

THIAGO ALEXANDRE MORAES

CORRELAÇÃO TEMPORAL DA FOTOCONTAGEM EM GERMINAÇÃO DE TRIGO COM O PERFIL GRAVIMÉTRICO LOCAL

TEMPORAL CORRELATIONS OF PHOTON-COUNTS IN WHEAT GERMINATION WITH THE LOCAL GRAVIMETRIC PATTERN

LIMEIRA 2013

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS FACULDADE DE TECNOLOGIA MESTRADO EM TECNOLOGIA

THIAGO ALEXANDRE MORAES

CORRELAÇÃO TEMPORAL DA FOTOCONTAGEM EM GERMINAÇÃO DE TRIGO COM O PERFIL GRAVIMÉTRICO LOCAL

Dissertação de mestrado apresentada à Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Tecnologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia área de concentração Tecnologia e Inovação.

Orientador: Prof. Dr. Cristiano de Mello Gallep

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELO ESTUDANTE THIAGO ALEXANDRE MORAES E ORIENTADA PELO PROF. DR. CRISTIANO DE MELLO GALLEP.

Assinatura do Orientador

LIMEIRA 2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA POR VANESSA EVELYN COSTA CRB-8/8295 BIBLIOTECA UNIFICADA FT/CTL UNICAMP

Moraes, Thiago Alexandre, 1986-M791c Correlação temporal da fotocontagem em germinação de trigo com o perfil gravimétrico local / Thiago Alexandre Moraes. -Limeira, SP : [s.n.], 2013.

Orientador: Cristiano de Mello Gallep. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Tecnologia.

1. Biofotônica. 2. Cronobiologia. 3. Análise gravimétrica. 4. Marés. 5. Ritmos circadianos. I. Gallep, Cristiano de Mello. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade Tecnologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em inglês: Temporal correlations of photon-counts in wheat germination with the local gravimetric pattern.

Palavras-chave em inglês (Keywords):

- 1- Biophotonic
- 2- Chronobiology
- 3- Gravimetric analysis
- 4- Tides
- 5- Circadian rhythms

Área de concentração: Tecnologia e Inovação

Titulação: Mestre em Tecnologia

Banca examinadora: Cristiano de Mello Gallep, Peter Willian Barlow, Rui Fragassi Souza.

Data da Defesa: 21-02-2013

Programa de Pós-Graduação em Tecnologia

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM TECNOLOGIA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

Correlação temporal da fotocontagem em germinação de trigo com o perfil gravimétrico local

Autor: Thiago Alexandre Moraes

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:

Prof. Dr. Cristiano de Mello Gallep, Presidente, FT/UNICAMP

Prof. Dr. Peter William Barlow Universidade de Bristol

Corre a

Prof. Dr. Rui Fragassi Souza FEEC/ UNICAMP

Dedico este trabalho à minha mãe, Mariane Alexandre, pelo apoio constante e pelas oportunidades que me ofertou.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Cristiano de Mello Gallep, pelo fértil processo de aprendizado que me proporciona e tem proporcionado desde o início de minha graduação, orientado cada etapa de minha formação acadêmica, com paciência, atenção e dedicação.

Ao Prof. Dr. Peter Barlow e ao Prof. Dr. Emile Klingelé pela cooperação fundamental para o desenvolvimento de nossas análises, observações e discussões.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, pelo financiamento e estrutura disponibilizados.

RESUMO

A emissão fotônica ultrafraca proveniente de plântulas de trigo foi mensurada em várias séries de testes sob condições constantes, no interior de câmara escura. Grãos brasileiros também foram transportados e testados na Alemanha, em séries simultâneas realizadas paralelamente a séries conduzidas tanto no Brasil quanto na Alemanha. As plântulas em ambos os países apresentaram ritmos semicircadianos, coincidentes e em sincronia com os ritmos da variação da aceleração gravimétrica local, produzidos pelos movimentos lunissolares. São apresentadas análises matemáticas a respeito destas sincronias e coincidências. Em mais de 80% do período de testes considerados o coeficiente local de correlação de Pearson entre os dois parâmetros revelou relação significante (P>0,7). Com o uso da transformada rápida de Fourier foram evidenciadas as similaridades entre as componentes temporais de oscilação do parâmetro fotônico e as encontradas no parâmetro gravimétrico. As fases da lua e a época do ano possivelmente produzem influências relevantes no desenvolvimento das plântulas.

Os resultados encontrados sustentam a hipótese de que os processos envolvidos com a emissão fotônica em plântulas de trigo sejam regulados pelos ritmos de variação gravimétrica, produzidos pelos movimentos lunissolares. A técnica de detecção de emissão fotônica espontânea se mostrou uma ferramenta inovadora e útil para estudos biofísicos e cronobiológicos.

Palavras-chave: Biofotônica; Cronobiologia; Análise gravimétrica; Marés; Ritmos circadianos.

ABSTRACT

The ultra-weak photon emission from wheat seedling was measured in several series of tests under constant conditions inside a dark chamber. Brazilian seeds were also transported and tested in Germany, with simultaneous series conducted both in Brazil and in Germany. The seedlings showed, in both countries, semi-circadian rhythms coincident and in synchrony with the rhythms of local gravimetric variations of acceleration produced by lunisolar movements. Mathematical analysis of these synchronies and coincidences are presented. The local Pearson correlation coefficient between the two parameters showed a significant relationship (P > 0.7) in more than 80% of the considered testing period. The rhythmic similarities between the biophotonic oscillation and the gravimetric parameter were done by fast Fourier transform. The phases of the moon and the time of year possibly produce relevant influences on development of seedlings.

The results support the hypothesis that processes involved with biophoton emission in wheat seedlings may be regulated by variations on the gravimetric rhythms in accordance to lunisolar movements. Further studies are desirable in order to look for the physiological origin of this phenomenon. The spontaneous ultra-weak photon emission detection technique proved to be a new and useful tool for chrono-biological and biophysical studies.

Key-words: Biophotonic; Chronobiology; Gravimetric analysis; Tides; Circadian rhythms.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Comparação entre a emissão fotônica ultrafraca (UWPE) de várias amostras biológicas
e a sensibilidade do olho humano
Figura 2 – Imagem e esquema representativos da UWPE. (esquerda) Imagem da UWPE de uma
plântula de soja danificada mecanicamente; (direita) representação esquemática da amostra,
indicação da posição do dano causado à plântula em formato de cruz e da área útil da imagem
gerada. A gravação da imagem durou aproximadamente 40 minutos7
Figura 3 – Fotocontagem (pontos) da germinação de trigo em tratamento ótimo e média local
(linha - 100 pontos adjacentes). Indicação da intensidade da emissão luminosa, das horas
decorridas a partir do início e data do teste
Figura 4 – (a) Variação no diâmetro do caule de duas árvores e (b) na aceleração gravimétrica
local, Florência, Itália (17~20/07/1988). Dados apresentam forte sincronia
Figura 5 – Ciclos de mudanças, em graus de dispersão, da melanina de caranguejos Uca pugmax
em Berkley, Califórnia (costa oeste dos Estados Unidos da América) comparados com controles
em Wood Hole, Massachusetts (costa leste). Setas indicam marés baixas. Predição das variações
gravimétricas para as duas localizações (linhas coloridas)14
Figura 6 – Germinação de Triticum sp
Figura 7 – Esquema de funcionamento "janelas de integração móvel". Cálculos são realizados em
janelas pré-definidas, que se movem ao longo da série temporal, ponto a ponto22
Figura 8 - Emissão luminosa espontânea da germinação de trigo em água destilada: dados da
contagem biofotônica (média 100# - linha cinza - e 1000# - linha preta), dados da germinação
(taxa de elongamento foliar - linhas e pontos verdes), Lua e sol (pontos amarelos e azuis), Dados
do ajuste linear (ajuste linear - linhas laranjas, resíduo regular - linhas vermelhas), Dados
gravimétricos (predição - linha azul - e sua primeira derivada - linha ciano). Amostra do vídeo
inserida. Série 1 – grupo #10
Figura 9 - Datagramas de autocorrelação dos parâmetros fotônico (linha preta) e gravimétrico

 Figura 10 – A transformada rápida de Fourier aplicada à variação gravimétrica (δg) e à variação Figura 12 – Média local do padrão temporal da contagem fotônica, pontos de inflexão (linhas pontilhadas verticais mais pontos, rosa), resíduo local (trechos de 24 horas) relativo ao ajuste linear (linhas vermelhas), perfil da variação gravimétrica local e sua primeira derivada (linhas azuis), nascer e por do sol e da lua (pontos azuis e amarelos, juntos ao eixo horizontal) e fases da lua (linha senóide tracejada). (Painel superior) correlações cruzadas entre parâmetro gravimétrico e fotônico e correlações cruzadas, para cada trecho de 24 horas. (Painel inferior) Coeficiente absoluto de correlação local de Pearson, para o parâmetro gravimétrico versus o fotônico. Série 2. Figura 13 – Datagrama da contagem média de frequência dos coeficientes locais de correlação, Figura 14 – (a) Seleção de exemplos da contagem fotônica (δPC), onde existem coincidências entre as contagens fotônicas e o perfil gravimétrico (δg) e sua primeira derivada. (b) FFT de toda Figura 15 - Média local do padrão temporal da contagem fotônica, resíduo local (trechos de 24 horas) relativo ao ajuste linear (linhas vermelhas), perfil da variação gravimétrica local e sua primeira derivada (linhas azuis), nascer e por do sol e da lua (pontos azuis e amarelos, juntos ao eixo horizontal) e fases da lua (linha senóide tracejada). (Painel superior) correlações cruzadas entre parâmetro gravimétrico e fotônico e correlações cruzadas, para cada trecho de 24 horas. Figura 16 – A transformada rápida de Fourier (FFT) para os dados da variação da contagem Figura 17 - Desenvolvimento das plântulas (soma dos comprimentos das porções foliar e radicular – linhas e pontos verdes) e total de contagem fotônica (linhas azuis) versus fases lunares (coordenada angular), em coordenadas polares. Progresso no tempo é indicado pela intensificação Figura 18 – (a) UWPE de plântulas de trigo do Brasil ('BR@DE') e da Alemanha ('DE@DE'),

germinadas na Alemanha, e de plântulas do Brasil ('BR@BR'), germinadas no Brasil; marcação

dos pontos de inflexão do perfil UWPE (pontos e linhas verticais rosas). Curvas residuai	s da
contagem fotônica em trechos de 24 horas sobrepostas às curvas das variações graviméti	ricas
locais. Fases da lua (linha senóide tracejada e pontos pretos). (b-d) Comparações entre	e as
respectivas curvas FFT. Série 4.	41
Figura 19 – Comparação entre as curvas FFT dos sete testes realizados na Série 4.	44

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1 – Média local, método dos pontos adjacentes	23
Equação 2 - Ajuste linear. (a) função linear; (b), termo dependente; e (c) termo	independente,
para x' e y', respectivamente, iguais aos valores médios de x e y	23
Equação 3 – Interpolação/Extrapolação de Y para um dado X	23
Equação 4 – Correlação cruzada e autocorrelação.	24
Equação 5 – Transformada rápida de Fourier (FFT)	24
Equação 6 – Coeficiente de correlação de Pearson.	25
Equação 7 – Algoritmo CoTra	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Detalhament	o das séries o	de testes realizados	19
	5 aus series (1 /

SUMÁRIO

1. Apresentação	1
2. Introdução	5
2.1. Objetivos	5
2.2. Emissão fotônica ultrafraca - UWPE	5
2.3. Cronobiologia	11
3. Método experimental e ferramentas de análise	17
3.1. Testes de Germinação	17
3.1.1. Filmagens	18
3.2. Ensaios de detecção de emissão fotônica ultrafraca (UWPE)	19
3.2.1. Comparativos transcontinentais	20
3.3. Parâmetro gravimétrico	21
3.4. Análise dos dados	21
3.4.1. Análise de correlações	24
4. Resultados e discussão	26
5. Conclusão	45
Referências Bibliográficas	49
Glossário	61
Anexos	62
Anexo 1 – Tabela das séries realizadas	62
Anexo 2 – Publicações elaboradas	64
Anexo 3 – Algoritmos desenvolvidos	68
Anexo 4 – eTide	72

1. APRESENTAÇÃO

No presente trabalho é apresentada uma análise estendida dos ritmos diários da emissão espontânea de luz em testes de germinação de trigo. Em se comparando os ritmos diários da aceleração gravimétrica local com as curvas de fóton-contagem obtidas em laboratório fica evidente o grande número de eventos similares e coincidentes. Ainda que essa covariação não sustente, por si só, a existência de uma relação de causalidade direta ou indireta, os dados apresentados são um indicativo importante da existência de relação dos ciclos cósmicos com os ciclos terrenos – no presente caso, a sincronia da germinação com ritmos lunissolares, presentes na gravimetria local.

O Laboratório de Fotônica Aplicada (LaFA) acumula, de 2006 a 2011, mais de 10000 horas de ensaios de detecção de luminescência ultrafraca (ou, em inglês, *ultra-weak photon emission* - UWPE) em grãos de trigo, em meio ótimo (Anexo 1). Em quase cinco anos de trabalho, comparações feitas entre plântulas mensuradas sob diversas condições produziram um conjuntos de dados que permitiram acumular compreensões sobre o perfil temporal da UWPE e seus ritmos. Muito destes resultados foram publicados em eventos e publicações da área (Anexo 2).

O comportamento periódico das oscilações temporais presentes na UWPE de germinação de trigo indicou presença de componentes temporais de cerca de meio dia (~12h) e de um dia (~24h), similares às presentes nos ciclos de maré e condizentes com os períodos dos movimentos lunissolares. Em 2007 pela primeira vez indicamos a existência destes ritmos [1]. Em 2009, apresentamos evidências destas correlações, agora a partir de estudos sob uma série mais longa de dados [2]. Em 2012, em colaboração com os professores Peter W. Barlow e Émile Klingelé, publicamos análises detalhadas do fenômeno [3,4].

A UWPE é um indicador do metabolismo e da viabilidade de organismos vivos e pode ser utilizada como uma ferramenta não invasiva de sondagem em tempo real das condições dos organismos observados [5,6]. As flutuações rítmicas das emissões fotônicas também podem ser indicadores uteis a estudos cronométricos em outros tipos de materiais biológicos [7].

A razão para realização dos estudos aqui descritos é verificar se os ritmos mencionados acima são características inerentes aos materiais biológicos, independente de suas condições ambientais e localizações, ou se eles são respostas a algum fator referente à localidade respectiva onde são realizadas as observações descritas. Esta abordagem já foi usada por Brown et al., em 1955 [8], para estudos sobre os biorritmos circadianos da atividade dos melanóforos em espécimes de caranguejo.

Estes estudos estão detalhados no presente trabalho por meio de quatro principais conjuntos de dados:

Série 1 – composta exclusivamente pelo teste 't10'. Foi conduzida após as séries principais (com início no dia 17/06/2011), esse teste inclui um vídeo da germinação estudada [9] e é utilizado para apresentar e detalhar as diversas operações realizadas na análise de dados;

2) Série 2 – composta por 6 testes, realizados entre os dias 8 e 25 de Maio de 2008, propiciou profundidade na compreensão dos conceitos envolvidos. Com base no estudo dos dados desta série foram elaboradas as primeiras conclusões sobre as coincidências e sincronias entre os parâmetros emissão luminosa e variação gravimétrica local;

3) Série 3 – composta por 27 testes, realizados num período de quase dois meses, entre os dias 02/01/2008 e 26/02/2008, além de propiciar observações a respeito dos padrões mensais existentes, visto que teve grande duração, possibilitou também a confirmação matemática dos resultados observados na série anterior; e

4) Série 4 – composta por 3 subséries de sete testes cada, realizados entre os dias 23/07/2007 e 14/08/2007. Duas das subséries foram conduzidas com grãos brasileiros, uma no Brasil e outra na Alemanha; a terceira das subséries foi conduzida com grãos alemães, na Alemanha. O objetivo geral deste conjunto de resultados é, a partir da comprovação matemática da existência de coincidências significantes entre os parâmetros fotônico e gravimétrico feita nas duas séries anteriores, verificar se a alteração do parâmetro gravimétrico pode ser representada e observada em termos do parâmetro fotônico. Deste modo, coloca-se toda a hipótese a prova.

O Capítulo 2 apresenta uma introdução às áreas de biofotônica e cronobiologia, nos aspectos mais próximos a este trabalho. São apontadas as principais características e aplicações conhecidas da técnica de detecção de UWPE. Os mais relevantes processos que originam emissões luminosas em organismos vivos são discutidos, com o fim de sustentar a compreensão dos conceitos e

discussões desenvolvidas. Ademais, são apresentados os pontos característicos a respeito do padrão de emissão luminosa que foram observados nos anos de pesquisas realizadas no LaFA. As distribuições temporais características, eventos importantes e traços recorrentes são descritos. Conceitos relacionados com a cronobiologia também são abordados neste capítulo, com ênfase nos principais conceitos e forças físicas envolvidas, bem como no papel destas forças na produção de ritmos ambientais que regulam o desenvolvimento da vida.

