tanto vegetais como animais usam compostos derivados dos aminoácidos como sinais (LEHNINGER, 2006).

FIGURA 12-28 ■ Semelhanças estruturais entre sinais de

Figura 12: Semelhanças estruturais entre sinais de plantas e animais . (LEHNINGER, 2006).

As plantas respondem a vários estímulos ambientais, empregando fatores de crescimento e hormônios para coordenar o desenvolvimento e as atividades metabólicas dos seus tecidos (LEHNINGER, 2006).

mamíferos, plantas e bactérias			
Proteína sinalizadora	Mamíferos	Plantas	Bactérias
Canais iônicos	+	+	+
Bombas iônicas eletrogênicas	+	+	+
Dois componentes das His quinases	+	+	+
Adenilil ciclase	+	+	+
Guanilil ciclase	+	+	?
Receptores das proteínas quinases (Ser/Thr)	+	+	?
Ca ²⁺ como mensageiro secundário	+	+	?
Canais de Ca ²⁺	+	+	?
Calmodulina, proteína de ligação à calmodulina	+	+	-
Cascata MAPK	+	+	-
Canais abertos por nucleotídeos cíclicos	+	+	-
Canais de Ca ²⁺ abertos por IP ₃	+	+	-
Fosfatidilinositol quinase	+	+	-
Receptores serpenteantes	+	+/-	+
Proteínas G triméricas	+	+/-	-
Fosfolipase C específica para PI	+	?	-
Receptores de tirosina quinases	+	?	-
Domínios SH2	+	?	?
Receptores nucleares de esteróides	+	-	-
Proteína quinase A	+	-	-
Proteína quinase G	+	-	-

Figura 13: Componentes sinalizadores presentes nos mamíferos, plantas e bactérias . (LEHNINGER, 2006).

2.7 Obtenção de sinais elétricos em espécies vegetais

Segundo Fromm e Lautner (2007), podem ser utilizados dois métodos de coleta de sinais elétricos em plantas: o registro de sinais intracelular e extracelular. O registro do potencial extracelular na superfície de plantas complexas, segundo esses autores, foi amplamente utilizado no passado e tem como vantagem possibilitar a coleta de sinais por períodos longos.

Em contraste, as medidas intracelulares feitas com micro eletrodos de vidro podem ser feitas somente por períodos de tempo curtos (1-2 h) devido ao fato de que o eletrólito utilizado dentro dos eletrodos se mistura com o conteúdo da célula sendo estudada promovendo mudanças em suas condições bioelétricas originais, mas, no entanto, as medidas de potenciais intracelulares têm a vantagem de serem mais precisas (FROMM e SILKE, 2007).

O registro da atividade elétrica extracelular é bastante utilizado em estudos da eletrofisiologia de animais e é baseado no registro do somatório da atividade elétrica de grandes grupos de células. O Eletro-cardiograma (ECG) e o Eletro-Encefalograma (EEG) são exemplos deste tipo de registro que atualmente são muito utilizados em aplicações médicas.

Em plantas superiores, podem ser realizadas medidas de potencial extracelular na superfície das folhas e talos ou pelo uso de eletrodos implantados.

A metodologia que utiliza o implante de eletrodos pode causar danos e reações indesejados à planta em estudo, por esta razão devem ser utilizados eletrodos metálicos finos de Ag/AgCl (0.4 a 1.0mm de diâmetro). A figura 1 mostra a técnica de medida extracelular de sinais elétricos em plantas.

Figura 14 – Coleta de sinais bioelétricos utilizando método invasivo.

Experimentos realizados por Fensom (1963) utilizando esta técnica de coleta permitiram registrar sinais originados pelo ritmo diário e anual de diversas espécies de plantas bem como oscilações de 5min relativas ao

crescimento da região cambial das plantas estudadas. Volkov (2006) utilizando esta metodologia em plantas de soja registrou sinais elétricos induzidos por estímulos de luz.

Por outro lado, a técnica de aquisição de sinais que utiliza eletrodos superficiais pode ser uma metodologia mais apropriada devido que não é invasiva e, portanto fisicamente estável, não interferindo no estado natural das plantas (FROMM e FEI,1998). Os eletrodos utilizados neste método podem ser fabricados de Ag/AgCl umedecido com KCl e envolvidos em algodão para melhorar o contato com a planta ou impregnados de gel condutor comumente utilizado em ECG (FROMM e SPANSWICK 1993).

Os eletrodos podem ser dispostos em diferentes posições na superfície da planta em estudo e o eletrodo de terra pode ser cravado no solo próximo da planta. A figura 2 mostra o esquema de aquisição de sinais utilizando eletrodos de superfície.

Figura 15 – Coleta de sinais bioelétricos utilizando eletrodos de superfície.

Em ambos os métodos, os eletrodos devem ser acoplados a um módulo de acondicionamento de sinais. Este módulo é normalmente implementado utilizando amplificadores de instrumentação com baixa distorção, seguidos de filtros ativos que usam amplificadores operacionais. A figura 3 mostra um diagrama genérico de um sistema de acondicionamento de sinais composto de um estágio de amplificação, dois filtros passa baixa ou “*anti-aliasing*” de

segunda ordem e um filtro passa banda ou “*notch*” (Equipamento de coleta de sinais cerebrais - Neuraltronics).

Figura 16- Diagrama de blocos de um módulo de acondicionamento de sinais.

2.8 Gêneros Brachiaria

Levantamentos realizados no Brasil apontaram a presença de 16 espécies de gramíneas do gênero *Brachiaria*, quando avaliado como plantas forrageiras, se pode destacar como mais importantes a *Brachiaria decumbens* na região do Brasil Central, a *Brachiaria humidicola* na Amazônia e a *Brachiaria purpurascens* para solos úmidos nas regiões litorâneas (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2012).

O gênero, segundo Banck, Cappellesso e Bernardi (2011), apresenta um total de 200 espécies, é utilizado nas fases de cria, recria e engorda. Quando bem manejado apresenta alta produção de matéria seca e cobertura de solo; ainda por característica apresenta boa digestibilidade e palatabilidade.

Introduzido no Brasil a mais de 35 anos, oriundos do continente africano os capins do gênero *Brachiaria*, foram considerados a salvação da pecuária nacional, uma vez que as pastagens do capim-gordura ou do capim-jaraguá encontravam-se desgastadas e degradadas, principalmente, por causa da baixa fertilidade dos solos e dos usos intensivo e extrativista a que vinham sendo submetidas durante anos (BARCELOS, et al., 2011).

Seu sucesso dentro da pecuária brasileira acontece muito em razão das seguintes características: se adaptam a uma grande gama de tipos de solos; as principais espécies são estoloníferas; apresentam alta produção de matéria seca e seu crescimento é bem distribuído durante a maior parte do ano (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2012).

Considerada rústica, com capacidade de vegetar em solos pobres e ácidos, a braquiária foi introduzida com tamanha rapidez que se tornou de grande importância, principalmente na formação de área de pastagens nos Cerrados. Aumentando assim consideravelmente área com pastagens cultivadas e ampliando as fronteiras para exploração, em especial da pecuária de corte. Aconteceu um sensível aumento na capacidade de suporte das áreas de pastagens, em comparação à exploração da vegetação do Cerrado como pastagem, o que permitiu um crescimento reconhecido do rebanho nacional, não somente em número de cabeças, mas também no melhoramento dos seus parâmetros zootécnicos (BARCELOS, et al., 2011).

O gênero *Brachiaria* apresenta ainda as seguintes características botânicas: Colmo herbáceo, florescendo todos os anos; flor hermafrodita ou masculina com 1 a 3 estames; espiga unilateral ou panícula; espiqueta comprimida dorsiventralmente, biflora, com o antécio terminal frutífero, o basal neutro ou masculino; glumas que caem com o antécio frutífero; glumas menos consistentes que as glumas frutíferas (Lema + pálea); gluma II e antécio hermafrodita abaxiais; gluma I e antécio neutro adaxiais (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2012).

Winter et al. 1977 (citado por Embrapa gado de Corte, 2012), relataram em seus estudos que espécie do gênero *brachiaria*, a *B. decumbens* se mostrou mais persistente sob cargas animais mais pesadas e a níveis mais baixos de fósforo, que muitas outras gramíneas tropicais.

2.9 Espécie forrageira

Dias Filho (2007), citou em seu trabalho que intimamente ligado à composição química das plantas forrageiras estão parâmetros ambientais como a luminosidade, temperatura, umidade, fotoperíodo. Acontece que no período de maior incidência de chuvas, elevação de temperatura, intensa luminosidade, ancoradas a umidade vai ocorrer um rápido aumento da

atividade metabólica, diminuindo a quantidade de fotoassimilados e metabólitos no conteúdo celular.

A *Brachiaria brizantha*, é originária da África Tropical e África do Sul. A cultivar Marandu foi estudada, inicialmente, pelo Centro Nacional de Pesquisa do Gado de Corte (CNPGC-EMBRAPA), (MS) e, posteriormente, pelo Centro Nacional de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados (CNPAC-EMBRAPA), (DF).

A cultivar apresenta porte quase ereto, enraíza muito pouco nos nós, adapta-se a regiões mais ou menos úmidas, desde o nível do mar até mais de 3.000 m de altitude; apresenta ciclo perene.

O nome Marandu dado a esta cultivar significa Novidade em Tupi Guarani. Apresenta a seguinte sinonímia segundo a região: palisade grass (Samoa), signal grass (Leste da África), St. Lúcia grass (Queensland), Ceylon sheep grass (Sri Lanka), Pasto alambe (América espanhola) Upright brachiaria (Zimbabwe), Bread grass (Sul da África), Estrela da África, Braquiarão, Brizantão (Brasil) (VILELA, 2009).

Esta espécie vegetal é recomendada para o cerrado de média a boa fertilidade em face de alta produção de forragem, persistência, tolerância ao frio, seca, fogo, e resistência a cigarrinha das pastagens, apresenta ainda tolerância a presença de alumínio no solo e responde bem á adubação fosfatada (BENETT, et al., 2008).

É uma espécie cespitosa, com colmos eretos ou suberetos, pouco radicantes nos nós inferiores, apresenta porte de 1 a 1,5 m de altura, suas folhas podem ser glabras na face inferior, linear lanceoladas com 50 até 400 mm de comprimento e com largura de 6-15 mm.

