ESTIMATIVA DAS CONDIÇÕES HÍDRICAS DE FOLHAS DE SOJA (*Glycine mox* (L.) Merr.) ATRAVÉS DA ATENUAÇÃO DE RADIAÇÕES

LUIZ ROBERTO ANGELOCCI

Orientador : KLAUS REIGHARDT

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Energia Nuclear na Agricultura.

PIRACICABA Estado de São Paulo - Brasil Setembro, 1976 HOMENAGEM

À memória de meu pai,

À minha mãe,

Pelo amor e pelos sacrificios na formação dos filhos.

Dedico

À minha esposa,

Aos meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

- Ao Dr. Klaus Reichardt, professor do Departamento de Física e Meteorologia da E.S.A.L.Q., pela orientação científica e pela amizade.

- Ao colega Eng? Agr? Paulo Leonel Libardi, pela inestimável colaboração e pelas sugestões na revisão deste trabalho.

- Aos professores Virgilio F. Nascimento F?, Epaminondas S. B. Ferraz e Fernando A. Pinto, pelas sugestões e apoio.

- Ao professor Attilio Dall'Olio, pela colaboração na análise dos dados.

- Ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura, na pessoa do seu diretor, Dr. Admar Cervellini, pelas facilidades oferecidas na elaboração desse trabalho.

- À Comissão Nacional de Energia Nuclear, pela bolsa de estudos oferecida ao autor.

- Aos Engenheiros Agrônomos: Dr. Altino A. Ortolani, Rogério R. Alfonsi, Orivaldo Brunini e Mário J. Pedro Jr., da Seção de Climatologia Agricola do Instituto Agronômico de Campinas, pelas sugestões, apoio e amizade.

- Ao Instituto Agronômico de Campinas, na pessoa de seu diretor, Dr. Lourival C. Mônaco, pelas facilidades oferecidas.

- Aos professores Dr. Antonio C. Magalhães e Dr. Hilton S. Pinto, do Departamento de Fisiologia Vegetal da Universidade Estadual de Campinas, pelas sugestões e estimulo. - Ao Dr. Coaracy M. Franco, pela colaboração e sugestões.

- À Sra. Carmencita C. Brunini e à Srta. Liliana Solha, pelo esmêro na confeccção de gráficos e figuras.

- Às Srtas. Rachel A. Bonduki e Heloisa S. Ferraz, pelo excelente serviço datilográfico.

- Aos Srs. Orlando F. J. G. Bordoni e Manoel da Nóbrega, e à Sra. Dione M. Bachetti, pelo auxílio prestado na computação dos dados.

- A todos aqueles que, de uma forma ou de outra, concorreram para a realização desse trabalho.

INDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
1. RESUMO	. 1
2. INTRODUÇÃO	. 3
3. REVISÃO DA LITERATURA	5
3.1. Conceituação, terminologia e medida direta do)
estado de hidratação de vegetais	5
3.2. Estimativa do estado de hidratação de vegetais	5
através de absorção de raios-β	13
3.3. Conclusões	22
4. METODOLOGIA	24
4.1. Determinação do teor relativo de água	24
4.1.1. Teoria	24
4.1.1.1. Interação e absorção de raios- β pela	
matéria	24
4.1.1.2. Interação e atenuação de raios-X pe-	
la matéria	. 25
4.1.1.3. Atenuação de um feixe de radiação	
por uma folha vegetal	. 30
4.1.1.4. Estimativa da quantidade de água e	
de matéria seca de uma folha vegetal	
pelo uso de dois feixes simultâneos	
de radiação	. 32
4.1.1.5. Estimativa do teor relativo de água	
numa folha pelo uso de dois feixes	
radioativos	. 33
4.1.1.6. Erro na medida	. 34
4.1.1.7. Espessura ideal do absorvedor	. 37
4.1.1.8. Sensibilidade da medida	. 38

Página

4.1.2. Material e métodos	38
4.1.2.1. Material vegetal	38
4.1.2.2. Instrumental para medida da at	e-
nuação	39
4.1.2.3. Medida da radiação e correção d	e-
vida ao tempo de resolução do co	n-
junto detector-contador	42
4.1.2.4. Determinação dos coeficientes	de
atenuação de massa	46
4.1.2.5. Determinação da relação densidad	e
superficial da folha turgida/ de	n-
sidade superficial de matéria se	ca 48
4.1.2.6. Procedimento experimental para o	b-
tenção dos dados pelo "método d	as
duas fontes radioativas" e pe	10
"método das pesagens"	. 51
4.2. Determinação do notencial da água através	de
sua correlação com a atenuação de um feixe	ra-
dioativo	52
4.2.1. Determinação do potencial da agua	. 52
4.2.1.1. Teoria do método de higrometria	de
par termoelétrico	52
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	. [.] 63
5.1. Coeficientes de atenuação	. 63
5.1.1. Valores experimentais	. 63
5.1.2. Valores teóricos	. 68
5.1.2.1. Valor teórico de ju	. 68
5,1,2.2. Valor teórico de μ	. 69
5.1.3. Discussão dos resultados	. 69
5.2. Relação entre densidade superficial da folh	a
turgida e densidade superficial de matéri	
	а

.

Página

	5.2.1. Resultados	70
	5.2.2. Discussão dos resultados	72
	5.3. Comparação entre o "método das pesagens" e o	
	método das duas fontes radioativas	74
	5.3.1. Valores obtidos	74
	5.3.2. Análise estatística dos dados	76
	5.3.3. Discussão dos resultados	80
	5.4. Sensibilidade e erro da medida no "método das	
	duas fontes radioativas"	83
	5.4.1. Resultados	83
	5.4.2. Discussão dos resultados	83
	5.5. Discussão sobre o equipamento empregado no " mé-	•
	todo das duas fontes radioativas"	85
	5.5.1. Fontes radioativas	85
	5.5.2. Geometria	87
	5.5.3. Equipamento de detecção e contagem	87
	5.6. Avaliação do"método das duas fontes radioativas"	88
	5.7. Estimativa do potencial da água em folhas de so-	
	ja através da atenuação de radiações	89
	5.7.1. Resultados	. 89
	5.7.1.1. Equações de regressão	89
	5.7.1.2. Análise estatística	91
	5.7.2. Discussão dos resultados	100
	5.7.2.1. Fontes de erro na determinação do po-	
	tencial da água em folhas vegetais a-	
	través da atenuação da radiação	106
	5.7.3. Avaliação da técnica de estimativa do poten -	
	cial da água em tecidos vegetais através da ate-	
	nuação da radiação	112
6.	CONCLUSÕES	114
7.	SUMMARY	117
8.	LITERATURA CITADA	119

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		Página
01 -	Importância relativa dos tres tipos principais de in- teração da radiação eletromagnética, de acordo com a energia do fóton e do número atômico do absorvedor. (EVANS, 1955)	22
02 -	Esquema dos diversos meios atravessados por um feixe colimado de radiação quando de sua passagem por uma folha vegetal. A proporção entre as espessuras dos	
	meios não é real	30
03 -	Efeito da espessura do absorvedor de alumínio na ate- nuação da radiação	40
04 -	Esquema da geometria do equipamento de detecção e con- • tagem (vista de topo)	43
05 -	Esquema da geometria do equipamento de detecção e con- tagem (vista frontal)	44
06 -	Detalhes da construção da mini-cubetas utilizadas na determinação de μ_a e \bar{u}_a	48
07 -	Esquema do conjunto utilizado na saturação das amos - tras de tecido vegetal	50
08 -	Variação da depressão do ponto de orvalho (ΔT_{o}) em função do potencial da água (ψ) e da temperatura (T_{c})	
	da atmosfera da câmara de amostras	53
09 -	Esquema de um higrômetro de par termoelétrico	54
10 -	Variação da pressão de saturação de vapor d'água em função da temperatura	60
11 -	Dados obtidos na determinação do coeficiente de absor- ção de massa de raios-β para matéria seca de folha de soja	64
		• ,

FIGUR

Página

12 -	Dados obtidos na determinação do coeficiente de ab-	<i></i>
	sorçao de massa de raios-β para agua	65.
13 -	Dados obtidos na determinação experimental do coe -	
	ficiente de atenuação de massa de raios-X para ma-	6.6
		00
14 -	Dados obtidos na determinação experimental dos coe-	
	ficientes de atenuação de massa de falos-X para	67
		07
15 -	Variação da densidade superficial da folha turgida,	
	da densidade superficial da foina seca e da relação	71
		71
16 -	Relação entre potencial da agua e teor relativo de	
•	(Segundo SLATYER, 1967)	104
17 _	Releção entre notonoial de fous e teor relativo de	
. 17 -	\overline{a} gua em folha adulta de soja \dots	104
1.0		201
18 -	Relação entre pressão de turgescencia (P), pressão	
	motica idealizada	105
10 -	Discreme das relações entre velume selular en teor	
19 -	de água e potencial total da água (ou seus componen-	
	tes) para uma célula (Segundo BARRS.1968)	105
	-	

1. RESUMO

Propôs-se uma alteração no método de estimativa do teor de água em folhas vegetais, através da atenuação de um feixe de partículas beta. A alteração consistiu em se medir as frações atenuadas pela folha, de dois feixes de radiação provenientes de fontes radioativas diferentes, determinando-se simultâneamente a densidade superficial de matéria seca e a densidade superficial de água da folha, fazendo-se uso da lei de Beer-Lambert. Além de eliminar o uso de equações de regressão entre teor relativo de água e atenuação da radiação, essa determinação simultânea permite superar alguns problemas do método, como necessidade de renovação frequente da calibração е amostragem destrutiva.

Quando comparada com o método de pesagens para determinação do teor relativo de água, a técnica aqui proposta mostrou-se menos precisa, mas as possibilidades de aumento da precisão foram discutidas, sugerindo-se estudos mais detalhados de alguns fatores, os quais podem permitir a diminuição do erro da medida.

Utilizou-se, como fontes radioativas, os isótopos Ca (emissor puro de raios-B) e Fe (emissor puro de raios-X). Concluiu-se que a sensibilidade nas medidas da denșidade superficial da água da folha, através de raios-B do

Ca, só se torna aceitável quando se usa altas taxas de contagem, porque o valor do coeficiente de atenuação de massa dessa radiação para água é baixo.

A sensibilidade nas medidas das variações da densidade superficial da água, através de raios-X do Fe foi maior do que nas medidas com Ca, mas menor nas medidas da densidade superficial de matéria seca e da densidade superficial da folha. Entretanto, verificou-se ser possível 0 uso de raios-X de baixa energia na estimativa do teor hídrico de folhas vegetais, embora a fonte de Fe seja indicada para estudos desse tipo com folhas mais espessas que as de soja, aqui utilizadas. Sob o ponto de vista teórico, 0 uso de raios-X nas determinações do tipo das realizadas neste estudo é preferível ao uso de raios-B, porque a radiação eletromagnética tem sua atenuação pela matéria exatamente descrita pela lei de Beer - Lambert.

Estudou-se, também, a possibilidade de se estimar o potencial da água em folhas de soja, através da atenuação da radiação. Concluiu-se que tal estimativa, embora possível, apresenta uma série de problemas, porque as equações de regressão entre potencial da água e atenuação da radiação são influenciadas pela idade da folha, tornando necessária a renovação frequente da calibração, principalmente com folhas jovens. Por esse fato, pela amostragem destrutiva nas calibrações e pelos erros que apresenta, essa estimativa só deve ser utilizada quando métodos de maior confiança nas medidas de ψ não possam ser empregados.

2. INTRODUÇÃO

Dentre os fatores que governam a distribuição dos vegetais sobre a Terra, a disponibilidade hídrica das regiões é de vital importância. Isto é conseqüência do papel fundamental que a água desempenha nos vegetais, uma vez que seu suprimento afeta, direta ou indiretamente, todos os processos fisiológicos da planta.

Com a finalidade de estudar as relações hídricas na planta, os pesquisadores têm desenvolvido conceitos e métodos para caracterizar o estado de hidratação dos vegetais. Para essa caracterização, é necessário determinar a quantidade e o estado de energia da água no sistema, sendo que a metodologia para essa determinação sofreu um grande desenvolvimento nas últimas seis décadas.

As medidas diretas do estado de hidratação de vegetais normalmente são demoradas e exigem destruição das amostras. Entretanto, têm sido desenvolvidas técnicas não-destrutivas para a determinação deste estado de hidratação, sendo uma delas a da absorção de raios beta por folhas vegetais, a qual vem sendo utilizada há cerca de duas décadas e recomendada pelas vantagens que apresenta, relacionadas à rapidez na medida e à possibilidade de controle contínuo do estado de hidratação da planta, pelo fato de ser não-destrutiva.

Apesar das diversas vantagens que possui, tal método não tem sido aproveitado em toda sua potencialidade, por possuir algumas limitações discutidas por vários autores.

O uso de correlações entre a radiação absorvida e a quantidade de água na folha, somente é compensador, quando a quantidade de matéria seca é desprezível em relação à quantidade de água. Além disso, como certas características da folha (tais como teor de matéria seca e elasticidade das células) variam de acordo com sua idade, sua posição na planta e trato cultural, são necessárias calibrações frequentes para cada folha, o que anula as vantagens apresentadas pelo método.

Quanto ao uso de correlações entre radiação absorvida e potencial da água na planta, observa-se que a estimativa deste último, assim feita, é muito discutível. De fato, nota-se que os trabalhos feitos nesse sentido não fazem uma análise detalhada dos dados obtidos, limitando-se apenas a apresentar as correlações.

A eliminação destas restrições ao método, pode torná-lo de muita utilidade no estudo das relações hídricas na planta e com base nisto, os objetivos desse trabalho são: (1) estudar um modo de estimativa de teor de água da folha através da absorção da radiação, sem necessidade de calibrações frequentes e destrutivas; (2) estudar com maiores detalhes o uso de correlações entre a absorção da radiação e o potencial da água da folha, para estimativa deste último; (3) verificar a possibilidade do emprego de raios-X na estimativa do estado de hidratação de vegetais.

3. REVISÃO DE LITERATURA

.3.1. <u>Conceituação, terminologia e medida direta do estado</u> <u>de hidratação de vegetais</u>

Na maioria dos trabalhos sobre relações hídricas em vegetais até começo da década de 60, utilizava-se a quantidade de água para caracterizar o estado de hidratação da planta, embora em bases não uniformes.

Os trabalhos iniciais (MILLER, 1917; KRAMER, 1937) expressavam a quantidade de água em relação ao peso seco da folha, mas como este último varia com a idade foliar, não é adequado para ser usado como referência (BARRS, 1968). Do mesmo modo, ao se empregar peso atual da folha (peso de água mais peso seco no momento da medida) no lugar do peso seco, foi observada a mesma inconveniência da variação da referência com o crescimento da planta (MILLER, 1917, citado em BARRS, 1968).

Para contornar esse problema, STOCKER (1928) introduziu o termo défice de saturação de água (expresso em porcentagem), definido pela diferença entre a quantidade de água da folha num dado momento e a quantidade de água na turgescência plena em relação ao teor máximo de água que a folha pode conter.

WEATHERLEY (1950) definiu o termo turgescência relativa, o qual expressa o conteúdo de água numa folha num dado momento, em relação à quantidade máxima do líquido que ela pode conter. Para evitar confusões com o termo potencial de turgescência, sugeriu-se depois o nome teor relativo de água (T.R.A.) para essa expressão.

Alguns pesquisadores procuraram desenvolver a metodologia para a determinação desses valores, visando diminuir o erro experimental. Neste sentido, WEATHERLEY (1950) modificou o procedimento metodológico de STOCKER (1928), utilizando discos no lugar de folhas inteiras. BARRS e WEATHER-LEY (1962) fizeram um estudo sobre os erros causados pela mudança do peso seco durante o tempo em que os discos de folha são deixados a saturar e propuseram soluções para diminuí-los, baseados na determinação do melhor tempo para atingir a saturação, sob condições de luminosidade e temperatura adequadas; além disso, testaram o uso de inibidores químicos do metabolismo, para evitar a variação de massa seca da folha. MILBURN e WEATHERLEY (1971), e PACARDO (1971), citado em SLAVIK (1974), também estudaram o problema do crescimento de folhas durante a saturação, propondo sua inibição pelo uso de temperaturas próximas de 0⁰C. CATSKY (1965) sugeriu uma correção no método, para eliminar erros durante a saturação, provenientes do crescimento rápido de folhas jovens e propôs um novo procedimento para se saturar o material vegetal.

CZERSKI (1968) usou um novo princípio para a determinação do défice de saturação de água, baseado na quan-

tidade de água infiltrada na folha para completar os espaços intercelulares, por meio de um dispositivo de injeção de água na folha sob pressão reduzida, o qual permite a determinação simultânea do T.R.A. em dez folhas.

· Enquanto esses autores trabalhavam com conteúdo de água na planta, outros pesquisadores se preocupavam com o estado de energia da água no vegetal. KRAMER e BRIX (1965), HOFFMAN e SPLINTER (1968), YANG e DE JONG (1968), por exemplo, sugeriram que a energia da água influencia os processos metabólicos mais diretamente do que qualquer outra medida do estado de hidratação da planta, com o que não concorda MILLAR (1971), o qual afirma haver poucas evidências para suportar esse ponto de vista ou para decidir qual das medidas do estado de hidratação das plantas está mais relacionada aos processos metabólicos importantes. BARRS (1968, p.236) afirma que um défice hídrico no vegetal so fica completamente caracterizado quando se mede simultaneamente quantidade e estado de energia Isso está demonstrado em trabalho de WEATHERLEY e da água. SLATYER (1957), quando determinaram as relações entre o teor hídrico e o estado de energia da água para diferentes espécies vegetais, mostrando que um determinado teor relativo de água pode significar graus diferentes de défices hídricos, quando expressos em termos de energia da água no sistema.

A conceituação e a terminologia do estado de energia da água no sistema solo-planta-atmosfera sofreram várias transformações durante as últimas seis décadas. Para a planta, PENNER (1915), citado em TAYLOR e SLATYER (1962), introduziu o termo "força de sucção da água", utilizado também por URSPRUNG e BLUM (1916), enquanto THODAY (1918) sugeriu o termo "poder de absorção da água". STILES (1922) utilizou o termo "pressão de sucção" e BECK (1928) "tensão de sucção". SHULL (1930) propôs "pressão osmótica efetiva" e CURTIS e SCHOFIELD (1933) utilizaram "pressão de turgescência". Até a década de 40 imperou a confusão de conceitos e termos relacionados ao estado de energia da água no sistema solo-planta-atmosfera. Tanto os fisiologistas vegetais como os físicos de solo trabalhavam sem uniformidade de termos e conceitos, causando muita confusão no meio científico. O primeiro passo para eliminar o problema foi dado por EDLEFSEN (1941), que propôs uma terminologia baseada em conceitos termodinâmicos, usando a "energia livre específica da água" para expressar seu estado de energia, constituida por várias componentes: pressão hidrostática, pressões devidas à concentração osmótica, campo gravitacional e tensão interfacial.

Enquanto os físicos de solo, como DAY (1941),EDLEFSEN e ANDERSON (1943), GARDNER e CHATELAIN (1947), GARDNER et alii (1951) começaram a aplicar conceitos termodinâmicos e a terminologia deles derivada à água do solo, os fisiolo gistas continuaram a propor termos não baseados nesses, con-MEYER (1945) propôs "défice de pressão de difusão " ceitos. (DPD), bastante aceito entre os botânicos e ainda encontrado na literatura moderna. O DPD da água numa solução foi definido como a quantidade pela qual a pressão de difusão da agua na solução é menor do que aquela da água pura a mesma temperatura e pressão, sendo expresso numericamente pela diferença algébrica entre pressão osmótica e pressão de turgescência.

BROYER (1947), entretanto, sugeriu que se aplicasse a conceituação e a terminologia termodinâmicas baseadas em energialivre, propondo o termo "energia livre específica do influxo líquido" (NIF), como sendo a diferença entre a soma algébrica das energias livres específicas que causam movimento da água para dentro e para fora do sistema (no caso, a célula). Embora aparentemente DPD e NIF sejam idênticos, o primeiro termo é mais restrito no sentidode que ele se aplica só às componentes pressão osmótica e pressão de turgescência, enquanto que o segundo descreve esses fatores e outros responsáveis pelo

movimento da água no sistema, como embebição, adsorção e fatores metabólicos.

TAYLOR e SLATYER (1962) afirmam que as propostas de BROYER (1947) não tiveram grande aceitação, muito embora permitissem uma descrição mais compreensiva do estado de energia da água em qualquer ponto do sistema aquoso na planta, e o DPD continuou a ser usado pela maioria dos pesquisadores que trabalhavam com relações hídricas na planta. Por outro lado, em trabalhos sobre relações da água no solo, os conceitos e termos baseados na Termodinâmica jã eram comumente aplicados.

Em 1959 houve em Madri um simpósio sobre relações hídricas em vegetais, patrocinado pela UNESCO, no qual TAYLOR e SLATYER (1962), respectivamente físico de solo e fisiologista vegetal, apresentaram trabalho propondo uma terminologia unificada nos jestudos das relações da água no sistema solo-planta. Segundo esses autores, muitos dos pesquisadores que trabalhavam neste assunto estavam usando termos e, algumas vezes, unidades de expressão diferentes para descrever a mesma quantidade, causando dificuldades e confusões desnecessárias no intercâmbio de idéias. Propuseram, então, uma base termodinâmica para a conceituação e terminologia das relações hídricas no sistema solo-planta, demonstrando as vantagens de seu uso. A partir dai, o termo potencial total da água (representado pela propriedade termodinâmica energia livre de Gibbs por mol ou potencial químico da água) é aceito para exprimir o estado de energia da água no sistema inteiro.

No 7º Congresso Internacional de Ciência do Solo, realizado em Madison, Estados Unidos, TAYLOR e SLATYER (1960) voltaram a apresentar esse mesmo trabalho, com as sugestões e críticas recebidas em Madri, o qual desde então é considerado como o trabalho básico sobre conceituação e terminologia a serem usadas em estudos de relações hídricas no solo e na planta.

A determinação do potencial da água na planta tem sido uma preocupação constante dos pesquisadores. Os métodos de medida utilizados são basicamente de três tipos: a) métodos de compensação; b) métodos diretos de medida da pressão de vapor acimado tecido e c) método da câmara de pressão. Muitos destes métodos já não são usados por apresentarem grandes erros ou serem pouco práticos, ou ambos. SLAVIK (1974) discute onze métodos de medida do potencial total da água na planta, dos quais apenas quatro são mais utilizados atualmente: o método do coranteoude CHARDAKOV (1938), do tipo de compensação; o da psicrometria de par termoelétrico, SPANNER (1951) e RI-CHARDS e OGATA (1958) baseado na medida de pressão de vapor acima do tecido; o da higrometria de par termoelétrico, NEUMANN e THURTEEL (1972), também baseado na medida da pressão de vapor acima do tecido; e o da câmara de pressão de SCHOLANDER et alii (1965).

