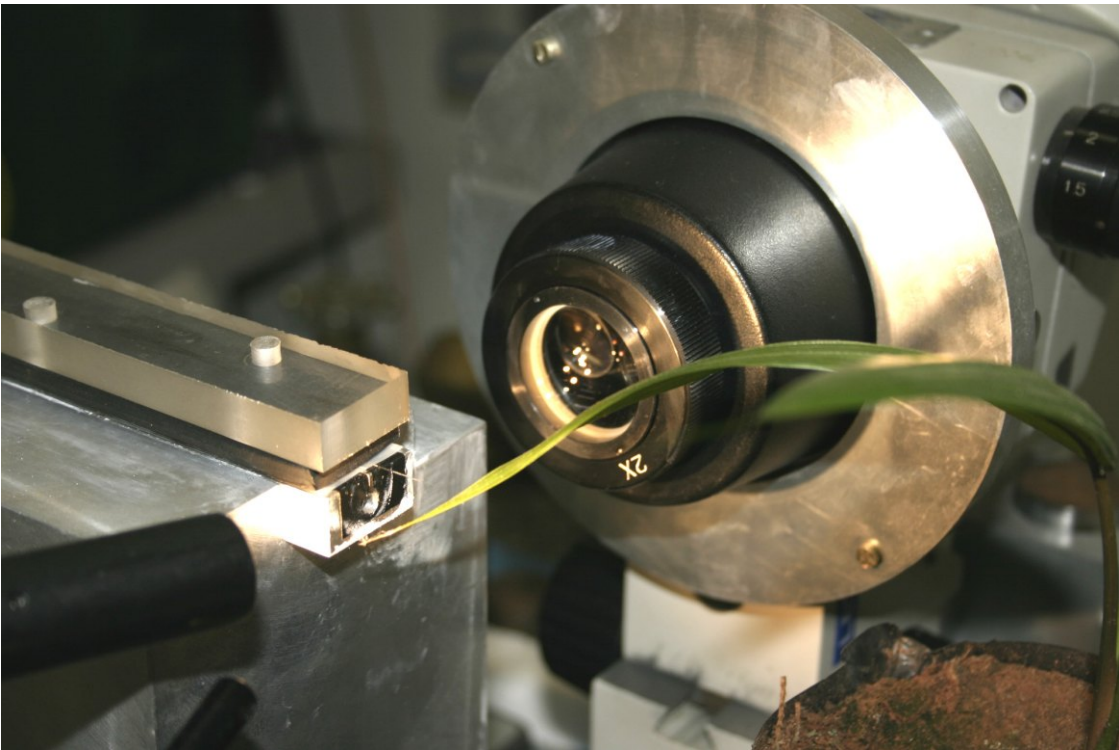


**Modelagem e Automação de
uma Sonda Termoelástica para
Medidas de Parâmetros Relativos
a Fisiologia Vegetal**



ISSN 1678-0434

Novembro, 2006

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Instrumentação Agropecuária
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 14

Modelagem e Automação de uma Sonda Termoelástica para Medidas de Parâmetros Relativos a Fisiologia Vegetal

Victor Bertucci Neto
José Dalton Cruz Pessoa
Adonai Gimenes Calbo
Paulo Estevão Cruvinel

Embrapa Instrumentação Agropecuária
São Carlos, SP
2006

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Rua XV de Novembro, 1452

Caixa Postal 741

CEP 13560-970 - São Carlos-SP

Fone: (16) 3374 2477

Fax: (16) 3372 5958

www.cnpdia.embrapa.br

E-mail: sac@cnpdia.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Dr. Carlos Manoel Pedro Vaz

Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,

Dr. João de Mendonça Naime,

Dr. Washington Luiz de Barros Melo

Valéria de Fátima Cardoso

Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Revisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto

Normalização bibliográfica:

Tratamento de ilustrações: Valentim Monzane

Foto da capa: Marcelo Eduardo Alves

Editoração eletrônica: Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2006): tiragem 300

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Instrumentação Agropecuária

B552m Bertucci Neto, Victor

Modelagem e automação de uma sonda termoelástica para medidas de parâmetros relativos a fisiologia vegetal. / Victor Bertucci neto, José Dalton Cruz Pessoa, Adonai Gimenes Calbo, Paulo Estevão Cruvinel. - São Carlos: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2006.

27 p. - (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, ISSN 1678-0434; 14)

1. Sonda termoelástica. 2. Fisiologia vegetal. 3. Medidas de parâmetros. 4. Pressão. 5. Célula vegetal. I. Pessoa, José Dalton Cruz. II. Calbo, Adonai Gimenes, III. Cruvinel, Paulo Estevão. IV. Título. V. Série.

CDD 21 ED 571.2

© Embrapa 2006

Sumário

| | |
|--|----|
| Resumo | 7 |
| Abstract | 9 |
| Introdução | 11 |
| A sonda de pressão para células vegetais | 12 |
| A sonda termoelástica | 15 |
| Sistema em malha fechada | 18 |
| Modelo experimental da sonda termoelástica | 19 |
| Sonda termoelástica em malha fechada | 21 |
| Medida automática de pressão | 23 |
| Conclusões | 25 |
| Referências | 26 |

Modelagem e Automação de uma Sonda Termoelástica para Medidas de Parâmetros Relativos a Fisiologia Vegetal

Victor Bertucci Neto¹
José Dalton Cruz Pessoa²
Adonai Gimenes Calbo³
Paulo Estevão Cruvinel⁴

Resumo

A água realiza diversos papéis, físico, estrutural, e metabólico em plantas superiores. Entretanto, a maior parte da água tomada pelas plantas através do solo é transpirada para a atmosfera. As plantas reciclam mais da metade do volume de chuva anual na Terra. A força que direciona a água captada pelo solo para cima é dada pela diferença de potencial químico entre o solo e a atmosfera. No entanto, os mecanismos que ocorrem quando a água sobe a planta contra a gravidade ainda são objeto de discussão. Durante as últimas três décadas tem sido usada uma técnica de sonda de pressão para medir relações de água com plantas superiores. Esta técnica fornece acesso direto a muitos parâmetros biofísicos que controlam as respostas de curto e longo período em relação à água e a deficiência de sal no ambiente. Basicamente é usado um capilar preenchido com óleo e após a punção da célula vegetal o movimento do menisco no capilar é medido e controlado. Alguns esforços foram feitos para automatizar a medida. Não foi observado na literatura nenhum artigo sobre uma descrição mais detalhada sobre este instrumento. Seguindo este desenvolvimento, neste trabalho é apresentada uma nova técnica, sonda termoelástica, baseada na compensação térmica da pressão. Com esta nova técnica podem ser medidos valores de pressão negativa abaixo daqueles obtidos com a sonda de pressão. Alguns resultados experimentais sobre a sonda termoelástica são apresentados e discutidos, incluindo um sistema que controla a posição do menisco no capilar e mede a pressão aplicada na ponta do capilar.

