

INTRODUÇÃO AOS ESTUDOS COM RADIOISÓTOPOS EM AGRICULTURA (*)

E. MALAVOLTA (**)

1. Histórico

Os isótopos, em contacto com os quais vamos entrar, são elementos quimicamente idênticos aos seus "irmãos normais", dos quais diferem, entretanto, em peso atômico e em estabilidade.

O seu uso é possível porque nas reações em que tomam parte se comportam da mesma maneira que os elementos mais abundantemente encontrados na natureza. De fato, nessas reações — como todos sabem — só interessa a camada eletrônica periférica que é a mesma para dado elemento, qualquer que seja o seu peso atômico ou a sua atividade nuclear.

Os isótopos *radioativos* ou *radioisótopos* oferecem um meio extremamente útil para acompanhar a absorção e o transporte de materiais em plantas ou animais, servindo para elucidar o metabolismo deles. Prestam-se, por outro lado, para estudar o comportamento de fertilizantes no solo, suas transformações, movimentos, utilização pelas culturas etc.

(*) Palestra feita na ESA da UREMG, dezembro de 1963

(**) Cadeira de Química Orgânica e Biológica
Centro Nacional de Energia Nuclear em Agricultura
E. S. A. "Luiz de Queiroz", U. S. P., Piracicaba, S. Paulo, Brasil.

As grandes possibilidades apresentadas pelo uso de elementos *traçadores* ("tracer") na pesquisa foram reconhecidas há mais de 40 anos por HEVESY e PANETH (1913). Eles usaram radiochumbo como indicador para determinar as solubilidades do cromato e sulfato de chumbo. A primeira aplicação a problemas biológicos só se deu, porém, 10 anos mais tarde, quando HEVESY (1923) publicou um artigo intitulado "A absorção e a translocação do chumbo pelas plantas: uma contribuição para a aplicação do método de indicadores radioativos na investigação da troca de substâncias em vegetais". Naquela época, os únicos elementos radioativos de que se dispunham eram os que assim ocorriam naturalmente. Os experimentos de HEVESY (1923) foram feitos com tório B (Pb^{212} ; meia vida 10.6 horas) cujo nitrato foi diluído convenientemente com nitrato de chumbo ordinário. As raízes de feijoeiro foram mergulhadas em soluções de nitrato de chumbo assim *marcado* ("labeled" ou "tagged"); a localização do chumbo em várias partes da planta foi estimada por determinação da radioatividade nas cinzas. A mais alta concentração de chumbo foi encontrada na raiz que em 24 horas absorveu e fixou mais da metade do chumbo contido em 200 ml duma solução de nitrato de chumbo $NX10^{-6}$. Nas mesmas condições, as raízes absorveram duzentas vezes mais chumbo de uma solução 0,1N. HEVESY mostrou depois que o chumbo absorvido era prontamente deslocado quando as plantas eram postas em contacto com uma solução fresca de chumbo inerte; concluiu daí que o elemento em questão não se combina com nenhum composto da planta, mas permanece em forma ionizável.

Pouco depois desses ensaios, LACASSAGNE e LATTES (1924) introduziram em biologia a técnica da *radioautografia* que foi, aliás, o meio involuntário pelo qual Becquerel, no fim do século passado, descobriu a radioatividade. Essa técnica tem sido de grande utilidade no estudo da localização de isótopos radioativos nos tecidos ou em órgãos inteiros. Os ensaios de LACASSAGNE e LATTES eram sobre a distribuição do polônio no coelho. Em planta, a técnica da radioautografia foi usada pela primeira vez em 1949 por ARNON, STOUT e SIPOS, que estudaram a localização do radiofósforo em vários órgãos do tomateiro.

A descoberta da radioatividade induzida artificialmente

(JOLIOT and CURIE, 1934) removeu a dificuldade inicial representada pela obrigatoriedade de se usar apenas os isótopos naturalmente radioativos.