O Capítulo 3 apresenta o método experimental e as ferramentas utilizadas na análise de dados. São delineados os procedimentos para germinação de grãos de trigo e para os cálculos matemáticos necessários à comparação entre os perfis de emissão fotônica destes grãos e de variação gravimétrica local. Com base no método de germinação proposto serão definidos os principais pontos do método de detecção de UWPE, bem como um procedimento de filmagens e aquisição de dados sobre o desenvolvimento das plântulas. Estes métodos e procedimentos são utilizados para obtenção de um conjunto de dados que, por sua vez, são submetidos a um método analítico (que também será descrito) capaz de verificar as coincidências e correlações, no domínio do tempo e da frequência, entre os parâmetros fotônico e gravimétrico.

Com a intenção de colocar a prova os apontamentos feitos no decorrer desta pesquisa, são apresentados também arranjos metodológicos para realização dos ensaios comparativos em diferentes localizações (i.e. ensaios comparativos sob a influência de diferentes padrões de variação gravimétrica). Foram realizadas séries de testes de detecção em Limeira, no Brasil, e em Neuss, na Alemanha.

O Capítulo 4 apresenta os dados experimentais, sua análise e discussão. Primeiramente são feitos apontamentos que argumentam a hipótese da existência de relações entre o padrão de variação gravimétrica local e os ritmos de emissão luminosa dos testes de germinação observados. Foi possível observar coincidências significantes entre o parâmetro gravimétrico local e a UWPE. Também foram obtidos dados relevantes a partir das comparações transcontinentais, com grande potencial de validação da hipótese.

O Capítulo 5 apresenta conclusão e indicações de trabalhos futuros. Os resultados sustentam a ideia de existência de mecanismos ambientais que atuam na regulação dos ritmos do desenvolvimento dos grãos estudados - mecanismos que atuam como um "relógio externo" na regulação do 'relógio interno' dos organismos observados. Podem ser interessantes estudos futuros que possibilitem comparações entre diversas localidades simultaneamente, com a aferição instantânea de parâmetros ambientais relevantes e que sejam capazes de suprimir quaisquer falhas ou lacunas metodológicas identificadas.

2. INTRODUÇÃO

Nesta seção serão abordados conceitos sobre a emissão fotônica ultrafraca (UWPE) em organismos vivos, sobre a cronobiologia, campo do conhecimento dedicado ao estudo dos biorritmos, e sobre as forças físicas ambientais que regulam cronobiologicamente a vida no planeta. Estes são elementos conceituais centrais para compreensão dos resultados expostos, uma vez que o raciocínio lógico aqui desenvolvido passa exatamente pela compreensão, por meio de análises matemáticas, no domínio do tempo e da frequência, das coincidências e sincronias entre o perfil de emissão fotônica em testes de germinação de trigo comum (*Triticum aestivum*) e o padrão de variação gravimétrica devido aos movimentos lunissolares.

2.1 Objetivos

Verificar, avaliar e mensurar as coincidências temporais rítmicas entre o padrão de emissão fotônica ultrafraca e o padrão de variação gravimétrica devida ao movimento lunissolar.

2.2. Emissão fotônica ultrafraca - UWPE

Experimentos de fotocontagem para a detecção da emissão espontânea de luz proveniente de organismos têm se mostrado ferramentas proeminentes para inferência, em tempo quase real, da atividade metabólica de organismos, em especial em casos onde a mínima perturbação ao material biológico é necessária [10]. Também conhecida como "emissão biofotônica", o fenômeno é relacionado às condições endógenas e exógenas do organismo em questão [11].

A descoberta desta emissão luminosa fraca em plântulas foi feita por Colli e seus colaboradores, em 1954, já apontando que a luz emitida é correlacionada ao vigor dos organismos estudados [12]. Esta luminosidade observada é caracterizada por uma emissão eletromagnética de baixíssima intensidade (i.e. da ordem de centenas de fótons/cm².s), no espectro visível, podendo se estender ao ultravioleta e ao infravermelho próximo (i.e. entre 200 e 850 nm). A **Figura 1** abaixo retrata um comparativo entre as grandezas da intensidade desta radiação eletromagnética e a capacidade visual do olho humano.



Figura 1 - Comparação entre a emissão fotônica ultrafraca (UWPE) de várias amostras biológicas e a sensibilidade do olho humano. Fonte: [13].

Desde então, uma ampla gama de aplicações à UWPE foi desenvolvida na indústria alimentícia [14], na medicina [15,16,17,18,19,20,21,22,23], na genética [24], na microbiologia [25,26,27], na parasitologia [28], no desenvolvimento da física teórica e experimental [29,30,31], na agricultura [32] e outros [33]. A UWPE de sementes pode ser também utilizada para avaliações rápidas da viabilidade germinativa das sementes, em relação direta à produção de oxigênio singlete ($^{1}O_{2}$) [34]. Em sementes de cereais, por exemplo, é possível distinguir brotos fortes de brotos fracos em poucos minutos após a embebição das sementes (<30 min) [35]. Durante a germinação, toda plântula emite luz, porém, a luminosidade originada nas radículas, no cotilédone e no endosperma é mais intensa [36] (**Figura 2**).

São conhecidas diversas alterações no padrão de UWPE produzidas por estresses variados como, por exemplo, aqueles induzidos por temperatura, pelo contato com sais e/ou químicos em geral, pela desidratação ou mesmo por ataques infecciosos de insetos e fungos [37]. Num estudo realizado em 2006, pesquisadores japoneses puderam observar, em espécimes de milho, que 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 [37]. A indução ao estresse altera também os ritmos dos padrões esperados de emissão luminosa em grupos não estressados ao longo do tempo; como descrito pelo LaFA em pesquisas a respeito do trigo [38]. Estes ritmos cíclicos presentes na UWPE de

plantas, cultivadas em ambientes escuros, foram apontado inicialmente por Y. Yan, em 2005 [39].



Figura 2 – Imagem e esquema representativos da UWPE. (esquerda) Imagem da UWPE de uma plântula de soja danificada mecanicamente; (direita) representação esquemática da amostra, indicação da posição do dano causado à plântula em formato de cruz e da área útil da imagem gerada. A gravação da imagem durou aproximadamente 40 minutos. Fonte: Adaptado de [5].

As origens da UWPE têm sido objeto de estudos por pesquisadores de várias regiões do mundo. Dentre as variadas perspectivas, pelo menos duas têm maior relevância. Existem pesquisas dedicadas à compreensão do papel do DNA (e seus processos correlatos) na emissão de fótons por organismos vivos; entre eles o renomado físico russo Fritz-Albert Popp [40,41,42,43,44]. Sob outro ponto de vista, pesquisadores apontam as espécies reativas de oxigênio (*Reactive oxygen species* – ROS), relacionadas com a atividade metabólica, em especial a peroxidação de gorduras insaturadas e processos respiratórios das células, como fundamentais na compreensão da UWPE [45,46,47,48,49,50]. A primeira linha de raciocínio, embora promissora, como descrito ainda em 1984 [40], possui dificuldades metodológicas quanto à comprovação de muitas das hipóteses possíveis. Estudos apontam que células sanguíneas, portanto desprovidas de núcleo (i.e. sem a presença de mitocôndrias, responsáveis pela respiração), não são capazes de produzir UWPE; colocando também em questão a segunda linha de raciocínio e acirrando o debate em torno das origens da UWPE.

Na literatura é possível encontrar trabalhos que apontam outras possíveis origens para a UWPE como flavinas, indóis, fosforinas, bilirubinas, componentes aromáticos e derivados de carboidratos [51,52], além de componentes do funcionamento interno das células [53].

Estas moléculas (i.e. as espécies reativas de oxigênio) são compostas por átomos com algum tipo de instabilidade (i.e. com um ou mais de seus átomos das camadas externas de ligação despareado) que as tornam extremamente reativas com outras moléculas. Este tipo de moléculas são importantes, pois podem levar à formação de radicais livres (ou mesmo atuarem como tal), que são fundamentais tanto para o funcionamento fisiológico adequado quanto para o desencadeamento de mau funcionamento em sistemas vivos.

A síntese enzimática e a respiração celular são as principais origens conhecidas das ROS e sugerem relações importantes com processos fisiológicos nos organismos vivos. As ROS têm grande potencial degenerativo em seres vivos devido à sua capacidade de reagir facilmente com praticamente qualquer molécula biológica. O alvo mais comum destas ROS são as membranas lipídicas de células, podendo atuar na regulação de uma série de processos biológicos. Exatamente por esta característica, vários animais possuem mecanismos de defesa que sintetizam estas moléculas (i.e. as ROS) para combater patógenos menos complexos como bactérias, fungos e vírus.

Cresce o número de pesquisas sobre o conceito de "sinais redox" que apontam os processos de transferência eletrônica como mensageiros fundamentais em organismos biológicos. Inclusive, dado que estes processos de transferências eletrônicas envolvem a excitação e o relaxamento eletrônico molecular, por meio da emissão de radiação eletromagnética (i.e. a formação de fótons por 'emissão em linhas'), existem especulações sobre as relações destes processos de transferência eletrônica e a formação de sinais fotônicos biológicos capazes de disparar e regular processos físiológicos [13].

Sabe-se que a produção de ROS durante as reações imunológicas mencionadas acima são acompanhadas por luminescência. Estas respostas luminosas estão presentes tanto em animais complexos quanto em organismos inferiores, como bactérias. Além disso, estudos em humanos, apontam relações entre os processos respiratórios e a UWPE, corroborando com a importância das ROS no estudo da emissão de fótons por organismos vivos [13].

Como aponta Michal Cifra, a teoria da origem da UWPE no DNA é uma abordagem que, além de mais complexa que a perspectiva das ROS, demanda compreensão de campos como a mecânica quântica, a biofísica, a biologia e a fisiologia. A teoria do DNA não pode ser negligenciada visto que apresenta explicações objetivas para fenômenos que dificilmente seriam explicados por outras teorias. Ainda que existam sobreposições entre as explicações fenomenológicas e diferentes pontos de vistas entre as teorias do DNA e das ROS, elas não são excludentes. Ao contrário, devem ser vistas de modo complementar [13].

Pode-se entender a UWPE como um parâmetro de caráter e origens complexos, capaz de retratar a integralidade das condições endógenas e exógenas às quais os organismos estão expostos. A técnica de detecção de UWPE é, portanto, relevante para produção de conjunto de dados representativos do desenvolvimento metabólico das plantas e passível de aplicação ao estudo dos ritmos do desenvolvimento destes organismos.

De modo geral, os vários anos de estudos conduzidos no LaFA produziram um conjunto de dados que apontam um padrão esperado de UWPE em tratamento ótimo, bem como um amplo espectro de anomalias conhecidas, obtidas com tratamentos estressantes. A **Figura 3** é representativa deste padrão ótimo esperado.



Figura 3 – Fotocontagem (pontos) da germinação de trigo em tratamento ótimo e média local (linha – 100 pontos adjacentes). Indicação da intensidade da emissão luminosa, das horas decorridas a partir do início e data do teste.

A primeira característica marcante do padrão de UWPE é a formação de um decaimento do perfil nas primeiras horas após a embebição das sementes (em geral, até não mais do que 24 horas). Este decaimento, conhecido como Luminescência Retardada (*Delayed Luminescense*,

DL), é produto do acumulo de energia luminosa nos tecidos da semente e mesmo nos materiais utilizados para a preparação dos ensaios. Ainda que o método desenvolvido no LaFA busque minimizar a influência deste processo, são possíveis e conhecidos arranjos metodológicos que permitam estudos detalhados do perfil deste decaimento luminoso [29,30,39].

Após o período inicial relativo à DL, inicia-se um processo de incremento ritmado da intensidade geral da UWPE. A formação de platôs, cada um com intensidade maior que o anterior, intercalados com inclinações pronunciadas é observada diariamente ao longo de todo período de detecção realizado. São notadas pequenas oscilações e perturbações em torno deste perfil descrito, características únicas (e muito provavelmente não reprodutíveis) de cada ensaio realizado.

Assim como são várias as fontes possíveis de estresse, são variados os resultados de UWPE produzidos por organismos em contato com estes agentes estressores. Entretanto, entre outras coisas, podemos destacar: perda do padrão esperado do perfil de UWPE; alterações na intensidade geral do sinal [54], muitas vezes chegando à total eliminação da UWPE; e mudanças no ritmo e na estrutura da distribuição temporal da UWPE [55]. Compreender adequadamente as alterações causadas na UWPE por agentes estressores é importante não apenas para áreas como a ecotoxicologia e a cronobiologia, mas, essencialmente, à praticamente qualquer aplicação possível da técnica de detecção de UWPE. As principais ferramentas utilizadas para esta distinção são de ordem estatística e matemática, tanto no domínio do tempo quanto no da frequência.

Em grupos estressados, além da intensidade da emissão ser notadamente menor, há uma tendência de decremento da intensidade no primeiro platô. O primeiro período de incremento dos grupos estressados também pode se mostrar prejudicado, não conseguindo superar a intensidade do platô inicial. Mesmo sob estas condições de estresse é possível notar a formação de oscilações parecidas em ambos os grupos, oscilações estas que muitas vezes mostraram um caráter periódico e não puderam ser reproduzidas ou controladas. Fato que nos provocou interesse na compreensão destes ritmos e, portanto, no estudo da cronobiologia.

2.3. Cronobiologia

De acordo com o professor Dr. Peter Barlow, no prefácio ao livro "*Farewell to the Internal Clock: A contribution in the field of chronobiology*" [56], existem duas influências ambientais em nosso planeta que são inescapáveis aos organismos vivos: a força de atração gravitacional e a influência do movimento lunar sobre a Terra.

A gravidade é um parâmetro ambiental sempre presente no desenvolvimento da vida no planeta. Para fins de aferição da influência da gravidade tanto no desenvolvimento biológico quanto numa ampla gama de aplicações do cotidiano humano, assume-se a constante gravitacional de 1G (i.e. $6,67 \times 10^{11} \text{ m}^3/(\text{kg.s}^2)$) [57]. Isto é feito sob uma perspectiva genérica, porém, ainda que numa ordem diminuta de grandeza, a aceleração gravitacional varia ao longo da superfície terrestre. Diferentes distribuições de massa no planeta e características geomorfológicas produzem alterações na aceleração gravitacional, em função da posição geográfica de referência e do referencial temporal [56]. Estas variações na aceleração gravitacional na Terra geram, em animais e plantas, respostas comportamentais; em plantas dá-se o nome de gravitropismo e gravimorfísmo e em animais de gravitaxis e gravicinésia. É possível que a movimentação e redistribuição de massas, no interior das células responsáveis por estas respostas estejam no cerne destes fenômenos comportamentais.

A força das marés, devido ao movimento lunar, não é constante. Ao contrário, ela varia periodicamente em relação à posição relativa entre a Terra e a Lua e à atração entre os dois. As altas e baixas marés, que ocorrem duas vezes ao dia, são evidencias desta força periódica que também apresenta duas altas e baixas diárias em sua variação. Esta força lunar está presente não apenas nos mares e nas águas, mas em toda superfície terrestre. Exemplos da influência desta força podem ser percebidos também em nosso cotidiano, como em grandes construções que se deformam de modo bastante sutil de acordo com a posição da Lua [58,59].

A influência destas variações periódicas na aceleração gravitacional tem sido objeto de estudos por vários anos. A cronobiologia enquanto ciência encontra atualmente aplicação em diversos campos. Além da biologia, podem-se encontrar apontamentos feitos nos campos da medicina, da farmácia, da psicologia, da pedagogia e da ecologia [56].

Os ritmos lunares diários e mensais são tradicionalmente conhecidos por comunidades agrícolas e das florestas em todo mundo; e são tidos como peças chave para determinação dos melhores momentos não apenas para germinação de sementes e períodos de colheitas, mas também para garantir qualidade ótima na produção vegetal final. Além da aplicação para a gestão de alimentos, onde a porcentagem de água nas folhas e frutos pode alterar o sabor, o tempo de maturação e o tempo limite de armazenagem [60], existem também aplicações na gestão da qualidade de madeiras [61].

Apresentados primeiramente em 1998, dados relevantes mostram que a variação do diâmetro dos caules das árvores varia de acordo com os ciclos locais das marés [62] (Figura 4). Até mesmo com relação à variação diária do potencial elétrico no interior de troncos de carvalhos (*Quercus cerris*) foram encontrados ciclos periódicos anuais. Somado à sincronia dos caules das árvores com as marés, análises recentes mostraram ainda evidências de uma correlação temporal com atividades geomagnéticas [63]. Estas sincronias com os ciclos das marés são também encontradas em processos germinativos de feijões [64,65], assim como no movimento das folhas deste organismo [64].

Propriedades mecânicas da madeira, por exemplo, são estritamente correlacionadas ao conteúdo de água na madeira durante seu corte e o movimento desta dentro dos troncos acompanha ritmos lunisolares de variação [63,66,67,68,69,70]. Pesquisas mostraram que plantas e animais tanto possuem ciclos sincronizados com padrões diurnos e noturnos quanto também possuem aspectos de seus comportamentos relacionados à posição do Sol e da Lua, como, por exemplo, os ritmos das marés e a variação das fases da Lua [8,56,71,72,73,74,75].



Figura 4 – (a) Variação no diâmetro do caule de duas árvores e (b) na aceleração gravimétrica local, Florência, Itália (17~20/07/1988). Dados apresentam forte sincronia. Fonte: Adaptado de [66].