Palavras-Chave: *sonda, automação, pressão, célula, vegetal, compensação, térmica*

¹Eng. Eletricista, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C. P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP, e-mail: victor@cnpdia.embrapa.br

²Físico, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C. P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP

³Eng. Agrônomo, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C. P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP

⁴Eng. Eletricista, Dr., Embrapa Instrumentação Agropecuária, C. P. 741, CEP 13560-970, São Carlos, SP

Modeling and Automation of a Thermoelastic Probe for Measurement of Parameters Related to Vegetal Physiology

Victor Bertucci Neto
José Dalton Cruz Pessoa
Adonai Gimenes Calbo
Paulo Estevão Cruvinel

Abstract

Water plays diverse physical, structural and metabolic roles in higher plants, but most of the water taken up by plants from the soil is transpired to the atmosphere. Plants recycle more than half of the annual rainfall on land. The overall driving force for water lifting in plants is ultimately the chemical potential difference of water between soil and atmosphere. However, the mechanisms by which water rise against gravity occurs are still controversially discussed. During the last three decades has been used a pressure probe technique to measure water relations of higher plants. This technique provides direct access to many biophysical parameters which control the short and long-term responses of plant cells to water and salt stress in the environment. Basically, it is used a capillary filled with oil and after the puncture of the plant cell the movement of the meniscus is measured and controlled. Some attempts were made in order to perform an automatic measurement. It was not observed in the literature a detailed description about this instrument. Following this development, in this work is presented a new technique, a thermoelastic probe, based on thermal compensation of the pressure. By means of this new technique it can be measured negative pressures bellow of that it was obtained with pressure probe. Some experimental results on the thermoelastic probe are presented and discussed, including a system that controls the meniscus position of the probe and measures the applied pressure at the tip of the capillary.

Keywords: *automation, pressure, cell, plant, compensation, thermal*

Introdução

A água realiza diversos papéis, físico, estrutural, e metabólico em plantas superiores. Entretanto, a maior parte da água tomada pelas plantas através do solo é transpirada para a atmosfera. As plantas reciclam mais da metade do volume de chuva anual na Terra. A força que direciona a água captada pelo solo para cima é dada pela diferença de potencial químico entre o solo e a atmosfera. No entanto, os mecanismos que ocorrem quando a água sobe a planta contra a gravidade ainda são objetos de discussão (ZIMMERMANN et al. 2002).

O sistema de transporte que direciona a ascensão da seiva a partir do solo até às folhas é extraordinário e controverso. Como seus correspondentes animais, grandes plantas multicelulares necessitam suprir todas suas células com água e combustível. Para os animais a solução foi a evolução de um sistema vascular com uma bomba para circular plasma de sangue isotônico que previne a ruptura da célula devido à entrada de água por osmose. As plantas tomaram um caminho diferente para resolver o problema da regulação de osmose, enclausurando cada célula em um rígido esqueleto externo, a parede da célula. Mas esta rigidez trouxe a ausência de mobilidade para todo o organismo, incluindo os tecidos e células. Os tecidos das plantas eram muito rígidos para desenvolver um mecanismo de bombeamento para transporte à longa distância. Assim, qual a força responsável pela ascensão da água nas plantas? (TYRRE, 2003).

Nenhum tópico em fisiologia de planta tem uma história mais longa, ou mais volumosa, do que a elevação antigravitacional de água em plantas superiores. Este fenômeno tem desafiado cientistas durante séculos. Mas, apesar disto, não há nenhuma conclusão exata. A literatura e os livros textos de botânica publicados nas últimas quatro décadas dão uma impressão superficial de que o problema da sucção de água está resolvido. A convicção é que a água seja sugada através do conduto do xilema por gradientes de tensão produzidos pela perda de água evaporada. Esta hipótese é chamada de Teoria de Coesão-Tensão e foi introduzida entre 1894 e 1895 (ZIMMERMANN et al. 2004).

Há cerca de três décadas, foi introduzida uma técnica de medida direta de pressão de turgescência em plantas, chamada de sonda de pressão celular, a qual tem sido padrão na área de Fisiologia Vegetal. Posteriormente, esta técnica foi usada, com algumas adaptações, para medida direta da sucção que ocorre no xilema da planta, sendo comparada com a técnica existente até então, a de medida indireta com a bomba de pressão de Scholander-Hammel (BALLING e ZIMMERMANN, 1990). Foi mostrado que as pressões de sucção medidas diretamente no xilema de uma planta que transpira, intacta, eram, menores do que aquelas medidas feitas indiretamente com a bomba. Mais que isto, foi observado que o efeito da transpiração na planta não se relacionava com o valor da pressão no xilema. Estes resultados levaram à conclusão de que os mecanismos de ascensão de água em plantas considerados pela Teoria da Coesão-Tensão não eram corretos, ou pelo menos, não eram os mecanismos dominantes.

Por sua vez, Steudle (2001 e 2002) mostrou que medidas diretas cuidadosamente feitas com a sonda de pressão, comparativas às medidas feitas com a bomba de pressão, são equivalentes, ou seja, estão de acordo com a teoria vigente, ao menos na faixa de pressão de sucção até cerca de 1 MPa, sendo este o valor máximo obtido pela sonda de pressão antes de ocorrer cavitações no capilar. Estas discussões fazem parte de um acalorado debate público e têm servido principalmente para aprimorar as investigações sobre o transporte de água em plantas, no que se refere à capacidade das plantas de manter altas tensões no xilema durante longos períodos, além de recarregar os vasos onde ocorreram cavitações (STEUDLE, 2002).

Calbo e Pessoa (1999) apresentaram uma nova técnica de medida de pressão celular, chamada de sonda termoelástica, sendo usado como compensação da medida de pressão a temperatura, em vez da compressão mecânica então usada na sonda de pressão. Com esta nova técnica foi possível obter, de forma manual, medidas de sucção acima de 1 MPa.

Reconhecendo a importância da relação existente entre água e planta, apresenta-se no trabalho desta tese uma contribuição para o aprimoramento de medidas de parâmetros fundamentais para a área de Fisiologia Vegetal. Seguindo um novo caminho apontado pela técnica chamada de sonda termoelástica, são apresentadas, neste trabalho, respostas às questões referentes ao comportamento dinâmico do instrumento, visando à automação da medida.

A técnica da sonda termoelástica foi inicialmente introduzida para fazer medidas manuais. Entretanto, a exemplo do que é descrito na literatura sobre a sonda de pressão, a sonda termoelástica foi concebida também de forma a efetuar no futuro medidas automáticas. Deparou-se então com uma questão que condiz com a automação de um sistema: é possível desenvolver um modelo que possa ser estudado, simulado, e validado experimentalmente? Esta questão é o ponto inicial que levou ao desenvolvimento do trabalho aqui apresentado.

