

INFLUÊNCIA DA TRIFURALINA SOBRE ALGUNS ASPECTOS DA BIOLOGIA DE PLANÁRIAS DE ÁGUA DOCE

Comportamento do herbicida em laboratório

Olentina de Souza Lima¹
Luci Aparecida Queiroz²

RESUMO - Neste trabalho procurou-se comparar dois grupos de planárias de água doce *Dugesia tigrina* quanto a alguns aspectos da sua biologia, especialmente relacionados à reprodução. Um dos grupos era constituído por vermes que haviam estado uma única vez, durante 96 horas, em soluções de 2 e 3 mg/l de Trifuralina. O outro grupo era de animais nunca antes submetidos à ação da droga. Os resultados obtidos ensejaram considerações sobre a ação daquele herbicida.

ABSTRACT - Action of Trifuralin on some biology's aspects of freshwater Planarian *Dugesia tigrina*, Girard, 1850. Behavior of the herbicide in laboratory. Two groups of freshwater planarians *Dugesia tigrina* were compared in respect of some features of their biology concerning to reproduction. One of the groups had been kept for only once in 2 and 3 mg/l of Trifuralin solution during 96 hours and the other had never been in contact with that substance, experimentally. Some considerations about properties of that herbicide could be inspired from the results of the research.

INTRODUÇÃO

Segundo Barnes (1975), poucos são os dados publicados sobre efeitos tóxicos de herbicidas em animais silvestres, porque a maior parte dos pesquisadores se preocupa com os efeitos indiretos, ou seja, os decorrentes das alterações verificadas no meio (poluição) enquanto habitat e fonte de alimentos. Sem minimizar a importância deste aspecto das pesquisas, a obtenção de dados sobre a ação direta daquelas substâncias sobre elos das cadeias alimentares de água nos parece igualmente importante, não apenas por fornecer subsídios à sua preservação, mas também informações ao homem que, situado no término daquelas cadeias, é o destinatário final de doses subletais acumuladas de substâncias tóxicas. Além disto, alguns resultados podem ser, com a devida prudência e reserva, transferidos à espécie humana.

Em trabalho anterior (1984), apresentamos dados relativos à LC₅₀ do herbicida Trifuralina para planárias de água doce, bem como algumas observações feitas no decorrer dos experimentos realizados. Assim, por exemplo, apresentamos naquele trabalho algumas evidências de uma maior sensibilidade das células da região cefálica à ação do herbicida. Dando sequência a essa linha de pesquisas, passamos a investigar a ação da Trifuralina sobre aspectos relacionados principalmente com a reprodução sexuada das planárias.

MATERIAIS E MÉTODOS

Como nosso objetivo neste trabalho era verificar o provável efeito da Trifuralina (α, α, α trifluoro-2, 6-dinitro-N, N-dipropyl-p-toluidina) sobre alguns aspectos da biologia da *Dugesia tigrina*, verme Turbellario, Tricládido de água doce, trabalhamos precisamente com aqueles exemplares já utilizados anteriormente para a determinação da LC₅₀ e cujas características morfológicas, procedência e manejo de laboratório constam do trabalho referido (1984 l.c.).

Tais vermes haviam sido mantidos em cristalizadores de vidro de 650 ml de capacidade, contendo soluções de 3,0 e 2,0 ppm de Trifuralina, uma única vez, durante 96 horas e, posteriormente, reconduzidos ao regime normal de cultura em cristalizadores semelhantes aos mencionados acima, porém nunca antes utilizados com herbicida, e com água vinda diretamente da represa do Lobo (paralelo 22°10' de latitude sul e meridiano 47°55' de longitude oeste - município de Itirapina). Esta água, sem tratamento, era trocada diariamente. Os animais eram alimentados semanalmente com fígado bovino amassado, até completa repleção. Idêntico tratamento era dispensado aos animais-controle.

Eventos relacionados com o objetivo da pesquisa eram cuidadosamente anotados para efeito de comparação com fatos similares observados e registrados nos controles, constituídos por vermes da mesma espécie, origem e características, diferindo dos primeiros apenas pelo fato de nunca terem estado em contato com o herbicida estudado, pelo menos nas

¹ Professora assistente (aposentada) da Escola de Engenharia de São Carlos (USP), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada (CRHEA)

² Técnica de laboratório da Escola de Engenharia de São Carlos (USP)

condições de laboratório. Estes animais-controle, denominados animais "limpos", constituíram o grupo B, enquanto os que haviam estado em Trifuralina, o grupo A. As características ambientais eram as mesmas para os dois grupos, após o início da fase comparativa: as temperaturas máximas registradas foram 26°C tanto para o ar quanto para a água dos aquários; as mínimas, 17°C. O oxigênio dissolvido na água variou entre 9,2 e 7,2 mg/l e o pH esteve sempre entre 6,2 e 6,7.

