Modelo Validado de Sonda de Pressão para Medida de Relações de Água em Plantas

República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA

Roberto Rodrigues
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa

Conselho de Administração

Luis Carlos Guedes Pinto
Presidente

Silvio Crestana
Diretor-Presidente

Alexandre Kalil Pires
Ernesto Paterniani
Hélio Tollini
Cláudia Assunção dos Santos Viegas
Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Silvio Crestana
Diretor-Presidente

José Geraldo Eugênio de França
Kepler Euclides Filho
Tatiana Deane de Abreu Sá
Diretores

Embrapa Instrumentação Agropecuária

Ladislau Martin Neto
Chefe Geral

Carlos Manoel Pedro Vaz
Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Maria do Socorro Gonçalves de Souza Monzane
Chefe Adjunto de Administração

Ricardo Yassushi Inamasu
Gerente da Área de Comunicação e Negócios

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

ISSN 1518-7179

Novembro, 2005

Documentos 16

Modelo Validado de Sonda de Pressão para Medida de Relações de Água em Plantas

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

São Carlos, SP
2005

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
Secretária-Executiva: Valéria de Fátima Cardoso
Membros: Dra. Débora Marcondes Bastos Pereira Milori,
Dr. João de Mendonça Naime,
Dr. Washington Luiz de Barros Melo
Membro Suplente: Dr. Paulo Sérgio de Paula Herrmann Junior

Supervisor editorial: Dr. Victor Bertucci Neto
Revisor de texto: Dr. Victor Bertucci Neto
Normalização bibliográfica: Valéria de Fátima Cardoso
Tratamento de ilustrações: Valentim Monzane
Capa: Valentim Monzane
Editoração eletrônica: Valentim Monzane

1ª edição

1ª impressão (2005): 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
Modelo validade de sonda de pressão para medida de relações de
água em plantas / Victor Bertucci Neto, José Dalton Cruz Pessoa,
Paulo Estevão Cruvinel, Adonai Gimenez Calbo. -- São Carlos: Embrapa
Instrumentação Agropecuária, 2005.
13 p. -- (Embrapa Instrumentação Agropecuária. Documentos,
ISSN 1518-7179; 16)

1. Instrumentação Equipamento tecnológico. 2. Medida de pressão.
3. Sonda de pressão. 4. Célula vegetal. 5. Plantas vegetais. 6. Modelo
matemático. I. Pessoa, José Dalton Cruz. II. Cruvinel, Paulo Estevão. III.
Calbo, Adonai Gimenez. IV. Título. V. Série.

Autores

Victor Bertucci Neto

Doutor, Eng. Elétrico, Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1452
C. P. 741 - CEP 1350-970
São Carlos, SP
victor@cnpdia.embrapa.br

José Dalton Cruz Pessoa

Doutor, Físico, Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1452
C. P. 741 - CEP 1350-970
São Carlos, SP
dalton@cnpdia.embrapa.br

Paulo Estevão Cruvinel

Doutor, Eng. Elétrico, Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1452
C. P. 741 - CEP 1350-970
São Carlos, SP
cruvinel@cnpdia.embrapa.br

Adonai Gimenez Calbo

Doutor, Agrônomo, Embrapa Instrumentação Agropecuária
Rua XV de Novembro, 1452
C. P. 741 - CEP 1350-970
São Carlos, SP
adonai@cnpdia.embrapa.br

Apresentação

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 a 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 sais 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 elaborar um instrumento que automatizasse a medida. Não foi observado na literatura nenhum artigo com uma descrição mais detalhada deste instrumento.

Neste trabalho apresenta-se um método para modelar matematicamente o funcionamento da sonda de pressão levando em consideração os parâmetros físicos do sistema.

Ladislau Martin Neto
Chefe Geral

Sumário

1. Introdução	7
2. Modelagem da sonda de pressão	10
3. Validação do modelo	12
Referências bibliográficas	13

Modelo Validado de Sonda de Pressão para Medida de Relações de Água em Plantas

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

Introdução

As células vivas precisam ser hidratadas com um grau maior ou menor de saturação de água para terem um funcionamento normal. Em geral, as células de plantas não são totalmente saturadas com água. Uma certa deficiência de hidratação freqüentemente ocorre. Isto representa uma força impelida para o fluxo de água através de todas as partes da planta, por um lado, e um fator controlando sua atividade fisiológica, por outro.

Tem havido uma constante busca por meios adequados de exprimir a medida do nível de hidratação em tecidos de plantas. Uma fonte de dificuldades tem sido os aspectos metodológicos práticos. Aqui, a necessidade de uma técnica relativamente simples tem levado, mesmo depois da maioria dos problemas teóricos terem sido estabelecidos, ao desenvolvimento de muitos métodos indiretos, dos quais, nenhum é satisfatório para todos os propósitos.

A 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. 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.