A respeito da influência destes ritmos em animais, Brown e seus colaboradores conduziram um experimento bastante elucidativo sobre a abordagem cronobiológica, por meio da observação da atividade dos cromatóforos (i.e. estruturas geradoras de cores) em caranguejos. O estudo partiu de duas amostras de caranguejos, uma delas foi observada em seu local de origem, na costa leste dos Estados Unidos e outra foi transportada e observada na costa oeste. Os dados obtidos (**Figura 5**) ao longo do tempo apontam claramente a formação de um ritmo diário de oscilação.

No exemplo em questão, depois de transportados para nova localização, o ritmo de atividade dos cromatóforos observada nos caranguejos não mais era aquele encontrado na localização original, mas sim um ritmo em harmonia com a variação periódica observada na nova localização. Esta constatação suporta a hipótese de que os biorritmos não são inerentes aos caranguejos e sim a um relógio (ou memória) externo, em consonância com algumas características geográficas locais. Já àquela época, em 1995, os autores acreditaram na existência de algum fator ambiental, relacionado como as variações gravitacionais referentes ao movimento

lunissolar, que, além de regular as marés dos oceanos, também regula, de modo mais direto, o biorritmo dos cromatóforos dos caranguejos.

A abordagem por nós proposta para este trabalho é bastante semelhante; parte da observação de parâmetros biológicos para comparação com parâmetros oscilatórios ambientais; i.e. a variação gravimétrica local produzida pelo movimento lunissolar, conforme aponta Brown (retratado pelas linhas coloridas sobrepostas à **Figura 5**).



 Figura 5 – Ciclos de mudanças, em graus de dispersão, da melanina de caranguejos Uca pugmax em Berkley, Califórnia (costa oeste dos Estados Unidos da América) comparados com controles em Wood Hole, Massachusetts (costa leste). Setas indicam marés baixas. Predição das variações gravimétricas para as duas localizações (linhas coloridas). Fonte: Adaptado de [8].

Praticamente todos os parâmetros ambientais, cada qual à sua forma, têm influência e definem diretamente o desenvolvimento dos organismos vivos. Alguns destes parâmetros são mais óbvios (como a luz solar, a temperatura, a umidade presentes no ar e no solo, vibrações,

agentes tóxicos e estressores etc.), outros menos (como as pequenas variações na concentração de carbono atmosférico).

O conceito de aclimatação refere-se à forma como os organismos vivos notavelmente superam os desafios colocados por esta vasta série de influências ambientais. Entretanto, quando esta aclimatação não é mais uma possibilidade, tem lugar a noção de adaptação, como resultado da seleção genética (seleção natural) [76]. Ou seja, uma característica que outrora fora uma condição facultativa de resposta ao ambiente passa a ser parte constitutiva da estrutura de funcionamento do organismo. Desta forma, o ambiente continuamente molda o desenvolvimento da vida no planeta.

As descobertas referentes a mecanismos internos de regulação dos ritmos das plantas (algo como um "relógio interno") são conclusivas. Tendo em vistas as suas características (i.e. sua capacidade de movimentar periodicamente suas folhas, em resposta ao ambiente), espécimes de feijões foram fundamentais para o avanço da cronobiologia [64,77]. Estas plantas foram submetidas a variadas condições experimentais (longo e curto termo, latitudes extremas, microgravidade, observadas em deslocamento aéreo e em minas subterrâneas etc.) com o objetivo de verificar se nenhuma influência externa desconhecida (como raios solares e forças magnéticas) seria capaz de estimular este "relógio interno" que regula, entre outras coisas, o movimento periódico de suas folhas. Tendo em vista que nenhuma destas condições experimentais foi capaz de alterar o ritmo natural de movimentação das folhas, é tido como provado cientificamente que estes ritmos observados nas plantas só podem ser gerados pelo organismo em si; corroborando com a ideia deste "relógio interno", encontrado em todas as plantas e animais.

Os fatores e influências ambientais (como a variação da luz, da temperatura e das marés) têm ainda outra relevante contribuição para o funcionamento e desenvolvimento dos organismos vivos: atuam como "relógios externos", responsáveis pela regulação e sincronia dos "relógios internos". Este controle externo é extremamente importante, pois adapta a falta de exatidão dos ritmos internos às condições naturais. Isso garante, por exemplo, no caso do movimento das folhas dos feijões, que estas estejam plenamente levantadas, propiciando maior eficiência na captação da luz solar no momento em que ela for mais abundante.

As reações cíclicas destes "relógios internos" podem ocorrer em intervalos menores de um dia (infradianos), aproximadamente iguais a um dia (circadianos) ou maiores que um dia (ultradianos). A maior parte dos mecanismos rítmicos internos conhecidos ("relógios internos") geram ritmos circadianos. O ciclo de luz e escuro (i.e. fotoperíodo) é o principal sincronizador ("relógio externo") destes mecanismos internos à exata duração do dia [78].

Parece-nos improvável que organismos vivos tenham escapado da influência destas forças gravitacionais periódicas em seu desenvolvimento e evolução. Pelo contrário, parece-nos razoável acreditar que a influência destes parâmetros e ritmos seja constantemente assimilada no processo evolucionário e hoje faz parte do funcionamento dos organismos vivos, podendo ser explorada como um importante indicativo do desenvolvimento de plantas e animais e das condições onde se dá este desenvolvimento.

3. MÉTODO EXPERIMENTAL E FERRAMENTAS DE ANÁLISE

A seguir serão apresentados os principais elementos do método de ensaio de detecção de UWPE e de análise cronológica dos dados. De modo geral, o método consiste na preparação de ensaios e testes de germinação, de acordo com as normas vigentes, e posterior análise matemática a fim de evidenciar as correlações existentes no ritmo de variação dos parâmetros UWPE e aceleração gravimétrica. A fim de verificar os apontamentos realizados, o método de análise aqui proposto foi conduzido também numa série de ensaios de detecção de UWPE realizados com amostras de grãos de trigo de diferentes localizações em diferentes localizações (Brasil e Alemanha), numa abordagem transcontinental.

3.1. Testes de Germinação

Os testes de germinação foram preparados em placas de *Petri* (de 10 cm de diâmetro) com grãos de trigo (*Triticum aestivum*, cultivar *MaisVita* – selecionados aleatoriamente de um mesmo estoque) dispostos em substrato de papel filtro embebido em 10 mL da solução testada. Foram utilizados 25 grãos por teste. As séries de ensaios aqui relatados foram realizadas em meio ótimo (água destilada; 21±1°C), entre 2007 e 2011. O ensaio de filmagem (descrito abaixo) foi realizado em 2011.

No quarto dia após a disposição dos grãos no material testado, de acordo com as Regras para Análise de Sementes (RAS) [79], os resultados da germinação foram aferidos; ou seja, a taxa de germinação (>90%) e o desenvolvimento germinativo, mensurado por meio da soma dos comprimentos lineares da porção foliar (**Figura 6** – indicada pelo número 2) e da maior das raízes (indicada pelo número 14).

Tanto o preparo dos testes quanto a estocagem dos grãos foi atenciosa em manter abrigo da luz, evitando acúmulos de energia nos grãos que possam interferir nos dados obtidos, além de proteger os grãos de qualquer indução de ritmos diurnos. Os estoques de grãos foram renovados a cada três meses, assegurando altas taxas de germinação.



Figura 6 - Germinação de Triticum sp. Fonte: [79].

3.1.1. Filmagens

Com a intenção de produzir dados capazes de verificar a existência de coincidências ou não entre os momentos de início do desenvolvimento das plântulas e os momentos de início do incremento no perfil da UWPE, foram realizados testes de filmagem da germinação. Com estes testes foi possível adquirir informações espaciais e temporais relativas ao movimento e ao desenvolvimento das plântulas.

Como em qualquer outro experimento realizado, a preocupação e o cuidado com a influência de fontes luminosas externas foi fundamental para condução dos trabalhos de filmagens da germinação. Isso impôs a necessidade de formas alternativas de iluminação para as filmagens. A solução encontrada foi iluminar os grãos com infravermelho e realizar a captura das imagens com câmera filmadora capaz de captar esta porção do espectro luminoso (câmera *Sony Handycam* DCR-SR60 [80], com tecnologia *Night Shot*). Quaisquer outras fontes luminosas no visível (como os LEDs externos da câmera) foram eliminadas.

A disposição dos grãos foi feita de modo a favorecer a captura das imagens. Os grãos foram arranjados um a um no interior de tubos de ensaio, garantindo assim a clara identificação das plântulas e evitando oclusões na imagem.

Em intervalos predefinidos (5 minutos e 45 segundos) foram tiradas fotos das plântulas. Estas foram utilizadas para compor um vídeo de 40 segundos (29 fps) capaz de retratar o desenvolvimento geral delas (*software* disponível no **Anexo 3**). As posições (em *pixels*) das extremidades das plântulas foram registradas (em unidades arbitrárias) quadro a quadro, compondo assim uma disposição temporal do desenvolvimento das plântulas e, consequentemente, possibilitando a projeção da velocidade do desenvolvimento.

3.2. Ensaios de detecção de emissão fotônica ultrafraca (UWPE)

Os ensaios de detecção de UWPE foram preparados a partir do método de germinação descrito acima. Cada ensaio foi acompanhado de uma triplicata de testes de germinação, para validar os testes e avaliar o desenvolvimento da germinação.

As contagens de UWPE foram realizadas numa câmara escura acoplada a um Tubo Fotomultiplicador (*photomultiplier tube* – PMT), de baixo ruído (<180 contagens/10s), sensível ao visível, e com temperatura controlada ($21\pm1^{\circ}$ C). Foram utilizados dois protótipos com arranjos distintos – o protótipo usado inicialmente no LaFA está descrito em [81] e o usado para os trabalhos desta pesquisa em [82].

Todos os dados aqui relatados foram adquiridos em intervalos (i.e.: janelas de integralização) de 10 segundos, durante todo o período dos testes. Novamente, destaca-se a atenção com o abrigo da luz. Todos os testes de uma mesma série iniciaram próximos ao mesmo horário do dia (08:00, 09:00, 10:00 ou 20:00 -**Tabela 1**). Para representar visualmente os dados e comparar os padrões biofotônicos com os padrões gravimétricos correspondentes e com o nascer e pôr do Sol e da Lua foi realizada correção do horário local médio (LMT = GMT - 3h9'41").

As curvas de fotocontagem foram analisadas através das médias locais a fim de contornar possíveis efeitos da variação do ruído térmico do equipamento e evidenciar o perfil temporal da emissão fotônica ultrafraca. Os eventos relevantes no sinal biofotônico são definidos como: pronunciadas variações, como pontos de inflexões (máximos ou mínimos) no perfil obtido ou em sua primeira derivada (inclinações e concavidades); e inícios ou términos de porções inclinadas (i.e.: incremento ou decremento na intensidade do sinal).

	Datas						
Séries	Início	Fim	Dias (#)	Grupos (#)	Teste (h)	Total (h)	Início (h)
1	16/05/2011	06/07/2011	51	11	72	792	10:00
2	05/05/2008	25/05/2008	20	7	72	504	08:00
3	02/01/2008	26/02/2008	55	27	48	1296	20:00
4	23/07/2007	14/08/2007	22	7x3	72	1512	09:00

Tabela 1 - Detalhamento das séries de testes realizados.

Os dados são gerados em formato de texto, que é composto por um par coordenado de pontos (i.e. tempo e intensidade luminosa detectada) com intervalo de tempo de 10 segundos entre eles.

3.2.1. Comparativos transcontinentais

Apontando na direção da hipótese de que certos biorritmos, incluindo os ritmos da UWPE, são regulados pela variação gravimétrica local predominante, grãos de trigo de um estoque de grãos mantido no Brasil foram utilizados em experimentos simultâneos tanto em sua localização original (Limeira, LaFA) quanto na Alemanha (Neuss, Instituto Internacional de Biofísica – IIB). Os testes na Alemanha (Série 4) iniciaram um dia após a chegada dos grãos ao país (23/07/2007). Na mesma data, um teste idêntico foi conduzido no Brasil, utilizando grãos do mesmo estoque brasileiro ('BR'), e outro foi também conduzido na Alemanha, com sementes de um estoque local (i.e. sementes armazenadas na Alemanha – 'DE'). Além disso, todos os experimentos executados em paralelo estiveram submetidos às mesmas condições laboratoriais, utilizaram equipamentos de contagens de fótons bastante similares, com baixo e estável ruído de fundo, e foram iniciados nas mesmas datas e em momentos equivalentes. Em cada localização (i.e. na Alemanha e no Brasil) a aceleração gravitacional foi diferente para um mesmo instante.

Sendo assim, dentro desta série comparativa, três subséries simultâneas de detecção de UWPE foram executadas em acordo com o método descrito acima: 1) Grãos brasileiros observados em Limeira, Brasil, no LaFA – 'BR@BR'; 2) Grãos brasileiros observados em Neuss, Alemanha, no IIB – 'BR@DE'; e 3) Grãos alemães observados em Neuss, Alemanha, no mesmo instituto – 'DE@DE'. Dados preliminares e detalhes experimentais e do procedimento

analítico podem ser encontrados em [3,32,83]. Todos os dados obtidos foram analisados com base no procedimento descrito adiante.

3.3. Parâmetro gravimétrico

Todos os dados relativos à aceleração gravimétrica foram calculados utilizando-se o programa desenvolvido pelo professor Emile Klingelé, com base em rotinas matemáticas e na entrada de dados relativos à localização geográfica (i.e. no caso de Limeira, onde está localizado o LaFA, 22° 33' 43" S, 47° 25' 23" O – 670 m, e no caso de Neuss, onde está localizado o IIB, 51° 12' 15" N, 47° 24' 47" L – 40 m), à data e ao período pelo qual serão gerados os dados [84]. O algoritmo usado utiliza parâmetros de ordem temporal (i.e. datas e sistemas métricos), espacial (i.e. parâmetros geométricos e trigonométricos vinculados às posições relativas entre o Sol, a Lua e a Terra) e geológicas (por exemplo, as massas dos corpos celestes envolvidos).

O produto gerado é também um par de coordenadas, dispostos numa série temporal (i.e. tempo *versus* variação gravimétrica), com intervalo de tempo de 15 minutos entre os pontos. A unidade de grandeza dos dados da variação gravimétrica é μ Gals (i.e. cm/s².10⁻⁶). Os arquivos de entrada e saída do programa estão disponíveis no **Anexo 4**.

3.4. Análise dos dados

Em síntese, no escopo deste trabalho, estão inseridos três conjuntos básicos de dados, sobre os quais decorrem todas as análises:

1) Dados dos testes de germinação - compostos pelos dados de taxa de germinação e comprimento linear de todos os testes e ensaios (tanto os para detecção de UWPE, quanto as triplicatas);

 Dados das contagens da detecção de UWPE – composto por séries temporais de pares de pontos (tempo *versus* contagem biofotônica), arranjadas em arquivos de texto, um para cada ensaio realizado; e

3) Dados do parâmetro aceleração gravimétrica – também composto por séries temporais de pontos (tempo versus aceleração da gravidade); estes dados são calculados para períodos equivalentes aos dados de detecção de UWPE. O método de análise tem início com a verificação dos dados de germinação. Cada ensaio de detecção de UWPE possui uma triplicata (i.e. três repetições). Todos devem atingir a taxa mínima de germinação de 90% para serem considerados válidos e utilizados nas análises subsequentes. Aos ensaios válidos aplica-se o processo de análise descrito.

Os dados brutos da contagem de UWPE são então pré-processados, para evidenciar suas variações e oscilações. São três etapas: 1) Executa-se a média local ((\tilde{a}_i)) dos (w=1000) pontos adjacentes (*smoothing* [85] – **Equação 1**), por meio da abordagem de janelas móveis de integralização (Figura 7); 2) procede-se então o ajuste linear (*fitting* [86] – **Equação 2**) destes dados obtidos, em trechos de 24 horas (excetuando-se a porção do sinal relativa ao decaimento – DL); e 3) com base na diferença entre os dados das primeira e segunda etapas, é calculado o resíduo da contagem de UWPE (*residue*). A este processo, em inglês, se dá o nome de *detrend* (i.e. é um processo de remoção da tendência geral dos dados, que torna evidente as oscilações no entorno desta tendência).



Figura 7 – Esquema de funcionamento "janelas de integração móvel". Cálculos são realizados em janelas prédefinidas, que se movem ao longo da série temporal, ponto a ponto. Fonte: [87].
$$\tilde{a}_{i} = \frac{1}{w} \sum_{i=1+w/2}^{n-w/2} a_{[i-w/2],[i+w/2]}$$
(1)

$$y = ax + b \tag{2a}$$

$$a = \frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - x')(y_i - y')}{\sum_{i=1}^{n} (x_i - x')}$$
(2b)

$$b = y' - ax' \tag{2c}$$

Neste estágio são realizadas as análises de correlação para ambos os parâmetros, ou seja, os dados de UWPE pré-processados e os parâmetros gravimétricos calculados. Ambos os dados passam por um processo de interpolação (*interpolation* [88]), a fim de estabelecer uma única variável independente de tempo para os dois conjuntos de dados e garantir espaçamento uniforme e contínuo entre eles. Para um conjunto de dados (' x_i, y_i '), de acordo com condições abaixo, procede-se o cálculo dos valores interpolados ou extrapolados de 'y' para um dado valor de 'x' (**Equação 3**). Este processo é necessário para os cálculos de correlação que se seguem.

