

ENSAIOS BIOFOTÔNICOS EM TESTES DE GERMINAÇÃO DE TRIGO

Santos, S. R.; Garofalo, R. T.; Julião, G. O.; Moraes, T. A.; Gallep, C. M.

Laboratório de Fotônica Aplicada – LaFA

DTT / CESET - Universidade Estadual de Campinas – Campus I – Limeira

samuel.santos@agr.unicamp.br, gallep@ceset.unicamp.br

Palavras-chave: *Biophoton, teste de germinação, trigo, lodo de ETE, toxicidade.*

Introdução

Os testes ecotoxicológicos têm se mostrado uma importante ferramenta aplicada ao monitoramento ambiental. O presente grupo tem estudado a aplicação da técnica biofotônica em testes de germinação voltados a ecotoxicologia terrestre, na qual ensaios com grãos de trigo com e sem estresse tem sido realizados a fim de se atestar a viabilidade da técnica aplicada a este tipo de abordagem. A “biofotônica” (emissão ultrafraca de luz por seres vivos) tem sido objeto de estudo por vários pesquisadores em todo o globo, uma vez que a mesma pode ser correlacionada com as condições fisiológicas dos organismos, sendo que esta emissão apresentando intensidade de 10^1 a 10^3 fótons/cm².s é encontrada em compostos orgânicos e em conjunto com a atividade dos sistemas biológicos (CHANG et. al., 1998). Desde a descoberta da foto-emissão proveniente de espécies vegetais pelo grupo de Colli (1954), onde os mesmos indicaram fortes relações entre a luz emitida abrangendo o espectro visível e as condições fisiológicas das amostras testadas, muitos grupos de pesquisa têm estudado os dados de foto-emissão provenientes de sementes como forma de indicar estádios de desenvolvimento e alterações metabólicas (KOBAYASHI; INABA, 2000; ZEIGER, 1998). Desta forma o presente trabalho descreve as comparações entre os dados de foto-emissão provenientes de testes de germinação de trigo sob estresse com dados provenientes de amostras submetidas a testes em água destilada, demonstrando diferenças significativas entre as mesmas.

Material e Métodos

Para a realização deste trabalho, foram coletadas amostras de lodo de esgoto de um reator anaeróbio em uma estação de tratamento de esgoto sanitário com concentrações de 19080mgO₂/L para DQO, 880mL/L de Sólidos Sedimentáveis e 72,5% de umidade. Os ensaios com germinação contendo soluções de lodo de esgoto foram realizados mediante a análise prévia dos teores de nitrogênio (amônia, nitrito e nitrato). Os testes foram preparados utilizando-se grãos de trigo escolhidos ao acaso em um lote de sementes, sendo 50 grãos dispostos em placa de petri (10cm de diâmetro) com papel-filtro para germinação e 10mL de solução e conduzidos para câmara de foto-contagem idealizada por Gallep et. al., (2005). O procedimento foi adotado em séries intercaladas contendo amostras testadas com água destilada (pH variando entre 6,5 – 7), e amostras testadas com soluções de lodo de esgoto, sendo referenciadas aqui como grupos de germinação em ordem crescente: g0=água destilada, g1=3%, g2=6,25%,...g5=50%. No quarto dia checkou-se a taxa de germinação e o comprimento das plântulas com régua milimetrada. Os dados experimentais foram tratados estatisticamente com base nas incidências, soma, média e variância para melhores correlações entre os testes.

Resultados e Discussão

A figura 1a apresenta a curva característica referente aos dados de foto-emissão de trigo em teste de germinação em câmara escura com foto-multiplicador acoplado com 72h de duração. Destaca-se o incremento da emissão de luz após 24h do início do teste, e posteriormente o aparecimento de biorritmo no intervalo de 36 à 72h. Já a figura 1b descreve a comparação entre os vários grupos testados em água destilada. Ao passo que na figura 1c são feitas correlações entre os grupos submetidos a testes de germinação em soluções de lodo de ETE.