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 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, V , e medir as correspondentes variações de turgescência, P , permitindo a avaliação do coeficiente elástico, B , no seguinte formato:

$$B = V \frac{dP}{dV} \quad (1.1)$$

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 possibilitava a medida 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:

$$c_{ol} = \frac{1}{V_{in}} \frac{dV_{in}}{dP} \quad (1.2)$$

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

$$\frac{dV_{total}}{dP} = \frac{V}{B} + c_{ol} V_{in} \quad (1.3)$$

Mesmo com a relativamente baixa compressibilidade do óleo, o segundo termo do lado direito da equação (1.3) 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:

$$\frac{V}{B} c_{ol} V_{in} \quad \text{ou} \quad \frac{V_{in}}{V} c_{ol} B^{-1} \quad (1.4)$$

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 (1.4) 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 (1.4) 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.

Na Fig. 1, tem-se um diagrama esquemático da sonda de pressão perfurando uma célula vegetal. O sistema pode ser acionado de forma manual, ou automática. A posição do menisco é medida através de um programa de tratamento de imagem.

Fig.1. Representação da medida de pressão com a sonda em malha fechada.

Chama-se atenção também para o fato de que em nenhuma literatura revista há uma descrição do instrumento em si, ou seja, não existem respostas para questões tais como qual a resposta dinâmica do instrumento, ou quais são as variáveis determinantes para o desempenho do sistema. Apesar dos esforços envolvidos até hoje no desenvolvimento de um instrumento de tal porte,

percebe-se uma lacuna entre a teoria e a prática, devida, principalmente, à falta de uma modelagem adequada visando à verificação dos erros que certamente existem, advindos de considerações que ainda se desconhecem. Isto dificulta o conhecimento a respeito da qualidade da medida, dos erros envolvidos nas medidas, e das possíveis limitações do instrumento. A reprodução do instrumento baseada apenas no que foi publicado pode levar a questões tais como qual o erro da medida, qual a influência da temperatura sobre o fluido usado na sonda, qual será o comportamento da sonda se as dimensões físicas do capilar forem alteradas, ou mesmo, qual será o evento dinâmico mais rápido que o instrumento poderá ter sensibilidade suficiente para medir. As publicações verificadas sobre a sonda de pressão citam aparatos eletromecânicos para acionamento do êmbolo na câmara de pressão, mas estes engenhos são descritos com muita brevidade e com poucos detalhes. Portanto, a existência de um modelo para o sistema pode responder a muitas questões sobre o instrumento além de possibilitar análises que possam favorecer melhorias e desmistificar prognósticos de medida e desempenho.

Assim, apresenta-se neste trabalho um modelo sistemático para a sonda de pressão visando preencher esta lacuna existente na literatura.

2. Modelagem da sonda de pressão

A análise do sistema consiste em aplicar a Lei de Newton, força igual ao produto massa e aceleração, ao conteúdo do fluido dentro do tubo. Inicialmente considera-se que as pressões são todas iguais, ou seja, $p_i = p_m = p_o$, quando p_i , a pressão que se quer medir, muda levemente em algum sentido. A partir deste ponto os símbolos p_i e p_m , a pressão do meio fluido, serão considerados como pressão de excesso acima e abaixo do valor inicial de pressão, p_o . A força devido à pressão p_i é igual obtida multiplicando-se pela área transversal do tubo, A :

$$f_i = p_i A - \frac{d_i^2}{4} p_i \quad (2.1)$$

Sendo d_i , o diâmetro do tubo capilar.

Na presença da força f_i aparece uma tensão viscosa em sentido contrário que dividida pela área da parede do tubo resulta em uma força viscosa f_v com módulo igual a:

$$f_v = 8 L V \dot{\gamma}_t \quad (2.2)$$

Sendo η a viscosidade do fluido, L , o comprimento da coluna de fluido e γ_t o deslocamento do menisco formado pelo fluido.

O deslocamento γ_t causa uma mudança de volume $dV_o = d_i^2 \gamma_t / 4$, que por sua vez causa um excesso de pressão que se relaciona com o módulo de elasticidade volumétrico, B , ou seja, $p_m = B d_i^2 \gamma_t / (4 V_o)$. Portanto, a força equivalente será dada por:

$$f_m = \frac{2Bd_t^4 y_t}{16V_{ol}} \quad (2.3)$$

Aplicando a Lei de Newton no sentido longitudinal y_t , tem-se que a somatória das forças deve ser igual à massa m do fluido, multiplicada pela aceleração a , ou seja:

$$f_i - f_v - f_m = m a \quad (2.4)$$

$$\frac{d_t^2}{4} p_i - 8 L \dot{y}_t - \frac{2Bd_t^4}{16V_{ol}} y_t = \frac{d_t^2 L}{4} \ddot{y}_t \quad (2.5)$$

a qual é uma equação diferencial de segunda ordem. Assim, aplicando a Transformada de Laplace, e considerando $y_t(0) = 0$, tem-se que:

$$Y_t(s) = \frac{\frac{1}{L}}{s^2 - \frac{32}{d_t^2} s - \frac{Bd_t^2}{4L V_{ol}}} P_i(s) \quad (2.6)$$

