

Protocolo experimental

À procura da água culpada

Enquadramento Teórico

A poluição (de solos, águas e atmosfera) tornou-se tema de preocupação pública, atraindo cada vez mais a atenção dos meios de comunicação (figura 1). O Homem desempenha aqui o papel principal: a atividade industrial e agrícola e os resíduos domésticos e hospitalares estão entre os grandes responsáveis pela degradação da qualidade ambiental. Neste panorama, tornou-se imperativo perceber e avaliar as interações e os efeitos de contaminantes nos seres vivos (animais e plantas).

Os ensaios de toxicidade permitem assim estudar as respostas biológicas desencadeadas por um sem número de compostos. Dependendo do plano experimental estabelecido, podem estudar-se efeitos de compostos selecionados ou de substratos de locais (águas ou solos) que se suspeitam contaminados embora se desconheça o(s) contaminante(s).

A germinação de sementes é um processo biológico, particularmente sensível a fatores externos, que pode ser utilizado para avaliar a toxicidade de compostos, solos e águas. O recurso a sementes de plantas com importância económica, como é o caso da alface (e.g., *Lactuca sativa*), é muito comum. Estes ensaios permitem estimar a percentagem de inibição da germinação (efeito letal) e do crescimento radicular (efeito sub-letal com influência na sobrevivência e crescimento da planta). Estes ensaios são expeditos, económicos e bastante sensíveis à presença de contaminantes.

Objetivos

O objetivo desta atividade é investigar e compreender os potenciais efeitos da libertação para o solo de águas residuais de atividades domésticas através da realização de um ensaio de toxicidade de germinação de sementes. Este protocolo enquadra-se nas Áreas Curriculares de Ciências Naturais do 3º Ciclo do Ensino Básico e de Biologia (12º ano) do Ensino Secundário. No Ensino Secundário pode ser utilizado como um exercício interdisciplinar entre as áreas de Biologia e Matemática em que os alunos utilizam o teste de *t*-Student para avaliarem e

concluírem objetivamente sobre a validade das hipóteses a testar nas diferentes condições experimentais.



Figura 1: Os meios de comunicação social têm um papel ativo na divulgação e consciencialização pública de problemas ambientais e dos seus efeitos adversos (Fonte: <http://visao.sapo.pt/verde>; http://www.jn.pt/Paginalnicial/Sociedade/Interior.aspx?content_id=2032233).

Material

- Sementes de couve-nabiça
- 8 Placas de Petri de plástico com 10 cm de diâmetro (em substituição poderão ser utilizadas tampas de frascos de vidro de dimensões aproximadas)
- 4 Pipetas de Pasteur
- 4 Gobelés
- Algodão
- Régua
- Água da torneira (desclorada)
- Água da chuva
- Água de lavar louça (com detergente)
- Água de um rio/ribeiro local
- Marcador

Procedimento

Discuta com os alunos possíveis águas residuais de atividades domésticas a testar, para além da água de lavar louça, e qual o planeamento experimental mais adequado a seguir (quantas condições ou águas irão testar, qual a necessidade de incluir condições controlo, quais as condições a testar que poderão ser tomadas como controlo, a necessidade de elaborar réplicas de cada condição a testar...). Deve efetuar-se pelo menos 2 réplicas do ensaio (i.e., de cada tratamento testado). Para este efeito os alunos podem organizar-se em grupos ficando cada grupo responsável pela realização de uma réplica do ensaio.

1. Marcar lateralmente as placas, indicando a condição a testar (água da torneira, água da chuva, água de lavar a louça, água do ribeiro), o número da réplica, a data e o número do grupo.
2. Distribuir igual quantidade de algodão pelas placas de Petri de modo a tapar toda a sua superfície.
3. Humedecer, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, o algodão das placas com água da torneira, da chuva, de lavar a louça ou do ribeiro consoante a respetiva marcação. Para tal, colocar um pouco de cada água num gobelé previamente assinalado com o tratamento e utilizar uma pipeta de Pasteur para cada água. Atenção: Não se devem misturar as pipetas de Pasteur.
4. Distribuir 10 sementes de couve-nabiça por cada placa.
5. Colocar as placas próximo a uma janela, expostas à luminosidade natural e temperatura ambiente.
6. Observar as placas a cada dois ou três dias. Humedecer o algodão sempre que necessário, com as amostras de água correspondentes.
7. Registar o número de sementes germinadas ao longo do tempo e, quando aplicável, as dimensões radiculares.

