

## BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Girardia tigrina* (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA, PALUDICOLA) EM LABORATÓRIO.

Gabriela dos Santos Sant'Anna<sup>1</sup>

Elenir de Fátima Willand<sup>1</sup>

Nádia Teresinha Schröder<sup>1</sup>

Alexsander dos Santos Lacerda<sup>2</sup>

Camila Ribeiro Alves<sup>2</sup>

Delaine Casagrande da Silva<sup>2</sup>

### RESUMO

As planárias de água doce são frequentemente empregadas em estudos de laboratório como organismos para monitoramento ambiental. São utilizadas na avaliação da toxicidade e genotoxicidade do meio ambiente, como bioindicadoras da qualidade da água e como agente de controle biológico de larvas de mosquito. Contudo dados da sua biologia em laboratório são escassos. Esse trabalho visa fornecer subsídios a estudos que utilizem planárias como modelo animal, descrevendo a biologia reprodutiva de *Girardia tigrina* quanto aos seguintes aspectos: número e comprimento das cápsulas de ovos, tempo de eclosão e número e tamanho dos animais recém eclodidos por cápsula de ovo em laboratório. Para isto, foi utilizada uma amostra de 50 exemplares sexualmente maduros acondicionados em recipientes plásticos contendo água, com temperatura controlada de  $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , com observação diária. As cápsulas de ovos fixadas por um pedúnculo no substrato foram removidas com o auxílio de um pincel, medidas sob estereomicroscópio, individualizadas em microtubos e catalogadas. Após 13 meses de avaliação, os resultados mostraram uma produção de 2136 cápsulas de ovos com 5745 nascimentos, sendo o maior índice de postura em maio de 2006 com 406 cápsulas de ovos e o menor no mês de setembro com apenas 39 cápsulas. A média do tempo de eclosão foi de 19,9 dias e a média do tamanho dos animais recém nascidos foi de 3,0 mm. O presente estudo mostra que sob condições de laboratório, com temperatura e alimentação controladas, *G. tigrina* se reproduz durante todo o ano, apresentando maior postura durante o segundo trimestre..

**Palavras-chave:** *Platyhelminthes*, *biologia reprodutiva*, *planária de água doce*, *laboratório*.

### REPRODUCTIVE BIOLOGY of "*Girardia tigrina*" (PLATYHELMINTHES, TRICLADIDA, PALUDICOLA) IN THE LABORATORY.

#### ABSTRACT

The freshwater planarian are often used in laboratory studies as proposed organisms to the environment control that is used in the toxic and genotoxic evaluation of the environment, as bioindicators of water quality and biologic control of mosquito larvae agent. However, data on the biology of laboratory planarians are scarce. This study aims to give subsidies for studies that use planarians as animal model, describing the reproductive biology of *Girardia tigrina* in relation to the following aspects: quantity and length of the egg capsules, hatching, quantity and size of the new born animals in each egg capsule. For this, a sample of 50 sexual mature specimens were placed in plastic recipients with water under controlled temperature ( $18^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ) and observed daily. The egg capsules, which were attached to the substrate by a stalk, were removed with a brush, measured under a stereomicroscope, separated in micro tubes and catalogued. In 13 months the results showed a production of 2136 egg capsules with 5745 births, being the highest index in May 2006 with 406 egg capsules and the lowest in September with only 39 capsules. The average e time of eclosion was 19.9 days and the size average of the new born animals was 3.0 mm. The present study shows that under laboratory conditions, with temperature and food controlled, *G. tigrina* reproduces the whole year presenting period's larger and smaller posture.

**Key words:** *Platyhelminthes*, *reproductive biology*, *freshwater planarians*, *laboratory*.

## INTRODUÇÃO

A planária *Girardia tigrina* (Girard, 1850) vive em águas lênticas e tem uma distribuição cosmopolita. Caracteriza-se por apresentar a epiderme pigmentada, cabeça triangular com dois ocelos, aurículas, aberturas do poro

faringeal e poro genital localizados na superfície ventral do animal. São animais hermafroditas e a reprodução pode ocorrer de forma sexuada ou assexuada (1). A reprodução sexuada ocorre quando dois animais sexualmente maduros se unem, trocam espermatozóides e produzem cápsulas de ovos que são fixados em um

<sup>1</sup> Biólogas do Laboratório de Histologia Animal, ULBRA - RS.