Houve uma evolução histórica das técnicas de medida do potencial da água na planta. Desde o método de URS-PRUNG e BLUM (1916), citado em BARRS (1968), que utilizava uma célula, sendo de baixa precisão e de difícil utilização na prática, chegou-se ao método do corante ou de CHARDAKOV que, embora não tanto trabalhoso como o de URSPRUNG e BLUM, apresenta muitos problemas discutidos por KNIPLING (1967), com um erro de medida superior a 1 atmosfera (SLAVIK, 1974, p.72), Jão método da câmara de pressão de SCHOLANDER et alii (1965) é bastante prático, podendo ser usado no campo e no laboratório e apontada por SLAVIK (1974, p.73) é de ± 0,2 atsua precisão, mosfera. Entretanto, ele so mede tensão do xilema e ainda existem certos problemas com relação à técnica de medida, como discutem BOYER (1967), WARING e CLEARY (1967), PURITCH e TUR-NER (1973), SLAVIK (1974), BAUGHN e TANNER (1976),

Os métodos mais indicados na determinação direta do potencial da água na planta são aqueles baseados na me-

and the second second

dida da pressão de vapor d'água acima do tecido vegetal, depois de se atingir o equilíbrio termodinâmico entre o tecido e a atmosfera adjacente. Seu desenvolvimento foi devido ao trabalho pioneiro de SPANNER (1951), sobre o uso do efeito Peltier na construção de psicrômetros de par termoelétrico apropriados para esse tipo de medida.

RICHARDS e OGATA (1958) construiram um psicrômetro de par termoelétrico que não utiliza o efeito Peltier, o qual não teve grande aceitação devido às dificuldades de manuseio. RAWLINS (1966) e DALTON e RAWLINS (1968) discutiram a teoria dos psicrômetros de par termoelétrico; PECK (1968, 1969) discutiu o significado de erros causados por fontes de calor dentro da câmara psicrométrica e calculou seu tamanho mais adequado, visando minimizar erros provenientes dessas fontes. MILLAR (1971) discutiu outras fontes de erros (adsorção de vapor d'água nas paredes da câmara, resistência à difusão de vapor d'água, respiração do tecido vegetal, equilíbrio lento, dano da amostra e determinações ambíguas), bem como o modo de minimizã-los.

HOFFMANN e SPLINTER (1968) construíram um psicrômetro de par termoelétrico para medidas do potencial da água numa folha intacta, enquanto que HSIEH e HUNGATE (1970) montaram um aparelho que permite a diminuição do erro devido a flutuações de temperatura. MILLAR *et alii* (1970) deram um grande avanço nesta técnica, ao construírem um psicrômetro de termopar pouco sensível às mudanças de temperatura na câmarade amostragem, eliminando o problema do uso de um banho de temperatura constante, e possibilitando, desta maneira, medidas em condições não isotérmicas.

NEUMANN e THURTELL (1972) propuseram uma modificação no método, pela qual a pressão de vapor acima do tecido é medida por meio da depressão de temperatura no ponto de orvalho e não pela depressão psicrométrica. Esses pesquisadores chamaram o novo

método de higrometria de par termoelétrico e CAMPBELL e CAMP-BELL (1973) · discutiram a teoria do mesmo, sugerindo diversos procedimentos para sua utilização. NEUMANN et alii (1974a) usaram a nova técnica para medida de potencial da água de folhas intactas de três espécies vegetais a diversas taxas de transpiração. NEUMANN et alii (1974b) estudaram a relação entre ψ e T.R.A. em quatro espécies vegetais usando um higrômetro de termopar. Esses autores observaram que a higrometria tem a grande vantagem de ser relativamente insensível às trocas de calor dentro da câmara de amostras, o que não ocorre com a psicrometria. BAUGHN e TANNER (1976) fizeram uma comparação das medidas "in situ" de potencial da água através do higrômetro de termopar e da câmara de pressão, para cinco espécies herbáceas, encontrando diferenças entre as medidas dos dois métodos, atribuindo-as principalmente aos erros causados na câmara de pressão, pela perda evaporativa de água da folha antes e durante a pressurização.

A psicrometria e a higrometria de par termoelétrico são consideradas como métodos padrões na determinação do estado de energia da água no sistema solo-planta-atmosfera, por apresentarem uma boa precisão de medida, ± 0,2 atmosfera, segundo SLAVIK (1974, p.73). Um problema que estes métodos apresentam refere-se ao tempo necessário para que o tecido vegetal e a atmosfera da câmara entrem em equilíbrio; para certas espécies, esse tempo pode ser da ordem de 1 hora ou mais.

Alguns pesquisadores têm discutido a interpretação das medidas do potencial de água em discos de folhas, através da psicrometria e da higrometria de par termoelétrico (OERTLI *et alii*, 1975), e os efeitos da excisão desses discos sobre o valor de ψ (BARRS e KRAMER, 1969 e BAUGHN e TANNER, 1976), já que essa parece ser a maior fonte de erro que persiste depois do aperfeiçoamento do método. Outros pesquisadores têm proposto e construído psicrômetros e higrômetros que permitem medida de ψ na folha intacta (HOFFMAN e SPLINTER, 1968; CAMPBELL e CAMPBELL, 1973; NEUMANN *et alii*, 1974), ou que diminuem os erros devido ao corte da folha (BROWN, 1976).

3.2. Estimativa do estado de hidratação de vegetais pela técnica de absorção de raios-β.

Os pesquisadores têm procurado criar métodos indiretos para a determinação do estado de hidratação de vegetais, com a finalidade de diminuir o tempo de medida, possibilitar o uso em condições de campo, e não destruir a amostra vegetal. Esses métodos consistem em se obter uma curva de calibração entre o estado de hidratação e certas propriedades do tecido vegetal que variam com seu teor de água, como: constante dielétrica; condutividade elétrica; ressonância magnética nuclear; refletância da radiação incidente; e absorção da radiação proveniente de compostos radioativos.

De acordo com BARRS (1968) e SLAVIK (1974), os primeiros pesquisadores a usarem radiação beta na determinação da massa vegetal e da espessura de folhas, foram BOLGARINA e EIDUS (1956) e YAMADA *et alii* (1961). Esses trabalhos, entretanto, não despertaram grande interesse pelo fato de seus autores não se preocuparem com o teor de água da planta.

MEDERSKI (1961) foi o primeiro pesquisador a usar raios beta especificamente na determinação do estado interno de hidratação de vegetais, colocando folhas de soja entre uma fonte radioativa de C e um detector Geiger-Muller. Considerando que esse arranjo possibilitava uma medida da absorção da radiação pela folha e que, sob certas condições, a quantidade de matéria seca do tecido permanece aproximadamente constante a curtos intervalos de tempo, esse autor concluiu que a variação da absorção dos raios beta era devida principalmente à mudança no estado de hidratação do tecido, e estabeleceu equações de regressão entre taxa de contagem e turgescência relativa de dez folhas, cujos coeficientes de determinação linear variaram de 0,93 a 0,99. Nos estudos deste autor, a turgescência relativa variou de 65 a 100%. Embora não se faça comentários no trabalho, aparentemente o autor não trabalhou com um estado de hidratação menor porque, neste caso, o coeficiente de determinação talvez não fosse alto, já que a quantidade de matéria seca não pode ser desprezada em relação à fase aquosa do sistema. Embora se realce as vantagens do método, relacionadas à rapidez de determinação e à possibilidade de se fazer medidas consecutivas numa mesma folha, a praticabilidade do método é restringida pela necessidade de calibração individual para cada folha.

WHITEMAN e WILSON (1962) estudaram a possibilidade de estimativa do potencial da água (DPD, na terminologia usada no trabalho) através da relação entre turgescência relativa e DPD, calculando-se este último através da medida do primeiro parâmetro, feita por absorção de radiação beta. Esses autores usaram folhas de sorgo em crescimento sob condições controladas, e mostraram que o uso da correlação entre turgescência relativa e DPD causa um erro de 10% na estimativa deste último e que a correlação varia de acordo com a idade fisiológica e a posição da folha na planta, restringindo a utilidade do método. A variabilidade encontrada na determinação da turgescência relativa pela absorção de radiação também foi grande entre folhas em posições e idades fisiológicas diferentes, o que os levou a concluir ser o método inadequado para estimar o estado de energia da água em plantas. Sugeriram, entretanto, que os erros devidos à variabilidade podem ser reduzidos subtraindo-se a taxa de contagem medida com a amostra seca da taxa de contagem medida com a amostra úmida, mas isso tiraria a vantagem do método de ser não-destrutivo.

NAKAYAMA e EHRLER (1964) discutiram a teoria do método e seus erros, e sugeriram as fontes radioativas mais desejáveis de acordo com a espécie vegetal. Apresentaram detalhes da geometria do sistema fonte-detector e mediram as variações de absorção de radiação de folhas de algodão sob condições variáveis de luz, usando fonte radioativa de ¹⁴⁷Pm. 0s autores citam que as curvas de calibração foram similares àquelas de MEDERSKI (1961), e apenas apresentam gráficos dos dados de taxa de contagem, turgescência relativa, espessura do absorvedor e défice de pressão de difusão, em função das condições de luz dadas às plantas. Concluiram que o método permite seguir as variações do estado de hidratação da planta, tanto com relação à turgescência relativa quanto ao potencial da água, contradizendo as conclusões de WHITEMAN e WILSON (1962) com relação à estimativa do último parâmetro. A análise dos resultados mostra que os autores trabalharam num estado de hidratação relativamente alto (turgescência relativa entre 70 e 80% e potencial da água entre -15 e -16 atmosferas), provavelmente pelas mesmas razões apresentadas quando se citou o trabalho de MEDERSKI (1961).

GARDNER E NIEMAN (1964), através do método de absorção de raios beta, mediram o potencial da água (DPD na terminologia dos autores) em folhas de pimenta, num trabalho sobre a definição do limite inferior de disponibilidade de água para plantas dessa espécie. Esses autores não discutiram a metodologia utilizada, limitando-se a citar o uso de uma fonte de ⁹⁹Tc.

SKIDMORE e STONE (1964) usaram raios beta do ¹⁴C para determinar massa de folhas de algodão, num trabalho sobre o papel fisiológico da planta no controle da transpiração. Os autores apenas citaram a utilização do método, não entrando em detalhes sobre o mesmo.

JARVIS e SLATYER (1966) afirmaram que as folhas apresentam diferenças de espessura, de acordo com a espécie, idade, posição na planta e condições ambientais durante seu desenvolvimento, havendo diferenças até entre diferentes regiões numa mesma folha. Desse modo, quando se usa o método, dever-se-ia calibrá-lo para uma determinada região da folha e os resultados seriam válidos somente para essa região. Uma calibração envolvendo várias medidas de absorção de raios beta a diversos teores de água na folha consome muito tempo. Devido a isso, os autores propuseram uma maneira de simplificá-la, utilizando apenas um teor de água conhecido para medida da absorção de radiação, juntamente com a determinação da área e dos pesos turgido e seco do disco de folha. Apresentaram também curvas de calibração para diversas folhas de algodão, utilizando-se esta metodologia. Esse trabalho representou um grande avanço no método, principalmente no que se refere à sua praticabilidade, mas não eliminou o problema decorrente das necessidades de destruição do material vegetal e de calibrações individuais de folha.

YANG e DE JONG (1968) utilizaram a técnica de absorção de raios beta para a medida de "stress" hídrico em trigo, e apresentaram equações de regressão entre potencial da água versus taxa de contagem e potencial da água versus turgescência relativa, para folhas de plantas com 4 e 8 semanas de idade, cujos coeficientes de determinação (r²) variaram de 0,81 a 0,99. Por outro lado, encontraram também uma grande variabilidade na absorção de radiação entre folhas de uma mesma planta e entre folhas na mesma posição em plantas diferentes, atribuindo isso às diferenças no teor de matéria seca, pelo que parece haver uma contradição com relação aos altos coeficientes de determinação obtidos. Desta maneira, a conclusão por eles apresentada, de que a técnica de raios beta pode ser empregada para estimar potencial da água da folha, torna-se duvidosa.

PEYNADO e YOUNG (1968) determinaram as variações da umidade em folhas de citrus, de 8 meses e 3 anos de idade, expostas a diversas condições ambientais, através da absorção de raios beta do ¹⁴⁷Pm, encontrando relações lineares, com altos coeficientes de correlação entre turgescência relativa e logarítmo da taxa de contagem, e entre espessura do absorvedor e logarítmo da taxa de contagem.

MEDERSKI e ALLES (1968) publicaram um trabalho sobre a influência das variações das características das folhas com a idade, na estimativa do estado de hidratação de vegetais através da técnica de absorção de raios beta. Trabalhando com uma variedade de soja, concluíram que, para folhas com menos de 20 dias de idade, as calibrações devem ser feitas a intervalos não maiores que algumas horas, enquanto que, para folhas adultas esse período pode ser aumentado para 24 e até 48 horas, pelo fato de o teor de matéria seca por unidade de area (densidade superficial ou espessura) aumentar com a idade da folha e com sua contração lateral, quando do processo de secamento. Com relação ao aumento da espessura devido à contração, verificaram que ela é mais pronunciada quando as folhas são jovens, diminuindo gradualmente à medida que a folha se torna adulta. Com base nestes resultados, os autores chamam a atenção de que se deve levar em conta o teor de matéria seca quando se estabelece correlações entre teor de água e absorção de radiações. Os autores comentaram que tais problemas invalidam o procedimento de calibração proposto por JARVIS e SLA-TYER (1966), porque ele é baseado na suposição de que a área foliar permanece constante quando a folha perde água.

BIELORAI (1968) utilizou uma fonte de ¹⁴⁷Pm para medir as variações no estado de hidratação de folhas de mudas de citrus decorrentes da variação da umidade do solo. Encontrou boas correlações (r acima de 0,89) entre espessura da folha versus taxa de contagem, e turgescência relativa versus taxa de contagem. Apresentou, também, uma relação entre taxa de contagem na folha e umidade do solo, nos diferentes ciclos de umedecimento e secamento do solo. O autor não citou a duração de cada ciclo e nem o tempo total gasto no experimento, supondo-se que usou uma única equação de regressão entre turgescência relativa e taxa de contagem, para cada variedade estudada, em todo o tempo do experimento.

ROLSTON e HORTON (1968) compararam duas fontes radioativas, uma de ¹⁴C e outra de ¹⁴⁷Pm, na determinação do teor relativo de água em soja, concluindo que a fonte de 14C permitiu maior sensibilidade do que a de ^{14 7}Pm na determinação de pequenas variações de turgescência relativa, e também que a fonte de Carbono deu uma correlação entre taxa de contagem versus turgescência relativa significativamente maior na faixa de 60 a 100% de T.R., do que na faixa de 20 a 60%, o mesmo não acontecendo com a de¹⁴⁷Pm. Trabalharam também com sorgo e cevada, para os quais o coeficiente de correlação linear, utilizando a fonte ¹⁴C, so foi significativo quando se usou discos de folhas e quando o teor relativo de água se manteve entre 60% e 100%, concluindo os autores que, para essas espécies, o método so pode ser usado quando se considera a posição da folha na planta e quando esta não está sujeita a condições extremas de deficiência hídrica. Os autores confirmaram, assim, trabalhos anteriores que citam as restrições devidas à variação da espessura de matéria seca com o processo de secamento e de ontogenia da folha.

LANG *et alii* (1969) estimaram o balanço hídrico de folha durante oscilação induzida da abertura estomatal e o potencial da água na folha em função do tempo. O potencial foi estimado através de uma equação que relacionava os pesos túrgido, fresco e seco da folha. O peso fresco foi determinado a partir da densidade superficial e da área da folha, assumindo que esta última não variava com o teor hídrico, embora MEDERSKI e ALLES (1968) já tivessem demonstrado não ser isto verdadeiro. Entretanto, consideraram que um erro de até 25% na determinação do peso fresco estava dentro da precisão necessária do trabalho. A densidade superficial foi medida através da técnica de absorção de raios beta (fonte de ⁹⁹Tc) sendo a calibração realizada com folhas de alumínio.

BUSCHBOM (1970) utilizou fonte de 85 Kr e fez medidas comparativas entre a absorção de raios beta por materiais homogêneos (folhas de alumínio, de plástico e papel de filtro) e heterogêneos (folhas vegetais de estruturas anatômicas diferentes), encontrando grandes diferenças na absorção entre materiais de mesma espessura. O autor concluiu que quando se faz curva de calibração para T.R.A. de folhas vegetais, utilizando alumínio (LANG *et alii*, 1969), os resultados contêm grandes erros devido a essa extrapolação. Além disso, estudou também as flutuações do teor de água para algumas espécies vegetais sob diversas condições ambientais, concluindo que a sensibilidade do método de absorção de raios-beta para determinação da densidade superficial da folha é de 0,1 mg.cm⁻².

CHEN *et alii* (1971) estudaram os efeitos de défices hídricos na fotossíntese e no diâmetro do caule em plantas de soja, determinando o teor relativo de água das folhas através da absorção de raios beta. A metodologia usada nessa medida não é discutida, citando-se somente a utilização de fonte radioativa de ¹⁴C. Entretanto, uma análise dos dados mostra que os autores usaram folhas com défice hídrico pequeno (T.R.A. entre 80 e 92%).

Considerando que os principais fatores limitantes da plena utilização do método são relacionados à variabilidade do material foliar, à contração lateral da folha, à histerese e ao crescimento vegetal, JONES (1973) realizou um trabalho com a finalidade de investigar a influência desses fatores na estimativa do estado de hidratação de folhas de algo-

dão, através da absorção de raios beta provenientes de uma fonte de ¹⁴⁷Pm. A calibração entre espessura da folha e absorção da radiação foi feita com folhas de alumínio, porque experimentos preliminares mostraram ser ela idêntica tanto para absorvedores de material homogêneo como heterogêneo, embora o autor cite o fato de que seus resultados estavam em contradição com os de BUSCHBOM (1970). O trabalho mostrou que a variabilidade de material vegetal, a posição da folha, a idade da planta e a ontogenia limitam a precisão do método, enquanto que a histerese pode ser desprezada, Segundo o autor, as alternativas para a calibração, sugeridas por outros pesquisadores para eliminar essas limitações, ou diminuir o tempo de trabalho, requerem amostragem destrutiva e só são úteis em circunstâncias em que não há contração lateral. Ele propôs então, uma técnica de amostragem paralela para não sacrificar a grande vantagem do método em ser não destrutivo. Através desta técnica seria possível estimar a densidade superficial da folha túrgida e o seu teor relativo de água. Para essa amostragem, seria necessário o uso de plantas similares, ou o uso de discos da mesma folha ou discos de folhas diferentes da mesma planta. O autor comenta, também, a dificuldade em se obter plantas similares, e como esse tipo de amostragem poderia afetar a fisiologia e as relações hídricas na planta ou na folha, embora um estudo por ele realizado tenha demonstrado que tal procedimento não teve efeito significativo sobre as relações hídricas e os parâmetros fotossintéticos em cultura de algodão. O grande problema da técnica parece ser, portanto, a extrapolação de medidas feitas na planta ou na folha paralela para aquela em estudo.

Num trabalho sobre efeito de "stress" hídrico no crescimento e produção de milho em solos da Nigéria, BABA-LOLA e LAL (1973) aplicaram a técnica da absorção de raios beta na determinação dos potenciais da água na folha sob diversos tratamentos de umidade do solo. Os autores não discutem a metodologia utilizada, citando apenas o uso de uma fonte de ¹⁴⁷Pm.

NEUMANN *et alii* (1974) estudaram as relações entre potencial da água e teor relativo de água em folhas de milho, soja, sorgo e girassol, sendo o segundo parâmetro medido através de absorção de raios beta de uma fonte de ¹⁴C. Embora a finalidade do trabalho não fosse estudar a metodologia, os autores discutem algumas anormalidades nos dados obtidos, com base nos erros causados pela técnica da absorção de radiação devido à variação da matéria seca com a idade da folha e sua contração lateral.

OBRIGEWITSCH et alii (1975) descreveram várias modificações no método de absorção de radiação. Demonstraram, através da lei de Beer-Lambert, que é possível obter uma curva de calibração pela medida das intensidades da radiação emergente da folha túrgida e da folha seca. As vantagens desse procedimento residem nos fatos de que não ha necessidade de pesagem das amostras túrgidas e secas e de que se necessita somente um disco para estabelecer a curva de calibração de cada folha. Os autores demonstraram que a variabilidade nas curvas de calibração para diferentes folhas é devida, além da idade da folha, à variação do peso da folha túrgida, em consequência das diferenças de concentração osmótica entre folhas diferentes ou mesmo em regiões de uma mesma folha. Comentam também que, como o procedimento de calibração sugerido é simplificado, a calibração de cada folha não se torna proibitiva. Desse modo, a determinação do estado de hidratação de folhas de uma espécie vegetal exigiria as medidas das intensidades da radiação emergente da folha no momento da medida, depois de colocada em turgescência completa e depois de seca. Embora a calibração e a medida com esta técnica sejam simplificadas, ainda persiste o problema da necessidade de destruição da amostra para saturação e secagem.

3.3. Conclusão

A caracterização de um défice hídrico em vegetais deve ser feita através de dois parâmetros, a quantidade e o estado de energia da água na planta. A quantidade é definida pelo teor relativo de água (T.R.A.) ou pelo défice de saturação de água (D.S.A.), os quais envolvem a determinação dos pesos atual,, túrgido e seco da folha. O termo "potencial da água" deve ser usado para expressar o seu estado de energia em qualquer parte do sistema solo-planta-atmosfera e a determinação desse parâmetro na planta pode ser feita através de vários métodos, sendo que o da psicrometria e o da higrometria de par termoelétrico são considerados os mais precisos.

Os maiores problemas dos métodos de determinação desses parâmetros relacionam-se ao tempo consumido na medida e à necessidade de se destruir a amostra vegetal. Isso levou os pesquisadores a desenvolverem métodos indiretos para avaliar o estado de hidratação de vegetais.

A técnica de absorção de raios beta por folhas vegetais tem sido utilizada na determinação destes dois parâmetros, possuindo as vantagens de ser um método não-destrutivo e de permitir um controle contínuo do estado de hidratação da planta. Entretanto, ela exige calibrações para cada folha e, devido à variação das características físicas da folha com seu processo de ontogenia, a calibração individual precisa ser refeita constantemente, eliminando as vantagens do método em ser rápido, prático e não destrutivo. Tem-se tentado alterar o procedimento de calibração, de modo a diminuir o tempo nela consumido, mas as alternativas apresentadas não contornam os problemas da necessidade de se destruir o material foliar e de se ter uma calibração individual.

Há discordância nos trabalhos apresentados nesta revisão, no que diz respeito à estimativa do potencial da água na folha através da técnica de absorção de radiação. Assim, WHITEMAN e WILSON (1962) não são favoráveis ao uso desta metodologia, devido aos grandes erros nela envolvidos. Outros autores (NAKAYAMA e EHRLER, 1964; YANG e DE JONG, 1968; LANG, 1969; BABALOLA e LAL, 1973), embora encontrassem correlações significativas para as curvas de calibração, não discutem os resultados obtidos.

Portanto o método so será prático e de confiança quando forem solucionados os problemas relativos à sua calibração e quando se chegar a alguma conclusão sobre a possibilidade de se usá-lo na estimativa de ψ .

