



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE GARANHUNS
CURSO DE AGRONOMIA

INSTRUMENTAÇÃO UTILIZADA EM FISIOLOGIA VEGETAL – ESALQ | USP

JOÃO PEDRO RAMOS DA SILVA

GARANHUNS
2019

JOÃO PEDRO RAMOS DA SILVA

INSTRUMENTAÇÃO UTILIZADA EM FISIOLOGIA VEGETAL – ESALQ | USP

Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Garanhuns, como parte das exigências do Curso de Graduação em Agronomia para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo.

Orientadora: Profa. Josabete Salgueiro Bezerra de Carvalho.

GARANHUNS
2019

JOÃO PEDRO RAMOS DA SILVA

INSTRUMENTAÇÃO UTILIZADA EM FISIOLOGIA VEGETAL – ESALQ | USP

Aprovado em: _____, _____, _____

Leandro Dias de Lima
(Doutorando - UFRPE)

Profa. Luciana Maia Moser
(Doutora - UFRPE)

Profa. Josabete Salgueiro Bezerra de Carvalho
(Doutora - UFRPE)

IDENTIFICAÇÃO

Nome do Aluno:	João Pedro Ramos da Silva
Curso:	Agronomia
Matricula:	109.742.524-09
Tipo do Estágio:	Supervisionado Obrigatório
Área de conhecimento:	Fisiologia Vegetal
Empresa/Instituição:	ESALQ-USP
Setor:	Departamento de Ciências Biológicas – Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresse
Supervisor:	Ricardo Ferraz de Oliveira
Função:	Professor
Orientador:	Profa. Josabete Salgueiro Bezerra de Carvalho.
Período de Realização:	25/09/19 a 12/11/19 (35 dias)
Total de Horas:	210 horas

DEDICATÓRIA

A minha mãe.

Ao meu pai.

A Minha avó Maria do Carmo (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por não me deixar desistir diante das situações enfrentadas e por sempre colocar pessoas boas em minha vida.

Aos meus pais, para além da questão financeira, por todo amor e carinho e também por sempre compreenderem meu sumiço em períodos de prova.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelas diversas oportunidades que tive na unidade, pelo ensino e por minha formação profissional.

Aos meus professores, Luciana Maia, Edilma Pereira, Weronica Meira, Cesar Badji, Antônio Ricardo e Horasa Maria, por terem despertado mais motivos para minha paixão pelo curso de Agronomia e por serem exemplos de profissionais em suas respectivas áreas.

Ao meu professor de matemática Hudson Cavalcante por todo apoio, paciência e sabedoria. Professor, gostaria que soubesse que graças a sua metodologia de ensino, estou concluindo minha graduação. Pois, é importantíssimo para um aluno que sai do ensino médio não ser bombardeado por metodologias que sufoquem e que gerem um sentimento de incapacidade. Dito isto, parabéns por ser esse excelente profissional.

À professora Josabete Carvalho, minha orientadora, por ter me acolhido na área da fisiologia vegetal com muito carinho e por toda dedicação, paciência e persistência em me direcionar para um futuro mestrado. Saiba que sou muito grato pela oportunidade de ter trabalhado com uma pessoa tão maravilhosa.

Ao PET Biotecnologia por toda experiência dentro do grupo. É um prazer enorme ter pertencido a um grupo como esse.

À professora Julia Kuklinsky por ser além de uma tutora, uma amiga. Obrigado por me orientar tão bem nessa jornada acadêmica. E, mais uma vez, obrigado por ter visto potencial em mim além de um Coeficiente de Rendimento acadêmico.

Ao LEPSE pela oportunidade de fazer estágio com a Fisiologia Vegetal na ESALQ/USP e ser tão bem recebido. E pelas pessoas maravilhosas que encontrei em meu ambiente de trabalho.

Ao professor Ricardo Ferraz, por ser um ser humano incrível.

Ao meu companheiro de casa, Eberson Santos, por todos os risos, choros, brigas e cumplicidade durante esses 5 anos que dividimos o mesmo ambiente. Você foi fundamental para minha estadia ser tão satisfatória em Garanhuns.

Aos meus colegas de graduação, obrigado por todo apoio, nós vencemos muitas coisas juntos. Jamais esquecerei vocês.

À minha amiga, Jenifer Araújo, pelos momentos divididos, me aturando em níveis elevados de estresse com os trabalhos atrasados. Sentirei saudades desses aperreios ao seu lado. Mas, ficarei bastante orgulhoso em ver você voando ainda mais alto.

RESUMO

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) foi realizado no Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresse (LEPSE) na Escola Superior de Agricultura “Luís de Queiroz” - USP (Piracicaba), durante o período de 25 de setembro à 12 de novembro de 2019, com duração total de 210 horas. Durante o período de estágio foram acompanhados e desenvolvidos experimentos envolvendo respostas de plantas à estresses ambientais bióticos e abióticos. Durante os experimentos, foram utilizados diversos instrumentos fisiológicos para avaliação do metabolismo de diversas culturas (soja, tomate e girassol). Dentre os experimentos acompanhados, podem ser citados: 1-aplicação do biofertilizante Vórax em plantas de soja sob condições de estresse hídrico; 2- Sinalização elétrica em tomate MicroTom; 3- aplicação de nanopartículas de silício em tomate MicroTom sob condições de estresse salino e 4- utilização de solução nutritiva na emergência de sementes de girassol. Para a realização do experimento, foi utilizado ácido salicílico para testar os efeitos atenuadores em plantas de soja. Além de atividades de pesquisa nos laboratórios, o estágio envolveu atividades de participação em palestras e em cursos na área de fisiologia vegetal, tais como EPG (Electrical Penetration Graph). Diante do exposto, o estágio proporcionou a oportunidade de unir os conhecimentos obtidos na graduação com a rotina de um laboratório e ofereceu contato com técnicas avançadas para estudos das interações de plantas versus estresses.

Palavras-chave: estresses ambientais, fotossíntese, eletrofisiologia, ESO.

ABSTRACT

The Supervised Internship Required (SIR) was conducted at the Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresses (LEPSE) in the Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - USP (Piracicaba) during September 25 to November 12, 2019, total duration 210 hours. Internship period, plant responses to environmental and biotic stresses were monitored and tested. During experiments, several physiological instruments were used to evaluate the metabolism of several crops (soybean, tomato and sunflower). Among experiments followed, we can mention: 1- application of Vorax biofertilizer in soybean under water stress conditions; 2- Electrical signaling in MicroTom tomatoes; 3- application of silicon nanoparticles in MicroTom tomato under saline stress conditions and 4- use of nutrient solution in the emergency sunflower seeds. For the experiment, salicylic acid was used to test attenuating effect on soybean plants. In addition to research activities in laboratories, the internship involves participation in lectures and courses in plant physiology, such as the EPG (Electric Penetration Graph). Given the above, the internship offered an opportunity for undergraduate learning with a laboratory routine and provides contact with advanced techniques for studying plant interaction versus stress.

Key words: environmental stresses, photosynthesis, electrophysiology, SIR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Imagem aérea da ESALQ-USP.....	12
Figura 2 - O Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresse, na ESALQ-USP	14
Figura 3 - Biofertilizante Vórax (A); Solução do produto pronto para ser aplicado nas plantas (B); Produto borrifado em folhas de plantas de soja (C).....	21
Figura 4 - Plantas de tomate MicroTom em gaiolas de Faraday (A); Tomate MicroTom ligada ao sistema de aquisição de dados através dos eletrodos (B); Detalhe da disposição dos eletrodos nas plantas (C).	23
Figura 5 - Gráfico com a resposta da planta quando submetida ao estresse	23
Figura 6 - Nanopartículas de silício oriundas do Canadá (A); Plantas de Tomate MicroTom (B); Análise da fotossíntese com a utilização do SPAD (C).....	25
Figura 7 - Plantas tratadas e não tratadas com nanopartículas de silício sob condições de estresse salino.....	25
Figura 8 - Plantas de girassol crescendo em substrato de argila laminada, argila expandida e vermiculita.	27
Figura 9 - Fertilizante e nutrientes utilizados na nutrição das plantas de girassol (A); Concentração de pH que melhor atende a necessidade da cultura de girassol (B).....	28
Figura 10 - Ácido salicílico (A); Solução de ácido salicílico pronta para ser borrifada nas plantas (B); Aplicação de ácido salicílico nas plantas de soja que receberam o tratamento (C).....	29
Figura 11 - Aparato do IRGA no LEPSE, onde pode-se observar a gaiola de Faraday, o monitor e uma parte do equipamento (A); planta de soja sendo submetida a análises de trocas gasosas no IRGA (B); Câmara do IRGA (C).	31
Figura 12 - Registros de alguns seminários assistidos no Dia da Fisiologia Vegetal, na ESALQ – USP (A, B, C).....	32
Figura 13 - Plantas utilizadas no Curso EPG: Tomate MicroTom (A); Plantas de algodão (B); Citrus (C).....	33
Figura 14 – Equipamento responsável por fixar o inseto através da pressão imposta por uma bomba (A); Aplicação da cola no abdômen do inseto (B); Fio de ouro sendo colado ao inseto (C).....	34
Figura 15 - Insetos colocados sobre as folhas do tomate MicroTom (A); Utilização de gaiolas para evitar interferências eletromagnéticas nos resultados (B); Equipamento EPG (C).	35

Figura 16 - Professor Freddy explicando como as ondas eram mostradas no EPG e como entendê-las (A); Visualização das ondas através do programa no notebook e uma apostila de apoio (B)	35
Figura 17 - Grupo participante do Curso EPG na ESALQ - USP	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	CARACTERIZAÇÃO DA INSTITUIÇÃO.....	12
1.2	LABORATÓRIO DE ESTUDOS DE PLANTAS SOB ESTRESSE – LEPSE	13
1.2.1	Infraestrutura e equipamentos do LEPSE.....	14
1.3	Interação plantas x estresses ambientais.....	16
2	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS.....	19
2.1	ACOMPANHAMENTO DE EXPERIMENTOS	19
2.1.1	Aplicação do biofertilizante Vórax em plantas de soja sob condições de estresse hídrico	19
2.1.2	Sinalização elétrica em tomate MicroTom	21
2.1.3	Aplicação de nanopartículas de silício em tomate MicroTom sob condições de estresse salino.....	24
2.1.4	Utilização de solução nutritiva na emergência de sementes de girassol	26
2.2	REALIZAÇÃO DE EXPERIMENTO	28
2.2.1	Uso do ácido salicílico como atenuador aos efeitos do déficit hídrico em plantas de soja	28
2.3	PARTICIPAÇÃO DE PALESTRAS E CURSO	31
2.3.1	Dia de palestras do programa de ciências biológica.....	31
2.3.2	Curso Electrical Penetration Graph (EPG).....	32
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	36
	REFERÊNCIAS	37

1 INTRODUÇÃO

1.1 Caracterização da Instituição

Situada em Piracicaba - SP, a Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ) é uma unidade da Universidade de São Paulo (USP). Através do sonho do visionário Luiz Vicente de Souza Queiroz, a ESALQ nasceu em 1901 com a doação da Fazenda São João da Montanha ao estado de São Paulo para construção de uma escola agrícola (Figura 1). A instituição pertencia a Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, contudo em 1934 passou a fazer parte da USP.