<sup>2</sup> Bolsistas de iniciação científica – PROICT – do curso de Ciências Biológicas - ULBRA – RS.

substrato. A forma assexuada ocorre através da fissão transversal dos adultos que dá origem a uma nova geração de planárias. Em algumas situações a planária pode realizar a reprodução sexuada e assexuada conforme a época do ano (1).

Este trabalho tem como objetivo descrever a biologia reprodutiva de *Girardia tigrina* em cativeiro quanto aos seguintes aspectos: número e comprimento das cápsulas de ovos, tempo de eclosão, número e tamanho de indivíduos nascidos por cápsula e fornecer subsídios a estudos que utilizem as planárias como modelo animal.

## MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com planárias da espécie *G. tigrina*, no Laboratório de Histologia Animal – ULBRA/RS – campus Canoas por um período de 13 meses, de julho de 2005 a julho de 2006. Os primeiros exemplares foram coletados de plantas aquáticas *Egeria cf. densa* Panch (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul – FZBR), acondicionados em recipientes plásticos com 2 litros de água de poço artesiano e mantidos a temperatura de  $18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  em um refrigerador. Das planárias nascidas no laboratório uma amostra de 50 animais sexualmente maduros foi utilizada para o estudo de sua biologia reprodutiva.

Os exemplares foram alimentados uma vez por semana com fígado bovino cru (10 gramas/pote). A escolha desse tipo de alimento deu-se por ser o mais aceito pelas planárias. Após a alimentação a água foi trocada para evitar a sua putrefação. Um dia após a alimentação, o procedimento de limpeza do recipiente foi repetido para evitar que os restos alimentares eliminados pelos animais provocassem a contaminação da água e a morte dos indivíduos. As cápsulas de ovos que eram depositadas foram retiradas três vezes por semana com um pincel. Após a mensuração do comprimento as cápsulas foram armazenadas em micro tubos até a sua eclosão. Posteriormente ao nascimento, os animais eram colocados sobre uma placa de petri e medidos com o auxílio de uma lupa e papel milimetrado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 1 – Número de Cápsulas de Ovos

Durante o estudo foram ovipositados 2136 cápsulas de ovos (Tabela I e Figura 1).

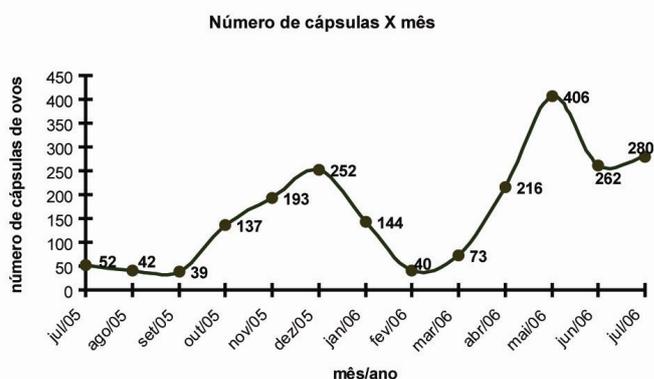


Figura 1 – Número de cápsulas de ovos produzidos por 50 exemplares de *Girardia tigrina* em um período de 13 meses (julho de 2005 à julho de 2006)

No momento da oviposição o indivíduo permanece imóvel e realiza uma contração muscular na região posterior onde está localizado o poro genital, sendo posteriormente liberada a cápsula de ovo (Figura 2).

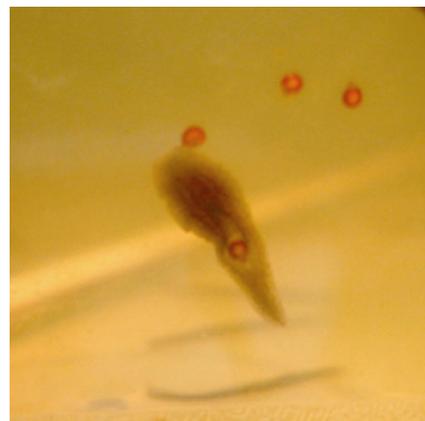


Figura 2 – *Girardia tigrina* realizando postura de uma cápsula de ovo. Obs.: Observa-se uma coloração alaranjada das cápsulas no momento da oviposição, depois em torno de seis horas a cápsula já está completamente escura.

