

Atração miraxonal exercida por *Biomphalaria tenagophila* selecionada geneticamente para o caráter susceptibilidade*

Miraxonal attraction exercised by Biomphalaria tenagophila genetically selected for susceptibility

Eliana Maria Zanotti-Magalhães**, Luiz Augusto Magalhães**, José Ferreira de Carvalho***

ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. et al. Atração miraxonal exercida por *Biomphalaria tenagophila* selecionada geneticamente para o caráter susceptibilidade. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 25: 134-8, 1991. Tratou-se de testar a atração miraxonal exercida nas gerações de *B. tenagophila*, selecionadas ou não selecionadas, para o caráter susceptibilidade à infecção por *S. mansoni* SJ, sobre larvas do trematódeo da mesma linhagem, obtidas de moluscos selecionados e não selecionados para o mesmo caráter. Foi utilizado um aparelho de vidro, já testado anteriormente, constituído de duas câmaras ligadas por um canal e os caramujos ou sua água de condicionamento (SCW), colocados aleatoriamente em uma das câmaras. Observou-se em lupa estereoscópica a movimentação dos miracídios por 15 min. A análise dos resultados mostrou que a geração do molusco (selecionado ou não selecionado) foi o único fator importante na atração: os moluscos selecionados para o caráter susceptibilidade ou sua SCW, atraíram mais os miracídios.

Descritores: *Biomphalaria*, fisiologia. *Schistosoma mansoni*, fisiologia. Atividade motora.

Introdução

Desde 1958, sabe-se, através da observação de Kloetzel⁷, que miracídios de *Schistosoma mansoni* apresentam quimiotropismo para moluscos *B. glabrata*. Posteriormente, Chernin^{2,4} (1970, 1974) estudou a ação de substâncias emanadas de *B. glabrata* sobre os miracídios, não evidenciando porém a fonte e a estrutura das substâncias atraentes. Brasio e col.¹ (1985) demonstraram que a atração exercida por *B. glabrata* foi mais intensa do que a exercida por *B. tenagophila* quando estes moluscos foram colocados frente a miracídios de populações simpátricas. Verifica-se que *B. glabrata* apresenta, geralmente uma maior susceptibilidade à infecção do que *B. tenagophila*. O estudo destes aspectos adquiriu maior importância epidemiológica com o

trabalho de Zanotti-Magalhães (1987)⁸, no qual se verificou uma correlação entre a susceptibilidade do vetor e o grau de patogenicidade do trematódeo no hospedeiro vertebrado. Contudo, não se conhece a relação entre o grau de susceptibilidade apresentado pelo molusco à infecção por *S. mansoni* e a intensidade da atração miraxonal. No presente trabalho, utilizou-se populações de *B. tenagophila* selecionadas geneticamente para o caráter susceptibilidade, pretendendo verificar se a maior susceptibilidade do molusco correspondia a um maior poder de atração sobre os miracídios.

Material e Método

Foram utilizados moluscos *B. tenagophila* criados no moluscário do Departamento de Parasitologia da UNICAMP, descendentes de caramujos provenientes do Vale do Rio Paraíba do Sul, Estado de São Paulo. A fim de se obter moluscos geneticamente selecionados, foi utilizada a autofecundação de moluscos susceptíveis obtendo-se progênes que compuseram populações que apresentavam altas taxas de susceptibilidade (Zanotti-Magalhães⁸, 1987). Os moluscos selecionados para o caráter susceptibilidade utilizados no experimento pertenciam a 16ª geração. Foram utilizados também moluscos da geração parental, não

* Publicação financiada pela FAPESP

** Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)- Campinas, SP - Brasil.

*** Departamento de Estatística do Instituto de Matemática, Estatística e Ciência da Computação da UNICAMP - Campinas, SP - Brasil.

Separadas/Reprints: E. M. Zanotti-Magalhães - Caixa Postal 6109, Cidade Universitária, Barão Geraldo - 13081 - Campinas, SP - Brasil.

selecionados, provenientes de fecundação cruzada.

Foram utilizadas duas populações de miracídios de *S. mansoni* da linhagem SJ, simpátrica dos moluscos usados no experimento. A população parental de miracídios foi proveniente da linhagem rotineiramente mantida no Laboratório de Parasitologia da UNICAMP. A população selecionada de miracídios foi da 16ª geração de esquistossomos progressivamente mantidos em moluscos selecionados por autofecundação para o caráter susceptibilidade (Zanotti-Magalhães⁸, 1987).

Além dos moluscos e miracídios, foi utilizada também água de condicionamento (SCW - "snail conditioned water"), obtida de um "pool" de moluscos (Chernin³, 1972), das duas populações de moluscos.