Apresentam rizomas curtos, 30-50 mm de comprimento, cobertos de escamas amareladas e brilhantes. Os nós são glabros e salientes. As inflorescências são formadas por 2-12 racemos com 50-150 mm de comprimento, a raquis sem pigmentação arroxeada e espiguetas ciliadas no ápice.

A gluma inferior é largamente ovalada e abarca a espiguetas em metade de seu comprimento. O flósculo fértil apresenta 4-5 mm de comprimento, com um pequeno ponto obtuso (EMBRAPA GADO DE CORTE, 2012).

2.9.1 Fotossíntese: reações luminosas

Através da fotossíntese é possível aproveitar a energia solar. Reforçando isso temos o termo fotossíntese significando literalmente: síntese utilizando a luz. Ou seja, os organismos fotossintetizantes utilizam-se da luz para a síntese de compostos carbonados, sobretudo açúcares a partir da redução do dióxido de carbono e da água com liberação de oxigênio.

Nas plantas denominadas superiores o tecido mais ativo fotossinteticamente considerando é o mesófilo, apresentando muitos cloroplastos que pode ser observado na Figura 17, onde ficam as clorofilas, que são pigmentos verdes especializados na absorção da luz (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Figura 17- Corte transversal da folha de dente-de-leão (*Taraxacum officinale*), destacando a epiderme da face superior, mesófilo e epiderme da face inferior. Os cloroplastos estão presentes na estreita camada de citoplasma, que circunda um grande vacúolo central. (RAVEN et al., 2007).

Figura 18- Esquema de um corte transversal de uma folha típica de espécie C₄ evidenciando sua estrutura anatômica e as trocas gasosas que atuam no processo fotossintético. (KERBAUY, 2004).

As folhas enquanto órgãos fotossintéticos apresentam as seguintes funções: Interceptar a luz de forma eficiente, assim como realizar as trocas gasosas com a atmosfera que pode ser visualizado na Figura 18; Apresentar um sistema de transporte que permita a circulação da água e dos nutrientes retirados do solo; permitir a exportação das moléculas produzidas com a fotossíntese para toda a planta.

Vale ressaltar que a fotossíntese envolve também desde processos moleculares como, por exemplo, as enzimas até a planta como um todo integrada em uma comunidade vegetal, como pode ser visto na Figura 19.

Figura 19- Os componentes estruturais da fotossíntese organizada em diferentes níveis. (KERBAUY, 2004).

Nos cloroplastos, por meio de unidades funcionais denominadas fotossistemas, acontece a conversão da energia luminosa em energia química. Toda a luz absorvida impulsiona a transferência de elétrons por uma série de compostos que ora atua comoceptor, ora como doador desses elétrons. A luz também é utilizada com fonte de força motora de prótons através da membrana do tilacóide que será utilizada para formar ATP. (TAIZ E ZIEGER, 2006).

A intensidade de luz ambiente pode afetar a estrutura do cloroplasto, uma vez que o grau de empilhamento aumenta a quantidade de membranas de tilacóides em um dado volume de cloroplasto, então se pode afirmar que plantas mantidas sobre sombreamento intenso têm mais tilacóides empilhados, ou seja, um conjunto grana maior do que as crescidas á pleno sol.

A radiação solar também fornece informações importantes sobre o ambiente, isso acontece através de sensores especiais que são os pigmentos

que possibilitam que as plantas percebam a qualidade e quantidade da radiação solar recebida (KERBAUY, 2004).

A luz apresenta características tanto de onda quanto de partícula. Uma onda é caracterizada por um comprimento de onda, que nada mais é do que a distância entre dois picos sucessivos. A frequência é o número de picos que passam por um observador em um dado espaço de tempo. Vale ressaltar que comprimento de onda e frequência são inversamente relacionados.

A luz solar também pode ser considerada partículas denominadas fóton, cada um destes por sua vez contém uma quantidade de energia conhecida por quantum. Pode-se dizer que a luz solar é como uma chuva de diferentes frequências, sendo que olhos humanos são sensíveis a uma pequena faixa de frequência como se pode demonstrar na Figuras 20 e 21 (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Figura 20- Espectro eletromagnético – o olho humano é sensível apenas a uma estreita faixa que se estende de aproximadamente 400 nm (violeta) a 700 nm (vermelho). A luz de comprimentos de onda curtos (alta frequência) possui alta energia, já a luz de comprimentos de onda longos (baixa frequência) possui baixa energia. (TAIZ e ZIEGER, 2006).

Figura 21 - A produtividade quântica da fotossíntese (curva negra) cai na luz vermelha com comprimentos de onda maiores que 680 nm. Isso mostra que a luz vermelha sozinha é ineficiente para induzir a fotossíntese. A pequena queda nos 500 nm demonstra certa ineficiência da fotossíntese utilizando luz absorvida pelos pigmentos acessórios os carotenóides (TAIZ e ZEIGER, 2006).

A clorofila parece verde, pois absorve luz nas porções vermelha e azul dos espectros, desta forma então apenas a luz nos comprimentos de onda do verde, em torno de 550nm é refletida para olhos humanos.

A capacidade das folhas para a realização de fotossíntese está diretamente sujeita a flutuações funcionais que dependem de fatores não apenas intrínsecos da espécie vegetal, mas também de fatores ambientais. Como por exemplo a idade da folha, pois capacidade das folhas de fazer fotossíntese vai aumentando até a maturidade, a partir daí declina consideravelmente.

A senescência reduz a capacidade fotossintética da folha, no entanto o que induz a tal fato é o conteúdo nutricional, pois a folha passa de dreno para fonte, além disso, os minerais, em especial o nitrogênio e o potássio, têm um comprovado efeito de estimular a fotossíntese e para a maioria das folhas a mais alta taxa fotossintética é atingida quando lâmina está amplamente expandida, sendo que esta máxima é mantida por um curto período de tempo.

O nitrogênio é necessário para a síntese da clorofila e, como parte da molécula da clorofila, está envolvido na fotossíntese. Falta de nitrogênio e clorofila significa que a planta não irá utilizar a luz do sol como fonte de energia para levar a efeito funções essenciais como a absorção de nutrientes e a

produção de carboidratos para o desenvolvimento (BERNARDES, 1987; LIMA et al. , 2001; TAIZ e ZEIGER,2006).

2.9.2 Adaptação das plantas a sol e sombra

A espessura e o tamanho de uma folha jovem podem ser influenciados pela duração e pelo comprimento das ondas de luz, contudo é a diferenças na intensidade da luz que é grande responsável pela mais significativa variação no tamanho da folha; quanto maior a intensidade de luz, menor e mais grossa será a folha, obviamente dentro de certos limites e dependendo da espécie.

Algumas plantas têm suficiente plasticidade em seu desenvolvimento para se adaptarem a uma amplitude de regimes de luz, crescendo como plantas de sol em áreas ensolaradas e como plantas de sombra em habitats sombrios. Alguns habitats sombrios recebem menos de 1% da PAR disponível em ambiente exposto. As folhas adaptadas a ambientes bastante ensolarados ou bastante sombrios são muitas vezes incapazes de sobreviver em outro tipo de habitat. Folhas de sol e de sombra têm algumas características contrastantes, como será visto á seguir.

As folhas de sombra têm mais clorofila a por centro de reação, razão clorofila b/clorofila a é mais alta e são geralmente mais finas do que as folhas de sol. As folhas de sol têm mais Rubisco e um pool de componentes do ciclo da xantofila maior do que as folhas de sombra; elas também apresentam outra vantagem sobre as de sombra em relação quanto às camadas de células, tornando assim a estrutura das folhas de sol, muito diferente das folhas de sombra.

Tais características anatômicas contrastantes também podem ser encontradas em folhas da mesma planta expostas a regimes luminosos diferentes. As folhas de sol são mais espessas e tem células paliçádicas mais longas do que as de sombra. Mesmo partes distintas de uma folha mostram adaptações ao seu microambiente luminoso. As células na superfície superior da folha, expostas ao fluxo fotônico mais alto, caracterizam folhas crescendo à plena luz do sol; as células na parte inferior têm características encontradas em folhas de sombra.

Essas modificações morfológicas e bioquímicas estão associadas com funções específicas. A luz vermelho-distante é absorvida principalmente pelo

PSI e, alterando a razão PSI/PSII ou mudando as antenas de captação de luz associadas com os fotossistemas, torna possível manter um melhor balanço do fluxo de energia por meio dos dois fotossistemas. Tais adaptações são encontradas na natureza, algumas plantas de sombra mostram uma razão 3:1 dos centros de reação do fotossistema II para o fotossistema I, em comparação com a razão 2:1 encontrada em plantas de sol. Outras plantas de sombra, em vez de alterar a razão PSI para PSII, adicionam mais clorofila de antenas ao PSII. Essas adaptações parecem acentuar a absorção de luz e a transferência de energia em ambientes sombrios, onde a luz vermelho-distante é mais abundante.

As plantas de sol e sombra também diferem em suas taxas respiratórias, diferenças que alteram a relação entre respiração e fotossíntese.

A proporção entre as luzes vermelha e vermelho-distante variam grandemente, em diferentes ambientes naturais. A luz solar direta tem uma irradiância média de $1900 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e cerca de 20% a mais de radiação vermelha que vermelho distante (razão Vermelho/Vermelho distante - $V/VD = 1,19$). Por exemplo, em uma situação de sombreamento, sob a copa de uma árvore, em consequência da grande absorção de luz vermelha (pelas clorofilas), a irradiância pode cair para $17,7 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e a razão V/VD cair para 0,13 (indicativa de um grande predomínio de luz vermelho-distante).

Assim, a qualidade da luz incidente (razão V/VD) determina a proporção entre FV- Fitocromo vermelho e FVD Fitocromo vermelho distante, presentes em uma determinada planta. Plantas que recebem maior proporção de luz vermelha terão maior quantidade de fitocromo sob a forma FVD. Ao contrário, com o aumento do sombreamento, a radiação recebida tem uma razão V/VD reduzida e plantas mantidas neste ambiente apresentam maior proporção de seus fitocromos sob a forma FV –(razão FVD/F_{total} diminuída). Desta forma, a proporção entre as duas formas de fitocromos serve como indicadora do grau de sombreamento ao qual uma planta está submetida ou do tipo de ambiente em que se encontra (BERNARDES, 1987; LARCHER, 2000; TAIZ & ZEIGER, 2004).