Progressos posteriores particularmente valiosos foram a produção das *pilhas de urânio* (reatores de cadeia nuclear) *ciclotrons* e outros *aceleradores de partículas*, contadores *Geiger-Muller* e *electroscópios*; os primeiros, aparelhos para a produção e os dois últimos, para a medição de radioisótopos. Desde que o Isotopes Branch da U. S. Atomic Energy Commission, Oak Ridge, Tenn. iniciou a distribuição de radioisótopos, tornou-se desnecessário manter elaborados aceleradores de alta voltagem para partículas, uma vez que o bombardeamento por neutrons na pilha de urânio produz radioisótopos satisfatórios de quase todos os elementos de interesse biológico. No Brasil, alguns isótopos radioativos já são produzidos no reator de piscina do Instituto de Energia Atômica da Cidade Universitária "Armando Salles Oliveira", S. Paulo, bem como no reator do Instituto de Pesquisas Radioativas de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Antes da 2.^a Guerra Mundial, o alto preço dos instrumentos necessários, bem como o dos radioisótopos, limitavam fortemente os estudos. Agora, com esse obstáculo em grande parte removido, mesmo sem muito dinheiro é possível montar um laboratório eficiente.

Entre os manuais que apareceram tratando do uso de radioisótopos devem ser mencionados os seguintes: WILSON, NIER e RIEMANN (1946), HEVESY (1948), CALVIN et al. (1949), SCHWEITZER e WHITNEY (1949), KAMEN (1951), POLLARD e DAVIDSON (1951), SACKS (1953), LINSER & KAINDL (1960), PENNA FRANCA (1961).

2. Tipos de aplicações dos radioisótopos

Há dois modos principais através dos quais a energia nuclear — ou energia atômica — já tem feito contribuições importantes para o progresso da Agricultura no mundo e no Brasil. Em primeiro lugar, há que considerar a energia nuclear em si, a qual é capaz de atuar poderosamente sobre as plantas, os animais e os microrganismos; em segundo lugar, aparecem os radioisótopos ou sejam os elementos dotados de radioatividade natural ou induzida — "os instrumentos de pesquisa mais importantes descobertos pelo homem desde a invenção do microscópio."

2. 1. Fonte de radiação

2. 1. 1. Mutações em plantas (ver Anônimo, 1956)

As células, que são as unidades fundamentais dos seres vivos, carregam no seu núcleo estruturas hoje bem conhecidas; o "código" que contém as informações de como serão feitas tôdas as partes do organismo. A energia nuclear altera êsse código de modo que as células sexuais fornecerão informações diferentes. Por exemplo: um dos primeiros casos de mutação provocada pela energia nuclear ocorreu com cravos vermelhos; as células dessa planta tinham um código genético que determinava a produção de flôres vermelhas. Devido à alteração ou mudança nas estruturas portadoras de informação genética, o código se modificou e então começaram a aparecer flôres brancas.

As mutações ocorrem naturalmente, sendo uma das causas mais importantes para a evolução dos seres vivos. Fazem-no, porém, com uma freqüência muito baixa; um em um milhão. A energia nuclear é útil, então, no sentido de multiplicá-las, atingindo um por mil. Claro está que nem tôdas as mutações produzidas pela energia nuclear são úteis; a maior parte é semi-letal ou letal, matando o indivíduo. Calcula-se, entretanto, que cêrca de 5% das mutações produzidas pela energia nuclear são úteis, o que pode ser considerado como bastante animador. É necessário esclarecer nesta altura que a radiação não produz "novas" mutações, apenas aumenta a freqüência do seu aparecimento. Alguns exemplos que demonstram o êxito alcançado pelo uso da radiação no melhoramento das plantas são:

- (1) produção de caracteres desejáveis no trigo, por ex., colmos mais baixos e resistentes ao acamamento.
- (2) indução da resistência à ferrugem em cereais (cevada, aveia).
- (3) produção de variedades de feijoeiro arbustivo, facilitando a colheita mecânica.
- (4) produção de amendoim mais produtivo (40 por cento), mais adaptado à colheita mecânica e mais resistente a doenças da fôlha.
- (5) produção de formas bizarras em plantas ornamentais — cravos, crisântemos multicoloridos.

Algumas das mutações em plantas de interêsse econômico foram obtidas nos chamados "campos de irradiação".

