

## II-534 - AVALIAÇÃO BIOFOTÔNICA NA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE MILHO COM PERCOLADO DE ATERRO SANITÁRIO

### **Fabiane Karen Godoy<sup>(1)</sup>**

Engenheira Ambiental pela Universidade Estadual Paulista. Mestre em Agricultura e Ambiente pela Universidade Federal de São Carlos. Doutoranda em Tecnologia Ambiental pela Universidade Estadual de Campinas.

### **Cristiano de Mello Gallep**

Engenheiro Elétrico, ênfase em Telecomunicações pela Universidade Estadual de Campinas. Mestre em Engenharia Elétrica, Optoeletrônica pela Universidade Estadual de Campinas. Doutor em Engenharia Elétrica, Optoeletrônica pela Universidade Estadual de Campinas. Pós-doutorado pela Universidade Técnica de Eindhoven. Professor Doutor da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Limeira, São Paulo.

### **Peterson Bueno de Moraes**

Graduado em Física pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Mestrado em Geociências e Meio Ambiente pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Doutorado em Engenharia Mecânica pela Universidade Estadual de Campinas. Pós-doutorado da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho. Professor Doutor da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Limeira, São Paulo.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Pascoal Marmo, 1888 – Jardim Nova Itália - Limeira - SP - CEP: 13484-332 - Brasil - Tel: (19) 2113-3354 - e-mail: godoy.fabiane@gmail.com

### **RESUMO**

O percolado de aterro sanitário, também chamado de chorume, é conhecido por suas propriedades tóxicas e altamente poluidoras. Um dos tratamentos possíveis para o percolado é o tratamento eletrolítico usando eletrodos dióxidos, o qual geralmente reduz a cor, carga orgânica e toxicidade do efluente tratado e não gera lodo. É notório que o percolado também é rico em macronutrientes (entre eles o nitrogênio, o fósforo e o potássio) e micronutrientes (como boro e zinco), ambos essenciais para o crescimento e desenvolvimento de plantas e espécies florestais, tais como o girassol e o milho, por exemplo. Entretanto, faz-se necessária a quantificação dos efeitos resultantes da interação desse efluente com a microbiota e plantas, o solo e os recursos hídricos, através de testes de fitotoxicidade, para tal pode ser utilizada a técnica de fotoluminescência para avaliação das condições de sementes em germinação, que pode ser correlacionada com o estresse sofrido pelo organismo. Desta forma, o propósito deste trabalho é verificar a viabilidade de germinação e fertirrigação do girassol com percolado de aterro sanitário tratado através do monitoramento da planta, do solo, da solução do solo e solução lixiviada, de forma a identificar possíveis alterações nesses compartimentos ambientais, além da sua fitotoxicidade e ainda, avaliar o desempenho da cultura empregada. Foi avaliada a eficiência do tratamento eletroquímico do percolado do aterro de Limeira – SP, além do monitoramento ambiental que foi baseado em análises físico-químicas para parâmetros agronômicos (macro e micronutrientes), físico-químicos e biológicos (como nitrato, sódio, DBO, CE, metais pesados e de *E. coli*). A avaliação da produtividade e extração dos nutrientes pela cultura foi mensurada pelas análises dendrométricas, pela análise foliar e pela emissão biofotônica das sementes. Os resultados mostraram que a melhor diluição de percolado bruto e tratado para o crescimento das sementes de milho foi a 25%. A germinação e o crescimento das sementes de milho com chorume tratado na concentração de 50% foi maior que no tratamento com chorume bruto a 50%. O tratamento fotoeletroquímico promoveu a redução dos compostos orgânicos do percolado e atenuou o estresse na planta. Assim, espera-se que este trabalho proporcione o uso do percolado na fertirrigação em agrícolas no futuro, através da escolha da concentração de aplicação e do tratamento mais adequados, promovendo o reaproveitamento dos nutrientes do efluente e sem gerar efeitos adversos no solo e nos recursos hídricos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Reúso agrícola, percolado de aterro sanitário, processos oxidativos avançados, fitotoxicidade, girassol.

## INTRODUÇÃO

O crescente aumento do número de aterros sanitários implantados no Brasil e no Estado de São Paulo traz a preocupação da destinação adequada dos subprodutos gerados pela decomposição dos resíduos sólidos urbanos (RSU). A produção de gases e de percolato são consequências inevitáveis da prática de resíduos em aterros sanitários. De maneira geral, o percolato pode ser considerado como uma matriz de extrema complexidade, composta por matéria orgânica dissolvida (formada principalmente por metano, ácidos graxos voláteis, compostos húmicos e fúlvicos), compostos orgânicos xenobióticos (representados por hidrocarbonetos aromáticos, compostos de natureza fenólica e compostos organoclorados alifáticos), macrocomponentes inorgânicos (dentre os quais se destacam Ca, Mg, Na, K,  $\text{NH}_4^+$ , Fe, Mn, Cl,  $\text{SO}_4^{2-}$  e  $\text{HCO}_3^-$ ) e metais potencialmente tóxicos (Cd, Cr, Cu, Pb, Ni e Zn). O percolato é um líquido poluente de cor escura, odor nauseante e elevada DBO, da ordem de 30 a 100 vezes mais concentrada que a do esgoto doméstico (HAARSTAD; MAEHLUM, 1999; CHRISTENSEN et al., 2001; MORAIS; SIRTORI; PERALTA-ZAMORA, 2006; RAGHAB; EL MEGUID; HEGAZI., 2013).