As cápsulas (Figura 3) apresentam um pedúnculo que é utilizado para a fixação no substrato e sua coloração no momento da oviposição é alaranjada tornando-se marrom escura em aproximadamente seis horas. A

média do comprimento dessas cápsulas foi de  $1,08 \text{ mm} \pm 0,05$ .



Figura 3 – Cápsula de ovo fixado em um substrato com o auxílio de um pedúnculo da espécie *Girardia tigrina*.

O menor índice de postura ( $n=50$ ) foi obtido no mês de setembro de 2005 com apenas 39 cápsulas de ovos, resultando em um número médio de 0,78 cápsulas por indivíduo, enquanto que no mês de maio de 2006 houve uma produção de 406 cápsulas de ovos para os 50 exemplares, resultando em uma média de 8,12 cápsulas por indivíduo. Do total de 2136 cápsulas de ovos, 1680 ou 78,25% foram férteis e 456 ou 21,35% foram inférteis.

## 2 – Tempo de eclosão

As 2136 cápsulas foram observadas três vezes por semana e o tempo médio de eclosão foi de  $19,92 \text{ dias} \pm 4,05$ ; sendo que o menor tempo de eclosão foi observado no mês de maio de 2006 de apenas 15 dias e o maior tempo de eclosão foi em janeiro e fevereiro de 2006 de 28 dias (Tabela I).

## 4 – Tamanho dos animais recém nascidos

A média do tamanho dos 5745 animais recém nascidos (Tabela I) foi de  $3,0 \text{ mm} \pm 0,15$ . O maior tamanho foi registrado nos meses de agosto de 2005 e maio de 2006 com 3,2 mm e o menor tamanho foi obtido em fevereiro de 2006 com apenas 2,7 mm.

Tabela I – Número de cápsulas de ovos, média do comprimento das cápsulas, média do tempo de eclosão, número de animais nascidos, média do tamanho dos animais recém nascidos, em condições controladas de laboratório para *Girardia tigrina*. (¶ = desvio padrão).

Mês	Número de cápsulas de ovos (unid.)	Média do comprimento das cápsulas (mm)	Média do tempo de eclosão (dias)	Número de animais nascidos. (unid)	Média do tamanho dos animais recém-nascidos (mm)
Jul/05	52	1,05	20	164	3,0
Ago/05	42	1,03	20	109	3,2
Set/05	39	1,04	20	99	3,1
Out/05	137	1,06	20	283	3,1
Nov/05	193	1,04	17	539	3,1
Dez/05	252	1,16	17	7987	2,9
Jan/06	144	1,08	28	111	2,7
Fev/06	40	1,03	28	74	2,9
Mar/06	73	1,11	17	202	2,8
Abr/06	216	1,13	17	697	3,0
Mai/06	406	1,08	15	1255	3,2
Jun/06	262	1,14	20	615	3,0
Jul/06	280	1,15	18	810	3,0
	2136	$1,0846 \pm 0,05$	$19,923 \pm 4,05$	5745	$3,0 \pm 0,15$

Os animais recém nascidos (Figura 4) apresentavam a mesma morfologia do animal adulto (Figura 5), porém com pigmentação mais clara. O poro genital ainda não está desenvolvido e o poro faringeal está localizado próximo da região caudal.



Figura 4 – Exemplar de *Girardia tigrina* recém eclodida da cápsula de ovo.

À medida em que o animal vai crescendo a faringe passa a se localizar na região mediana do corpo.



Figura 4 – Exemplar de *Girardia tigrina* adulta

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos sugerem que as condições laboratoriais utilizadas nesse estudo não interferem na reprodução dessa espécie, pois foram observadas posturas durante todo o ano, com índice de maior e menor número de cápsulas conforme os meses do ano. A variação no índice de oviposição para *G. tigrina* ao longo do ano também foi constatada por Bueno-Silva e Fischer (7), Knakievicz (8),

Molina (9) e Preza (10) que registraram o maior índice de oviposição no inverno sugerindo que *G. tigrina* mantém um ciclo biológico bem determinado independente da temperatura da água. É provável que fatores endógenos e/ou exógenos influenciem na oviposição dessa espécie. Em nosso estudo não podemos confirmar a influência da temperatura e alimentação no ciclo reprodutivo de *G. tigrina*, visto que ambas foram controladas em todo o período experimental.