Para
$$x < y_0$$

 $y = y_0 + \frac{y_1 - y_0}{x_1 - x_0} * (x - x_0)$
Para $x > X_{n-1}$
 $y = y_{n-1} + \frac{y_{n-1} - y_{n-2}}{x_{n-1} - x_{n-2}} * (x - x_{n-1})$ (3)
Para $x_i < x < x_{i+1}$
 $y = y_i + \frac{(y_{i+1} - y_i)}{(x_{i+1} - x_i)} * (x - x_i)$

Os dados, pré-processados e interpolados, são submetidos a cálculos de autocorrelação e correlação cruzada, para avaliação das fases de covariação entre os parâmetros, como segue: Com base nos conjuntos de dados 'f(n)', 'g(n)' e 'y(m)' sendo, respectivamente, duas séries de dados de entrada (i.e. dados a serem comparados) e uma série de dados de saída (i.e. os resultados da correlação), procede-se os cálculos das FFT de 'f(n)' e 'g(n)', respectivamente, 'F' e 'G' e da FFT inversa ('ifft()') do produto de 'F' pelo conjugado de 'G' (**Equação 4**).

$$y(m) = \sum_{n=0}^{M-1} f(n)g(n-m) = ifft(FG^*)$$
(4)

Os dados das médias locais (*smoothing* – 1000 pontos) e do parâmetro gravimético têm seus coeficientes locais de correlação aferidos com uso do algoritmo "CoTra" (descrito abaixo). O principal indicador de correlação utilizado são datagramas de contagem de frequência dos coeficientes locais de correlação, que destacam se há ou não correlação significante entre os dados analisados.

Por fim, são realizadas análises dos dois parâmetros (UWPE, média 1000 pontos, e aceleração gravimétrica) no domínio da frequência utilizando a Transformada Rápida de Fourier (*Fast Fourier Transform – FFT* [89,90]. Na **Equação 5** abaixo, para um conjunto de dados ' x_i ' composto por 'N' elementos, ' F_n ' será o conjunto de dados relativos à transformada discreta de Fourier (DFT).

$$F_n = \sum_{i=0}^{N-1} x_i e^{-\frac{2\pi i}{N}ni}$$
(5)

A observação das amplitudes e/ou das potencias relativas das componentes periódicas que compõem o perfil de UWPE em função de suas frequências permite apontar claramente quais destas componentes temporais têm maior relevância no ritmo de variação deste perfil. Além disso, permite também destacar quais dessas componentes mais relevantes são coincidentes entre os parâmetros.

3.4.1. Análise de correlações

Duas abordagens de correlação entre os parâmetros foram utilizadas. Uma delas é a abordagem do coeficiente de correlação total de Pearson [87,91]. Estes cálculos foram realizados considerando-se toda série temporal, porém, a partir de pares de pontos compostos pelas coordenadas temporais dos eventos relevantes do perfil fotônico (i.e. inícios e términos de incrementos, decrementos e platôs, além de pontos de inflexões) e dos pontos de inflexão no perfil de variação gravimétrica mais próximos aos eventos fotônicos considerados. Este conjunto

de dados foi então submetido ao cálculo do coeficiente de correlação de Pearson, como descrito na **Equação 6;** para dois conjuntos de dados '*a*' e '*b*', o coeficiente é igual à razão entre a covariância dos dados, pelo produto da variância de cada um deles.

$$P[a,b] = \frac{cov(a,b)}{var(a).var(b)}$$
(6)

Uma segunda abordagem, derivada desta primeira, foi desenvolvida com o uso de ferramentas computacionais. Foram calculados os coeficientes locais de correlação para os dois parâmetros (i.e. UWPE e variação gravimétrica). Através da abordagem de janelas de integralização móveis (o tamanho destas janelas são variáveis – **Figura 7**) foram calculados os coeficientes locais de correlação entre os parâmetros a cada ponto da série temporal. A partir da observação da distribuição das frequências de incidência dos coeficientes calculados, puderam-se evidenciar os altos índices de correlação entre os dois parâmetros.

Para este fim, foi desenvolvido o algoritmo CoTra (*correlation tracker*) de extração das correlações locais temporais, com base no coeficiente de Pearson, de acordo com a **Equação 7** (algoritmo descrito no **Anexo 3**) [87].

$$P[I] = \frac{cov(a_{[\{i-w/2\},\{i+w/2\}]}, b_{[\{i-w/2\},\{i+w/2\}]})}{var(a_{[\{i-w/2\},\{i+w/2\}]}).var(b_{[\{i-w/2\},\{i+w/2\}]})}$$
(7)

Cada ponto no tempo (*i*) do conjunto UWPE *versus* variação gravimétrica (*a,b*) (em torno de 19 mil pontos em 72 horas) teve o coeficiente de correlação local (P[I]) calculado, em janelas de deslocamento predefinidas (*w*). Os dois conjuntos de dados apresentados são submetidos a cálculos de correlação local e o módulo dos resultados é apresentado de modo a evidenciar os pontos de maior correlação.

Para elaboração dos datagramas de correlação foi descartada a porção relativa ao decaimento inicial do sinal biofotônico (DL) e calculadas a autocorrelação do resíduo do perfil de UWPE e da variação gravimétrica. Isto possibilitou a observação de diferenças ou inversões de fases entre os dois parâmetros [92].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 2007 nos deparamos pela primeira vez com evidências da existência de ciclos periódicos no perfil de UWPE em grãos de trigo, ensaiados em condições ótimas. Além de uma possível relação entre a variação da intensidade luminosa emitida e as fases da lua, foram observadas componentes temporais de variação da ordem de 12 e 24 horas (ciclos ultradianos e circadianos). Dois anos mais tarde, em 2009, novos dados apontaram a existência de ritmos periódicos na UWPE. A partir de um conjunto mais longo de dados da UWPE de trigo, também em meio ótimo, notou-se a ocorrência de ritmos diários e mensais (circadianos e infradianos) [2]. Ritmos semelhantes foram observados mesmo em testes realizados em meio estressante [54]. Desde então, avanços neste campo de estudos têm ocorrido [93]. Em trabalho publicado, em cooperação com o prof. Dr. Peter Barlow, apresentamos resultados que evidenciam as alterações dos padrões de funcionamento destes ritmos em relação às variações locais da aceleração gravitacional. Foram estudados os perfis de UWPE de grãos de trigo em seu lugar de origem (Limeira e Neuss) e fora de seu local de origem (Neuss, Alemanha). Estes dados foram importantes para desvelar um processo de aclimatação dos grãos às condições locais [3].

Abaixo (Figura 8) são apresentados os resultados das análises do teste 't10' (da Série 1), no qual a contagem de fótons das sementes foi realizada em paralelo à gravação em vídeo do desenvolvimento das plântulas.

A parte inferior da figura mostra as media locais da contagem fotônica (em janelas de integralização de w=100 e w=1000 pontos), juntamente com seus ajustes lineares em trechos de 24 horas. Também são apresentados os dados simultâneos do elongamento do coleóptilo de três plântulas (uma imagem do vídeo está inserida no gráfico), além dos momentos de nascer e pôr do sol e da lua. A parte superior da figura apresenta as curvas residuais (i.e. a variação da foto contagem, δ PC) em torno das regressões lineares mencionadas, sobrepostas ao perfíl da variação gravimétrica local (δ g - μ Gal) e sua primeira derivada (μ Gal. s⁻¹).



Figura 8 – Emissão luminosa espontânea da germinação de trigo em água destilada: dados da contagem biofotônica (média 100# - linha cinza - e 1000# - linha preta), dados da germinação (taxa de elongamento foliar – linhas e pontos verdes), Lua e sol (pontos amarelos e azuis), Dados do ajuste linear (ajuste linear – linhas laranjas, resíduo regular – linhas vermelhas), Dados gravimétricos (predição – linha azul – e sua primeira derivada – linha ciano). Amostra do vídeo inserida. Série 1 – grupo #10. Fonte: [3].

A contagem fotônica começou logo após a embebição das sementes, às 09:00 do dia 17/06/2011 (Figura 8). Durante as primeiras 24 horas pode-se notar a formação de um perfil intenso, porém com tendência de queda (DL). Este padrão de emissão é devido principalmente ao relaxamento da energia armazenada tanto na água quanto no substrato utilizado para germinação. Posteriormente, o perfil da UWPE apresenta pequenos incrementos, começando as 30 e 42 horas. Estes momentos coincidem com o nascer e pôr do Sol, respectivamente (vide símbolos no eixo horizontal). Durante este período inicial de 42 horas o perfil da foto contagem parece estar sincronizado com o perfil da variação gravimétrica; picos e vales da fotocontagem e suas variações (δ PC) são coincidentes, respectivamente, com os picos e vales do perfil de variação gravimétrica (δ g). O eixo vertical da variação gravimétrica foi invertido (valores negativos para cima), a fim de favorecer a visualização dos dados. Tais valores negativos indicam uma diminuição da atração gravitacional em direção à Terra. No período restante, após as 42 horas

iniciais, os pontos de inflexão de δ PC são coincidentes com os extremos análogos (ou pontos de virada) no perfil gravimétrico. Estes pontos ocorrem por volta de 60, 73, 102, 111 e 118 horas. Observações e coincidências deste tipo são encontradas para δ PC em relação à δ g em vários ensaios similares, mesmo quando os detalhes do perfil δ g mudam de dia para dia. Estas características serão exploradas adiante, na discussão dos dados obtidos com as Séries 2 e 3, onde pronunciados platôs e incrementos são observados nos dados de emissão luminosa.

Em cada um dos quatro trechos de 24 horas selecionados para análises detalhadas as funções de autocorrelações e de correlações cruzadas dos dados de foto contagem e da aceleração gravimétrica foram computados (**Figura 9**). Estas funções ajudam a identificar similaridades entre os dois parâmetros, uma propriedade também confirmada pela aplicação do algoritmo FFT.



Figura 9 – Datagramas de autocorrelação dos parâmetros fotônico (linha preta) e gravimétrico (linha azul) e das correlações cruzadas entre eles (linha tracejada). Indicação do fator de correlação e das componentes temporais. Trechos de 24 horas da Série 1.

Em muitos casos, a variação da UWPE (δ PC) parece reproduzir características do padrão temporal da variação gravimétrica (δ g) e mostrar coincidências com as inflexões deste perfil (i.e. onde a velocidade da variação gravimétrica é zero). No primeiro trecho de 24 horas (de 30 a 54

horas) o parâmetro δPC é inicialmente plano, indicando um desenvolvimento constante da contagem fotônica. Logo após o próximo pico, durante o próximo semiciclo até o momento do próximo extremo local da variação gravimétrica, a foto contagem começa um decremento (valores negativos de δPC) em paralelo a um decremento no padrão gravimétrico. Deste ponto em diante, o padrão de δPC acompanha a velocidade de variação gravimétrica, mas com uma súbita diferença de fase de 90° em relação à trajetória original. Isto indica um comportamento oscilatório com fortes semiciclos de 6 horas. Existem ainda periodicidades de alta ordem ocultas, de 12 e 18 horas. Durante o segundo trecho de 24 horas (de 54 a 78 horas), a variação da fotocontagem apresenta oscilação menos intensa, com pontos de inversão coincidente com os extremos da variação gravimétrica e também com sua primeira derivada. Durante o terceiro trecho de 24 horas (entre 78 e 102 horas) o parâmetro δPC é fortemente periódico, claramente fora de fase com o parâmetro δg, com um atraso ainda maior durante o último quarto deste trecho (entre 96 e 102 horas). O quarto trecho de 24 horas (entre 102 e 126 horas) apresenta as mais pronunciadas coincidências para a relação $\delta PC/\delta g$, com coincidentes picos e vales. As correlações correspondentes apresentam componentes quase iguais próximos às 6 e 12 horas, novamente com relação de inversão de fase.

São apresentadas também as componentes periódicas de oscilação para os dois parâmetros (Figura 10), obtidos pelo algoritmo FFT. Nota-se, neste teste único ('t10'), que as componentes temporais de 12 e 24 horas praticamente coincidem na distribuição espectral, porém, suas intensidades relativas estão invertidas: o parâmetro gravimétrico possui componentes fortes na banda de 12 horas, enquanto as componentes do parâmetro fotônico são mais fortes na banda de 24 horas. Ainda que estes dados retratem um único teste (o 't10'), a sincronia e a similaridade das componentes periódicas entre as variáveis geofísica e biológica é significante, como será demonstrado abaixo para as Série 2 e 3.



Figura 10 – A transformada rápida de Fourier aplicada à variação gravimétrica (δg) e à variação da UWPE (δPC). Série 1. Fonte: [3].

A **Figura 11** apresenta os dados do elongamento do coleóptilo versus a curva de foto contagem. O elongamento do coleóptilo (i.e. a porção foliar da plântula) só teve início por volta da 60^{a} hora do teste, exatamente no momento em que a curva da fotocontagem iniciou um incremento mais pronunciado. O desenvolvimento das plântulas sempre foi acompanhado pela intensificação do sinal fotônico, com uma relação quase linear entre eles, como mostrado na figura abaixo. As oscilações restantes, em torno de uma relação completamente linear, indicam que não apenas o desenvolvimento das plântulas, mas também que os invisíveis processos bioquímicos que o acompanham foram evidenciados pela UWPE. Durante todo conjunto de dados a frequência de coerência entre a fotocontagem e o elongamento das plântulas variou entre 0,64 e 0,75.



Figura 11 - Elongamento dos coleóptilos versus curva de contagem fotônica. Série 1. Fonte: [3].

Dados das duas outras series (i.e. Série 2 e 3, nas quais houve um número maior de ensaios de detecção de UWPE consecutivos) são apresentados a seguir, em detalhes. As contagens fotônicas da Série 3 possuem comportamento similar ao descrito para o teste 't10'. Houve um intenso, quase monotônico, incremento das contagens após um decaimento inicial (DL). Entretanto, os subsequentes pontos de inflexões na fotocontagem não se apresentaram tão claramente como no teste 't10'.

A Figura 12 apresenta os dados relativos à Série 2, que são retratados de modo similar ao descrito para o teste 't10' acima, porém, com mais informações: as curvas de correlação cruzada e autocorrelação estão dispostas acima dos trechos de 24 horas correspondentes, os pontos de inflexão da contagem fotônica (i.e. início/término de incrementos, decrementos e/ou platôs) estão marcados com pontos e linhas pontilhadas verticais (cores rosa), para melhor comparação com os momentos da variação gravimétrica, e os coeficientes absolutos de correlação local estão dispostos abaixo dos dados de contagem fotônica.

A curva fotônica em cada um destes testes desenvolve-se ao longo do tempo de modo diferente, ainda que similares em suas componentes periódicas, com variações ocorrendo em (semi)ciclos de 6, 12 ou 18 horas, sempre com coincidentes pontos singulares no perfil gravimétrico (máximos e mínimos locais). O coeficiente de correlação total (Pearson) para cada teste foi sempre maior que r=0,997, quando checadas a correlação total dos pares de pontos entre as inflexões da contagem fotônica e o pico mais próximo no perfil gravimétrico. Incrementos nas curvas fotônicas são separados por platôs com duração base de 6, 12 ou 18 horas.



Figura 12 – Média local do padrão temporal da contagem fotônica, pontos de inflexão (linhas pontilhadas verticais mais pontos, rosa), resíduo local (trechos de 24 horas) relativo ao ajuste linear (linhas vermelhas), perfil da variação gravimétrica local e sua primeira derivada (linhas azuis), nascer e por do sol e da lua (pontos azuis e amarelos, juntos ao eixo horizontal) e fases da lua (linha senóide tracejada). (Painel superior) correlações cruzadas entre parâmetro gravimétrico e fotônico e correlações cruzadas, para cada trecho de 24 horas. (Painel inferior) Coeficiente absoluto de correlação local de Pearson, para o parâmetro gravimétrico *versus* o fotônico. Série 2. Fonte: [3].

O coeficiente absoluto local de correlação (**Equação 7**) para a variação da curva fotônica versus a variação da curva gravimétrica, calculado em janelas de integralização de 500 e 1000 pontos (i.e. janelas de aproximadamente 83 e 166 minutos), foi maior que 0,7 por quase todo período observado (>80%); rapidamente indo de r=0 e retornando para r=1 nos pontos de virada (*turning points*) de um entre os dois parâmetros em questão (**Figura 13**).



Figura 13 – Datagrama da contagem média de frequência dos coeficientes locais de correlação, para janelas de integralização de 500 e 1000 pontos. Série 2. Fonte: [3].

Baixos coeficientes locais de correlação ocorrem apenas nos períodos em que o sinal é constante (platôs), exatamente pela pouca variação do sinal. Como descrito para o teste 't10' acima, as similaridades entre os parâmetros da Série 2 também apresentam alguma coincidências "em fase" e "atrasadas" (com os mesmos quase 90 graus de atraso), com a curva da variação fotônica praticamente acompanhando o perfil gravimétrico, mas, às vezes, representando uma combinação desta variação gravimétrica com sua primeira derivada (i.e. a velocidade da variação gravimétrica).