, Na literatura consultada não se encontrou referência sobre o uso de raios-X na estimativa do estado de hidratação de vegetais.

4. METODOLOGIA

4.1. Determinação do teor relativo de água

4.1.1. Teoria

O método proposto neste trabalho, para a estimativa da quantidade de água em plantas, consiste na medida da atenuação de dois feixes distintos de radiação através de folhas vegetais.

Nos itens seguintes são expostas as bases teóricas necessárias ao entendimento do método.

> 4.1.1.1. Interação e absorção de raios-β pela matéria

As partículas beta dissipam sua energia através de ionização e excitação dos átomos com os quais elas interagem. Pode haver, também, interação com o campo coulombianodo núcleo atômico, mas isso só ocorre entre partículas de alta energia e absorvedores de elevado número atômico, havendo formação de radiação eletromagnética, conhecida como "radiação de frenagem".

A atenuação de um feixe de particulas beta por um absorvedor, de acordo com CHASE e RABINOWITZ (1967), e WANG e WILLIS (1965), pode ser descrita pela lei de LAMBERT-BEER:

$$I = I_{00} \cdot e^{-U \cdot x}$$
 (1)

onde:

- I= intensidade do feixe de particulas emergente do absorvedor (c.P.m.)
- I₀₀ = intensidade do feixe de partículas incidente no absorvedor (c.p.m.)
 - \overline{u} = coeficiente de absorção de massa do absorvedor para raios beta (L².M⁻¹)
 - \bar{x} = densidade superficial do absorvedor (M.L⁻²).

Pelo fato da absorção de raios-ß ser exponencial devido aos efeitos combinados do espectro de energia e do espalhamento das partículas, WANG e WILLIS (1965) denominam esse processo de "pseudo-exponencial", em contraposição à absorção da radiação eletromagnética (por exemplo, raios-X), que é de natureza verdadeiramente exponencial.

4.1.1.2. Interação e atenuação de raios-X pela matéria

A interação de um fóton com a matéria pode ocorrer com o núcleo atômico (fotodesintegração e efeito Mossbauer), com um elétron da coroa eletrônica (efeitos Compton, fotoelétrico, Rayleigh e Thomson) ou com o campo coulombiano do núcleo (efeito de produção de par).

A atenuação de um feixe monoenergético colimado de raios-X é também descrita pela lei de LAMBERT-BEER:

onde $\overline{\mu}$ é o coeficiente de atenuação de massa para o material em estudo, tendo os outros termos os mesmos significados dos da equação (1).

Segundo EVANS (1969), a faixa de energia mais comumente utilizada em Biologia está entre 0 e 10 MeV, na qual somente os efeitos fotoelétrico, Compton e de produção de par são importantes. A Figura 1 mostra a importância relativa dessas três interações, para fótons numa grande faixa de energia e para absorvedores de vários números atômicos (Z)[.]





Todos os processos de interação dos raios-X e raios- γ são competitivos entre si, como mostra a Figura 1. A probabilidade de que cada processo ocorra independentemente pode ser expressa pela secção de choque por átomo, por elétron ou por núcleo do absorvedor. A soma de todas as secções de choque por átomo dá a probabilidade de que o fóton incidente tenha uma interação, quando passar por um absorvedor que contenha um átomo por cm² de área normal ao caminho desse fóton. O coeficiente de atenuação linear (μ) é definido, então, como a secção de choque total por átomo, multiplicada pelo número de átomos por cm³ de absorvedor, quando o fóton atravessa 1 cm desse absorvedor. O coeficiente de atenuação de massa ($\overline{\mu}$) é definido por μ/ρ , onde ρ é a densidade do absorvedor.

A secção de choque teórica para o efeito fotoelétrico pode ser calculada pela seguinte equação geral (KAPLAN, 1970):

$$a^{\tau} = \kappa \frac{Z^{5}}{(hv)^{7/2}}$$
(3)

onde:

 a^{τ} = secção de choque por átomo (cm²) Z = número atômico do absorvedor hv = energia do fóton (MeV) κ = 1,019 x 10⁻³³ (cm².MeV^{3,5})

Entretanto, EVANS (1969) afirma que tanto a teoria como a experimentação mostram que os expoentes de Z e (hv)não são fixos, mas variáveis em função da própria energia do fóton. O expoente de Z varia do valor 4, para fótons com energia de 100 KeV, a 4,6 para fótons com energia de 3 MeV. HINE e BROWNELL (1956) afirmam que o expoente de (hv) varia ligeiramente com o número atômico e a energia do fóton, citando que seu valor é tomado como 3,05 e 2,94 por LEA (1946) e SPIERS
(1946), respectivamente, para interação entre fótons com energias inferiores a 200 KeV e elementos de baixo número atômico, como hidrogênio, carbono, nitrogênio e oxigênio, diminuindo lentamente para elementos de Z mais alto. Porisso, EVANS (1969) propõe que uma aproximação mais útil para o cálculo de $_{a}$ T pode ser a seguinte:

Descrições detalhadas sobre a secção de choque teórica por átomo para efeito Compton e produção de par também são encontradas em EVANS (1969).

A partir da secção de choque por átomo, é possível conhecer o coeficiente de absorção linear para cada efeito. Por exemplo, o coeficiente de absorção linear para o efeito fotoelétrico pode ser calculado multiplicando simplesmente a secção de choque pelo número de átomos por unidade de volume.

 $\tau = a\tau \cdot N \quad \dots \quad (5)$

Do mesmo modo, o coeficiente de atenuação linear para efeito Compton (σ) e o coeficiente de absorção linear para efeito de produção de par (κ), são calculados respectivamente, do seguinte modo:

 $\sigma = a \sigma \cdot N \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad (6)$

 $\kappa = a \kappa \cdot N \quad \quad (7)$

O coeficiente de atenuação linear total será:

μ = τ + σ + κ

O coeficiente de atenuação de massa total será:

$$\overline{\mu} = \frac{\mu}{\rho} = \frac{\tau}{\rho} + \frac{\sigma}{\rho} + \frac{\kappa}{\rho} \quad \dots \quad (8)$$

onde:

$$\frac{\tau}{\rho}$$
 = coeficiente de absorção de massa para efei-
to fotoelétrico

 $\frac{\sigma}{\rho}$ = coeficiente de atenuação de massa para efeito Compton

$$\frac{\kappa}{\rho}$$
 = coeficiente de absorção de massa para efei-
to de produção de par ·

A partir da equação (3), o coeficiente de absorção de massa para o efeito fotoelétrico pode ser determinado por:

$$\frac{\tau}{n\rho} = a^{\tau} \cdot \frac{n}{A} \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad \dots \quad (9)$$

sendo:

n = número de átomos/mol

A = peso molecular (em g/mol ou mg/mol)

Numa mistura ou num composto com diversos elementos, $\overline{\mu}$ pode ser calculado do seguinte modo:

sendo $\overline{\mu}_1$, $\overline{\mu}_2$ e $\overline{\mu}_n$ os coeficientes de atenuação para os elementos 1, 2 e n, e P₁, P₂ e P_n a fração, em peso, de cada elemento no composto ou mistura.

4.1.1.3. Atenuação⁽¹⁾ de um feixe de radiação por uma folha vegetal

No método de estimativa do teor de água através de feixes de radiação, é necessário medir a fração do número de partículas ou de fótons atenuados pela folha. Uma partícula ou um fóton percorre uma trajetória até chegar ao elemento sensível de detecção, sendo atenuado em diferentes meios.

A Figura 2 mostra o esquema de uma folha vegetal colocada entre uma fonte radioativa e um detector e os diversos meios que atenuam um feixe colimado da radiação. Para facilidade de compreensão, a espessura de cada constituinte da folha (matéria seca, ägua e ar) é mostrada separadamente, embora isso não ocorra na natureza.



C.CiarelliBrunini

0.0101 entrol etim

Figura 2 - Esquema dos diversos meios atravessados por um feixe colimado de radiação quando de sua passagem por uma folha vegetal. A proporção entre as espessuras dos meios não é real.

⁽¹⁾ Para facilidade de explanação, a partir desse ponto utilizar-se-á o termo atenuação para designar tanto o processo de absorção de raios-β como qualquer processo de absorção ou de atenuação de raios-X. Conceitualmente, os termos absorção e atenuação têm significados diferentes, já que este último refere-se à absorção mais o espalhamento dos fótons de um feixe radioativo.

Neste caso, a lei de LAMBERT-BEER torna-se:

- I = intensidade da radiação registrada pelo detector (cpm)
- I_{00} = intensidade do feixe ao sair da fonte radioativa (cpm)
- $\overline{\mu}_{s}, \overline{\mu}_{a}, \overline{\mu}_{ar}, \overline{\mu}_{m}$ = coeficientes de atenuação de massa para matéria seca, água, ar e mica (para o caso de detector de câmara de ionização), respectivamente (cm².mg⁻¹)
- \overline{x}_s , \overline{x}_{ar} , \overline{x}_a = densidades superficiais de matéria seca, água e ar na folha (mg.cm⁻²)
- $\overline{x}_{ar}^{\prime}$, $\overline{x}_{ar}^{"}$ = densidade superficial de ar nas camadas anterior e posterior à folha (mg.cm⁻²)
- \overline{x}_{m} = densidade superficial da janela de mica do detector (mg.cm⁻²)

, A equação (11) pode ser reescrita da seguinte forma:

$$I = I_{00} \cdot e^{-\left[\overline{\mu}_{ar}(\overline{x}'_{ar} + \overline{x}''_{ar}) + \overline{\mu}_{m}\overline{x}_{m}\right]} \cdot e^{-\left[\overline{\mu}_{s}\overline{x}_{s} + \overline{\mu}_{a}\overline{x}_{a} + \overline{\mu}_{ar}\overline{x}_{ar}\right]} \cdot (12)$$

Se nas determinações for usada uma geometria fixa, isto é, se a distância fonte-detector e a espessura da janela de mica forem constantes, pode-se definir um valor I_0 do seguinte modo:

$$I_0 = I_{00} e^{-\left[\overline{\mu}_{ar} \left(\overline{x}'_{ar} + \overline{x}''_{ar}\right) + \overline{\mu}_m \overline{x}_m\right]} \dots (13)$$

Portanto, a equação (11) torna-se:

$$I = I_0 e^{-(\overline{\mu}_s \overline{x}_s + \overline{\mu}_a \overline{x}_a + \overline{\mu}_{ar} \overline{x}_{ar})} \dots \dots (14)$$

A equação (14) descreve a atenuação de um feixe colimado de radiação por uma folha vegetal levando-se em conta a influência de cada constituinte do meio. O último termo dentro da exponencial, $\overline{\mu}_{ar} \ \overline{x}_{ar}$, é desprezível em relação aos outros, porque a densidade do ar é da ordem de 1000 vezes menor que as densidades da matéria seca e da água. Portanto, o erro que se comete ao desprezar esse termo é inferior a 0,2%. Desse modo, a equação (14) pode ser reescrita da seguinte forma:

onde I e I $_0$ são as intensidades do feixe que atingem'o detector com e sem a folha vegetal, respectivamente.

4.1.1.4. Estimativa da quantidade de água e de matéria seca de uma folha vegetal pelo uso de dois feixes simultâneos de radiação

Se dois feixes distintos de radiação atravessam uma folha simultaneamente, obtém-se duas equações do tipo da expressão (15), que representam o mesmo estado físico da folha, isto é, a mesma espessura de matéria seca e de água. Pode-se usar dois feixes de radiação beta com energias máximas distintas, ou dois feixes de radiação eletromagnética com energias diferentes. O sistema de equações que se obtém, considerando--se o uso de um feixe de partículas β e um feixe de raios-X, como se fez neste trabalho, é o seguinte:

33.

ou

Nesse sistema de equações, $(I_{0\beta}/I_{\beta}) \in (I_{0\chi}/I_{\chi})$ são as medidas da atenuação de raios- β e raios- χ pela folha, respectivamente; \overline{u}_{s} , \overline{u}_{a} , $\overline{\mu}_{s}$ e $\overline{\mu}_{a}$ são constantes determinadas anteriormente às medidas; e $\overline{\chi}_{s}$ e $\overline{\chi}_{a}$ são as incógnitas do problema, representando, respectivamente, a densidade superficial de matéria seca e de água na região da folha por onde os feixes passaram.

> 4.1.1.5. Estimativa do teor relativo de água numa folha pelo uso de dois feixes radioativos

No item anterior foi descrita a possibilidade de se estimar a densidade superficial, e portanto, o peso de matéria seca e água numa folha através do uso de feixes de radiação. Entretanto, a melhor forma de se expressar a quantidade de água numa folha é através do seu teor relativo de água, definido pela expressão:

T.R.A. = <u>Peso de água no momento da medida</u> ... (20) Peso da folha túrgida - Peso da folha seca

O peso de água e o peso da folha seca podem ser obtidos pela passagem dos feixes radioativos, mas o peso túrgido não pode ser determinado sem destruição da amostra, sendo isso uma inconveniência que deve ser superada. Um modo de superá-la é fazer um estudo da relação entre peso da folha túrgida e peso de matéria seca, para verificar a possibilidade de estimativa do primeiro parâmetro através do último. Dessa forma, poder-se-ia determinar o teor relativo de água pela expressão:

T.R.A. =
$$\frac{\overline{x}_a}{\overline{x}_t - \overline{x}_s}$$
 (21)

sendo:

- x_a = densidade superficial de água no momento da medida, estimada através das equações (18) e (19)
- \overline{x}_s = densidade superficial de matéria seca da folha, estimada através das equações (18) e (19)
- \overline{x}_t = densidade superficial da folha túrgida, estimada a partir de \overline{x}_s

4.1.1.6. Erro na Medida

Pequenas variações na espessura do absorvedor, causadas por mudanças no teor de matéria seca, ou de água, ou de ambas, causarão uma variação de intensidade dI/I, que pode ser calculada a partir da lei de LAMBERT-BEER:

ou

Para \overline{x}_a constante, tem-se:

$$d\overline{x}_{s} = -\frac{1}{\overline{\mu}_{s}} \cdot \frac{dI}{I}$$
 (23)

Para \overline{x}_s constante:

$$d\overline{x}_a = -\frac{1}{\overline{\mu}_a} \cdot \frac{dI}{I}$$
 (24)

Através das equações (23) e (24), vê-se que a precisão das medidas de $\overline{x}_s e \overline{x}_a$ depende da precisão das determinações de I. Segundo FERRAZ (1974), as flutuações estatisticas na medida da intensidade da radiação e as limitações de precisão e estabilidade do equipamento de detecção são as principais causas da incerteza na medida de dI/I.

Ao nível de 68% de probabilidade, a incerteza numa medida de contagem de eventos pode ser considerada como a raiz quadrada do número de impulsos contados (WANG e WILLIS, 1965; CHASE e RABINOWITZ, 1967).

$$\frac{\Delta N}{\sqrt{N}} = \frac{1}{\sqrt{N}}$$
 (25)

Considerando-se
$$\frac{dN}{N} \simeq \frac{\Delta N}{N}$$
, tem-se:

$$\frac{\mathrm{dN}}{\mathrm{N}} \simeq \frac{1}{\sqrt{\mathrm{N}}} \qquad (26)$$

ou, para um feixe de radiação de intensidade I:

$$\frac{dI}{I} \simeq \frac{I}{\sqrt{I}} = \frac{1}{\sqrt{I_0 e^{-\overline{\mu}_s \overline{x}_s - \overline{\mu}_a \overline{\tau}_a}}} \dots (27)$$

Se for considerada a folha seca, tem-se:

$$\frac{dI}{I} \simeq \frac{1}{\sqrt{I_0 \cdot e^{-\overline{\mu}_s - \overline{x}_s}}}$$
(28)

ou, através da equação (23):

ou, ainda,

$$-\frac{d\overline{x}_{s}}{\overline{x}_{s}} \approx \frac{1}{\overline{\mu}_{s}\overline{x}_{s}} \sqrt{I_{0.e}^{-\overline{\mu}_{s}}\overline{x}_{s}}$$
(30)

e, finalmente,

A equação (31) dá o erro $(\sigma_{\overline{x}_S})$ na determinação da espessura de matéria seca. Para uma folha úmida, o erro na medida da quantidade de água $(\sigma_{\overline{x}_a})$, sendo \overline{x}_s constante e conhecida, será:

$$\frac{d\overline{x}_{a}}{\overline{x}_{a}} = \sigma_{\overline{x}_{a}} \simeq - \frac{e^{(\overline{\mu}_{s}\overline{x}_{s}+\overline{\mu}_{a}\overline{x}_{a})/2}}{\sqrt{I_{0}} \cdot \overline{\mu}_{a} \cdot (\overline{x}_{s} + \overline{x}_{a})} \dots (32)$$

O erro na medida da espessura total da folha, é estimado através da seguinte equação, obtida de modo análogo às equações (31) e (32):

$$\frac{d\overline{x}}{\overline{x}} = \sigma_{\overline{x}} = -\frac{e^{\overline{\mu} \cdot \overline{x}/2}}{\sqrt{I_0} \cdot \overline{\mu} \cdot \overline{x}} \quad \dots \quad (33)$$

sendo \overline{x} a densidade superficial da folha e $\overline{\mu}$ o coeficientede atenuação dessa folha.

4.1.1.7. Espessura ideal do absorvedor

Quando o erro instrumental é desprezível com relação à flutuação estatística da contagem, esta última é a única causa da incerteza da medida. Se forem fixadas a geometria, a energia da radiação, a colimação e outros detalhes que tornam o erro instrumental desprezível, existe uma espessura de absorvedor que dá o erro mínimo, ou seja, a máxima sensibilidade.

O erro relativo na medida da espessura da folha será mínimo quando:

$$d(\sigma_{\overline{X}}) = 0$$

Derivando a equação (33) e igualando a zero, tem-se:

$$\frac{(1 - \frac{\overline{\mu} \cdot \overline{x}^*}{2}) \cdot e^{\frac{\overline{\mu} \cdot \overline{x}^*}{2}}}{\overline{\mu} \cdot \overline{x}^{*2} \sqrt{I_0}} = 0 \dots (34)$$

sendo \overline{x}^* a espessura ideal da folha.

Para que a equação (34) seja satisfeita, é necessário que:

$$1 - \frac{\overline{\mu} \overline{x}^*}{2} = 0$$

Portanto,
$$\overline{x}^* = \frac{2}{\overline{\mu}}$$
 (35)

4.1.1.8. Sensibilidade da medida

A sensibilidade, isto é, a variação na taxa de contagem por variação unitária na espessura de uma folha, pode ser deduzida a partir da lei de LAMBERT-BEER:

sendo $\overline{\mu}$ o coeficiente de atenuação de uma folha vegetal e \overline{x} sua densidade superficial.

Derivando (36) vem:

$$\frac{dI}{dx} = -I_0 \overline{\mu} e^{-\overline{\mu} \cdot \overline{x}} \qquad (37)$$

Através da equação (37), vê-se que a sensibilidade pode ser aumentada pelo aumento da radiação incidente I₀ (medida sem a interposição da folha) e/ou do coeficiente de atenuação de massa. Entretanto, não é possível escolher indiscriminadamente o radioisótopo que dê o maior valor de $\overline{\mu}$, de modo que o aumento da sensibilidade normalmente é feito através do aumento de I₀, o que contribui, também, para diminuir o erro estatístico.

4.1.2. Material e Metodos

4.1.2.1. Material vegetal

Foram utilizadas folhas de soja (*Glycine max*, (L.) Merril, cultivar *Viçoja*), como material de estudo. As

plantas foram deixadas crescer em vasos dentro de casa de vegetação e as folhas foram usadas quando as plantas tinham entre 45 e 60 dias de idade, após a germinação, e ainda não haviam florescido.

Utilizou-se uma mistura de dois solos, em volume iguais, sendo um de textura argilosa e outro de textura arenosa. A adubação foi feita com uma mistura de superfosfato simples e cloreto de potássio, fórmula 0-18-6, colocando - se 50 mg da mistura por kg de solo. Não foi feita adubação ni trogenada, porque anteriormente esses solos estiveram culti vados com soja, adubada com N e sem sintoma de deficiência de tal elemento. Até o período de utilização das folhas, as plan tas usadas no presente experimento não haviam mostrado sintomas visuais de deficiência de nutrientes.

Desde a semeadura até o tempo de utilização das folhas, os vasos foram irrigados sistematicamente, de modo a não haver deficiência hídrica no solo.

> 4.1.2.2. Instrumental para medida da ate nuação da radiação.

A) Fontes radioativas

A escolha das fontes radioativas para esse tipo de trabalho deve seguir alguns critérios, como:

a) a meia-vida do radioisótopo deve ser relativamente longa em relação à duração do experimento;

b) a energia deve ser de modo tal que haja sensibilidade na medida, implicando isso na escolha do radioisótopo de acordo com a espessura do absorvedor.

A figura 3 mostra o efeito de espessura de absorvedores de alumínio na atenuação da radiação de diversos radiosótopos. Combinando-se os dados dessa figura com os dados obtidos quando se aplica a equação (35), a qual dá a espessura ideal do absorvedor, pode-se escolher os radioisótopos mais desejáveis para determinada faixa de espessura do absorvedor.



Figura 3 - Efeito da espessura do absorvedor de aluminio na atenuação da radiação. Os dados,exceto aqueles para ⁵⁵Fe, foram obtidos por JONG (1971).

De acordo com a figura 3, as fontes de raios beta ideais para o presente estudo seriam as de C, Tc e Pm, das quais só era disponível, para este trabalho, a de C, sendo esta de baixa atividade e não permitindo a sensibilidade desejada.

Por esse motivo, optou-se pelo uso de uma fonte de ⁴⁵Ca (emissor puro de partículas beta) e outra de ⁵⁵Fe (emissor puro de raios-X), uma vez que o ⁴⁵Ca possui energia próxima à do ¹⁴⁷Pm e ⁹⁹Tc e meia-vida suficiente para a realização do trabalho, enquanto que o ⁵⁵Fe, nos testes preliminares, mostrou-se adequado para um estudo desse tipo (ver Figura 3).

As características das fontes utilizadas são:

a) Fonte de ⁴⁵Ca:

b) Fonte de ⁵⁵Fe

tipo de radiação	raios-X
energia dos fótons	6 KeV
meia-vida	2,4 anos
atividade	100 µ Ci (em 12/75)

B) Conjunto detector-contador

Utilizou-se um detector tipo Geiger-MUller, marca Nuclear - Chicago, com janela de mica de 1,4 mg/cm² e com câmara de ionização constituída por mistura de gás inerte e gás halogênio.

As contagens foram feitas através de um contador ("scaler") marca Nuclear-Chicago, modelo 8780, com um tempo de resolução entre dois pulsos de 10 micro-segundos.

A voltagem de operação do tubo Geiger-Müller, após determinada sua curva característica, foi fixada em 980 V. Um fator importante na determinação da atenuação da radiação por um absorvedor, refere-se ao estabelecimento de uma geometria adequada de detecção. Nas Figuras 4 e 5 são mostrados os detalhes de geometria utilizada nesse trabalho.