O percolato não pode ser lançado no ambiente sem tratamento. Sendo assim, se não for drenado e tratado adequadamente, pode causar graves impactos ambientais locais e em ecossistemas vizinhos. Uma alternativa aos processos convencionais de tratamento de lixiviado são os processos oxidativos avançados (POAs) que têm sido propostos para o tratamento de efluentes que apresentam compostos refratários e substâncias persistentes, pois permitem aumento da biodegradabilidade e diminuição da toxicidade destes efluentes. Esses processos baseiam-se na geração do radical hidroxila (altamente oxidante), o que pode levar à completa mineralização de compostos orgânicos (formação de gás carbônico e água) (PACHECO; PERALTA-ZAMORA, 2004; MORAES; BERTAZZOLI, 2005; SILVA et al., 2009). A destruição de poluentes orgânicos por processos oxidativos tem como vantagem o fato de destruí-los e não somente transferi-los de fase. São processos limpos, podendo degradar inúmeros compostos (TEIXEIRA; JARDIM, 2004).

O percolato contém uma alta concentração de nitrogênio amoniacal, o que poderia ser considerado como uma fonte de nitrogênio alternativa para as plantas. Após avaliações das amostras do percolato para fins agronômicos, observou-se altos valores de pH e elevadas concentrações de material orgânico e macronutrientes (N, Ca, Mg) e de baixas concentrações de metais pesados, sendo o uso dos percolados de aterros sanitários deve ser considerado como forma viável de disposição final dessa água residuária (RENOUA et al., 2008). Os efeitos do percolato de aterro sanitário sobre o crescimento de culturas arbóreas e vegetais têm sido estudados desde a década de 1980. Nos trabalhos de Wong e Leung (1989) e Cheng e Chu (2011), foram observadas produtividades mais elevadas para espécies de repolho, gramíneas e árvores, nas diluições de percolato mais baixas (até 20%) do que no tratamento controle. De acordo com os resultados desses estudos, o percolato pode ser utilizado na irrigação, se empregada a diluição adequada. Assim, após um tratamento prévio, a germinação de sementes com percolato de aterro sanitário por gerar resultados favoráveis que possibilitem a sua utilização futura na fertirrigação de culturas, como uma alternativa para o reaproveitamento dos seus nutrientes e o reuso da água do efluente, solução extremamente apreciável principalmente quando ocorre crise hídrica.

Entretanto, faz-se necessária a mensuração dos efeitos resultantes da interação desse efluente com a microbiota e plantas, o solo e os recursos hídricos, através de testes de biodegradabilidade e fitotoxicidade, ferramentas importantes para a avaliação dos compostos tóxicos presentes neste efluente (ATAÍDE et al., 2011). As medidas de fotoluminescência é um método rápido e promissor para avaliação das condições de sementes em germinação. A contagem de fótons pode ser correlacionada com o *stress* sofrido pelo organismo, indicando condições tóxicas e/ou com o crescimento microbiológico na amostra. A medição da bioluminescência em microrganismos com diversas finalidades, através do emprego de microrganismos como bioindicador, tem sido aplicada ao monitoramento ambiental (SANTOS; PATERNIANI; GALLEG, 2011).

Dessa forma, tem-se a necessidade de buscar novos métodos de tratamento e promover o ciclo natural dos elementos no ambiente, por exemplo, deixando de enviar o percolato de aterro para as estações de tratamento de esgoto, e sim, buscar uma alternativa para a destinação sustentável deste efluente, por exemplo, como forma de nutriente para as culturas. Assim, o propósito deste trabalho foi estudar a emissão de luz ultra-fraca do percolato de aterro sanitário em diferentes concentrações e das sementes de milho germinadas também em diferentes concentrações de percolato, antes e após o tratamento fotoeletroquímico do chorume, a fim de avaliar seu comportamento microbiológico e crescimento de folhas e raízes, para uma futura utilização como solução para a fertirrigação de culturas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O percolado foi coletado no mês de outubro de 2016, na lagoa pulmão, localizada na fase 1 do aterro sanitário de Limeira, SP. O percolado foi mantido refrigerado a 4°C antes da realização dos testes. Foi realizada a análise do efluente, dos parâmetros pH (método 4500H), temperatura (método 2550B), CE (Condutividade Elétrica) (2510B), DQO (Demanda Química de Oxigênio) (método 5220D) e DBO (Demanda Bioquímica de Oxigênio) (método 5210B), descritos em APHA (2012), COT (Carbono Orgânico Total) (Analisador Shimadzu TOC 5000 A). Também foram realizadas medidas de leitura de absorvância entre 190 e 800 nm em espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu 1650PC, para identificação da matéria orgânica a 254 nm e possível formação de subprodutos.

Em cada teste, realizado em duplicata, foram colocados 10 mL do percolado (sem tratamento prévio) nas concentrações 25%; 50%; 75%; 100% (bruto) e/ou água deionizada (controle) em cada Placa de Petri de diâmetro 10 cm, autoclavada, e contendo quatro folhas de papel filtro (UNIFIL, diâmetro 9 cm, gramatura 80 g/m<sup>2</sup>). As duas câmaras de contagem fotônica (HAMAMATSU H7836-01, “PMT01 e PMT02”) empregadas foram programadas para contagem de fótons com tempo de integração de 10 segundos pelo período de 30h, ou seja, 10790 segundos. Para comparação com os dados da emissão biofotônica das sementes de milho, as curvas de emissão do percolado bruto foram extrapoladas por regressões exponenciais ( $y = A1 \cdot \exp(-x/t1) + y0$ ), para que tivéssemos a emissão normalizada, com a linha de base na emissão do efluente bruto.