Durante o segundo dia de germinação (i.e. o primeiro trecho de 24 horas) de todos os testes a curva da variação fotônica apareceu como uma composição da variação gravimétrica e sua primeira derivada, formando um pulso também mais largo que os semiciclos de oscilação, incluindo as harmônicas (assim como observado para o teste 't10'). Os datagramas de correlação evidenciam esta constatação. O teste #2 apresenta, na contagem fotônica, as mesmas componentes periódicas que a variação gravimétrica, além de componentes intermediárias. Este

comportamento foi observado também no último trecho do teste #1, por um curto período de 12 horas. O teste #6 não apresenta nenhuma componente fundamental ao longo do último trecho de 24 horas. O teste #4 merece atenção especial, pois foi realizado logo antes de uma lua cheia (i.e. quando a variação gravitacional foi maior), isto também ocorre durante a lua nova. Como será demonstrado para a Série 3 e também para outros testes nestas duas fases lunares, a contagem fotônica se intensifica mais linearmente nestes casos, como também ocorre durante o verão, e está relacionado ao desenvolvimento mais pronunciado das plântulas.

A Série 3 foi executada durante o verão e outros testes realizados no verão mostraram comportamentos similares. Entretanto, os testes relativos à Série 2 foram realizados fora do verão e estes apresentaram pontos de inflexão pronunciados (i.e. houve incrementos e platôs bem definidos na fotocontagem). O fator de correlação local de Pearson para cada teste da Série 2 foi sempre maior que r = 0,997, com relação aos pares de coordenadas temporais das inflexões de fotocontagem e o pico da variação gravimétrica mais próximo. Incrementos nas fotocontagens foram separados por platôs com intervalos similares de 6, 12 e 18 horas.

Alguns exemplos selecionados da curva δPC, coincidentes com o perfil gravimétrico, oriundos da Série 2 estão representados na **Figura 14a**. O primeiro intervalo de 24 horas (i.e. o 2° dia de germinação) é notável: em todos os testes a variação δPC aparece como uma combinação da curva gravimétrica com sua primeira derivada, formando um pulso mais largo que o semiciclo senoidal; ainda assim, estes primeiros trechos de 24 horas incluem a primeira e maior harmônica periódica, como pode ser checado pelos gráficos de correlação de cada teste. Em todos os testes, as funções de autocorrelação/correlação cruzada entre os resíduos da variação da UWPE (δPC) e as variações gravimétricas (δg) apresentam características semelhantes. Isto é também representado pelas curvas FFT correspondentes (**Figura 14b**). A FFT de δPC apresenta pequenas componentes de 12 horas, as quais são distinguíveis das componentes de 18 horas, em coincidência com uma banda mais fraca no perfil gravimétrico (δg). Novamente, há a presença de uma forte banda de 24 horas, quase sobreposta à correspondente maior componente periódica gravimétrica.



Figura 14 – (a) Seleção de exemplos da contagem fotônica (δPC), onde existem coincidências entre as contagens fotônicas e o perfil gravimétrico (δg) e sua primeira derivada. (b) FFT de toda série temporal apresentada. Série 2. Fonte: [3].

De modo diferente do apresentado para os testes anteriormente, a Série 3 desconsiderou a contagem fotônica para o período relativo às primeiras 24 horas após a embebição (i.e. o período relativo ao decaimento da curva fotônica, ou ainda, à luminescência retardada – DL). Os grãos foram mantidos numa câmara separada por este período inicial de 24 horas. Então, as curvas fotônicas geradas possuem duração de 48 horas (cada teste), durante o segundo e terceiro dias de germinação (com exceção do teste #4, que teve duração de 72 horas). Os testes #18 e #24 não estão representados, devido a falhas técnicas no equipamento de aquisição dos dados. Vide **Figura 15**.

Nem sempre a Série 3 apresentou platôs bem definidos, como os encontrados na Série 2, mas sim a formação de incrementos e decrementos com diferentes inclinações cujos pontos singulares destes eventos coincidem com os máximos e mínimos locais da variação gravimétrica. Esta sincronia é evidenciada pela sobreposição das curvas residuais da contagem fotônica (δ PC) à curva de variação gravimétrica (δ g) e sua primeira derivada. Descrições detalhadas de cada trecho de 24 horas desta série poderiam ser feitas, de modo similar às feitas para Série 2, mas não o serão para favorecer a discussão geral.

Os dados da Série 3 mostram distintas sincronias e conjugações harmônicas (atrasadas ou em fase) em muitos casos, com poucas exceções. Os casos menos aparentes são aquele com um incremento mais monotônico e linear da curva de contagem fotônica (i.e. quando as curvas residuais apresentam apenas diminutas variações). Ainda nestes casos, estas pequenas variações na curva residual (δPC) coincidem com pontos singulares do perfil gravimétrico e também as componentes periódicas são similares ou mesmo idênticas (como será detalhado mais adiante com base no algoritmo FFT).



Figura 15 - Média local do padrão temporal da contagem fotônica, resíduo local (trechos de 24 horas) relativo ao ajuste linear (linhas vermelhas), perfil da variação gravimétrica local e sua primeira derivada (linhas azuis), nascer e por do sol e da lua (pontos azuis e amarelos, juntos ao eixo horizontal) e fases da lua (linha senóide tracejada). (Painel superior) correlações cruzadas entre parâmetro gravimétrico e fotônico e correlações cruzadas. nara cada trecho de 24 horas. Série 3. Fonte: 131.

A Série 3 é especialmente importante, uma vez que os dados foram acumulados em ensaios sucessivos por 2 meses, durante o verão (entre 02/01/2008 a 26/02/2008), estendendo-se por quase dois ciclos lunares (i.e. ao longo de quatro ciclos de variação na amplitude da variação gravimétrica). Os dados da Série 3 apresentam sincronismos distintos e acoplamentos harmônicos (atrasados ou em fase) em quase todos os casos. Mesmo em casos menos distintos de oscilação (i.e. com um incremento linear, monotônico, da fotocontagem) as pequenas variações no perfil δPC coincidem com pontos singulares no perfil gravimétrico δg e, também, as componentes periódicas de ambas as variáveis são bastante similares, como evidenciado na **Figura 16**, pela sobreposição das curvas FFT.



Figura 16 – A transformada rápida de Fourier (FFT) para os dados da variação da contagem fotônica (δPC) e da aceleração gravimétrica (δg). Fonte: [3].

Nesta Série 3 (**Figura 16**), mais extensa, a banda de 12 horas novamente está ausente nos dados FFT da variação da fotocontagem (δ PC), porém está presente nos dados de variação gravimétrica (δ g). Mais uma vez, a componente de 24 horas é quase coincidente. Além disso, há uma notável coincidência entre as outras bandas de frequências obtidas a partir dos dados da fotocontagem e o perfil gravimétrico (indicadas por linhas tracejadas verdes verticais). Elas são especialmente pronunciadas às 21,8 e 28 horas, quando a coincidência parece perfeita.

A Série 3 apresenta maiores e mais abruptos incrementos na contagem fotônica logo antes e após luas novas e luas cheias. Estes dois períodos foram acompanhados por uma grande taxa de desenvolvimento das plântulas, como demonstrado na **Figura 17**. Esta figura é um diagrama

polar de 360° tanto para o vigor da germinação (aferido pela soma dos comprimentos das porções foliar e radicular) quanto para o total de fotocontagem, em relação ao tempo total do teste ao longo das fases lunares. A escala temporal está representada pelo incremento do gradiente de coloração de ambas as curvas. É possível perceber (**Figura 17**) que o total de fotocontagem aumenta na mesma taxa em que aumenta o desenvolvimento das plântulas, com picos em 20° (logo após a lua cheia), 125° (quarto minguante), 210° a 230° e 290° a 320° (início do quarto crescente). Vale destacar a grande variação nos pontos que coincidem com as mínimas médias de desenvolvimento (i.e. próximo aos dias da lua minguante – entre 40° e 100° – e da lua nova – entre 160° e 190°). Nestes momentos, as amostras de sementes (nas triplicatas) germinam bem, porém, muitas plântulas apresentam desenvolvimento tímido, portanto, reduzindo o desenvolvimento médio e ampliando a variância.





A variação no desenvolvimento das plântulas, em relação às fases lunares, é comumente considerada como uma constatação ingênua e supersticiosa [60]. Entretanto, essa variação foi também apresentada em experimentos de longo termo por Kolisko e Kolisko [94]. Nossas observações tendem a confirmar as descobertas dos Kolisko.

Com base nos dados obtidos a partir dos dados descritos acima, que sustentam matemática e estatisticamente a existência de coincidências e correlações entre o perfil de emissão fotônica e o

padrão oscilatório de variação da atração gravitacional local, serão expostos adiante resultados de uma quarta série de testes. Estes foram realizados com a intenção de colocar à prova estas conclusões através da realização de testes análogos, porém com a prerrogativa de um arranjo metodológico que possibilitasse a observação da influência de diferentes padrões de variação gravimétrica sob uma mesma amostra de grãos. Deste modo, procedeu-se uma análise comparativa transcontinental, como segue.

A **Figura 18a** apresenta as subséries temporais de contagens de fótons (PC) para cada um dos testes realizados na Série 4. A variação (δPC) em cada teste foi estimada através do método descrito (i.e. por meio do cálculo da variação dos dados no entorno de seus ajustes lineares, em trechos de 24 horas; descartados os dados relativos ao decaimento inicial da curva, DL, considerados apenas os dados após o primeiro incremento do sinal). As curvas δPC foram então comparadas com a variação da aceleração gravimétrica (δg) relativa ao local da realização de cada ensaio. As análises FFT das séries temporais δPC e δg estão representadas nos subpainéis 'b', 'c' e 'd' da **Figura 18** que, respectivamente, apresenta os dados de detecção de UWPE nas subséries 'DE@DE' (grãos alemães, na Alemanha), 'BR@DE' (grãos brasileiros, na Alemanha) e 'BR@BR' (grãos brasileiros, no Brasil).

Os dados de FFT tornam claro que, com respeito a ambas as subséries realizadas em seus locais de origem (i.e. as subséries 'DE@DE' e 'BR@BR'), as oscilações δPC da UWPE tem mesmas componentes das respectivas oscilações δg da variação gravimétrica. As componentes periódicas da UWPE possuem frequências similares, entretanto, esta similaridade é mais pronunciada em componentes próximas às 24 horas para a subsérie 'DE@DE' (Figura 18b) e em 14 horas para a subsérie 'BR@BR' (Figura 18d). A subsérie 'BR@DE', de grãos brasileiros transportados à Alemanha, apresenta padrões temporais mais complexos; seu padrão de emissão fotônica é semelhante ao padrão encontrado em seu equivalente da subsérie 'DE@DE', de grãos alemães, apenas no primeiro e no sétimo (último) teste realizado. Nos testes restantes (i.e. do segundo ao sexto teste) são encontradas componentes periódicas de 12.4, 18, 23 e 29 horas; análogas à marcação de duas componentes harmônicas interferentes com base de 12 horas. É desta última harmônica que as adicionais componentes de 6 horas podem ser derivadas (Figura 18c). Brown demonstrou a ocorrência de ritmos semicircadianos similares de 6 e 12 horas em séries temporais de consumo de oxigênio por tubérculos de cenouras e batatas [95]. Estas e outras

40

componentes rítmicas foram também reconhecidas por Ziegler [96], em 2010, num estudo laboratorial obre a migração vertical de microfaunas em colunas d'água; um processo rítmico aparentemente regulado pela oscilação lunissolar periódica e mediado por fatores como as marés, o fotoperíodo e outras variáveis ambientais [97].



Figura 18 – (a) UWPE de plântulas de trigo do Brasil ('BR@DE') e da Alemanha ('DE@DE'), germinadas na Alemanha, e de plântulas do Brasil ('BR@BR'), germinadas no Brasil; marcação dos pontos de inflexão do perfil UWPE (pontos e linhas verticais rosas). Curvas residuais da contagem fotônica em trechos de 24 horas sobrepostas às curvas das variações gravimétricas locais. Fases da lua (linha senóide tracejada e pontos pretos). (b-d) Comparações entre as respectivas curvas FFT. Série 4. Fonte: [4].

As componentes harmônicas adicionais na contagem de fótons (PC) das plântulas do Brasil transportadas à Alemanha ('BR@DE') podem sugerir que um curto período de aclimatação ocorreu no período do último teste realizado, visto que no último teste a plântula brasileira apresentou ritmo semelhante ao encontrado na plântula da Alemanha ('DE@DE'). Isto pode significar que houve uma aclimatação, ou uma recuperação, no material biológico, durante o período intermediário (i.e. entre o segundo e sexto dias), que se manifesta como uma resposta biológica alterada à variação gravimétrica. Para determinar quanto tempo pode durar este período adaptativo, que, como presumível, está relacionado com o transporte dos grãos do hemisfério sul para o norte e de uma localização a oeste para uma mais a leste, e também para se descobrir se esta é uma característica da semente ou apenas condicionada às plântulas delas desenvolvidas (i.e. se é uma característica inerente do organismo ou das condições às quais ele se desenvolve) são desejáveis maiores estudos. Além disso, seria interessante verificar os resultados do translado recíproco (i.e. de grãos alemães transportados e observados no Brasil) e também estudar a influência das fases da lua nos resultados, pois, como já descrito acima, existem relevantes relações entre estes dois parâmetros. No caso presente, os testes começaram três dias antes das luas cheias em ambos os hemisférios. Trabalho publicado em 1966 registrou mudancas sutis na atividade geomagnética da Terra a este período do mês lunar [98], em conjunto com correspondentes alterações no campo eletromagnético atmosférico [99].

Por fim, abaixo são apresentados resultados inéditos, produto da análise das transformadas rápidas de Fourier realizada dia a dia (a cada um dos sete testes). Como se pode observar na **Figura 19** a seguir, é nitidamente confirmada a noção de adaptação do padrão de emissão fotônica às condições ambientais locais (i.e. ao perfil de variação gravimétrica local). Nos três primeiros dias analisados há uma tendência das componentes temporais do parâmetro fotônico em acompanhar as componentes da variação gravimétrica relativa ao Brasil (i.e. o local de origem dos grãos), fato que se torna evidente a partir da observação da maior componente de variação do perfil fotônico (por volta das 24 horas) e pelos distúrbios observados, abaixo das 18 horas, no segundo dia. Portanto, entre o primeiro e o segundo dias, a componente de 24 horas do resíduo fotônico claramente está junto com a componente equivalente de Limeira e há sobreposição das componentes de 12 horas dos dois perfis de variação gravimétrica (i.e. os do Brasil e da Alemanha) que produz efeito no resíduo fotônico. No terceiro dia, inegavelmente a tendência do perfil fotônico se mantém em acompanhar a gravimetria brasileira, sendo esta muito

mais relevante que a variação gravimétrica alemã. Entre o quarto e sétimo dias, a componente maior do resíduo fotônico vai se deslocando em direção à componente de 24 horas da Alemanha e ali se estabelece, consolidando indícios da aclimatação mencionada. Neste sétimo dia a componente maior do resíduo fotônico está em sincronia com a maior componente alemã, aparentando estar sob pouca ou nenhuma influência relevante da variação gravimétrica observada no Brasil.



Figura 19 – Comparação entre as curvas FFT dos sete testes realizados na Série 4.

5. CONCLUSÃO

A luminosidade espontânea emitida a partir da germinação de grãos de trigo, realizada em câmara escura, foi investigada ao longo de dezenas de testes separados. Como foi revelado pelo método analítico (i.e. por ajustes lineares feitos em trechos de 24 horas ao longo das séries temporais de dados e pelas curvas residuais obtidas), existem oscilações no perfil da UWPE que aparentam estar altamente sincronizadas com os ciclos de variação gravimétrica. Altos e significantes coeficientes de correlação ocorreram não somente em relação às correlações locais, mas também em relação à correlação total entre os pontos de inflexão do perfil da fotocontagem e seus extremos da variação gravimétrica mais próximos. O padrão das curvas residuais da fotocontagem (i.e. δ PC), quando testadas pelo algoritmo FFT, apresentaram componentes muito similares àquelas encontradas no perfil de variação gravimétrica (i.e. δ g).

As gravações em vídeo, obtidas em paralelo a uma série de experimentos de detecção de UWPE, corroboram com a relação proposta entre o desenvolvimento das plântulas e o padrão de emissão luminosa espontânea. Tendo em vista que a emissão luminosa espontânea está associada com a produção de radicais de O2, é possível que reações enzimáticas (e.g. via catalases, peroxidases etc.) que liberam espécies de oxigênio, como as que ocorrem com respeito à catalase envolvida na biossíntese das paredes celulares, sejam instrumentais para a iniciação deste fenômeno. O contínuo carregamento de novas nanomáquinas celulossomas [100], que auxiliam na desconstrução e construção da parede celular das plantas e seus carboidratos, ao longo da membrana plasmática, talvez tenham um papel neste processo. Entretanto, a síntese das paredes celulares é apenas um aspecto presente no desenvolvimento dos sistemas foliar e radicular. Um segundo aspecto importante do sistema de desenvolvimento das plântulas é a passagem de água para dentro das células, a fim de manter o turgor requerido para expansão celular. Novamente, fenômenos ligados com as dinâmicas das paredes celulares são necessários, neste caso para a passagem da água. Aspectos rítmicos deste trânsito de água nas células já foram discutidos, em relação à força lunissolar gravitacional e ao elongamento das raízes [7]. Outra possibilidade é que fótons são gerados nas mitocôndrias e são enviados às regiões externas das células por meio de microtúbulos [53]. Todas estas possíveis origens para a UWPE em células e tecidos de plantas não são mutuamente excludentes e, por isso, a UWPE pode apresentar uma avaliação composta das missões de todos os vários processos pelos quais os fótons podem ser derivados e apresentados de modo observável no exterior das plântulas.