A fonte de ⁵⁵Fe foi colimada com alumínio, e a de ⁴⁵Ca com lucite. Os feixes de radiação, ao saírem dos colimadores, tinham uma espessura de 0,2 cm e 0,4 cm de diâmetro para raios-X e beta, respectivamente.

Cada fonte foi presa a um suporte de ferro através de um braço móvel, o qual podia ser movimentado tanto na direção vertical quanto na horizontal. A movimentação permitia que uma das fontes fosse colocada na posição de medida a 0,5 cm acima do suporte da folha, enquanto a segunda fonte radioativa se mantinha longe do detector, e blindada para que não interferisse na contagem. Depois de feita a medida com a primeira fonte, esta era afastada e seu lugar era tomado pela segunda fonte.

A amostra vegetal era colocada sobre uma chapa de lucite de dimensões 6 x 6 x 0,5 cm, com uma fenda de 0,5 cm de diâmetro no centro, a qual servia como colimador do detector. A chapa de lucite era suportada por uma armação de madeira, no interior da qual estava montado o tubo Geiger-Müller.

O detector foi blindado com chumbo, para diminuir a radiação de fundo.

> 4.1.2.3. Medida da radiação e correção devida ao tempo de resolução do conjunto detector-contador

A equação (15), utilizada para a estimativa do peso de água e de matéria seca por unidade de área da folha,





exige a medida do feixe radioativo que atinge a câmara de ionização do detector quando a folha está presente (I) e quando está ausente (I₀). Para isso, fixou-se o valor de I em aproximadamente 20.000 contagens para raios-X e 250.000 contagens para raios- β , variando-se o tempo de contagem.

As contagens foram corrigidas com relação ao tempo de resolução do conjunto detector-contador pela seguinte expressão:

n = taxa de contagem corrigida (cps)
m = taxa de contagem observada (cps)
τ = tempo de resolução (segundos)

O tempo de resolução foi determinado através do "método das duas fontes", consistindo em comparar a soma das atividades de duas fontes medidas separadamente com a atividade das duas fontes medida em conjunto. A atividade medida com as fontes juntas deve ser menor que a soma das medidas individuais devido às perdas por coincidência e, então, pode-se estimar o tempo de resolução através da equação:

onde:

 τ = tempo de resolução

 $r_1 = taxa$ de contagem da fonte l

 r_2 = taxa de contagem da fonte 2

r1 2 = taxa de contagem medida com as duas fontes juntas

r_f = taxa de contagem da radiação de fundo

Anno a provincia de la composición de la composición

Para essas medidas, utilizou-se duas fontes de Cloro-36, com atividade de 0,4 µCi e geometria adequada para esse tipo de determinação.

> 4.1.2.4. Determinação dos coeficientes de atenuação de massa

Para a estimativa de \bar{x}_s e \bar{x}_a é necessário o conhecimento dos coeficientes de atenuação da radiação para matéria seca e água. Como os coeficientes para raios beta dependem da geometria, eles só podem ser aplicados quando se trabalha com a geometria de medida para os quais foram determinados experimentalmente.

Por outro lado, os coeficientes de atenuação de raios-X podem ser calculados teoricamente, como mostrado no item 4.1.1.2. No presente trabalho, eles foram determinados experimentalmente e comparados com os valores teóricos.

> A) Coeficientes de atenuação de massa para matéria seca

A determinação experimental dos coeficientes de atenuação das radiações para matéria seca foi feita a partir das equações de LAMBERT-BEER para raios beta e raios-X:

 $\ln (I_0 \beta / I_\beta) = \overline{u_s x_s} \dots (raios beta) \dots (40)$ $\ln (I_0 \gamma / I_\chi) = \overline{\mu_s x_s} \dots (raios - \chi) \dots (41)$

Fez-se uma serie de medidas de atenuação com diferentes espessuras de matéria seca (\overline{x}_s) , a fim de se obter a equação de regressão entre ln (I_0/I) e \overline{x}_s , para os dois tipos de radiação. Para isso, tomou-se diversas folhas, as quais foram colocadas durante um dia dentro de um livro e depois transferidas para um dessecador com Ca Cl, onde tinham os bordos fixados para que não enrugassem. Após 3 a 4 dias, foram obtidas folhas secas completamente planas, das quais foram retirados discos de 1,54 cm² de área, sendo estes pesados e colocados no sistema de medida para determinação da atenuação dos feixes radioativos.

O erro padrão dos valores de \overline{u}_s e $\overline{\mu}_s$, determinados através da regressão entre ln (I₀/I) e \overline{x}_s , foi calculado através da seguinte equação (PIMENTEL GOMES, 1967):

$$s(\overline{\mu}_{s}) = \frac{s}{\sqrt{\Sigma (\overline{x}_{s} - \overline{x}_{sm})^{2}}} \qquad (42)$$

onde:

 $s(\overline{\mu}_s) = erro padrão de \overline{\mu}_s$ (ou de \overline{u}_s) s = desvio padrão da regressão $\overline{x}_s = densidade superficial de matéria seca$ $\overline{x}_{sm} = densidade superficial média de maté$ ria seca

B) Coeficientes de atenuação de massa para água

Nessa determinação mediu-se as frações da radiação atenuada por diversas espessuras de água, obtendo-se equações de regressão entre ln $(I_{0\chi}/I_{\chi})$ e \overline{x}_{s} e entre ln $(I_{0\beta}/I_{\beta})$ e \overline{x}_{s} .

As diversas espessuras de água foram conseguidas pelo uso de mini-cubetas, construídas com lamínulas de vidro (para raios-X) e lâminas finas de polietileno (para raios-β), como mostra a Figura 6. Todas as medidas de espessura foram feitas através de um micrômetro, com precisão de 0,01 mm.



Figura 6 - Detalhes da construção das mini-cubetas utilizadas na determinação de μ_{a} e $\overline{u_{a}}$.

A densidade superficial \overline{x}_a foi obtida multiplicando-se a espessura linear pela densidade da água, corrigida esta para a temperatura tomada no momento da medida.

Os valores de $I_{0\beta}$ e $I_{0\chi}$ foram obtidos com a colocação das mini-cubetas secas no suporte do absorvedor.

> 4.1.2.5. Determinação da relação densidade superficial da folha túrgida/densidade superficial de matéria seca

A finalidade dessa determinação foi verificar como a relação peso túrgido/peso seco varia com a idade da folha de soja, para que se fizesse uma estimativa do peso túrgido através do peso seco. Para isso, fez-se mapas de crescimento das plantas, através dos quais era possível conhecer a idade das folhas. Utilizou-se, então, folhas com idades variando entre 2 e 28 dias, tomando-se ao acaso, 10 a 15 folhas de cada idade e determinando-se o peso túrgido e o peso seco das mesmas.

A) Determinação do peso túrgido das folhas

Utilizou-se discos de folhas de 1,40 cm de diâmetro, obtidos pela colocação da folha sobre uma lâmina de cloreto de polivinil (PVC) e girando-se um vazador afiado sobre a folha; esse procedimento diminui os danos nos bordos do disco, minimizando os erros devidos à entrada de água em excesso através dos cortes laterais.

Em relação às folhas inteiras, os discos possuem a vantagem de atingirem a turgescência plena mais rapidamente, diminuindo os erros causados pelo crescimento e pela respiração do tecido (BARRS e WEATHERLEY, 1962). Além disso, permitem a padronização do procedimento de amostragem e possibilitam que a mesma folha seja amostrada mais de uma vez.

Não há concordância entre os pesquisadores com relação ao tempo mais adequado para a saturação. BARRS e WEA-THERLEY (1962) usaram o tempo de 4 horas, expondo os discos a uma intensidade de irradiação correspondente, aproximadamente, ao ponto de compensação luminosa. CATSKY (1960) utilizou o tempo de 3 horas, saturando os discos numa esponja úmida, enquanto outros autores utilizaram tempos de saturação variando entre 3 e 5 horas.

No presente trabalho usou-se 4 horas como tempo base para saturação. Os discos foram saturados em sistema idêntico ao utilizado por CATSKY (1960), o qual consiste de uma esponja de polietileno, com orifícios de diâmetro ligeiramente inferior aos discos de tecido, cobertos com uma folha de plástico fino. Os suportes dos discos foram construídos com isopor, sendo o conjunto inteiro assentado sobre uma base de lucite (Figura 7).

O procedimento experimental consistiu em se lavar as folhas com água, secá-las com papel de filtro e cortar os discos, os quais foram transferidos, com uso de pinças, para a



Figura 7 - Esquema do conjunto utilizado na saturação das amostras de tecido vegetal.

esponja de polietileno, já saturada com água. Depois de colocada a folha de polietileno de cobertura, o conjunto todo foi submetido a ligeira pressão, para que uma pequena quantidade de água fluísse em direção aos discos. A temperatura durante a saturação foi mantida a 21⁺ 0,5 ⁰ C.

Para diminuir os erros devidos ao crescimento, durante a saturação, determinou-se o ponto de compensação luminosa (PCL), utilizando-se uma lâmpada marca Philips, modelo HPL, e um tubo de ensaio fechado, contendo uma mistura de soluções de NaHCO₃ (0,01 N e de KCl (0,099 N), ajustada а pll 8,1, e indicador vermelho de cresol. A determinação do PCL consistiu em se colocar discos de folha dentro do tubo, varian do-se a intensidade luminosa. Quando esta esteve acima do PCL, houve fotossíntese líquida positiva, tornando o meio mais alcalino e fazendo a mistura de soluções adquirir cor violeta. De modo contrário, quando a luminosidade esteve abaixo do PCL, 0 meio tornou-se mais ácido, adquirindo a mistura de soluções а cor amarela. Regulando-se a intensidade luminosa, foi possível ajustá-la para o PCL, no ponto de viragem do indicador, Neste w/m^2 trabalho, a intensidade luminosa no PCL foi igual a 1,6 (na faixa de comprimento de onda de 400 a 700 nm), medida atra vés de um espectro-radiômetro.

Após a saturação, retirou-se o excesso de água dos discos, colocando-os dentro de uma pilha de papéis de filtro, comprimida por um peso de 0,5 kg durante 1 minuto. Depois de secos, pesou-se os discos numa balança analítica com precisão de 0,1 mg.

B) Determinação do peso seco

Depois de obtido o peso do tecido túrgido, secou-se os discos em estufa a 85^oC. Segundo SLAVIK (1974), nesta temperatura o tempo de 3 horas é suficiente para a secagem. Nesse trabalho, o tempo utilizado foi de 3 a 4 horas, após o qual os discos foram pesados.

> 4.1.2.6. Procedimento experimental para obtenção dos dados pelo "método das duas fontes radioativas" e pelo "método das pesagens"

A partir deste ponto, o método de estimativa do T.R.A. através do uso de radiações será chamado "método das duas fontes radioativas", enquanto que o método convencional, utilizando pesagens do material fresco, túrgido e seco será chamado "método das pesagens".

O procedimento experimental para obtenção dos dados pelos dois métodos, foi o seguinte:

a) obtenção dos discos de folhas e pesagem, para obtenção do peso atual por unidade de ãrea;

b) medida da atenuação da radiação proveniente das fontes radioativas, para estimativa de \overline{x}_s e \overline{x}_a ;

. *c)* saturação e pesagem dos discos para obtenção do peso túrgido por unidade de área, como descrito em 4.1.2.4.A. d) secagem dos discos em estufa e pesagem para obtenção do peso seco.

4.2. <u>Determinação do potencial da água da folha através</u> <u>de sua correlação com a atenuação de um feixe ra-</u> <u>dioativo</u>.

Nesta parte do trabalho fez-se uma análise de correlação entre a atenuação de um feixe radioativo e o po tencial da água de folhas de soja. Foram obtidas equações de regressão entre essas variáveis, para folhas com 6, 9, 12,15, 18, 21 e 25 dias de idade.

As medidas de atenuação das radiaçõesforam fei tas da maneira descrita nos ítens 4.1.2.2 e 4.1.2.3. A deter minação do potencial da água será vista a seguir.

4.2.1. Determinação do potencial da água

Essa medida foi feita através de higrômetro de par termoelétrico, marca WESCOR, constituido de câmara de a mostras (modelos C-51 e C-52) e microvoltimetro adaptado para medida no ponto de orvalho, modelo HR-33.

4.2.1.1. Teoria do método de higrometria de par termoelétrico.

O método de higrometria de par termoelétrico é baseado no fato de que, estando a amostra vegetal encerrada dentro de uma câmara fechada, depois de certo tempo a atmos fera da câmara entrará em equilíbrio termodinâmico com a amostra, após o que, sob condições isotérmicas, o potencial da água será o mesmo em qualquer ponto do sistema câmara- amostra.

NEUMANN e THURTELL (1972) demonstraram que o po tencial da água do ar da câmara, depois de atingido o equi líbrio, pode ser calculado pela seguinte equação:



ponto de orvalho (ΔT_0) em função do potencial da água (ψ) e da temperatura (T_c) da atmosfera da câmara de amostras.

54.

sendo: $\Delta T_0 =$ depressão de temperatura no ponto de orvalho

T_c,T_K = temperatura da câmara em ^OC e K, respectiva mente

 ψ = potencial da agua (em bars)

A figura 8 mostra a variação da depressão de temperatura no ponto de orvalho em função do potencial da água (com valores entre 0 e -40 bars) e da temperatura (entre 10 e 35 $^{\rm O}$ C).

Para se obter sensibilidade em medidas de variações tão pequenas de depressão de temperatura no ponto de orvalho, é necessário o uso de equipamento ultra-sensível, como um higrômetro de par termoelétrico, cujo esquema é mostrado na figura 9. Ele é constituido de um par termoelétrico de cromel-constantan (fios de 0,0025 cm de diâmetro), sendo que uma das junções, chamada "junção de trabalho", está colocada dentro de uma câmara de aço inoxidável, envolta por um bloco de teflon ou alumínio, para minimizar os efeitos de variação de temperatura. A outra junção, chamada "junção de referência", fica fora da câmara, sendo constituida por um circuito elétrico que simula as condições de uma junção a 0 ^OC e se encontra dentro do microvoltímetro.



Figura 9 - Esquema de um higrômetro de par termoelétrico.

A) Princípio de funcionamento do par termoelétrico

Num par termoelétrico, a diferença de temperatura ∆⊺ entre as duas junções causa o aparecimento no circuito de uma força eletromotriz E (efeito Seebeck), cuja magnitude é:

 $E = \alpha \Delta T \dots (44)$

sendo α a sensibilidade do termopar em volts/ $^{0}C.$

Por outro lado, se fornecida uma corrente elétrica de magnitude I ao circuito, uma das junções se resfria devido à perda de energia, enquanto a outra tem sua temperatura aumentada (efeito Peltier). O sentido da corrente determina qual a junção que se resfria, de modo que se esse sentido for tal que a "junção de trabalho" tenha sua temperatura diminuida, pode-se escrever:

$$\frac{dc_{p}}{dt} = -\pi_{p} \cdot I + RI^{2} \cdot \dots \cdot \dots \cdot \dots \cdot (45)$$

sendo:

dcp dt = taxa de transferência de energia da junção de trabalho por efeito Peltier I = intensidade da corrente de resfriamento R = resistência elétrica do circuito π_D = coeficiente Peltier

Nessa equação, o termo $(-\pi_p.I)$ refere-se à perda de calor por efeito Peltier, e o segundo (RI^2) está relacionado ao aquecimento da junção devido à resistência do circuito. Para pequenos valores de I, o aquecimento é desprezível, mas como este aumenta com o quadrado da corrente, há um valor de I que

faz com que esse termo seja predominante na equação, de modo que nos higrômetros de par termoelétrico existe um valor ótimo de corrente que produz a depressão máxima de temperatura. Além disso, outro fator que limita a depressão máxima de temperatura é a transferência de calor do ar da câmara para a junção, quando esta começa a se resfriar. Tal transferência é afetada pela geometria, volume, materiais de construção e outras causas, mas como esses fatores são fixos para um determinado higrômetro, a depressão máxima que uma certa junção pode alcançar também é fixa.

Observa-se, então, que devido à transferência de calor da câmara para a junção, o coeficiente Peltier não é o único fator a determinar a depressão máxima de temperatura de uma junção, quando se fornece a corrente ótima de resfriamento. Por isso, define-se um coeficiente de resfriamento π_r , o qual é um parâmetro característico para cada higrômetro de par termoelétrico, porque leva em conta as características individuais de construção e representa a depressão máxima de temperatura obtida em um determinado higrômetro, quando se passa um valor ótimo de corrente de resfriamento pelo circuito.

Tal como o coeficiente Peltier, o coeficiente de resfriamento é expresso em microvolts, sendo definido como a força eletromotriz que resulta da passagem de uma corrente de resfriamento ótima através de uma junção, e sua importância é resultante do fato de ele definir o valor máximo de potencial da água que um determinado higrômetro pode medir. Ele é definido matematicamente como:

$$\pi_r = \alpha \cdot \Delta T_m \cdot \ldots \cdot (46)$$

onde ΔT_m é a diferença de temperatura que resulta da corrente fornecida e α a sensibilidade do par termoclétrico.

B) Funcionamento do higrômetro de par termoelétrico pelo princípio da depressão de temperatura no ponto de orvalho

Para que a medida do potencial da água através da higrometria de par termoelétrico tenha precisão, é necessário que a junção seja resfriada até atingir exatamente o ponto de orvalho e permaneça nessa situação enquanto se faz a medida de ψ . Entretanto, anteriormenta à medida de ψ , a junção de trabalho deve ser resfriada até abaixo do ponto de orvalho, para que haja seu umedecimento. Após isso, deve haver um mecanismo que faça a junção atingir o ponto de orvalho e aí permaneça durante o tempo de medida.

Na higrometria de par termoelétrico esse mecanismo é conseguido com base no princípio de que a junção úmida não perde água através de evaporação, enem ganha água por condensação, quando a junção úmida está no ponto de orvalho. Admita-se, então, que a temperatura da junção úmida seja determinada apenas pela transferência de calor através de condensação e de evaporação da água. Se a temperatura inicial da junção úmida estiver abaixo do ponto de orvalho, ela ganha calor devido à condensação de água, de modo que sua temperatura aumenta até atingir o ponto de orvalho, cessando então a condensação. Por outro lado, se a temperatura inicial estiver acima do ponto de orvalho, a junção perde água por evaporação, e sua temperatura diminui até atingir o ponto de orvalho, cessando a evaporação.

Assim, se a transferência de calor entre a junção úmida e a câmara se der somente através de evaporação e condensação, a junção atingirá sempre o ponto de orvalho e aí permanecerá. Contudo, durante a medida a junção úmida estará a uma temperatura sempre abaixo daquela da câmara, ocasionando fluxo de calor do ambiente para a junção. Para eliminar esse

problema de transferência de calor devido à diferença de temperatura entre câmara e junção, o microvoltimetro do higrômetro possui um sistema eletrônico que permite a criação, na junção, de um fluxo de calor de sentido oposto e exatamente igual ao seu ganho de energia, utilizando o próprio efeito Peltier.

A taxa de transferência de calor da atmosfera circundante até a junção (dc_a/dt), devida apenas à diferença de temperatura (ΔT) entre ambas, pode ser calculada com suficiente precisão, quando ΔT é pequena (como no caso das medidas de Ψ), através da seguinte equação:

onde K é uma constante de proporcionalidade.

Ao se passar um valor ótimo de corrente Peltier, tem-se a depressão máxima de temperatura da junção. Esta depressão causa um fluxo máximo de calor da câmara para a junção, o qual vai diminuindo com o tempo, devido ao processo de condensação da água sobre a junção. Para compensar, a cada instante, este fluxo decrescente de calor, a corrente de resfriamento ou Peltier é pulsada a uma taxa periodicamente variável, até que o ponto de orvalho seja atingido, permanecendo constante a partir desse momento até o término da medida. Nestas condições, a depressão de temperatura num determinado instante será dada por:

onde L é o ciclo de resfriamento, podendo variar de zero a 1, e. ΔT_m é a diferença máxima de temperatura entre junção e câmara.

O valor L, num dado momento, é encontrado pela relação entre o tempo de permanência do pulso de corrente Peltier e o tempo entre dois pulsos consecutivos. Desta maneira, o fluxo de calor da atmosfera da câmara para a junção pode ser

exatamente balanceado a cada instante, controlando-se o valor de L. Este controle é feito automaticamente pelo microvoltímetro.

O valor de L, num determinado instante pode ser obtido combinando-se as equações (45), (47) e (48), chegando-se à seguinte expressão:

onde $\frac{dc_p}{dt}$ representa a taxa de transferência de calor de compensação.

Igualando-se as equações (47) e (49), obtém-se:

A expressão (50) mostra que o balanço de energia assinaladona equação (49) estará satisfeito, se o sinal de saída do par termoelétrico ($\alpha \Delta T$) for dividido pelo valor de π_r , o qual é uma constante conhecida de cada par, e que é ajustado no microvoltimetro antes da medida.

C) Influência da temperatura da câmara sobre a sensibilidade da medida

A leitura (E) que se faz quando a junção atinge o ponto de orvalho e que é função do potencial da água e da temperatura da câmara, é dada pela sensibilidade do termopar (α) multiplicada pela depressão da temperatura no ponto de orvalho (Δ T₀).

Para se obter o valor de ψ em função de E, considere-se inicialmente a função pressão de vapor versus tempe-

ratura (Figura 10). Quando ΔT_0 é pequena, como no caso da medida do potencial da água, em que ela varia de 0 a 0,6^OC, como mostra a Figura 8, pode-se considerar que $\Delta T_0 = \Delta e/S$, sendo Δe a diferença entre a pressão de saturação e a pressão atual de vapor d'água da câmara e S a declividade da função no intervalo considerado.



Figura 10 - Variação da pressão de saturação de vapor d'água em função da temperatura.

Através da equação de Clausius-Clapeyron, pode--se estimar S em função da temperatura da câmara (T), da constante dos gases (R), da pressão de saturação de vapor (e_s) e do calor latente de evaporação (λ) :

Mas,
$$e = e_s \exp\left(\frac{\psi}{RT}\right)$$
 (52)

Assim,
$$\Delta e = e_s - e = e_s \left[1 - e_x p \left(\frac{\psi}{RT}\right)\right] \dots (53)$$

Combinando as equações (51), (53), (54) e (55), encontra-se:

A equação (56) pode ser aproximada pelos dois primeiros termos de uma série e transformada numa equação linear, da forma:

A sensibilidade do higrômetro para a medida de ψ será:

$$\frac{E}{\Psi} = - \frac{\alpha \cdot T}{\lambda} \quad \quad (58)$$

A equação (57) indica uma relação linear entre E e ψ para uma determinada temperatura e se forem tomados os valores de α = 60 μ V/^OK (sensibilidade do par termoelétrico de cromel-constantan), T = 298 K, R = 4,6 bars/K e λ = 24380 bars , a sensibilidade do higrômetro para a medida de ψ será aproximadamente 0,76 μ V/bar.