As sementes de milho, obtidas no Instituto Agronômico de Campinas (IAC), foram pré-germinadas em água Mili-Q durante 5 dias, a temperatura de 20°C. Após atingirem entre 0,9 a 1,1 cm de raiz, as sementes foram transferidas para as placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, para que continuassem a germinação nos mesmos Tubos Fotomultiplicadores HAMAMATSU H7836-01 (“PMT01 e PMT02”), em duplicata nas câmaras PMT01 e PMT02. Nas placas, em duplicata, foram colocados 10 mL do percolado sem tratamento prévio nas concentrações 25%; 50%; 75%; 100% (bruto) e/ou água deionizada (controle) em cada Placa de Petri de diâmetro 10 cm, autoclavada, e contendo cinco folhas de papel filtro (UNIFIL, diâmetro 9 cm, gramatura 80 g/m<sup>2</sup>). As duas câmaras de contagem fotônica empregadas foram programadas para contagem de fótons com tempo de integração de 10 segundos pelo período de 5 dias e 8 horas e estão fixadas na bancada do Laboratório de Biofotônica Aplicada (LaFA) em sala com temperatura a 20°C e sem iluminação. Entretanto, desconsideramos os primeiros dois dias, já que a emissão foi elevada devido à fase de estabilização da PMT. Transcorrido o tempo total, foi realizada a contagem de sementes germinadas em cada placa e as mesmas foram medidas (comprimento e hipocótilo) com paquímetro. As condições específicas foram baseadas em experiência anterior deste grupo de pesquisa (WERLE; MORAES, 2015).

O tratamento do percolado foi realizado em um reator eletrolítico acoplado a um reator fotoquímico no LADESSAM (Laboratório de Desenvolvimento de Sistemas para Saneamento Ambiental) – Faculdade de Tecnologia /UNICAMP, Limeira – SP. Esse reator é composto por lâmpada ultravioleta (UV) de média pressão de vapor de mercúrio de 1250W, rotâmetro, reservatório de PVC, válvulas, bomba hidráulica e tubulação, os quais são alocados em um suporte metálico de sustentação. Utilizou-se anodos de titânio revestido por 70%TiO<sub>2</sub>/30%RuO<sub>2</sub> e um catodo retangular de aço-inoxidável. É salutar ressaltar que o anodo utilizado é comercialmente disponível, quimicamente inerte, de elevada resistência mecânica, térmica e química (insolúvel numa ampla faixa de pH), sendo adequado aos valores normalmente encontrados em lixiviados de aterro sanitário.

O percolado foi colocado no reservatório do reator, com volume de 4,0 L, sendo impulsionado através de todo o sistema pela bomba hidráulica. O fluxo é na direção vertical, com sentido ascendente, passando pelo reator para então retornar novamente ao reservatório. Os valores dos parâmetros operacionais adotados foram: densidade de corrente de 0,120 a 0,127 A cm<sup>2</sup>, tempo de tratamento: 120 minutos, vazão de 500 L h<sup>-1</sup>, com utilização da lâmpada UV por 20 minutos (ou seja, 5 minutos a cada 30 minutos de tratamento, evitando o aquecimento do efluente), baseados nos trabalhos de Silveira (2012), Silva (2014) e Werle e Moraes (2015) em função das características iniciais do efluente. As amostras foram retiradas em 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos. O efluente tratado foi submetido às análises dos mesmos parâmetros ao qual foi submetido o percolado sem tratamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o valor de pH encontrado (Tabela 1), o chorume está na segunda fase de fermentação metanogênica (pH=7,72, caracterizada por valores de pH elevados, com variação entre 7,5-9,0, segundo (VILHENA, 2010). Por ser um aterro antigo, neste caso 17 anos, a média para DQO deveria apresenta-se em 400 mg L<sup>-1</sup>. Entretanto, as características do chorume dependem dos fatores relativos ao tipo de disposição, ao clima e relativos à composição e densidade do resíduo. Assim, nas amostras, a DQO média foi de concentração de 1486 mg L<sup>-1</sup>, que pode esta relacionado ao menor volume pluviométrico do mês de outubro de 2016 na semana da coleta, onde chorume esteve mais concentrado e o teor de matéria orgânica apresentava valores elevados, assim como a condutividade elétrica (8670 mS cm<sup>-1</sup>), que também está relacionada ao aumento da concentração de sais dissolvidos no efluente.

**Tabela 1: Análise físico-química da amostra de percolado empregada nos testes.**

Parâmetro	Resultado
pH (a 25 °C)	7,72
Temperatura (°C)	25,7
Condutividade elétrica (mS cm <sup>-1</sup> )	8670
DBO <sub>5,20</sub> (mg O <sub>2</sub> L <sup>-1</sup> )	185
DQO (mg L <sup>-1</sup> )	1486

Os resultados analíticos das amostras coletadas durante o tratamento do chorume pelo reator fotoeletrocatalítico estão expressos na Tabela 2. O tratamento foi realizado em 120 minutos, com coletas em 0, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos. Após o tratamento, foi obtida uma redução de 28% do COT, 55% de DQO e 18% na CE (Tabela 2). Os valores de pH tiveram pequena variação, de 7,89 para 7,77.

**Tabela 2: Resultados dos parâmetros avaliados nos diferentes tempos para o chorume tratado pelo processo fotoeletrocatalítico.**

Tempo (min)	COT (mg L <sup>-1</sup> )	DQO (mg L <sup>-1</sup> )	pH	CE (mS/cm)
0	1304,8	1486	7,89	12,27
15	1196,6	1203	7,82	11,44
30	1121	995	7,78	11,34
45	1049,4	881	7,75	10,49
60	1012,4	1032	7,73	10,64
90	989,4	853	7,74	10,33
120	973,2	671,7	7,77	10,08

Foram realizados testes para avaliar a emissão biofotônica somente do percolado de aterro, para que fosse possível, posteriormente, a avaliação da emissão real das sementes, de forma a desconsiderar a interferência do chorume na emissão biofotônica. Observou-se, então, que houve uma tendência de aumento da contagem de fótons com relação ao aumento da concentração de percolado (Figura 1A e 1B), ou seja, a presença de matéria orgânica atua como um substrato de crescimento para os microrganismos, tais como fungos e bactérias. A emissão das concentrações de chorume tratado foi maior que as diluições de chorume bruto (Tabela 3), assim como ocorreu no trabalho de Werle e Moraes (2015), demonstrando que o chorume tratado emite mais fótons que o chorume bruto, indicando a presença de compostos orgânicos que não foram totalmente degradados no tratamento.