Com relação à inferência sobre a noção de aclimatação, feita com base nos dados obtidos dos testes de comparação transcontinental, deve-se considerar que fatores relacionados com o transporte dos grãos precisam ser ajustados. Por exemplo, realização do transporte dos grãos em voo comercial, do Brasil para a Alemanha, pode ter produzido distúrbios nos grãos brasileiros. Alterações na pressão barométrica durante o voo podem originar estes distúrbios; é sabido que variações na pressão barométrica influenciam o metabolismo de sementes, mesmo quando elas estão dormentes [101]. Outro fator possivelmente gerador de distúrbios pode ser a incidência de raios cósmicos nas altas altitudes durante o voo, caso em que esta adaptação pode envolver a reparação dos danos causados pela radiação cósmica nas organelas celulares, como núcleos e a mitocôndrias dentro do embrião germinativo e de tecidos do entorno. Traços destes eventos reparadores podem ser expressos no padrão de emissão luminosa das plântulas em germinação. Neste sentido, é interessante notar que os dias em que os grãos foram transportados por ar coincidem com um período de forte perturbação geomagnética, como é evidenciado pelos valores de parâmetros que aferem estes distúrbios geomagnéticos (i.e. pelos valores dos índices Ap, Kp e Polar Cap (em Thule, Groelândia) (Anexo 5 - Figura A.6). Para maiores detalhes sobre a relação entre estes índices e o desenvolvimento de plantas vide [102]. Também se sabe que desvios nestes índices em direção a distúrbios geomagnéticos mais intensos são acompanhados de incrementos no fluxo de raios cósmicos [103] (como demonstrado para o período experimental -Anexo 5 - Figura A.7) e pela produção de nêutrons na atmosfera [103]. Raios cósmicos já foram relacionados com anomalias no desenvolvimento de anéis de árvores [104] e podem também provocar mudanças no metabolismo e na estrutura de sementes [105]. É mera coincidência que os grãos de trigo tenham sido transportados em dias de distúrbios cosmogeofísicos.

Deste modo, a questão que surge é se o padrão de perturbações encontrado no ritmo da emissão luminosa dos grãos de trigo, nos dias seguintes a estes eventos geofísicos, quando as perturbações geomagnéticas e raios cósmicos estabeleceram um padrão menos perturbado (Anexo 5 – Figuras A.6 e A.7), são também meras coincidências ou se elas representam uma relação causal entre esta resposta dos grãos e o evento geofísico imediatamente precedente.

Os resultados finais (**Figura 19**) são conclusivos quanto ao conceito de aclimatação das plântulas às condições locais de variação gravimétrica. Esta afirmação é sustentada pela forte tendência do perfil de emissão fotônica em se deslocar, ao longo do tempo, de uma influência marcante das componentes temporais de oscilação do local de origem dos grãos (i.e. Brasil) para a inequívoca influência das componentes de seu local de destino (i.e. Alemanha).

Os resultados parecem validar a ideia proposta de que um relógio cósmico (i.e. um relógio externo), que regula as atividades de organismos vivos, atua constantemente ao longo de todo dia solar. Isto ocorre mais evidentemente em plantas, cujos biorritmos são propostos como regulados por relações gravitacionais lunissolares ou orbitais [56]. Acreditamos que um sistema deste tipo possa ser regulador dos processos de UWPE que observamos no presente caso.

Como apresentado aqui, o procedimento de detecção de UWPE parecer ser um método rápido e não invasivo para avaliar o desenvolvimento e crescimento de plântulas, em tempo real. É não apenas uma ferramenta útil para testes que envolvam o desenvolvimento de plântulas e a resposta associada a condições de estresse ou toxicidade, mas é também uma interessante adição às ferramentas metodológicas disponíveis para estudos da cronobiologia.

Com base nos conclusivos resultados obtidos, fica clara a importância da obtenção de dados empíricos dos parâmetros ambientais potencialmente relevantes para futuras observações e comparações. Parâmetros como temperatura, umidade, pressão barométrica, concentração de gases envolvidos com a respiração das plantas e, até mesmo, a própria variação gravimétrica e de outros parâmetros geomagnéticos são de grande importância para o estudo. Não apenas a obtenção de dados sobre estes parâmetros (e outros) deve ser considerada, mas também a taxa de resolução destes dados é relevante e deve ser tão maior quanto possível; preferencialmente numa taxa de aquisição de dados igual às taxas de aquisição dos dados fotônicos (i.e. um ponto a cada 10 segundos). Alguns dados, como os parâmetros de variações geomagnéticas, em geral adquiridos próximos aos polos terrestres, devem ser obtidos em parceria com laboratórios capacitados e de confiança. A obtenção de dados é um elemento limitante para este tipo de estudo, não apenas pelos custos envolvidos, como principalmente pelo caráter sensível e em desenvolvimento dos métodos matemáticos estabelecidos.

Com relação ao método de análise dos dados, pode ser relevante implementar algoritmos matemáticos robustos, em especial no domínio do tempo, como por exemplo, com o advento de periodogramas para visualização das componentes temporais também no domínio do tempo [106].

Por fim, pode ser de extrema relevância para a continuidade dos estudos apresentados reproduzir os testes de comparações transcontinentais, num número maior de localidades simultaneamente, dedicando esforços logísticos para conduzir observações nos quatro quadrantes do globo terrestre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GALLEP, C. M. et al. Rhythmicities in the spontaneous photon emission of wheat seedlings. SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference, 2007. 713-715.
- MORAES, T. A. et al. Day- and Month-like Rhythms of Biophoton Emission in Seedlings. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium, Moscou, 5P6, 2009. 1078-1079.
- MORAES, T. A. et al. Spontaneous ultra-weak light emissions from wheat seedlings are rhythmic and synchronized with the time profile of the local gravimetric tide. Naturwissenschaften, 99, 2012. 465-472.
- GALLEP, C. M. et al. Coincidence of biophoton emission by wheat seedlings during simultaneous, transcontinental germination tests. Protoplasma, 2012. ISSN 10.1007/s00709-012-0447-x.
- 5. DEVARAJ, B.; USA, M.; INABAA, H. Biophotons: ultraweak light emission from living systems. Current Opinion in Solid State and Materials Science, 2, n. 2, 1997. 188-193.
- POPP, F. A. Biophoton Background, experimentals results, theorical approach and applications. In: POPP, F. A.; BELOUSSOV, L. V. Integrative Biophysics: Biophotonics. [S.1.]: Springer, 2003. p. 387-438.
- 7. BARLOW, P. W.; JOACHIM, F. Lunisolar tidal force and the growth of plant roots, and some other of its effects on plant movements. **Annals of Botany**, 110, 2012. 301-318.
- 8. BROWN, F. A.; WEBB, H. M.; BENNETT, M. F. Proof for an endogenous component in persistent solar and lunar rhythmicity in organisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 41, n. 2, 1955. 93-100.
- 9. LAFA. Vídeo 't10'. Disponivel em: http://www.ft.unicamp.br/~gallep/Gerais/t10.mp4).>.

Acesso em: 17 dez. 2012.

- KOBAYASHI, M.; INABA, H. Photon statistics and correlation analyses of ultraweak light originating from living organisms for extraction of biological information. Applied Optics, 39, n. 1, 2000. 183-192.
- SLAWINSKI, J. E. A. Stress-induced photon emission from perturbed organisms. Experientia, 48, n. 11-12, 1992. 1041-1058.
- COLLI, L.; FACCHINI, U. Light emission by germinating plants. Nuovo Cimento, 12, 1954. 150–153.
- CIFRA, M. Measurement of spontaneous photon emission from the humam body: technical aspects, parameters, time and temperature dependent fluctuations of photon emission.
 Master Degree Thesis, University of Žilina, Slovak Republic, 19 maio 2006.
- POPP, F. A.; LI, K. H.; GU, Q. Recent advances in Biophoton research and its applications.
 World Scientific Publishing Co Inc, Singapore, 1992.
- KOBAYASHI, M. Two-dimensional Imaging and spatiotemporal analysis of biophoton -Technique and application for biomedical imaging. Biophotonics - Optical Science and Engineering for the 21st Century, 2005. 155-172.
- 16. MUSUMECI, F. E. A. Discrimination between normal and cancer cells by using spectral analysis of delayed luminescence. **Applied Physics Letter**, 86, 2005. 153902.
- VAN WIJK, R.; VAN AKEN, J. M. Photon emission in tumor biology. Experientia, 48, n. 11-12, 1992. 1092-1100.
- KOBAYASHI, M. E. A. In vivo imaging of ultraweak photon emission from a rats brain correlated with cerebral energy metabolism and oxidative stress. Neuroscience Research, 34, n. 2, 1999. 103-113.

- 19. LAAGER, F. E. A. Effects of exercises on biophoton emission of the wrist. European Journal of Applied Physiology, 102, n. 4, 2008. 463-469.
- HAGENS, R. et al. Non invasive monitoring of oxidative skin stress by ultraweak photon emission measurement. II: Biological validation on ultraviolet A-stressed skin. Skin Research and Technology, 14, n. 1, 2008. 112-120.
- KHABIRI, F. E. A. Non invasive monitoring of oxidative skin stress by ultra weak photon emission (UPE)-measurement. I: mechanisms of UPE of biological materials. Skin Research and Technology, 14, n. 1, 2008. 103-111.
- DOUKI, T.; SETLOW, B.; SETLOW, P. Photosensitization of DNA dipicolinic acid, a major component of spores of Bacillus species. Photochemical & Photobiological Sciences, 4, 2005. 591-597.
- 23. WONDRAK, G. T. Let the Sun shine: mechanisms and potential for therapeutics in skin photodamage. **Current Opinin on Investigational Drugs**, 8, n. 5, 2007. 390-400.
- BENNETT, M.; MEHTA, M.; GRANT, M. Biophoton imaging: A nondestructive method for assaying R gene responses. Molecular Plant-Microbe Interactions, 18, n. 2, 2005. 95-102.
- 25. TRUSHIN, M. V. Studies on distant regulation of bacterial regulation of growth and light emission. **Microbiology**, 149, n. 2, 2003. 363-368.
- 26. LAAGER, F.; SOH, K.-S. Effects of carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazone on yeast biophoton emission. Journal of Korean Jugshin Science, n. 12, 2007. 1-8.
- 27. SANTOS, S. R. D. Detecção de emissão espontânea de luz em ensaios de colimetria aplicados ao monitoramento de efluentes sanitários. ed. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícolal) Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2011.

- SANTOS, S. R. D. et al. Evaluation of Cryptosporidium spp and Giardia spp viability using CFDASE and ultraweak photon-emission. In: Society of Environmental Toxicology and Chemistry Asia Pacific Annual Meeting, Kumamoto, 2012.
- 29. POPP, F. A.; YAN, Y. Delayed Luminescence of Biological Systems in Terms of Coherent States. Physics Letters A, 293, n. 1-2, 2002. 93-97.
- BAJPAI, R. P. Coherent nature of the radiation emitted in delayed luminescence of leaves. Journal of Theoretical Biology, 198, n. 3, 1999. 287-299.
- 31. BRIZHIK, L. S. et al. The role of water in the information exchange between the components of an ecosystem. **Ecological Modelling**, 222, n. 1, 2011. 2869-2877.
- GALLEP, C. D. M.; SANTOS, S. R. D.; MORAES, T. A. Biophoton of Sprouts as Indicator of Seed Acclimatization. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium, Moscou, 5P6, 2009. 1074-1075.
- VAN WIJK, E. P. A.; LÜDTKE, R.; VAN WIJK, R. Differential effects of relaxation techniques on ultraweak photon emission. The Journal of Alternative and Complementary Medicine, 14, n. 3, 2008. 241-250.
- 34. APHALO, P. J. Light signals and the growth and development of plants-a gentle introduction. **The Plant Photobiology Notes**, 2001. 1-34.
- CHEN, W. et al. Rapid determination of rice seed vigour by spontaneous chemiluminescence and singlet oxygen generation during early imbibition. Luminescence, 18, 2003. 19-24.
- 36. CHAO, B. A study on ultra-weak photon-counting imaging of rice seeds at the stage of germination. Acta Biophisica Sinica, 4, n. 14, 1998. 773-776.
- YOSHINAGA, N. et al. Ultraweak photon emission from herbivory-injured maize plants.
 Naturwissenschaften, 93, n. 1, 2006. 38-41.

- 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.
- YAN, Y. Biophoton Emission and Delayed Luminescence of Plants. Biophotonics, 2005. 195-204.
- 40. POPP, F. A. E. A. Biophoton emission. New evidence for coherence and DNA as source.Cell Biophysics, 6, n. 1, 1984. 33-52.
- 41. POPP, F. A. et al. Physical aspects of biophotons. Experientia, 44, n. 7, 1988. 576-585.
- 42. NIGGLI, H. J. The cell nucleus of cultured Melanoma cells as a source of ultraweak photon emission. Naturwissenschaften, 83, n. 1, 1996. 41-44.
- CHWIROT, W. B. Ultraweak photon emission and anther meiotic cycle in Larix europaea.
 Experientia, 44, n. 7, 1988. 594-599.
- 44. BAJPAI, R. P. Parameter characterizing spontaneous biophoton signal as a squeezed state in a sample of Parmelia tinctorum. Biophotonics Optical Science and Engineering for the 21st Century, 2005. 125-140.
- 45. MAKINO, T. Biophoton emission and defense systems in plants. Biophotonics Optical Science and Engineering for the 21st Century, 2005. 205-218.
- VOEIKOV, V. L. Biophotonic analysis of spontaneous self-organizing oxidative process in aqueous systems. Biophotonics - Optical Science and Engineering for the 21st Century, 2005. 141-154.
- 47. KAGEYAMA, C. E. A. Photon emission from rive cells elicited by Nacetylchitooligosaccharide are generated through phosopholipid signaling in close association with the production of reactive oxygen species. Plant Physiology and Biochemistry, 44, n. 11-12, 2006. 901-909.

- KOCHEVAR, I. E. Single oxygen signaling: From intimate to global. Science Signaling -The Signal Transduction Knowledge Environment, 221, n. 7, 2004.
- 49. EPE, B. DNA damage profiles induced by oxydizing agents. Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, 127, 1996. 223-249.
- 50. BIRTIC, S. et al. Using spontaneous photon emission to image lipid oxidation patterns in plant tissues. **Plant Journal**, 67, n. 6, 2011. 1103-1115.
- 51. MEI, W. P. Ultraschwache Photoemission bei synchroniserten Hefezellen in Abhängigkeit vom Zellteilungszyklus. Fachbereich Biologie Universität Hannover, 1991.
- 52. WATANABE, H. E. A. Weak chemiluminescence of bilirubin and its stimulation by Aldehydes. Journal of Bioluminescence and Chemiluminescence, 7, n. 1, 1992. 1-11.
- 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.
- MORAES, T. A. et al. Biophoton Emission in Wheat Seedlings with Potassium Dichromate. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium. Moscou. 2009. p. 1078-1079.
- 55. SCHOLKMANN, F. et al. Using multifractal analysis of ultra-weak photon emission from germinating wheat seedlings to differentiate between two grades of intoxication with potassium dichromate. Journal of Physics: Conference Series (Online), 329, n. 1, 2011. 012020.
- 56. BARLOW, P. W. Foreword. In: KLEIN, G. Farewell to the internal clock; A contribution in the field of chronobiology. New York: Springer, 2007. p. vii-xix.
- 57. BARLOW, P. W. Living plant systems: how robust are they in the absence of gravity? Advances in Space Research, 23, n. 12, 1999. 1975-1986.

- PALMER, J. D. The Living Clock The Orchestrator of Biological Rhythms. Oxford: Oxford University Press, 2002.
- ASSMANN, R. W. et al. Energy calibration with resonant depolarization at LEP in 1993.
 CERN Publication SL/94-61 (Paper presented at 4th Conference (EPAC 94), Londres, p. 935-937, 1994.
- 60. KOLLERSTROM, N.; STAUDENMAIER, G. Evidence for lunar-sidereal rhythms in crop yield: A review. **Biological Agriculture and Horticulture**, 19, n. 3, 2001. 247-259.
- 61. ZÜRCHER, E. Lunar rhythms in forestry traditions—lunar-correlated phenomena in tree biology and wood properties. Earth, Moon, and Planets, 85-86, n. 0, 2001. 463-478.
- 62. ZÜRCHER, E. et al. Tree stem diameters fluctuate with tide. Nature, 392, 1998. 665-666.
- 63. KOPPÁN, A.; SZARKA, L.; WESZTERGOM, V. Annual fluctuation in amplitudes of daily variations of electrical signals measured in the trunk of a standing tree. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Series III Sciences de la Vie, 323, n. 6, 2000. 559-563.
- BROWN, F. A.; CHOW, C. S. Lunar-correlated variations in water uptake by bean seeds. The Biological Bulletin, 145, n. 2, 1973. 265-278.
- SPRUYT, E.; VERBELEN, J. P.; GREEF, J. A. D. Expression of circaseptan and circannual rhythmicity in the imbibition of dry stored bean seeds. Plant Physiology, 84, n. 3, 1987. 707-710.
- ZÜRCHER, E. et al. Reversible Variations in Some Wood Properties of Norway Spruce (Picea abies Karst.), Depending on the Tree Felling Date. In: NOWAK, K. I.; STRYBEL, H. F. Spruce. Hauppauge: Nova Science Publishers, Inc., 2012. p. 75-94. ISBN 978-1-61942-494-4.
- 67. ZÜRCHER, E.; SCHLAEPFER, R.; CONEDERA, M. Looking for differences in wood properties as a function of the felling date: lunar phasecorrelated variations in the drying

behavior of Norway Spruce (Picea abies Karst.) and Sweet Chestnut (Castanea sativa Mill.). **Trees**, 24, n. 1, 2010. 31-41.