Essa sensibilidade varia com a temperatura, podendo-se clacular essa variação através da diferenciação da equação (58):

• • • • •

$$\frac{d (E/\psi)}{dT} = -\frac{\alpha}{\lambda}$$
 (59)

A equação (59) mostra que a variação da sensibilidade do higrômetro com a temperatura, na medida do potencial da água, é dada pela relação entre a sensibilidade do termopar e o calor latente de evaporação da água. Mas, tanto α como λ variam com a temperatura numa taxa aproximadamente constante, como mostra a Tabela l. Desse modo, a variação da sensibilidade do higrômetro com a temperatura é neglegível (0,0025 μ V/bar...^OC) e na faixa normal de temperatura em que se faz as medidas de ψ , toma-se uma sensibilidade média do higrômetro de 0,75 μ V/bar , sem correção para o efeito de temperatura. Portanto, o valor do potencial da água é obtido simplesmente pela divisão da f.e.m. lida por 0,75.

Tabela 1 - Variação da sensibilidade do termopar de cromel--constantan e do calor latente de evaporação com a temperatura.

temperatura (⁰ C)	α (μV/ ⁰ C)	λ (bars)
0	0	 24.971
5		24.854
10	59,00	24.737
15	59,25	24,620
20	59,50	24,498
25	59,75	24.381
30	60,00	 24.262
35	60,15	24.147
40	60,30	24.026
4 5	60,55	23.909
50	60,80	23.788

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Coeficientes de atenuação

5.1.1. Valores experimentais

As equações de regressão obtidas na determinação dos coeficientes de atenuação de massa para raios-X de ⁵⁵Fe e raios- β de ⁴⁵Ca, tanto para matéria seca como para água, são mostradas nas Figuras 11, 12, 13 e 14. Os valores experimentais de \overline{u}_s , \overline{u}_a , $\overline{\mu}_s$ e $\overline{\mu}_a$, estimados pelo cálculo do coeficiente angular da reta, bem como os respectivos erros-padrões, foram os seguintes:

 $\overline{u}_{s} \pm s(\overline{u}_{s}) = 0,19060 \pm 0,02800 \text{ cm}^{2} \text{ .mg}^{-1}$ $\overline{u}_{a} \pm s(\overline{u}_{a}) = 0,00088 \pm 0,00003 \text{ cm}^{2} \text{ .mg}^{-1}$ $\overline{\mu}_{s} \pm s(\overline{\mu}_{s}) = 0,03220 \pm 0,00510 \text{ cm}^{2} \text{ .mg}^{-1}$ $\overline{\mu}_{a} \pm s(\overline{\mu}_{a}) = 0,02270 \pm 0,00060 \text{ cm}^{2} \text{ .mg}^{-1}$


Figura 11 - Dados obtidos na determinação experimental do coeficiente de absorção de massa de raios- β , para matéria seca de folhas de soja. O valor de u_s, dado pelo coeficiente angular da reta, é igual a 0,1906 cm²/mg.

64.



Figura 12 - Dados obtidos na determinação do coeficiente de absorção de massa de raios beta para água. O valor de u é dado pelo coeficiente angular da reta, sendo igual a 0,00088 cm²/mg.



Figura 13 - Dados obtidos na determinação experimental do coeficiente de atenuação de massa de raios-X, para matéria seca de folhas de soja. O coeficiente $\bar{\mu}_s$ é dado pelo coeficiente angular da reta, igual a 0,0322 cm²/mg.



Figura 14 - Dados obtidos na determinação experimental do coeficiente de atenuação de massa de raios-X para água. O valor de μ é dado pelo coeficiente angular da reta, sendo igual a 0,0227 cm²/mg.

5.1.2. Valores teóricos

5.1.2.1. Valor teórico de $\overline{\mu}_s$

O valor teórico de $\overline{\mu}_s$ pode ser calculado considerando-se que na interação de raios-X de 6 KeV com a matéria, mais de 95% dos processos de atenuação ocorrem por efeito fotoelétrico, sendo os outros efeitos desprezíveis. Portanto, o cálculo do coeficiente de absorção de massa para efeito fotoeletrico (τ/ρ) deve dar uma estimativa bastante aproximada do valor teórico de $\overline{\mu}_{s}$. O valor teórico de μ pode ser obtido, então, considerando o valor de t/p para cada elemento componente da matéria seca e a fração em peso do elemento, em relação ao peso total da matéria seca, através da equação (10).

A Tabela 2 mostra a composição elementar aproximada da matéria seca em folhas de soja, calculada com base dados de OHLROGGE e KAMPRATH (1969) e MALAVOLTA et elii em (1974), bem como os valores de $\overline{\mu}$ de raios-X, para cada elemento, obtidos por BERTIN (1971) e MULLER (1956, citado em BERTIN, 1971).

Tabela 2 - Co	omposição elementar	aproximada da	matéria seca
em folhas de	e soja e valores teó	ricos respectiv	os de τ/ρ pa-
ra raios-X d	le 6 KeV.		
ELEMENTO	FRAÇÃO DO PESO TO DA MATÉRIA SEC	OTAL τ CA	/ρ (cm².mg ⁻¹)
 C H O N P S K Ca Mg C1 Fe 7 m 	0,44500 0,06000 0,40800 0,04500 0,00400 0,00400 0,01700 0,01000 0,00120 0,00020		0,010100 0,000042 0,024000 0,017000 0,015400 0,210000 0,320000 0,400000 0,082000 0,222000 0,070000
outros	0,00157		0,110000

Utilizando-se os dados da Tabela (2) na equação (10), obtém-se um valor teórico para $\overline{\mu}_{s}$ igual a 0,02505 cm².mg⁻¹.

5.1.2.2. Valor teórico de $\overline{\mu}_{a}$

O valor teórico de $\overline{\mu}_{a}$ para raios-X de 6 KeV, foi calculado considerando-se que as frações de oxigênio e hidrogênio no peso total da água são, respectivamente, 0,8889 e 0,1111. Utilizando esses dados e os valores teóricos de τ/ρ para esses elementos (Tabela 2) na equação (10), o valor obtido para $\overline{\mu}_{a}$ é:

 $\overline{\mu}_a \simeq \tau / \rho$ = 0,8889 x 0,024 + 0,1111 x 0,000048 = 0,0213 cm².mg⁻¹

5.1.3. Discussão dos resultados

Observa-se pelos resultados que o valor teórico e o experimental de $\overline{\mu}_a$ foram bastante próximos entre si, enquanto que a diferença entre os dois valores de $\overline{\mu}_s$ foi bem maior.

A explicação para isso reside principalmente no fato de que a composição elementar da matéria seca da folha é variável, enquanto que a da água é fixa. Desse modo, é razoável encontrar-se uma grande variabilidade entre os valores teóricos e experimentais de $\overline{\mu}_s$, já que eles dependem da composição elementar da folha. Essa variabilidade é também a principal causa da maior dispersão dos dados obtidos na determinação experimental dos coeficientes de atenuação de massa para matéria seca em relação à água, daí a obtenção de valores menores de r² nas equações de regressão das Figuras 11 e 13, quando comparadas com aqueles das Figuras 12 e 14.

A fim de exemplificar como a variabilidade da composição elementar da folha influi no valor de $\overline{\mu}_s$, basta verificar que, com exceção do ferro, os elementos que estão em menor quantidade na folha são justamente aqueles que possuem os maiores valores de τ/ρ . Assim, por exemplo, uma variação somente no teor de Ca de 1,0 para 1,5% do peso total de matéria seca fará com que o valor teórico de $\overline{\mu}_s$ aumente de 0,02505 cm².mg⁻¹ para 0,02795 cm².mg⁻¹.

Com relação aos coeficientes de atenuação de massa para raios- β , é difícil discutir-se a acuracidade dos valores obtidos, pelo fato de não haver possibilidade de um cálculo teórico de seus valores. Entretanto, é justificável que a precisão do valor de \overline{u}_s obtido experimentalmente seja menor do que \overline{u}_a , devido também à variabilidade da composição elementar da matéria seca.

5.2. <u>Relação entre densidade superficial da folha turgida</u> e densidade superficial de matéria seca

5.2.1. Resultados

A Figura 15 mostra a variação na relação $\overline{x}_t/\overline{x}_s$, bem como as variações individuais de \overline{x}_t e \overline{x}_s , com o processo ontogenético da folha, representando cada ponto uma média de 10 a 15 dados obtidos experimentalmente.

Observa-se, pela figura, que é possível dividir o processo de ontogenia foliar, até a idade de 23 dias, em dois períodos distintos: o primeiro ocorrendo até o 12º dia de idade da folha, no qual é possível verificar uma variação de $\overline{x}_t/\overline{x}_s$, e \overline{x}_t ; o segundo, do 12º ao 23º dia, em que $\overline{x}_t/\overline{x}_s$, \overline{x}_s e \overline{x}_t permanecem praticamente constantes.

Chamando de I a idade das folhas e R a relação $\overline{x_t}/\overline{x_s}$, obteve-se as seguintes equações de regressão, com os respectivos coeficientes de determinação (r²), para os períodos considerados:



71

da folha.

Periodo de 4 a 12 dias de idade:

R	=	7,97	-	0,25	Ι		r²	=	0,77
x _s	=	1,25	+	0,07	Ι	••••	r^2		0,69
\overline{x}_{t}	=	11,32		0,06	Ι		r ²	=	0,28

Período de 12 a 23 dias de idade:

R	=	4,44		0,0100	Ι	 r²	=	0,010
×s	=	2,27	-	0,0031	Ι	 r²	=	0,003
×t	=	10,01	-	0,0048	Ι	 r²	=	0,003

Como consequência da variação de \bar{x}_s e \bar{x}_t no primeiro período considerado, a relação \bar{x}_t/\bar{x}_s diminue até o 12° dia de idade e permanece praticamente constante dessa idade até o 23° dia. Nesse segundo período, se considerado como constante, a relação \bar{x}_t/\bar{x}_s teve um valor médio igual a 4,57, sendo o desvio padrão igual a 0,64 e o coeficiente de variação igual a 14,1%. Considerando-se a dispersão em folhas de mesma idade, os coeficientes de variação máximo e mínimo foram 21,0% e 6,0%, para folhas com 14 e 20 dias de idade, respectivamente.

5.2.2. Discussão dos resultados

Analisando-se os dados obtidos, verifica-se que a densidade superficial de matéria seca no período de 4 a 12 dias de idade teve uma variação relativamente maior que a densidade superficial da folha túrgida, já que \bar{x}_s aumentou, em média, de 1,6 mg.cm⁻² a 2,3 mg.cm⁻² (um acréscimo de 43,8% em relação ao valor inicial), enquanto que nesse período \bar{x}_t decresceu, em média, de 11,0 mg.cm⁻² a 10,4 mg.cm⁻² (decréscimo de 5,5% em relação ao valor inicial), tornando-se ambos praticamente constantes no segundo período. Desse modo, a variação da relação \bar{x}_t/\bar{x}_s no primeiro período foi devida principalmente ao aumento de matéria seca.

Os comportamentos de x_s e x_t nos dois períodos considerados, podem ser explicados através da elasticidade e da elongação celular . A elasticidade é maior no início do crescimento da folha, porque as paredes da célula ainda estão em formação. Tal elasticidade vai diminuindo gradativamente com a idade, devido à deposição de material formador das paredes celulares, ao mesmo tempo em que o peso de matéria seca por unidade de área aumenta, através dessa deposição. Quando a folha está no estágio de adulta, tanto a elasticidade quanto x, tornam-se praticamente constantes. Por outro lado, o número de células por unidade de área da folha também sofre uma variação durante o crescimento, porque as células aumentam de tamanho pela elongação celular. Assim, no tecido jovem o número de células por unidade de área é maior que no tecido adulto, sendo que neste último tal número é praticamente constante, em condições normais de desenvolvimento do vegetal.

Essas observações permitem uma comparação entre o tecido na fase de jovem e na fase de adulto. Uma determinada área da folha jovem contém um número grande de pequenas células, com alta capacidade de expansão. Durante a saturação, com a entrada de água, essas células sofrem uma expansão relativamente grande. A expansão de uma determinada célula acontece até o ponto permitido pelas células vizinhas, também em expansão, que nesse caso são em grande número, devido ao pequeno tamanho das mesmas. Esses fatores, atuando em conjunto com a capacidade de adsorção de água pelas células, determinam uma capacidade máxima de retenção da água por essa área de folha.

Quando a folha torna-se adulta, o número de células nessa mesma área é menor que na fase jovem. Essas células são maiores, mas possuem uma elasticidade e um poder de adsorção de água menores que na folha jovem. Desse modo, áreas de mesma dimensão de tecido jovem e tecido adulto possuem capacidades máximas de retenção de água que pouco diferem entre si, porque o maior número de células, com poder de adsorção de

água e elasticidade maiores no tecido jovem são processos compensados pelo aumento do tamanho das células, embora estas sejam em menor número e tenham poder de adsorção de água e de expansão menores. Como o processo de compensação está presente em todo o período considerado, já que o aumento e o decréscimo dos fatores que atuam na máxima capacidade de retenção de água são gradativos, pode-se explicar desse modo a pequena variação do peso túrgido por unidade de área encontrada neste trabalho.

O aumento de \overline{x}_s com a idade da folha é explicado pela deposição do material formador de paredes celulares, até a folha tornar-se adulta, quando essa deposição praticamente cessa. Esse fato e a discussão do comportamento de \overline{x}_t , podem explicar os dados da Figura 16 e a variação de $\overline{x}_t/\overline{x}_s$ com o processo de ontogenia da folha.

5.3. <u>Comparação entre o "método das pesagens" e o "método</u> das duas fontes radioativas"

5.3.1. Valores obtidos

A Tabela 3 mostra os dados de densidade superficial de matéria seca, de água e da folha túrgida, além do T.R.A., obtidos pelo "método das pesagens" e pelo "método das duas fontes radioativas" para discos de folhas de idades diferentes.

Cada número de ordem representa um mesmo disco de folha. Os valores de T.R.A. para folhas com idade inferior a 12 dias não foram calculados, porque preferiu-se usar a relação $\overline{x}_t/\overline{x}_s$ somente na faixa de idade em que ela se mostra constante, isto é, do 12º ao 23º dia. Além disso, quando a folha ainda não está madura, a saturação do disco de folha apresenta dificuldades relacionadas ao rápido crescimento do tecido, o que causa erros na determinação de \overline{x}_t , embora CATSKY (1965)

Tabela 3[.] - Dados obtidos pelo "método das entricolo das des des des des des des des duas fontes radioativas".

· . .

1

.*

קר הר ז									ONTES PADIO	ATTVAS"	
		៣០1 ជាស	U DAS PESAGI	ENS:			0001214				•
folha (dias)	s x) (mg.cm ²)	<u>x</u> s (mg.cm ⁻²)	xt (mg.cm ⁻⁴)	x _a (mg.cm ²)	T.R.A. (\$)	(I, x/Ix)	(I° g/Ig)	<u>×</u> s (mg.cm ⁻²)	<u>x</u> t (mg.cm ⁻²)	⊼a (mg.cm ²)	T.R.A. (\$)
12	9.30	2.90	12.21	6.00	64.44	1.2873	1.8208	3,10	14.00	6.72	61,50
12	7,00	2,00	9,3	4,50	61,70	1,2217	1,6012	2,44	11,20	5,34	61,00
13	7,99	2,24	11,56	5,35	57,40	1,2690	1,6645	2,64	11,60	6,20	67,20
13	4,40	2,25	9,75	2,15	28,66	1,1613	1,6891	2,73	12,30	2,69	28,20
14	5,98	1,88	9,03	4,10	57,60	1,2315	1,5870	2,39	10,30	5,76	67,70
14	7,97	2,35	10,25	5,02	63,50	1,2.541	1,7325	2,80	12,82	5,92	62,00
15	9,29	2,99	11,56	6,30	73,50	1,2846	1,7160	2,80	12,76	7,06	70,60
15	7,60	1,82	9,87	5,78	71,80	1,2220	1,5286	2,20	06'6	5,69	73,90
16	7,48	1,78	9,91	6,00	74,56	1,2177	1,5225	2,17	9,94	5,58	71,20
17	8,51	2,60	11,30	6,21	61,30	1,2330	1,6758	2,68	11,26	5,43	63,30
18	8,76	2,02	10,85	6,50	73,50	1,2634	1,7376	2,87	13,00	6,21	61,30
19	8,05	2,34	11,12	5,71	65,00	1,2684	1,8359	3,16	14,1	5,91	54,00
19	8,25	2,50	11,30	5,75	65,30	1,2464	1,7535	2,90	13,2	5,60	54,40
2 0	6,88	2,20	8,33	3,88	63,30	1,2086	1,5908	2,41	10,50	4.77	59,00
2 0	06'9	2,08	9,42	4,55	61,98	1,1554	1,5340	2,23	10,20	3,20	40,69
21	8,31	2,34	9,48	5;97	80,80	1,2365	1,5913	2,41	10,60	5,90	72,10
22	7,66	2,60	10,65	4,68	57,89	1,2236	1,6952	2,74	12,49	5,00	51,30
23	4,54	1,75	7,47	2,79	48,71	1,1429	1,4847	2,06	9,44	2,93	39,70
11	7,08	2.01		5,07		1,2430	1,6936	2,74		5,70	
6	7,86	2,02		5,84		1,2220	1,7570	2,94	•	4,56	
2	11,10	2,14		8,96		1,3386	1,9660	3,51		7,87	
Q	9,58	2,50		7,08		1,2500	1,7768	2,99		5,58	
9	10,07	2,47		7,60		1,3053	1,6750	2,67		7,95	
6	8,63	2,14		6 • 50		1;2557	1,7919	3,05		5,70	

tenha proposto um procedimento para diminuir tais erros. Devido a esses problemas, fez-se, para as folhas jovens, medidas somente das densidades superficiais de matéria seca e de água, pelos dois métodos.

5.3.2. Análise estatística dos dados

A finalidade das medidas feitas por dois métodos diferentes foi compará-los com relação à precisão.

Quando são usadas duas técnicas diferentes para medir um mesmo item, as precisões das medidas podem ser estimadas através de um tipo de análise estatística proposto por GRUBBS (1948). O procedimento nessa análise é o seguinte, segundo MALONEY e RASTOGI (1970), e JAECH (1971):

a) cálculo das variâncias e covariâncias da população entreos valores obtidos pelas duas técnicas. Denotando como x o "método das duas fontes radioativas" e y o "método das pesagens", as variâncias S_x^2 e S_y^2 e a covariância S_{xy} entre x e y, são estimadas da seguinte forma:

$$S_{xy} = \frac{1}{n-1} \Sigma (x_i - \overline{x}) (y_i - \overline{y}) \dots (62)$$

sendo n o número de dados para cada medida, $\overline{x} \in \overline{y}$ as médias dos dados de x e y, respectivamente e $x_i \in y_i$ valor do iésimo item de x e y, respectivamente.

b) cálculo de σ_1^2 (variância das medidas da técnica x), σ_2^2 (variância das medidas da técnica y), e σ^2 (variância de todas as medidas). Se todos os itens fossem medidos sem erro, então $x_i = y_i$, para todos os valores e $S_X^2 = S_y^2 = S_{xy}$ seria a estimativa de σ^2 , sendo $\sigma_1^2 = \sigma_2^2 = 0$. Baseado nisso, GRUBBS (1948) dã os seguintes valores para a estimativa desses parâmetros:

σ_1^2	$= S_X^2 - S_{Xy}$	(63)
σ_2^2	$= S_y^2 - S_{xy}$	(64)
σ²	= S _{xy}	(65)

Através do conhecimento de σ_1^2 e σ_2^2 , é possível saber qual das técnicas é mais precisa.

c) teste dos valores de $\sigma_1^2 e \sigma_2^2$, para se saber se eventuais diferenças entre esses valores são significativas, isto é, teste da hipótese H_0^1 : $\sigma_1^2 = \sigma_2^2$. Para isso, define-se os seguintes parâmetros:

e calcula-se os valores de S_{U}^{2} , S_{V}^{2} e S_{UV} , de acordo com as seguintes equações (MALONEY e RASTOGI, 1970):

$$S_{V}^{2} = S_{X}^{2} + S_{y}^{2} - 2 S_{Xy}$$
 (69)

A seguir, aplica-se o teste t, sendo o valor de t definido pela seguinte equação, proposta por MORGAN (1939) e PITMAN (1939):

$$t = r_{UV} (n - 1)^{1/2} / (1 - r_{UV}^2)^{1/2} \dots (71)$$

sendo:

$$r_{uv} = \frac{S_{uv}}{S_u \cdot S_v}$$
 (72)

 H_0^1 é rejeitada se o valor absoluto de t é maior ou igual ao valor da distribuição t de Student para n - 2 graus de liberdade, num determinado nível de significância.

d) por último, teste da hipótese H_0^{11} : $\sigma_1^2 = 0$ e $\sigma_2^2 = 0$, para verificar se uma ou outra técnica é precisa e como cada uma está contribuindo para a variabilidade dos dados observados. Para isso, definem-seas "razões de verossimilhança" ("likelihood ratio") (λ) para x e y, e calcula-se o logaritmo natural das mesmas, pelas equações:

$$\ln \lambda_{X} = \frac{1}{2} \ln \ln \left[\frac{S_{X}^{2} \cdot S_{y}^{2} - S_{Xy}^{2}}{S_{X}^{2} (S_{X}^{2} - 2 S_{Xy} + S_{y}^{2})} \right] .. (73)$$

$$\ln \lambda_{y} = \frac{1}{2} \ln \ln \left[\frac{S_{x}^{2} \cdot S_{y}^{2} - S_{xy}^{2}}{S_{y}^{2} (S_{x}^{2} - 2 S_{xy} + S_{y}^{2})} \right] \dots (74)$$

sendo n o número de valores observados. A seguir, faz-se o cálculo de (-2 ln λ).

A distribuição de valores $(-2 \ln \lambda)$ é do tipo chi-quadrado, com l grau de liberdade, segundo WILKS (1963), citado em MALONEY e RASTOGI (1970). Desse modo, a hipótese H_0^{11} pode ser rejeitada ou não, comparando-se os valores de $(-2 \ln \lambda)$, com os valores da distribuição chi-quadrado.

A Tabela 4 mostra os valores obtidos na estimativa dos parâmetros indicados nessa análise, sendo que a notação dos parâmetros é a mesma utilizadana descrição da análise.

abela 4 — Estimativa dos parâmetros utilizados na análise de Grubbs para os dados de x _s , x _t e T.R.A., estima-	dos pelo "método das duas fontes radioativas" (x) e "método das pesagens" (y).
Tab	

	S X ²	S _y 2	S _{xy}	σ 2 1	Q 2 2	0 ²	S L	S _V 2	S _{uv}	Ч	[-2 ln λ _x]	(-2 1n À)
s ×	0,1222	0,1173	0,0515	0,0707	0,0515	0,0515	0,3425	0,1365	0,0049	0,1065 (n.s.)	4,2200 *	7,4700 **
ا× ۳	1,8016	1,7532	1,3200	0,4816	0,4332	1,3200	6,1948	0,9148	0,0484	0,9738 (n.s.)	3 , 6396 *	2,99 **
۲. ۲	2,1937	1,4771.	1,2740	0,9194	0,2030	1,2740	6,2191	1,1231	0,7163	1,1260 (n.s.)	7,5878 **	0,4544 (n.s.)
TRA	162,71	139,56	118,15	44,56	21,41	118,15	538,57	65,97	23,15	0,4949 (n.s.)	3,6800 *	0,9200 (n.s.)
(n. s.) - não :	significa	tivo									

* - significativo a 5,0%

** - significativo a 1,0%

*** - significativo a 0,1%

5.3.3. Discussão dos resultados

Pela anālise da tabela 3, é possível verificar que o "método das duas fontes radioativas" forneceu valores sistematicamente superiores de \overline{x}_s e \overline{x}_t , e inferiores de T.R.A. em comparação aos do "método das pesagens". Nas determinações de \overline{x}_a , não houve diferença significativa entre os dois métodos, embora existisse uma tendência para que as estimativas pelo "método das duas fontes radioativas" fossem superiores.