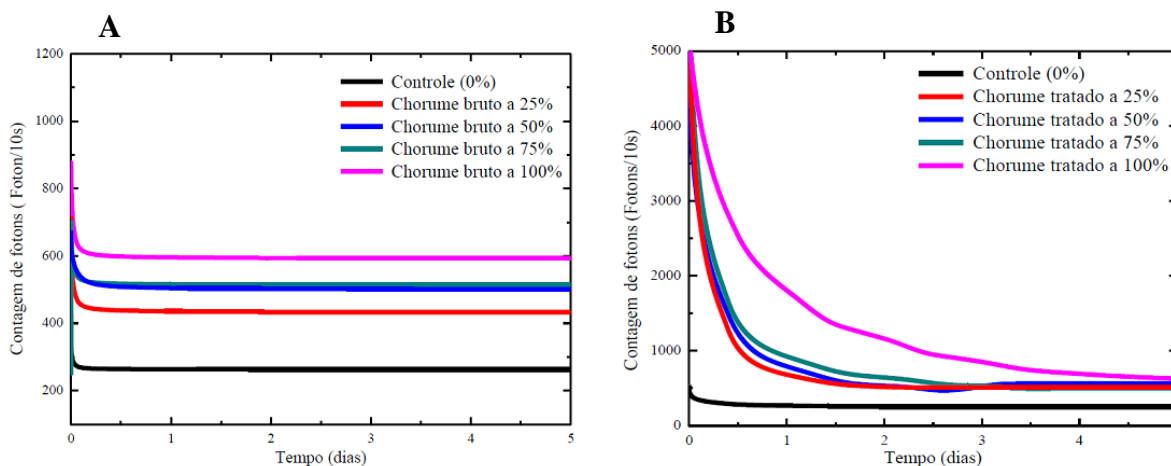
**Tabela 3: Dados das emissões biofotônicas obtidas com através do percolado de aterro sanitário bruto e tratado.**

Concentração de chorume (%)	Emissão média do chorume bruto (fótons. 10s <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	Emissão média do chorume tratado (fótons. 10s <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>
0	271,92e	271,92e
25	468,31d	637,59d
50	552,44b	716,15b
75	539,36c	688,57c
100	634,74a	1096,94a

<sup>1</sup> As letras indicam a ordem crescente das médias pela análise estatística das médias obtida pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Desta forma, as curvas de emissão do chorume a 100% foram mais elevadas em ambos os tratamentos, pelo teste de Tukey a 5%. Porém, com o passar do tempo, a emissão apresentou uma curva com tendência decrescente em todos os tratamentos avaliados, devido ao consumo dos compostos pelos microrganismos e a escassez de alimento, que pode ter provocado a morte dos microrganismos.

**Figura 1: Gráfico da emissão biofotônica em função do tempo do chorume bruto (A) e tratado (B) nas diferentes concentrações avaliadas.**



As curvas de emissão do chorume bruto a 50% e a 75% apresentaram valores muito próximos, ou seja, essas diluições apresentaram crescimento microbiano semelhante. No chorume tratado, as curvas a 25%, 50% e 75% também ficaram com emissões muito próximas e demoraram mais para apresentar tendência à não variação. A curva controle, que tinha somente água deionizada, teve a menor emissão fotônica, com média de 271,92 fótons/10s.

Os valores médios das emissões estão expressos na Tabela 2 e mostram que todos os valores para o chorume tratado foram maiores, indicando que os compostos orgânicos podem estar mais biodisponíveis para o crescimento de microrganismos, mesmo que em menor quantidade.

Para a obtenção da emissão biofotônica das plântulas de milho, as sementes de milho foram irrigadas com chorume bruto e tratado, nas mesmas diluições. A emissão biofotônica está relacionada à produção de radicais de O<sub>2</sub>, ou seja, é possível que reações enzimáticas, como as vias catalases e peroxidases, que liberam espécies de oxigênio, como as que ocorrem com respeito à catalase envolvida na biossíntese das paredes celulares (FONTES; GILBERT, 2012). Os fótons são gerados nas mitocôndrias e são enviados às regiões externas das células por meio de microtúbulos. Todas estas possíveis origens para a emissão biofotônica em células e tecidos de plantas não são excludentes e, por isso, a liberação de fótons pode refletir uma avaliação composta das emissões de todos os vários processos pelos quais os fótons podem ser derivados e apresentados de modo observável no exterior das plântulas (RAHNAMA et al., 2011).