As mitocôndrias das plantas fornecem ATP durante os períodos de baixa iluminação ou escuridão através de mecanismos inteiramente análogos aqueles usados pelos organismos não fotossintéticos. Na luz, a principal fonte

de NADH mitocondrial é a reação onde a glicina produzida pela fotorespiração é convertida em serina.

As plantas devem efetuar esta reação mesmo quando não têm necessidade de usar NADH para produzir ATP. Para regenerar o NAD⁺ a partir de NADH desnecessário, a mitocôndria das plantas transfere elétrons do NADH diretamente para a ubiquinona e desta diretamente para o O₂, desviando-os dos complexos III e IV e suas bombas de prótons. A energia em NADH é dissipada na forma de calor, que algumas vezes pode ser de valor para a planta. Contrariamente à citocromo oxidase (complexo IV), a QH₂ oxidase alternativa não é inibida por cianeto. A oxidação do NADH resistente ao cianeto é de fato uma marca característica dessa via de transporte de elétrons em plantas (LENHINGER, 2006).

2.9.2.1 Processamento digital do sinal

Até o final da década de 40, o processamento de sinais era realizado com sistemas analógicos baseados em circuitos eletrônicos ou dispositivos mecânicos. O estopim para o tema Processamento Digital de Sinais se deu pouco depois da II Guerra Mundial. Em, 1948 foi publicado o clássico trabalho de Shannon que deu origem à Teoria da Informação (SHANNON, 1948), o PCM (Pulse-Code Modulation) tornou-se popular (OLIVER et al., 1948) e métodos digitais para estimação espectral foram introduzidos.

Na década de 50, o uso de computadores digitais estava começando a aumentar em escritórios e em laboratórios de pesquisa científica, porém eram caros e com capacidades limitadas, e eram utilizados para simular sistemas de processamento de sinais antes da produção em hardware, o que apresentava vantagens em termos de flexibilidade. No entanto, o processamento não podia ser feito em tempo real, o que limitava as aplicações (OPPENHEIM e SCHAFER, 1998).

Tais limitações dos computadores digitais alavancaram o desenvolvimento de técnicas eficientes de PDS que são utilizadas até os dias atuais, como por exemplo, um algoritmo de FFT para o cálculo de transformadas de Fourier, proposto por Cooley e Tukey (1965); (OPPENHEIM, SCHAFER e BUCK, 1998).

A expansão do PDS aconteceu a partir de 1966, com trabalhos de Widrow. Depois disso, vieram muitas aplicações práticas, como antenas adaptativas, processamento de sinais biomédicos, equalização adaptativa, identificação de sistemas, etc. Ainda na década de 60, a exploração do espaço realizada pelos Estados Unidos também se baseou em técnicas de PDS. Embora a aplicação dos algoritmos adaptativos fosse limitada pela tecnologia da época, a pesquisa nessa área não parou de se expandir, sendo muito promissora até os dias de hoje (NEBEKER, 1998; SENDA et al., 2005).

O processamento digital de sinal possibilita: Alterar, Corrigir e Atualizar aplicações; é feito através do uso de componentes analógicos como resistores, indutores e capacitores. Vale ressaltar que sinais de alta frequência não podem ser processados digitalmente devido a duas razões principais: Conversores Analógico-para-Digital (ADC) não podem operar rápido o suficiente e a aplicação pode ser também muito complexa para operar em tempo real. (PELLENZ, 2005).

Uma primeira tarefa a ser realizada no processo de análise de sinal, é compreender quais as informações podem ser obtidas de um determinado sinal, assim como, o método para extrair tais informações (QUIAN, 2002; SILVA, 2005).

Todo sinal carrega alguma informação e o objetivo do processamento do sinal é extrair ou modificar a informação contida no sinal; sinal por sua vez é uma função de uma variável independente, como tempo ou distância. Como exemplo, podemos citar a música, que representa a variação da pressão do ar ao longo do tempo em um ponto do espaço (MENDES, 2011).

O termo sinal, na maioria das vezes aparece também em referência a uma função de uma ou mais variáveis, onde estão contidas informações acerca da natureza ou comportamento de alguns fenômenos (QUIAN, 2002; SILVA, 2005).

O primeiro passo para se analisar o sinal é realizar a conversão do sinal de analógico para digital, sendo que um sinal digital é um sinal de tempo discreto que por sua vez, assume valores discretos dentro de um conjunto de possíveis valores. Para então se obter um sinal digital de um sinal analógico, este deverá ser amostrado e posteriormente ter seus valores aproximados, ou por arredondamento ou por truncamento. Um modo de se realizar a análise do sinal é compará-lo a um conjunto de funções conhecidas.

Conforme a função escolhida, informações diferentes podem ser extraídas. Na transformada e na série de Fourier, a decomposição é realizada em senos e cossenos. Vale ainda ressaltar que a transformada de Fourier é utilizada para sinais aperiódicos e a série de Fourier é usada para sinais periódicos. Quando o sinal passa por um sistema, pode-se dizer que ele foi processado. Um sistema pode ser definido como um dispositivo físico que realiza operações sobre o sinal.

Um determinado sistema é caracterizado pelo tipo de operação que ele realiza sobre o sinal e tais operações por sua vez, são denominadas processamento de sinais (PROAKIS e MANOLAKIS, 2002; QIAN, 2002; SILVA, 2005).

3 Metodologia

Foram utilizados na totalidade 29 vasos plásticos forrados com tela e uma camada de pedra, com capacidade para 9 kg de terra cada onde foram semeados o Capim Marandu (*Brachiaria brizantha*), sendo que o solo foi devidamente corrigido após análises realizadas no Laboratório de Ciências Agrárias e solo da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação no setor das Agrárias, localizado no campus da FZEA/USP, no município de Pirassununga – SP, localizada na latitude 21°59'46" Sul, longitude 47°25'33" Oeste, e altitude de 627 metros. O clima da região é classificado como Cwa (mesotérmico) segundo escala de Köppen (CARVALHO LEITE, 2008).

Para ser realizada a reposição de água nos vasos em um primeiro momento, foi determinada a capacidade de campo de cada vaso, com os valores devidamente determinados e anotados em cada vaso, estes eram apenas completados. Nos dias de coleta da coleta do sinal bioelétrico, os vasos eram irrigados somente depois de encerrado todo o trabalho.

Os cortes eram realizados, após a coleta do sinal respeitando o ciclo da planta 28 – 35 dias, á 15 cm através de tesoura de jardinagem. Logo em seguida, era realizada uma adubação de manutenção com KCl e Nitrato de amônio (33%). A adubação era realizada manualmente a lanço.

Depois de feita a última coleta de sinal, foi executado o corte das partes aéreas das plantas para a realização de análise de teor de nutriente foliar (N) junto ao Laboratório de Ciências Agrárias e solos da faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo.

Trabalhou-se com dois fatores de estímulos que podem causar respostas em plantas: Luz e Nutriente(N) e suas respectivas respostas em frequência (Hz).

Foram estudados nesta fase do trabalho 12 vasos, sendo três cultivados sob uma situação de sol pleno (100% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo três cultivados sob uma situação de sombreamento (70% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo cultivados sob uma situação de sombreamento (50% de luz) e recebendo a adubação de manutenção e por último três vasos cultivados sob uma situação de sol pleno

(100% de luz) e não recebendo a adubação de manutenção. Os outros vasos eram mantidos caso algum dos utilizados no experimento tivesse de ser substituído.

Após a última coleta de sinal foram cortadas as partes aéreas das plantas e encaminhadas para laboratório de Ciências Agrárias e solo da Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos da Universidade de São Paulo para análise de teor de N foliar utilizando o método Kjeldahl.

Os eletrodos de contato (método não invasivo) foram posicionados da seguinte forma: o primeiro adjacente à lígula, o segundo 10 cm acima da lígula, na face superior da lâmina foliar da última folha totalmente expandida, e um terceiro junto à base das plantas.

Os sinais bioelétricos foram amostrados a 120 Hz, e cada coleta foi feita durante 15 segundos, sendo que durante o experimento as plantas foram mantidas em uma gaiola de Faraday confeccionada pelo LAFAC , a fim de manter a fonte de sinais elétricos estáveis e sem alterações significativas para o experimento. Os sinais elétricos foram detectados usando dois discos ligados (ouro) na superfície da planta por meio de um gel condutor aquoso do tipo comumente usado em aquisição de biopotenciais como EEG e ECG.

Os eletrodos eram conectados por cabos blindados em um eletrômetro de alta impedância, com tecnologia sem fio, para coletar e enviar sinais adquiridos em tempo real da planta. As medições eram realizadas antes da irrigação, como já mencionado anteriormente, porém elas não apresentavam sinais de estresse hídrico por serem regadas periodicamente.

Para interpretar os dados coletados, métodos de análises de sinais foram aplicados, juntamente com o processamento dos dados no Matlab®.

Figura 22-Exemplares de plantas de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e seus respectivos percentuais de luminosidade. (ARQUIVO PESSOAL).

Figura 23- Equipamentos utilizados para a realização do experimento. (ARQUIVO PESSOAL).

4 Gênese do potencial de ação

Todos os seres vivos consistem de átomos de elementos químicos, que ficam armazenados nas rochas que se desintegram em solo, nos oceanos, que suprem água por meio da atmosfera para rios, lagos e solo; e a atmosfera propriamente dita.

No entanto, nem todos os seres vivos participam da chamada mineração primária das matérias-primas da vida, apenas plantas verdes e alguns microorganismos são aptos a extrair compostos inorgânicos simples e íons do ambiente sem para isso contar com compostos complexos ricos em energia previamente sintetizados por outros organismos vivos. Os agentes mais importantes quanto à aquisição primária de energia e elementos químicos do ambiente externo são os organismos fotossinteticamente ativos, sendo as algas e certas bactérias nos oceanos, rios e lagos, e as plantas verdes em terra.

Pela atividade dessas plantas, carbono, nitrogênio, potássio, fósforo, enxofre, magnésio, entre outros elementos nutrientes essenciais são primeiramente retirados do ambiente inorgânico e incorporados a células e tecidos vivos. Passados por essa primeira etapa os elementos e nutrientes podem então encontrar seus caminhos em direção ao interior das células de consumidores, tanto decompositores como herbívoros e, então, de herbívoros para carnívoros e, via decompositores, retornar aos reservatórios não vivos de matéria inorgânica.