Os experimentos foram realizados utilizando-se um artefato de vidro composto de duas câmaras circulares (A e B) com 30 mm de diâmetro e 20 mm de profundidade, unidas por um canal (C) de 40 mm de comprimento, 11 mm de largura e 10 mm de profundidade (Brasio e col¹, 1985).

Nas câmaras foram colocados os moluscos ou suas SCW e no canal os miracídios.

Foram realizados ensaios testemunhos, utilizando-se somente água de clorada nas câmaras A e B.

Após a deposição de 10 miracídios no canal e a colocação de moluscos ou SCW aleatoriamente em uma das câmaras, foi observado, em lupa estereoscópica munida com lente frontal (X 0,5), o comportamento dos miracídios por 15 minutos. Os ensaios foram repetidos dez vezes, utilizando-se novos miracídios, moluscos ou SCW. Os experimentos foram realizados com iluminação abundante, homogênea dispersa.

Resultados

A taxa de infecção dos moluscos selecionados foi muito maior do que aquela verificada para os moluscos da geração parental (Tabela 1).

Todos os moluscos, quer selecionados ou não, atraíram miracídios da geração parental e da

Tabela 1. Taxa de infecção apresentada por *B. tenagophila* das gerações parental e F₁₆ expostas aos miracídios de *S. mansoni* das gerações parental e F₁₆.

Geração do molusco	Moluscos infectados	Moluscos positivos	Taxa de infecção (%)
Parental	25	6	24,0
F ₁₆	27	26	96,3

Tabela 2. Atração miraxonal exercida por moluscos *B. tenagophila* das gerações parental e F₁₆, colocados na câmara A, frente a miracídios de *S. mansoni* da geração parental.

Geração dos moluscos	Número de miracídios*		
	Câmara A	Câmara B	Canal C
Parental	7	3	0
	8	1	1
	6	3	1
	7	3	0
	7	2	1
	7	2	1
	7	2	1
	7	3	0
	8	2	0
	7	3	0
Média	7,1	2,4	0,5
F ₁₆	9	1	1
	8	0	1
	8	0	2
	9	0	1
	8	2	0
	8	1	1
	7	1	2
	8	0	2
	8	0	2
	9	1	0
Média	8,2	0,6	1,2

* Número de miracídios observados em cada uma das câmaras após 15 min de deposição de 10 larvas no canal C.

Tabela 3. Atração miraxonal exercida por moluscos *B. tenagophila* das gerações parental e F₁₆, colocados na câmara A, frente a miracídios de *S. mansoni* da geração F₁₆.

Geração dos moluscos	Número de miracídios*		
	Câmara A	Câmara B	Canal C
Parental	6	3	1
	6	3	1
	7	2	1
	7	3	0
	7	3	0
	8	1	1
	7	3	0
	7	3	0
	6	3	1
	7	3	0
Média	6,8	2,7	0,5
F ₁₆	10	0	0
	9	1	0
	8	2	0
	9	1	0
	10	0	0
	10	0	0
	9	0	1
	9	0	1
	8	2	0
	9	1	0
Média	9,1	0,7	0,2

* Número de miracídios observados em cada uma das câmaras após 15 min de deposição de 10 larvas no canal C.

Tabela 4. Atração miraxonal exercida pela água de condicionamento (SCW) de *Biomphalaria tenagophila* das gerações parental e F₁₆ colocados na câmara A, frente a miracídeos de *S. mansoni* da geração parental.

Tipo de SCW*	Número de miracídeos**		
	Câmara A	Câmara B	Canal C
Parental	6	3	1
	7	2	1
	8	2	0
	8	2	0
	8	2	0
	7	2	1
	7	3	0
	7	2	1
	7	3	0
	8	2	0
Média	7,3	2,3	0,4
F ₁₆	7	3	0
	7	2	1
	7	3	0
	8	2	0
	10	0	0
	9	1	0
	8	1	1
	7	3	0
	8	2	0
	9	1	0
Média	8,0	1,8	0,2

* SCW - "snail conditioned water"

** Número de miracídeos observados em cada uma das câmaras após 15 min da deposição das larvas no canal C.

Tabela 5. Atração miraxonal exercida pela água de condicionamento (SCW) de *Biomphalaria tenagophila* das gerações parental e F₁₆ colocados na câmara A, frente a miracídeos de *S. mansoni* da geração F₁₆.