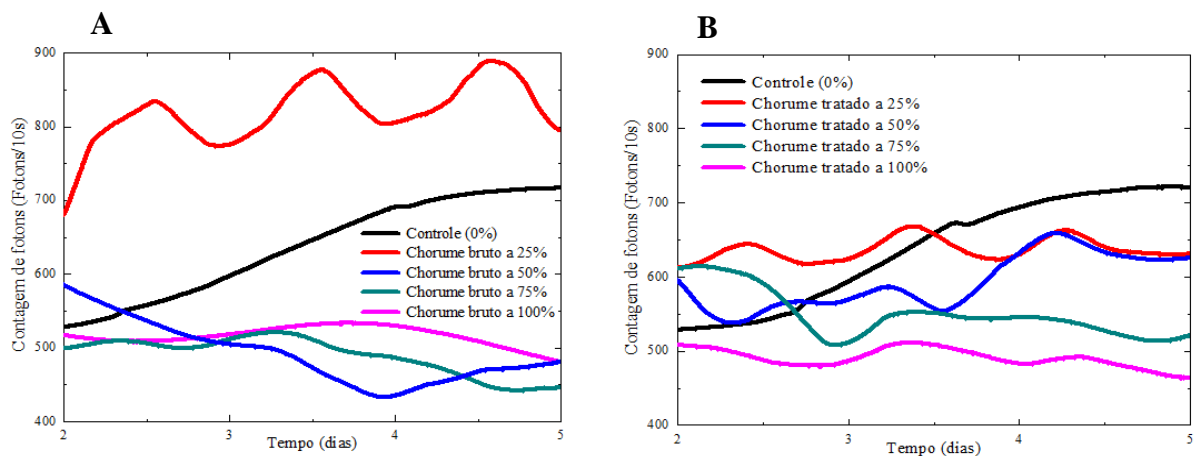


A indução ao estresse altera também os ritmos dos padrões esperados de emissão luminosa em grupos não estressados ao longo do tempo; como descrito em pesquisas com trigo (GALLEP; SANTOS, 2007). Estes ritmos cíclicos presentes na emissão biofotônica de plantas, cultivadas em ambientes escuros, foram apontado inicialmente por Yan (2005).

O tratamento controle apresentou uma curva com poucas oscilações, o que pode indicar que a planta não estava estressada. A curva das emissões de milho com 25%, tanto para chorume bruto, quanto para o chorume tratado, apresentaram um comportamento cíclico das emissões, já que as plantas podem ser sofrido estresse, de forma branda, mas que influenciou na curva de crescimento das sementes. O chorume apresenta elevados teores de sais e outros compostos tóxicos, como metais pesados e compostos fenólicos, que podem ter afetado o crescimento e provocado o efeito cíclico. Em contrapartida, as concentrações de 50%, 75% e 100% para o chorume bruto e as concentrações de 75% e 100% para o chorume tratado, tiveram emissões biofotônicas inferiores às emissões dos tratamentos controle e de 25%. As maiores concentrações de chorume estressaram as plantas de forma intensa e atenuaram ou bloquearam o desenvolvimento das sementes. Na Figura 3, é possível verificar que as sementes com chorume a 100%, sem diluição, não conseguiram se desenvolver, e mantiveram o tamanho inicial da fase de pré-germinação em água destilada. As sementes ficaram com as raízes escuras, como se tivessem sido queimadas. As folhas cresceram poucos centímetros.

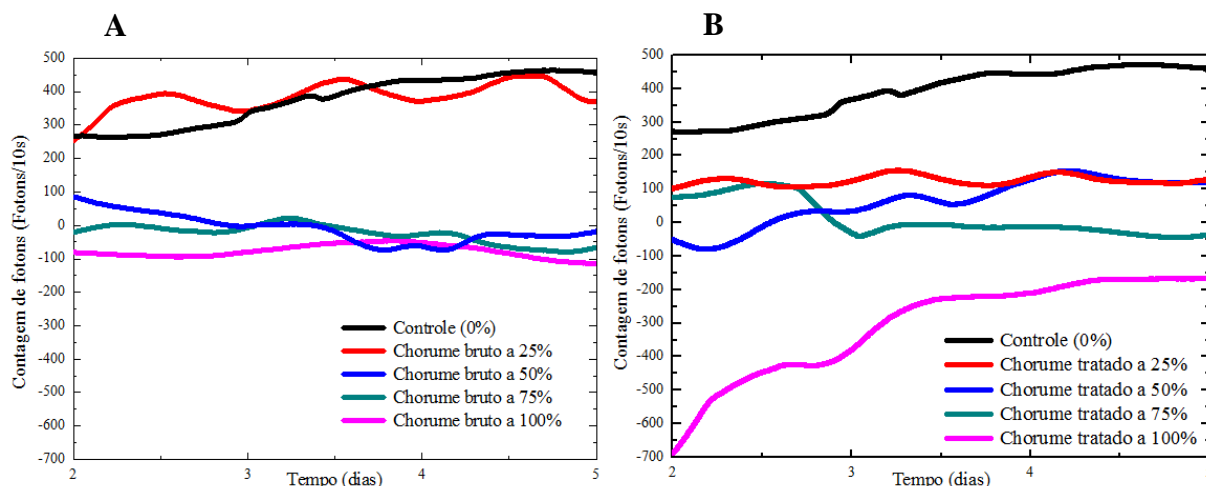
Dessa forma, é pontual observar na Figura 2, que as sementes de milho tiveram as maiores emissões biofotônicas nos tratamentos controle e com chorume a 25% de diluição. Porém, com o chorume tratado, a emissão a 25% foi menor que a emissão com chorume bruto. Isso se deve ao fato de o chorume tratado estar com menor DQO e COT e disponibilizar menos nutrientes para as sementes. Mesmo que em menor quantidade, esses compostos podem ser menos tóxicos, já que as sementes irrigadas com chorume tratado a 50% tiveram maior emissão no último dia do teste, ou seja, as sementes superaram o estresse causado pelo efluente.

**Figura 2: Emissão biofotônica em função do tempo obtida pelas sementes de milho com aplicação de chorume bruto (A) e tratado (B) nas diferentes concentrações avaliadas.**



Após coletados os dados de emissão do chorume e das sementes, confeccionamos um gráfico com a emissão normalizada das sementes, com a linha de base na emissão do efluente bruto. De acordo com as emissões reais do milho irrigado com chorume bruto (Figura 3A) e tratado (Figura 3B), concluímos que as emissões dos tratamentos controle e 25% tiveram as maiores emissões reais, que chegaram que ultrapassaram 400 fótons.  $10s^{-1}$ , nos últimos dois dias de teste.