Os dados da Tabela 4 permitem verificar o seguinte com relação a:

a) Densidade superficial de matéria seca (\overline{x}_s) : os valores de $\sigma_1^2 \in \sigma_2^2$ indicam que o "método das pesagens" tendeu a ser mais preciso do que o "método das duas fontes radioativas", embora essa superioridade de precisão não fosse significativa sob o ponto de vista estatístico. Por outro lado, analisando-se os valores (-2 ln λ) para os dois métodos, verificou-se que ambos contribuem para a variabilidade geral da medida.

É esperada maior precisão no "método das pesagens", em consequência da variabilidade dos valores de $\overline{\mu}_{s}$ e \overline{u}_{s} obtidos pelo "método das duas fontes radioativas", como explicado em 5.1.3. Como o "método das duas fontes radioativas" estima \overline{x}_{s} usando valores médios de $\overline{\mu}_{s}$ e \overline{u}_{s} , os quais apresentam grande dispersão, é justificável a maior variabilidade nos dados estimados de \overline{x}_{s} . Porisso, é necessário um estudo mais amplo sobre a influência de certos fatores sobre os coeficientes de atenuação de massa para a matéria seca de folhas de determinada espécie vegetal. Como esses coeficientes são influenciados, em última análise, pela composição elementar da folha seca, qualquer fator que interfira nessa composição causa variação em $\overline{\mu}_{s}$ e \overline{u}_{s} . MASCARENHAS (1973), por exemplo, verificou grande variação na concentração de macronutrientes, micronutrientes e Al em folhas de soja em função da idade. Desse modo, os valores de $\overline{\mu_s}$ e $\overline{u_s}$ devem ser influenciados pela idade da planta. Outros fatores, como idade das folhas e estado nutricional da planta, também devem interferir nos valores desses coeficientes.

Se um estudo caracterizasse os valores dos coeficientes em função desses fatores, as determinações de $\overline{\mu}_s$ e $\overline{\mu}_s$ seriam feitas com menor erro e a precisão do "método das duas fontes radioativas" seria aumentada.

b) Densidade superficial da folha túrgida (\bar{x}_t) : a análise de $\sigma_1^2 e \sigma_2^2$ nas determinações de \bar{x}_t demonstra que o "método das pesagens" mostrou tendência a ser mais preciso que o "método das duas fontes radioativas", sendo que essa diferença na precisão não se mostrou significativa sob o ponto de vista estatístico. Os valores (-2 ln λ) mostraram que a variabilidade geral observada nas medidas teve a contribuição do "método das duas fontes radioativas".

Como a determinação de \overline{x}_t pelo uso de radiações depende da estimativa de \overline{x}_s , é evidente que todas as causas citadas para a menor precisão da medida de \overline{x}_s por esse método estiveram presentes na medida de \overline{x}_t . Além disso, a precisão da medida de \overline{x}_t deve ter diminuido ainda mais devido ao fato de se ter trabalhado com valor médio da relação $\overline{x}_t/\overline{x}_s$, obtido através de dados com grande dispersão, causada pela variabilidade do material foliar.

c) Densidade superficial de água (\bar{x}_a) : analisando-se os dados da Tabela 4, verifica-se que o "método das duas fontes radioativas" tendeu a ser um pouco monos preciso em relação ao "método das pesagens", sem que essa inferioridade de precisão fosse estatisticamente significativa. Por outro lado, os dois métodos contribuiram para a variação observada nas medidas como um todo, como pode ser deduzido dos valores (-2 ln λ). O fato de a precisão do "método das duas fontes radioativas" ter sido praticamente idêntica ao "método das pesagens", ao contrário das medidas de \bar{x}_s e \bar{x}_t , é justificado pelo menor erro obtido nas determinações de $\bar{\mu}_a$ e \bar{u}_a , com relação a $\bar{\mu}_s$ e \bar{u}_s , pelos motivos explicados no item 5.1.3. A contribuição à variabilidade geral observada nas medidas, bem como a tendência de obtenção de dados superiores pelo "método das duas fontes radioativas" podem ser explicadas pelo erro estatístico observado e por uma ligeira superestimativa de $\bar{\mu}_a$ ou \bar{u}_a , devida ao erro introduzido pelo uso de fontes relativamente inadequadas.

d) Teor relativo de água (T.R.A.). a Tabela 4 demonstra, através dos valores de σ_1^2 e σ_2^2 , que o "método das duas fontes radioativas" mostrou tendência a ter uma precisão muito menor que o "método das pesagens" (embora tal diferença de precisão não fosse estatisticamente significativa, provavelmente devido ao pequeno número de dados), e que ele também contribuiu para a variabilidade geral observada nas medidas.

Como o T.R.A. é medido através de \bar{x}_s , \bar{x}_t e \bar{x}_a , todos os erros das medidas desses parâmetros incidiram, em escala maior, na medida final, ou seja, no T.R.A. Depois do que se discutiu com relação à precisão das medidas de \bar{x}_s , \bar{x}_t e \bar{x}_a entre um método e outro, é lógico esperar-se que o "método das duas fontes radioativas" tenha sido menos preciso e tendesse a apresentar valores inferiores em relação ao método convencional. O aumento de sua precisão na medida de T.R.A. poderá ser conseguido, se for feito um estudo mais profundo dos fatores que permitem a diminuição do erro na determinação de \bar{x}_s , \bar{x}_t e \bar{x}_a . Importancia deve ser dada também, ao uso de fontes radioativas adequadas, que possibilitem aumentar a sensibilidade da medida e a diminuição do erro estatístico.

5.4. <u>Sensibilidade e erro da medida no "método das duas</u> fontes radioativas"

5.4.1. Resultados

A sensibilidade da medida, definida no item 4.1.1.7. e dada pela equação (37), depende da intensidade I_0 da radiação, do coeficiente de atenuação de massa e da espessura do absorvedor. Do mesmo modo, o erro estatístico da medida depende desses mesmos fatores, como mostram as equações (31), (32) e (33).

Como a intensidade I₀ da radiação e a espessura do absorvedor não foram fixas, a sensibilidade e o erro da medida foram variáveis. Porisso, foram calculadas as sensibilidades e os erros máximos, mínimos e médios de \overline{x} (densidade superficial da folha), de \overline{x}_a e de \overline{x}_s , como mostram as Tabelas 5 e 6. Os valores utilizados de $\overline{\mu}$ e \overline{u} (coeficientes de atenuação de massa de raios-X e β para a folha, respectivamente), determinados através dos coeficientes de atenuação de massa para água e matéria seca, foram:

 $\overline{\mu}$ = 0,0255 cm².mg⁻¹ e \overline{u} = 0,0625 cm².mg⁻¹

5.4.2. Discussão dos resultados

A Tabela 5 mostra que a sensibilidade das medidas da espessura da folha com raios- β foi grande. Entretanto, isso se deveu à alta sensibilidade nas determinações de \overline{x}_s , já que houve pequena sensibilidade nas medidas de \overline{x}_a . Desse modo, ao se utilizar fontes radioativas cujas partículas β tenham energia máxima próxima ou menor que a do "⁵Ca, é necessário o uso de altos valores de I₀. Neste estudo, esses valores situaram-se em torno de 250.000 contagens, e mesmo assim os erros

	SENS contag	IBILIDAD ens/mg.c)E -2 2m	E	RRO	
	māxima	mēdia	mínima	máximo	médio	mínimo
×a	307	30 7	.306	0,5848	0,3320	0,2217
÷ ×	47789	43473	47789	0,0076	0,0665	0,0044
 X	16615	13469	10931	0,0761	0,0048	0,0037

Tabela 6 - Sensibilidades e erros das medidas de \bar{x}_a , $\bar{x}_s \in \bar{x}_s$ através da atenuação de raios-X do Fe.

	SENS contag	IBILIDA ens/mg.	DE cm ⁻²	E	RRO	
	máxima	média	mínima	máximo	médio	mínimo
xa	540	501	463	0,0752	0,0443	0,0322
×s	761	748	733	0,1328	0,1051	0,0831
×	507	523	603	0,0667	0,0395	0,0288

das medidas de \bar{x}_a foram altos. Isso leva a concluir que a maior parte dos trabalhos citados na literatura, onde se faz a determinação do T.R.A. através da sua correlação com atenuação de raios- β , contém grandes erros devido ao fato de utilizarem um valor baixo de I₀.

Embora se fizesse necessário o emprego de taxas de contagem mais altas nesse trabalho, para que I₀ estivesse situado em torno de 1.000.000 de contagens, isso não foi feito porque a colimação da fonte de ⁴⁵Ca reduziu bastante a intensidade radioativa, de modo que para se atingir valores de I₀ da ordem citada, seria necessário aumentar bastante o tempode medida.

A Tabela 6 mostra que a sensibilidade da medida de \bar{x} e \bar{x}_s através de raios-X foi menor do que as medidas efetuadas através de raios- β . Embora essa diminuição da sensibilidade fosse causada pela taxa de contagem 12 vezes menor em relação aos raios beta, pode-se calcular que,se o valor de I₀ fosse idêntico ao do ⁴⁵Ca, a sensibilidade na medida de \bar{x} e \bar{x}_s através da fonte de ⁵⁵Fe ainda seria menor em relação à de ⁴⁵Ca. Por outro lado, a sensibilidade das medidas de \bar{x}_a através da atenuação de raios-X de 6 KeV foi maior do que através de raios- β de energia máxima de 250 KeV, embora se tenha trabalhado com taxa de contagem menor para a fonte de ⁵⁵Fe, porque o valor de $\bar{\mu}_a$ é maior do que o de $\bar{\mu}_a$.

5.5. <u>Discussão sobre o equipamento empregado no "método</u> das duas fontes radioativas"

5.5.1. Fontes radioativas

Como já foi comentado no item 5.4.2., houve alguns problemas relacionados com as fontes radioativas, no que se refere à sensibilidade das medidas. Foi demonstrado que o

baixo coeficiente de atenuação de raios- β do ⁴⁵Ca para água foi causa da baixa sensibilidade e do alto erro cometido nas medidas de \bar{x}_a , tornando necessário o uso de uma fonte de alta atividade para se ter uma sensibilidade adequada. Mesmo considerando-se que os problemas de baixa sensibilidade e alto erro possam ser superados pelo uso de fontes de alta atividade, é preferível utilizar-se fontes que dêem o erro mínimo, o que implica em selecioná-las de acordo com a faixa de espessuras das folhas da espécie vegetal em estudo.

A fonte de raios-X de 6 KeV mostrou sensibilidade maior nas medidas das variações de espessura de água do que a de raios- β , e sensibilidade menor nas medidas da espessura de matéria seca e da espessura da folha, como conseqüência do baixo valor de I₀ utilizado. Entretanto, seria obtida maior sensibilidade nas medidas de \bar{x}_s e \bar{x} se fossem utilizadas folhas mais espessas, porque o erro mínimo com raios-X de 6 KeV acontece quando $\bar{x} \approx 78 \text{ mg} \cdot \text{cm}^{-2}$. Assim, é necessário que se estude a possibilidade de uso de outras fontes emissoras de raios-X de baixa energia, para que seja possível a escolha daquelas mais adequadas ao estudo das condições hídricas de folhas de determinada espécie vegetal.

Em trabalhos como este, onde são utilizadas medidas de atenuação de duas fontes radioativas, é mais conveniente o uso de feixes de radiação eletromagnética, porque sua atenuação pela matéria segue precisamente a lei de Beer-Lambert, ao contrário das partículas beta, onde tal lei é seguida aproximadamente.

Outra vantagem dos raios-X é aquela de que eles se mostram mais sensíveis às variações de água da folha do que os raios-β. Dessé modo é importanteum estudo sobre o emprego de outras fontes de raios-X monoenergéticos, na faixa

de energia de 1 a 10 KeV, visando selecionar as mais adequadas de acordo com o tipo de folha a ser utilizada. Embora seja pequeno o número de nuclídeos emissores puros de raios-X de baixa energia, existe um grande númerode outros nuclídeos emissores de raios-Xem conjunto com outros tipos de radiação. Com equipamento de detecção apropriado, as radiações indesejáveis podem ser descartadas, permitindo a contagem somente de raios-X. Outra possibilidade seria ouso de fontes artificiais de raios-X, construídas com nuclídeos emissores de raios- β (como fonte de elétrons) e alvos de metais. Essas fontes artificiais emitem raios-X num espectro contínuo de energia, mas eles podem ser filtrados para se obter radiações monoenergéticas.

5.5.2. Geometria

A geometria mostrou-se adequada para as condições em que foi realizado o trabalho, principalmente porque ele foi feito em laboratório, sem necessidade de transporte do equipamento. Entretanto, para uso do equipamento em condições de campo seriam necessárias algumas modificações na geometria, visando torná-la mais prática, principalmente no que se refere à blindagem de chumbo (para diminuir a radiação de fundo) e aos braços de ferro das fontes. Com relação à blindagem, se a atividade das fontes for adequada, ela pode ser suprimida, enquanto que os braços podem ser substituídos por um mecanismo menor, para um melhor aproveitamento prático da montagem.

5.5.3. Equipamento de detecção e contagem

O detector Geiger-Müller tem uma eficiência alta na detecção de partículas beta e radiação eletromagnética de baixa energia, e como ele é um equipamento de manuseio simples e de custo baixo, tende a se adaptar muito bem à geometria necessária em trabalhos como o desenvolvido aqui. O contador ("scaler") utilizado também mostrou--se adequado para as condições do trabalho, mas para determinações no campo há a necessidade de um aparelho portátil, alimentado a bateria. Como já existe no mercado equipamento desse tipo, não haveria limitações no uso do método devido a essa necessidade.

Um equipamento mais sofisticado seria necessário no caso do uso de nuclídeos emissores de raios-X juntamente com outras radiações. Nesse caso, haveria a necessidade do uso de um cristal cintilador como detector e de um circuito descriminador de energias, no caso em que a radiação não desejada fosse eletromagnética, para se detectar somente os raios-X.

5.6. Avaliação do "método das duas fontes radioativas"

Numa avaliação sobre a técnica que está sendo proposta, é necessária uma série de considerações, para que se possa concluir se é viável ou não sob diversos aspectos.

Inicialmente, deve-se dizer que a técnica aqui desenvolvida apresentou certos problemas que necessitam ser melhor estudados, para que ela se torne inteiramente satisfatória. Esses problemas estão relacionados à variabilidade dos coeficientes de atenuação da radiação pela matéria seca e à determinação do peso túrgido, que introduzem erros apreciáveis na estimativa das densidades superficiais da matéria seca e da folha túrgida. O outro problema, ligado à sensibilidade da medida da densidade superficial de água pode ser solucionado, como se viu, pelo uso de fontes radioativas adequadas com relação à energia e atividade dos fótons ou partículas.

Como já foi sugerido, trabalhos posteriores poderão estudar um modo de diminuir os erros devidos à variabilidade da matéria seca e à determinação de x_t. Se isso acontecer, a precisão do método pode ser bastante melhorada, de modo a torná-lo bastante desejável nas determinações das condições hídricas de folhas vegetais, porque permitiria medidas rápidas no campo, sem destruição das amostras e sem necessidade de calibrações.

Nesse trabalho o "método das pesagens" mostrou-se mais preciso do que o "método das duas fontes radioativas", mas considerando-se que a precisão deste último pode ser melhorada, a técnica aqui proposta poderia ser utilizada sem restrições, a não ser aquelas relacionadas aos cuidados necessários no manuseio de material radioativo.

5.7. <u>Estimativa do potencial da água em folhas de soja</u> através da atenuação de radiações

5.7.1. Resultados

5.7.1.1. Equações de regressão

As tabelas 7 e 8 mostram as equações de regressão que melhor se ajustaram aos dados de correlação entre potencial da água (ψ) e atenuação da radiação (I/I_0), em função da idade da folha. Os valores de ψ são dados em bars , enquanto que os de I e I₀ são dados em contagens por minuto.

Tabela 7 - Equações de regressão e respectivos coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2) entre ate - nuação de raios- β ($I_{\beta}/I_{0\beta}$) e potencial da água (ψ), para folhas de soja de idades diferentes.

Idade (dias)	Equações de regressão	r	r ²
6	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,8603 - 0,0055 \psi$	-0,91*	0,83
9	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7325 - 0,0041 \psi$	-0,94*	0,88
12	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,8352 - 0,0094 \psi$	-0,81*	0,64
15	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7453 - 0,0049 \psi$	-0,81*	0.64
18	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7670 - 0,0073 \psi$	-0,82*	0,66
21	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,6928 - 0,0051 \psi$	-0,81*	0,67
2 5	$\ln (I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7833 - 0,0098 \psi$	-0,77*	0,59

* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade.

Tabela 8 - Equações de regressão e respectivos coeficiente de correlação (r) e de determinação (r^2) entre atenuação de raios-X (I_X/I_{0X}) e potencial da água (ψ) para folhas de soja de idades diferentes.

Idade (dias)	Equações de regressão	r	r^2
6		<u>م مح</u> *	0 60
0	$ \lim_{X \to X} (1^{1}_{X}) = -0,3129 - 0,0024 \Psi $	-0,83	0,09
9	$\ln (I_X/I_0) = -0,3018 - 0,0028 \psi$	-0,79*	0,62
12	$\ln (I_X/I_0) = -0,2644 - 0,0020 \psi$	-0,77*	0,59
15	$\ln (I_X/I_0) = -0,2685 - 0,0019 \psi$	-0,76*	0,58
18	$\ln (I_X/I_0) = -0,2782 - 0,0028 \psi$	-0,84*	0,71
21	$\ln (I_X/I_0) = -0,2322 - 0,0014 \psi$	-0,78 [*]	0,61
25	$\ln (I_X/I_0) = -0,2528 - 0,0022 \psi$	-0,72*	0,52

•

* Significativo ao nível de 5 % de probabilidade.

5.7.1.2. Análise estatística

Fez-se a seguinte análise estatística,proposta por ACTON (1966), para verificar se as equações de regressão rea<u>l</u> mente eram diferentes entre si, dentro de cada tipo de radiação utilizada.

a) Soma dos quadrados dos desvios e produto misto das variá veis: os valores obtidos são mostrados nas tabelas 9 e 10, on de a variável ψ é representada por x e a variável in (I/I₀) por y; a soma dos quadrados dos desvios de ψ e de 1n (I/I₀) são representados por Sxx e Syy, respectivamente, e o produto misto das variáveis por Sxy.

Tabela 9 - Valores de médias ($\bar{x} e \bar{y}$), somas dos quadrados dos desvios (Sxx e Syy) e do produto misto das variáveis (Sxy), onde x representa ψ e y representa ln ($I_{\beta}/I_{0_{\beta}}$).

				Sxx	Sxy	Ѕуу
Tratamen-	N	x	- V	$\sum_{n=1}^{2} (\Sigma x)^{2}$	$\Sigma \mathbf{x} \cdot \Sigma \mathbf{v}$	$\frac{2}{\Sigma v}$
to (com			,	$\sum x - \frac{1}{2}$	$\Sigma xy - $	Σy
relação à				N	N	N N
idade).					· · · · · ·	•
						•
Indepen-						
dente da	92	-21,76	-0,64	18112,81	-111,85	1,2556
idade						
6 dias	. 13	-16,21	-0,77	1500,32	- 8,29	0,0556
9 dias	19	-22,80	-0,64	2806,04	- 11,44	0,0531
12 dias	10	-20,76	-0,64	2340,24	- 22,49	0,2381
15 dias	17	-23,08	-0,63	5255,86	- 26,00	0,1952
18 dias	13	-20,38	-0,62	1195,40	- 8,73	0,0938
21 dias	10	-26,35	- 0,56	2940,78	- 14,79	0,1140
25 dias	10	-22,97	-0,56	1075,22	- 10,52	0,1754
		Som	a	17164,96	-102,27	0,9076

Tabela 10 - Valores de médias ($\bar{x} e \bar{y}$), somas dos quadrados dos desvios (Sxx e Syy) e do produto misto das variáveis (Sxy), onde x representa ψ e y representa ln (I_X/I_{0_X}).

3

Tratamen-				Sxx	Sxy	Ѕуу
to (com relação à idade)	N	x	y	$\Sigma_{\rm X} - \frac{(\Sigma_{\rm X})^2}{N}$	$\Sigma_{xy} - \frac{\Sigma_{x} \cdot \Sigma_{y}}{N}$	$\Sigma y - \frac{(\Sigma y)^2}{N}$
Indepen - dente da idade	97	-22,01	-0,23	17447,89	- 34,64	0,1325
6 dias	13	-16,21	-0,28	1500,32	- 3,50	0,0120
9 dias	19	-22,80	-0,24	2806,04	- 8,79	0,0347
12 dias	13	-24,72	-0,21	2021,35	- 4,11	0,0140
15 dias	18	-21,89	-0,23	4601,70	- 8,74	0,0286
18 dias	14	-20,92	-0,22	1295,84	- 3,65	0,0145
21 dias	10	-26,35	-0,20	2940,78	- 4,10	0,0093
25 dias	10	-22,97	-0,20	1075,22	- 2,33	0,0097
		Son	a	16241,25	- 34,22	0,1228

A última linha de cada tabela ("soma") representa a soma dos quadrados dos desvios quando se considera médiadiferente para cada idade. b) Declividades (b), somas dos quadrados dos desvios da regressão (SQReg) e do resíduo (SQR): os valores desses parâmetros, calculados para cada tipo de radiação utilizada,são mostrados nas tabelas 11 e 12.

Tabela 11 - Declividades (b), somas dos quadrados dos desvios da regressão (SQReg) e dos resíduos (SQR), e graus de liberdade para as equações de regressão entre ψ e ln ($I_{\beta}/I_{0_{\beta}}$).

Tratamen- to (com relação à idade).	N	β= Sxy/Sxx	SQReg=b.Sxy	SQR=Syy-ɓ.Sxy	G.L.
Indepen-					
dente da	92	- 0,0062	0,6908	0,5649	90
idade					
6 dias	13	- 0,0055	0,0458	0,0098	11
9 dias	19	- 0,0041	0,0467	0,0064	17
12 dias	10	- 0,0094	0,2114	0,0027	8
15 dias	17	- 0,0049	0,1283	0,0067	15
18 dias	13	- 0,0073	0,0637	0,0030	11
21 dias	10	- 0,0051	0,0744	0,0397	8
25 dias	10	- 0,0098	0,1031	0,0684	8
"Soma"		- 0,0060	0,6093	0,2983	84

Tabela 12 - Declividades (5), somas dos quadrados dos desvios das regressões (SQReg) e dos resíduos (SQR), e graus de liberdade (G.L.) para as regressões entre ψ e ln (I_X/I_{0_v}).