Tipo de SCW*	Número de miracídeos**		
	Câmara A	Câmara B	Canal C
Parental	6	3	1
	7	2	1
	7	2	1
	7	3	0
	6	3	1
	7	3	0
	8	2	0
	8	2	0
	7	2	1
	7	2	1
Média	7,0	2,4	0,6
F ₁₆	10	0	0
	10	0	0
	9	0	1
	8	2	0
	10	0	0
	8	2	0
	7	2	1
	10	0	0
	9	0	1
	10	0	0
Média	9,1	0,6	0,3

* SCW - "snail conditioned water"

** Número de miracídeos observados em cada uma das câmaras após 15 min da deposição das larvas no canal C.

Tabela 6. Atração miraxodal exercida por água de clorada colocada nos compartimentos A, B e C, frente a miracídeos de *S. mansoni* das gerações parental e F₁₆.

Tipo de miracídeo	Número de miracídeos*		
	Câmara A	Câmara B	Canal C
Parental	3	3	4
	4	3	3
	3	5	2
	2	3	5
	5	3	2
	5	3	2
	4	4	2
	2	5	3
	3	6	1
	6	2	2
Média	3,7	3,7	2,6
F ₁₆	0	2	8
	1	2	7
	2	1	7
	1	0	9
	0	2	8
	2	2	6
	3	0	7
	1	3	6
	1	1	8
	3	1	6
Média	1,4	1,4	7,2

* Número de miracídeos observados em cada uma das câmaras após 15 min. da deposição de 10 larvas no canal C.

geração seleccionada. Entretanto os moluscos seleccionados e suas SCW atraíram mais os miracídeos, independentemente se estas larvas eram ou não de gerações seleccionadas (Tabelas 2 a 5).

Os miracídeos seleccionados permaneceram em grande número no canal do aparelho, quando se utilizou água de clorada para o preenchimento das duas câmaras. Ao contrário, miracídeos da geração parental dirigiram-se preferentemente para qualquer uma das câmaras (Tabela 6).

Análise Estatística

Os resultados do experimento foram analisados através da técnica de Gizzle e col.⁶ (1969), considerando-se como resposta o local onde se encontrava o miracídeo (câmara A ou B, ou canal). O procedimento empregado estuda variações das probabilidades Pa, Pb e Pc de miracídeos dirigirem-se a A, B ou C, respectivamente, em função dos fatores estudados.

O experimento permitiu a formação de populações através de todas as combinações dos níveis dos fatores em um total de oito.

A Tabela 7 mostra a importância de cada fator, ou combinação, nas distribuições de miracídeos pelos locais. O modelo ajustou bem os dados, deixando resíduo pequeno, com qui-quadrado

Tabela 7. "Análise de Variância".

Fonte	GL	Qui-quadrado*	Probabilidade
Intercepto	2	434,18	0,0000
Tipo (Molusco, SCW)	2	4,97	0,0834
Molusco (Geração do Molusco)	2	28,74	0,0000
Miracídio (Geração do Miracídio)	2	0,74	0,6899
Tipo/Molusco	2	7,12	0,0285
Resíduo	6	12,26	0,0564

* Contribuição ao ajuste, segundo o modelo de Grizzle e col.⁶ (1969).

Tabela 8. Frequência dos miracídios por local nos experimentos em que se utilizou molusco na câmara A.

Local	Geração do molusco			
	F ₁₆		Parental	
	Frequência	%	Frequência	%
Câmara A	173	86,50	139	69,50
Câmara B	13	6,50	51	25,50
Canal C	14	7,00	10	5,00
Total	200	100	200	100

Tabela 9. Frequência dos miracídios por local nos experimentos em que se utilizou SCW* na câmara A.

Local	Geração do molusco			
	F ₁₆		Parental	
	Frequência	%	Frequência	%
Câmara A	171	85,50	143	71,50
Câmara B	24	12,00	47	23,50
Canal C	5	2,50	10	5,00
Total	200	100	200	100

* SCW - "snail conditioned water".

Tabela 10. Frequência dos miracídios por local, considerando a geração do miracídio, nos experimentos em que se utilizou molusco na câmara A.

Local	Geração do molusco			
	F ₁₆		Parental	
	Frequência	%	Frequência	%
Câmara A	159	79,50	153	76,50
Câmara B	34	17,00	30	15,00
Canal C	7	3,50	17	8,50
Total	200	100	200	100

Tabela 11. Frequência dos miracídios por local, considerando a geração do miracídio nos experimentos em que se utilizou SCW* na câmara A.

Local	Geração do molusco			
	F ₁₆		Parental	
	Frequência	%	Frequência	%
Câmara A	161	80,50	153	76,50
Câmara B	30	15,00	41	20,50
Canal C	9	4,50	6	3,00
Total	200	100	200	100

* SCW - "snail conditioned water".

