

CONSUMO DE OXIGÊNIO E RESERVA GLICOLÍTICA EM *BRADYBAENA SIMILARIS* (FÉRUSSAC, 1821) (GASTROPODA: XANTHONYCHIDAE) INFECTADA COM *EURYTREMA COELOMATICUM* (GIARD ET BILLET, 1892) (DIGENEA: DICROCOELIIDAE).

S. V. PASCHOAL¹ & S. B. AMATO¹

(1) Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Caixa Postal 74555, 23851-970, Seropédica, RJ, Brasil.

SUMÁRIO: A influência do parasito *Eurytrema coelomaticum* sobre o consumo de oxigênio do molusco hospedeiro, *Bradybaena similis*, foi estudada em infecções experimentais. As avaliações do consumo de oxigênio em moluscos infectados e não-infectados foram feitas utilizando-se uma modificação do respirômetro de Pettenkofer. Os resultados obtidos foram analisados estatisticamente pelo teste "t" de Student (L = 5%) e regressão linear. Constatou-se que não existe diferença significativa no consumo de oxigênio entre moluscos infectados e não-infectados. As células da glândula digestiva dos moluscos infectados continham menos glicogênio do que as dos não infectados, enquanto os esporocistos de *E. coelomaticum* apresentaram reação positiva ao carmim de Best, indicando presença de reservas glicolíticas.

PALAVRAS-CHAVE: *Eurytrema coelomaticum*, *Bradybaena similis*, consumo de oxigênio.

INTRODUÇÃO

O ciclo biológico de *Eurytrema coelomaticum* foi estudado por TANG & TANG (1977) e por SAKAMOTO *et alii* (1980), porém detalhes do relacionamento entre *E. coelomaticum* e seu primeiro hospedeiro intermediário, o molusco *Bradybaena similis* ainda não foram bem estudados.

O consumo de oxigênio por moluscos gastrópodes foi estudado por vários autores e GHIARETTI (1966) revisou este tópico. BECKER (1980) revisou as inter-relações metabólicas entre trematódeos digenéticos e moluscos, com ênfase em *Schistosoma mansoni* em *Biomphalaria glabrata*. De acordo com von BRAND & FILES (1947) não existe diferença significativa no consumo de oxigênio, entre moluscos infectados e não-infectados. LEE & CHENG (1971) observaram um aumento no consumo de oxigênio por moluscos infectados, primeiramente pelos tecidos do hospedeiro e secundariamente pelo parasito.

Para ISHAK *et alii* (1975) o acentuado decréscimo da glicogênese nos tecidos dos moluscos infectados por trematódeos digenéticos está relacionado com a inibição do ciclo de Krebs e com a ativação da fase anaeróbica de utilização da glicose, como via alternativa para suprir a demanda de energia dos moluscos infectados.

O presente estudo teve por objetivos: (1) avaliar a influência da infecção de *E. coelomaticum* sobre o consumo de oxigênio do molusco *B. similis*, e (2) verificar possíveis alterações na deposição de glicogênio na glândula digestiva dos moluscos infectados.

MATERIAL E MÉTODOS

Os espécimes de *B. similis* utilizados neste estudo nasceram e foram criados no laboratório. Moluscos com 6,2 a 13,3 mm de diâmetro de concha foram mantidos por duas horas em contato com pequenos pedaços de folhas de repolho, sobre os quais eram pipetados ovos de *E. coelomaticum*. As infecções experimentais foram realizadas em duas épocas distintas, novembro de 1989 e março de 1990. Moluscos infectados e não-infectados (controle) foram mantidos em terrários separados e alimentados com repolho, uma fonte suplementar de minerais e, esporadicamente, alface e cenoura.

A determinação do consumo de oxigênio foi feita, semanalmente, utilizando-se uma modificação do respirômetro de Pettenkofer (FERRI *et alii*, 1977). Para cada determinação foram utilizados cinco moluscos infectados e cinco não-infectados. Os moluscos eram colocados em um sistema fechado com quatro tubos, os quais estavam conectados entre si e a um aerizador, durante duas horas. O ar

Tabela 1 - Infecção experimental de *Bradybaena similis* com *Eurytrema coelomaticum*.