A Sonda de Pressão para Células Vegetais

Pressão de turgescência é uma variável fisiológica de importância fundamental, pois, sendo componente do potencial de água, ela indica o conteúdo de água na planta, desde que está relacionada com o volume de água nas células. É também uma medida do conteúdo de água nas células desde de que está diretamente relacionada com o volume da célula através das propriedades elásticas das paredes das células. No caso de células maduras e túrgidas de plantas superiores, as variações do potencial de água são fortemente refletidas nas variações da turgescência, garantindo alta rigidez nas paredes celulares (PRESSURE..., 1993). Além disto, a turgescência é a força que dirige o crescimento das plantas.

Por um longo tempo a medida direta da turgescência nas células de plantas não foi possível, havendo apenas métodos indiretos que consideravam regiões da planta como se fossem homogêneas, obtendo-se assim valores médios. Esses métodos levaram a resultados muitas vezes com algumas ordens de magnitude diferentes entre um método indireto e outro (HÜSKEN et al., 1978).

A técnica de sonda de pressão foi originalmente introduzida por Zimmerman et al., (1969) para medir turgescência (pressão intracelular) e relações de água em plantas vegetais. O instrumento era basicamente um manômetro adaptado para o uso em algas com células gigantes. Consistia de um capilar com diâmetro na ponta entre 100 μ m e 200 μ m, a qual era usada para perfurar a célula. O capilar era conectado a uma câmara e ambos eram preenchidos com óleo de silicone. O volume, e por sua vez a pressão, podiam ser regulados por meio de um eixo que distorcia uma membrana polimérica na câmara, de forma a manter o menisco formado pelo óleo sempre na ponta do capilar. Portanto, o princípio de medida era o de balancear a turgescência da célula em oposição à pressão do óleo. Na parte interna da câmara, um sensor era usado para medir a pressão no óleo.

A primeira versão da sonda de pressão foi usada apenas para monitorar a turgescência em células de plantas (algas gigantes), o que foi possível durante períodos de várias horas. Também foi possível seguir mudanças na pressão quando se variava a concentração da solução no meio. Entretanto, a sonda possuía muitas desvantagens relacionadas com o volume interno, muito grande, causando pouca compressibilidade, sendo assim impraticável para medidas em células de plantas superiores. O passo seguinte foi reduzir as dimensões da câmara e do capilar, usando um eixo móvel, como um pistão, na câmara, para contrabalançar a pressão. O eixo foi adaptado a um micrômetro e assim foi possível induzir variações de volume nas células, ΔV , e medir as correspondentes variações de turgescência, ΔP (STEUDLE e ZIMMERMANN, 1971), permitindo a avaliação do coeficiente elástico, B , no seguinte formato:

$$B = V \frac{dP}{dV} \cong V \frac{\Delta P}{\Delta V} \quad (1)$$

O sistema foi aplicável para a medida da taxa de transferência de água através do registro do tempo de relaxamento, e para a medida da condutividade hidráulica de células com volume na ordem de microlitros. Entretanto, com exceção de células gigantes de plantas superiores, este segundo tipo de sonda ainda não foi possível de ser aplicado em plantas superiores devido a sua alta compressibilidade. Apesar das vedações de borracha, sensor de pressão e do material plástico da câmara, a compressibilidade da sonda era fortemente identificada com a do óleo. Considerando que V_{in} é o volume interno da sonda, a compressibilidade do óleo é dada por:

$$c_{ol} = - \frac{1}{V_{in}} \frac{dV_{in}}{dP} \quad (2)$$

E assim, a variação total de volume, V_{total} , por variação da turgescência do sistema (célula mais óleo), considerando V o volume da célula, é dada por:

$$\frac{dV_{total}}{dP} = \frac{V}{B} - c_{ol}V_{in} \quad (3)$$

Mesmo com a relativamente baixa compressibilidade do óleo, o segundo termo do lado direito da equação (3) ainda dominava as variações do volume induzidas pelo movimento do eixo, pois V_{in} era muito maior do que o volume das células. Em outras palavras, o sistema de medida não era suficientemente rígido comparado com o da célula. Para a construção de uma sonda de pressão é necessário que:

$$\frac{V}{B} \gg c_{ol}V_{in} \quad , \quad \text{ou} \quad \frac{V_{in}}{V} \ll (c_{ol} B)^{-1} \quad (4)$$

No caso de uma típica célula de planta superior as magnitudes são da ordem de 1 MPa para B , e 100 picolitros de volume, e no caso do óleo a compressibilidade é da ordem de 0,001 MPa. Assim, o volume interno da sonda deveria ser $\ll 100$ nanolitros. Entretanto, no caso da segunda versão da sonda o volume era da ordem de unidade de microlitro.

O critério apontado na equação (4) foi usado para o desenvolvimento da terceira versão da sonda de pressão, apresentada por Hüsken et al. (1978). Além do volume da câmara, o volume da sonda foi também reduzido em várias ordens de magnitude. Desta maneira, a posição do menisco, formado na ponta do capilar, foi usada como referência, ou seja, V_{in} na equação (4) se tornou idêntico ao pequeno volume de água, ou seiva da célula, na ponta do capilar. Com este dispositivo foi possível medir e monitorar diretamente, pela primeira vez, as variações da pressão, do volume, e do fluxo de água, em células com diâmetros de 50 μm , ou menos. A idéia foi manter a fronteira entre o óleo no capilar, e a seiva da célula, na ponta do capilar. A fronteira entre ambos era ajustada e regulada por um mecanismo de realimentação. Um fio de prata foi instalado na parte interna do capilar como um eletrodo, e um outro, usado como referência, foi instalado na solução com banho que recobria o tecido celular. Uma diferença de potencial entre 20 mV e 50 mV foi aplicada entre os eletrodos para que fosse medida a resistência elétrica do circuito. Nos resultados experimentais foi verificado que o valor da resistência elétrica dependia da posição do fio de prata interno, ou seja, quando ele estava recoberto com óleo, a resistência era alta (entre 50 M Ω e 250 M Ω), caindo sensivelmente quando recoberto com água, ou com a seiva da célula. Portanto, pôde-se deduzir a posição do menisco para obter um sinal de realimentação. As variações na resistência elétrica eram convertidas em sinal de controle para acionar um sistema com motor e engrenagens, que por sua vez acionava um êmbolo na câmara de pressão. Um sensor foi usado na câmara para medir o comportamento da pressão.

Apesar do sistema ter permitido a medida de forma manual, a forma automática era preferível para evitar vibrações indesejáveis, que poderiam provocar vazamento do conteúdo celular. Entretanto, o modo usado para regular a posição do menisco na ponta do capilar era trabalhoso em demasia, sendo abandonado. Os experimentos eram realizados, em geral, no modo manual.