Trata-se do seguinte: no centro de um terreno é colocado uma fonte poderosa de Co^{60} (Cobalto 60) que emite radiações gama em tôdas as direções; ao redor da fonte são cultivadas diferentes plantas, dispostas em círculos concêntricos. As mais próximas da fonte de Co^{60} morrem ou ficam muito danificadas. Algumas, colocadas em distância conveniente, poderão sofrer, como se deseja, mutações úteis. Embora muito eficientes em provocar mutações, os campos de irradiação apresentam algumas desvantagens, como sejam: custo elevado da instalação, dificuldade no contrôle exato das doses aplicadas (as fontes têm 1 Kc ou mais de material radioativo). Por êsses e outros motivos, parecem ser preferíveis as fontes menores, localizadas em recintos fechados ou apenas parcialmente abertos, com as "covas de irradiação". Nas pilhas atômicas, por outro lado, é possível empregar neutrons aí produzidos para induzir mutações em grãos de porem e sementes; aqui aparece, porém, outra dificuldade que é a ativação de elementos que entram na composição do material irradiado.

2. 1. 2. Efeito estimulante no crescimento (ver ODDIE, 1952).

A possibilidade de exaltar o metabolismo vegetal e assim aumentar o crescimento e as colheitas das plantas cultivadas despertou, há anos, bastante interesse nos Estados Unidos da América do Norte e na Rússia. Êsse efeito foi tentado de diversas maneiras:

- a) emprêgo de adubos radioativos
- b) imersão das sementes em soluções radioativas
- c) irradiação com raios — X ou raios-gama.

O exame cuidadoso dos resultados obtidos nesses ensaios mostrou que, em nenhum caso, conseguiram-se efeitos vantajosos.

2. 1. 3. Irradiação de insetos.

No que se refere à parte animal, há muitos exemplos interessantes do uso da energia nuclear. O mais espetacular talvez seja o da irradiação da varejeira (*Callitroga hominivorax*-Cqrl —), praga do gado vacum, que aparece em várias regiões do globo. O trabalho foi possível porque a fêmea só se acasala uma vez, pondo em seguida cêrca de 200 ovos, morrendo logo depois. Com ajuda de uma bomba

de Co^{60} — o mesmo material empregado para induzir mutações —, foram irradiados os machos e tornados estéreis, sendo a seguir soltos por meio de aviões em lugares infestados pela varejeira. Os machos copularam então com as fêmeas encontradas na região, daí resultando ovos inférteis. Em alguns lugares, a operação foi tão eficiente que 3 — 4 meses depois não se constatava nem um só animal atacado por varejeira. Calcula-se que, com isso, evitou-se uma perda de U. S. \$ 25 milhões, apenas em alguns estados da América do Norte (ver LINDQUIST, 1960). Para que esse método de combate aos insetos dê resultados, exige-se, entre outras coisas, que a área onde o controle é desejado seja bem isolada a fim de impedir nova infestação. No Havaí tenta-se no momento erradicar a mósca do Mediterrâneo por um modo semelhante ao descrito. O assunto está sendo estudado também em Costa Rica onde o efeito esterilizante da radiação é comparado com o de produtos químicos (afóxido, mutafóxido e afolato) (KATIYAR & VALERIO, 1962).

2. 1. 4. Conservação de alimentos (VIDAL, 1960; BRUEL & BOLLAERTS, 1960).

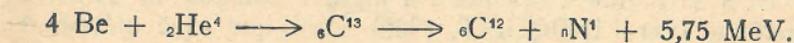
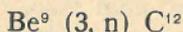
A despeito da soma de pesquisa efetuada tanto nos Estados Unidos como na Europa, parece que dificilmente a conservação dos alimentos por irradiação terá muita aceitação. Há alguns poucos casos, porém, em que o método teve êxito: conservação de morangos, preservação de carne que não se destina ao consumo humano, prevenção ou atraso no brotamento da batata, destruição de insetos que atacam os grãos armazenados. Algumas características técnico-econômicas são resumidas na Tabela 2—1.

Tabela 2 — 1. Irradiação na conservação de alimentos

| Finalidade | Dosagem roentgen | Custo em U.S. dólares |
|-------------------------|------------------|-----------------------|
| Evitar brotamento | 12.000 | 0,14-5,00/tonelada |
| Desinfetação de cereais | 25.000 | 0,10-1,00/tonelada |
| Esterilização | 2.000.000 | 0,06-0,14/quilo |

2. 1. 5. Medições da densidade e da água nos solos (SALATI, 1960).