As plantas verdes terrestres, diferentemente das plantas aquáticas, possuem tecidos que ficam muito afastados de sua fonte de água e nutrientes - o solo. Estas plantas elaboraram então estruturas e mecanismos que realizam o transporte de longa distância, ou translocação, de água e solutos no interior do corpo da planta.

A grande parte da biomassa mundial é terrestre, os autótrofos dos quais o restante de nós depende, são as plantas verdes superiores e sua captação de energia da luz solar e recursos do solo. Toda a carne é grama: a cadeia da vida é tecida em um tear de solo (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

O crescimento e desenvolvimento das plantas dependem de um tráfego constante de elementos minerais para e através do corpo da planta, e nenhum outro solvente conhecido, que não a água, pode atuar como veículo para esses

nutrientes minerais, sua baixa viscosidade permite que a rápida difusão de solutos, incluindo íons inorgânicos, e torna rápida e executável a circulação de água nos estreitos condutos do sistema vascular.

Muitas das propriedades da água derivam da ligação de hidrogênio que é de baixa energia onde átomos de hidrogênio formam uma ponte entre os dois átomos que os compartilham. As moléculas de água são fracamente unidas como resultado da ligação do hidrogênio (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Quanto ao peso seco do material vegetal, depois de passar pelo processo de secagem á 60° C por 24 a 48 horas, terá aproximadamente 10% a 20% do peso seco inicial ou peso úmido. As análises para se conhecer a composição química do material vegetal são realizadas mais freqüentemente em material seco, pois este é menos variável, uma vez que a matéria úmida tem sua composição variável de acordo, por exemplo, com o período do dia, a umidade relativa do ar, a quantidade de umidade disponível no solo, a temperatura, a velocidade do vento, sendo que mais de 90% do peso seco das plantas consistem nos três elementos hidrogênio, carbono e oxigênio. É sabido que o milho contém estes três elementos quase na mesma proporção (uma parte de carbono para duas de hidrogênio e uma de oxigênio- ou seja, CH_2O - um carboidrato), este fato se deve pelo fato de que a maior parte do peso seco é de parede celular que consiste principalmente de celulose, um polímero de carboidrato.

Ao redor da parede celular está o citoplasma que contem muitas proteínas e outros elementos químicos, tomando por base o peso, o citoplasma e o vacúolo, por exemplo, constituem menos que uma porcentagem pequenada matéria seca.

O citoplasma de uma célula vegetal consiste de uma fase aquosa e corpos circundados por membranas, chamados de organelas, onde estão incluídos o núcleo, vacúolos cloroplastos, mitocôndria, complexo de Golgi e peroxissomos; uma célula mais nova possui numerosos vacúolos , que são organelas de armazenamento que são envolvidas por membranas chamadas tonoplastos , conforme a célula vai amadurecendo , os vacúolos se unem para formar um único vacúolo central. A solução aquosa dentro dos vacúolos é formada principalmente por íons inorgânicos e aminoácidos e também algumas enzimas.

Para que um íon da solução externa chegue ao vacúolo central, o mesmo deve passar por várias regiões, sendo a primeira a parede celular; em seguida a membrana celular. Tendo se movimentado por essa membrana, ele então alcançará o citoplasma, por fim ele terá de se mover pelo tonoplasto, em direção ao vacúolo.

As características principais dos movimentos passivos de solutos (fluxo de massa, difusão e troca catiônica seja em parede celular ou no solo, são que eles podem ser independentes das atividades metabólicas correntes no tecido; são facilmente reversíveis e não são seletivos, ocorrendo tanto em tecido morto como vivo.

O transporte ativo por sua vez, inclui transporte primário e secundário. Sendo que no transporte ativo primário, ocorre gasto de energia para alterar a conformação de uma proteína integral da membrana que movimenta um íon através da membrana (como por exemplo, uma bomba de prótons impulsionada pela hidrólise de ATP). Já no transporte ativo secundário, acontece o gasto de energia para produzir uma deformação local do gradiente eletroquímico entre compartimentos e essa deformação direciona o movimento de um íon através de uma proteína integral da membrana, a ligação momentânea do íon a um local de ligação da proteína é o mecanismo que confere seletividade a esse processo. Este mesmo tipo de mecanismo se aplica a solutos neutros e seu transporte, como açúcares e ácido silícico, por exemplo (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

Vale ainda ressaltar que o transporte ativo de íons seja primário ou secundário, difere dos processos exclusivamente físicos como fluxo de massa, difusão e troca iônica pois nesses últimos o movimento iônico é independente do metabolismo concorrente e necessita de especificidade para um dado soluto ou uma determinada classe de solutos.

Os mecanismos para o transporte ativo de solutos são altamente conservados entre organismos, assim então as atuais investigações acerca de transporte em plantas contam principalmente com informações derivadas de sistemas microbianos e animais mais estudados.

Mesmo organismos mais simples como bactérias e fungos possuem vários sistemas distintos para cada soluto.

Desenvolvimentos técnicos datados da década de 50 em estações marinhas estimularam muitas descobertas na neurobiologia; microeletrodos

com pontas de 1/100 do diâmetro do cabelo humano permitiram registros em células individuais de algas e plantas superiores. Tais medições demonstraram que os potenciais de repouso da membrana ao longo da membrana plasmática entre -100 e -300 mV, muito mais negativo que o potencial de Nernst ar os íons com as maiores permeabilidades.

Uma técnica mais recentemente o patch-clamp forneceu uma visão um tanto mais detalhada do movimento iônico através das membranas, neste tipo de experimento se remove a parede celular e dispõe uma pipeta com microelétrodo contra a membrana para formar uma vedação bem resistente entre o vidro da pipeta e a membrana. Tal corrente demonstra a soma total de todos os fluxos passivo e ativo de íons ao longo da membrana plasmática, seria interessante variar o meio que banha o fragmento ou célula para se determinar quais fluxos de íons são os responsáveis.

Essa técnica vem se mostrando sensível o suficiente para monitorar a conformação de uma única molécula de proteína e sua capacidade de influenciar os potenciais da membrana possibilitando se considerar não apenas o gradiente químico, mas também o elétrico, na indução do transporte de íons (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

A hipótese de Mitchell (1961) propõe que as membranas celulares são impermeáveis a prótons (H^+). As células podem estocar energia bombeando ativamente prótons através da membrana, estabelecendo com isso um gradiente de concentração desses prótons, então as células realizam a recuperação dessa energia deixando esses prótons fluírem livremente ao longo do gradiente eletroquímico de volta, através da membrana e unido esse fluxo a produção de ATP por meio de proteínas integrais da membrana chamadas de H^+ -ATPases.

Figura 24 – A passagem do H⁺ através da bomba, leva partes dele a girar – ADP + P_i = ATP. (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

A H⁺ -ATPase de vacúolos em plantas superiores tem íntima relação com a F –ATPase das mitocôndrias encontrada em todos os eucariotos e cloroplastos de todos os eucariontes fotossintetizantes, onde a medida que um próton flui de uma concentração mais alta para uma mais baixa, através da membrana da mitocôndria, os mesmos passam por um canal na ATPase levando ao giro de várias subunidades da proteína. Algumas dessas subunidades quando giram forçam ADP e P_i juntos a originar uma molécula de ATP.

Já a H⁺ -ATPase do tonoplasto demonstra fazer o contrário – hidrolise de ATP em ADP e P_i girando algumas de suas subunidades e impulsionando prótons contra seu gradiente de concentração do citoplasma para o vacúolo.

Pela atuação das H⁺ -ATPases da membrana plasmática e vacuolares transportadores de prótons associados a célula e capaz de regular seu pH e o potencial de membrana de seus muitos compartimentos.

O citoplasma é ligeiramente alcalino, com pH de cerca de 7,4, com um potencial eletroquímico de – 120 mV em relação ao apoplasto. O vacúolo apresenta pH de 5,5 e um potencial eletroquímico de -90 mV em relação ao apoplasto.

O apoplasto por sua vez, apresenta um pH de 5,5, ou seja pouco ácido (numa planta e assim denominado um conjunto de compartimentos existentes no exterior da membrana plasmática) . A célula se utiliza da energia estocada em gradientes de concentração de prótons e potenciais de membrana para conduzir o transporte de outros solutos (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

As células vivas têm por característica manter um potencial eletroquímico negativo no citoplasma, criando assim dessa forma uma diferença de potencial elétrico (DP), através da membrana plasmática, tal diferença, muito se faz necessária para uma série processos que ocorrem na membrana celular, podendo variar de uns poucos milivolts até muitos milivolts.

A negatividade no citoplasma é um desvio de equilíbrio, e como tal carece para ser mantida de gasto energético. Tal fato pode ser evidenciado quando acontece morte celular a DP transmembrana desaparece (PROCOPIO, 2009).

O primeiro passo para a DP transmembrana é a diferença de composição iônica entre o citoplasma e o meio extracelular, mantida nas plantas muito graças as H^+ -ATPases, quando iniba esta proteína o meio externo tende a se igualar com o interno e a DP cai perto de zero.

Outro fator a ser levantado acerca do movimento iônico, mas seus papéis ainda estão um tanto obscuros ate então. Um exemplo é o ABA, apresentando ações estimulantes e inibitórias. Porém a ação do ABA pode não ser igual para todos os íons.

Outro fenômeno que ainda aguarda uma explicação adequada é a periodicidade da translocação , que muito frequentemente é modulada por ritmos circadianos (diurnos). Foi verificado em feijão que rubídio e fosfato tiveram suas porções máximas translocadas para a porção superior das folhas perto do meio dia, e mínimas perto da meia noite (EPSTEIN; BLOOM, 2006).

5 Modelo biológico

Figura 25- Modelo para a geração de potencial elétrico de membrana tendo como força propulsora o íon H^+

O fluxo de H^+ que funciona como força propulsora para outros íons, como já apresentado neste trabalho, pode ser visualizado usando o modelo mostrado na figura 25.

Sempre que um íon se move para dentro ou para fora de uma célula sem ser balanceado pelo movimento contrário de um íon de carga oposta, uma voltagem é criada através da membrana.