A Sonda Termolástica

Pessoa e Calbo (1997) apresentaram uma alternativa para a compensação da pressão no capilar baseada na variação da temperatura do fluido. Neste caso não seriam mais necessários usar um êmbolo mecânico com redução de velocidade, nem um motor para acionar o êmbolo, e nem um sensor de pressão. A idéia foi considerar apenas um tubo capilar preenchido com óleo, sem a necessidade de ser acoplado a uma câmara, e encobri-lo com uma resistência elétrica ligada a uma alimentação com corrente contínua. O capilar foi imerso em um banho líquido com temperatura abaixo da ambiente, e quando a resistência era desligada a temperatura voltava ao estado inicial. A disposição dos elementos do sistema é mostrada na Fig. 1. Na Fig. 2 é mostrado o detalhe da montagem da resistência de aquecimento do capilar.

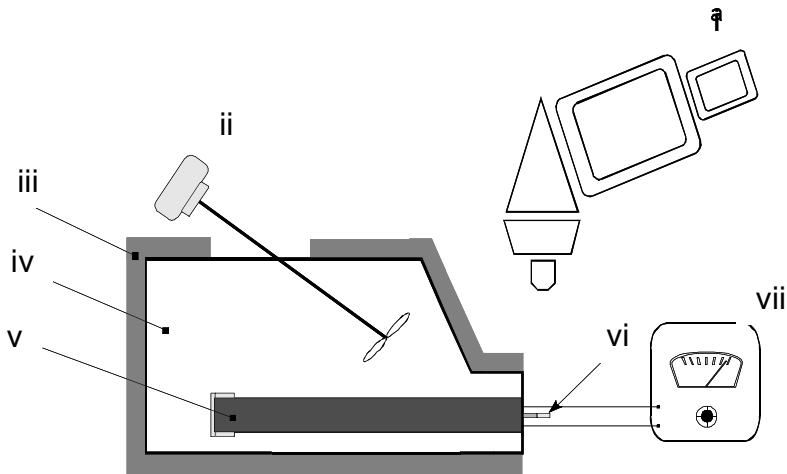


Fig. 1. Representação do sistema com a sonda termolástica. (a) Microscópio. (b) agitador. (c) Recipiente com vedação térmica. (d) água com gelo. (e) Conjunto com resistência elétrica e tubo capilar. (f) Tubo capilar com fluido. (g) Fonte de alimentação CC.

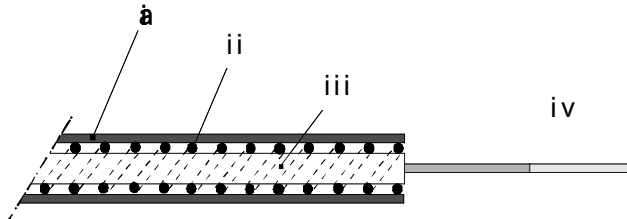


Fig. 2. Detalhe da montagem para aquecimento do tubo capilar. (a) camada impermeável. (b) Fio de cobre enrolado no tubo de aço. (c) tubo de aço. (d) tubo capilar com fluido.

Os fundamentos teóricos nos quais se baseia esta sonda mostram a possibilidade de medir o coeficiente de expansão térmica, α , além da compressibilidade de amostras líquidas, c . Temse que a variação relativa de volume de um fluido mantido dentro de um recipiente rígido com volume V , a uma temperatura constante T , após o incremento de pressão dP , é dada por:

$$\frac{dV}{V} = -c dP \quad (5)$$

Por sua vez, a variação de volume causada por um incremento de temperatura dT , para o mesmo fluido contido no recipiente rígido tem a seguinte expressão:

$$\frac{dV}{V} = \alpha dT \quad (6)$$

A variação volumétrica total pode, portanto, ser expressa como:

$$\frac{dV}{V} = \alpha dT - c dP \quad (7)$$

No caso particular em que o fluido é mantido a volume constante, ou seja, $(dV/V) = 0$, e não ocorre cavitação, as variações de temperatura são convertidas em variações de pressão, ou seja, a equação (7) resulta em:

$$dP = \frac{\alpha}{c} dT \quad (8)$$

Pessoa e Calbo (1997) também chamaram atenção para o comportamento linear entre a temperatura do fluido e a potência elétrica aplicada pela fonte de alimentação de corrente contínua, e da mesma maneira com a pressão aplicada na ponta do capilar, confirmando a equação (8). Os efeitos da temperatura externa na ponta exposta do capilar mostraram-se desprezíveis. É interessante observar que neste trabalho não há qualquer referência a medidas de pressão em células vegetais, mas a idéia estava lá.

Concomitantemente Bertucci-Neto et al. (1998), seguindo a nova idéia de sonda termolástica, apresentaram um trabalho visando à automação deste instrumento, com a proposta de um modelo matemático. O modelo proposto considera o capilar com fluido como um termômetro de vidro que contrabalança a pressão aplicada na ponta com um aumento de temperatura e , por conseguinte, com aumento da pressão interna, mantendo o menisco na mesma posição. A conservação de energia sobre um tempo infinitesimal dt , assumindo que não há perdas de calor, resulta em:

$$UA_w(T_h - T_f)dt = V_0 \rho C dT_f \quad (9)$$

sendo T_h a temperatura do aquecedor, T_f a temperatura do fluido, U o coeficiente global de transferência de calor, ρ a densidade do fluido, C o calor específico, e $V_0 = A \cdot l_0$. A constante l_0 é o volume inicial do fluido, sendo A , a área seccional do capilar. A constante A_w é a área da parede do capilar em contato

com o fluido. O deslocamento y do menisco a partir do ponto considerado como referência é dado por:

$$y = \alpha l_0 T_f \quad (10)$$

Diferenciando T_f em relação ao tempo na última equação, e substituindo na equação (9) obtém-se:

$$\tau \frac{dy}{dt} + y = K \cdot T_h \quad (11)$$

sendo a constante de tempo do sistema de primeira ordem, τ , dada por:

$$\tau = V_0 \rho C / UA_w \quad (12)$$

e o ganho do sistema, K , dado por:

$$K = \alpha l_0 \quad (13)$$

As relações entre T_h e P com a potência elétrica aplicada, P_{ot} , são lineares, com constantes K_1 , e K_2 , respectivamente, ou seja, são representados como:

$$T_h = K_1 \cdot P_{ot} \quad (14)$$

$$P = K_2 \cdot P_{ot} \quad (15)$$

Tem-se, portanto, que a relação entre a temperatura do aquecedor e a pressão aplicada é dada por:

$$T_h = K_3 \cdot P \quad (16)$$

sendo $K_3 = K_1 / K_2$. As equações que regem o sistema podem ser representadas pelas equações (11), (14), e (16).

Na Fig. 3 vê-se o diagrama em blocos do sistema proposto.