- SEVANTO, S. Tree Stem Diameter Change Measurements and Sap Flow in Scots Pine. Helsink: Faculdade de Ciências da Universidade de Helsink, 2003.
- 69. HOLZKNECHT, K.; ZÜRCHER, E. Tree stems and tides A new approach and elements of reflexion. Schweizerische Zeitschrift fuer Forstwesen, 157, n. 6, 2006. 185-190.
- 70. BARLOW, P. W.; MIKULECKY, M.; STRESTÍK, J. Tree-stem diameter fluctuates with the lunar tides and perhaps with geomagnetic activity. **Protoplasma**, 247, 2010. 25-43.
- 71. YAZDANBAKHSH, N.; FISAHN, J. Analysis of Arabidopsis thaliana root growth kinetics with high temporal and spatial resolution. **Annals of Botany**, 105, n. 5, 2010. 783-791.
- 72. BUNNING, E. Endogenous Rhythms in Plants. Annual Review of Plant Physiology, 7, 1956. 71-90.
- SCHAD, W. Lunar Influence On Plants. Earth, Moon, and Planets, 85-86, n. 0, 1999. 405-409.
- CUMMING, B. G.; WAGNER, E. Rhythmic Processes in Plants. Annual Review of Plant Physiology, 19, 1968. 381-416.
- STUTZ, A. M. Lunar-Day Variations in Spontaneous Activity of the Mongolian Gerbil.
 Biological Bulletin, 146, n. 3, 1974. 415-423.
- WADDINGTON, C. H. The strategy of the genes. A discussion of some aspects of theoretical biology. Londres: Allen and Unwin, 1957.
- 77. BARLOW, P. W. et al. Leaf movements of bean plants and lunar gravity. **Plant Signalling and Behavior**, 3, n. 12, 2008. 1083-1090.

- CHADWICK, D. J.; ACKRILL, K. Circadian Clocks and Their Adjustment. 1. ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1995. ISBN 0-471-94305-3.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Regras para análises de sementes. 1. ed. Brasil: Ministério da Agricultura, 2009. 365 p.
- SONY HandyCam DCR-SR60. Disponivel em: http://esupport.sony.com/US/perl/model-home.pl?mdl=DCRSR60. Acesso em: 12 dez. 2012.
- GALLEP, C. M.; SANTOS, A. M. O.; CONFORTI, E. Low-cost, simplified systems for photon-counting measurements in biological samples. International Microwave and Optoelectronics Conference, Brasília, 2005. 188-191.
- BERTOGNA, E. et al. Compact, automatic set-up for ultra-weak photon emission measurements in organisms. Microwave & Optoelectronics Conference (IMOC), 2011 SBMO/IEEE MTT-S International, Natal, 1, 2011. 449-452.
- LAFA-DEBR. Disponivel em: <www.ft.unicamp.br/gallep/Gerais/DEBR.pdf>. Acesso em: 13 dez. 2012.
- 84. LONGMAN, I. M. Formulas for computing the tidal accelerations due to the moon and the sun. Journal of Geophysical Research, 64, n. 12, 1959. 2351-2355.
- 85. ORIGINLAB. Algorithm (Smooth). Disponivel em: <http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/UserGuide/Algorithm_(Smooth).htm l>. Acesso em: 12 dez. 2012.
- ORIGINLAB. Algorithm (Linear Fit). Disponivel em: ">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm>">http://www.originlab.com/www.helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm">http://www.originlab.com/www.helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm">http://www.originlab.com/www.helponline/Origin/en/programming/mergedProjects/X-Function/X-Function/FitLR.html#Algorithm">http://www.originlab.com/www.helponline/Origin/en/projects/X-Function/X-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y-Function/Y
- 87. PAPADIMITRIOU, S.; SUN, J.; YU, P. S. Local correlation tracking in time series. International Conference on Data Mining, 2006. 456-465.

- 88. ORIGINLAB. Algorithm (Interpolate/ExtrapolateY from X). Disponivel em: http://www.originlab.com/www/helponline/origin/en/userguide/Interpolate_Extrapolate_Y from_X.html#Algorithm>. Acesso em: 12 dez. 2012.
- ORIGINLAB. Fast Fourier Transform. Originlab. Disponivel em: http://www.originlab.com/www/helponline/Origin/en/Category/Fast_Fourier_Transform_(FFT).html>. Acesso em: 12 dez. 2012.
- 90. COOLEY, J. W.; LEWIS, P. A. W.; WELCH, P. D. The Fast Fourier Transform and Its Applications. Education, IEEE Transactions on, 12, n. 1, 1969. 27-34.
- 91.
 ORIGINLAB.
 Algoritmo
 (Pearson).
 Disponivel
 em:

 <http://www.originlab.com/www/helponline/origin/en/UserGuide/Algorithm_(corrcoef).htm</td>
 l>.
 Acesso em: 15 dez. 2012.
- 92.
 ORIGINLAB.
 Algorithm
 (Correlation).
 Disponivel
 em:

 <http://www.originlab.com/www/helponline/origin/en/UserGuide/Algorithm_(Corr1).html>
 . Acesso em: 12 dez. 2012.
- 93. REA, M. S. Biophotonics: Circadian photonics. Nature Photonics, 5, 2011. 271-272.
- 94. KOLÍSKO, E.; KOLISKO, L. N. Agriculture of Tomorrow. Stroud: Kolisko Archive Publications, 1939.
- 95. BROWN, F. A.; FREELAND, R. O.; RALPH, C. L. Persistent rhythms of O2-consumption in potatoes, carrots and the seaweed, Fucus. **Plant Physiology**, 30, n. 3, 1955. 280-292.
- ZIEGLER, T. A.; COHEN, J. H.; FORWARD, R. B. Jr. Proximate control of diel vertical migration in Phyllosoma larvae of the Caribbean spiny lobster Panulirus argus. The Biological Bulletin, 219, n. 3, 2010. 207-219.
- 97. COHEN, J. H.; FORWARD, R. B. Zooplankton diel vertical migration a review of proximate control. In: GIBSON, R. N.; ATKINSON, R. J. A.; GORDON, J. D. M.
Oceanography and Marine Biology - An Annual Review. [S.1.]: CRC Press, v. 47, 2009. p. 77-109. ISBN 978-1-4200-9422-0.

- 98. BELL, B.; DEFOUW, R. J. Dependence of the lunar modulation of geomagnetic activity on the celestial latitude of the Moon. Journal of Geophysical Research, 71, n. 3, 1966. 951.
- 99. MEHRA, P. Lunar phases and atmospheric electric field. Advances in Atmospheric Sciences, 6, n. 2, 1989. 239-246.
- FONTES, C. M.; GILBERT, H. J. Cellulosomes: highly efficient nanomachines designed to deconstruct plant cell wall complex carbohydrates. Annual Review of Biochemistry, 79, 2012. 655-681.
- GRAVIOU, E. Analogies between rhythms in plant material, in atmospheric pressure, and solar lunar periodicities. International Journal of Biometeorology, 22, n. 2, 1978. 103-111.
- BARLOW, P. W. Moon and Cosmos: Plant Growth and Plant Bioelectricity. In: VOLKOV,
 A. G. Plant Electrophysiology Signaling and Responses. London: Springer, 2012. p. 249-280. ISBN 978-3-642-29110-4.
- 103. BELOV, A. V. et al. Monitoring of cosmic rays in real time and information system of the Moscow cosmic ray station. European Space Agency (ESA) Workshop on Space Weather, Proceedings ESA, Noordwijk, 1998.
- DENGEL, S.; AEBY, D.; GRACE, J. A relationship between galactic cosmic radiation and tree rings. New Phytologist, 184, n. 3, 2009. 545-551.
- 105. KRANZ, A. R. Genetic and physiological damage induced by cosmic radiation on dry plant seeds during space flight. Advances in Space Research, 6, n. 12, 1986. 135-138.
- AMBIKAIRAJAH, E.; CAREY, M. J. The time-domain periodogram algorithm. Signal Processing, v. 5, p. 491-513, 1983.

107. LAFA. Disponivel em: http://www.ft.unicamp.br/gallep/Gerais/complete1and2.pdf. Acesso em: 12 dez. 2012.

GLOSSÁRIO

BR - Brasil;

- DE Alemanha;
- DFT Discrete Fourier transform (Transformada discreta de Fourier);
- DL Delayed Luminescence (Luminescência retardada);

DNA – Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico);

FFT – Fast Fourier transform (Transformada rápida de Fourier);

fps - frames per second (quadros por segundo);

g-gravimetric acceleration (aceleração gravimétrica); e

δg – variação da aceleração gravimétrica.

IIB - International Institute of Biophysics (Instituto Internacional de Biofísica);

LaFA - Laboratório de Fotônica Aplicada da Faculdade de Tecnologia da Universidade Estadual de Campinas;

LED - Light-emitting diode (diodo emissor de luz);

Night Shot – Tecnologia de filmagem digital noturna sensível ao infravermelho;

PC – Photon counts (Fotocontagem);

δPC – Variação da fotocontagem;

pixel – Aglutinação das expressões, em inglês, *Picture* e *Element* (unidades fundamentais das imagens eletrônicas);

PMT – *Photomultiplier tube* (Tubo fotomultiplicador);

ROS - Reactive Oxygen Species (Espécies reativas de oxigênio);

UWPE – Ultra-weak photon emission (Emissão fotônica ultrafraca);

ANEXOS

Anexo 1 – Tabela das séries realizadas

	Tratamento	Datas				Duração	
Séries		Início	Fim	Dias (#)	Grupos (#)	Teste (h)	Total (h)
IMOC	Água destilada	18/02/2007	13/03/2007	23	9	72	648
т	Água destilada	02/01/2008	26/02/2008	55	27	48	1296
а	Água destilada	27/02/2008	08/03/2008	10	10	24	240
А	Água destilada	05/05/2008	25/05/2008	20	7	72	504
В	Água destilada	05/05/2008	25/05/2008	20	7	72	504
С	Dicromato de potássio	29/05/2008	24/06/2008	26	9	72	648
D	Dicromato de potássio	29/05/2008	24/06/2008	26	9	72	648
F	Dicromato de potássio	11/11/2008	09/12/2008	28	28	24	672
н	Dicromato de potássio	09/01/2009	13/02/2009	35	35	24	840
I	Solução nutritiva	13/02/2009	21/02/2009	8	6	24	144
J	Solução nutritiva	15/02/2009	19/02/2009	4	2	24	48
к	Chorume	19/02/2009	29/02/2009	10	8	24	192
L	Chorume	01/03/2009	07/03/2009	6	1	72	72
М	Dicromato de potássio	27/05/2009	01/06/2009	5	5	24	120
N	Dicromato de potássio	01/06/2009	12/06/2009	11	9	24	216
0	Chorume	25/06/2009	01/07/2009	6	6	24	144
Р	Chorume	01/07/2009	07/07/2009	6	6	24	144
Q	Chorume tratado	09/07/2009	14/07/2009	5	5	24	120

Tabela 2 - Cronologia das análises biofotônicas realizadas pelo LaFa
--

R	Água destilada	31/07/2009	06/08/2009	6	6	24	144
S	Solução nutritiva	07/09/2009	27/09/2009	20	5	72	360
T²	Solução nutritiva	28/09/2009	06/10/2009	8	6	24	144
U	Solução nutritiva	15/10/2009	20/10/2009	5	5	24	120
Vn	Água destilada	10/12/2009	15/12/2009	5	5	24	120
Vo	Água destilada	15/12/2009	20/12/2009	5	5	24	120
х	Solução nutritiva	21/01/2010	26/01/2010	5	5	24	120
Z	Solução nutritiva	26/01/2010	12/02/2010	17	5	72	360
W	Ef. Galvânico	16/03/2010	23/03/2010	7	6	24	144
Y	Ef. Galvânico	23/03/2010	01/04/2010	9	8	24	192
²	Ef. Galvânico	10/04/2010	17/04/2010	7	7	24	168
Film 2	Água destilada	16/05/2011	06/07/2011	51	11	72	792
LTE	Água, amônia e manganês	30/05/2011	06/06/2011	7	4	24	96

Total (h) 10080

Anexo 2 – Publicações elaboradas

Artigos completos publicados em periódicos

1. MORAES, Thiago A.; BARLOW, Peter W.; KLINGELÉ, Emile; GALLEP, Cristiano M. . Spontaneous ultra-weak light emissions from wheat seedlings are rhythmic and synchronized with the time profile of the local gravimetric tide. Naturwissenschaften, v. 99, p. 465-472, 2012.

2. GALLEP, Cristiano de Mello; MORAES, Thiago Alexandre; SANTOS, S. R.; BARLOW, Peter W. Coincidence of biophoton emission by wheat seedlings during simultaneous, transcontinental germination tests. Protoplasma, v. online, p. online, 2012.

3. SCHOLKMANN, Felix; CIFRA, Michal; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello. Using multifractal analysis of ultra-weak photon emission from germinating wheat seedlings to differentiate between two grades of intoxication with potassium dichromate. Journal of Physics. Conference Series (Online), v. 329, p. 012020, 2011.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

1. MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; GALLEP, Cristiano de Mello. Germination Capability Of Wheat Seeds In Correlation With Delayed Luminescence Intensity. In: The Latin America Optics and Photonics Conference 2010, 2010, Recife. proceedings of. Washington DC : OSA, 2010. v. 1. p. MB03.

2. BERTONHA, E.; MORAES, Thiago Alexandre; CONFORTI, Evandro; GALLEP, Cristiano de Mello. **Periodic Time-Components in Spontaneous Ultra-Weak Photon Emission of Wheat Seedlings in Stressing Solutions**. In: The Latin America Optics and Photonics Conference 2010, 2010, Recife. proceedings of. Washington DC : OSA, 2010. v. 1. p. MB08.

3. MORAES, Thiago Alexandre; MARTINS, L. C.; RAMOS, S. R.; GAROFALO, R. T.; GALLEP, Cristiano de Mello. **Spontaneous Light Emission Of Wheat Seedlings With K2Cr2O7**. In: The Latin America Optics and Photonics Conference 2010, 2010, Recife. proceedings of. Washington DC : OSA, 2010. v. 1. p. MB11.

Trabalhos correlatos – publicações anteriores

1. MORAES, Thiago Alexandre; RAMOS, S. R.; GAROFALO, R. T.; MARTINS, L. C.; GALLEP, Cristiano de Mello. Spontaneous light emission of wheat seedlings in leachate solutions. In: 2009 SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference, 2009, Belem. proceed of, 2009. v. PS-I.

2. MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; SANTOS, S. R.; GALLEP, Cristiano de Mello. Padrões de emissão espontânea diaria de luz em testes de germinação de trigo (Triticum aesvitum) em água destilada. In: III Workshop de Ecotoxicologia Unesp, 2008, Rio Claro. aceito, 2008.

 MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; GALLEP, Cristiano de Mello. Padrões de emissão espontânea de luz durante germinação de trigo em água destilada. In: MOMAG
 2008 - XIII SBMO Simpósio Brasileiro de Microondas e Optoeletrônica, 2008, Florianópolis. PA4.4, 2008.

4. GAROFALO, R. T.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello.
Luminescência retardada em sementes de trigo: correlação com viabilidade de germinação.
In: MOMAG 2008 - XIII SBMO Simpósio Brasileiro de Microondas e Optoeletrônica, 2008, Florianópolis. PA3, 2008.

5. GALLEP, Cristiano de Mello; MORAES, Thiago Alexandre; SANTOS, S. R.; JULIÃO, Gilson Oliveira. **Rhythmicities in the spontaneous photon emission of wheat seedlings**. In: SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference, 2007, Salvador. SBMO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference, 2007. p. 713-715.

6. MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; RAMOS, S. R.; MARTINS, L. C.; GALLEP, Cristiano de Mello. **Day- and Month-like Rhythms of Biophoton Emission in** Seedlings. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium, 2009, Moscou. proceedings of, 2009. v. 5P6. p. 1076-1077.

65

7. MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; RAMOS, S. R.; MARTINS, L. C.; BATISTA, D. C.; GALLEP, Cristiano de Mello. **Biophoton Emission in Wheat Seedlings with Potassium Dichromate**. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium, 2009, Moscou. proceedings of, 2009. v. 5P6. p. 1078-1079.