Figura 1 - Imagem aérea da ESALQ-USP



Fonte: Google Maps (2019)

Considerada como um polo de referência, possui sete cursos de graduação e foi a primeira unidade da USP a implantar programas de pós graduação, em 1964, detendo reconhecimento nacional e internacionalmente por sua importância nas áreas de ciências agrárias, ambientais, biológicas e sociais aplicadas. O ensino diferenciado e a pesquisa de qualidade está contemplada em cerca de 130 laboratórios instalados em 12 departamentos, com uma infraestrutura que gera muitos empregos, desde docentes a servidores.

Os departamentos se dividem em Agroindústria, Alimentos e Nutrição (LAN), Ciência do Solo (LSO), Ciências Biológicas (LCB), Ciências Exatas (LCE), Ciências Florestais (LCF),

Economia, Administração e Sociologia (LES), Engenharia de Biosistemas (LEB), Entomologia e Acarologia (LEA), Fitopatologia e Nematologia (LFN), Genética (LGN), Produção Vegetal (LPV) e Zootecnia (LZT). O departamento de Ciências Biológicas é oriundo da fusão do Departamento de Botânica com o Setor de Bioquímica do Departamento de Química, em 1998. O programa de Pós-graduação em Fisiologia e Bioquímica de Plantas é conceituado como “5” pela CAPES (Comissão de Aperfeiçoamento de Pessoal do Nível Superior).

1.2 Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresse – LEPSE

O LEPSE - Laboratório de Estudo de Plantas sob Estresse - foi construído em 1996 com auxílio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) através de sua linha regular de apoio à pesquisa, sendo desde então coordenado pelo Prof. Dr. Ricardo Ferraz de Oliveira, o qual também foi o idealizador do projeto que deu origem ao laboratório. O laboratório está localizado no Horto Experimental “Prof. Dr. Walter Radamés Accorsi” do Departamento de Ciências Biológicas da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (Figura 2).

No laboratório estão instalados equipamentos científicos de última geração, adquiridos com recursos provenientes de diversas fontes de financiamento: ESALQ, FEALQ, Pró-Reitoria de pesquisas da USP, FAPESP, CAPES, CNPq e PRONEX que possibilitaram a criação de novas linhas de pesquisa trabalhando em conjunto com pesquisadores de áreas afins.

Figura 2 - O Laboratório de Estudos de Plantas Sob Estresse, na ESALQ-USP



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

1.2.1 Infraestrutura e equipamentos do LEPSE

O LEPSE possui 667,2 m² de área total em três pavimentos, formando um conjunto de salas e laboratório próprios para atividades de ensino e pesquisa voltados fundamentalmente para a Fisiologia Vegetal. O pavimento superior contém uma recepção, uma copa, banheiros feminino e masculino e as seguintes salas:

- Sala Prof. Walter Radamés Accorsi: é uma sala projetada para exposições orais com suporte para 20 pessoas. Equipada com multimídia e sistemas de som interno, permite a realização desde reuniões científicas a exibição de filmes.
- Sala Prof. Antônio Celso Novaes de Magalhães: É uma sala destinada aos alunos de Pós Graduação, onde cada aluno possui seu espaço individualizado e identificado, totalizando 11 mesas. As mesas possuem impressora, telefone, tomadas próximas e boa iluminação. Além de ser um local bem iluminado, é climatizado e confortável, proporcionando ao estudante condições ideais para estudos. Como decoração, apresenta uma coleção de fotos de mercados agrícolas do Brasil e do mundo.
- Sala Prof. Sinval Silveira Neto: é o acervo bibliográfico do laboratório, contendo mais de 3000 livros da área da biologia vegetal e afins, além de possuir computador disponível para consulta.
- Sala Prof. Antônio Sanchez de Oliveira: é uma sala que possui objetos oriundos de viagens para os diferentes lugares do Brasil e também do exterior, proporcionando uma viagem cultural pelo mundo.

Na estrutura inferior ficam as salas que compõe o laboratório onde os experimentos de pesquisa são desenvolvidos.

- Sala Antônio Augusto Lucchesi (Sinalização elétrica em plantas): Essa sala foi projetada visando a redução de influência de campos eletromagnéticos, nela constam equipamentos de última geração como as Gaiolas de Faraday. Através desse aparato tecnológico é possível a realização da avaliação de parâmetros fisiológicos em concordância com as medidas de sinalização elétrica das plantas de acordo com simulações de condições ambientais diversas.
- Sala Prof. Eduardo Caruso Machado (Trocas gasosas): Nesta sala estão instalados equipamentos utilizados para o estudo do efeito do estresse sobre as trocas gasosas e a fotossíntese, como os IRGAs (modelo Li-Cor 6400), que se encontram instalados em Gaiolas de Faraday com controle de luz azul e vermelho e diferentes intensidades luminosas.

- Sala Pedro Roberto Furlani (Nutrição Mineral de Plantas): Nesta sala estão inseridos equipamentos de osmose reversa, reservatório de água destilada com capacidade para 1000L, balanças de precisão, banhos maria, condutivímetro portátil, entre outros.
- Sala Prof. Luiz Roberto Angelocci (Relações hídricas de células e tecidos): Sala com finalidade de quantificar o potencial hídrico de células e tecidos vegetais.
- Sala Prof. Wilson Roberto Paulino (Processamento de imagens vegetais): Nesta sala estão inseridos equipamentos responsáveis por avaliar área foliar e radicular, como o analisador de raiz Delta-T, medidor de área foliar portátil Li-Cor 3000A e o medidor de área foliar de mesa Li-Cor 3100. Além disso, a sala conta com uma cabine fotográfica que garante a captura de imagens de alta qualidade e posteriormente análise em softwares e um Sistema Hidráulico de Sucção para estimativa da condutância hidráulica radicular, construído no próprio laboratório em parceria com um laboratório da França.

Além dessas duas áreas, existe também uma terceira área que ainda não se encontra finalizada no momento. Nesse compartimento existem diversas ferramentas para a elaboração de trabalhos, desde um parafuso a sacos de substrato. Se encontra em construção nesse local, uma área de estufa e um auditório.

Toda a estrutura do laboratório é constituída de fotos de personalidades científicas, esportistas, artistas que obtiveram destaque em suas áreas de atuação e contribuíram tanto para a história quanto para a cultura das civilizações.

O laboratório comporta as linhas de pesquisa de bioestimulação e bioproteção de plantas, estresse salino, estresse hídrico e eletrofisiologia.

1.3 Interação plantas x estresses ambientais

Por apresentar comportamento séssil, as plantas estão a todo momento desenvolvendo maneiras de se defender da gama de exposição de estresses ambientais. Esses estresses podem ser de origem biótica e abiótica e causam grandes perdas de produtividade para as culturas. Os estresses bióticos são oriundos de infecção por patógenos (bactérias, vírus, nematoides e fungos), insetos herbívoro e concorrência com outras plantas, enquanto os abióticos são a seca, salinidade, calor, frio, resfriamento, congelamento, nutrientes, alta intensidade de luz, ozônio e tensões anaeróbias. Em condições de campo, os estresses podem ocorrer simultaneamente e podem causar extensas perdas na produção, pois a influência de diferentes tipos de estresses acabam maximizando os impactos deletérios oriundos de cada estresse individualmente (COHEN, 2019; SILVA et al., 2012; SUZUKI *et al.*, 2014).

A presença de estresses abióticos em conjunto, como seca, temperaturas extremas e salinidade são fatores que potencializam a presença de patógenos, insetos e ervas daninhas na área de plantio, além de serem os principais fatores ambientais que ameaçam a produtividade (PANDEY *et al.*, 2017). Além disso, a seca tende a beneficiar ainda mais as plantas invasoras, pois diversas apresentam maior eficiência no uso da água (ZHU, 2016).

A temperatura ótima para o crescimento e desenvolvimento das plantas é bastante variável entre as espécies, embora temperaturas extremas sejam prejudiciais, podendo induzir decréscimo na produtividade da maioria. O estresse por frio é uma das razões limitantes da produção agrícola mundial (NOGUEIRA, 2004). A formação de gelo extracelular confere desidratação as membranas das células, danificando-as (MOURA *et al.*, 2010).

Sob altas temperaturas, as taxas fotossintéticas podem chegar a ser mais baixas do que a atividade respiratória, ocasionando diminuição das reservas de carboidratos e redução na produtividade total (DIAS, 2018). Além disso, altas temperaturas são responsáveis por danificar componentes celulares pela produção de ERO (Espécie Reativa de Oxigênio) e desnaturação de proteínas (CORTLEVEN *et al.*, 2019). De acordo com Martinez *et al.* (2015) os estresses oriundos da temperatura dependem da intensidade, da duração e da sua taxa de aumento, sendo prejudicial quando ocorre elevação de 10 a 15°C além da faixa ideal.

Apenas uma pequena fração da água que é absorvida pelas raízes das plantas continuam retida nas mesmas. A maior parte da água é destinada para a transpiração, processo responsável pela manutenção da temperatura nos vegetais (MAGALHÃES; DURÃES, 2006). Com a elevação da temperatura, ocorre aumento na pressão da água nas folhas da plantas, acarretando em maiores taxas de uso da água. Além disso, aumentos na temperatura podem ser desfavoráveis à fotossíntese, pois a enzima Rubisco-ativase, responsável por regular a atividade da Rubisco, pode ser inativada com o estresse térmico (MARTINEZ *et al.*, 2015). Em relação à germinação das sementes, a temperatura influencia tanto na absorção de água como na velocidade das reações bioquímicas (GUEDES *et al.*, 2013). De acordo com o Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC, 2014), a temperatura média irá aumentar de 2,0 a 4,5°C até o final do século. Dessa forma, é essencial a busca por alternativas que visem altas produtividades, mesmo com a influência das mudanças climáticas, sendo uma dessas alternativas o melhoramento genético.