**Figura 3. Gráfico da emissão biofotônica normalizada das sementes de milho com aplicação de chorume bruto (A) e tratado (B) nas diferentes concentrações avaliadas.**



Uma queda na emissão foi observada após um dia de experimento, devido à fase de aclimação das sementes, que foram pré-germinadas em água deionizada e, posteriormente, acondicionada nas placas com chorume a 25%. Seria uma fase onde a semente está superando o estresse de baixa intensidade originado pelos compostos tóxicos do chorume. Para o chorume tratado a 25%, as emissões foram menores do 2º ao 5º dia, com formato cíclico mais atenuado, o que comprova a menor disponibilidade de nutrientes e o menor estresse ao qual as plântulas foram submetidas nesse tratamento. Seria uma indicação da possibilidade de uso do chorume tratado como forma de irrigação das sementes de milho.

Estudos anteriores demonstraram que podem ocorrer alterações no padrão de emissões biofotônicas causados por estresses variados tais como, por alterações bruscas de temperatura, presença de sais e/ou compostos químicos nos substratos de germinação, pela desidratação ou mesmo por ataques infecciosos de insetos e fungos. Em espécies de milho, plantas levemente estressadas (por agentes químicos) podem apresentar emissões mais intensas, se comparadas com plantas de controle. Entretanto, cenários de forte estresse podem causar a redução na emissão luminosa (YOSHINAGA et al., 2013).

Os testes com as concentrações maiores de chorume, a 50%, 75% e 100% apresentaram uma curva de tendência exponencial de decaimento da emissão de fótons, até que após 60 horas de teste (2,5 dias), todas essas curvas ciatadas estavam com valores de emissão negativos, ou seja, a emissão cessou ou está fortemente relacionada ao chorume e não a emissão biofotônica da semente de milho (Figura 3). Este resultado corrobora com os resultados obtidos anteriormente, que levavam a informação de que seria necessária a avaliação do chorume individualmente, para que fosse possível a avaliação real das emissões das sementes, sem a influência do crescimento de fungos e bactérias. A indução ao estresse altera também os ritmos dos padrões esperados de emissão luminosa em grupos não estressados ao longo do tempo (GALLEP; SANTOS, 2007).

**Tabela 3: Dados das sementes de milho com crescimento em chorume bruto.**

Concentração de chorume (%)	Comprimento das folhas <sup>1</sup> (cm)	Comprimento das raízes <sup>1</sup> (cm)	Emissão média de fótons	Soma da emissão de fótons
0	7,17b	11,95a	590,60	25993800
25	9,36a	13,03a	797,27	35089800
50	7,04b	9,06b	570,57	25112000
75	3,89c	2,29c	584,89	25742800
100	1,90d	1,39d	533,49	23480500

<sup>1</sup> As letras indicam a ordem crescente das médias pela análise estatística das médias obtida pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

A partir da Figura 2A, pode-se avaliar que, para a concentração de percolado de 25%, a emissão biofotônica da semente foi maior para o chorume bruto, sem tratamento. O fato deve-se ao crescimento de microrganismos que emitem mais fótons, mas também a maior disponibilidade de nutrientes no chorume bruto. No início do 5º dia de teste (Figura 2B), a emissão do milho com chorume tratado a 25% foi semelhante (porém estatisticamente diferente pelo teste de Tukey a 5%) à curva de emissão do milho com chorume tratado a 50%, ou seja, o tratamento do chorume atenuou o estresse no crescimento das plântulas de milho. Entretanto, o crescimento das sementes com chorume tratado a 25% e o tratamento controle foram estatisticamente iguais (Tabela 4). A emissão real nos tratamentos 25% e 50% com chorume tratado foi menor que a emissão do milho para os mesmos tratamentos com chorume bruto, porém ainda apresentaram valores positivos. Isso se deve a maior emissão biofotônica do chorume tratado.

A curva de emissão do chorume bruto a 50% de concentração apresentou emissão inferior a estas citadas (chorume tratado a 25% e 50%), o que indica que o tratamento fotoeletrocatalítico degradou os compostos tóxicos e proporcionou maior crescimento das sementes (Tabela 4). Ainda é possível observar variações nas emissões, ou seja, aumento e diminuição da emissão, nas curvas com chorume tratado nas diluições de 25% e 50%, o que indica que as plântulas sofrem estresse, porém atenuados pelo tratamento, mas ainda assim, conseguem manter sua atividade metabólica ativa e se desenvolver (Figura 3A e 3B). As sementes irrigadas com chorume tratado a 75% e 100% apresentaram as menores emissões. Não foram observadas nas placas colônia de fungos. Assim, pode-se apontar que as sementes foram estressadas pelos compostos tóxicos que o chorume pode apresentar, mesmo tratado.