Qualquer mecanismo de transporte ativo que resulte no movimento de uma carga elétrica irá afastar o potencial de membrana do valor referenciado na Equação de Goldman.

Basicamente este movimento iônico acontece para controle de pH e controle da homeostase iônica, e alguns fatores que podem estar atuando em ambas as situações, como por exemplo a luz e nutrientes, apresentado neste presente trabalho.

Prótons em excesso, gerados pelo metabolismo intermediário, são de forma ativa expelidos pelo citosol, sendo este processo responsável por ajudar a manter o pH do citosol perto da neutralidade (7,2), enquanto o vacúolo e o meio extracelular são geralmente mais ácidos em uma ou duas unidades de pH (entre 5,0 e 5,5) (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Grandes vacúolos são utilizados como depósitos de prótons e íons importantes nos processos metabólicos, tal como o cálcio.

Controlando a liberação de H^+ e de outros íons no citosol, as células regulam o pH do citosol, a atividade enzimática, a organização do citoesqueleto e a fusão de membranas.

O movimento de íons através das membranas biológicas (membrana plasmática, e de endomembranas de diferentes organelas celulares) é um processo extremamente seletivo e fundamental na manutenção da energética celular, tal processo é desempenhado por estruturas protéicas localizadas nas membranas, que podem funcionar como proteínas canais, proteínas carreadoras (ou transportadoras) ou, ainda, como bombas eletrogênicas. Em resposta à ação destas macromoléculas, alguns compostos são acumulados na célula a concentrações mais elevadas que as encontradas no ambiente externo, enquanto outros são totalmente excluídos.

Os sistemas de transporte presentes nas membranas biológicas podem ser classificados em sistemas primários e secundários. Os sistemas primários são constituídos pelas bombas eletrogênicas. Estes são responsáveis pelo estabelecimento de um gradiente eletroquímico gerado ao transportar íons contra um gradiente de concentração, utilizando-se para isso de compostos ricos em energia (ATP ou PPi). Os sistemas secundários, por sua vez são constituídos pelas proteínas canais e as carreadoras ou transportadoras, são capazes de transportar substratos através da membrana sem envolver quebra de ligações covalentes. Este processo depende do desequilíbrio de cargas gerado na membrana, pelos sistemas primários (AZEVEDO e SANTOS, 2011).

São muitos os diferentes íons que permeiam simultaneamente as membranas de células vivas, mas existem íons como Cl^- , Na^+ e K^+ que

apresentam concentrações mais elevadas, como mencionado na equação de Goldman, que por incluir estes três íons apresentam um valor mais acurado para o potencial de difusão nessas células.

Em alguns organismos ou em tecidos como os nervos, por exemplo, o potencial de repouso normal na célula pode se aproximar do E_k (equilíbrio de k), mas este não é o caso de células de plantas que podem apresentar valores de potencial de membrana medidos experimentalmente entre -200 a -100 mV, muito mais negativos do que os calculados a partir da equação de Goldman, que são geralmente apenas de -80 a -50 mV. Tal fato se dá, pois além do potencial de difusão, o potencial de membrana tem um segundo componente; a voltagem em excesso é fornecida pela H^+ -ATPase eletrogênica da membrana plasmática (TAIZ E ZEIGER, 2006).

A luz afeta de várias maneiras incluindo aspectos qualitativos e quantitativos, o aumento da atividade fotossintética possibilita a elevação dos teores de açúcares solúveis, aminoácidos e ácido inorgânicos; Wilson e Wong (1982) relatam em seu trabalho que a qualidade de plantas forrageiras tropicais cai consideravelmente em função da diminuição da luminosidade. Ainda no mesmo trabalho é relatado que o sombreamento diminui os teores de carboidratos solúveis na folhas.

O fluxo de íons que passa por uma determinada membrana se dá dentre outras finalidades para manter o equilíbrio de pH e homeostase iônica (vacúolo – pH – 5,5/ citosol – 7,2), logo a H^+ -ATPase tem importante papel no controle de pH.

As células vegetais têm vários compartimentos internos, sendo que cada um possui sua própria composição iônica, como pode ser visualizados nas figuras 24 e 25.

O citosol e o vacúolo são os compartimentos mais importantes na determinação das relações iônicas das células vegetais, uma vez que em células vegetais maduras, o vacúolo central geralmente ocupa 90% ou mais do volume celular, enquanto o citosol está restrito a uma fina camada ao redor da periferia da célula.

Figura 26- As concentrações iônicas no citosol e no vacúolo são mantidas por processos de transporte ativo (seta tracejada) e passivo (setas contínuas). (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Figura 27 - H^+ -ATPase e Ca^{2+} -ATPase, que geram um potencial eletroquímico para direcionar o transporte através dos canais. (EPSTEIN e BLOOM, 2006).

6 Resultados e Discussão

Trabalhou-se com 12 vasos, sendo três cultivados sob uma situação de sol pleno (100% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo três cultivados sob uma situação de sombreamento (70% de luz) e recebendo a adubação de manutenção; três sendo cultivados sob uma situação de sombreamento (50% de luz) e recebendo a adubação de manutenção e por último três vasos cultivados sob uma situação de sol pleno (100% de luz) e não recebendo a adubação de manutenção. Os outros vasos eram mantidos caso algum dos utilizados no experimento tivesse de ser substituído.

Embora não estejam aqui apresentadas, foi realizada anteriormente a captação de sinal de oito ciclos para aperfeiçoamento do método.

Tabela 1: Teor de nitrogênio na parte do Capim Marandu (*Brachiaria brizantha*)

	N g/kg	100%	70%	50%
Vaso 09*	9,52	X		
Vaso 12	13,69			X
Vaso 13	11,76		X	
Vaso 15	16,18			X
Vaso 17	13,16			X
Vaso 20*	8,12	X		
Vaso 21	14,00	X		
Vaso 23	10,05		X	
Vaso 24	12,24	X		
Vaso 25	16,24		X	
Vaso 26	19,60	X		
Vaso 29*	8,51	X		

❖ Estes vasos não receberam a adubação de manutenção após cada corte

Normalmente, a taxa de crescimento e a produção de forragem caem com o aumento das condições de sombreamento. No entanto, dependendo da espécie, podem ser verificados maiores rendimentos forrageiros, em condições de sombra moderada (Carvalho, 2001).

Neste presente trabalho, pode ser verificado uma taxa maior de alongamento nas folhas e um estreitamento do limbo foliar das plantas cultivadas sob uma sombra mais intensa (50% de luz apenas) do que naquelas que cresceram a sol pleno e a 70% de luz; fato este similar ao verificado por Paciullo, et al. , 2008 em seus trabalhos . Somente depois de notada tal diferenciação morfológica foi iniciada a coleta de sinal.

Foi verificado em *Brachiaria brizantha* um decréscimo acentuado na taxa de crescimento quando as plantas foram submetidas ao sombreamento intenso (mais de 50% de redução da luminosidade) (ANDRADE et al., 2004).

Em relação ao aumento da disponibilidade de vários nutrientes no solo, sob condição de sombreamento, pode resultar em melhoria dos teores de proteína bruta e de minerais na forragem, como fósforo, potássio e cálcio, (DEINUM et al., 1996) quando comparado com sol pleno (DURR e RANGEL, 2000).

É um fato extremamente relevante que a disponibilidade de nitrogênio é o fator dominante que controla os processos de crescimento e desenvolvimento da planta, uma vez que atua na formação das gemas axilares e na iniciação dos perfilhos. Seu déficit aumenta o número de gemas dormentes, enquanto a sua disponibilidade adequada permite o máximo perfilhamento (NABINGER e MEDEIROS, 1995).

Segundo Oliveira et al. (2007), a deficiência de nitrogênio em Capim Marandu pode causar: Desenvolvimento reduzido na planta, redução no perfilhamento, envelhecimento precoce nas folhas, clorose (amarelamento do limbo foliar); sendo a faixa de teor adequado de N na parte aérea de capim-marandu: de 13 a 20 g/kg.

Pode-se observar neste trabalho clorose na folhas dos vasos onde a adubação de manutenção não foi realizada, assim como um menor desenvolvimento das folhas em relação às plantas que receberam a reposição nutricional.

Os dados obtidos com a coleta de sinal foram processados no Matlab® e foram trabalhados nos seguintes modelos: Burg, Covariance, Modified Covariance, Thompson Multitaper, Periodigram, Yuele-Walker e Welch. Dentre estes o que apresentou maior definição espectral foi o método de Welch, sendo portanto o método usado para as análises.

As análises espectrais obtidas através do processamento podem ser visualizadas através das figuras abaixo, que se constituiu de uma ferramenta padrão destinada a explorar as características de uma função (não periódica) ou em termos práticos, de uma série temporal. O periodograma é uma expansão em seno e cosseno de uma série temporal amostrada e foi obtida aplicando a transformada de Fourier (FREITAS, 1992).

Pode-se verificar se observando as médias das análises espectrais (considerando um intervalo de confiança de 95%) calculadas a partir do modelo Welch, que através da metodologia aplicada foi possível realizar agrupamento dos vasos dentro de faixas de frequências (considerando o primeiro e ultimo pico no espectro)de acordo com as suas situações de cultivo:

- Vasos 12, 15 e 17 (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 50% de luz): 5 Hz a 8 Hz (intervalo considerado entre os primeiros maiores picos de cada espectro);
- Vasos 13, 23 e 25 (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 70% de luz): 15 Hz a 18 Hz (intervalo considerado entre os primeiros maiores picos de cada espectro);
- Vasos 21, 24 e 26 (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz): 19 Hz a 41 Hz (intervalo considerado entre os primeiros maiores picos de cada espectro);
- Vasos 09, 20 e 29 (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz e sem a adubação de manutenção): 15 Hz a 50 Hz (intervalo considerado entre os primeiros maiores picos de cada espectro).

Quando observado as médias das análises espectrais (considerando um intervalo de confiança de 95%) feitas á partir de sinal coletado em plantas cultivadas sob uma disponibilidade de 100% de luz e sem a adubação de manutenção não se pode afirmar que houve qualquer tipo de ocorrência que o caracterize como um grupo á parte dos demonstrados anteriormente nas outras situações onde as plantas recebiam mais de 50% de luz.