De todos os estresse abióticos, o déficit hídrico é uma grande problemática para a agricultura, pois tem efeitos significativos na produtividade, sanidade e desenvolvimento das culturas. Contudo, as modificações podem ser decorrentes do genótipo, do período e da fase de desenvolvimento da cultura (BRITO *et al.*, 2012). Como efeitos oriundos do déficit hídrico

têm-se a desidratação das células, minimização do potencial hídrico e resistência hidráulica nos vasos do xilema. Além disso, os danos se estendem à abscisão foliar, diminuição da expansão foliar, redução do funcionamento metabólico e celular e fechamento estomático (NUNES *et al.*, 2019). Como perspectiva futura, os índices de déficit hídrico aumentarão em mais de 20% até o final do século XXI (AMIN *et al.*, 2019).

Quando sementes em início de desenvolvimento são expostas a condições de seca, resulta em queda da produção, além dos notáveis efeitos futuros na atividade fotossintética das plantas já adultas e consequentemente na qualidade das sementes produzidas (FREITAS *et al.*, 2013). As plantas utilizam diversos mecanismos como resposta aos estresses ambientais (COHEN; LEACH, 2019), adaptar-se as circunstâncias desfavoráveis é um ato de sobrevivência (HE *et al.*, 2002). Conforme Magalhães e Durães (2006) como mecanismos para mitigar os efeitos do déficit hídrico as plantas apresentam maior sistema radicular, maior espessura da cutícula foliar, ajuste osmótico, regulação do comportamento estomático e armazenamento de metabólitos intermediários.

Cerca de 30 milhões de hectares dos solos são afetados por sais, e aproximadamente 0,5 milhões de hectares de terras produtivas são perdidas a cada ano em função da salinização. Áreas que necessitam de irrigação possuem maior predisposição à salinização, isso é decorrente tanto da utilização de água salina na irrigação, quanto à falta de drenagem. Solos salinos possuem concentração de sais suficiente para influenciar negativamente no crescimento da maior parte dos vegetais, resultando em folhas menores e em menor número (WILLADINO; CAMARA, 2010).

Com a ocorrência de redução da área foliar, mecanismo essencial para a atenuação das perdas de água pela planta, verifica-se a redução na interceptação da energia luminosa e conversão em energia química, através do processo de fotossíntese. Dessa forma, a diminuição da área foliar total pode promover interferência na absorção de luz e na eficácia da utilização da radiação solar (GOMES *et al.*, 2011) e, consequentemente, limitar o crescimento e produtividade das culturas (SANTOS *et al.*, 2012). Influenciando fortemente a nutrição mineral e desenvolvimento das culturas, graças às alterações na absorção e na utilização de nutrientes essenciais para as plantas, a salinidade é um dos fatores que mais afetam a produção em todo o mundo (SOUZA *et al.*, 2019).

Como efeitos oriundos do estresse salino pode-se citar o desequilíbrio iônico resultando na inativação de enzimas, a deficiência de nutrientes, o estresse oxidativo e a toxicidade iônica nos tecidos, além dos danos nos lipídeos e DNA (FERNANDES *et al.*, 2019). Entretanto, as respostas das espécies variem em relação a tolerância, o que faz com que a necessidade de

manejo do solo seja particular para cada cultura. Além disso, o estágio fenológico da planta, propriedade dos sais, tratamentos culturais, circunstâncias climáticas e a intensidade do estresse salino são fatores importantes na elaboração do plano de manejo (QUEIROGA *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 2019).

A luz é a responsável por fornecer energia para a atividade fotossintética, estimular a direção do crescimento das plantas, além de ser responsável pela estação e a regulação do relógio circadiano. Mesmo sendo de extrema importância para a fotossíntese, a quantidade excessiva de luz pode chegar a provocar danos irreparáveis ao aparato fotossintético e a outros compartimentos celulares (CORTLEVEN *et al.*, 2019). Ainda segundo Cortleven *et al.* (2019) Vários mecanismos podem ser acionados caso isso aconteça, como a dissipação do excesso de energia sob forma de calor e o transporte cíclico de elétrons. Apesar desses mecanismos, o excesso de luz pode chegar a provocar lesão em uma proteína muito importante para a fotossíntese, a proteína D1, ocasionando diminuição da eficiência fotossintética. Em contrapartida, a baixa disponibilidade de luz provoca indução do crescimento do alongamento em direção a luz e diminuição do crescimento das folhas, processo conhecido como estiolamento.

Afetada de modo direto pela mudança edafoclimática, a atividade agrícola reflete em diversos âmbitos econômicos, desde o aumento com os custos de produção até o consumidor final, podendo afetar muitos setores da economia (DOMINGUES *et al.*, 2011). Além disso, as perturbações nas distribuições das chuvas, a salinidade das águas e solo e as oscilações na temperatura, promoverão produtividade agrícola distinta da atual, resultando em perda parcial e até total de muitas espécies cultivadas (GONDIM *et al.*, 2010). Portanto, novas alternativas para reduzir os efeitos nocivos dos estresses abióticos na agricultura devem ser elaboradas buscando evitar o depauperamento socioeconômico em decorrência das mudanças climáticas (AMIN *et al.*, 2019).

2 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

2.1 ACOMPANHAMENTO DE EXPERIMENTOS

2.1.1 Aplicação do biofertilizante Vórax em plantas de soja sob condições de estresse hídrico

O maior produtor de soja do mundo é os EUA, seguido do Brasil que tem potencial para expandir suas áreas irrigadas e consequentemente aumentar sua produção (GAVA *et al.*, 2015). A soja é uma das culturas de maior destaque no cenário nacional, sendo uma das principais fontes de renda do país. O êxito para essa cultura se deve à implantação de tecnologias pelos agricultores (BORGES, 2019). Como resultado da inserção da tecnologia, observa-se o destaque na oferta de óleo para consumo interno, na fabricação de ração animal, como fonte de proteína, além do mercado de exportação de grão e farelo (TEIXEIRA *et al.*, 2008). Em decorrência da importância da água para a manutenção da vida dos seres vivos é essencial estudos que ofereçam respostas fisiológicas em função da oscilação da disponibilidade hídrica para as culturas (VIÇOSI *et al.*, 2017).

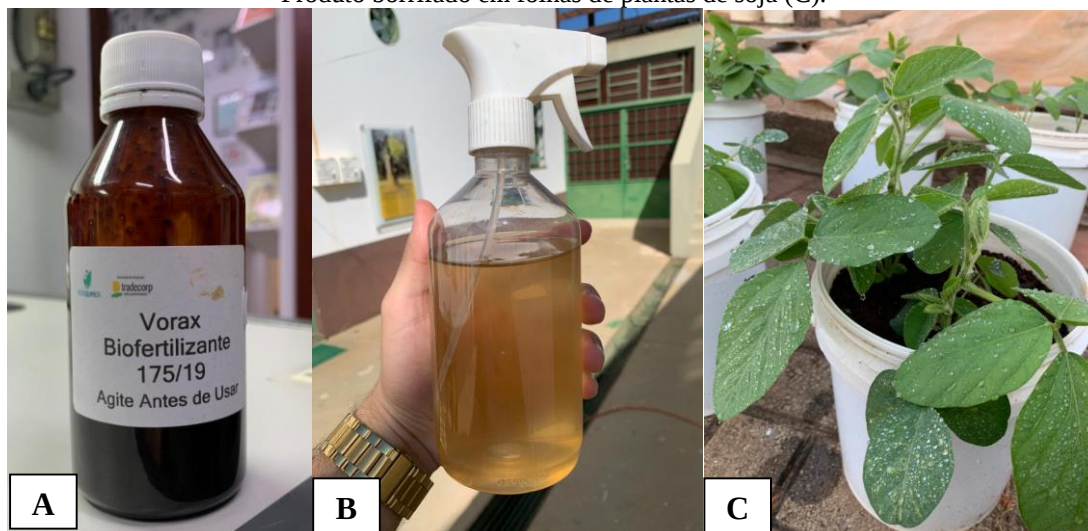
A utilização de bioestimulantes e biofertilizantes além de estimular a planta a superar doenças, também é responsável por auxiliar em seu desenvolvimento, com melhoria na absorção de água e nutrientes, conferindo a planta maior resistência aos estresses ambientais (MENDES, 2019).

Durante o estágio, realizou-se o acompanhamento de dois experimentos de soja com aplicação de Vórax. O vórax é um biofertilizante obtido através de uma fermentação biológica usando bagaço de cana como base, resultando em aminoácidos, açúcares e vários metabólitos, além do extrato de algas, originando um produto de alta estabilidade. O produto possui a finalidade de reduzir os estresses na planta e aumentar a produtividade, como melhorar o desenvolvimento de ramos, de folhas, mudança na intensidade de coloração e qualidade dos grãos em plantas perenes. As doses ideais do produto são baixas, pois em excesso podem chegar a causar toxidez as plantas.

O objetivo dos experimentos, em parceria com a empresa Tradecorp, foi verificar a eficiência do produto nas plantas de soja com e sem a presença do déficit hídrico. As plantas foram divididas em quatro tratamentos: T1 – plantas sem estresse e sem aplicação de Vórax; T2 – plantas sem estresse e com aplicação de Vórax; T3 – plantas com estresse e sem aplicação de Vórax e T4 – plantas com estresse e com aplicação de Vórax.

Os experimentos ocorreram em campo. No primeiro experimento foi feita uma solução de Vórax de 1,5mL diluída em 1L de água deionizada. Após isso, a solução foi borrifada nas folhas que receberam o tratamento Vórax, como mostra a figura 3. Ao final da condução do ensaio, com duração de 3 dias, foi notório que a quantidade aplicada do biofertilizante foi excessiva o que acarretou em fitotoxidez nas plantas, apresentando sintomas de murcha nos tratamentos que receberam o biofertilizante Vórax. Dessa forma, foi necessário a repetição do experimento com outra concentração do produto.

Figura 3 - Biofertilizante Vórax (A); Solução do produto pronto para ser aplicado nas plantas (B); Produto borrifado em folhas de plantas de soja (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

No segundo experimento as plantas receberam a aplicação do produto na concentração de 1mL de Vórax para 1L de água. Após a finalização do experimento, com duração de 7 dias, foi possível verificar que o Vórax atendeu ao que se propõe, resultando em plantas com maior eficiência fotossintética, além da melhora na absorção de água e também minimização dos danos decorrentes do déficit hídrico, como a aparência de murchas. Além disso, as plantas apresentaram em média maiores alturas e coloração mais intensa nas folhas.