Os casulos postos por vermes dos dois grupos eram transferidos para frascos de vidro, de pequeno tamanho, com capacidade para cerca de 120 ml, recebendo cada um deles apenas um casulo. Esta prática visava a um controle seguro dos efeitos da Trifuralina sobre as seguintes características: tempo decorrido entre postura e eclosão dos casulos, número de nascimentos por unidade, comprimento do verme ao nascer, percentagem de mortes e tempo de sobrevivência na cultura.

Os resultados aqui apresentados se referem a uma observação de 14 meses.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os primeiros dados obtidos dizem respeito ao tempo decorrido entre postura e eclosão dos casulos. Verificou-se que, para os animais que haviam estado em Trifuralina, o máximo foi de 27 dias e o mínimo de 15 e, para os controles (grupo B), de 26 e 16 dias respectivamente. Como se vê, a Trifuralina parece não interferir neste aspecto da fisiologia das *Dugesia tigrina*, pelo menos nas dosagens e no esquema em que foi utilizada.

Fator modificador muito importante do aspecto acima considerado é a temperatura: em *Ptenuis*, o tempo decorrido desde a postura dos casulos até o nascimento das planárias varia entre 18 e 106 dias, a temperatura de 20°C e 5°C, respectivamente, segundo Ball e Reynoldson (1981). Entre nós, Molina (1976) encontrou a média de 18,15 dias a temperaturas compreendidas entre 19 e 26°C, e 29,7 dias entre 15 e 24,5°C. Nos experimentos aqui relatados, a temperatura era a mesma para os grupos A e B (experiência e controle) e esteve sempre entre a mínima de 17°C e a máxima de 26°C.

Os dados apresentados acima se referem ao segmento de 34 casulos, sendo 22 postos pelas planárias do grupo A e 12 pelas do grupo B.

Um segundo aspecto desta pesquisa refere-se ao número de indivíduos nascidos de cada casulo. Para os animais do grupo A, de 22 casulos se originaram 68 planárinhas, o que dá uma média de 3,09 por unidade, enquanto que para o grupo B a média foi 5 (60 recém-nascidos de 12 casulos). Os dados aqui apresentados, embora em pequeno número, provêm das observações cuidadosamente registradas e parecem ser pioneiros na literatura. Deles, pode-se obter a informação preliminar de que a Trifuralina reduz o número de vermes por casulo. Tal informação cresce em importância quando se lembra que alguns dos animais componentes do grupo A já haviam deixado as soluções de Trifuralina há cerca de dois anos, isto é, por todo este tempo já estavam sendo mantidos em condições normais de cultura, sem nenhum contato com o herbicida.

De que maneira interferiria a Trifuralina reduzindo a descendência de cada casulo? A resposta, por certo, dependerá de outras pesquisas, que poderiam se orientar em duas direções: ação sobre o desenvolvimento embrionário, sendo normais as células reprodutoras; e existência de anomalias em óvulos e/ou espermatozoides, por efeito tóxico, tornando-os incompatíveis com a sua função específica. O exame dos casulos, oriundos dos grupos A e B, nas fases que procediam à eclosão, não revelou nenhuma diferença de comportamento. Em todos, oriundos ou não de vermes "tratados" com a Trifuralina, havia intensa movimentação interior desde o máximo de 18 dias antes do início da eclosão e do aparecimento das primeiras planárinhas. Estas observações, embora bastante simples, falam em favor da normalidade do desenvolvimento embrionário.

Quanto à segunda hipótese - provável ação sobre a gametogênese - a literatura respectiva traz algumas informações: Swanson e colaboradores (1949), Rehm (1952), Unrau e Larter (1952), Friensen e Olson (1953), Maun e Carvers (1969), ao trabalharem com o herbicida 2,4D e diversas plantas, detectaram algumas anormalidades, como esterilidade de grãos de pólen, alterações estruturais dos mesmos, tais como vacuolização, aberrações cromossômicas, e também inibição e desintegração dos óvulos.

Aspecto correlato bastante discutido em Ashton e Crafts (1981) é o da ação das dinitroalinas em geral e da Trifuralina em especial sobre o metabolismo dos ácidos nucléicos de diversos vegetais e, conseqüentemente, sobre a síntese de proteínas. Diversas enzimas são citadas como sujeitas a alterações de suas atividades por ação da Trifuralina. Assim, não seria totalmente fora de propósito supor, como hipótese de trabalho, que fenômenos semelhantes possam ocorrer em planárias de água doce, especialmente quando se encontram na literatura referências à ação de herbicidas diversos sobre a reprodução de outros animais: Webster e Lowe (1966) registraram maior rapidez de crescimento de calos em certas plantas e aumento da reprodução de *Aphelenchoides ritzemabosi*, nematóide parasita destes calos quando em presença de 2,4D na concentração de 0,125 mg/l, mas inibição da reprodução por solução de 5,0 mg/l; Davring e Sunner (1971), detectaram a influência de 2,4,5T na ovogênese de *Drosophila melanogaster*, com provável esterilidade.