A idéia é manter a posição do menisco, $Y(s)$, em metros, sempre na origem R_{of} considerada. Quando houver um sinal de pressão $P(s)$ agindo como distúrbio, o sistema deve compensar este sinal através da variação do sinal de saída do controlador $G_c(s)$, em watt. A potência elétrica aplicada no aquecedor do capilar resulta em calor, devendo variar a posição do menisco para que este retorne à origem considerada. Portanto, conhecendo a variação da potência aplicada para que o menisco retorne à origem, também se conhece a pressão aplicada na extremidade do capilar. O bloco $H(s)$ representa o sensor de posição do menisco, cuja saída é realimentada para o controlador.

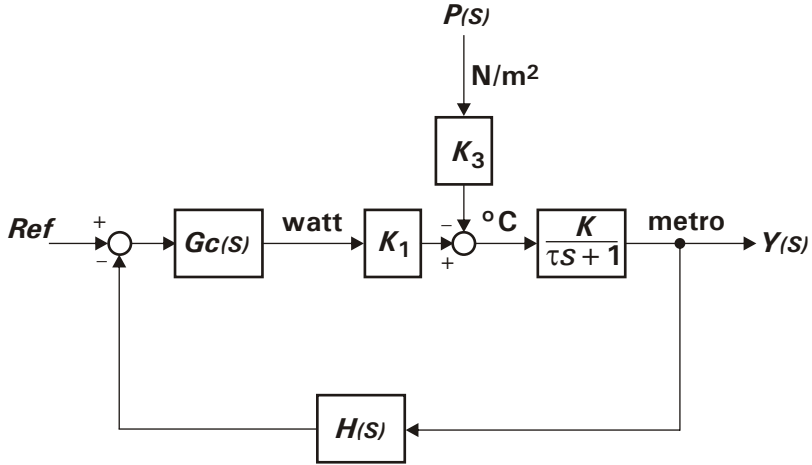


Fig. 3. Diagrama em blocos do sistema em malha fechada proposto por Bertucci-Neto et al. (1998).

Sistema em Malha Fechada

Na seção anterior foi analisado e desenvolvido um modelo matemático para a sonda termoelástica que resultou em uma expressão matemática que relaciona a entrada de pressão que se quer medir, $P_i(s)$, e a quantidade de fluido que irá se deslocar pelo tubo na forma de deslocamento do menisco no capilar, ou deslocamento de $Y_i(s)$. Quando se perfura uma célula vegetal, parte do líquido que está dentro da célula adentra o capilar diminuindo o valor da pressão interna desta, fazendo com que o menisco formado pelo fluido e o conteúdo da célula seja deslocado da posição original. Portanto, se a parede na extremidade da câmara for movimentada no sentido de contrabalançar o volume que adentrou o capilar, então será restaurada a pressão interna da célula. Após haver o balanceamento de volume, a posição do menisco $Y_i(s)$ deve retornar à posição original. A medida do esforço realizado para este retorno deve ser relacionada com a pressão interna da célula vegetal. Esta seqüência acima discutida sugere um sistema em malha fechada, conforme mostra a Fig. 4. Nesta Figura está sendo representado o capilar cuja extremidade está acoplada a uma célula vegetal. A posição $Y_i(s)$ do menisco no capilar está sendo visualizada por um estereomicroscópio. A imagem do microscópio deve ser tratada de modo que se possa medir a posição do menisco em pixels (bloco de Tratamento de imagem) e acionar um controlador (bloco Controlador) cuja saída será enviada a uma fonte de alimentação que tem a função de alimentar a resistência elétrica que envolve o capilar. Em algumas medidas de pressão de turgescência é possível que se atue no sistema de forma manual. Isto significa que o operador do sistema deverá olhar na objetiva do estereomicroscópio, verificar a posição do

menisco e acionar a fonte de alimentação para restaurar a posição original. A outra opção é processar eletronicamente a imagem obtida pela lupa, e obter um sinal elétrico correspondente à posição do menisco que será enviado a um controlador, que por sua vez acionará a fonte de alimentação automaticamente. Esta última opção é a que possibilita que o sistema seja automático e menos dependente de falhas humanas.

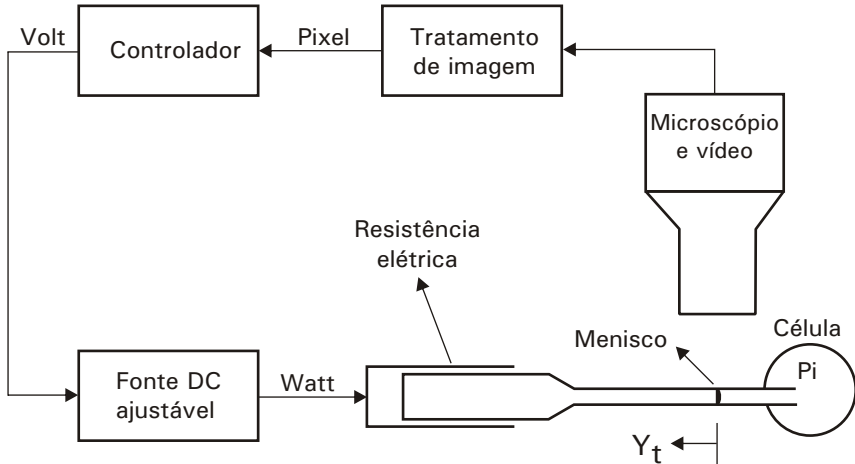


Fig.4. Representação da medida de pressão com a sonda em malha fechada

Modelo Experimental da Sonda Termoelástica

Uma ferramenta para verificar o comportamento do sistema dinâmico experimental é a identificação do sistema composto entre o deslocamento do menisco em pixel e a potência aplicada pelo aquecedor. Primeiramente foi verificado que o ruído na saída da fonte alimentação do aquecedor tem correlação nula com o deslocamento do menisco, ou seja, pode ser desconsiderado. Como o ruído introduzido pelo programa de detecção do menisco é inerente à resposta do sistema, pode ser considerado como um ruído aditivo na saída do sistema a ser identificado. Desta forma, um possível candidato para método de identificação do sistema é o de *Estrutura de Erro de Saída* (LJUNG, 1987, p.75). Isto foi verificado durante as simulações com os dados experimentais de resposta a degrau.

O sistema verificado experimentalmente apresenta uma característica com relação à resposta temporal, que se manteve constante em todas as medidas, que é a rápida subida seguida de um forte amortecimento, com longos tempos até atingir o regime permanente. Isto é característico de sistemas que possuem ao menos um pólo próximo da origem, o qual é precedido de um zero bastante próximo do mesmo pólo (FRANKLIN et al., 1997, p.130).

Baseado nisso, procurou-se ajustar um modelo do tipo *Estrutura de Erro de Saída* com um número de termos no numerador igual a um, e no denominador, igual a 2. Este modelo foi aplicado aos dados de resposta a degrau sendo escolhido o resultado, referente à reposta a degrau de 1,002 watt no aquecedor, resultando na expressão:

$$G_{ex}(s) = \frac{13,4200 \times (s + 0,01065)}{(s + 0,2278)(s + 0,0093)} \quad (17)$$

sendo $G_{ex}(s)$ a função de transferência que relaciona o deslocamento em pixel com a potência aplicada em watt. O passo seguinte foi validar o modelo, que pôde ser feito através da confrontação do modelo gerado pela identificação com os dados experimentais restantes.