Época de infecção	Nº de moluscos		Desenvolvimento	
	Utilizados	Infectados	%	médio (dias)
Novembro 1989	94	25	26,5	79
Março 1990	100	26	26,0	124
TOTAL	194	51	26,2	

entrava neste sistema, passando primeiramente, por dois tubos contendo, cada um 10 ml de NaOH a 0,0977 N, indo em seguida para o terceiro tubo, que continha os moluscos. O CO₂ liberado no processo de respiração dos moluscos reagia com 15 ml de NaOH, presente no quarto tubo, alterando sua concentração. Através da titulação da solução respirada de NaOH com HCL a 0,0977 N, utilizando como indicador a fenolftaleína 1%, foi possível determinar através do princípio da miliequivalência, a massa de oxigênio consumida pelos moluscos, a qual foi expressa em µg de O₂/molusco/hora.

O consumo de oxigênio por moluscos infectados e não-infectados foi analisado estatisticamente pelos testes "t" de Student, com nível de significância de 5% e de regressão linear (SNEDECOR & COCHRAN, 1967).

Para avaliar a deposição de glicogênio nas células da glândula digestiva dos moluscos infectados e não-infectados, os mesmos foram dissecados, fixados com Dubosq-Brasil modificado (Etanol 80°GL - 600 ml + Formalina Comercial - 250 ml + Ácido Acético Glacial - 150 ml), processados histologicamente e corados pelo carmim de Best, de acordo com LUNA (1968).

RESULTADOS

Do total de 194 espécimes de *B. similis* expostos ao contato direto com ovos de *E. coelomaticum*, nas duas épocas de infecção estudadas, 26,2% adquiriram a infecção (Tabela 1). O consumo de oxigênio aferido na primeira semana pós-infecção, para as duas épocas de infecção estudadas, foi igual para os moluscos infectados e não-infectados. Sendo observada uma variação no consumo de oxigênio, pelos dois grupos de moluscos, durante os períodos de infecção subsequentes. Verificou-se que na maioria das vezes, os moluscos não-infectados consumiram mais oxigênio do que aqueles infectados (Figs. 1 e 2). A análise estatística desses resultados pelo teste "t" de Student e pela regressão linear, mostrou que não existe diferença significativa no consumo de oxigênio por moluscos infectados e não-infectados, para as duas épocas de infecção estudadas. Embora, a análise de regressão linear tenha mostrado uma correlação positiva entre

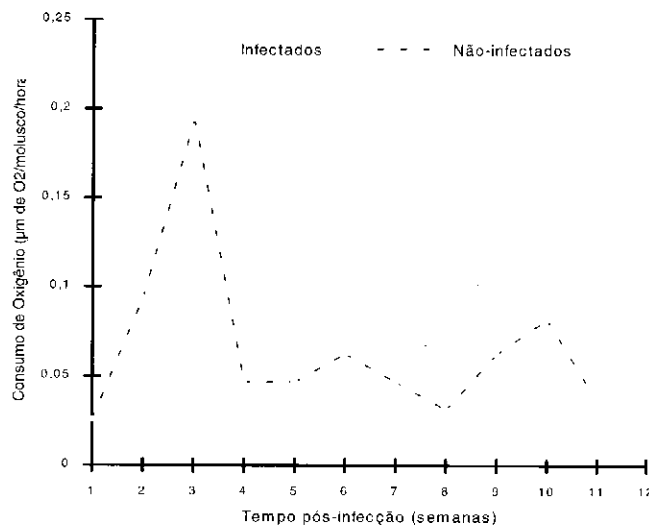


Fig. 1. Consumo médio de oxigênio por *Bradybaena similis* infectada experimentalmente com *Eurytrema coelomaticum* em novembro de 1989 e por moluscos não-infectados.