De outro lado, sabe-se desde Linser (1964) que os crustáceos têm grande sensibilidade a certos herbicidas. Cope (1971), verificou redução de ovários e inibição da reprodução do peixe *Lepomis macrochirus* sob a ação do herbicida Diuron. Já Yockin e colaboradores (1980) constataram a possibilidade de reprodução de peixes submetidos a doses seguidas de Trifuralina, aplicada por meio de um sistema de dosagens contínuas, porém os jovens eram anormais e exibiam sinais nítidos de intoxicação após 16 dias de experiência.

Nunca observamos quaisquer sinais de teratogêneses nos jovens nascidos de casulos postos por planárias do grupo A.

Procurou-se, também, comparar o comprimento de planárias recém-nascidas, oriundas dos grupos A e B: verificou-se que, ao nascer, não havia diferenças porquanto as dimensões variavam nos dois grupos de 1 a 5 mm. Também não se registrou diferença quanto a este parâmetro para os nascidos de casulos postos por animais que estiveram em concentrações diferentes de Trifuralina (2 e 3 mg/l).

Tentamos, ainda, verificar se havia diferença entre a mortalidade das planárinhas que se originavam de casulos postos por animais que haviam estado em soluções de Trifuralina e as provenientes de casulos eliminados pelas planárias "limpas". Os resultados se mostraram bastante interessantes: a percentagem de mortes dos animais do primeiro grupo foi de 91,17, calculados sobre 68 indivíduos; a dos componentes do grupo B foi de 51,61, dos 31 controlados. Embora o tratamento estatístico destes dados nos permita concluir que é esperada maior mortalidade quando os vermes sexualmente

maduros são submetidos à ação da Trifluralina, é de todo aconselhável a obtenção de maior número de observações para que se possa considerar este achado como verdade definitiva.

Finalmente, procuramos saber se os animais dos dois grupos morriam por desintegração com a mesma idade, o que poderia fazer supor um "período crítico" no ciclo vital das planárias da espécie *Dugesia tigrina*. Verificamos, porém, que os descendentes dos vermes do grupo A morriam mais cedo, isto é, com 51,9 e 50,5 dias de vida, em média, para os que se originaram de casulos que estiveram em 3 e 2 mg/l, respectivamente. Já os provenientes de casulos "limpos" (grupo B), morriam aos 69,1 dias de vida, em média. Recordando que os dois grupos estiveram sempre submetidos às mesmas condições, exceto no que se refere ao "tratamento" pela Trifluralina a que foram submetidos os componentes do primeiro conjunto, somos levados a concluir que o herbicida utilizado na pesquisa pode ser responsabilizado pela maior mortalidade de planárias jovens.

Serão também de valia algumas considerações sobre o comportamento da Trifluralina. Anteriormente (1984), foi apontada a necessidade de se determinar com precisão a natureza e, sobretudo, a ação fisiológica de seus vários produtos de decomposição. Tal procedimento se impõe, dada a grande facilidade com que ela se altera. Strachan e Dana (1982) apresentam um novo problema sobre herbicidas do grupo das dinitroanilinas como a Trifluralina: em soluções aquosas, dificilmente mantêm suas concentrações, devido a fenômenos de adsorção às paredes dos recipientes de vidro, ainda que silicinizados. De seus experimentos, concluíram que a adsorção da Trifluralina ao vidro é processo irreversível até que todos os sítios disponíveis estejam preenchidos. Ainda quando isto acontece, a constância da concentração da solução é dificilmente mantida devido ao equilíbrio dinâmico entre a Trifluralina em solução e a ligada ao vidro, o que depende basicamente de três fatores: tipo de vidro, relação volume do líquido/área superficial e concentração inicial da solução. Os citados autores recomendam se proceda a determinações rigorosas das concentrações reais do herbicida antes de se atribuir a eles quaisquer respostas fisiológicas ou bioquímicas.

Os fenômenos relatados pelos referidos autores e a recomendação deles originada devem ser levados em consideração, não só em pesquisas futuras, como na apreciação de dados de LC₅₀ já publicados, bem como na avaliação dos efeitos da Trifluralina na biologia de planárias, aqui apresentados. Seria altamente desejável que todos estes dados fossem testados à luz daquela recomendação.