12,26 (GL=6) e nível de significância $p = 0,0564$. Verifica-se que a geração do molusco (F₁₆ e parental) foi significativa ($p = 0,0000$), mostrando que as probabilidades de atração são diferentes para as gerações F₁₆ e parental (ver Tabelas 8 e 9). Por outro lado, verifica-se que a atração não sofre efeito da situação do miracídio (Tabelas 10 e 11).

Discussão e Conclusões

Brasio e col.¹ (1985) já haviam verificado que exemplares de *B. glabrata*, pertencentes à população altamente susceptível à infecção por *S. mansoni*, atraem, mais vigorosamente miracídios de população simpátrica do que moluscos *B. tenagophila* de populações com baixo grau de susceptibilidade atraem miracídios também simpátricos.

Utilizando seleção genética por autofecundação das progêneses susceptíveis, obteve-se em F₁₆ uma população de *B. tenagophila* altamente susceptível (Tabela 1). Através da utilização de *B. tenagophila* selecionada para o caráter susceptibilidade, confirmou-se o fato de que moluscos mais susceptíveis possuem maior poder de atração miraxonal. Verificou-se também que somente a população de planorbídeos interferiu na intensidade da atração. Os valores observados na atração miraxonal exercida por moluscos da geração F₁₆ ou sua SCW, utilizando-se miracídios provenientes de *S. mansoni* mantidos em *B. tenagophila* selecionada, mostraram-se maiores se comparados com os dados obtidos dos experimentos em que se utilizaram miracídios provenientes de *S. mansoni* mantidos em *B. tenagophila* não selecionada. Entretanto, esta diferença não foi significativa. Conclui-se, portanto, que o fato de ser ou não miracídio proveniente de população de trematódeo mantido em moluscos selecionados para o caráter susceptibilidade por várias gerações, não interferiu no processo quimiotático.

Os valores observados na atração miraxonal, utilizando-se SCW ou *B. tenagophila* selecionada-

dos frente à miracídeos selecionados ou não selecionados, foram muito semelhantes, fazendo crer que a seleção genética do molusco, quanto ao caráter susceptibilidade, não só facilita o desenvolvimento das larvas intra-molusco (Guaraldo e col.⁵, 1981) como atua na composição da SCW de maneira a tornar a atração miraxonal mais intensa.

ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. et al. [Miraxonal attraction exercised by *Biomphalaria tenagophila* genetically selected for susceptibility]. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 25: 134-8, 1991. The attraction of *Schistosoma mansoni* miracidea by snails genetically selected for susceptibility to infection is considered. Miracidea were exposed to snails or to snail conditioned water in a specially devised three-chamber glass apparatus. Ten miracidea were used for each test and were deposited in the middle chamber (a passage); after 15 minutes, them in each of the number of the three chambers were recorded. In one of the chambers, chosen randomly at each trial, either snails or SCW were used. The snails and the SCW were chosen from either selected snails (highly susceptible) or unselected. The miracidea were of two groups: they came either from susceptible snails in previous generation or were of unselected traits. The results show that only snail generation has importance for the attraction: selected molluscs of susceptible traits do attract the miracidea more.

Keywords: *Biomphalaria*, physiology. *Schistosoma mansoni*, physiology. Motor activity.

Referências Bibliográficas

1. BRASIO, B. C.; MAGALHÃES, L. A.; MILLER, J.; CARVALHO, J. F. Atração de miracídeos de *Schistosoma mansoni* por hospedeiros invertebrados: comportamento de miracídeos frente a girinos de *Hyla fuscovaria*. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 19: 18-27, 1985.
2. CIERNIN, E. Behavior response of miracidia of *Schistosoma mansoni* and other trematodes to substances emitted by snails. *J. Parasit.*, 56: 287-96, 1970.
3. CIERNIN, E. Penetrative activity of *Schistosoma mansoni* miracidia stimulated by exposure to snail conditioned water. *J. Parasit.*, 58: 209-12, 1972.
4. CIERNIN, E. Some host-finding attributes of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 23: 320-7, 1974.
5. GUARALDO, A. M. A.; MAGALHÃES, L. A.; RANGEL H. A.; PAREJA, G. Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 15: 436-48, 1981.
6. GRIZZLE, J. E.; STARMER, C. F.; KOCH, G. G. Analysis of categorical data by linear models. *Biometrics*, 25: 489-504, 1969.
7. KLOETZEL, K. Observações sobre o tropismo do miracídio do *Schistosoma mansoni* pelo molusco *Australorbis glabratus*. *Rev. bras. Biol.*, 18: 223-32, 1958.
8. ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M. Observações sobre a capacidade de infecção do molusco vetor e a patogenidade do *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 no hospedeiro vertebrado. Campinas, 1987. [Tese de Doutorado - Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas.]

Recebido para publicação em 12/10/1990
Aprovado para publicação em 26/12/1990