O tamanho médio das planárias recém nascidas em laboratório foi de 3,0 mm o que não difere significativamente do obtido em outros estudos de planárias; Preza (10) com 2,5 mm, Molina (9) com 2,8 mm e Bueno-Silva e Fischer (7) com 3,3 mm.

A coloração das cápsulas de ovos de *G. tigrina* logo após a postura apresentou-se alaranjada, tornando-se marrom-escuro em aproximadamente seis horas. Isto, não corresponde com as observações de Bueno-Silva e Fischer (7), que registraram coloração esbranquiçada das cápsulas de ovos novos e o seu escurecimento depois de dois dias para a mesma espécie.

Até o momento pode-se concluir que em condições laboratoriais, com temperatura e alimentação controladas, *G. tigrina* se reproduz durante todo o ano, apresentando maior postura durante o segundo trimestre, sendo que nestas condições, *G. tigrina* apresenta-se como modelo animal viável para estudos biológicos.

Gabriela dos Santos Sant'Anna  
Elenir de Fátima Wülland  
Nádia Teresinha Schröder  
Alexsander dos Santos Lacerda  
Camila Ribeiro Alves  
Delaine Casagrande da Silva

*Endereço para correspondência:* Laboratório de Histologia Animal,  
ULBRA, Avenida Farroupilha, 8001, Canoas, 92425-900, RS, Brasil,  
[lab.histologia@ulbra.br](mailto:lab.histologia@ulbra.br)  
[gsantanna@pop.com.br](mailto:gsantanna@pop.com.br)

Recebido em 08/07/07

Revisado em 03/10/07

Aceito em 25/11/07

## REFERÊNCIAS

- (1) BALL, I. R. and REYNOLDSON, T. B. **British Planarians**. Cambridge: Cambridge University Press, 1981.
- (2) GUECHEVA, T.; HENRIQUES, J. A. P.; ERDTMANN, B. Genotoxic effects of copper sulphate in freshwater planarian in vivo, studied with the single-cell (comet assay). **Mutation Research**, 2001, v. 497, n. 2, p. 19-27.
- (3) HORVAT, T.; KALAFATIC, M.; KOPJAR, N.; KOVACEVIC, G. Toxicity testing of herbicide norflurazon on an aquatic bioindicator species-the planarian *Polycelis feline* (Daly). **Aquatic Toxicology**, 2005, v. 73, p. 342-352,
- (4) PRÁ, D.; LAU, A. H.; KNAKIEVICZ, T.; CARNEIRO, F. R.; ERDTMANN, B. Environmental genotoxicity assessment of an urban stream using freshwater planarians. **Mutation Research, Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, 2005, v. 585, n. 1/2., p. 79-85.
- (5) PERICH, M. J.; BOOBAR, L. R. Effects of the predator *Dugesia dorocephala* (Tricladida, Turbellaria) on selected nontarget aquatic organisms: laboratory bioassay. **Entomophoga**, 1990, v. 35, n. 1, p. 79-83,
- (6) GEORGE, J. A. The potential of a local planarian *Dugesia tigrina* (Tricladida: Turbellaria) for the control of mosquitoes in Ontario. **Proceedings of the Entomological Society of Ontario**, 1979, v.109.
- (7) BUENO-SILVA, M., FISCHER, M. L. Estudo da Biologia de *Girardia tigrina* (Girard, 1850) (Platyhelminthes: Tricladida: Paludicola): análise do crescimento, reprodução e mortalidade em laboratório. **Acta Biologica Leopoldensia**, 2005, v. 27, n. 1, p. 11- 18.

(8) KNAKIEVICZ, T. Avaliação **citogenética, reprodutiva e distribuição geográfica das espécies de planárias (Platyhelminthes, Tricladida, Paludicola) no Rio Grande do Sul**. 2001. 102f, Dissertação de mestrado. Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS.

(9) MOLINA, F. M. L. R. **Reprodução e ciclo biológico de *Dugesia Tigrina* (Girard, 1850) (Turbellaria, Tricladida, Paludicola)**. 1976. 104f. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

(10) PREZA, D. de L. C. ***Girardia tigrina* (Girard 1850) (Turbellaria: Tricladida:Paludicola)**: aspectos biológicos e seu emprego em testes de toxicidade. 1995. 77f. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.  
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.  
This page will not be added after purchasing Win2PDF.