Em face dos resultados preliminares aqui apresentados e dos problemas apontados na bibliografia, verifica-se que é complexo o uso da Trifluralina e talvez também dos agrotóxicos em geral. Se de um lado são muito úteis à produção de alimentos, por outro podem gerar problemas de consequências sérias quando não perfeitamente conhecidos quanto aos seus produtos de alterações: suas propriedades físico-químicas e ações fisiológicas específicas. Há que se considerar, de modo especial, a ameaça que podem representar para a preservação e o equilíbrio biológico dos ecossistemas aquáticos e terrestres e para a qualidade da água de abastecimento.

No caso particular da Trifluralina, muito se tem escrito sobre a sua capacidade de adsorção às partículas do solo, o que traria certa tranquilidade quanto ao seu emprego, uma vez que esta característica evitaria o risco de contaminação das águas superficiais e profundas, atingidas pela lixiviação. Depois do trabalho de Strachan e Dana, verificou-se que o problema não é tão simples e já não se pode sentir tanta tranquilidade quanto à qualidade das águas que atravessam terrenos de culturas previamente submetidos ao tratamento com este herbicida de pré-emergência, aplicado em geral até seis semanas antes do plantio. A preocupação cresce quando se lembra que Yockin e colaboradores (l.c) informam sobre a ocorrência de fenômenos de desorção deste herbicida das partículas de solo a que se adsorvem. Complementarmente, estes

autores afirmam crer que os perigos da Trifluralina nos ecossistemas aquáticos são maiores quando a entrada dela se verifica de forma contínua.

Evidentemente, muita pesquisa deve ainda ser feita, não somente com a Trifluralina, mas com todos os chamados defensivos agrícolas. Isso, para que eles possam ser usados com segurança absoluta na proteção às lavouras contra seus inimigos, mas para que também garantam a integridade e o equilíbrio dos complexos sistemas biológicos naturais e a qualidade da água de abastecimento.

REFERÊNCIAS

- ASHTON, F. M. & CRAFTS, A.S. Mode of action of herbicides. New York, Wiley-interscience, 1981, 525p.
- BALL, I. R. & REYNOLDSON, T.B. British planarians. London, Cambridge University Press, 1981, 141p. Synopsis of the British Fauna, 19.
- BARNES, J. M. Toxic hazards in the use of herbicides. In: Audus, L. J. ed. - Herbicides, Physiology, Biochemistry, Ecology. New York, Academic Press, 1976. 2v., 1172p.
- COPE, O. B. Interactions between pesticides and wildlife. Ann. Rev. Entom., 16: 325-64, 1971.
- DAVRING, L. & SUNNER, M. Cytogenetic effects of 2, 4, 5 - Trichlorophenoxyacetic acid on oogenesis and early embryogenesis in *Drosophila melanogaster*. Hereditas, 68: 115-22, 1971.
- FRIESEN, G. & OLSON, P. The effects of 2,4-D on the developmental process in barley and oats. Can. Agric. Sci. 33: 315-29, 1953.
- LINSER, H. The design of herbicides. In: Audus, L. J. ed. The physiology and biochemistry of herbicides. New York, Academic Press, 1964, cap. 17. 483-504.
- MAUN, M. A. & CAVERS, P. B. Effects of 2,4-D on seeds production and embryo development of Curley Dock. Weed Sci., 17: 533-36, 1969.
- MOLINA, F. M. L. R. Reprodução e ciclo biológico de *Dugesia tigrina* Girard, 1850 Turbellaria, Tricladida, Paludicola. São Paulo, Inst. de Biociências - USP, 1976: Dissert. Mestrado Zool..
- PRAVDA, O. Über de einfluse der herbizide auf ainige Suswassertiere. Hydrobiologia, 42 1: 97-142, 1973.
- REHMS, S. Male sterile plants by chemical treatment. Nature, 170: 38-9, 1952.
- SOUZA LIMA, O. Ação do herbicida Trifluralina sobre *Dugesia tigrina* Turbellaria, Tricladida. Ci. e Cult., 36 11: 1940-42, 1984.
- STRACHAN, S. D. & HESS, F. D. - Dinitroanilina herbicides adsorb to glass. J. Agric. Food Chem., 30: 389-91, 1982.
- SWANSON, C. P.; LA VELLE, G.A. & GOODGAL, S. H. Ovule abortion in *Tradescantia* as effected by aqueous solutions of 2,4 Dichlorophenoxyacetic acid. A. J. Botany, 36: 170-75, 1949.
- UNRAU, J. & LARTER, E.N. Cytogenetical responses of cereals to 2,4-D. Can J. Botany, 30: 22-7, 1952.
- WEBSTER, J. M. & LOWE, D. The effect of the syntetic plant-growth substance 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid, on the host-parasite relationships of some plant-parasitic nematodes in monoxenic callus culture. Parasitology, 56: 313-22, 1966.
- YOCKIN, R. S.; ISENSEE, A. R.; WALKER, E. A. - Behavior of Trifluralin in aquatic model ecosystem. Bull. Environm. Contam. Toxicol., 24: 124-41, 1980.