2.1.2 Sinalização elétrica em tomate MicroTom

O tomate é uma das hortaliças mais importantes para a dieta humana, podendo ser consumido fresco, cozido ou processado. Sua produção desempenha um papel essencial na economia de muitos países (SHOLI *et al.*, 2012). Por se tratar de uma cultura com ciclo de vida relativamente curto e por possuir altos rendimentos, o tomate possui boas perspectivas de crescimento de produtividade ao longo dos anos. Os frutos são ricos em minerais, vitaminas, aminoácidos, açúcares, ferro e fósforo (NAIKA *et al.*, 2006).

A cultivar de tomate anão desenvolvida a princípio para fins de jardinagem em casa é chamada de MicroTom (SCOTT, 1989). Devido ao pequeno porte e curto ciclo de vida para colheita de frutos maduros, em torno de 70 a 90 dias, as plantas podem atingir alta densidade no local de plantio. Essas características são vantajosas quando se deseja utilizá-la como fonte de pesquisas (PARK *et al.*, 2007).

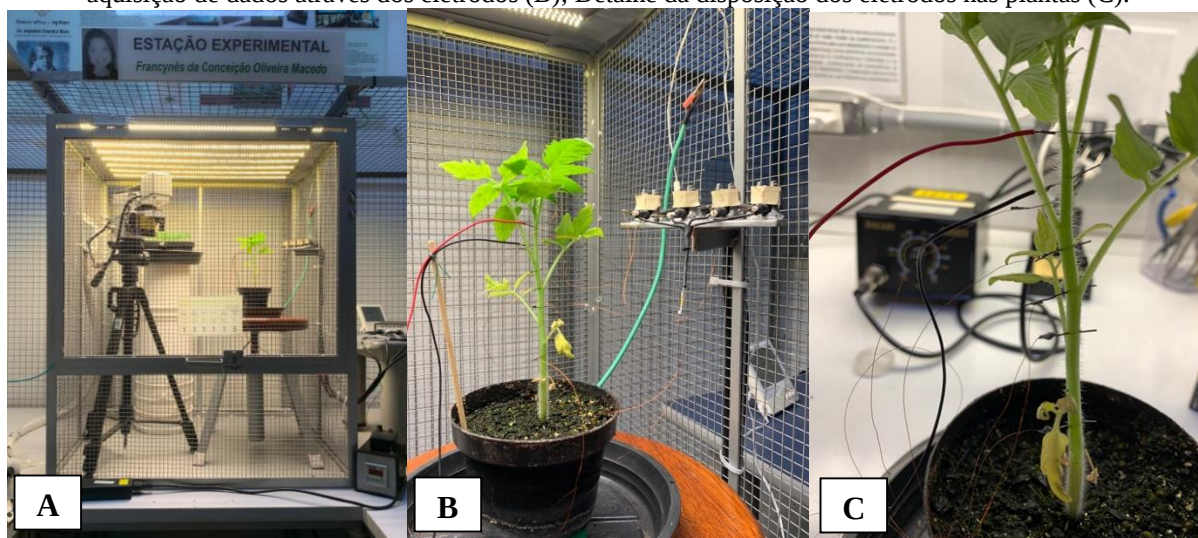
As plantas estão em constante mudança e adaptação com o ambiente em que estão inseridas, seja para responder às alterações de temperatura, luminosidade, disponibilidade de nutrientes e de água, ataques de herbívoros ou patógenos. Tais eventos podem desencadear sinalização nas plantas, podendo ser hidráulico, químico ou elétrico. Os sinais elétricos se propagam com maior velocidade em longas distâncias quando comparado aos sinais químicos, como hormônios (HUBER; BAUERLE, 2016).

Segundo Capelin (2016), a ocorrência de sinalização elétrica é um fenômeno comum em organismos vivos, contudo foi por bastante tempo negligenciada em plantas. Alguns estudos demonstram que estímulos ambientais podem ser respondidos em regiões distantes a do estímulo, onde este sinal desencadeará uma sucessão de respostas com o objetivo de garantir o equilíbrio do sistema. Dessa forma, a sinalização vem se mostrando essencial para o reino vegetal.

Durante o estágio foram utilizadas plantas de tomates MicroTom para experimentos visando elucidar suas respostas quando submetidas ao estresse salino. Para isso, foram usados dois tratamentos. O primeiro consistia de irrigação com água deionizada, já o segundo tratamento consistia de água deionizada com adição de 40mM de NaCl. Ao todo, ocorreram várias repetições ao longo do período de estágio. Concomitante a isso, foram realizados estudos sobre a sinalização elétrica das plantas.

Para as medições de sinais elétricos foram utilizadas gaiolas de Faraday com dimensões de 110 x 85 x 120 cm, com espaços de blindagem de ferro de 1 cm², para assegurar o isolamento eletromagnético. De acordo com Danelluzi (2016), a gaiola de Faraday serve como uma blindagem elétrica, impedindo a entrada de perturbações oriundas de campos eletrostáticos e/ou eletromagnéticos externos que possuem comprimentos de onda superiores ao tamanho da malha. Para a execução da técnica foram utilizados cinco eletrodos de Ag/AgCl, construídos no próprio laboratório através de técnicas oriundas da parceria com uma universidade da Polônia. Os eletrodos são constituídos de um fio de cobre de 0,2 mm de diâmetro, com uma extremidade de ouro e uma de prata, além disso, são clorados com uma camada de AgCl numa solução de 3M de KCl. Após a cloração, os eletrodos foram inseridos nos tecidos vegetais para capturar medidas extracelulares, refletindo o que está acontecendo dentro das células, como mostra a figura 4.

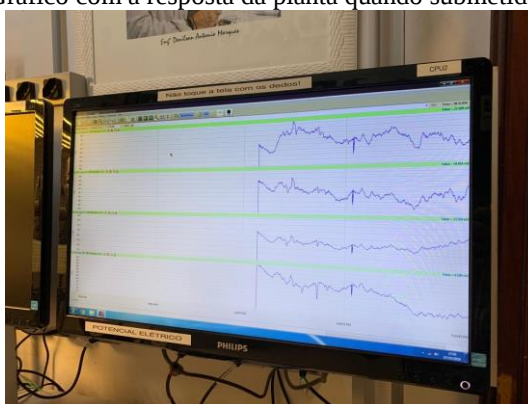
Figura 4 - Plantas de tomate MicroTom em gaiolas de Faraday (A); Tomate MicroTom ligada ao sistema de aquisição de dados através dos eletrodos (B); Detalhe da disposição dos eletrodos nas plantas (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Para ligação do eletrodo com o sistema de aquisição de dados foram utilizados 4 cabos, posteriormente conectados a um computador. Os resultados são mostrados através de um software (Figura 5). Existem eletrodos de medidas (introduzidos na parte aérea das plantas) e eletrodos de referência (inseridos no solo ou na parte mais basal da planta). Quatro eletrodos de medida foram inseridos na região do caule na planta, sendo respeitado o distanciamento entre eles, e um eletrodo de referência do mesmo tipo do de medida foi inserido na parte mais basal. As medições foram iniciadas após a inserção de todos os eletrodos na planta, respeitando um intervalo de três horas, tempo estimado para a estabilização da tensão em todos os eletrodos (MACEDO *et al.*, 2015).

Figura 5 - Gráfico com a resposta da planta quando submetida ao estresse.



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Os dados eram arquivados a cada 24 horas, contudo o responsável pelo experimento estava armazenando para analisá-los posteriormente. Dessa forma, não foi possível acompanhar a análise da leitura dos gráficos que eram mostrados no monitor do computador.

2.1.3 Aplicação de nanopartículas de silício em tomate MicroTom sob condições de estresse salino

O silício é considerado um elemento benéfico para as plantas, podendo reduzir os efeitos de estresses abióticos, como seca e salinidade, além de proporcionar acréscimo da área foliar, aumento no teor de clorofila, acarretando em melhora na atividade fotossintética (MELO, 2019). Além disso, o silício promove aumento na produção de matéria seca e absorção de CO₂ e elevação da quantidade de K em folhas de plantas sensíveis e tolerantes ao estresse salino (MIRANDA *et al.*, 2002). O silício é importante para o crescimento e produção das plantas, conferindo maior resistência ao acamamento, redução do ataque por patógenos e pragas, graças a formação de barreiras mecânicas, além do baixo coeficiente de transpiração em decorrência de déficit hídrico. Além de participar da ativação de algumas atividades enzimáticas e até melhorar o processo de nodulação em leguminosas (MENEZES *et al.*, 2015).

As plantas podem ser classificadas de acordo com a porcentagem de silício na matéria seca da parte aérea. As plantas acumuladoras, apresentam cerca de 4%, enquanto as plantas intermediárias apresentam entre 2 a 4%, e as plantas não acumuladoras, apresentam valores mais baixos que 2%. Acredita-se que essa diferença seja relativa a habilidade que as raízes dessas plantas possuem de assimilar esse nutriente (LIMA *et al.*, 2011).

Dessa forma, o experimento teve como objetivo avaliar os efeitos do silício sobre o estresse salino em plantas de tomate MicroTom (Figura 6). As plantas foram divididas em quatro tratamentos: T1 – plantas sem estresse e sem aplicação de silício; T2 – plantas sem estresse e com aplicação de silício; T3 – plantas com estresse e sem aplicação de silício e T4 – plantas com estresse e com aplicação de silício. A concentração utilizada foi de 500mg de silício por 1L de água deionizada.

Figura 6 - Nanopartículas de silício oriundas do Canadá (A); Plantas de Tomate MicroTom (B); Análise da fotossíntese com a utilização do SPAD (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

Ao final do experimento, com duração de 42 dias, observou-se que as plantas tratadas com silício, mesmo em condições de salinidade, apresentaram altura semelhante as plantas controle (Figura 7). Enquanto as plantas que não foram tratadas com silício e foram expostas ao estresse salino, apresentaram menor crescimento. Já as plantas que receberam aplicação de silício e foram irrigadas normalmente, apresentaram maior altura e melhor desenvolvimento de copa, evidenciando a importância do silício para maiores ganhos na produtividade das culturas.

Figura 7 - Plantas tratadas e não tratadas com nanopartículas de silício sob condições de estresse salino, onde T1 – plantas sem estresse e sem aplicação de silício; T2 – plantas sem estresse e com aplicação de silício; T3 – plantas com estresse e sem aplicação de silício e T4 – plantas com estresse e com aplicação de silício.



