

# ASSAIG SOBRE CONTAMINACIÓ PER HERBICIDES MITJANÇANT ALGUES DEL SÒL

Comunicació presentada el dia 27 de gener de 1977  
per

**M. HERNÁNDEZ I MARINÉ,  
A. NOGUEROL I SEOANE i X. A. SEOANE-CAMBA**

Departament de Botànica. Facultat de Farmàcia. Universitat de Barcelona.

## SUMMARY

### Test on pollution by herbicides using soil algae.

*The inherent phytotoxicity of Diuron, Methabenzothiazuron and Simazine was tested by algal techniques. Growth response of three species of soil algae exposed to different concentrations was studied. The order of toxicity as tested by algae was Diuron, Simazine, Methabenzothiazuron. Chlorhormidium was the most sensitive and Coccomyxa and Bracteacoccus the most resistant.*

## INTRODUCCIÓ

Un dels problemes plantejats junt amb el desenvolupament de l'agricultura era el de les males herbes en els camps de cultiu. Antigament s'eliminaven de manera manual, o es destruïen amb substàncies inorgàniques. Cap a finals del segle passat hom descobrí els herbicides orgànics i des d'aleshores ençà s'han trobat diversos compostos d'aquesta naturalesa, capaços d'actuar selectivament sobre els vegetals. Actualment, la utilització d'herbicides orgànics és a l'ordre del dia. Així i tot, en comptes de buscar la proporció ideal d'aplicació, es tendeix a donar altes dosis que assegurin el control; aquests herbicides poden perdurar en el sòl i són una amenaça per a collites futures sensibles a l'herbicida emprat. Segons RILLAY, la proporció ideal d'aplicació seria la que realitzés un control adequat de les males herbes i tot deixant un marge de seguretat a la collita, tingués en compte el tipus de terra i les condicions ambientals.

Els assaigs d'efectivitat i toxicitat dels herbicides s'efectuen comunent usant plantes superiors com a organismes de test. La utilització d'aquests vegetals (tal com diu TCHAN) resulta incòmoda perquè és necessària la observació d'una part del seu cicle, a més de necessitar espai suficient per al cultiu corresponent.

Ara bé, el fet d'existir algues en el sòl, suposa un gran avantatge en el moment de realitzar els esmentats experiments. Aquests organismes vegetals, en general microscòpics i amb la mateixa fisiologia que les plantes superiors, realitzen, a més, un cicle biològic sencer de reproducció en períodes curts de temps. Per altra banda, el cultiu es pot realitzar en espais reduïts, punt que permet de treballar amb poblacions en lloc d'individus.

Així, doncs, la forma d'aconseguir resultats en forma fàcil i ràpida en estudiar l'acció dels herbicides, serà prendre les algues edàfiques com a organismes de test.

Per altra banda, com es sabut, les plantes acumulen determinades substàncies presents en el medi. Les quantitats emmagatzemades en el vegetal són unes desenes de vegades superiors a les contingudes en el medi. En medi aquós i respecte a la matèria seca, les taxes d'acumulació puguen a centenars i excepcionalment a milers de vegades (20.000 per a *Enteromorpha*, i *Chlorella pirenoidosa*<sup>11</sup>).

Basant-nos, doncs, en aquests avantatges, hem intentat desplegar tècniques de bioassaig amb algues edàfiques, referents a l'ús de determinats herbicides.

#### MATERIAL I MÈTODES

Com a organismes de test hem usat algues unicel·lulars dels gèneres *Coccomyxa* i *Bracteacoccus*, i una alga filamentosa del gènere *Chlorohormidium*; totes elles procedents de mostres de terres de diferents comarques catalanes aïllades en cultius axònics en el nostre laboratori.

El medi de cultiu utilitzat als inòculs i a les mostres amb les dilucions d'herbicides, ha estat el recomanat per BOLD<sup>5</sup> o solució de Bristol modificada.

Els herbicides emprats han estat:

— Diuron o N<sup>1</sup> — (3,4-diclorofenil)-NN-dimetilurea comercialitzat al 80 % com a *Kemicid H-101* per la firma comercial Kemichron, S. L.

— Metabenzotiazuron o 1,3-dimetil-3-(2-benzotiazolil) urea. Comercialitzat al 70 % com a *Tribunil* per la firma comercial Bayer. Ambdós derivats del grup de la urea.

— La Simazina o 2-cloro-4,6-bis(etilamino)1,3,5-triazina comercialitzat al 80 % com *Gesatop* per la Ciba-Geigy. Pertanyent a la família de les S-triazines.



Partint de quantitats d'herbicides suficients per a donar un gram de substància activa al 100 % s'han fet sèries de dilucions en les següents parts per milió: 20; 10; 5; 2; 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,075; 0,062. Les proves han estat acomplertes en plaques de Petri, dins de cada una de les quals havíem introduït un disc de paper de filtre sobreposat a la base. El paper de filtre s'havia humectat amb 8 cc. de medi mineral bàsic de Bristol que contenia la corresponent concentració d'herbicida o només amb medi mineral per als controls.

Paral·lelament, es prepararen erlenmeyers amb idèntiques concentracions d'herbicides que per a les plaques.

Seguidament, s'efectuaren sèries de 10 plaques i 2 erlenmeyers per a cadascun dels gèneres d'algues i per a cadascuna de les dilucions.

Els inòculs es prengueren de cultius de tres setmanes. En el cas de les algues unicel·lulars s'agafà un c.c. de suspensió algal que contenia aproximadament 10.000 cèl·lules i, en el cas de *Chlorhormidium*, es trencaren els filaments per a aconseguir homogeneïtat en la dispersió.