Segundo Costa, (2006) o método para se obter o espectro de um sinal, usando ferramentas matemáticas, é conhecido como análise espectral, contudo, o método de se obter o espectro de um sinal é conhecido por estimação de espectro, pois o sinal a ser analisado se trata de apenas uma amostra do sinal real, sendo assim, o espectro obtido trata-se de uma estimativa do espectro do sinal original.

Diferentes formas de ondas apresentam diferentes espectros e estes podem ser utilizados para caracterizar o sinal. A análise em frequência de um sinal envolve a resolução do sinal em componentes de frequência, compondo assim, um espectro de frequências para o sinal dado (COSTA, 2006).

A Transformada de Fourier se trata de uma transformada básica que serve para dar suporte a outras transformadas, portanto é coerente afirmar que se tratando principalmente da questão dos vasos 09, 20 e 29 (*Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz e sem a adubação de manutenção) poderia se utilizar outras técnicas de processamento mais apuradas como Transformada de ondaletas e Representação Gaussiana Adaptativa (AGR).

Os espectros das plantas cultivadas sob uma disponibilidade de 50% de luz são ilustrados nas figuras 28, 29 e 30

Figura 28 - Vaso 12- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 50% de luz.

Figura 29- Vaso 15- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 50% de luz.

Figura 30 - Vaso 17- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 50% de luz.

Os espectros das plantas cultivadas sob uma disponibilidade de 70% de luz são ilustrados nas figuras 31,32 e 33.

Figura 31- Vaso 13- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 70% de luz.

Figura 32 - Vaso 23- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 70% de luz.

Figura 33 - Vaso 25- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 70% de luz.

Os espectros das plantas cultivadas sob uma disponibilidade de 100% de luz são ilustrados nas figuras 34,35 e 36

Figura 34- Vaso 26- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz.

Figura 35 - Vaso 21- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz.

Figura 36 - Vaso 24- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz.

Os espectros das plantas cultivadas sob uma disponibilidade de 100% de luz e sem receber adubação de manutenção após cada corte são ilustrados nas figuras 37,38 e 39.

Figura 37- Vaso 09- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz (e sem adubação).

Figura 38 - Vaso 20- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz (e sem adubação).

Figura 39 - Vaso 29- Amplitude do espectro calculada a partir do modelo Welch, de uma planta de *Brachiaria brizantha* cv. Marandu, cultivada sob uma disponibilidade de 100% de luz (e sem adubação).

Segundo Davies (1987), é comum a ocorrência de potenciais de ação em plantas. Podendo ser gerados em resposta à luz, como apontado por Stolarek & Pazurkiewicz-Kocot (1980), e ainda segundo Gradmann & Mummert (1980); Stolarek, Pazurkiewicz-Kocot, Zientara, (1984); Filek et al. (1993) á também calor, frio, produtos químicos, estímulo elétrico e ferimentos.

Uma possível função para os potenciais de ação é bastante óbvia em planta que apresenta movimentos como, por exemplo, o dobrar de folha na *Mimosa pudica* e captura de insetos em *Dionaea muscipula* (PICKARD,1973), entretanto a sua função, de acordo com Davies (1987), é menos evidente em plantas "normais", mas sugestões têm sido levantadas em relação a regulação de transporte iônico , a turgescência e funcionamento floema, bem como a sinalização intercelular e intracelular, segundo trabalhos de Pickard (1973); Gradmann e Mummert (1980); Fromm e Eschrich (1993); Fromm e Spanswick 1993; Fromm e Fei, (1998).

No processo de fotossíntese é gerado energia química utilizável (na forma de ATP), cuja síntese é mediada por um gradiente de hidrogênio transmembrana. A fotossíntese envolve dois processos ligados:

- a oxidação de H_2O em O_2 mediada pela luz e produção de ATP – fase Foto

- a redução do CO₂ em moléculas orgânicas, onde o ATP é utilizado – fase Síntese.

Outra relevante questão é que o ATP proveniente da fotossíntese é produzido apenas em células verdes (fotossintetizantes) e apenas na presença da luz. Durante as horas de escuridão e em células não fotossintetizantes (como células de raiz), a energia é suprida pela respiração, usando como substrato os compostos de carbono produzidos pelas células verdes na parte síntese da fotossíntese. Por isso as plantas respiram, pois é durante o processo respiratório (principalmente na glicólise e ciclo de Krebs) que são produzidos muitos precursores essenciais para a biossíntese de outros compostos importantes, como aminoácidos e hormônios vegetais.

O balanço entre fotossíntese e respiração não deve ocorrer em plantas em crescimento, devendo haver mais fotossíntese que respiração. Caso contrário, não seria possível o crescimento, desta maneira, o ganho de ATP gerado pela fotossíntese deve ser maior que a perda de ATP.

O total de energia ou CO₂ fixado é chamado de fotossíntese bruta; a diferença entre ela e a respiração é o que chamamos de fotossíntese líquida.

$$\text{Fotossíntese bruta} - \text{respiração} = \text{Fotossíntese líquida}$$

Para obtermos uma maior produção de alimentos, devemos aumentar fotossíntese líquida através do aumento da Fotossíntese bruta e/ou redução da respiração. Porém cabe ressaltar que a fotossíntese líquida é limitada principalmente pelas condições ambientais, como nível de CO₂, nível de luminosidade e temperatura, mas pode em alguns casos ser inibida por condições no interior da célula, como por exemplo, baixo nível de certas enzimas.

Dados encontrados na literatura demonstram que em uma mesma temperatura, a taxa fotossintética (bruta ou líquida) é maior ao passo que aumenta a intensidade luminosa. Para uma mesma intensidade luminosa, a taxa fotossintética é maior à medida que aumenta a temperatura (KLUGE, 2012).

Nas células de plantas e fungos as bombas (H⁺-ATPase) são movidas por energia química (ATP) ou energia luminosa (RAVEN et al., 2007).

Gurovich e Hermosilla (2008) apontam que o efeito da luz e sua falta, na atividade elétrica podem ser relacionados com a polarização da membrana, que ocorre na folha durante o processo fotossintético.

A taxa fotossintética da folha acontece em função de fatores intrínsecos, como o nível de inserção e a idade, e de fatores extrínsecos às folhas, como a irradiância, a água no solo, a temperatura e os nutrientes. Em consequência deste conjunto de fatores, as folhas de mais alto nível de inserção no perfilho, mais jovens e melhor iluminadas, apresentam maiores taxas de fotossíntese e geralmente contribuem mais para o pool de fotoassimilados da planta que as folhas mais velhas, de mais baixos níveis de inserção (ALEXANDRINO et al, 2005).

Seguindo então tais considerações, os eletrodos de contato neste presente trabalho (método não invasivo) foram posicionados o primeiro adjacente à lígula, o segundo 10 cm acima da lígula, na face superior da lâmina foliar da última folha totalmente expandida, e um terceiro junto à base das plantas; Volkov, Collins e Mwesigwa (1999) verificaram que eletrodos de inserção alteravam o potencial de ação nas plantas, necessitando de um tempo de descanso, só voltando a se estabilizar após um período de 1 a 2 horas, fato este que não observado quando utilizado eletrodo de superfície.

Sinais elétricos de uma planta obtidos utilizando gravação de superfície são sinais os quais envolvem as atividades elétricas das células da epiderme (HUANG, 2009).

O meio mais rápido de comunicação em longas distâncias entre tecidos de plantas são os sinais bioeletroquímicos ou eletrofisiológicos (VOLKOV, COLLINS e MWESIGWA, 1999).

A geração e a transmissão de sinais elétricos são provavelmente a resposta inicial da planta a estímulos exteriores. Durante o crescimento da planta, os sinais elétricos podem demonstrar também diferentes características devido à luz fraca ou alta umidade. Portanto há potencial para o uso desses sinais elétricos em aplicações indicando a condição fisiológica da planta (HUANG et al, 2009).

A condução de sinais elétricos sobre estruturas especializadas deve ser vista como uma qualidade especial e universal dos organismos vivos, uma vez que toda e qualquer célula viva recebe informações de suas adjacências,

sendo apropriado ressaltar que a superfície de suas membranas apresentam numerosos receptores de proteínas, os quais interagem praticamente com todas as moléculas vitalmente importantes (VOLKOV, COLLINS e MWESIGWA, 1999).

Gurovich e Hermosilla (2008) relatam também, que o efeito de luz e do escuro na excitação elétrica da membrana plasmática está relacionado ao fluxo do íon H^+ na fotossíntese em células vegetais.

Os potenciais de membrana das células vegetais apresentam dois componentes: um potencial de difusão e um componente resultante do transporte iônico eletrogênico (transporte que resulta na geração de um potencial de membrana).

A energia necessária para o transporte ativo é fornecido pela hidrólise de ATP, nas plantas, foi verificado a dependência do potencial de membrana com relação ao ATP, observando o efeito do cianeto que rapidamente envenena as mitocôndrias, esgotando o ATP. Quando o cianeto inibiu o transporte iônico eletrogênico, o pH do meio externo aumentou, enquanto o citosol se tornou ácido devido os íons H^+ que permaneceram dentro da célula, tal fato evidenciou que o transporte ativo de H^+ para fora da célula que é eletrogênico (capacidade de gerar um potencial elétrico).

Uma mudança no potencial de membrana causada por bomba eletrogênica muda as forças propulsoras para a difusão de todos os íons que atravessam a membrana, por exemplo, o transporte para fora de H^+ cria uma força propulsora para a difusão passiva de K^+ para dentro da célula. Na membrana plasmática de plantas, o H^+ é o principal íon bombeado eletrogênicamente, criando gradientes de pH e potencial elétrico que governam o transporte de muitas outras substâncias; então pode-se afirmar que as principais bombas que atuam no processo de transporte através das membranas são as do tipo H^+ -ATPases (TAIZ e ZEIGER, 2006).

Tais bombas também são chamadas de bombas eletrogênicas, por gerarem diferenças de potencial elétrico através das membranas, sendo responsáveis pela geração de um gradiente de prótons através das membranas, essas bombas são proteínas integrais ativadas por energia química (ATP) ou luminosa (BUCHANAN, GRUISSEM, e JONES 2000).