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

2.1.4 Utilização de solução nutritiva na emergência de sementes de girassol

O reservatório de minerais primordial para as plantas é o solo, pois é nele que as raízes das plantas absorvem os elementos essenciais. Quando o solo não consegue suprir a necessidade de elementos que a planta requer é necessário a aplicação de fertilizantes. A prática da adubação pode ser estabelecida como a adição de nutrientes de que a planta necessita para concluir seu ciclo, obtendo alta produtividade e produtos de boa qualidade nutricional. Os nutrientes requeridos pelas plantas são divididos em macro e micronutrientes, sendo os primeiros exigidos em maiores quantidades (FAQUIN, 2005).

Em condições de deficiência mineral, as plantas apresentam crescimento limitado e desenvolvimento anormal, pois utilizam esses elementos para o bom funcionamento do seu metabolismo e crescimento (BRUN *et al.*, 2019). A nutrição mineral é de suma importância para a agricultura, silvicultura, manejo de pastagens, além da criação de animais e bem estar dos seres humanos (EPSTEIN; BLOOM, 2005).

Pertencente à família Asteraceae, o girassol (*Helianthus annuus* L.) é uma planta dicotiledônea que possui grande potencial econômico para a produção de grãos e biocombustível (ALVES *et al.*, 2013). Geralmente encontrada nas regiões brasileiras de cerrado, pode ser cultivada em diversas regiões do país, pois abrange condições edafoclimáticas distintas como fotoperíodo, latitude e altitudes (ZOBIOLE *et al.*, 2010).

Foram semeadas sementes de girassol (*Helianthus annuus* L.) em vasos plásticos de 3L litros e cultivados a céu aberto no LEPSE (Figura 8). O substrato usado foi composto por argila laminada (2,5mm), argila expandida (1 a 5mm) e vermiculita, acondicionado sobre uma camada de aproximadamente 3 cm de argila expandida (22 a 32 mm) no fundo do vaso, para melhorar a drenagem.

Figura 8 - Plantas de girassol crescendo em substrato de argila laminada, argila expandida e vermiculita.



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Após o preparo da solução nutritiva, era aferido o pH da mesma (Figura 9), afim de manter seu pH entre 6,3 e 6,5 (o pH era controlado utilizando hidróxido de sódio, para elevá-lo, quando o mesmo se apresentava inferior a 6,3). Esta faixa de pH garante melhor eficiência de absorção da maioria dos nutrientes pelas plantas de girassol. Atualmente, o experimento se encontra em andamento e as plantas serão utilizadas posteriormente para o estudo de sinalização elétrica.

Diariamente, os vasos foram irrigados com uma solução nutritiva de 500 mL, garantindo a manutenção da capacidade de campo do substrato. Na tabelas abaixo (Tabela 1), encontram-se todos os nutrientes utilizados e suas respectivas doses para o preparo da solução nutritiva utilizada para o desenvolvimento de plantas de girassol nesse tipo de substrato.

Tabela 1 - Nutrientes utilizados na solução nutritiva

Fonte	Quantidade g L⁻¹
Fertilizante Miracle-Gro®	0,46
KCl	0,1
CaCl ₂	0,26
MgCl ₂	0,1
Fe-EDTA	1 mL

Fonte: Capelin, 2016.

Figura 9 - Fertilizante e nutrientes utilizados na nutrição das plantas de girassol (A); Concentração de pH que melhor atende a necessidade da cultura de girassol (B).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

2.2 REALIZAÇÃO DE EXPERIMENTO

2.2.1 Uso do ácido salicílico como atenuador aos efeitos do déficit hídrico em plantas de soja

Os hormônios vegetais podem ser definidos como compostos orgânicos e que são requeridos em pequenas quantidades, podendo promover, inibir ou modificar processos fisiológicos. Os mais conhecidos são as auxinas, giberelinas, citocininas, etileno, ácido abscísico, brassinosteróides, jasmonatos e os salicilatos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2008). Os hormônios vegetais são responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento das plantas, podendo ser aplicados com finalidade de melhoria no desempenho de muitas culturas (DARIO *et al.*, 2005). Os fitorreguladores, que podem ser de origem natural ou sintética, são sobrepostos as plantas em partes como sementes, frutos e folhas, com o objetivo de melhorar a produção e atingir bons resultados na colheita (CAMPOS *et al.*, 2015).

Os salicilatos, que abrangem o ácido salicílico (AS) e seus derivados, envolvem sinais produzidos pelas plantas que estimulam defesa após situações de estresse. Com a presença desses sinais, ocorre síntese de aleloquímicos e proteínas, ocasionando proteção às plantas. A utilização exógena do ácido salicílico tem sido usada como forma de resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos (EL-SHAZOLY *et al.*, 2019). Também observa-se que a aplicação exógena de ácido salicílico é benéfica para proteção contra altas e baixas temperaturas,

diminuição da toxidez em relação a presença de metais pesados, aumento do crescimento e bioprodutividade das plantas, além de aumento na fotossíntese, diminuição dos efeitos do déficit hídrico e também a melhoria na relação simbiótica entre *Rhizobium* – leguminosa (WANI *et al.*, 2017).

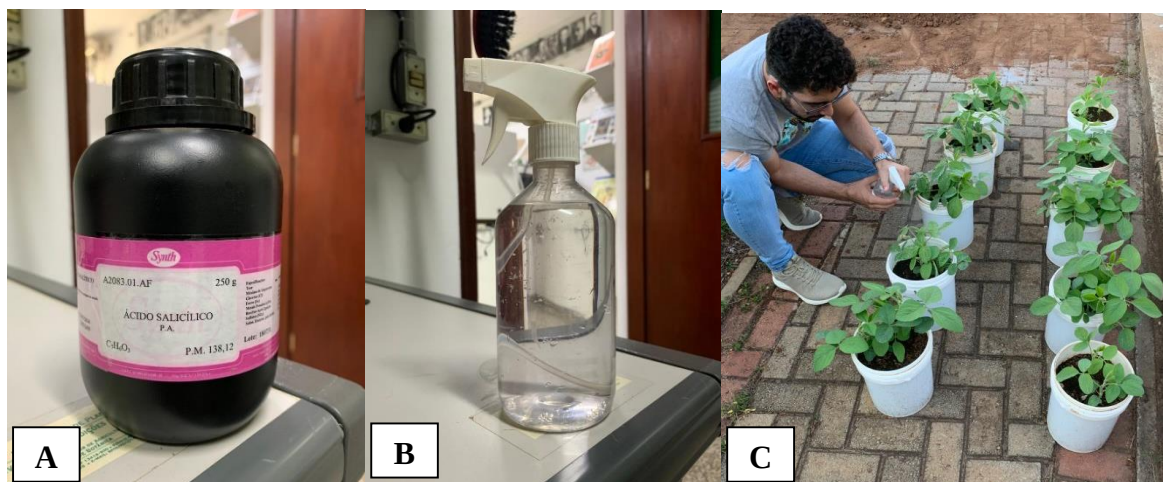
O IRGA é um equipamento de fácil transporte e que pode ser manuseado tanto em condições de campo como em laboratório. O princípio de medição das concentrações de dióxido de carbono ocorre através da utilização de uma folha colocada sob uma câmara hermética com valores de CO₂ e H₂O conhecidos. Em seguida, a diferença entre a quantidade de CO₂ no início da análise e no processo final, é o valor que foi consumido pelo tecido foliar da planta, sendo possível a estimação de variações muito sutis (DANELUZZI, 2018).

O movimento estomático é um mecanismo fundamental para regular as trocas gasosas na plantas e também responsável pelo vapor de água através das folhas, pelo processo de transpiração. Quando em condições de estresses, os estômatos podem se fechar e consequentemente diminuir a condutância estomática e a transpiração, reduzindo a taxa fotossintética da cultura, sendo possível sua estimação com a utilização do IRGA (CARVALHO, 2014).

O trabalho foi conduzido no LEPSE, durante os meses de setembro a outubro de 2019. Para isso, foram utilizadas sementes de soja (*Glycine max*), oriundas do próprio depósito de sementes do laboratório. As sementes foram plantadas em vasos com capacidade de cinco litros, sendo irrigadas diariamente. A concentração do AS utilizada foi de 2mM (HE *et al.*, 2002). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições, totalizando 20 vasos. A unidade experimental correspondeu a duas planta por vaso. Os tratamentos consistiram em: T1- Plantas irrigadas sem aplicação do AS; T2- Plantas irrigadas com aplicação de AS; T3- Plantas não irrigadas sem aplicação do AS; e T4- Plantas não irrigadas com aplicação de AS.

A aplicação do AS foi realizada após 32 dias da semeadura, sendo aplicado via foliar na parte abaxial e adaxial (Figura 10). Após dois dias da aplicação do AS, iniciou-se o estresse hídrico via suspensão da rega. A suspensão da rega para as plantas não irrigadas foi de cinco dias, onde foi finalizado o experimento e realizada as variáveis morfofisiológicas. A duração total do experimento foi de 39 dias.

Figura 10 - Ácido salicílico (A); Solução de ácido salicílico pronta para ser borrifada nas plantas (B); Aplicação de ácido salicílico nas plantas de soja que receberam o tratamento (C).