Després d'haver portat a terme les inoculacions a les plaques i erlenmeyers preparats, es col·locaren en una cambra a 25° C. de temperatura i sota una font lluminosa composta de 12 tubs fluorescents *Sylvania Lifeline Cool White F20, T12*, d'il·luminació permanent.

La mesura del creixement algal, tant pel que fa referència a les distintes concentracions d'herbicides com pels *stocks*, es porta a terme 10 dies després d'haver efectuat les inoculacions. Hem pogut comprovar que la mesura òptima s'ha d'efectuar entre els 6 i els 10 dies car, passat aquest temps, s'aprecia una disminució de la sensibilitat, per tal com es poden desenvolupar individus a concentracions superiors a les de la taula, bé perquè alguns siguin genèticament resistents bé a causa de l'aparició de mutants.

## RESULTATS

Les dades que hem obtingut (vegeu Quadre I) concorden amb els treballs de PILLAY,<sup>10</sup> TCHAN I COL,<sup>7, 12</sup> i WRIGHT.<sup>13</sup>

L'efecte inhibidor dels herbicides en els gèneres que hem estudiat és: Diuron > Simazina > Metabenzotiauron. Aquestes dades indiquen un paral·lisme entre l'acció d'aquests herbicides sobre les algues i els obtinguts en plantes superiors.

L'alga més sensible als tres herbicides assajats és la *Ulotrichal filamentosa Chlorhormidium*, per això aquesta alga fóra la més apropiada per a detectar la concentració d'herbicida en el medi. Les menys afectades pels herbicides són: *Coccomixa* i *Bracteacoccus*, i és un fet que també són resistents a d'altres factors nocius, puix que són les més abundants en llocs pol·lucionats. El mètode ens dona la valoració de la quantitat d'herbicida detectada per l'alga, que és també la que realment actua sobre les plantes superiors i no la quantitat global d'herbicida present en el sòl.

QUADRE I

HERBICIDES P.P.M.	DIURON			METABENZOTIAZURON			SIMAZINA		
	<i>Cocco- myxa</i>	<i>Brateac- coccus</i>	<i>Chlorhor- midium</i>	<i>Cocco- myxa</i>	<i>Brateac- coccus</i>	<i>Chlorhor- midium</i>	<i>Cocco- myxa</i>	<i>Brateac- coccus</i>	<i>Chlorhor- midium</i>
0,000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
0,062	—	+	—	++	+++	—	+++	+	—
0,075	—	—	—	+	++	—	++	—	—
0,125	—	—	—	+	+	—	++	—	—
0,25	—	—	—	+	+	—	+	—	—
0,5	—	—	—	—	+	—	—	—	—
1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	—	—	—	—	—	—	—	—	—

+++ Creixement del control o igual.

+± Meitat de creixement del control.

+ Quarta part o inferior al creixement del control.

— Creixement nul.

Mitjançant mètodes químics pot trobar-se una quantitat total superior a la que és activa biològicament. Això és perquè l'efecte fitotòxic de les proves de laboratori amb algues es presenta a concentracions més baixes que a la naturalesa (o en el camp).

Els herbicides poden modificar brutalment la composició algal del sòl a través de la destrucció d'algunes espècies, de la reducció de les poblacions o potenciant el creixement de les no sensibles.

#### CONCLUSIONS

1. Donada llur fisiologia, les algues són organismes adequats per a substituir les plantes superiors en assaigs de contaminació per herbicides.

2. Com que tenen cicles biològics ràpids permeten d'obtenir dades vàlides en temps més curts que quan els assaigs es porten a cap amb plantes superiors.

3. Essent afectades algunes d'elles per determinats herbicides a molt baixes concentracions, poden usar-se per a detectar-los o per a assajar al laboratori la seva fitotoxicitat.

4. Suposat que són capaces d'acumular en llurs cèl·lules substàncies presents en mínima quantitat al medi, podrien també ésser emprades com a detectors de contaminants.

#### BIBLIOGRAFIA

1. ABERG, E., BARNES, J. M., CHANCELLOR, R. J. i COL.: «Herbicides». London (1976).
2. ADDICOTT, F. T. i LYON, J. L.: In «Shedding of plants parts» (T. T. KOZLOWSKI, edit.), pp. 85-124. Academic Press. New York and London (1973).
3. ARVIK, J. H., HYZAK, D. L. i ZIMDAHL, R. L.: «Weed. Sci.», 21: 173-175 (1973).
4. BECK, T.: «Zentbl. Bakt. Parasitkde», 124: 304-313 (1970).
5. BOLD, A. C.: *The morphology of Clamydomonas Clamydogama sp. nov.* «Bull. Bot. Club», 76: 101-108 (1949).
6. CASELEY, J. C. i LUCKWILL, L. C.: «Rep. Agric. Hort. Res. Stn. Univ. Bristol.», 1964: 78-86 (1965).
7. CHO, K. Y., TCHAN, Y. T. i LO, E. H. M.: «Soil. Biol.», 16: 18-21 (1972).
8. KISS, L.: «Erdéez. Kotat.», 63: 249-258 (1967).
9. KRUGLOV, Y. V., GERSH, N. B. i BEI-BIENKO, N. V.: «Khimiya sel. Khoz.», 11: 294-296 (1973).
10. PILLAY, A. R. i TCHAN, Y. T.: «Plant and soil», 36: 571-594 (1972).
11. SODERGREN, A.: *Acumulation and distribution of chlorinated hydrocarbons in cultures of Chlorella pyrennoidosa.* «Oikos», 24 (1): 30-31 (1973).
12. TCHAN, Y. T.: «Plant and soil», X (3): 220-232 (1959).
13. WRIGHT, S. J. L.: «Chemosphere», 1: 11-14 (1972).