Sugestão: O ensaio terá a duração aproximada de duas semanas, embora o tempo de germinação das sementes possa variar em função da espécie utilizada e da temperatura a que o ensaio decorre. Podem ser testadas simultaneamente as sementes de plantas diferentes, comparando-se a sensibilidade de cada espécie aos fatores testados.

Análise dos resultados

Para a análise dos resultados, devem somar-se as réplicas todas considerando o total dos organismos expostos. Por exemplo, no caso de a turma ter efetuado 2 réplicas do ensaio, deve considerar-se que em cada tratamento foram utilizadas um total de 20 sementes (10 por cada réplica).

À procura da água culpada

Registo da experiência

1. Formula e indica a hipótese a testar nesta experiência.
2. Regista na tabela 1 as dimensões radiculares (DR) das sementes germinadas nos tratamentos e réplicas que preparaste no teu grupo. Elabora a legenda da tabela.

Tabela 1:

		Dimensões Radiculares (DR) em mm										
		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	S ₅	S ₆	S ₇	S ₈	S ₉	S ₁₀	Média DR
Água da torneira	Réplica 1											
	Réplica 2											
Água da chuva	Réplica 1											
	Réplica 2											
Água de lavar louça	Réplica 1											
	Réplica 2											
Água de ribeiro/rio	Réplica 1											
	Réplica 2											

3. Indica na tabela 2 o número de sementes germinadas (Nº SG) e as dimensões médias da radícula obtidos por toda turma. Elabora a legenda da tabela.

Tabela 2:

		Água da torneira		Água da chuva		Água de lavar louça		Água de ribeiro/rio	
		Nº SG	Média DR	Nº SG	Média DR	Nº SG	Média DR	Nº SG	Média DR
Grupo 1	Réplica 1								
	Réplica 2								
Grupo 2	Réplica 1								
	Réplica 2								
Grupo 3	Réplica 1								
	Réplica 2								
Grupo 4	Réplica 1								
	Réplica 2								
Média									
DP									

4. Calcula a percentagem de sementes germinadas, por condição.

8. Representa através de um gráfico, no sistema de eixos apresentado, a percentagem de inibição da germinação para os vários tipos de água testados. No segundo gráfico representa a médiaⁱⁱ com o respetivo desvio padrãoⁱⁱⁱ das dimensões radiculares para os vários tipos de água testados. Legendra os eixos do X e do Y e a figura que elaboraste.

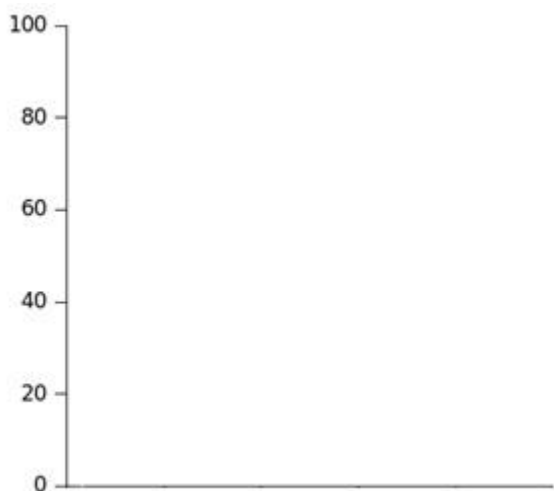


Figura 1.

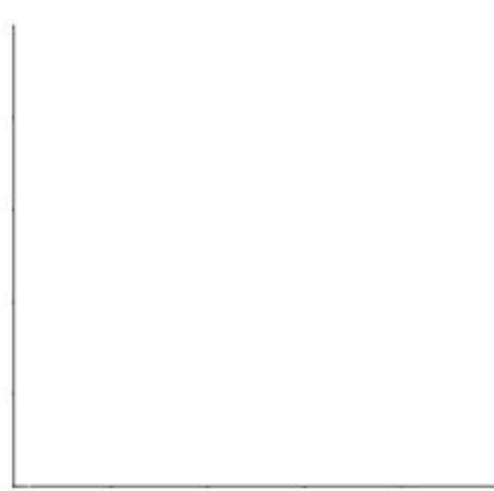


Figura 2.

ⁱ Percentagem de Inibição da Germinação (% IG)

$$\% \text{ IG} = \frac{\mu_c - \mu_r}{\mu_c} \times 100$$

%IG = Percentagem de inibição de germinação

μ_c = crescimento médio da radícula na condição controlo

μ_r = crescimento médio da radícula na água testada

ⁱⁱ Média (\bar{x})

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

ⁱⁱⁱ Desvio padrão (DP ou s)

$$= \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{x})^2}$$