**Tabela 4: Dados das sementes de milho com crescimento em chorume tratado.**

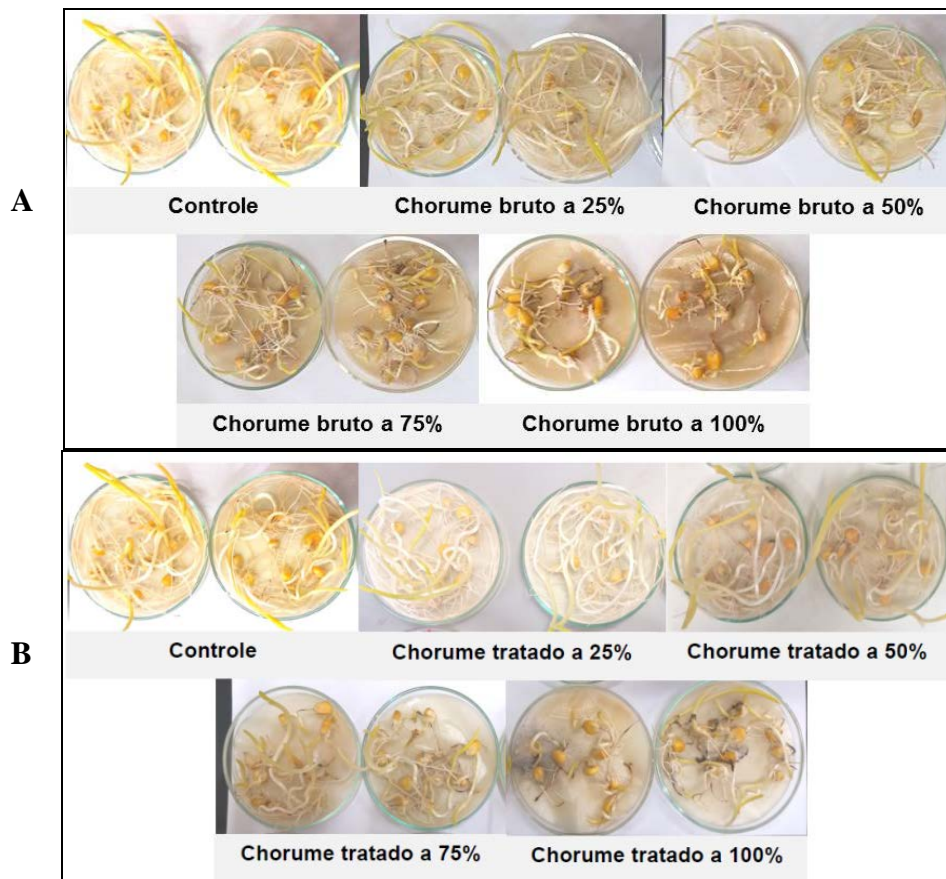
<b>Concentração de chorume bruto (%)</b>	<b>Comprimento das folhas<sup>1</sup> (cm)</b>	<b>Comprimento das raízes<sup>1</sup>(cm)</b>	<b>Emissão média de fótons</b>	<b>Soma da emissão de fótons</b>
0	7,17b	11,95b	590,60	25993800
25	11,92a	13,00a	682,75b	35089800
50	7,04b	9,06b	570,57d	25112000
75	6,56d	4,67c	501,43e	22069200
100	4,43c	2,52d	1058,39a	46582200

<sup>1</sup> As letras indicam a ordem crescente das médias pela análise estatística das médias obtida pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Os resultados apresentados nos gráficos são correlacionados às medições de folha e raiz das sementes (Tabelas 3 e 4), onde se observou diminuição do comprimento de folhas e raízes, principalmente, nos tratamentos com chorume a 75% e 100%. No tratamento a 50%, o crescimento foi próximo ao controle, porém a emissão fotônica foi menor, fato que pode significar que nem sempre a planta retarda seu crescimento, mas pode estar sofrendo estresses devido ao substrato aplicado, por exemplo. O tratamento de melhor crescimento das sementes foi a diluição de 25% de chorume, ou seja, o chorume pode ser substrato para o desenvolvimento de sementes, até mesmo de forma bruta, porém em baixas concentrações.



Figura 3: Sementes de milho irrigadas com chorume bruto (A) e tratado (B) após 7 dias de experimento.



A emissão de fótons está presente em todos os sistemas metabolicamente ativos como bactérias, fungos, sementes germinadas, plantas inteiras, culturas de tecidos animais e organismos inteiros, incluindo seres humanos (CIFRA; POSPIŠIL, 2014). Kobayashi et al. (2007) mostraram que a emissão ultra-fracas de fótons medida a partir de folhas de feijão caupi infectadas com fungos foi melhorada em comparação com folhas não infectadas. Tubérculos infectados com fungos também apresentara a emissão de fótons ultra-fracos espontânea duas a três vezes maior em relação ao tubérculo não infectado (RASTOGI; POSPIŠIL, 2012). Assim, podemos indicar que a emissão de fótons pelas sementes com chorume bruto e tratado a 100% e o aparecimento de colônias de fungos podem ter influenciado na emissão pelas sementes (Figura 3A e 3B), já que não houve um crescimento das sementes elevado, como pode ser visto nas Figuras 2A e 2B, porém as emissões normalizadas foram negativas, já que o chorume tratado apresentou maior emissão biofotônica.

A partir desse estudo com milho e dos estudos anteriores do grupo de pesquisa, é possível inferir que a emissão biofotônica é uma importante ferramenta para estudo de viabilidade e vitalidade de sementes. Notou-se a necessidade de melhorar os procedimentos, sendo proposta a pré-germinação do milho, de forma a ter uma germinação homogênea em todos os tratamentos e a elaboração do gráfico dos resultados reais de emissão, a fim obter dados confiáveis e reprodutíveis. Apesar de ainda não completamente compreendido o mecanismo de emissão fotônica, esses experimentos visam melhorar o entendimento dessa técnica para futuramente proporcionar o desenvolvimento de uma técnica de seleção de sementes rápida, barata e não invasiva, podendo contribuir para o desenvolvimento agrícola.

## CONCLUSÕES

A partir desse estudo preliminar com milho e dos estudos anteriores do grupo de pesquisa, podemos inferir que a emissão biofotônica é uma importante ferramenta para estudo de viabilidade e vitalidade de sementes. Observamos que a melhor diluição de percolado bruto e tratado para o crescimento das sementes de milho foi a 25%. A germinação e o crescimento das sementes de milho com chorume tratado na concentração de 50%