A Fig. 5 mostra a resposta a degrau de potência, com valor igual a 1,002 watt, comparada com a curva gerada pelo modelo dado pela equação (17). Para gerar a curva dada pelo modelo foram usados os dados experimentais de entrada equivalente a 1,002 W. Neste caso, a figura mostra a comparação entre a curva gerada pelo modelo e a experimental em mais dois valores distintos de degrau de potência (0,385 watt e 1,586 watt). Observa-se, principalmente, que o modelo consegue ser bastante fiel aos dados experimentais no comportamento dinâmico da resposta a degrau (curva referente ao degrau de 1,002 W). Entretanto, a aplicação do mesmo modelo em degraus distintos de potência acarretou em um erro de regime permanente de 0,3 % no caso de maior potência, e -6,5 % no caso de degrau de menor potência. Esta característica se manteve quando se procurou ajustar curvas em degraus diferentes de potência. Isto quer dizer que apesar do modelo ajustar-se satisfatoriamente com relação à dinâmica da resposta a degraus diferentes de potência, o erro em regime permanente é maior, principalmente nas faixas em que o deslocamento do menisco, em número de pixels, é pequeno.

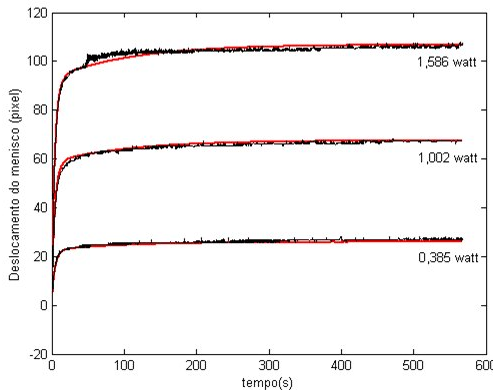


Fig. 5 Comparação entre as curvas geradas pelo modelo identificado (em vermelho) com três curvas experimentais com degraus de potência elétrica.(em preto).

Sonda Termoelástica em Malha Fechada

O controlador PID é de longe a forma mais dominante de realimentação em uso hoje. Mais de 90% de todas as malhas de controle são PID (ASTROM e HÄGGLUND, 2001). Este tipo de controlador é facilmente implementável em malha simples deixando ao projetista a liberdade de escolha dos valores de cada ganho. A planta do sistema proposto não possui um pólo na origem e assim a ação integral do controlador deve levar o erro em regime permanente a zero no caso de uma entrada a degrau. Portanto, este tipo de controlador pode ser uma alternativa de controle do sistema.

A Fig. 6 mostra o fluxograma do algoritmo usado para implementar o sistema em malha fechada por meio do pacote de programação *LabView*.

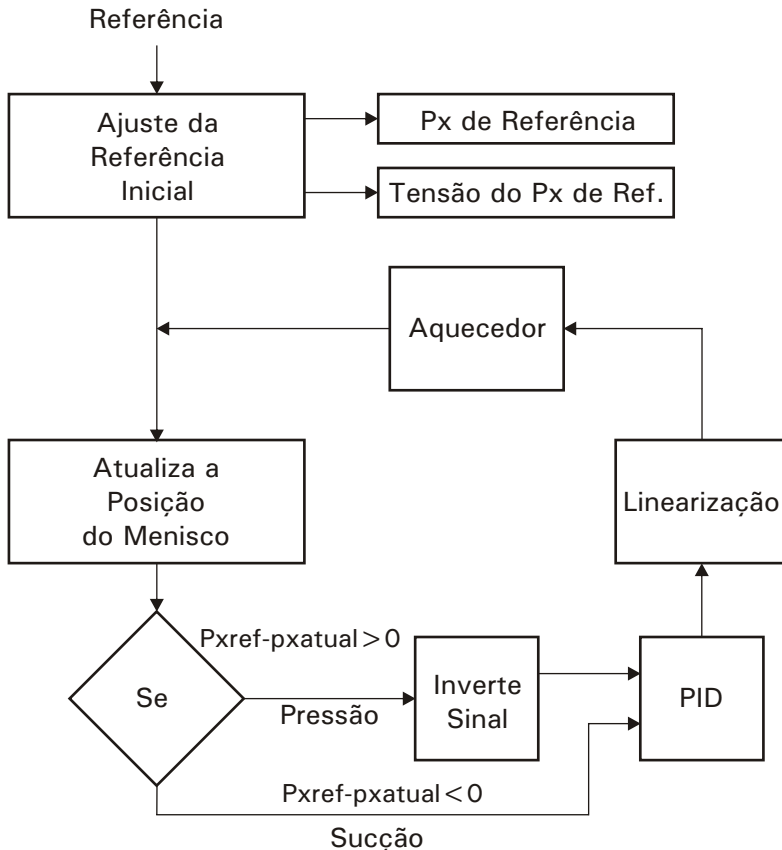


Fig. 6 Diagrama de fluxo do algoritmo para implementação do sistema em malha fechada.

Escolhe-se, inicialmente, a posição de referência em número de pixels (bloco "Px de Referência") dada pela execução de uma rotina de identificação da imagem do menisco e, em seguida, a tensão de referência equivalente a esta posição (bloco "Tensão do Px de referência"). No próximo passo a posição do menisco é atualizada e comparada em número de pixels com a posição de referência (bloco "Px de referência-pxatual"). Se houver pressão, este resultado é positivo, e deve ser invertido (bloco "Inverte sinal"), e se houver sucção, vice-versa. Em seguida, este resultado é enviado ao controlador PID, sendo linearizado na relação número de pixel para tensão em volt, usado então como valor para a fonte de alimentação do sistema.

Na Fig. 7 é mostrado o painel frontal do algoritmo desenvolvido no *Labview*, com o nome da rotina *PID_prelinearizado2.vi*.