Tratamen- to (com relação à idade)	N	b= Sxy/Sxx	SQReg= b.Sxy	SQR=Syy-ɓ.Sxy	G.L.
Indepen-					
dente da	97	- 0,0020	0,0688	0,0637	95
idade					
6 dias	13	- 0,0024	0,0082	0,0038	11
9 dias	19	- 0,0028	0,0022	0,0130	17
12 dias	13	- 0,0020	0,0084	0,0056 '	11
15 dias	18	- 0,0019	0,0017	0,0120	16
18 dias	14	- 0,0028	0,0103	0,0042	12
21 dias	10	- 0,0014	0,0057	0,0035	8
25 dias	10	- 0,0022	0,0051	0,0046	8
''Soma	111	- 0,0021	0,0722	0,0506	89

c) Testes de variância: as tabelas 13 e 14 mostram os testes de variância, para verificar se a redução na soma dos quadrados dos desvios residuais, ao se ajustar sete equações de regres são, ao invés de uma, foi significativa ou não. Tabela 13 - Teste de significância da redução da soma dos quadr<u>a</u> dos dos desvios residuais, quando se utiliza sete equações de regressão diferentes (de acordo com a idade da folha), ao invés de uma equação independente da idade, para o conjunto de dados entre ψ e ln (I_β/I_{0_β}).

		G.L.	Q.M.
SQR (independente da idade)	0,5649	90	
$SQR_6 + SQR_9 + SQR_{12} + SQR_{15} + SQR_{18} + SQR_{21} + SQR_{25}$	0,2322	78	0,0030
redução	0,3327	12	0,0277
F = 9.3**			

Tabela 14 - Teste de significância da redução da soma dos quadr<u>a</u> dos dos desvios residuais, quando se utiliza equações de regressão diferentes (de acordo com a idade da folha), ao invés de uma equação independente da idade, para o conjunto de dados entre ψ e ln (I_x/I_{0x}).

		G.L.	Q.M.
SQR (independente da idade)	0,0637	95	×
$SQR_{6} + SQR_{9} + SQR_{12} + SQR_{15} + SQR_{18} + SQR_{21} + SQR_{25}$	0,0469	83	0,00054
redução	0,0168	12	0,00138

F = 2,6**

Os valores de F foram significativos ao nível de 1% de significância. Isso indica que, ao se ajustar uma só equação ao conjunto de dados, independente da idade, há aumento sig nificativo da dispersão. Portanto, há necessidade de se ajustar mais de uma reta e, devido a isso, a análise estatística foi extendida, para verificar a possibilidade de ajuste de equações com a mesma declividade. Calculou-se, então, a redução na soma dos quadrados dos desvios residuais devida ao uso de declivida des diferentes, como mostram as tabelas 15 e 16.

Tabela 15 - Cálculo da redução na SQR devido ao uso de declividades diferentes nas equações de regressão entre $\ln(I_{\beta}/I_{0_{\beta}})e$

ψ.		
		' G.L.
SQR das médias comuns	0,2983	84
$SQR_{6} + SQR_{9} + SQR_{12} + SQR_{15} + SQR_{18} + SQR_{21} + SQR_{25}$	0,2480	78
redução devida a declividades diferent	es 0,0503	6

Tabela 16 - Cálculo da redução na SQR devida ao uso de declividades diferentes nas equações de regressão entre $\ln(I_X/I_{0_X}) \in \psi$.

		G.L.
SQR das médias comuns	0,0506	89
$SQR_{6} + SQR_{9} + SQR_{12} + SQR_{15} + SQR_{18} + SQR_{21} + SQR_{25}$	0,0469	83
redução devida a declividades diferentes	0,0037	í

As respectivas análises de variância, para testar a significância das reduções, são mostradas nas tabelas 17 e 18.

Tabela 17 - Análise de variância da redução da dispersão devida ao uso de declividades diferentes nas equações de regressão entre $\ln(I_{\beta}/I_{\beta}) \in \psi$.

		Q.M.
SQR total para uma equação	0,5649	
Redução devida ao uso de médias diferentes	0,2163	
Redução devi <i>da</i> ao uso de declividades diferentes	0,0503	0,0084
SQR reunida para sete equações	0,2983	0,0041
F = 0,0084/0,0041 = 2,15 (n.s.)	,	
Tabela 18 - Analise de variancia da reduça ao uso de declividades diferentes nas e entre $ln(I_X/I_{0_X}) \in \psi$.	o da dispers quações de	ao devida regressão Q.M.
SQR total para uma equação	0,0637	<u>.</u>
Redução devida ao uso de médias diferentes	0,0094	
Redução devida ao uso de declividades diferentes	0,0037	0,00062
SQR reunida para sete equações	0,0506	0,00066
F = 0,00062/0,00066=0,94 (n.s.)		

As análises de variância mostraram que a utilização de declividade diferente para cada equação de regressão (valores de b das tabelas 7 e 8), não reduziu significativamente a dispersão. Pode-se interpretar, portanto que essas declividades não são diferentes entre si, sob o ponto de vista estatístico, de modo que o uso de uma só declividade para todas as equações não introduz erro significativo. Partindo dessa constatação, foram calculadas novas equações de regressão para cada idade, utilizando o valor do coeficiente angular calculado através da soma dos quadrados dos desvios conjuntos, quando se considera médias separadas para cada idade (tabelas 12 e 13). As equações reajustadas são mostradas na tabela 19.

Tabela 19 - Equações de regressão entre $\ln(I_{\beta}/I_{0\beta}) e \psi$, e entre $\ln(I_{\chi}/I_{0\chi}) e \psi$, reajustadas para uma declividade em qualquer idade.

IDADE DIAS	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO	EQUAÇÃO DE REGRESSÃO
6 9	ln $(I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,8673 - 0,0060 \psi$ ln $(I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7843 - 0,0060 \psi$	ln (I_X/I_{0_X}) = -0,3141 - 0,0021 ψ ln (I_X/I_{0_X}) = -0,2885 - 0,0021 ψ
12	ln $(I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7754 - 0,0060 \psi$	ln (I _× ∕I _{0×}) = −0,2659 ~ 0,0021ψ
15	ln $(I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,7688 - 0,0060 \psi$	ln $(I_X/I_{0_X}) = -0,2729 - 0,0021 \psi$
18	ln ($I_{\beta}/I_{0_{\beta}}$) = -0,7396 - 0,0060 ψ	ln (I _X ∕I₀ _X) 1 -0,2632 ⁻ 0,0021ψ́
21	ln (I $_{\beta}$ /I $_{0_{\beta}}$) = -0,7124 - 0,0060 ψ	ln (I_X/I_{0_X}) = -0,2506 - 0,0021 ψ
25	ln $(I_{\beta}/I_{0_{\beta}}) = -0,6958 - 0,0060 \psi$	ln $(I_X/I_{0_X}) = -0,2512 - 0,0021 \psi$
Os intervalos de confiança de â foram calculados através da seguinte equação (ACTON, 1966):

I.C. (a) =
$$\frac{t_{N-2} \cdot \sqrt{SQR} \cdot \sqrt{\Sigma \times^2}}{\sqrt{N-2} \sqrt{N} \sqrt{S \times X}}$$
(75)

onde t_{N-2} é o valor da distribuição t de STUDENT, ao nível de significância escolhido, para N-2 graus de liberdade. A tabela 20 mostra os valores de â com os respectivos intervalos de confiança, para um nível de significância de 10 %.

Tabela 20 - Coeficientes lineares estimados (â) e respectivos intervalos de confiança, para as equações de regressão reajustadas entre ψ e ln (I_β/I₀) e entre ψ e

In $(I_{\chi}/I_{0_{\chi}})$, para um nível de significância de 10 %.

IDADE (DIAS)	ATENUAÇÃO DE RAIOS- β $\hat{a} \stackrel{+}{-} I.C.(\hat{a})$	ATENUAÇÃO DE RAIOS-X $\hat{a} \stackrel{+}{-} I.C.(\hat{a})$
6	- 0,8673 - 0,0269	- 0,3141 - 0,0168
9	- 0,7843 - 0,0160	- 0,2885 - 0,0232
12	- 0,7754 - 0,0569	- 0,2659 - 0,0380
15	- 0,7688 - 0,0468	- 0,2729 - 0,0130
18	- 0,7396 - 0,0910	- 0,2632 - 0,0200
21	- 0,7124 - 0,0760	- 0,2506 - 0,0227
25	- 0,6958 + 0,1320	- 0,2512 - 0,0344

5.7.2. Discussão dos resultados

A análise estatística mostrou que as equações de regressão entre potencial da água e <u>atenuação da radiação</u> pela folha de soja em função da idade, poderiam ser representadas por retas paralelas. Ao se ajustar as equações de regressão para uma só declividade, verificou-se uma tendência de diminuição do valor absoluto dos coeficientes lineares com o aumento da idade, significando isso que, para um mesmo potencial da água, a atenuação da radiação foi maior em folhas mais jovens. Essa tendência não se mostrou uniforme em todo o processo ontogenético da folha, porque o intervalo entre os valores de â das equações de regressão para folhas com 6 e 9 dias de idade foi suficientemente grande para não ser coberto pelos intervalos de confiança dos coeficientes lineares, tanto para atenuação de raios- β , como de raios-X. A partir do 9° dia de idade, os intervalos entre os coeficientes lineares são cobertos pelos intervalos de confiança dos respectivos valores de â.

Para explicar esses fatos, suponha-se a folha inteiramente túrgida e com potencial da água igual a zero. Como mostra a figura 15, há uma tendência de diminuição da densidade superficial da folha túrgida e aumento na densidade superficial da matéria seca com a idade. Isso significa que na turgescência plena, a densidade superficial de água numa folha jovem é maior do que numa folha adulta, de modo que para um mesmo potencial da água há maior atenuação de radiação na folha jovem. A variação da densidade superficial de matéria seca deve interferir na atenuação da radiação, mas em sentido oposto, já que ela aumenta com a idade da folha. Entretanto, sua influência na atenuação da radiação deve ser menor do que a influência plena, porque o valor absoluto da variação de \bar{x}_a é maior do que o da variação de \bar{x}_s .

Da mesma maneira que autores como MEDERSKI e ALLES (1967) concluíram sobre a necessidade da renovação da calibra-

ção a intervalos tanto mais curtos, quanto mais jovem fosse a folha, também pode-se concluir do presente trabalho que a calibração entre ψ e atenuação da radiação deve ser renovada a intervalos variáveis, de acordo com a idade da folha. Folhas com idade entre 6 e 9 dias precisam ter sua calibração renovada diariamente, enquanto folhas com idades inferiores a 6 dias provavelmente deverão ter essa calibração renovada a intervalos de horas. Para idades superiores a 9 dias, uma determinada calibração pode ser utilizada durante um intervalo de tempo maior, (por exemplo, 3 dias), sem introduzir grande erro na medida.

•.....

Os dados obtidos nesse estudo, quando comparados com os obtidos por outros autores, exigem uma discussão mais Por exemplo, YANG e DE JONG (1968), encontraram detalhada. uma relação linear entre T.R.A. e ψ em folhas de trigo, sugerindo que esse tipo de relação pode ser válida a défices hídricos mais acentuados do que aqueles com que trabalharam. Encontrando também uma relação linear entre T.R.A. e atenuação da radiação, eles poderiam justificar a relação linear entre atenuação da radiação e potencial da água. A primeira dúvida a surgir refere-se à relação linear entre atenuação da radiação e o teor relativo de água, porque estando o T.R.A. relacionado à quantidade de água na folha, a relação deve ser exponencial, desde que a lei de Beer-Lambert seja seguida. Essa relação exponencial foi encontrada por MEDERSKI (1961), WHITEMAN e WILSON (1962), NAKAYAMA e EHRLER (1964), enquanto uma relação linear foi encontrada por BIELORAI (1968) em folhas de citrus, e por MEDERSKI e ALLES (1968) em folhas de Essas discrepâncias podem ser devidas a erros de mesoja. dida cometidos por esses autores, principalmente devido à baixa sensibilidade dos raios-β nas medidas da variação de agua e pelos desvios na atenuação de raios-β em relação à lei de Beer-Lambert. Os autores que encontraram uma relação

linear não explicam, também, se tentaram ajustar seus pares de valores a uma equação exponencial, para verificar se os coeficientes de determinação eram maiores, nesse caso.

Outra dúvida refere-se à relação linear entre T.R.A. e ψ da folha. WEATHERLEY e SLATYER (1957) e SLATYER (1960, citado em SLATYER, 1967), encontraram uma relação não linear, conforme mostra a figura 16. Esse tipo de relação também foi obtida no presente trabalho, com folhas de soja (figura 17) e pode ser explicada, teoricamente, pela relação entre pressão hidrostática (P), pressão osmótica (π) e volume celular (V), numa célula vacuolada idealizada, como mostra o diagrama da figura 18, proposto por HÖFLER (1920) e citado por SLATYER (1967) e BARRS (1968).

O diagrama mostra que quando há um decréscimo no volume celular, pela saida de água, a concentração de solutos aumenta, causando um $acréscimo de \pi$ е diminuição de P. A variação de π com V é exponencial, enquanto que P varia linearmente com V, embora isso seja uma aproximação que nem sempre se revela valida, porque em alguns tipos de células e tecidos a relação entre P e V pode não ser linear, principalmente quando a célula se aproxima da turgescência máxima e P se aproxima do valor de π (CRAFTS, CURRIER е STOCKING, 1949, citados em SLATYER, 1967), como mostra a figura 19 (BARRS, 1968).

Segundo BURSTROM (1966), citado em BARRS e KRAMER (1969), a taxa de variação de P com V é considerávelmente maior que a taxa de mudança de P com V, calculando que se o valor de π numa célula diminuisse de 2 atmosferas, pela entrada de solutos, somente um aumento de 0,9% no volume da célula, devido à entrada de água, seria suficiente para causar um aumento de P da mesma magnitude da diminuição de π . Entretanto, para a quantidade de solutos que entra







Ψ(BARS)

Figura 17 - Relação entre potencial da água e teor relativo de água em folha adulta de soja.

.104.



Figura 18 - Relação entre pressão de turgescência (P), pressão osmótica (π) e potencial da água (ψ) numa célula osmótica idealizada (segundo SLATYER, 1966).



Figura 19 - Diagrama das relações entre volume celular ou teor de água e potencial total da água (ou seus componentes) para uma célula (Segundo BARRS, 1968).

na célula e causa uma diminuição de π de 2 atmosferas, deve-se esperar que o volume de água que entra aumente V de um valor muito maior que 0,9%, de modo que a taxa de variação de P é maior que a de π .

Com base nessa discussão, é esperado que o tipo de curva de regressão entre ψ e T.R.A. seja melhor representada por uma equação não linear, embora YANG e DE JONG (1968) tenham encontrado uma relação linear, talvez por uma aproximação da relação exponencial na faixa de défice hídrico utilizada por esses autores. Porisso, deve-se supor que uma curva exponencial entre potencial da água e atenuação da radiação se ajuste melhor aos dados obtidos, do que uma relação linear.

A relação entre ψ , π , P e V deve também mudar com a idade do tecido, causando um efeito de idade na correlação entre potencial de água e atenuação da radiação, em conjunto com o aumento do teor de matéria seca. Uma questão passível de estudo é se essa relação é afetada pela condição nutricional da planta, fato que, se confirmado, causaria um efeito sobre a correlação entre ψ e atenuação da radiação.

> 5.7.2.1. Fontes de erro na determinação do potencial da água em folhas vegetais através da atenuação da radiação

Considerando-se que uma curva exponencial se adapta melhor aos dados entre potencial da água e atenuação da radiação, os coeficientes de correlação indicam que houve certa dispersão dos dados, a qual pode ter sido causada por diversas fontes de erro como: Essa fonte de erro determina a sensibilidade das medidas do teor de matéria seca e de água, como discutido no item 5.4. Porisso, ela também esteve presente na determinação da curva de calibração de ψ através da atenuação de radiações.

b) Variabilidade do material vegetal.

A variabilidade das características do material vegetal, principalmente a variação da composição elementar quali-quantitativa da matéria seca, que influe na atenuação da radiação, foi diminuida pelo uso de folhas de mesma idade na obtenção das regressões. Entretanto, como foram usadas folhas diferentes para se obter uma curva de calibração e pelo fato de haver uma variação natural entre folhas diferentes de uma mesma idade, essa fonte de erro não foi totalmente eliminada e deve ter estado presente nas determinações.

c) Contração lateral da folha

Durante o processo de secamento da folha, a contração lateral causa aumento da sua espessura, o que causa erro na medida de (I/I_0) , pelo fato de que o aumento da atenuação da radiação, pelo acréscimo de \overline{x}_s , compensa em parte a diminuição da radiação devida à perda de água.

MEDERSKI e ALLES (1968) verificaram que a variação da área em folhas de soja diminuiu com a idade, para uma determinada variação do teor relativo de água. Quando o T.R.A. declinou de 100 a 85%, a contração lateral das folhas com 10 dias de idade foi de 7,5% em relação à área inicial, enquanto que para folhas de 20 dias ela foi de 3,5%.

Como ψ está relacionado ao T.R.A., erros devido à

essa contração e da ordem daqueles encontrados por MEDERSKI e ALLES (1968), estiveram presentes neste estudo.

d) Erros na determinação do potencial da água.

Outro fator que pode ter causado dispersão e diminuido as correlações em que ψ está presente é o erro na d<u>e</u> terminação do potencial da água da folha. MILLAR (1971) cita seis fontes de grandes erros que podem estar presentema determinação de ψ através do uso da câmara psicrométrica:(a) calor de respiração da amostra; (b) resistência cuticular da folha; (c) adsorção de água nas paredes da câmara; (d) determinações ambiguas; (e) dano nos tecidos; (f) tempo de equilibrio.

Analisando essas fontes de erro, pode-se dizer que no método da higrometria de par termoelétrico o calor de respiração não é problema, porque, mesmo sendo ele responsável por gradientes de temperatura dentro da câmara, já foi demonstrado que pequenas variações de temperatura causam erros desprezíveis na medida do potencial da água. Com relação as determinações ambíguas, dificilmente é uma fonte de erro em medidas higrométricas. Erros devidos a tempo inadequado de equilíbrio também podem ser evitados, determinando-se,anteriormente ãs medidas, o tempo mais conveniente.

As tres fontes restantes de erro podem ser encontradas nas determinações de ψ com o higrometro de par termoelétrico. A resistência cuticular (α) da folha à difusão do vapor d'água, a qual reduz o fluxo de calor entre amostra e junção de trabalho, pode conduzir à estimativa mais negativa de ψ do que a real. Entretanto, tais erros são diminuidos, segundo PECK (1969), usando-se geometria, dimensão da câmara e tempo de resfriamento adequados. Além disso, MILLAR (1971) cita que erros desse tipo so são consideráveis quandoa resistência cuticular é muito grande, da ordem de centenas de s.cm⁻¹. Segundo esse autor, uma amostra contendo α da ordem de 1000 s.cm⁻¹ apresenta um erro de 1% no valor de ψ , se o tempo de equilíbrio for de 56 minutos. Tempos menores ocasionam erros maiores. Entretanto, nesse estudo utilizou-se tempos de equilíbrio longos (da ordem de 30 a 60 minutos) e como o valor de α para folhas de soja deve sermuito inferior a 1000 s.cm⁻¹, pode-se considerar que o erro devido a esse problema foi pequeno no presente trabalho.

A adsorção de vapor d'água nas paredes da câmara também é indesejável porque, além de interferir com o tempo de equilibrio, conduz a estimativas irreais de ψ . são diminuidos construindo-se câmaras de geoerros 0s metria, dimensão e material convenientes, além de se manter limpas, o máximo possível, as paredes da câmara. Erros desse tipo podem ser avaliados fazendo-se medidas do potencial osmótico de soluções de π conhecido, através de umede cimento de um disco de papel de filtro com as mesmas.. А presença de grande adsorção será comprovada se o tempo de equilibrio for relativamente longo (superior a 10 minutos), porque em tais amostras não há resistência cuticular, e se forem obtidas medidas com bastante diferença em relação ao potencial osmótico titulado da solução. No presente trabalho isso foi feito, observando-se que o equilibrio foi atingido rapidamente e que houve pequena diferença entre o valor de m lido e o titulado, demonstrando que o erro devido à adsorção, o qual dificilmente é eliminado, foi pequeno.

A terceira fonte de erro na medida de ψ com o higrômetro de termopar, refere-se à influência do corte do tecido vegetal na medida do potencial da água. BOYER (1968) assinalou que a excisão do disco, por si só, não causa aumento de ψ . Entretanto, BARRS e KRAMER (1969) demonstraram que o potencial da água aumenta em tecidos danificados de nabo, milho e girassol, causando erro nas medidas, sendo isso devido ao fato das células que permanecem intactas acumularem ativamente os solutos das células cortadas, e permitirem a entrada passiva da seiva diluida destas últimas. Desde que o potencial de pressão varia numa taxa maior e mais rápida com o aumento de volume celular do que π , isso causa um aumento líquido no valor de ψ .

BAUGHN e TANNER (1976), trabalhando com batatinha, girassol, pimenta, soja e aveia, e fazendo medidas em folhas intactas e cortadas, discutiram a possibilidade da mudança do potencial da água após a excisão do tecido,causada pelo secamento da amostra, pela eliminação da tensão hidráulica do xilema e por mudanças internas no tecido, tais como anoxia, crescimento da célula e outros efeitos metabólicos.

Analisando cada um desses fatores em função dos dados obtidos nas cinco espécies citadas, os autores concluiram que pode haver secamento do tecido durante a amostragem ou durante a preparação do tecido, e mesmo após o seu fechamento na câmara, devido à adsorção de água do tecido pelas paredes. A perda de água pode ser minimizada, fazendo-se a amostragem rapidamente ou trabalhando com uma caixa úmida durante a preparação da amostra. No momento em que este trabalho estava sendo redigido, BROWN (1976) publicou uma nota, na qual apresenta detalhes de um engenhoso equipamento, denominado de "psicrômetro cortador de folha" (" leaf - cutter psychrometer"). Nesse instrumento, o disco foliar é cortado através do próprio psicrômetro e cai imediatamente dentro da câmara, a qual é fechada rapidamente. Isso praticamente elimina as perdas de água causadas pelo preparo da amostra.

Através de testes realizados com folhas de soja e aveia, BAUGHN e TANNER (1976) concluiram que foi mínimo o efeito da eliminação da tensão hidráulica quando da excisão da folha. Entretanto, tais autores chegaram à conclusão que mudanças internas no tecido podem interferir com o potencial da água. Verificaram que não houve problemas de anoxia, mas concluiram que o crescimento celular pode ser a causa da diminuição de ψ . Esses decréscimos no potencial da água são explicados por TINKLIN (1967) e BOYER (1968, 1974), os quais mostraram que células em crescimento podem remover água do resto do tecido. O crescimento de uma célula requer substratos metabólicos e alto potencial da água, e quando há ausência de suprimento externo de água, a célula em crescimento retira água de outras células do tecido, de modo que o potencial de turgescência e o potencial total da água do tecido decrescem, até que a turgescência torna-se pequena e não permite o crescimento da célula.