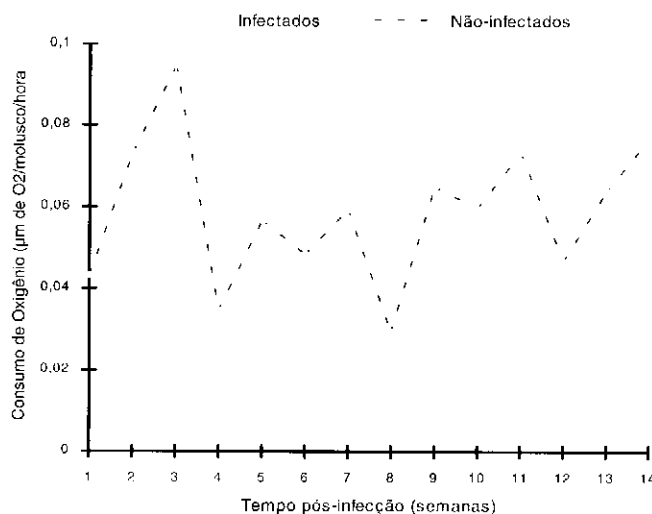


Fig. 2. Consumo médio de oxigênio por *Bradybaena similis* infectada experimentalmente com *Eurytrema coelomaticum* em março de 1990 e por moluscos não-infectados.

o tempo de duração do experimento e o consumo de oxigênio pelos moluscos não-infectados, para a infecção realizada em março/1990.

O exame dos cortes histológicos mostrou uma reação negativa ao carmim de Best para as células da glândula digestiva dos moluscos infectados e positiva para as cercárias no interior dos esporocistos de segunda geração de *E. coelomaticum* em desenvolvimento, na glândula digestiva destes moluscos. As células da glândula digestiva dos moluscos não-infectados reagiram positivamente ao corante.

DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível observar que não existe diferença significativa no consumo de oxigênio entre moluscos infectados e não-infectados, o mesmo foi observado por von BRAND & FILES (1947) e por LEE & CHENG (1971), com outros sistemas de parasito/hospedeiro. Contrariamente, ao que foi observado por LEE & CHENG (*op. cit.*), no presente estudo foi verificada uma correlação positiva entre o tempo de duração do experimento e o consumo de oxigênio pelos moluscos não-infectados. O que pode estar relacionado com o metabolismo normal destes moluscos. De acordo com LEE & CHENG (*op. cit.*), efeitos combinados da demanda de oxigênio pelos esporocistos e cercárias e o aumento da taxa metabólica dos moluscos hospedeiros podem contribuir substancialmente, para o aumento das necessidades de oxigênio dos moluscos infectados, o que não foi verificado no presente estudo. Esses resultados podem estar refletindo a utilização de uma via alternativa pelos moluscos infectados, para suprir a demanda de energia.

A redução da quantidade de glicogênio nas células da glândula digestiva dos moluscos infectados e a detecção deste glicoconjugado nas cercárias, no interior dos esporocistos de segunda geração de *E. coelomaticum*, em desenvolvimento na glândula digestiva destes moluscos, observada no presente estudo, sugerem que a quebra do glicogênio até glicose possa estar sendo feita para que os esporocistos obtenham seu material energético diretamente da hemolinfa circulante na glândula digestiva de *B. similis*, através da absorção pela parede do esporocisto e, que a glicose absorvida seja armazenada sob a forma de glicogênio no interior do esporocisto, conforme CHENG (1963) e BECKER (1970). De acordo com CHENG (*op. cit.*) por ser a glândula digestiva um ambiente essencialmente anaeróbico, a presença do glicogênio no interior dos esporocistos é muito importante porque, provavelmente, o metabolismo deste carboidrato seja a fonte primária de energia nestes estágios larvais.

Para ISHAK *et alii* (1975), a fase anaeróbica de utilização da glicose é ativada como via alternativa para suprir a demanda de energia dos moluscos infectados. Portanto, a perda de glicogênio pelas células da glândula digestiva de *B. similis* infectada experimentalmente, observada no presente estudo, pode ser devida à utilização anaeróbica da glicose, não havendo desta forma, condições do glicogênio ser armazenado como reserva energética, nas células da glândula digestiva destes moluscos. Em virtude desta perda de glicogênio pelas células da glândula digestiva dos moluscos infectados, não podemos afirmar que os resultados obtidos com relação ao consumo de oxigênio sejam devidos a uma excelente adaptação parasito/hospedeiro, conforme foi

observado por BECKER & LAMPRECHT (1977), apesar de não ter sido observada diferença significativa no consumo de oxigênio por moluscos infectados e não-infectados.