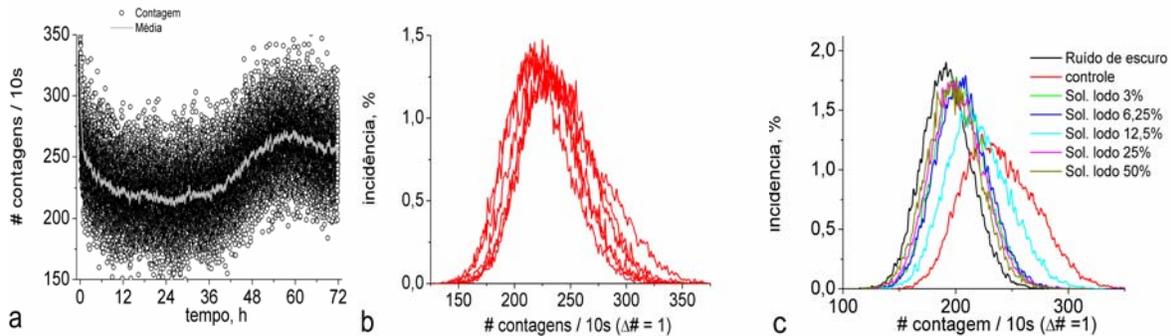


Figura 1: Teste de germinação de trigo em câmara escura: a) curva típica de foto-contagem com trigo em água destilada, b) distribuição em frequência de diferentes testes em água destilada, c) comparação entre grupos submetidos a testes de germinação em lodo de ETE e ruído de escuro.

Como se pode observar na figura 1b os comportamentos de foto-emissão foram similares em diversos testes envolvendo trigo sem agente estressor. A média dos comprimentos das plântulas ficou em torno de 8,13cm (variação de $\pm 0,3$ cm) e com taxas de germinação de 95% $\pm 3\%$, mostrando que, quando utilizados como elementos controle, estes podem ser analisados do ponto de vista fito-tóxico em testes aplicados a ecotoxicologia terrestre. Na figura 1c, é clara a distinção entre os grupos testados em diferentes soluções de lodo de ETE. Pode-se verificar que à medida que as soluções aumentam em concentração, estas por sua vez são acompanhadas por uma baixa incidência nas emissões fotônicas. Vale ressaltar, que embora os sinais biofotônicos sejam extremamente fracos, estes por sua vez sempre se mantiveram acima do sinal de ruído de escuro que apresentou uma média de 145#/10s e variância a cerca de 325#/10s.

A figura 2 descreve o comportamento estatístico dos diferentes grupos testados com soluções de lodo de ETE, e confrontados com foto-contagem dos grupos submetidos aos testes de germinação em água destilada. Em tais, testes os grãos de trigo foram previamente adaptados ao escuro por um período de 48h em câmara B.O.D. a uma temperatura constante de 21°C. Os resultados mostraram-se promissores do ponto de vista ecotoxicológico, uma vez que o tempo de análise de foto-contagem pôde ser reduzido para 24h de duração.

Já figura 2a evidência o comportamento dos grupos testados em soluções de lodo de ETE comparados também com o grupo contendo água destilada (grupo g0), sendo que nenhum grupo obteve melhores desempenhos em relação ao grupo controle, acompanhados por uma menor taxa de foto-emissão. Na segunda bateria de testes, o lodo de ETE apresentou teores de amônia em torno de 251,163 mg/L e as plântulas apresentaram sintomas de toxidez com necroses nas folhas e raízes o mesmo ocorrendo na terceira série (figura 2c).