Uma fonte de neutrons rápidos é colocada no solo. Esta fonte pode ser de *Ra - Be*, *Po - Be* ou *R - Be*. Estas fontes produzirão neutrons pela reação:



Os neutrons rápidos serão então moderados, tornando-se neutrons térmicos. Dos componentes dos solos minerais, o melhor moderador é a *água*. Nos solos orgânicos (turfosos), o *carbono*, que é também bom moderador, deve ser levado em consideração.

Em tôrno da fonte haverá formação de uma nuvem de neutrons e a densidade de neutrons térmicos dessa nuvem será função da quantidade de água do solo.

É importante notar que a densidade de neutrons térmicos deve estar tão próxima da fonte quanto possível.

Vários métodos de detecção de neutrons térmicos têm sido utilizados; entre êles os que melhores resultados deram foram os contadores de BF_3 e a ativação de placas de In (ou Ag).

No primeiro, uma fonte de neutrons rápidos é colocada tão próxima quanto possível de um contador de BF_3 , o qual é conectado a um "scaler" portátil e operado à pilha. A escala do medidor é calibrada diretamente em percentagem de água do solo. A Nuclear Chicago Co. construiu e tem à venda um instrumento desse tipo.

No segundo método, uma fôlha de In ou Ag é colocada perto da fonte de neutrons. Os neutrons térmicos (e epitérmicos) produzirão, por reação (n, γ) , isótopos beta-ativos daqueles metais. Depois de certo tempo (para fins práticos para o In, toma-se 1 hora e para o Ag, 10 minutos), retira-se a placa e a radioatividade induzida é medida. Correlaciona-se então a atividade das placas (β^-) à umidade do solo.

Êste método dá uma estimativa de umidade de solo num volume de aproximadamente 20 cm de diâmetro (esta dimensão varia em função da intensidade da fonte, da geometria e da própria umidade do solo).

A principal vantagem do método é poder-se determinar a umidade sem alterar a estrutura do solo, o que é importante para estudos de evapotranspiração. Além disso o método independe do tipo de solo e do nível de umidade.

A única desvantagem é que o instrumental é ainda dispendioso.

2. 2. Radioisótopos

Em primeiro lugar é necessário esclarecer que os radioisótopos são apenas elementos químicos que, graças à energia dos aceleradores de partículas ou dos reatores, se tornaram radioativos. Por causa disso emitem partículas e radiações. O seu uso em Agricultura é possível porque se comportam nas plantas, nos animais e nos solos do mesmo modo que os seus "irmãos" não radioativos. Acompanham fielmente os últimos em todos os processos em que tomam parte.

As vantagens apresentadas pelo uso de isótopos como traçadores são as seguintes:

- (1) sensibilidade maior que a das análises químicas. Os métodos químicos em geral podem determinar apenas até 10^{-6} (1 micrograma) de um elemento; quando se tem um radioisótopo é possível detectar 10^{-10} a 10^{-12} g;
- (2) Com o radioisótopo pode-se seguir a marcha de dado elemento num processo metabólico, o que é impossível por métodos químicos usuais;
- (3) Como impressionam os raios-X, os radioisótopos podem tirar sua própria foto (radioautografia), o que permite ou facilita o estudo do movimento de elementos ou compostos "marcados" em plantas, animais e solos;
- (4) Podendo ser distinguidos dos átomos do elemento não radioativo, embora comportando-se do mesmo modo, quimicamente, é possível empregar radioisótopos no estudo de reações dinâmicas em condições de equilíbrio.

Os seguintes radioisótopos têm sido usados como traçadores:

H³, C¹⁴, Na²⁴, P³², S³⁵, Cl³⁶, K⁴², Ca⁴⁵, Mn⁵⁴, Fe⁵⁹, Co⁶⁰, Zn⁶⁵, Br⁸², Rb⁸⁶, Sr⁹⁰, I¹³¹.

2. 2. 1. Radioisótopos como traçadores simples.

Três exemplos servem como ilustração.

Colocando-se radioisótopos de meia vida suficientemente longa em insetos é possível medir a intensidade com que se espalha e até onde vai a densidade da população ou o comprimento da sua vida — informações úteis na busca de métodos mais eficientes de controle.

CERVellini et al. (1962) fizeram irradiar em um fluxo de neutrons anéis de compressão de motores a explosão que depois foram postos a trabalhar na presença de diversos óleos; medindo a radioatividade do óleo, puderam apreciar o efeito do tipo de óleo no desgaste do anel.