Ademais, considerando um sistema de segunda ordem, $G_{vp}(s)$, dado como:

$$G_{yp}(s) = \frac{Y_t(s)}{P_i(s)} = \frac{K \frac{2}{n}}{s^2 + 2 \frac{n}{n} s + \frac{2}{n}} \quad (2.7)$$

Podese então, por comparação, definir a frequência natural do sistema ω_n , o fator de amortecimento ζ , e o ganho K como:

$$\zeta = \frac{d_t}{2} \sqrt{\frac{B}{L V_{ol}}} \quad \omega_n = \frac{1}{L} \sqrt{\frac{B}{L}} \quad (2.8)$$

$$\frac{32}{d_t^3} \sqrt{\frac{L V_{ol}}{B}} = \frac{16 L}{d_t^2} \sqrt{\frac{1}{B}} \quad (2.9)$$

$$K = \frac{4V_{ol}}{Bd_t^2} \frac{L}{B} \quad (2.10)$$

Logo, se for considerado o fator de correção de fluxo de massa, então o termo que contém a massa na equação (2.4) deve ser multiplicado por 4/3 resultando na seguinte função de transferência, $G_{vp}(s)$, entre o deslocamento e a pressão aplicada:

$$G_{yp} s \frac{Y_t s}{P_i s} \frac{\frac{3}{4L}}{s^2 \frac{24}{d^2} s \frac{3 B d^2}{16L V_{ol} t}} \quad (2.11)$$

o que indica novas constantes de amortecimento e freqüência natural com fatores iguais a $\sqrt{3}/2$ que multiplicam ζ_n e ω_n , mantendo porém o ganho K inalterado.

3. Validação do modelo

A medida da pressão aplicada na ponta do capilar, juntamente com a relação dela com o deslocamento do menisco, são possíveis de se obter com o registro da posição do menisco através de tratamento de imagem de vídeo. O sensor de pressão usado no experimento é fabricado pela *Honeywell Inc*, do tipo estado sólido, com medida de pressão diferencial, e compensação de temperatura. O valor típico de saída é igual a 0,6 mV/psi, sendo recomendado pelo fabricante um pré-ajuste de *offset*. Assim, foi implementado um circuito com um amplificador de instrumentação, com ganho em tensão igual a 100, e ajuste de *offset* de saída. O sinal de saída foi zerado com o sensor ligado na entrada do amplificador, a pressão ambiente. O sensor foi adaptado a uma conexão tubular plástica com uma derivação de saída para a ponta do capilar e uma de entrada para a pressão aplicada. Foi usado um compressor de ar para aplicar a pressão no capilar. As dimensões do tubo capilar foram: diâmetro externo igual a 380 μ m, e espessura da parede do tubo igual a 40 μ m, com comprimento da coluna de líquido igual a 20 cm

A Fig. 2 mostra o resultado da excursão do menisco, em preto, quando aplicado um degrau de pressão.

Fig. 2. Comparação entre a resposta ao degrau de pressão aplicado (em preto), com a resposta simulada com uso da equação (2.7) (em vermelho).

A pressão de saída do compressor foi previamente ajustada de modo que na saída do amplificador houvesse uma tensão em torno de 1,0 volt, correspondente a um valor de saída no sensor em torno de 10 mV. O valor típico de resposta do sensor, dado pelo fabricante, é igual a 0,6 mV por psi, sendo 1 psi = 6894,6 N/m². O deslocamento do menisco, obtido pelo programa que detecta a posição, foi igual a 7,10 Npx (número de pixels), com variância igual a 0,10 Npx². Este deslocamento em número de pixels equivale a 11,2 μm. O valor médio da tensão de saída do sensor foi igual a 1,056 volt, equivalendo a 17,67 psi, ou 121800 N/m². Usando a equação (2.7) com os dados: $B = 2,18 \times 10^9 \text{ N/m}^2$; $\rho = 0,001 \text{ Kg/ms}$ (1cSt); $\rho = 900 \text{ kg/m}^3$; $d_i = 300 \mu\text{m}$; e $L = 0,20 \text{ m}$; obtém-se a seguinte função de transferência que relaciona o deslocamento do menisco em metro, com a pressão aplicada:

$$G_{yp}(s) = \frac{Y_i(s)}{P_i(s)} = \frac{0,005556}{s^2 \cdot 395,1s + 6.056 \cdot 10^7} \quad (3.1)$$

Portanto, usando a equação (3.1), convertendo o deslocamento para número de pixels, aplicando o sinal de pressão obtido pela conversão do sinal do sensor em volt para pressão, chega-se à curva em vermelho mostrada na Fig. 2. Observa-se que a resposta obtida com modelo desenvolvido, a despeito do ruído de medida de posição do menisco, é bastante coerente com a resposta experimental.

Referências Bibliográficas

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) - Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos.

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.

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