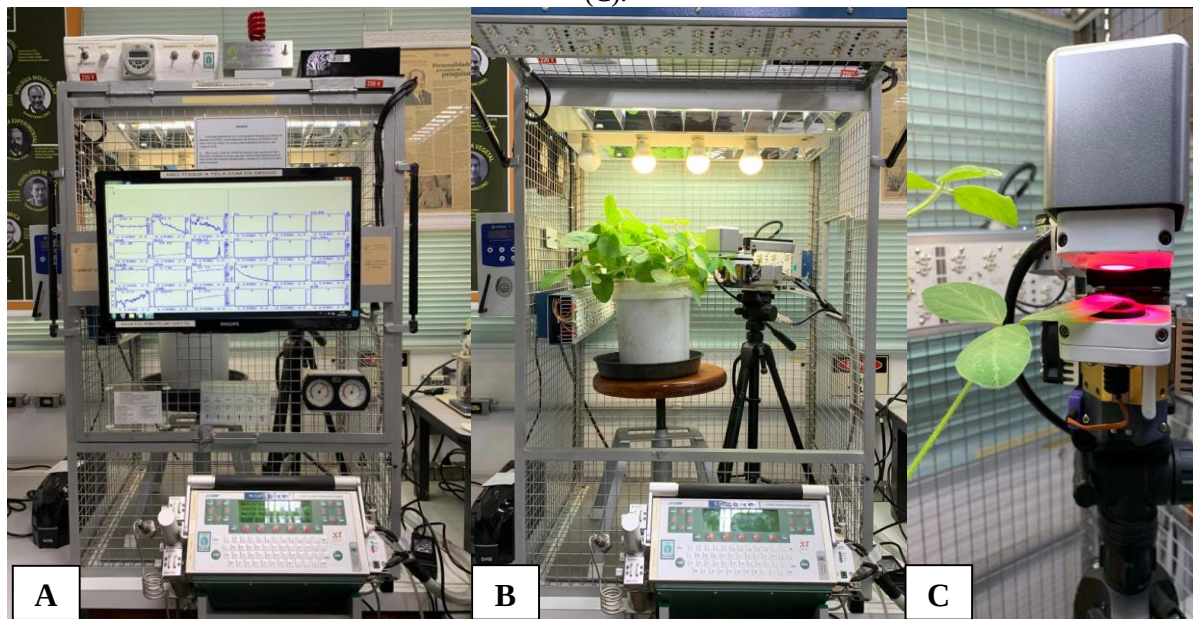


Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Foram avaliados parâmetros como sintomas visuais de murcha, altura de plantas, número de folhas, peso de massa fresca e massa seca, diâmetro de colo e medição de área foliar. Além disso, foi utilizado o Analisador de Gás por Infravermelho – IRGA, sendo possível mensurar a concentração interna de carbono (C_i) ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s) ($\text{mol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiração (E) ($\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), taxa de fotossíntese líquida (A) ($\mu\text{mol de CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$), a eficiência instantânea no uso da água ($EiUA - A/E$) calculada relacionando-a à fotossíntese líquida com a transpiração [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) / (\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1})$] e a eficiência instantânea de carboxilação ($EiC - A/C_i$) [$(\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}) / (\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$] a partir da relação entre a fotossíntese líquida e a concentração interna de carbono.

Para início, o equipamento foi ligado e calibrado, em seguida as plantas foram alocadas nas gaiolas de Faraday e tiveram suas folhas colocadas na câmara de leitura do equipamento. Vale destacar que o aparato do equipamento IRGA no LEPSE é composto por uma gaiola de Faraday e um monitor que é responsável por transmitir os dados de forma gráfica, para facilitação do operador, como mostra a figura 11.

Figura 11 - Aparato do IRGA no LEPSE, onde pode-se observar a gaiola de Faraday, o monitor e uma parte do equipamento (A); Planta de soja sendo submetida a análises de trocas gasosas no IRGA (B); Câmara do IRGA (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019.

Posteriormente, as leituras foram realizadas e os dados salvos, respeitando sempre o período de tempo necessário para a estabilização das análises, que podem variar de planta para planta, mas que em média apresentam valores próximos a 15 minutos. Os dados foram armazenados e serão trabalhados para o desenvolvimento de um artigo científico.

2.3 PARTICIPAÇÃO DE PALESTRAS E CURSO

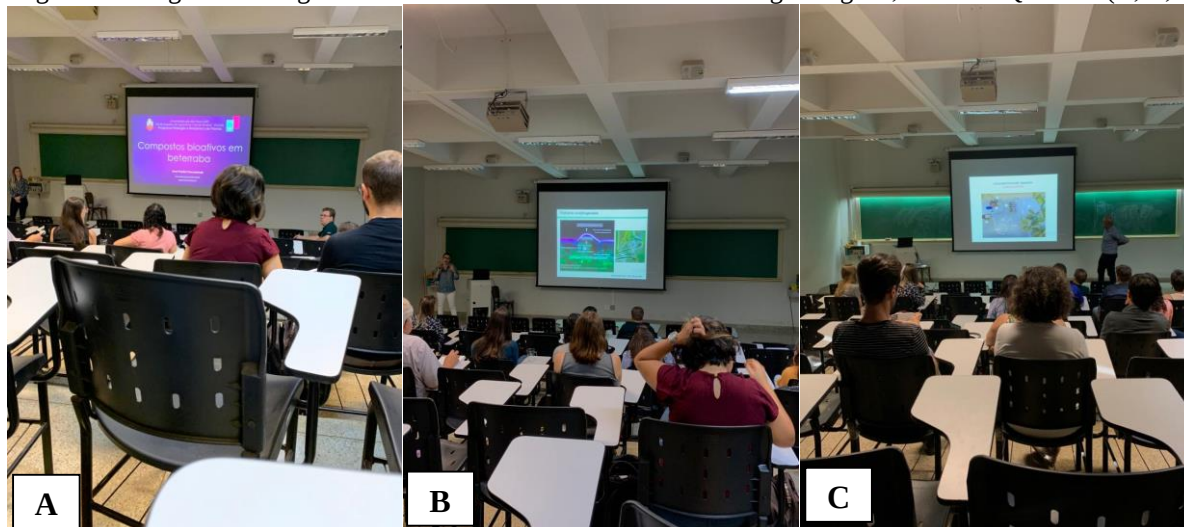
2.3.1 Dia de palestras do programa de ciências biológicas

Durante o estágio surgiu a oportunidade de acompanhar palestras que relatavam os experimentos que foram desenvolvidos pelos estudantes da pós-graduação durante o ano de 2019, e também de convidados de outras universidades. O objetivo do “Dia da Fisiologia Vegetal”, como foi intitulado, seria servir de ponte para a troca de conhecimento e informação das diferentes linhas de pesquisa entre a comunidade científica ali presente.

A dinâmica do evento se baseava na intercalação de palestras de estudantes e professores que não tinham vínculo com a universidade e que foram convidados para apresentar temas que trabalhavam, explanando propostas e resultados inovadores para a área (Figura 12). Alguns temas de palestras acompanhadas foram: Compostos bioativos em beterraba; Variação genética natural como fonte de diversidade de tricomas para improvisar a resistência a insetos em tomate;

Avanços nos estudos de relações hídricas em plantas; Aproveitamento da variação genética natural em culturas com edição de genoma.

Figura 12 - Registros de alguns seminários assistidos no Dia da Fisiologia Vegetal, na ESALQ – USP (A, B, C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

A diversidade de pesquisas realizadas e a preocupação em fazer trabalhos que gerasse impacto e inovação foi algo que se destacou. Muitos trabalhos estavam sendo finalizados e seriam enviados para revistas de grande impacto científico.

2.3.2 Curso Electrical Penetration Graph (EPG)

O EPG é um equipamento que utiliza o método de medição do sinal elétrico, que teve como objetivo primário monitorar a atividade elétrica dos insetos herbívoros quando eles estavam se alimentando das plantas. Ou seja, foi um equipamento criado com enfoque para a área da entomologia, dessa forma todas as ondas elétricas que o equipamento captura são relacionadas a fisiologia do inseto.

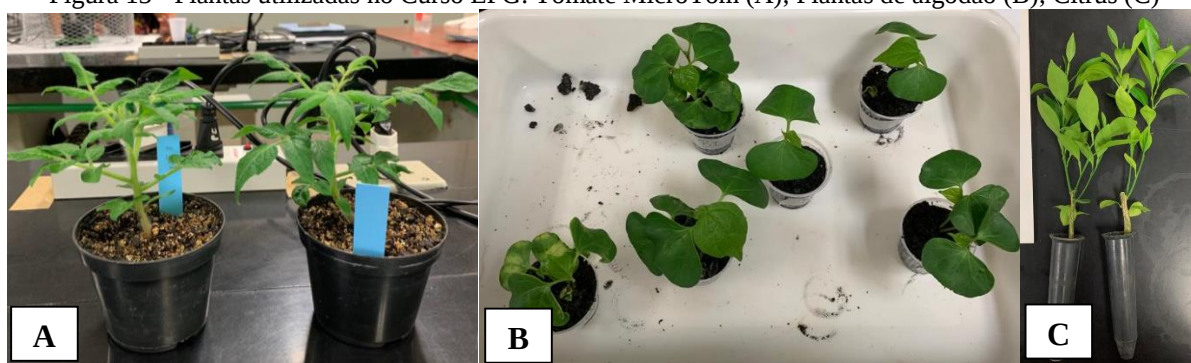
Contudo, recentemente foi verificado que esse método pode ser utilizado também como mecanismo para estudo da sinalização elétrica em plantas. O benefício do uso do EPG se detém a ele servir como um método intracelular, diferente de alguns eletrodos que se detém a atividade extracelular. A partir do momento que o inseto insere o estilete dentro do floema, passa a funcionar como um eletrodo e serve de canal para que a corrente elétrica da planta passe por ele, pelo sistema de medida e volte para a planta. Logo, através desse circuito elétrico fechado, é possível ter a medida da atividade elétrica da planta. Para a fisiologia vegetal, o objetivo de

utilizar esse equipamento é estudar a atividade elétrica das plantas usando o inseto apenas como eletrodo para isso.

Conduzido pelo criador do equipamento, Freddy Tjallingii, cientista aposentado e professor da Universidade de Wageningen, localizada na Holanda; pelo Kevin Powell, da Universidade da Nova Inglaterra, que trabalha com pesquisa agrícola de precisão, na Austrália; e pelo professor Enersto Prado Cordero, professor da universidade de Lavras, em Minas Gerais. Durante o curso, que se estendeu por 5 dias, com cerca de 40 horas de duração, os alunos da pós graduação também apresentaram suas linhas de pesquisas e eluciaram o motivo pelo qual seria importante aprender e inserir essa nova técnica em suas pesquisas futuras.

Havia uma separação temporal na dinâmica do curso. Pela manhã, ocorria a parte teórica dos assuntos, já a tarde ocorria a parte prática. Como o inseto seria utilizado como eletrodo, foram realizados testes com alguns insetos como pulgões, psilídeos, cochonilhas, moscas-branca afim de verificar qual inseto seria utilizado para o estudo da sinalização elétrica nas plantas. As culturas utilizadas foram tomate MicroTom, algodão e citrus (Figura 13). Os psilídeos, por exemplo, apresentavam maior afinidade com os citrus, já os pulgões tinham preferência pelos tomates.