Devido à capacidade que o radioisótopo possui para tirar sua própria fotografia, é possível, com filme de raios-X, determinar as regiões da planta onde o elemento se localizou de preferência. Para isso as plantas são cultivadas em soluções contendo o radioisótopo cujo movimento subsequente é apreciado fazendo-se radioautografia em tempos diversos. Um outro método para estudar o movimento de nutrientes nas plantas consiste em aplicar o seu isótopo radioativos numa folha e estudar a sua redistribuição. Dessa maneira foi possível demonstrar que o N, o P e o K são prontamente absorvidos e translocados para toda a planta, especialmente para as áreas em crescimento rápido; o cálcio, entretanto, é absorvido com dificuldade e o seu movimento na planta é unidirecional, das raízes para a parte aérea. A Tabela 2-2 ilustra a distribuição do P^{32} no cafeeiro.

Tabela 2-2. Absorção e translocação do radiofósforo aplicado a uma folha recém-madura do cafeeiro novo (MALAVOLTA et al., 1960).

| Parte da planta | c. p. m. no material | c. p. m. /g material | P absorvido em % P fornecido |
|---------------------------------|----------------------|----------------------|------------------------------|
| Raízes | 11.363 | 8.800 | 0,11 |
| Caule abaixo da folha tratada | 71.428 | 48.965 | 0,74 |
| Caule acima | 8.064 | 72.727 | 0,08 |
| Fóllhas abaixo da folha tratada | 21.739 | 13.125 | 0,24 |
| Fóllhas acima | 52.631 | 38.805 | 0,55 |
| Fóllha tratada | 166.666 | 664.000 | 1,61 |
| Fóllha oposta | 24.390 | 100.000 | 0,27 |
| Total | 436.281 | --- | 3,60 |

2. 2. 2. Radioisótopos como auxiliares analíticos

2. 2. 2. A. Estudos da absorção iônica

O método traçador apresenta nesses trabalhos várias vantagens: a) os resultados são obtidos em pouco tempo, uma vez que a detecção do elemento é facilitada, não havendo necessidade de esperar a acumulação de grandes quantidades; b) é possível estudar a absorção de pequena porção de um elemento, mesmo que nas células já exista quantidade relativamente elevada do seu "irmão inerte".

Dessa maneira, vários pontos foram esclarecidos, tais como:

(1) relação entre K e Rb na absorção. Verificou-se que as quantidades dos dois elementos absorvidos são constantes, desde que permaneça constante a relação entre as concentrações dos dois elementos.

(2) deixando-se discos de cenoura absorver Sr^{89} durante 5 minutos e colocando-se depois em água, verifica-se que não há aparecimento de radioatividade na última; entretanto, quando os mesmos discos, depois do tratamento, são colocados numa solução que contém Sr inerte, verifica-se que ela se torna radioativa: houve, portanto, troca isotópica.

2. 2. 2. B. Transformações dos adubos dentro da planta

Empregando-se adubos "marcados" com um elemento radioativo, pode-se determinar, com precisão razoável, os produtos que na planta se incorporam. Assim, fornecendo-se à cevada fosfato radioativo foi possível, através do fracionamento das diversas formas de compostos fosforilados, verificar-se que depois de 15 segundos apenas, cerca de 30% do elemento em questão achava-se na forma de nucleótidos— as pedras fundamentais da estrutura dos ácidos nucléicos. Dois minutos após apareciam açúcares fosforilados; nessa ocasião, 80% do P total absorvido se encontrou na forma de ésteres. No mesmo ensaio, mostrou-se que o P da corrente transpiratória se apresenta como fosforil colina.

2. 2. 2. C. Metabolismo intermediário (MALAVOLTA et al., 1960)

Supondo-se que um composto A seja o precursor da substância B, é possível, marcando-se A com um radioisótopo, esclarecer a natureza dos intermediários X, Y, Z:



Graças a uma combinação do uso de traçadores, de radiocromatografia e de técnicas convencionais de Química Analítica e de Química Orgânica, mostrou-se que a marcha seguida pelo carbono (A) para dar carboidratos (B) na nitrificação é a mesma que ocorre durante a fixação fotossintética do gás carbônico. Além disso, com auxílio do fósforo radioativo, verificou-se que na oxidação de NO_2^- a NO_3^- , por *Nitrobacter*, o elemento é armazenado em forma das ligações fosfatadas terminais do trifosfato de adenosina, ATP, a "moeda" com que a célula viva paga os trabalhos de síntese. Dessa maneira, conclui-se, com mais razão, pela semelhança fundamental entre os processos da fotossíntese e de quimiossíntese: no primeiro, a energia luminosa produz o ATP necessário para as reações de fixação do CO_2 ; na quimiossíntese é a oxidação de um substrato inorgânico que fornece a energia exigida para a produção das ligações fosfatadas altamente energéticas.