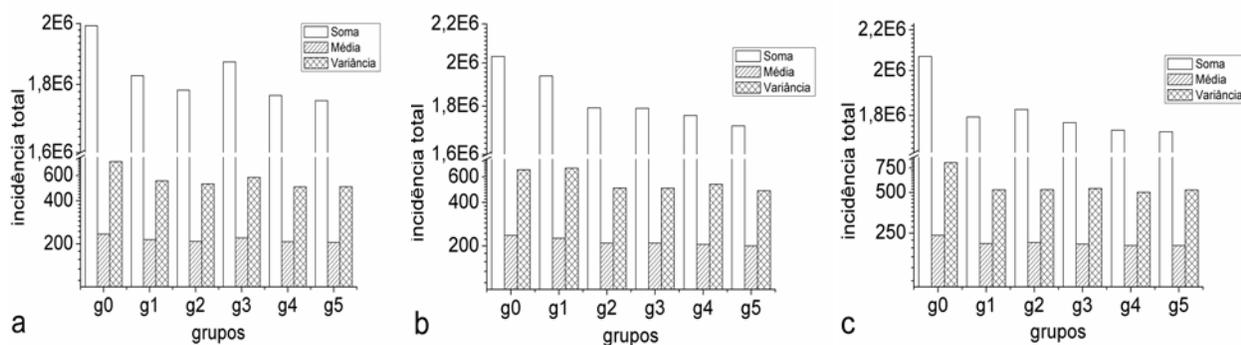


Figura 2: Parâmetros estatísticos de contagem: séries contendo testes de germinação com grãos de trigo previamente adaptados ao escuro durante 48h, a) primeira série testes de germinação em lodo de ETE com teores de amônia da ordem de 109,6 mg/L; b) testes de germinação em lodo de ETE com teores de amônia em torno de 251mg/L; c) série de testes com lodo de ETE apresentando teores de amônia acima de 260mg/L.

Segundo Taiz e Zeiger (2004), íon amônio é capaz de dissipar gradientes de prótons transmembrana, inibindo assim o desenvolvimento das plântulas ao longo do teste de germinação. Um exemplo notável a ser citado refere-se aos grupos da terceira bateria de testes, estes apresentando plântulas com desenvolvimento dos sistemas radicular e foliar extremamente afetados (g3, g4 e g5) chegando a apresentar comprimentos médios da cada plântula de no máximo 1,5cm para o grupo g3 e 0,9cm para o grupo g5, ambos apresentando taxas de germinação abaixo de 50%. Todavia, em todas as séries testadas, embora houvesse grupos com comportamentos semelhantes como pode ser observado nas médias de foto-contagem, o somatório de foto-contagem mostrou-se como o parâmetro mais importante para se efetuar melhores comparações entre os mesmos. Tendo em vista que em todos os testes à medida que baixos desempenhos nas taxas de germinação se manifestaram, puderam-se perceber as alterações nas incidências de foto-emissão, configurando-se assim como uma importante ferramenta aplicada ao controle ambiental.

Conclusão

Medidas de foto-contagem em testes de germinação de trigo em água destilada e em lodo de ETE são apresentados e confrontados sob um ponto de vista ecotoxicológico. Os dados corroboram com estudos realizados por (GALLEP; SANTOS, 2007; GALLEP, et. al., 2007), mostrando que a técnica apresenta versatilidade na sua aplicação, gerando resultados em tempo-real com uma considerável diminuição no tempo de análises.

Agradecimentos

Os autores são gratos à Fapesp (Processos 04/10146-3, 07/50046-6, 07/50047-2), ao SAE/Unicamp, ao CNPq (Processo 12589899-7), ao IIB (International Institute of Biophysics – Neuss/Germany), ao Prof. Evandro Conforti (DMO-FEEC-Unicamp), aos Profs. Abílio L. Oliveira Neto (*in memoriam*) e Cassiana M. R. Coneglian e aos colaboradores do LEAL (Laboratório de Ecotoxicologia aquática e Limnologia).

Referências Bibliográficas

CHANG, J. J., FISCH, J., POPP, F. A., **Biophotons**, Kluwer Acad. Publ., 1998.

COLLI, L., FACCHINI, H., “Light emission by germinating plants”, **Nuovo Cimento**, v.12, p.150-153, 1954.

GALLEP, C. M., *et. al.*, Rhythmicities in the spontaneous photon emission of wheat seedlings. In: **SBMO/IEEEEMTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference**, Salvador-BA, p. 713-715, 2007.

GALLEP, C. M., SANTOS, A. M. O., CONFORTI, E., Low-cost, simplified systems for photon-counting measurements in biological samples. In: **roceed. of International Conference on Microwave and Optoelectronics – IMOC**, Brasília/Brazil, p. 188-191, 2005.

GALLEP, C. M., SANTOS, S. R., Photon-counts during germination of wheat (*Triticum aestivum*) in wastewater sediment solutions correlated with seedling growth, **Seed Science & Technology**, v.35, p. 607-614, 2007.

KOBAYASHI, M., INABA, H., “Photon statistics and correlation analysis of ultraweak light originating from living organisms for extraction of biological information”, **Applied Optics**, v.32, p.183-192, 2000.

TAIZ, L., ZEIGER, E., **Fisiologia Vegetal**, 3a ed., Porto Alegre: Artmed, 2004.

ZEIGER, B.F.. Photon emission of cereal seed as a measure of germinating ability and vigour. **Biophotons** (eds.J.J. Chang, J. Fisch and F.A. Popp,) Kluwer Acad. Publ, London, p. 251-297, 1998.