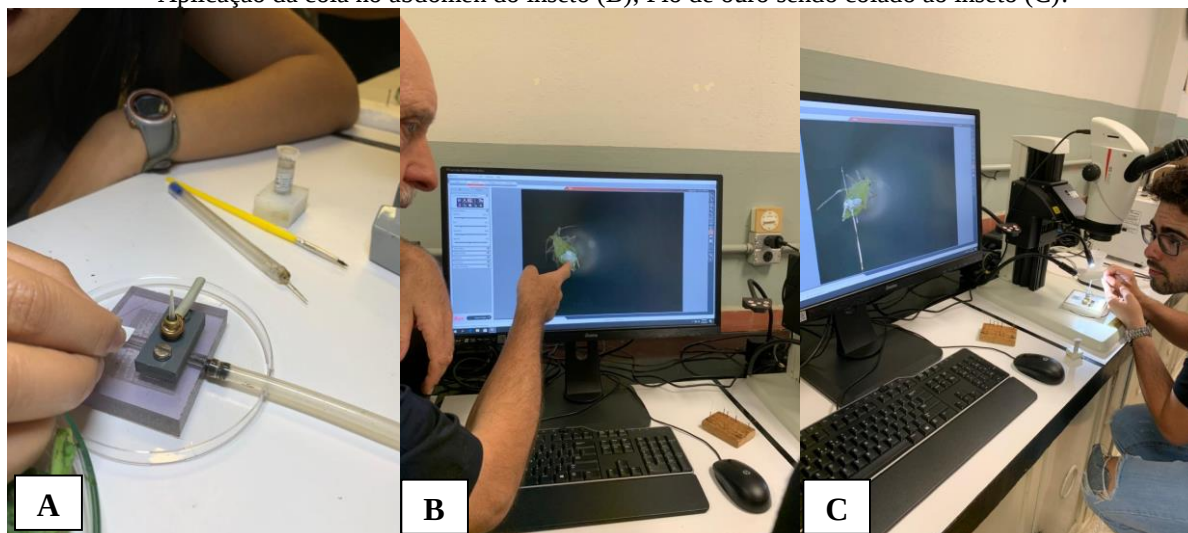
Figura 13 - Plantas utilizadas no Curso EPG: Tomate MicroTom (A); Plantas de algodão (B); Citrus (C)



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

O inseto foi colocado em um equipamento que o prendia através de uma bomba de pressão a vácuo. Esse mesmo equipamento era composto por uma lente de aumento que facilitava a visualização do inseto. Dessa forma, o inseto foi colocado no local desejado e em seguida colocava-se uma cola de prata em seu abdômen. A cola era necessária para aderir o inseto a um fio de ouro (mais fino que um fio de cabelo), com finalidade de se obter um eletrodo com a utilização do próprio inseto (Figura 14). Em seguida, esperava-se a cola secar, em torno de 40 segundos, e então a bomba de pressão era desligada.

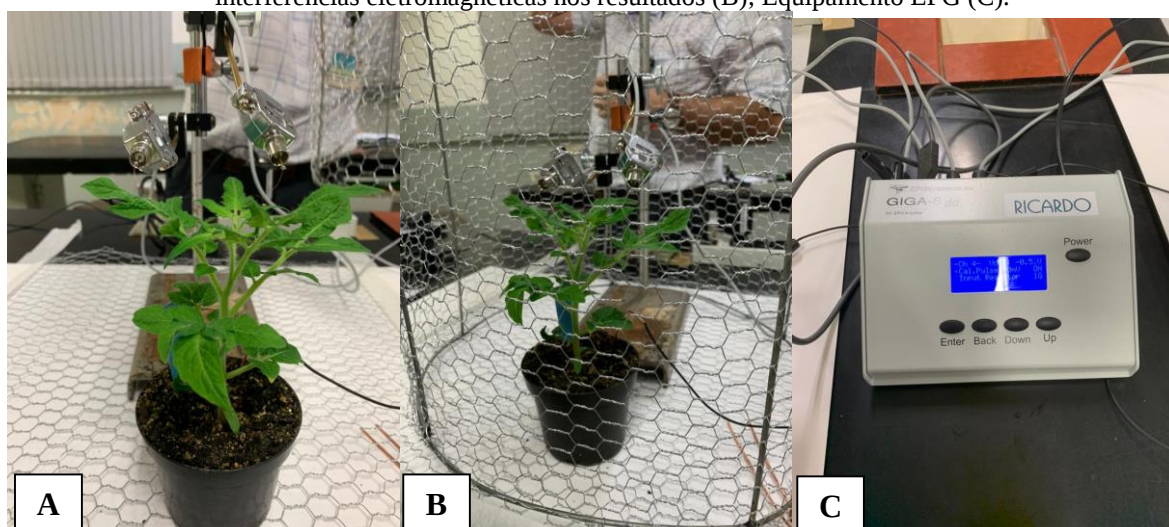
Figura 14 - Equipamento responsável por fixar o inseto através da pressão imposta por uma bomba (A); Aplicação da cola no abdômen do inseto (B); Fio de ouro sendo colado ao inseto (C).



Fonte: Arquivo pessoal

Com a realização do processo descrito anteriormente, o eletrodo já estava pronto para ter contato com alguma planta (Figura 15). Vale ressaltar que os insetos precisavam se alimentar com certa frequência, pois caso o eletrodo fosse montado e ele não fosse utilizado, o inseto não estaria apto a ser utilizado posteriormente. O ideal seria fazer o eletrodo e realocá-lo para alguma planta em, no máximo, 4 horas. Quando o inseto entrava em contato com as folhas das plantas, as ondas eletromagnéticas capturadas pelo equipamento eram visualizadas com facilidade através de um software no notebook.

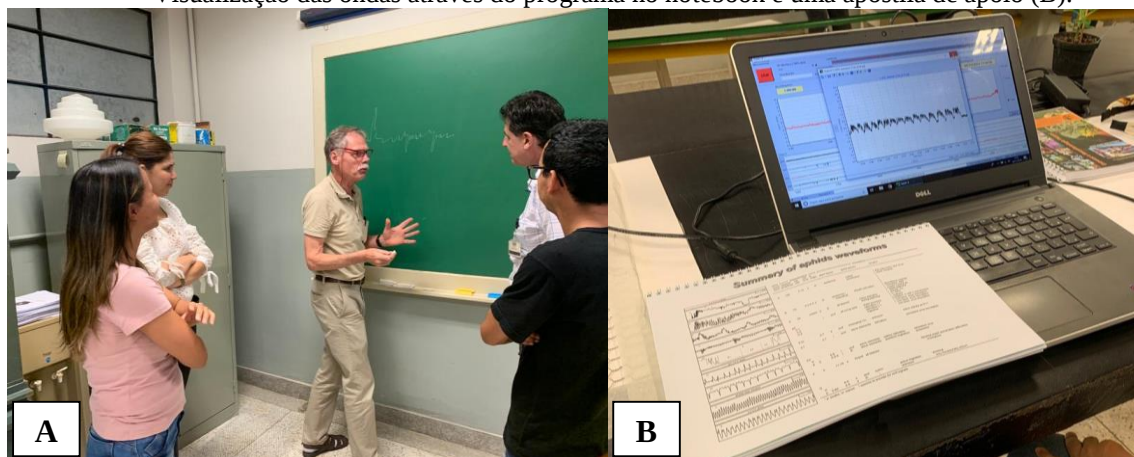
Figura 15 - Insetos colocados sobre as folhas do tomate MicroTom (A); Utilização de gaiolas para evitar interferências eletromagnéticas nos resultados (B); Equipamento EPG (C).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

Como eram dados da atividade intracelular, era possível distinguir quando o inseto estava salivando para inserir o estilete, se ele estava apenas perfurando as células, se ele tinha chegado no xilema e também se ele tinha chegado ao floema, pois as ondas diferiam de acordo com a atividade e localização do inseto na planta (Figura 16).

Figura 16 - Professor Freddy explicando como as ondas eram mostradas no EPG e como entendê-las (A); Visualização das ondas através do programa no notebook e uma apostila de apoio (B).



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

O inseto mais interessante a se trabalhar durante os testes realizados no curso foi o pulgão. Contudo, o pulgão não apresentava atividade estável nas células que perfurava, sempre trocando de região. Dessa forma, testes estão e continuarão sendo realizados no LEPSE para definir o melhor inseto para ser trabalhado com a cultura de interesse para pesquisas futuras. A figura 17 mostra os participantes do curso EPG.

Figura 17 - Grupo participante do Curso EPG na ESALQ - USP



Fonte: Arquivo pessoal, 2019

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante o período de estágio foram acompanhados e desenvolvidos experimentos envolvendo respostas de plantas à estresses ambientais bióticos e abióticos. Para os experimentos, foram utilizados diversos instrumentos fisiológicos para avaliação do metabolismo de diversas culturas (soja, tomate e girassol). Dentre os experimentos acompanhados, podem ser citados: Aplicação do biofertilizante Vórax em plantas de soja sob condições de estresse hídrico; Sinalização elétrica em tomate MicroTom; Aplicação de nanopartículas de silício em tomate MicroTom sob condições de estresse salino e Utilização de solução nutritiva na emergência de sementes de girassol. Para a realização do experimento, foi utilizado ácido salicílico para testar os efeito atenuador em plantas de soja. Além de atividades de pesquisa nos laboratórios, o estágio envolveu atividades de participação em palestras e em cursos na área de fisiologia vegetal, tais como EPG (Electrical Penetration Graph).

A vivência em um laboratório que oferece suporte para pesquisas de ponta é algo distante da realidade do cotidiano de muitas universidades. Para além dos equipamentos e da beleza presente no local, a motivação vigente no ambiente é algo que agrada e estimula o estudante.

Ter a oportunidade de acompanhar pesquisas com a sinalização elétrica, que é a principal linha de pesquisa do LEPSE, foi algo diferenciado e que gerou interesse e curiosidade desde o princípio. Contudo, uma das dificuldades encontradas durante esse período foi a falta de domínio da língua inglesa, sendo essa essencial pra quem pretende seguir a área acadêmica.