Volkov, Collins e Mwesigwa, (1999) descreveram que potenciais de ação são sinais causados pela polarização da membrana plasmática, estimulantes

mecânicos, químicos ou físicos agem não apenas no local da ocorrência, mas também essa excitação pode ser transferida ao longo da planta toda, porém a velocidade de transferência da excitação depende de sua intensidade, temperatura, tratamento químico, os ferimentos mecânicos. Esta reação de excitação vai para ambas as direções na planta, como por exemplo, do topo para a raiz.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso de gaiola de Faraday durante a realização do experimento foi de grande valia, uma vez que a mesma confere uma blindagem contra ruídos externos, fator este que poderia causar uma característica oscilatória no sinal além do realmente gerado pelas plantas.

Dentre todos os modelos utilizados para calcular a amplitude espectral o que pode ser considerado como mais apropriado neste trabalho foi o modelo Welch, pois quando observadas as frequências, estas apresentaram picos mais nítidos e coerentes com as situações estudadas segundo a literatura e estudos anteriores.

As plantas trocam solutos e água entre seus órgãos e tecidos e com o ambiente externo, tais processos seja de transporte local ou a longa distância são controlados por membranas celulares.

Em vegetais participam dos valores de potencial de membrana, além do potencial de difusão, a voltagem mais elevada é fornecida pela H^{+} -ATPase eletrogênica da membrana plasmática. As concentrações iônicas no citosol e no vacúolo são controladas pro processos de transporte ativo e passivo, na maioria das células vegetais, o vacúolo ocupa até 90% do volume celular e contém a maior fração dos solutos celulares, o controle das concentrações iônicas no citosol é importante para regulação das enzimas metabólicas.

É admissível relatar que o equipamento utilizado no presente trabalho apresentou eficácia quanto à separação por faixas de frequências às plantas cultivadas á 100 %, 70% e a 50% de luz; entretanto não pode ser notada a mesma eficácia entre as plantas cultivadas á 100 % de luz que não receberam adubação de manutenção após cada corte, demandando assim estudos mais aprofundados. Vale ressaltar também que os valores de frequências encontrados devem ser considerados em faixas de frequência e não cravado em uma frequência única.

Atualmente, muitas são as políticas seja, na esfera governamental ou não para assegurar um desenvolvimento seguro do meio ambiente, sendo exemplo disto, a Agenda 21, documento que mostra os vínculos entre o meio ambiente e outros assuntos que por várias vezes são considerados

erroneamente de forma isolada, podendo ser citado à transferência de tecnologia; podendo esta última ser aliada aos cuidados com o ambiente.

É fato notório que o Brasil possui vastas áreas de pastagens cobertas por distintas espécies vegetais que servem de alimentação para os rebanhos, estudar e respeitar cada elemento que compõe este ecossistema (clima, solo, planta e animal) é de suma importância para um desenvolvimento seguro, consciente e eficaz.

Este trabalho se constitui apenas do primeiro passo para a construção do alicerce de tais estudos, abrindo com isso futuras perspectivas de novos trabalhos acerca do tema abordado.

8 CONCLUSÕES

As plantas utilizadas quando expostas a níveis distintos de sombreamento apresentaram respostas morfológicas notáveis pertinentes a cada grupo de sombreamento.

Foi positiva a realização da captação de sinais elétricos em Capim Marandu, em crescimento livre e nível distinto de sombreamento, por meio do emprego de técnicas de instrumentação eletrônica, como uma importante ferramenta no estudo da fisiologia das forragens.

No entanto vale ressaltar que este presente trabalho é apenas o primeiro degrau para futuros estudos no campo da eletrofisiologia vegetal, requerendo assim pesquisas mais amplas e aprofundadas neste ramo da ciência das plantas.

No presente trabalho realizou-se uma análise qualitativa acerca do potencial de ação de membrana de célula vegetal. A propagação do potencial de ação através da transmissão do sinal elétrico pela membrana plasmática pode ser originado de forma ativa e passiva, sendo que neste presente trabalho o foco recaiu sobre ao transporte ativo.

O modelo apresentado foi elaborado estudando o comportamento do íon H^+ , que atua como força propulsora para o os outros íons na questão do transporte através da membrana plasmática e a forte relação da H^+ -ATPase no potencial de ação.

9 Referências Bibliográficas

ANDRADE, C.M.S. et al. Crescimento de gramíneas e leguminosas forrageiras tropicais sob sombreamento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.263-270, 2004.

ALEXANDRINO, E. et al. Distribuição dos fotoassimilados em plantas de *Panicum maximum* cv. Mombaça. **R. Bras. Zootec.**, Viçosa, v. 34, n. 5, Oct. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-35982005000500004&lng=en&nrm=iso>. Acessado em 07/05/2012.

AZEVEDO, I.G.; SANTOS, C.L.A. **Influência do etileno e da H⁺ -ATPase durante o amadurecimento dos frutos**. Disponível em : <www.seer.perspectivasonline.com.br/index.php/CBS/article/view/.../4>. Acessado em 24/8/2012.

BANCK, A.R., CAPPELLESSO, F., e BERNARDI, T.A. **Brachiaria**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Disponível em: <<http://web.dv.utfpr.edu.br/www.dv/professores/arquivos/Luis%20Fernando%20Glasena%20de%20Menezes/Brachiaria.pdf>> Acessado em 27/04/2012.

BARCELOS, A.F. et al. **Adubação dos capins do gênero Brachiaria**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2011, 84p. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:xRM7qMry6swJ:www.epami.g.br/index.php%3Foption%3Dcom_docman%26task%3Ddoc_download%26gid%3D2011+genero+brachiaria&cd=4&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br> Acessado em 27/04/2012.

BENETT C.G.S. et al. **Resposta da *Brachiaria brizantha* cv. Marandu a diferentes tipos de adubação**. Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta, v.6,n.1,2008. Disponível em: < http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol6/2_artigo_v6.pdf> Acessado em : 20/04/2012.

BERNARDES, M.S. **Fotossíntese no dossel das plantas cultivadas**. In _____ CASTRO, P.R.C., FERREIRA, S.O., YAMADA, T. (editores). *Ecofisiologia da produção agrícola*. Piracicaba: Associação Brasileira para pesquisa de potassa e do fostato, 1987. p. 13- 48.

BUCHANAN, B.B., GRUISSEM, W. e JONES, R.L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**, Courier Co, Inc, 1ª ed, Waldorf. CD-ROM ,2000.

CABRAL, E.F. et al. The oscillatory bioelectrical signal from plants explained by a simulated electrical model and tested using Lempel-Ziv complexity. **Computers and electronics in agriculture**. 76. 2011, p.1-5.

CARVALHO LEITE, H.T. **Plano de trabalho – EIA/RIMA Ampliação da Baldin Bioenergia SA Pirassununga, SP**. Novembro, 2008. Disponível em: < www.ambiente.sp.gov.br/.../Plano_de_Trabalho_para_elaboracao_do_EIA_RIMA_do_empendimento_da_Baldin_Bioenergia-SA.pdf >. Acessado em 23/12/2010

CARVALHO, M.M. Contribuição dos sistemas silvipastoris para a sustentabilidade da atividade leiteira. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DE SISTEMAS DE PRODUÇÃO DE LEITE A PASTO E EM CONFINAMENTO, 2001, Juiz de Fora. **Anais**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 2001. p.85-108.

COOLEY, J. W.; TUKEY, J. W. An algorithm for the Machine Computation of Complex Fourier Series. **Mathematics of Computation**, v. 19, Apr. 1965. p. 297-301.

COSTA, E.J.X. **Estudo da atividade elétrica cerebral em humanos e bovinos usando processamento digital de sinais e instrumentação eletrônica**. 2006. Tese (Livre Docência em Processamento de Sinais Biológicos) - Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2006. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/livredocencia/74/tde-08102007-070647/>>. Acesso em: 14/11/2012.

CRIAR e PLANTAR – Espécies forrageiras. USP, Empresa Junior de Zootecnia. Empresa Júnior de assistência veterinária. Cap Jr. Consultoria. Esalq Júnior Consultoria. Disponível em: <<http://www.criareplantar.com.br/pecuaria/forragicultura/forragicultura.php?>> Acesso em: 26/10/2009.

COSTA, K.A.P.; FAQUIN, V. OLIVEIRA, I.P. Doses e fontes de nitrogênio na recuperação de pastagens do capim-marandu. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.62, n.1, p.192-199, 2010.

DIAS FILHO, J.G., **Caracterização biométrica e qualidade dos capins braquiária e áries submetidas a doses de nitrogênio**. Marília: Unimar, 2007, 30 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Marília, Marília, 2007.

DAVIES, E. Action potentials multifunctional signals in plants: a unifying hypothesis to explain apparently disparate phenomena . **Plant cell and environmental**. 10, pp.623-631.1987.

DAVIES, E. Commentary new functions for electrical signals in plants: **The New Phytologist**, 161(3), 607-611.2004.

DAVIES, E.: Action potentials as multifunctional signals in plants: a unifying hypothesis to explain apparently disparate wound responses, *Plant, Cell and Environ.* 10 (1987), 623–631.

DURR, P.A.; RANGEL, J. The response of *Panicum maximum* to asimulated subcanopy environment. I. Soil x shade interaction. **Tropical Grasslands**, v.34, p.110-117, 2000.

ENEAS FILHO, J. , MIRANDA, M.R.A., e SILVEIRA, J.A.G. **Panorama geral dos vários processos de transporte na membrana plasmática de células vegetais**. Disponível em:<<http://www.fisiologiavegetal.ufc.br/Aulas%20em%20PDF%20PG/Unidade%20VI%20-%20Transporte%20de%20solutos.pdf>>.Acessado em:23?07/2012

EMBRAPA GADO DE CORTE. **Gramíneas forrageiras do gênero brachiaria**. Disponível em: <<http://www.cnpqg.embrapa.br/publicacoes/ct/ct01/04especies.html#4.2>> Acessado em:20/04/2012.

EPSTEIN, E. , BLOOM, A.J. **Nutrição mineral de plantas: Princípios e perspectivas**. 2.ed. Londrina, Planta, 2006. 401p.

FENSOM D.S.: The Bioelectric potentials of plants and their functional significance. V. Some daily and seasonal changes in the electrical potential and resistance of living trees. **Canadian Journal of Botany**, 1963, p. 831-851.

FILEK, M. et al. Changes of surface potential and phospholipid composition of winter wheat callus cells grown at 5°C and 25°C. **J. Agron. Crop Sci.** 171, 1993, p. 243–250.