SUMMARY

The influence of the parasite *Eurytrema coelomaticum* over the oxygen consumption of its snail host *Bradybaena similis*, was studied through experimental infections. The evaluations of oxygen consumption, of infected and uninfected snails, were taken by using a modification of Pettenkofer respirometer's. The results obtained were analysed with Student's "t" test (L = 5%) and through linear regression. It was found no difference in the oxygen consumption between infected and uninfected snails. The digestive gland cells of the infected snails contained less glycogen than those of the non-infected ones, while the sporocysts of *E. coelomaticum* showed a positive reaction to the Best's carmine, indicating the presence of carbohydrates.

KEY WORDS: *Eurytrema coelomaticum*, *Bradybaena similis*, oxygen consumption.

REFERÊNCIAS

- BECKER, W. (1970). Untersuchungen über die aus der muttersporocyste auswandernden tochtersporocysten von *Schistosoma mansoni*. II. Die wanderung dieser stadien zur mitteldarmdrüse. *Z. Parasitenk.*, 34: 226-241.
- BECKER, W. (1980). Metabolic interrelationship of parasitic trematodes and molluscs, especially *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Z. Parasitenk.*, 63: 101-111.
- BECKER, W. & LAMPRECHT, I. (1977). Mikrokolorimetrische untersuchungen zum wirt-parasitverhältnis zwischen *Biomphalaria glabrata* und *Schistosoma mansoni*. *Z. Parasitenk.*, 53: 297-305.
- von BRAND, T. & FILES, V. S. (1947). Chemical and histological observations on the influence of *Schistosoma mansoni* infection on *Australorbis glabratus*. *J. Parasitol.*, 33: 476-482.
- CHENG, T. C. (1963). The effects of *Echinoparyphium* larvae on the structure and glycogen deposition in the hepatopancreas of *Helisoma trivolvis* and glycogenesis in the parasite larvae. *Malacologia*, 1: 291-301.
- FERRI, M. G.; ANDRADE, M. A. B. & LAMBERTI, A. (1977). *Botânica. Fisiologia. Curso Experimental*. Editora Melhoramentos, São Paulo, SP, Brasil, 116 p.
- GHIRETTI, F. (1966). Respiration. In: *Physiology of Mollusca*. (K. M. Wilbur and C. M. Yonge, eds.). Vol. II. Academic Press Inc., New York, NY, USA, pp. 175-208.

- ISHAK, M. M.; MOHAMED, A. M. & SHARAF, A. A. (1975). Carbohydrate metabolism in uninfected and trematode-infected snails *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatus*. *Comp. Biochem. Physiol. [B]*, 51: 499-505.
- LEE, F. O. & CHENG, T. C. (1971). *Schistosoma mansoni*: respirometric and partial pressure studies in infected *Biomphalaria glabrata*. *Exp. Parasitol.*, 30: 393-399.
- LUNA, L. G. (1968). *Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Company, New York, NY, USA, 258 p.
- SAKAMOTO, T.; KONO, I.; YASAUDA, N. & YAMAUCHI, C. (1980). Studies on *Eurytrema coelomaticum*. I. Preliminary observations on the biological characters of *E. coelomaticum*. *Mem. Fac. Agric., Kagoshima Univ.*, 16: 83-92.
- SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. (1967). *Statistical Methods*. The Iowa State University Press, Ames, IO, USA, 593 p.
- TANG, Z. & TANG, T. (1977). The biology and epidemiology of *Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet, 1892) and *Eurytrema pancreaticum* (Janson, 1889) in cattle and sheep in China. *Acta Zool. Sinica*, 23: 267-282.

(Received 27 November 1993, Accepted 15 April 1994)