8. GALLEP, Cristiano de Mello; SANTOS, S. R.; MORAES, Thiago Alexandre. **Biophoton of Sprouts as Indicator of Seed Acclimatization**. In: XXVI PIERS - Progress In Electromagnetics Research Symposium, 2009, Moscou. proceedings of, 2009. v. 5P6. p. 1074-1075.

9. SANTOS, S. R.; GAROFALO, R. T.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello. **Ensaios biofotônicos em testes de germinação de trigo**. In: III Workshop de Ecotoxicologia Unesp, 2008, Rio Claro. Holos Environment - Suplemento 1, 2008. v. 8.

10. SHOLKMAN, F.; CIFRA, M.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello. **Multifractal analysis of ultra-weak photon emission of germinating wheat seedlings stressed by potassium dichromate.** In: 9th International Fröhlich's Symposium - EDALC, 2011, Praga. proc. of, 2011. v. 1.

11. MARTINS, L. C.; RAMOS, S. R.; GAROFALO, R. T.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello. Estudo da emissão biofotônica decorrente da germinação de trigo em água destilada. In: XVII Congresso Interno de IC Unicamp - PIBIC, 2009, Campinas. XVII Congresso Interno de IC Unicamp - PIBIC, 2009. p. T0821.

12. GAROFALO, R. T.; MORAES, Thiago Alexandre; MARTINS, L. C.; RAMOS, S. R.; GALLEP, Cristiano de Mello. Estudo da sazonalidade em testes de germinação de *Triticum aestivum* por medidas de emissão espontânea ultrafraca. In: XVII Congresso Interno de IC Unicamp - PIBIC, 2009, Campinas. p. T0822, 2009.

13. MORAES, Thiago Alexandre; GAROFALO, R. T.; MARTINS, L. C.; RAMOS, S. R.; GALLEP, Cristiano de Mello. Abordagem matemática para estudo dos ritmos e correlações com parâmetros ambientais em testes biofotônicos com *Triticum aestivum*. In: XVII Congresso Interno de IC Unicamp - PIBIC, 2009, Campinas. p. T0824, 2009.

14. RAMOS, S. R.; MARTINS, L. C.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello. Técnica biofotônica como ferramenta de analise toxicológica em testes de germinação expostos ao chorume. In: XVII Congresso Interno de IC Unicamp - PIBIC, 2009, Campinas. p. T0823, 2009.

GAROFALO, R. T.; MORAES, Thiago Alexandre; GALLEP, Cristiano de Mello.
 Luminescência retardada em sementes de trigo - correlação com viabilidade de germinação.
 In: LXI Reunião Anual da SBPC, 2009, Manaus. Anais do Evento, 2009. v. pôster. p. 51-51.

16. SANTOS, S. R.; MORAES, Thiago Alexandre; JULIÃO, Gilson Oliveira; GALLEP, Cristiano de Mello. **Caracterização biofotônica em testes de germinação de espécies vegetais submetidas a testes de toxicidade**. In: XV Congresso Interno de Iniciação Científica Unicamp, 2007, Campinas. Caderno de resumos, 2007. p. T0716.

17. GALLEP, Cristiano de Mello; MORAES, Thiago Alexandre; SANTOS, S. R.; Julião, Gilson Oliveira. Caracterização biofotônica em testes de germinação de espécies vegetais submetidas a testes de toxicidade. In: XV Congresso Interno de Iniciação Científica Unicamp, 2006, Campinas. Caderno de resumos, 2006. p. T0714.

Anexo 3 – Algoritmos desenvolvidos

<u>CoTra</u>

O programa elaborado para varredura e cálculo dos coeficientes de Pearson locais em séries de dados está disponível em anexo – foi elaborado para execução no MatLab.

```
clc
                                             % Limpa tela matlab
clear all
                                             % Limpa memória
echo off
                                             % Bom pra debugar
% Configurações iniciais
    % Configuração tamanho da janela
    W = [100; 200; 500; 1000];
    %-----
    % Configurações nome arguivo de origem
    prefixo_o = 'T.CoTra[T';  % Porção inicial - Arquivo dados Entrada
prefixo_r = 'T.Resultados[T';  % Porção inicial - Arquivo dados Saída
%variavel = [1;2;3;4;5;6];  % Porção variável do nome de arquivo - s
                                             % Porção variável do nome de arquivo - Série A
    variavel = [0;1;2;3;4;6;7;8;9;10;11;12;13;14;15;16;17;19;20;21;22;23;25;26];
                                                                                                  %
Porção variável do nome de arquivo - Série T
                                 % Porção final
    sufixo
             = '].txt';
    %-----
%______
% Loop para rodar vários arquivos de uma vez
for k = 1:size(variavel)
    % Leitura dos Dados
    nomearquivo = strcat(prefixo_o,int2str(variavel(k)),sufixo); % Importante para OUTPUT
                                            % Arquivo dados
    dados = load(nomearquivo);
    A = dados(:,2);
                                            % Insere na variável A os dados experimentais
(T.Contagem)
    B = dados(:,3);
                                             % Insere na variável B os dados gravitacionais
(T.eTide)
    %_____
    % Loop para rodar vários Janelas - W - de uma vez
    for j = 1:size(W)
        % Loop de varredura dos dados - corrcoef
                                             % Define a semi-janela
        w = W(j)/2;
        for i = 1+w:size(A)-w % Loop corrcoef, descontando w das pontas
a = A(i-w:i+w); % Define a janela 'a' de dados
b = B(i-w:i+w); % Define a janela 'b' de dados
R = corrcoef(a,b); % Realiza o cálculo do coeficiente
C(i,1) = R(2); % Insere o valor 1,2 da matriz de resultad
                                             % Insere o valor 1,2 da matriz de resultado na
variavel C(i)
```

```
disp (strcat('PONTO: ',int2str(i),' - JANELA: ',int2str(W(j)),' -
(',nomearquivo,')' ));
      %disp(i);
                           % OUTPUT
    end
    %_____
    % Gravar resultados
    nomearquivo_r = strcat(prefixo_r,int2str(variavel(k)),'][',int2str(W(j)),sufixo);
    save(nomearquivo_r, 'C', '-ASCII');
    C = 0;
                         % Zera a variável C para nova entrada no arquivo de
resultados
    %-----
  end
  %-----
end
%_____
```

Captura dos vídeos

Abaixo está anexo o script, em linguagem Processing, para obtenção das imagens obtidas através de placa USB de captura de imagens. É necessária adequação do *toolkit* Processing para obtenção das imagens – os *drivers* necessários estão disponíveis no site do *toolkit*.

```
// Reinicia a variável i
int i = 0;
// Classe 'Image load'
PImage img; // Declara uma variável do tipo PImage
PImage graf;
                // Declara uma variável do tipo PImage
                  // Declara uma variável do tipo PFont
PFont f;
int framesnum = 748; // Declara a variável 'número de frames' (# do último frame, não a
quantidade total deles [qtidade - 1])
                    // Declara variável posição limite sup. das linhas
int top = 307;
int bottom = 454;
                    // Declara variável posição limite inf. das linhas
int minX = 60;
                    // Declara variável posição limite min. de X no graf
                    // Declara variável posição limite max. de x no graf
int maxX = 622;
int min_X_scale = 12; // Declara variável valor (h) mín. da escala do graf
int max_X_scale = 90; // Declara variável valor (h) Max. da escala do graf
int start_X_scale; // Declara variável posição inicial (h) dos dados no graf
int end_x_scale;
                    // Declara variável posição final (h) dos dados no graf
                    // Declara variável linha mín.
int min;
                    // Declara variável linha Max.
int max:
int pos_X;
                    // Declara variável posição X da linha (px)
int start_pos_X;
                    // Declara variável posição inicial (px) dos dados no graf
int end_pos_X;
                    // Declara variável sobre a posição inicial (px) dos dados no graf
```

```
String img_folder = "images/t13"; // Declara a pasta das imagens de entrada
String img_prefix = "teste[13]_"; // Declara sufixo do arquivo das imagens de entrada
String img_format = ".jpg"; // Declara formato do arquivo das imagens de entrada
String img_filename; // Declara string do nome do arquivo de entrada
String graf_filename = "images/t13/G.Media[Film][t13].jpg"; // Declara string do nome do arquivo
do graf
String frame_folder = "frames/t13"; // Declara a pasta das imagens de saída
String frame_prefix = "teste[13]_"; // Declara sufixo do arquivo das imagens de saída
String frame_format = ".jpg"; // Declara formato do arquivo das imagens de saída
String frame_filename; // Declara string do nome do arquivo de saída
String date_start = "06/07/2011 - 14:41"; // Declara data e hora de início do teste - DD/MM/AAAA
- HH:MM
String date_end = "09/07/2011 - 14:49"; // Declara data e hora de fim do teste - DD/MM/AAAA -
HH:MM
String date; // Declara a variável de saída do cálculo de tempo
 int s_DD = int(date_start.substring(0,2));
 int s_MM = int(date_start.substring(3,5));
 int s_YY = int(date_start.substring(6,10));
 int s_hh = int(date_start.substring(13,15));
 int s_mm = int(date_start.substring(16,18));
 int e_DD = int(date_end.substring(0,2));
 int e_MM = int(date_end.substring(3,5));
 int e_YY = int(date_end.substring(6,10));
 int e_hh = int(date_end.substring(13,15));
 int e_mm = int(date_end.substring(16,18));
/*int deltaT = 345; // (seg) // Declara a variável delta entre o tempo inicial e o tempo do frame
 int deltaT_ss;
 int deltaT mm:
 int deltaT_hh;
 int deltaT_DD;
 int deltaT_MM;
  int deltaT_YY;
int TimeStep = 345; // Declara o passo de tempo em Segundos*/
void setup() {
 //Define tamanho da tela
 size(640,480);
 // STEP 3 Load Font
 f = loadFont("CourierNewPS-BoldMT-48.vlw");
 // Define cor do backgroung
 background(255);
 // Cálculos para definição do início dos dados no graf
 min_X_scale = min_X_scale * 60; // horas -> minutos
 max_X_scale = max_X_scale * 60; // horas -> minutos
 start_X_scale = (s_hh * 60) + s_mm; // minutos
 //end_X_scale = (e_DD-s_DD)*24*60 + (e_hh * 60) + e_mm; // minutos
 end_x_scale = 5201; // minutos -> Temp
```

```
min = minX; // Garante os dados das linhas min. e max.
  max = maxX; // Garante os dados das linhas min. e max.
  // Cálculo para definição do início dos dados
  start_pos_X = ((maxX*(start_X_scale-min_X_scale)) + (minX*(max_X_scale-
start_X_scale)))/(max_X_scale-min_X_scale); // (px)
  minX = start_pos_X;
  println("Start X: " + start_pos_X);
  // Cálculo para definição do fim dos dados
  end_pos_X = ((maxX*(end_X_scale-min_X_scale)) + (minX*(max_X_scale-end_X_scale)))/(max_X_scale-
min_X_scale); // (px)
  maxx = end_pos_x;
  println("End X: " + start_pos_X);
}
void draw() {
  // Carrega imagem na coordenada (0,0)
  img_filename = img_folder + "/" + img_prefix + nf(i, 6) + img_format;
  // Calcula posição da linha vermelha em X
  pos_X = (i*(maxX-minX)/(framesnum)) + minX;
  text(i, 380, 470); // STEP 6 Display Text
  println("i: " + i);
  println("Filename: " + img_filename);
  img = loadImage(img_filename);
  image(img,0,-100);
  // Carrega Gráfico
  graf = loadImage(graf_filename);
  smooth();
  image(graf,0,296);
  // Define a linha do início dos dados
  smooth();
  strokeweight(2);
  stroke(255,0,255);
  line (start_pos_X,top,start_pos_X,bottom); // InAcio
  line (end_pos_X,top,end_pos_X,bottom); // Fim
  // Define a linha de min. e max.
  stroke(0,255,0);
  line (min,top,min,bottom); // Min.
  line (max,top,max,bottom); // Max.
  // Define a linha
  smooth();
  strokeweight(4);
  stroke(255,0,0);
  //Desenha a linha
  line (pos_X,top,pos_X,bottom);
  println("x: " + pos_x);
```

```
// Salva o frame
frame_filename = frame_folder + "/" + frame_prefix + nf(i, 6) + frame_format;
saveFrame(frame_filename)
// Loop
if (i < framesnum) {
    i = i+1;
    } else {
        i = 0;
        noLoop();
    }
}
void mouseClicked() {
    loop();
}</pre>
```

Anexo 4 – eTide

Abaixo estão anexos os arquivos de entrada (formato .par) e saída (formatos .txt e .pri) do programa eTide. São gerados dois arquivos – um com o conjunto de dados relativos à predição gravimétria (.txt) e outro com um relatório geral dos cálculos realizados (.pri).

Série[A].par

Os dados de entrada são: os nomes dos arquivos de saída, a data de início dos cálculos, a duração destes e as coordenadas geográficas.

Série[A].txt Série[A].pri 05 05 2009 BEGINNING DATE 21 NUMBER OF DAYS TO BE COMPUTED 202 33 43 312 34 37 670 LAT. (DEG,MIN,SEC), LONG. (DEG,MIN,SEC), ALTITUDE (METERS)

<u>Série[A].txt</u>

Variável tempo em minutos e aceleração gravimétrica em µGals. Indicação da data de início dos cálculos.

5	5	2010
15.0000	00	15.79995
30.000	00	20.96503
45.0000	00	25.33732
60.000	00	29.03851
75.0000	00	31.90059

90.00000		34.07294
105.0000		35.47385
120.0000		36.09328
135.0000		36.06845
150.0000		35.31903
	()	

<u>Série[A].pri</u>

EARTH S TIDES

LATITUDE = 202 33 43 LONGITUDE = 312 34 37 ALTITUDE = 670. METERS

THE TIME IS THE GMT TIME,IN HOURS AND MINUTES THE ELASTICITY FACTOR IS 1.16 THE VALUES ARE IN MICROGALS

DAT	E

E 5 5 2010 125 TH DAY OF THE YEAR

	15	30	45	60
0	15.8	21.0	25.3	29.0
1	31.9	34.1	35.5	36.1
2	36.1	35.3	34.0	32.1
3	29.6	26.8	23.6	20.2
4	16.6	12.8	9.0	5.3
5	1.7	-1.7	-4.8	-7.7
6	-10.3	-12.5	-14.2	-15.5
7	-16.4	-16.9	-16.8	-16.4
8	-15.5	-14.3	-12.7	-10.8
9	-8.7	-6.3	-3.9	-1.4
10	1.3	3.9	6.4	8.6
11	10.8	12.7	14.3	15.6
12	16.5	16.9	16.8	16.2
13	15.2	13.7	11.6	9.0
14	6.0	2.4	-1.5	-5.9
15	-10.6	-15.6	-20.9	-26.3
16	-32.1	-37.7	-43.2	-48.8
17	-54.2	-59.4	-64.2	-68.3
18	-72.5	-75.9	-78.9	-81.2
19	-83.0	-84.1	-84.3	-84.1
20	-83.2	-81.4	-79.1	-76.1
21	-72.5	-68.3	-63.7	-58.6
22	-53.1	-47.4	-41.4	-35.2
23	-28.9	-22.7	-16.6	-10.4

EXTREMA VALUES OF THE TIDES (IN MICROGAL)

MINI = -84.33 MAXI = 36.09 (...)

Anexo 5 – Série 4



Figure A.1 – (de cima para baixo): Séries temporais da contagem fotônica (PC) das subséries 'DE@DE' e 'BR@DE' e variação gravimétrica local (δg) em Neuss, na Alemanha; indicação dos valores absolutos do coeficiente local de correlação (Pearson), para cada conjunto PC versus δg, em janelas de integralização de 6, 12 e 24 horas; histogramas de contagem de frequência dos coeficientes correspondentes de correlação. Fonte:

[4].



Figura A.2 – Análogo à Fig. A.1, porém utilizando dados das subseries 'BR@DE' e 'BR@BR' e para variação gravimétrica local (δg) em Limeira, no Brasil. Fonte: [4].



Figura A.3 – (de cima para baixo): Séries temporais da contagem fotônica (PC) das subséries 'DE@DE' e 'BR@DE'; indicação dos valores absolutos do coeficiente local de correlação (Pearson) entre elas, em janelas de integralização de 6, 12 e 24 horas; histogramas de contagem de frequência dos coeficientes correspondentes de correlação. Fonte: [4].



Figura A.4 – Análogo à Fig. A.3, porém utilizando dados das subseries 'BR@DE' e 'BR@BR'. Fonte: [4].



Figura A.5 – Análogo à Fig. A.3, porém utilizando dados das subseries 'DE@DE' e 'BR@BR'. Fonte: [4].



Figura A.6 – Indicações dos distúrbios geomagnéticos nos imediatamente anteriores, posteriores e, mais relevantes, durante o transporte dos grãos, por ar, do Brasil para Alemanha – realizado no dia 20/07/2007. Os índices apresentados são: Dst (*Disturbance storm time*, distúrbios em períodos de tempestades solares), Ap, Kp e Polar Cap (em Thule, na Groelândia). Fonte: Adaptado de [4].



Figura A.7 – Fluxo de raios cósmicos ampliado nos dias anteriores, posteriores e durante (20/07/2007) o transporte aéreo dos grãos. Adaptado de [4].