2. 2. 2. D. Distribuição de adubos

Tradicionalmente no Brasil o fornecimento do superfosfato ao cafeeiro era feito enterrando-o em círculos ou covas ao redor da planta. É um processo caro e demorado: um operário é capaz de adubar dessa maneira, por dia, apenas 150-200 pés-de-café. A aplicação na superfície do solo não era feita pelo temor de que o fósforo permanecesse retido nos primeiros centímetros de terra, não sendo aproveitado pelas raízes. Para estudar o problema fez-se então um ensaio aplicando o superfosfato radioativo do modo tradicional, distribuindo-se na superfície do solo — o que não era aceito — e, finalmente, pulverizando o material nas folhas.

Os resultados foram além da expectativa.

| | |
|-------------------------|------|
| Aplicação tradicional | 2,5 |
| Na superfície do solo | 10,0 |
| Pulverização nas folhas | 40,0 |

Quer dizer que o processo rotineiro é altamente ineficiente; a aplicação na superfície do solo é muito mais rápida e mais barata; um homem aduba dessa maneira 2.000 pés-de-café por dia, contra 200 do modo tradicional. A pulverização do adubo nas fôlhas, por sua vez, representa uma tremenda economia de material.

2. 2. 2. E. Disponibilidade de nutrientes

A determinação da disponibilidade de nutrientes no solo depende do princípio da diluição isotópica. Se pequena quantidade de um radioisótopo for adicionada a grande porção do elemento inerte, dar-se-á a mistura de ambos — a mistura isotópica; retirando-se uma amostra na qual se determina a quantidade de dois isótopos — radioativo ou não radioativo —, é possível determinar o tamanho do reservatório (pool) do último. O seguinte exemplo ilustra melhor o princípio: suponha-se que bolas brancas sejam misturadas com 10 bolas pretas; tirando-se 11 bolas ao acaso pode-se encontrar pelo menos 1 bola preta; assim é possível calcular o valor de n :

$$1 \text{ parte: } 10 \text{ brancas} :: 10 : n \\ n = 100$$

O princípio da diluição isotópica constitui a base de métodos para a determinação do fósforo assimilável nos solos — os chamados valores A (FRIED & DEAN, 1952) ou L (LARSEN, 1952). Em resumo: junta-se uma quantidade conhecida, B , de fosfato radioativo e assimilável ao solo, cultiva-se uma planta e depois a analisa, determinando o fósforo total e o radioativo; é possível calcular y , a proporção do P da planta que veio do adubo fornecido. Aplica-se então a fórmula

$$A = \frac{B(1-y)}{y}$$

que dá o valor de A , reserva de fósforo assimilável do solo. O mesmo método pode ser empregado para avaliar o efeito residual de adubos fosfatados: quanto maior o valor de A , maior deverá ser a ação residual. Dessa maneira, conseguiu-se na ESALQ excelente correlação com os valores obtidos em ensaios de campo em que diversos adubos fosfatados foram fornecidos à cana-de-açúcar.

2. 2. 3. Estudos com animais

Marcando-se vários compostos com C^{14} foi possível determinar a eficiência com que aparecem na lactose — o açúcar do leite. Perto de 2,2 % do C da glicose injetada por via endovenosa na vaca aparece em 1 kg de leite; com uma produção de 21 kg de leite em 2 dias, o que não é muito, segue-se recuperação na lactose de 46% do C fornecido. A frutose não serve diretamente como fonte de C para a lactose por ser rapidamente convertida em glicose no sangue.

O Ca^{45} permitiu elucidar alguns pontos da fisiologia do esqueleto: mostrou-se por exemplo que nos ossos das crianças o elemento se deposita na região de crescimento deles; nos adultos, a deposição se dá nas zonas de reforma dos ossos.