FREITAS, A.F. **Estudo da fibrilação atrial: Avaliação do comportamento aleatório do intervalo R-R em algumas condições fisiológicas**. Dissertação(Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto-São Paulo, 1992.

FROMM J., FEI, H. Electrical signaling and gas exchange in maize plants of drying soils. **Plants Science**, p. 203-213, 1998.

FROMM J., LAUNTER, S. Electrical signals and their physiological significance in plants. **Plant Cell and Environment**, p.249-257, 2007.

FROMM J., SPANSWICK R.Characteristics of action potentials in willow (*Salix viminalis* L). **Journal of Experimental Botany**, p. 1119-1125, 1993.

GRADANN, D., MUMMERT, H. **Plant action potentials**. In_____ Plant Membrane Transport: Current Conceptual Issues (eds. R. M. Spanswick, W. J. Lucas and J. Dainty), pp. 333–347. Amsterdam:Elsevier/North-Holland Biomedical Press (1980)

GUROVICH, L.A ,HERMOSILA, P.,. Electric signalling in fruit trees in response to water applications and light-darkness conditions. **Journal of plant physiology**, v. 166, p.290-300, 2009.

HAUSDORFF, J, PENG, M. Multiscaled randomness: a possible source of 1/f noise in biology Physical Review E. Statistical Physics, Plasmas, Fluids, and Related Interdisciplinary Topics, v 54, n 2, pp. 2154-2157,1996.

HUANG ,L. , et al. Electrical signal measurement in plant using blind source separation with independent component analysis. **Comput. and Electro. in Agric.** doi:10.1016/j.comlag.2009.07.014, 2009.

KASPAR, F., SCHUSTER,H. G. Easily calculable measure for the complexity of spatiotemporal patterns, **Phys. Rev. A** 36(2), 1987, p. 842-848.

KERBAUY, G.B. **Fisiologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A, 2004.452p.

KLUGE, R.A. **Fotossíntese**. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Disponível em: <
http://www.ufrrb.edu.br/nutricao/mineral/nmp_pg_09/FotossinteseKluge.pdf>. Acessado em:22/10/2012.

LEHNINGER, A. L. **Princípios de bioquímica**. 4 ed: São Paulo. Sarvier, 2006.

LEON, P.M.M. **Mitocôndria e cloroplasto**. Disponível em: <
<http://www.ufpel.edu.br/biotecnologia/gbiotec/site/content/paginadoprofessor/uploadsprofessor/6ebb25efa5358844a75839be29370f45.pdf?PHPSESSID=6814f2bfc827eaf6856a71993cf0ca08>>. Acessado em: 12/09/2012.

LIMA, E. do Valle et al. . Adubação NK no desenvolvimento e na concentração de macronutrientes no florescimento do feijoeiro. **Scientia. agricola**. Piracicaba, v. 58, n. 1, Mar. 2001. Disponível em:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90162001000100019&lng=en&nrm=iso>. Acessado em: 18/04/ 2012.

MARTINS, B.M.P.R., et.al. Porcentagens de parte aérea e raízes de cultivares de *Brachiaria brizantha* manejados sob ofertas de forragem e lotação rotacionada. In: XXI Congresso de iniciação científica da UNESP. **Resumo**. São José do Rio Preto: UNESP, 2009. p.05366 -05369.

MENDES, L.L. **Processamento digital de sinais**. Disponível em: <docentes.inatel.br/docentes/luciano/docman/pds/pds/download.html>. Acessado em: 30/04/2012.

MOREIRA, C.N., et. al., Bovinos alimentados com capim *Brachiaria* e *Andropogon* : Desempenho, avaliação da quantidade de esporos do fungo *Pithomyces chartarum* e teor de saponina das pastagens. **Ciência Animal Brasileira**. Goiás, v.10, n. 1, p. 184 – 194, jan./mar. 2009

NABINGER, C.; MEDEIROS, R.B. Produção de sementes de *Panicum maximum* Jacq. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 14. 1992, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 1995. p.59-128

NASA NEUROLAB WEB. **Neurolab Team to Discuss Results, Potential Health Benefits** . Disponível em: <<http://quest.nasa.gov/neuron/>>.Acessado em 26/10/2012.

NEBEKER, F. **Signal Processing – the emergece of a discipline 1948 to 1998**. New Jersey: IEEE History Center, 1998.

OLIVEIRA, P.P.A. Guia de identificação de deficiências nutricionais em *Brachiaria brizantha* cv. Marandu. **Comunicado Técnico Embrapa**. ISSN 1981-206X, São Carlos, nov.2007. Disponível em: <<http://www.cppse.embrapa.br/sites/default/files/principal/publicacao/Comunicado76.pdf>>.Acessdo em :12/6/2012.

OLIVER, B. M.; et al. The philosophy of PCM. **Proceedings of the Institute of Radio Engineers**, v. 36, p. 1324-1332, 1948.

OPPENHEIM, A. V.; SCHAFER, R. W.; BUCK, J. R. **Discrete-time signal processing**. New Jersey: Prentice Hall, 1998.

PACIULLO, D.S.C. Crescimento de capim-braquiária influenciado pelo grau de sombreamento e pela estação do ano. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.43, n.7, p.917-923, jul. 2008

PELLENZ, M.E. **Processamento digital de sinais (PDS)**. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Disponível em: <<http://www.ppgia.pucpr.br/~marcelo/pds/apostila%20pds.pdf>>. Acessado em: 30/04/2012.

PICKARD, B. G. Electrical Signals in Higher Plants. **Naturwissenschaften**, v.61,p. 60-64, 1974.

PICKARD, B. G. Action Potentials in Higher Plants. **Botanical Review**, p. 172-201, 1973.

PROAKIS J.G.; MANOLAKIS D.G. **Digital signal processing principal algorithms and applications**. 3ª ed. Prentice – Hall of Índia, New Delhi, 2002.

QIAN S. **Introduction to time-frequency and wavelets transforms**. Prentice-Hall. New Jersey, 2002.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F. e EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996. 728 p.

SANTOS, D.M.M. **Absorção e transporte de íons**. Disponível em: <http://www.joinville.udesc.br/sbs/professores/arlando/materiais/TEXT01_absorcao_e_transporte_de_ions.pdf>. Acessado em: 30/07/2012.

SENDA, A. et al. **Aplicações de processamento digital de sinais em engenharia elétrica**. Universidade Presbiteriana Mackenzie. Disponível em: <<http://professor.ufabc.edu.br/marcio.eisencraft/Artigos/Cobenge2005PDS.pdf>>. Acessado em : 29/04/2012.

SHANNON, C. E. A mathematical theory of communication. **Bell System Technical Journal**, v. 27, p. 379-423 e p. 623-656, July/Oct. 1948.

SIBAKA, T. Action Potentials in plant organs. **Symposia of the Society for Experimental Biology**, p.49-73, 1966.

SIBAKA T. Physiology of rapid movements in higher plants. **Annual Review of Plant Physiology**, p.165-184, 1969.

SILVA, A.C.S., ARCE, A. C., SOUTO, S., COSTA E.J.X., 2005. **A wireless floating base sensor network for physiological response to livestock**. **Comput. and Electron**. In Agric. v.49(2), p.246-254.

SILVA A.C.S. **Aplicação de técnicas de processamento digital de sinais na caracterização de sinais cerebrais de bovinos**. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, São Paulo, 2005.

SIMBIÓTICA .**Transporte em plantas**. Disponível em : <<http://www.simbiotica.org/transporteplanta.htm>>. Acessado em: 05/05/2012.

STOLAREK, J., PAZURKIWIC- KOCOT, K ., ZIENTARA, M. The action of phytohormones on resting and action potential in higher plants, **Post. Biol. Kom**. 11 1984, p.361–363.

TAIZ, L., ZEIGER, E., **A água e as células vegetais**. In: _____ Fisiologia Vegetal. 3 ed. Porto Alegre : Artemed, 2004. p. 61 – 67.

TAIZ, L., ZEIGER, E., **Fisiologia Vegetal**. 4 ed. Porto Alegre : Artemed, 2006. 719p.

VAN BEL, A.J.E., EHLERS, K. **Electrical signaling via plasmodesmata**. In: Plasmodesmata(ed. K.J. Oparka), Blackwell Publishing, Oxford, UK, pp. 263-278, 2004.

- VILELA, H. **Série gramínea tropical - Gênero brachiaria (*Brachiaria decumbens* - Capim)**. Disponível em: http://www.agronomia.com.br/.../artigos_gramineas_tropicais_brachiaria_decumbens.htm >. Acessado em: 28/10/2009.
- VOLKOV, A. G. Electrophysiology an phototropism. In **Communications in Plants – Neuronal aspects of Plant life** (ed.s F. Baliska, S. mancuso & D. Volkmann), Springer_Verlag, p. 351-367. 2006
- VOLKOV, A.G., COLLINS, D.J., MWESIGWA, J. Plant electrophysiology pentachlorophenol induces fast action potentials in soybean. **Plant Science**, v. 153, p. 185-190, 2000.
- WINTER, W.H.; EDYE, B.A.; MEGARRITY, R.G. e WILLIAMS, W.T. Effects of fertilizer and stocking rate on pasture and beef production from sown pastures in Norther Cape York Peninsula. **1º Botanical and chemical composition of the pastures**. Aust. J. Exper. Agric. Husb., 17(84):6674, 1977.
- WILSON, J.R. Ecophysiological constraints to production and nutritive quality of pastures under tree crops. In: INTERNATIONAL LIVESTOCK-TREE CROPPING WORKSHOP, 1988, Serdang. **Proceedings...** Rome: FAO, 1988.
- WILSON, J.R., CATCHPOOLE, V. R., WEIER, K. L. Stimulation of growth and nitrogen uptake by shading a rundown green panic pasture on brigalow clay soil. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v.20, n.3, p.134-143, 1986.
- WILSON, J. R., HILL, K., CAMERON, D. M., SHELTON, H.M. The growth of Paspalum notatum under a shade of a Eucalyptus grandis plantation canopy or in full sun. **Tropical Grasslands**, Brisbane, v.24, n.1, p.24-28, 1990.
- WILSON, J.R., WONG, C.C. Effects of shade on some factors influencing nutritive quality of green panic and siratro pastures. **Australian Journal of Agricultural Research**, East Melbourne, v.33, n.8, p.937-949, 1982.