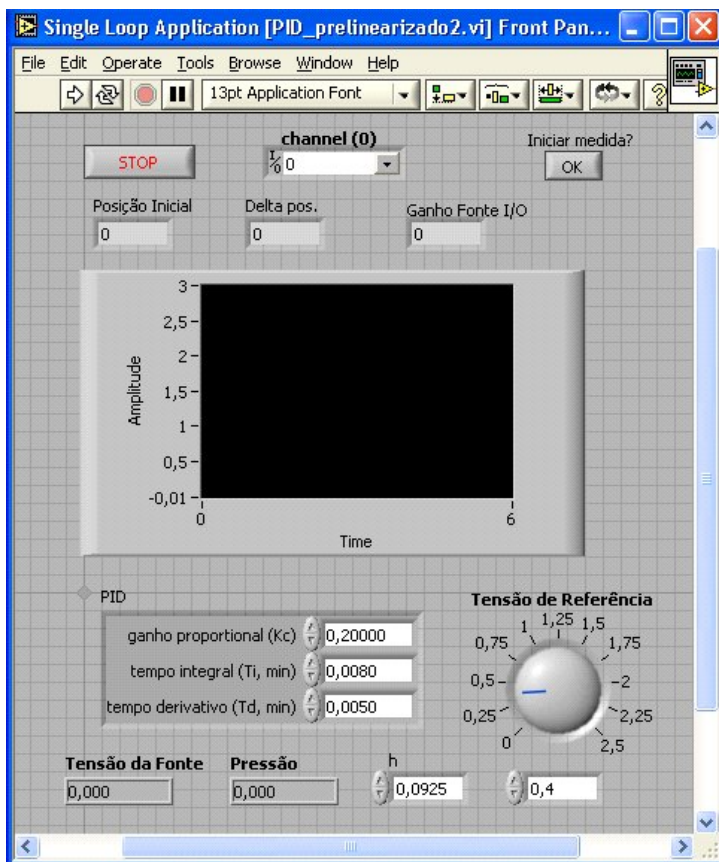


Fig. 7. Painel frontal do instrumento virtual gerado pela rotina *PID_prelinearizado2.vi* para controle da posição do menisco em malha fechada.

Foi usada uma sub-rotina do *Labview* chamada *PID(DBL).vi* para desempenhar a função do controlador PID. Antes de executar o programa devem ser atribuídos os valores dos ganhos do PID, da tensão de referência, e do valor de *h* da linearização. Quando se aciona o botão de “iniciar medida”, o valor da posição inicial é registrado, e os valores da posição e do erro de posição (*Delta pos.*) são amostrados periodicamente. Também é amostrado o sinal do sensor de pressão, e o gráfico no painel pode monitorar a posição do menisco, ou o sinal da fonte de tensão. Estes parâmetros são gravados em um arquivo para posterior análise.

Medida Automática de Pressão

Foi implementado um sistema em malha fechada baseado no diagrama mostrado na Figura 6. Foi adaptado um sensor de pressão na ponta do capilar, em circuito fechado com a linha de ar do compressor. O sensor é do tipo “agulha” com sensibilidade igual a 0,6mV/psi, com precisão igual ou menor que $\pm 1\%$. Os experimentos foram realizados em ambiente com temperatura constante de forma a não serem influenciados por uma variação externa. Na Fig. 8 vê-se o sinal em tensão do sensor de pressão, que foi considerado como um degrau de pressão, amplificado por um circuito eletrônico em 100 vezes.

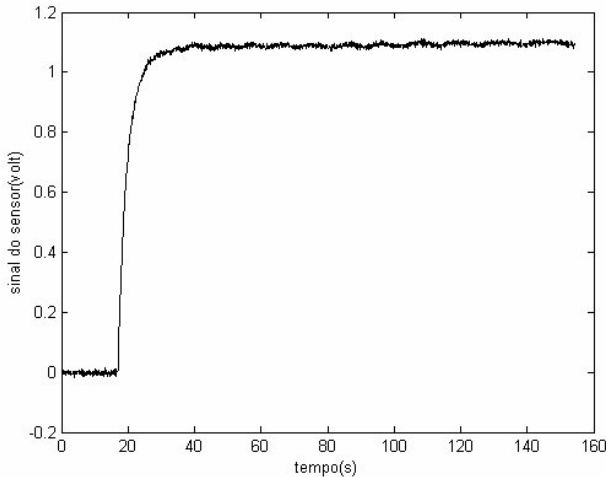


Fig. 8. Sinal do sensor de pressão equivalente a um degrau.

Os ganhos do controlador PID foram ajustados manualmente de forma que a resposta da saída do sistema (posição do menisco) não apresentasse oscilação, ou sobressinal excessivo. Os valores usados foram: $K_p = 2,00 \text{ Npx/Npx}$; $T_i = 0,008 \text{ minuto}$; e $T_d = 0,005 \text{ minuto}$. O valor da tensão de referência foi ajustado em 0,400 volt, equivalente a uma posição do menisco igual a 18,8 Npx. A simulação numérica foi obtida com auxílio do programa *Matlab*, com o aplicativo *Simulink*, o qual também possui um bloco PID usado na malha.

Na Fig. 9 é mostrada a variação da posição do menisco, em preto, quando se aplica o degrau em pressão, conforme o sinal do sensor mostrado na Fig. 8.

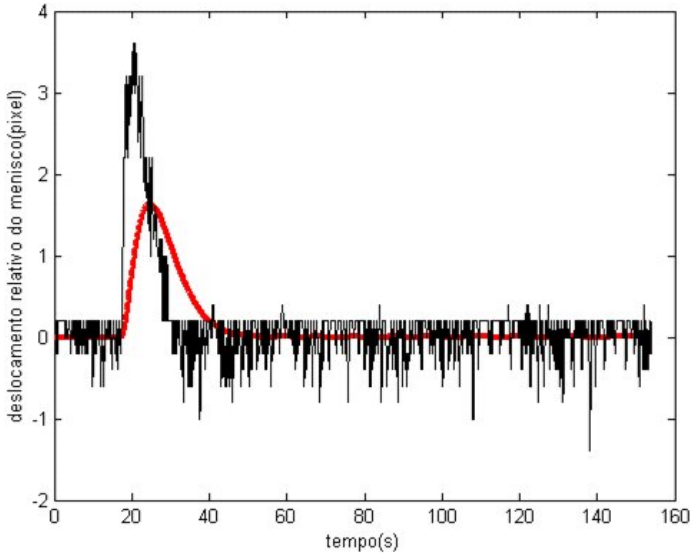


Figura 9. Variação da posição do menisco devido ao degrau mostrado na Fig. 8. Resposta obtida experimentalmente em preto, e resposta devido à simulação, em vermelho.

Para efeito de comparação é mostrado, em vermelho, a resposta do sistema devido à simulação do sistema. Observa-se que na resposta obtida experimentalmente a posição do menisco varia de forma mais rápida, atingindo mais que o dobro da variação do resultado simulado.

Na Fig. 10 vê-se a variação da potência elétrica entregue, P_T , devido ao sinal de distúrbio em pressão, conforme mostrado na Figura 8, obtida de forma experimental e simulada.