O estágio foi de extrema importância para o crescimento profissional e pessoal como conluente da graduação em agronomia, despertando o desejo da realização de um curso de pós-graduação na área de fisiologia vegetal.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, T.; MOUCO, M. A.; ALBUQUERQUE N. A. A. Reguladores de crescimento vegetal na concentração de macronutrientes em videira Itália. **Bragantia**, v. 67, n. 3, p. 553-561, 2008.
- ALVES, A. C. *et al.* Diagnose nutricional de mudas de girassol submetidas a proporções de amônio e nitrato. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 723, 2013.
- AMIN, A. B. *et al.* Crassulacean Acid Metabolism Abiotic Stress-Responsive Transcription Factors: a Potential Genetic Engineering Approach for Improving Crop Tolerance to Abiotic Stress. **Frontiers in plant science**, v. 10, 2019.
- SANTOS, D. B. *et al.* Produção e parâmetros fisiológicos do amendoim em função do estresse salino. **Idesia (Arica)**, v. 30, n. 2, p. 69-74, 2012.
- BORGES, J. P. S. **Restrição hídrica e germinação de sementes de soja tratadas com produtos fitossanitários**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Monte Carmelo, Minas Gerais, 2019.
- BRITO, M. E. B. *et al.* Comportamento fisiológico de combinações copa/porta-enxerto de citros sob estresse hídrico. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 7, p. 857-865, 2012.
- BRUN, E. J. *et al.* Avaliação nutricional de espécies nativas utilizadas na arborização do campus da Universidade Federal de Santa Maria-RS. **Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana**, v. 7, n. 1, p. 89-111, 2019.
- CAPELIN, Diogo. **Caracterização eletrofisiológica em girassol: cinética, rotas de propagação, trocas gasosas e fluorescência da clorofila**. 2016. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.
- CARVALHO, L. Taxa de Fotossíntese e Problemas. 2014. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/24212651-Dra-luisa-carvalho-determinacao-da-taxa-fotossintetica.html>>. Acesso em: 26 nov. 2019.
- COHEN, S. P.; LEACH, J. E. Abiotic and biotic stresses induce a core transcriptome response in rice. **Scientific reports**, v. 9, n. 1, p. 6273, 2019.
- COHEN, S. P. **How stress affects rice: a characterization of the rice transcriptome during single and simultaneous abiotic and biotic stresses**. 2019. Tese de Doutorado. Colorado State University, Libraries, 2019.
- CORTLEVEN, A. *et al.* Cytokinin action in response to abiotic and biotic stresses in plants. **Plant, cell & environment**, v. 42, n. 3, p. 998-1018, 2019.
- SILVA, H. A. P. *et al.* Expressão gênica induzida por estresses abióticos em nódulos de feijão-caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 6, p. 797-807, 2012.

DANELUZZI, G. *et al.* **Curva fotossintética de resposta ao co₂ (curva a-ci): considerações teóricas e passo a passo para execução.** In: GOMES, E. R.; ZUNIGA, E. A.; MACHUCA, L. M. R. O estresse das plantas cultivadas & protocolos de análises. Botucatu – SP: Fepaf, 2018. p. 103-110.

DANELUZZI, Gabriel Silva. **Sinalização elétrica de longa distância pós-irrigação em plantas de girassol sob déficit hídrico.** 2016. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) – Departamento de Ciências Biológicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

DARIO, G. J. A. *et al.* Influência do uso de fitorregulador no crescimento da soja. **Revista da FZVA**, v. 12, n. 1, 2005.

LIMA, M. A. *et al.* Aplicação de silício em milho e feijão-de-corda sob estresse salino. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 2, p. 398-403, 2011.

CAMPOS, M. F.; ONO, E. O.; RODRIGUES, J. D. Desenvolvimento da parte aérea de plantas de soja em função de reguladores vegetais. **Ceres**, v. 56, n. 1, 2015.

FREITAS, R. M. O. *et al.* Produção e qualidade de sementes de feijão-caupi em função de sistemas de plantio e estresse hídrico. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 43, n. 4, p. 370-376, 2013.

QUEIROGA, R. C. F. *et al.* Germinação e crescimento inicial de híbridos de meloeiro em função da salinidade. **Hortic. bras.**, v. 24, n. 3, 2006.

SOUZA, M. C. M. R. *et al.* Saline water on the leaf mineral composition of noni under organic fertilization. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 23, n. 9, p. 687-693, 2019.

DIAS, J. P. T. **Respostas e adaptação a diferentes estresses abióticos.** In: DIAS, J. P. T. (org.). *Ecofisiologia de culturas agrícolas.* Belo Horizonte - MG: Editora UEMG, 2018, v. 1, p. 19-31.

DOMINGUES, E. P.; MAGALHÃES, A. S.; RUIZ, R. M. Cenários de mudanças climáticas e agricultura no Brasil: impactos econômicos na região Nordeste. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 42, n. 2, p. 229-246, 2011.

EL-SHAZOLY, R. M.; METWALLY, A. A.; HAMADA, A. M. Salicylic acid or thiamin increases tolerance to boron toxicity stress in wheat. **Journal of Plant Nutrition**, v. 42, n. 7, p. 702-722, 2019.

EPSTEIN, Emanuel; BLOOM, Arnold J. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives.** 2. ed. Sunderland: Sinauer, 2005.

FAQUIN, V. **Nutrição mineral de plantas.** Lavras: UFLA/ FAEPE, 2005.

FERNANDES, C. S. *et al.* **Formas de nitrogênio como atenuadores do estresse salino em plantas de abobrinha.** 2019. Dissertação (Mestrado em Manejo de Solo e Água) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, Rio Grande do Norte, 2019.

GAVA, R. *et al.* O estresse hídrico em diferentes fases da cultura da soja. **Revista brasileira de agricultura irrigada-rbai**, v. 9, n. 6, p. 349-359, 2015.

GOMES, K. R. *et al.* Respostas de crescimento e fisiologia do milho submetido a estresse salino com diferentes espaçamentos de cultivo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental-Agriambi**, v. 15, n. 4, 2011.

GONDIM, T. M. S.; CAVALCANTE, L. F.; BELTRAO, N. E. M. Aquecimento global: salinidade e consequências no comportamento vegetal. **Embrapa Algodão-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2010.

GUEDES, R. S. *et al.* Germinação e vigor de sementes de Apeiba tibourbou submetidas ao estresse hídrico e diferentes temperaturas. **Ciência Florestal**, v. 23, n. 1, p. 45-53, 2013.

HE, C. Y.; ZHANG, J. S.; CHEN, S. Y. A soybean gene encoding a proline-rich protein is regulated by salicylic acid, an endogenous circadian rhythm and by various stresses. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, n. 6-7, p. 1125-1131, 2002.

HUBER, A. E.; BAUERLE, T. L. Long distance plant signaling pathways in response to multiple stressors: the gap in knowledge. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 67, n. 7, p. 2063–2079, 2016.

IPCC. Proceedings of the 5th assessment report, WGII, climate change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2014.

MACEDO, F. C. O.; DZIUBIŃSKA, H.; TRĘBACZ, K.; OLIVEIRA, R. F.; MORAL, R. A. Action potentials in abscisic acid-deficient tomato mutant generated spontaneously and evoked by electrical stimulation. **Acta Physiologiae Plantarum**, Heidelberg, v. 37, n. 10, p. 1-9, 2015.

MAGALHÃES, P. C.; DURÃES, F. O. M. Fisiologia da produção de milho. **Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2006.

MARTINEZ, C. A. *et al.* Respostas das plantas ao incremento atmosférico de dióxido de carbono e da temperatura. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 8, n. 6, p. 635-650, 2015.

MELO, J. S. F. **Crescimento, produção, trocas gasosas e qualidade de Beta vulgaris L. com águas salinas e silício via foliar e solo.** 2019. Tese (Doutorado em Agricultura Tropical) - Universidade Federal da Paraíba, Areias, Paraíba, 2019.

MENDES, C. R. L. G. **Efeito de bioestimulantes no desenvolvimento inicial de soja sob deficiência hídrica.** 2019. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp, Botucatu, São Paulo, 2019.

MENEGALE, M. L. C.; CASTRO, G. S. A.; MANCUSO, M. A. C. Silício: interação com o sistema solo-planta. **Embrapa Amapá-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2015.

MIRANDA, J. R. P. *et al.* Silício e cloreto de sódio na nutrição mineral e produção de matéria seca de plantas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.). **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 26, n. 4, p. 957-965, 2002.

MOURA, J. C. M. S. *et al.* Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. **Journal of integrative plant biology**, v. 52, n. 4, p. 360-376, 2010.

NAIKA, S. *et al.* A Cultura do tomate. **Wageningen: Fundação Agromisa e CTA**, v. 104, p. 104, 2006.

NOGUEIRA, F. T. S. Identificação e caracterização de genes expressos em resposta ao estresse por baixa temperatura em cana-de-açúcar. 2004. Tese (Doutorado) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2004.

NUNES, A. M. C. *et al.* SILÍCIO NA TOLERÂNCIA AO ESTRESSE HÍDRICO EM TOMATEIRO. **Revista Científica Rural**, v. 21, n. 2, p. 239-258, 2019.

PANDEY, P. *et al.* Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 537, 2017.

PARK, E. J. *et al.* MicroTom-A model plant system to study bacterial wilt by *Ralstonia solanacearum*. **The Plant Pathology Journal**, v. 23, n. 4, p. 239-244, 2007.

SCOTT, J. W. Micro-Tom. A miniature dwarf tomato. Agricultural Experiment Station, Institute of Food and Agricultural Sciences. **University of Florida Circular**, v. 370, p. 1-6, 1989.

SHOLI, N. J. Y. *et al.* Efeito do estresse salino na germinação de sementes, crescimento de plantas, fotossíntese e acúmulo de íons em quatro cultivares de tomate. **Sou. J. Plant. Physiol**, v. 7, p. 269-275, 2012.

SUZUKI, N. *et al.* Abiotic and biotic stress combinations. **New Phytologist**, v. 203, n. 1, p. 32-43, 2014.

TEXEIRA, L. R. *et al.* Avaliação de cultivares de soja quanto à tolerância ao estresse hídrico em substrato contendo polietileno glicol. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 30, n. 2, p. 217-223, 2008.

VIÇOSI, K. A. *et al.* Estresse hídrico simulado em genótipos de feijão, milho e soja. **JOURNAL OF NEOTROPICAL AGRICULTURE**, v. 4, n. 5, p. 36-42, 2017.

WANI, A. B. *et al.* Salicylic acid to decrease plant stress. **Environmental Chemistry Letters**, v. 15, n. 1, p. 101-123, 2017.

WILLADINO, L.; CAMARA, T. R. Tolerância das plantas à salinidade: aspectos fisiológicos e bioquímicos. **Enciclopédia biosfera**, v. 6, n. 11, p. 1-23, 2010.

ZHU, J. K. Abiotic stress signaling and responses in plants. **Cell**, v. 167, n. 2, p. 313-324, 2016.

ZOBIOLE, L. H. S. *et al.* Marcha de absorção de macronutrientes na cultura do girassol. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 2, p. 425-433, 2010.