2. 3. Observações finais

Os numerosos exemplos dados mostram a importância do uso de radioisótopos no estudo de problemas agrícolas e na solução deles. Não se deve, porém, estimar demasiadamente a importância da energia nuclear nesse campo de trabalho. A radiação ou os radioisótopos são instrumentos de pesquisa como outro qualquer — talvez um pouco mais perigosos. Não se pode pretender com eles resolver todos os problemas; muitas questões podem ser solucionadas sem eles. O experimentador tem que planejar os seus trabalhos com energia nuclear com cuidados iguais — ou maiores — do que o dedicado a outros ensaios. Do contrário, pouco proveito tirará deles.

3. Alguns problemas no uso de isótopos radioativos

Embora o uso de radioisótopos tenha aberto novas e grandes possibilidades para as pesquisas biológicas e sendo eles considerados a descoberta mais importante desde a invenção do microscópio, deve-se ter em mente algumas limitações, as principais dentre elas achando-se resumidas a seguir (HARRIS, 1950; ROGERS, 1950; STEVENS, 1950):

a) O radioisótopo deve existir com meia vida razoável e com atividade específica suficientemente grande de modo que o sistema biológico em estudo não seja afetado pelo carregador inerte.

b) O método de marcação deve ser adequado e a marca deve permanecer no local em que foi posta.

c) Deve-se considerar a possibilidade de efeitos isotópicos. Assim, ainda que os isótopos de um elemento se comportem de maneira quase idêntica nas reações químicas, às vezes ocorrem pequenas diferenças. Normalmente essas diferenças são desprezíveis; tornam-se, entretanto, aparentes quando percentualmente a desigualdade nas massas dos isótopos é grande; é o que acontece com H^1 , H^2 e H_3 , C^{12} e C^{14} (veja GOVAERTS e LECLERC, 1947; WEIL e CALVIN, 1949).

d) Admite-se, nos ensaios traçadores, que durante o ensaio a radiação emitida não tem praticamente efeito no processo em estudo. Entretanto, nos sistemas biológicos isto, às vezes, não se dá porque as altas dosagens de radiação têm efeito acentuado em organismos vivos. O perigo é aumentado devido ao efeito cumulativo de material que se deposita em área determinada. É o que acontece com a acumulação de P^{32} nas pontas das raízes. Com base nesse fato, RUSSEL, ADAMS e MARTIN, 1949, RUSSEL, 1949 criticaram alguns ensaios de SPINKS e BARBER, 1947, 1948 feitos com várias formas de adubos fosfatados marcados com P^{32} . Em trabalhos posteriores, DION, DEHM e SPINKS (1949) mostraram que não ocorria dano à folhagem do trigo cultivado em presença de 360 mc de P^{32} /g de P. Apareceram mais recentemente os trabalhos de BLUME, HAGEN e MAC KIE (1950), PARKER (1950) e BOULD, NICHOLAS e THOMAS (1951) mostrando que, em geral, o efeito prejudicial do P^{32} é pequeno; em cevada, com 5,6 mc de P^{32} /g de P começava a aparecer injúria; a relação P^{32}/P^{31} é tão importante como a quantidade total de P^{32} .

Para evitar o perigo de possíveis danos por radiação, os ensaios com radioisótopos devem ser planejados de modo a usar-se duas ou três dosagens diferentes; deve-se usar atividades tão baixas quanto possível, desde que a eficiência das contagens não fique prejudicada.

e) Finalmente, em todos os trabalhos com radioisótopos deve-se tomar cuidado com contaminação do pessoal e do material usado (veja-se STEVENS, 1950). Nos trabalhos de campos, às vezes, é necessário usar equipamento especial para o manuseio do material radioativo, como é o caso do distribuidor de adubos descrito por CUMINGS, HULBERT e ELDRIDGE (1950).