TANNER e BAUGHN (1976) descobriram, também, que sob condições em que era impossível o crescimento da célula, houve diminuição do potencial da água em folhas cortadas, com relação às não cortadas, indicando que outro tipo de mudança interna, não verificada por eles, deve ter interferido nas medidas de ψ quando se cortou as folhas. Afirmam, então, que não é possível determinar, "a priori", se estão ocorrendo erros pelas variações internas em tecido cortado, mas que não deve ser descartada essa possibilidade nas medidas.

Com certeza houve erros neste trabalho, causados pelo uso de discos de folhas, mas não é possível avaliar a magnitude dos mesmos. Os erros devidos ao secamento foram diminuidos, cortando os discos de folha e colocando-os rapidamente na câmara higrométrica, mas se houve erros pelas mudanças internas na hidratação do tecido, eles não foram controlados. Embora a higrometria e a psicrometria de par termoelétrico sejam considerados os métodos mais precisos para a medida do potencial da água da folha, a discussão anterior mostra que eles estão sujeitos a erros, principalmente quando se faz excisão da folha nas determinações. Entretanto, como não está bem definida a magnitude de tais erros, é difícil dizer em quanto eles contribuiram para a dispersão nas regressões entre ψ e ln (I/I₀).

> 5.7.3. Avaliação da técnica de estimativa do potencial da água em tecidos vegetais através da atenuação de radiações

A literatura mostra divergência de opinião entre os pesquisadores sobre a possibilidade de estimativa do estado de energia da água em tecidos vegetais através de atenuação de radiações. NAKAYAMA e EHRLER (1964), e YANG e DE JONG (1968) afirmamque existe essa possibilidade, enquanto WHITEMAN e WILSON (1962) opinam que tal estimativa causa grandes erros nas medidas.

Como foi discutido, teoricamente é possível a determinação do potencial da água de folhas vegetais através dessa técnica. Entretanto, há várias fontes de erro, além da necessidade de calibrações frequentes a intervalos variáveis de tempo, principalmente quando se trabalha com folhas de crescimento rápido. Assim, as mesmas inconveniências encontradas na determinação do teor relativo de água através dessa técnica, também são encontradas na determinação de ψ . Na determinação do T.R.A., as inconveniências do método superam suas vantagens, mas quando ele é comparado com o método convencional, ou de pesagens, ainda assim o uso de equações de regressão entre T.R.A. e atenuação de radiação pode ser vantajoso, principalmente para folhas adultas.

Tal não acontece com a determinação do potencial da água, porque outros métodos, como a higrometria e a psi-

۰. ·

crometria de par termoelétrico superam em diversos aspectos o método de atenuação radioativa, porque eles são usados como padrões deste último método. Como os modelos mais recentes de higrômetros e psicrômetros de par termoelétrico permitem determinações "in situ", a única vantagem que o método radiotivo possui reside na rapidez da determinação.

Pelas razões apresentadas, a estimativa de ψ através da atenuação de radiações somente deve ser feita quando outros métodos mais recomendáveis, como a higrometria de par termoelétrico, a psicrometria de par termoelétrico e a bomba de pressão, não possam ser utilizados.

6. CONCLUSÕES

a) A estimativa do teor relativo de água em folhas vegetais, através da medida da atenuação de dois feixes radioativos distintos, mostrou-se uma técnica que pode substituir com vantagens o método usual que utiliza a atenuação de uma fonte radioativa, eliminando problemas de calibrações frequentes e amostragem destrutiva.

b) Ao se comparar o "método das duas fontes radioativas" com o " método das pesagens", este último mostrou-se mais preciso nas determinações da densidade superficial de matéria seca, densidade superficial de água, densidade superficial da folha túrgida e teor relativo de água, embora a diferença de precisão entre os métodos não fosse significativa sob o ponto de vista estatístico. c) A dispersão encontrada naestimativa dos coeficientes de atenuação da massa da radiação para a matéria seca, foi um dos fatores que contribuiu para a diminuição da precisão relativa do "método das duas fontes radioativas".

d) É conveniente um estudo sobre a influência de fatores como nutrição mineral e idade da planta, nos valores dos coeficientes de atenuação de massa da radiação para a matéria seca, porque tal estudo poderia diminuir a dispersão nas medidas dos coeficientes, aumentando a precisão do método.

e) A estimativa da densidade superficial da folha túrgida, através de sua relação com a densidade superficial de matéria seca, também afetou a precisão do "método das duas fontes radioativas". Os maiores problemas no uso dessa relação estão ligados à própria determinação do peso túrgido da folha e à variabilidade das características físicas do material foliar.

f) Em consequência do baixo coeficiente de atenuação de massa de raios- β do ⁴⁵Ca para matéria seca, encontrou-se pequena sensibilidade nas medidas da densidade superficial de água através desse tipo de radiação, o que sugere serem necessárias fontes de alta atividade, quando se trabalha com radioisótopos cujas energias máximas sejam próximas ou menores do que a do ⁴⁵Ca, na determinação do T.R.A. em folhas vegetais.

g) O uso de raios-X de baixa energia na determinação do estado de hidratação de vegetais mostrou-se satisfatório, sendo sugerido o estudo de outras fontes radioativas, emissoras de raios-X de baixa energia, em tal tipo de determinação.

 h) Em trabalhos envolvendo determinação do estado de hidratação de folhas vegetais, através de radiações, é conveniente o uso de duas fontes emissoras de raios-X, porque sua atenuação segue exatamente a lei de Beer-Lambert. *il* Encontrou-se uma relação exponencial entre o potencial da água e a atenuação da radiação em folhas de soja.

 j) Houve um efeito de idade nas equações de regressão entre potencial da água e atenuação da radiação em folhas de soja.

1) Folhas de soja com idades inferiores a 6 dias precisam ter renovada a calibração entre potencial da água e atenuação da radiação, a intervalos de tempo inferiores a um dia. Esses intervalos aumentam com o processo ontogenético da folha, de modo que em folhas adultas a calibração pode ser renovada a intervalos de cerca de 3 dias.

m) Pelos problemas de ordem prática que apresenta, relacionados à renovação constante da calibração e à destruição da amostra vegetal, a determinação do potencial da água em folhas de espécies vegetais de crescimento rápido,através de atenuação da radiação, só deve ser feita quando outros métodos mais precisos não possam ser utilizados.

7. SUMMARY

A modification was proposed in the β -ray gauging method to estimate relative water content of leaves. The modification consisted in measuring the attenuation by the leaf two radiation beams of different radioactive sources. of Βv this means the mass of dry matter and the mass of water per unit leaf area were determined simultaneously, employing the law of Lambert-Beer. These simultaneous determinations eliminate the use of a regression equation between water content and radiation attenuation, thus overcoming some inconveniences of the original method, such as frequent recalibrations and destructive sampling.

When compared with the method of determining relative water content of leaves by weighing, the technique here proposed was less precise, but possibilities of increasing the precision by studying some factors which would permit a decrease in the error of measurement are discussed. The radioactive sources used were ${}^{45}Ca$ (emitting only β -rays) and ${}^{55}Fe$ (emitting only X-rays). It was concluded that the sensitivity for measuring changes in mass of water per unit leaf area by β -rays of ${}^{45}Ca$, was adequate when a high count rate was used, because of the low coefficient of mass attenuation for water with β -rays.

The sensitivity for measuring changes in mass of water per unit leaf area by X-rays of ${}^{5}{}^{5}$ Fe was greater than by β -rays of ${}^{4}{}^{5}$ Ca, but lower for measurements of mass of dry matter per unit area and mass of leaf per unit area. Although the ${}^{5}{}^{5}$ Fe source is more appropriate for leaves thicker than those used in this study, it was concluded that the use of low energy X-rays is a suitable means to estimate leaf water content.

A study was also made of the possibility to estimate water potential of soybean leaves by attenuation of radiation. It was concluded that such an estimate, although possible, presents a series of problems, because the regression equations are influenced by leaf age, making frequent recalibrations necessary, principally with young leaves. For this reason, and because of the destructive sampling during calibration, and because of errors presented, this estimate should be used when other methods of measuring ψ are not possible.

8. LITERATURA CITADA

- ACTON, F. S., 1966. Analysis of straight-line data. Nova Iorque. Dover Publications, Inc., 267p.
- BABALOLA, O. e R. LAL, 1974. A neutron moisture meter and betagauging technique to investigate plant-water relations for Maize (Zea mays, L.) in Western Nigeria. In: Isotope and Radiation Techniques in Soil Physics and Irrigation Studies. 1973. Proceedings of a Symposium, Viena, 1973. I.A.E.A. p.335-349.
- BARRS, H. D. e P. E. WEATHERLEY, 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. Austr. J. Biol. Sci. Melbourne, 15:413-428.
- BARRS, H. D., 1968. Determination of water deficits in plant tissues. In: KOZLOWSKI, T. T. (ed.). Water Deficits and Plant Growth. Nova Iorque, Londres, Academic Press, vol. I, p.235-368.

- BARRS, H. D. e P. J. KRAMER, 1969. Water potential increase in sliced leaf tissue as a cause of error in vapour phase determinations of water potential. *Plant Physiol*. Lancaster, 44:959-964.
- BAUGHN, J. W. e C. B. TANNER, 1976. Excision effects on leaf water potential of five herbaceous species. Crop Sci. Madison, 16:181-190.
- BECK, W. A., 1928. Osmotic pressure, osmotic value and suction tension. *Plant Physiol*. Lancaster, 3:413-440.
- BERTIN, P. E., 1971. Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis. Nova Iorque, Londres, Plenum Press, 679p.
- BIELORAI, H., 1968. Beta-ray gauging technique for measuring leaf water content changes of citrus as affected by the moisture status in the soil. J. of Exptl. Bot. Oxford, 19:489-495.
- BOYER, J., 1967. Leaf water potentials measured with a pressure chamber. *Plant Physiol*. Lancaster, 42:133-137.
- BROWN, R. W., 1976. New Technique for measuring the water potential of detached leaf samples. *Agron. J.* Madison, 68:432-434.
- BROYER, T. C., 1947. The moviment of materials into plants. I: Osmosis and the moviment of water into plants. Bot. Rev. Bronx, 13:1-58.
- BUSCHBOM, U., 1970. Zur Methodik kontinuerlicher Wassergehalt Bertmmunger and Blättern mittels β-Strahlenabsorption. *Planta*.Berlim, 95:146-166.

- CAMPBELL, G. S. e M. D. CAMPBELL, 1974. Evaluation of thermocouple hygrometer for measuring leaf water potential "in situ". Agron. J. Madison, 66:24-27.
- CATSKY, J., 1965. Leaf disk method for determining water saturation deficit. In:ECKARDT, F. E. (ed.): Methodology of Plant Eco-Physiology (Arid Zone Res. 25). UNESCO. Paris. 353-360.
- CHASE, G. D. e J. L. RABINOWITZ, 1967. Principles of Radioisotope Methodology. 3^a ed. Minneapolis. Burgess Publ. Co. 633 p.
- CHEN, L. H.; H. J. MEDERSKI e R. B. CURRY, 1971. Water status effects on photosynthesis and stem diameter in soybean plants. *Crop. Sci.*Madison, 2:428-431.
- CURTIS, O. F. e H. T. SCHOFIELD, 1933. A comparison of osmotic concentration of supplying and receiving tissues and its bearing on the Münch hypothesis of the translocation mechanism. *Amer. J. Bot.* Baltimore, 20:502-512.
- CZERSKI, J., 1968. Gasometric method of water deficit measurement in leaves. *Biol. Plant.* Praga. 10:275-283.
- DALTON, F. N. e S. L. RAWLINS, 1968. Design criteria for Peltier-effect thermocouple psychrometer. Soil Sci. Baltimore, 105:12-17.
- DAY, P. R., 1942. The moisture potential of soils. Soil Sci. Baltimore, 54:391-400.
- EDLEFSEN, N. E., 1941. Some thermodinamics of aspects of the use of soil moisture by plants. *Trans. Amer. Geophys. Union. Trans.* Washington, 22:917-940.
- EDFLESEN, N. E. e A. B. C. ANDERSON, 1943. Thermodinamics of soil moisture. *Hilgardia*. Berkeley, 15:31-298.

- EVANS, R. D., 1969. The atomic nucleus. Nova Iorque, Mc Graw--Hill Book Co. 972 p.
- FERRAZ, E. S. B., 1974. Determinação simultânea de densidade e umidade de solos por atenuação de raios gama do ¹³⁷Cs e ²⁴¹Am. Tese de livre-docência. Piracicaba, E.S.A.L.Q. - USP.
- GARDNER, W. e J. CHATELAIN, 1947. Thermodinamic potential and soil moisture. *Proc. Soil Sci. Soc. Amer.* Madison *11:* 100-102.
- GARDNER, W. H.; W. R. GARDNER e W. GARDNER, 1951. Thermodinamics and soil moisture. *Soil Sci.* Baltimore, 72:101-105.
- GARDNER, W. R. e R. H. NIEMAN, 1964. Lower limit of water availability to plants. *Science*. Washington, 143:1460-1462.
- HOFFMANN, G. J. e W. E. SPLINTER, 1968. Instrumentation for Measuring Water Potential of an Intact Plant-Soil System. Trans. of Am. Soc. of Agric. Eng. Michigan, 11:38-42.
- HSIEH, J. J. C. e F. P. HUNGATE, 1970. Temperature compensated Peltier psychrometer for measuring plant and soil water potentials. *Soil Sci*. Baltimore, 110:253-257.
- JAECH, J. L., 1971. Further tests of significance for Grubb's estimators. *Biometrics*. Richmond, 27:1097-1101.
- JARVIS, P. G. e R. O. SLATYER, 1966. Calibration of β-Gauge for determining leaf water status. *Science*. Washington, 153:78-79.
- JONES, H. G., 1973. Estimation of plant water status with the beta gauge. Agr. Meteorol. Amsterdam, 11:345-355.
- JONG, E. de., 1971. Use of beta radiation to measure the moisture content of plant leaves. In: Isotope Methodology and Techniques in Soil-Plant Nutrition and Plant Physiology. Sask. Inst. Pedology. 64-68.

- KNIPLING, E. G., 1967. Measurement of leaf water potential by the dye method. Ecology. San Diego, 48:1038-1040.
- KRAMER, P. J., 1937. Relation between rate of transpiration and rate of absorption of water in plants. Am. J. Botany. Baltimore.
- KRAMER, P. J. e H. BRIX, 1965. Measurement of water stressin plants. In: ECKARDT, F. E. (ed.). Methodology of Plant Eco--Physiology (Arid Zone Res. 25). UNESCO. Paris, 343-351.
- LANG, A. R. G.; B. KLEPER e M. J. CUMMING, 1969. Leaf water balance during oscillation of stomatal aperture. *Plant Physiol.* Lancaster, 44:826-830.
- MALAVOLTA, E.; H. P. HAAG; F. A. F. de MELLO e M. O. C. BRASIL Sobr^o, 1974. Nutrição Mineral e Adubação das Plantas Cultivadas. São Paulo, Livraria Pioneira Editora, 575 p.
- MALONEY, C. J. e S. C. RASTOGI, 1970. Significance test for Grubb's estimators. *Biometrics*. Richmond, 26:671-676.
- MASCARENHAS, H. A. A., 1973. Acúmulo de matéria seca, absorção e distribuição de elementos, durante o ciclo vegetativo da soja. Instituto Agronômico, Campinas, Boletim Técnico nº 6. 48 p.
- MEDERSKI, H. J., 1961. Determination of internal water by beta gauging technique. Soil Sci. Baltimore, 92:143-146.
- MEDERSKI, H. J. e W. ALLES, 1968. Beta gauging leaf water status: Influence of changing leaf characteristics. *Plant Physiol*. Lancaster, 43:470-472.
- MEYER, B. S., 1945. A critical evaluation of the terminology of diffusion phenomena. *Plant Physiol*. Lancaster, 20:142-164.

- MILBURN, J. A. e P. E. WEATHERLEY, 1971. The influence of temperature on the process of water uptake by detached leaves and leaf discs. *New Phytol.* Oxford, 70:929-938.
- MILLAR, A. A.; A. R. G. LANG e W. R. GARDNER, 1970. Four-terminal Peltier type thermocouple psychrometer for measuring water potential in nonisothermal systems. Agron. J. Madison, 62:705-708.
- MILLAR, B. D., 1971. Improved thermocouple psychrometer for the measurement of plant and soil water potential. J. of Exptl. Bot. Oxford, 22:875-890.
- MORGAN, W. A., 1939. A test for the significance of the difference between the two variances in a sample from a normal bivariate population. *Biometrika*. Londres, 31:13-19.
- NAKAYAMA, F. S. e W. L. EHRLER, 1964. Beta ray gauging technique for measuring leaf water content changes and moisture status of plants. *Plant Physiol*. Lancaster, 39:95-98.
- NEUMANN, H. H. e G. W. THURTEEL, 1972. A Peltier cooled thermocouple dewpoint hygrometer for "in situ" measurements of water potentials. *In:* R. W. BROWN e B. P. VAN HAVEREN, (eds.). Psychrometry in water relations research. Utah Agr. Exp. Sta., Utah State University, Logan, Utah. p.103-112.
- NEUMANN, H. H.; G. W. THURTEEL; K. R. STEVENSON e C. L. BEADLE, 1974a. Leaf water content and potential in corn, sorghum, soybean and sunflower. Can. J. Plant Sci. Otawa, 54:185-195.
- NEUMANN, H. H.; G. W. THURTEEL e K. R. STEVENSON, 1974b. In situ measurements of leaf water potential and resistance to water flow in corn, soybean and sunflower at several transpiration rates. *Can. J. Plant Sci.* Otawa, 54:175-184.

- OBREGEWITSCH, R. P.; D. E. ROLSTON; D. R. NIELSEN e F. S. NA-KAYAMA, 1975. Estimating relative leaf water content with a simple beta gauge calibration. *Agron. J.* Madison, 67:729--732.
- OHLROGGE, A. J. e E. J. KAMPRATH, 1968. Fertilizer use on soybeans. p.273-295. In: R. C. Dinaur (ed.). Changing patterns in fertilizer use. Soil Science Society of America Inc. Madison, Wisconsin.
- OERTLY, J. J.; E. ACEVES NAVARRO e L. H. STOLZY, 1975. Interpretation of foliar water potential measurements. *Soil Sci.* Baltimore, *119*:162-166.
- PECK, A. J., 1968. Theory of the Spanner psychrometer. I: The thermocouple. Agr. Meteorol. Amsterdam, 5:433-447.
- PECK, A. J., 1969. Theory of the Spanner psychrometer. II: Sample effects and equilibration. Agr. Meteorol. Amsterdam, 6:111-124.
- PEYNADO, A. e R. H. YOUNG, 1968. Moisture changes in intact citrus leaves monitored by a β-gauge technique. Proc. Am. Soc. Hort. Sci. Nova Iorque, 92:211-220.
- PITMAN, E. J. G., 1939. A note on normal correlation. *Biometrika*. Londres, 31:13-19.
- PURITCH, G. S. e J. A. TURNER, 1973. Effects of pressure increase and release on temperature within a pressure chamber used to estimate plant water potential. J. of Exptl. Bot. Oxford, 24:342-348.
- RAWLINS, S. L., 1966. Theory for thermocouple psychrometers used to measure water potential in soil and plant samples. *Agr. Meteorol.* Amsterdam, 3:293-310.

- RICHARDS, S. A. e G. OGATA, 1958. Thermocouple for vapour pressure measurement in biological and soil systems at high humidity. *Science*, Washington, *128*:1089-1090.
- ROLSTON, D. E. e M. L. HORTON, 1968. Two beta sources compared for evaluating water status of plants. *Agron. J.* Madison, 60:333-336.
- SCHOLANDER, P. F.; H. T. HAMMEL; E. D. BRADSTREET e E. A. HEM-MINGSEN, 1965. Sap pressure in vascular plants. Science. Washington, 148:339-346.
- SKIDMORE, E. L. e J. F. STONE, 1964. Physiological role in regulating transpiration rate of the cotton plant. Agron. J. Madison, 56:405-410.
- SLAVIK, B., 1974. Methods of Studying Plant Water Relations. Praga, Academia Publiching House of the Czechoslovąk Academy of Sciences. Berlim - Heidelbert, Nova Iorque, Springer--Verlag. 449 p. Ecological Studies, vol. 9.
- SLATYER, R. O., 1967. Plant-Water Relationships. Londres, Nova Iorque, Academic Press. 366 p. Experimental Botany, vol. 2.
- SPANNER, D. C., 1951. The Peltier effect and its use in the measurement of suction pressure. J. of Exptl. Bot. Oxford, 2:145-167.
- STILES, W., 1922. The suction pressure of the plant cell. Biochem. J. Londres, 16:727-728.
- STOCKER, O. 1928. Das Wasserhaushalt Hgyptischer w"usten und Salzpflanzen. Bot. Abhandl, Jena. 13:1-200.
- TAYLOR, S. A. e R. O. SLATYER, 1961. Water-Soil-Plant Relations Terminology. Proc. Int. Congr. Soil Sci. Madison, 1: 394-403.

- TAYLOR, S. A. e R. O. SLATYER, 1962. Proposal for a unified terminology in studies of plant-soil-water relationships. *In:* Plant-Water Relationships in Arid and Semi-Arid Conditions. Proc. Madrid Symp. (Arid Zone Res. 16). Paris. UNESCO. 339-349.
- THODAY, D., 1918. On turgescence and the absorption of water by the cells of plants. *New Phytol.* Oxford, 17:108-113.
- TINKLIN, R., 1967. Note on the determination of leaf water potential. *New Phytol*. Oxford, 66:85-88.
- WANG, C. H. e D. L. WILLIS, 1965. Radiotraces Methodology in Biological Science. Englewwod Cliffs, N.J. Prentice-Hall, Inc. 382 p.
- WARING, R. H. e B. D. CLEARY, 1967. Plant moisture stress: evaluation by pressure bomb. *Science*. Washington, 155:1243-1254.
- WEATHERLEY, P. E., 1950. Studies in the water relations of cotton plant. I) The field measurements of water deficits in leaves. New Phytol. Oxford, 49:81-87.
- WEATHERLEY, P. E. e R. O. SLATYER, 1957. Relationship Between Relative Turgidity and Diffusion Pressure Deficit in Leaves. *Nature*. Londres, 179:1085-1086.
- WHITEMAN, P. C. e G. L. WILSON, 1962. Estimation of diffusion pressure deficit by correlation with relative turgidity and beta-radiation absorption. Austr. J. Biol. Sci. Melbourne; 16:140-146.
- YANG, S. J. e E. de JONG, 1968. Measurement of internal water status in wheat plants. Can. J. Plant Sci. Otawa, 48:89-95.