foi maior que no tratamento com chorume bruto a 50%. O tratamento promove a degradação dos compostos tóxicos do percolado e atenua o estresse na planta. Apesar de ainda não completamente compreendido o mecanismo de emissão fotônica, esses experimentos visam melhorar o entendimento dessa técnica de seleção de sementes que é rápida, barata e não invasiva.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à CAPES pela bolsa de doutorado concedida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ATAÍDE, L. M. S.; LOPES, S. R.; ROSA, C. S.; SIMÕES, D. A.; TAVARES, K. G. Avaliação da fitotoxicidade de compostos orgânicos a partir de ensaios biológicos envolvendo sementes de tomate. **Scientia Plena**. v.7, n.8, 2011.
2. APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater** 22<sup>th</sup> edition. Washington: American Public Health Association, 2012.
3. CIFRA, M.; POSPIŠIL, P.. Ultra-weak photon emission from biological samples: definition, mechanisms, properties, detection and applications. **J. Photoch. and Photobiol. B: Biol.**, v. 139, p. 2-10, 2014.
4. CHENG, C.Y., CHU, L.M. Fate and distribution of nitrogen in soil and plants irrigated with landfill leachate. **Waste Management**, 31 (2011) 1239–1249, 2011.
5. CHRISTENSEN, T. H., KJELDSEN, P., BJERG, P. L., JENSEN, D. L., CHRISTENSEN, J. B., BAUN, A. & HERON, G. Biogeochemistry of landfill leachate plumes. **Applied geochemistry**, n. 16, v.7, p. 659-718, 2001.
6. GALLEP, C. M.; SANTOS, S. R. D. Photon-counts during germination of wheat (*Triticum aestivum*) in wastewater sediment solutions correlated with seedling growth. **Seed Science and Technology**, 35, n. 3, 2007. 607-614.
7. HAARSTAD, K., MAEHLUM, T., Important aspects of long-term production and treatment of municipal solid waste leachate. **Waste Management and Research**, n. 17, p. 470–477, 1999.
8. KOBAYASHI, M., SASAKI, K., ENOMOTO, M., EHARA, Y. Highly sensitive determination of transient generation of biophotons during hypersensitive response to cucumber mosaic virus in cowpea, **J. Exp. Bot.** 58 (2007) 465–472.
9. MORAES, P. B., BERTAZZOLI, R. Electro-degradation of landfill leachate in a flow electrochemical reactor. **Chemosphere**, v.58, p.41-46, 2005.
10. MORAIS, J.M., SIRTORI, C., PERALTA-ZAMORA, P.G. Tratamento de Percolado de Aterro Sanitário por Fotocatálise Heterogênea Integrada a Processo Biológico Convencional. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p.20-23, 2006
11. PACHECO, J.R.; PERALTA-ZAMORA, P.G. Integração de processos físico-químicos e oxidativos avançados para remediação de percolado de aterro sanitário (chorume). **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 9, n. 4, p. 306-311, 2004.
12. RAGHAB, S.M., EL MEGUID, A.M., HEGAZI, H.A. Treatment of leachate from municipal solid waste landfill **HBRC Journal**, n.9, p. 187–192, 2013.
13. RAHNAMA, M. et al. Emission of mitochondrial biophotons and their effect on electrical activity of membrane via microtubules. **Journal of Integrative Neuroscience**, 10, n. 1, 2011. 65-88.
14. RASTOGI, A., POSPIŠIL, P. Production of hydrogen peroxide and hydroxyl radical in potato tuber during the necrotrophic phase of hemibiotrophic pathogen *Phytophthora infestans* infection, **J. Photochem. Photobiol. B**. 117 (2012) 202–206.
15. RENOVA, S., GIVAUDAN, J.G., POULAIN, S., DIRASSOUYAN, F., MOULIN, P. Landfill leachate treatment: Review and opportunity. **Journal of Hazardous Materials**, n. 150, p. 468–493, 2008.
16. SANTOS, S.R.; PATERNIANI, J.E.S.; GALLEP, C. M. Detecção de emissão espontânea de luz em ensaios de colimetria aplicados ao monitoramento de efluentes sanitários. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, v. 16, n.1, p. 55-62, 2011.
17. SILVA, D. N.; NETO, A. A. E.; CUNHA, G. M. A.; FILHO, O. C.; NASCIMENTO, C. A. O. Processo foto-Fenton aplicado ao tratamento de águas produzidas em campos de petróleo. **Revista Brasileira de Ciências Ambientais**, v. 14, p. 1-14, 2009.
18. SILVA, J. L. D. A., ALVES, S. S. V., NASCIMENTO, I. B. D., MEDEIROS, J. F. D., TARGINO, A. J. D. O., & LINHARES, P. S. F. Teores foliares no pimentão submetido à estresse salino em diferentes solos. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 10, n. 2, p. 77-82, 2014.

19. SILVEIRA, J.E. **Tratamento Eletrolítico de Lixiviado de Aterro Sanitário** Programa de Pós-Graduação em Tecnologia, área de concentração Tecnologia e Inovação, da Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia. 2012.
20. TEIXEIRA, C. P. A. B.; JARDIM, W. F. **Processos oxidativos avançados: conceitos teóricos**. Campinas: Instituto de Química, Laboratório de Química Ambiental, Universidade de Campinas, 2004. 82p.
21. VILHENA, A. *Lixo Municipal: Manual de Gerenciamento Integrado*. 3.ed., São Paulo, CEMPRE, pp. 241-252, 283-302, 2010.
22. WERLE, J.K; MORAES, P.B. Avaliação do Potencial de Utilização de Percolado de Aterro Sanitário para Irrigação de Espécie de Girassol. **In: XXIII Congresso de Iniciação Científica da UNICAMP**, 2015. DOI 1019146/pibic-2015-37412.
23. WONG, M.H., LEUNGT, C.K.. Landfill leachate as irrigation water for tree and vegetable crops. **Waste Management & Research**, n.7, p. 311-324, 1989.
24. YOSHINAGA, N. KATO K, KAGEYAMA C, FUJISAKI K, NISHIDA R, MORI N. Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants. **Naturwissenschaften**, 93, n. 1, 2006. 38-41.
25. YAN, Y. Biophoton Emission and Delayed Luminescence of Plants. **Biophotonics**, 2005. 195-204.