4. Literatura citada

- ANÔNIMO, 1956. Genetics in plant breeding, Brookhaven Symp. in Biology n.º 9, 236 págs.
- ARNON, D. E., P. R. STOUT e F. SIPOS, 1940. Amer. J. Bot. 27:291.
- BLUME, J. M., C. E. HAGEN e R. W. MACKIE, 1950. Soil Sci. 70:415.
- BOULD, C., D. J. D. NICHOLAS e W. D. E. THOMAS, 1951. Nature 167:140.
- BRUEL, W. E., Van DEN e D. BOLLAERTS, 1960. Bull. Inst. Agron. Sta. Rech. Gembloux, fora de série, vol. II:883.
- CALVIN, M. et al., 1949. *Em* Isotopic Carbon, John Wiley and Sons Inc., New York.
- CERVELLINI, A. et al., 1962. ESALQ Biol. Técnico-Cient. 6.
- CUMMINGS, G. A., W. C. HULBERT e D. B. ELDRIDGE, 1950. Agr. Eng. 31:275.
- DION, H. G., J. E. DEHM e J. W. T. SPINKS, 1949. Nature 163:906.
- FRIED, M. e L. A. DEAN, 1952. Soil Sci. 73: 263.
- GOVAERTS, J. e J. LECLERC, 1947. Bull. Soc. Chim. Biol. 29:33.
- HARRIS, G. M., 1950. Proc. Conf. Application Isotopes Sci. Res. (Univ. Melbourne): 65
- HEVESY, G. e F. PANETH, 1913. Zeit. anorg. Chem. 82:323.
- HEVESY, G., 1923. Biochem. J. 17:439.
- HEVESY, G., 1948. *Em* Radioactive indicators, Interscience Publ. Inc., New York.
- JOLIOT, F. e I. CURIE, 1934. Nature 133:201.
- KAMEN, M. D., 1951. *Em* Radioactive tracers in Biology, 2nd Edit., Academic Press Inc., Publ. New York.
- KATIYAR, K. P. e J. VALERIO, 1962. The Application of Nuclear Energy to Agriculture, Inst. Interam. Ciencias Agrícolas, Suppl., Report: 19

- LACASSAGNE, A. e J.S.LATTES, 1924. Compt. Rend. 178:488.
- LARSEN, S., 1952. Plant & Soil. 4:1.
- LINDQUIST, A. W., 1960. 2.º Simp. Interam. Apl. Energia Nuclear Fines Pacificos (Buenos Aires, 1959): 231.
- LINSEN, H. e K. KAINDL, 1960. Isotopes in der Landerwirtschaft, Verlag Paul Parey, Hamburg e Berlim.
- MALAVOLTA, E. et al., 1960. 2.º Simp. Interam. Apl. Energia Nuclear Fines Pacificos (Buenos Aires, 1959): 163.
- MALAVOLTA, E. et al., 1960a. Biochem. Biophys. Res. Commun. 2:445.
- ODDIE, T. H., 1952. J. Austral. Inst. Agric. Sci. 18:2.
- PARKER, F. W., 1950. Science 111:215.
- PENNA FRANCA, E., 1961. Manual de Biofísica, Fascículo VI, Inst. Biofísica, Univ. do Brasil.
- POLLARD, E. e W. L. DAVIDSON, 1951. *Em* Applied nuclear physics, 2.º ed., John Wiley and Sons, Inc., New York.
- ROGERS, W. P., 1950. Proc. Conf. Application Isotopes Sci. Res. (Univ. Melbourne): 77.
- RUSSEL, R. S., 1949. J. Chem. Soc. Suppl. 2:416.
- RUSSEL, R. S., S. N. ADAMS e R. P. MARTIN, 1949. Nature 164:993.
- SAKS, J., 1953. Isotopic Tracers in Biochemistry and Physiology, 1.ª ed., Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York.
- SALATI, E., 1960. Tese (Piracicaba).
- SCHWEITZER, G. K. e I. B. WHITNEY, 1949. *Em* Radiative Tracers Techniques, D. Van Nostrand Co., Inc., New York.
- SPINKS, J. W. T. e S. A. BARBER, 1947. Sci. Agr. 27:145.
- STEVENS, D. J., 1950. Proc. Conf. Application Isotopes Sci. Res. (Univ. Melbourne): 87.
- VIDAL, P., 1960. Bull. Inst. Agron. Sta. Rech. Gembloux, fora de série, vol. II:786.
- WEIGL, J. W. e M. CALVIN, 1949. J. Chem. Phys. 17:210.
- WILSON, D. W., A. D. C. NIER e S. P. RIEMANN, 1946. *Em* Preparation and measurement of isotopic tracers, J. W. Edwards, Ann. Harbor, Michigan.