O gráfico referente ao sinal obtido experimentalmente foi calculado através do sinal da fonte elétrica de corrente contínua, V_{cc} , elevado ao quadrado, e dividido pelo valor da resistência elétrica total. A variação em potência é o resultado que diz, proporcionalmente, quanto de pressão foi aplicado na ponta do capilar. O degrau de pressão aplicado foi equivalente a um sinal de tensão no sensor com valor médio igual a 1,056 volt. A potência necessária para retornar o menisco à posição original deve ser então igual a 0,201 watt. O valor médio anterior ao degrau de pressão foi calculado como 0,429 watt, com variância igual a $1,2 \times 10^{-4}$ watt². Após o estabelecimento do degrau de pressão, o valor médio foi calculado em 0,633, com variância igual a $2,6 \times 10^{-4}$ watt². Portanto, a variação em potência elétrica corresponde a 0,204 watt, ou seja, com erro corresponde a 1,49 %.

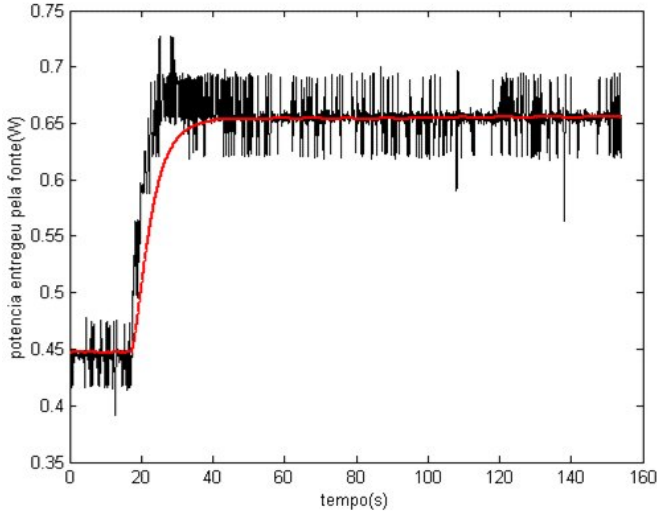


Fig. 10. Sinal da potência elétrica entregue pela fonte de alimentação quando se aplica um degrau conforme a Fig. 8. Experimental, em preto, e simulação do sinal, em vermelho.

CONCLUSÕES

As técnicas revistas neste trabalho são ferramentas de grande importância no estudo da relação de águas nas plantas. Mas, apesar da vasta aplicação da sonda de pressão ao longo de três décadas, seja na medida de pressão intracelular, seja na medida de pressão no xilema da planta, ou na raiz, não foram encontradas publicações a respeito do instrumento em si, ou seja, a respeito da qualidade da medida, dos erros envolvidos nas medidas, e das possíveis limitações do instrumento. Também não há publicações recentes a respeito da automação da sonda, o que chama atenção, sabendo-se que na área de Automação de Sistemas existe uma contínua atualização, seja no desenvolvimento de programação, ou de circuitos, sensores e atuadores.

Assim, paralelamente à sonda de pressão que foi sistematizada para a organização do aprendizado e de bases referenciais de calibração, foi desenvolvida a sonda termoelástica, que se constitui em um novo conceito, ou seja, a oposição térmica frente à pressão a ser medida, eliminando todo o aparato composto de motor, engrenagens para redução, micrômetro, e êmbolo. Além das medidas convencionais de volume e de pressão de turgescência, a sonda termoelástica mostrou também que pode ser bastante útil para medida de altas pressões de sucção, por exemplo, o que no caso da sonda de pressão tem sido uma limitação. Os resultados mostram a possibilidade de efetuar medidas de forma automática com erro pouco superior a 1%.

Referências

- ASTROM, K. J.; HÄGGLUND, T. The future of PID control. **Control Engineering Practice**, Oxford, v. 9, p. 1163-1175, 2001.
- BALLING, A.; ZIMMERMANN, U. Comparative measurements of the xylem pressure of *Nicotiana* plants by means of the pressure bomb and pressure probe. **Planta**, Berlin, v. 182, p. 325-338, 1990.
- BERTUCCI-NETO, V. **Modelagem e automação em nova técnica de medida para relações de água e planta**. 2005. 159 f. Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) Departamento de Engenharia Elétrica, Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- BERTUCCI-NETO, V.; PESSOA, J. D. C.; CRUVINEL, P. E.; CALBO, A. G. Dynamics in measuring of plant intracellular pressure: a control system approach. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AUTOMAÇÃO CBA, 12., 1998, Uberlândia, MG. **Anais...** Uberlândia: UFU, 1998. 4 f. CD-ROM.
- CALBO, A. G.; PESSOA, J. D. C. Thermoelastic pressure probe to test the cohesion theory. Liquid expandibility, compressibility and pressure measurements. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Londrina, v. 11, p. 129-136, 1999.
- FRANKLIN, G. E.; POWELL, J. D., WORKMAN, M. L. **Digital control of dynamic systems**. 3 ed. Menlo Park: Addison-Wesley, 1997. 742 p.
- HÜSKEN, D.; STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U. Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants. **Plant Physiology**, Minneapolis, v. 61, p. 158-163, 1978.
- LJUNG, L. **System identification: theory for the user**. 1 ed. Englewood Cliffs, New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 1987. 519 p.
- PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G. Caracterização do comportamento compressivo-expansivo de amostras fluidas com volume da ordem de micro-micro litros. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE INSTRUMENTAÇÃO AGROPECUÁRIA, 1., 1996, São Carlos-SP. **Anais...** São Carlos: EMBRAPA-CNPDIA, 1997. p. 411-415.
- PRESSURE probe technique: basic principles and application to studies of water and solute relations at the cell, tissue and organ level. In: SMITH, J. A. C.; GRIFFITHS, H. (Ed.). **Water deficits: plant responses from cell to community** Oxford, UK: Bios Scientific Publishers Ltd., 1993. p. 5-36.
- STEUDLE, E. Transport of water in plants. **Environmental Control in Biology**, [S. l.], v. 40, p. 29-37, 2002

STEUDLE, E. The cohesion-tension mechanism and the acquisition of water by plant roots. **Annual Review Plant. Mol. Biol.**, [S. I.], v. 52. p. 847-875, 2001.

STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U. Hydraulische Leitfähigkeit von *Valonia utricularis*. **Naturforsch**, [Tubingen], v. 26b, p.1302-1311, 1971.

TYRRE, M. T. The ascent of water. **Nature**, London, v. 423. p.923, 2003.

ZIMMERMANN, U.; RÄDE, H., STEUDLE, E. Kontinuierliche Druckmessung in Pflanzenzellen. **Naturwissenschaften**, Berlin, v. 56. p. 634-648, 1969.

ZIMMERMANN, U.; SCHNEIDER; H.; WEGNER; L. H.; HAASE, A. Water ascent in tall trees: does evolution of land plants rely on a highly metastable state? **New Physiologist**, [S. I.], v. 162, p. 575-615, 2004.

ZIMMERMANN, U.; SCHNEIDER; H.; WEGNER; L. H.; WAGNER, H.; SZIMTENINGS, M.; HAASE, A. What are the driving forces for water lifting in the xylem conduit? **Physiologia Plantarum**, [S. I.], v. 114, p. 327-335, 2002.