

Marisa Cristina de Almeida Guimarães

**“Estudo Comparativo dos Aspectos Reprodutivos de
Duas Populações de *B. tenagophila* (Orbigny 1835) de
Áreas Com e Sem Transmissão de Esquistossomose no
Estado de São Paulo”**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Departamento de Epidemiologia da
Faculdade de Saúde Pública da
Universidade de São Paulo para obtenção do
Grau de Mestre**

Prof. Orientador: Dr Delsio Natal

**São Paulo
2003**

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, por processos fotocopiadores.

Assinatura:

Data:

“Os caminhos que conduzem o homem ao saber são tão maravilhosos quanto o próprio saber”

Kepler

AGRADECIMENTOS

À Deus

Aos meus pais e irmãos pelo apoio e compreensão durante o desenvolvimento de meu trabalho.

Ao meu orientador, Prof. Delsio Natal, pela orientação, amizade e confiança.

À Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) pela permissão em fazer a pós-graduação e pelos recursos financeiro e logístico.

Ao pessoal de apoio das regionais da SUCEN de Sorocaba e Taubaté, em especial à Neusa e à Maria Helena que me ajudaram no trabalho de campo.

À Janete do laboratório de Malacologia pelos cuidados que prestou à manutenção dos caramujos e coleta dos mesmos.

À Regiane, colega da SUCEN, pela força e amizade, bem como sua colaboração no meu trabalho.

Ao Fabio Mesquita e a Profa. Denise Selivon do IBUSP pela boa vontade e colaboração na época em que eu estava construindo o projeto da dissertação.

Aos meus colegas da disciplina Metodologia Científica, pela colaboração e idéias que me foram dadas. E em especial à Profa. Augusta que ajudou muito na elaboração do projeto.

Ao Anderson R. de Almeida que me ajudou a operar alguns softwares de informática.

Ao IME/USP e em especial ao Frederico Zanqueta Poletto pelas análises estatísticas e principalmente por sua atenção.

Ao Dr Jorge Vaz pela sua boa vontade na revisão do texto.

À Nilza que me deu muita força e incentivo.

À Faculdade de Saúde Pública.

E a todos aqueles que me apoiaram e que de alguma forma contribuíram para que este trabalho fosse realizado.

Resumo

Guimarães MCA. **Estudo comparativo de aspectos reprodutivos de duas populações de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny 1835) de áreas com e sem transmissão de esquistossomose no Estado de São Paulo.** São Paulo [Dissertação de Mestrado da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

Descritores: *Biomphalaria tenagophila*, hospedeiro intermediário, autofecundação e fecundação cruzada.

Biomphalaria tenagophila (Orbigny 1835) é uma espécie de caramujo reconhecida como a principal hospedeira intermediária da esquistossomose no Estado de São Paulo.

As espécies de *Biomphalaria* são hermafroditas com possibilidades reprodutivas para autofecundação e fecundação cruzada.

Estudos laboratoriais são importantes para avaliar o comportamento reprodutivo entre populações e espécies e obter informações quantitativas.

O objetivo deste estudo é comparar variações, quanto a aspectos reprodutivos, de duas populações de *B. tenagophila* que vivem em ambientes cujo contexto eco-epidemiológico é distinto.

Foram estudadas em laboratório duas gerações, P e F1, das populações de caramujos de Sorocaba (município sem ocorrência de transmissão) e Tremembé (município com ocorrência de transmissão) com o mesmo delineamento experimental. Inicialmente, ao atingirem a maturidade sexual, os animais foram medidos com paquímetro e, na seqüência parte dos caramujos foi acasalada, reproduzindo-se por fecundação cruzada, e outra parte foi mantida isolada, reproduzindo-se por autofecundação.

As variáveis coletadas que permitiram estimar a fecundidade e a fertilidade foram: desovas, ovos viáveis, ovos inviáveis, ovos eclodidos. As populações das gerações P e F1 foram observadas durante 12 e 11 semanas, respectivamente.

Os resultados mostraram que a fecundação cruzada foi favorecida nas duas gerações de *B. tenagophila* de Sorocaba pela maioria das variáveis reprodutivas com médias significativamente maiores em relação à autofecundação, enquanto a população de *B. tenagophila* de Tremembé, nas duas gerações, não apresentou diferenças significativas entre

autofecundação e fecundação cruzada para as variáveis ovos inviáveis, ovos eclodidos, fertilidade e fecundidade.

A média do diâmetro da concha na maturidade sexual apresentou-se significativamente menor na população de Tremembé F1 em relação aos demais grupos. Foi encontrada em ambas as populações associação linear entre o diâmetro da concha e a variável *fecundidade*.

Os dados comparativos permitiram identificar as diferenças entre as duas populações, que provavelmente estão relacionadas à história natural de cada população.

Abstract

Guimarães MCA. A comparative study of some reproductive aspects of two populations of *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny 1835) from areas with and without transmission of schistosomiasis in the State of São Paulo. São Paulo [Master's Dissertation, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo].

Key words *Biomphalaria tenagophila*; intermediate host; self-fertilization; cross-fertilization.

The freshwater snail *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny 1835) is known as the most important intermediate host of *Schistosoma mansoni* in the state of São Paulo.

Biomphalaria species are hermaphrodite and can be reproduce by self- and cross-fertilization.

Laboratory experiments are important for studies on the reproductive behavior among different populations and species of snails, as they simplify specimen selection and provide quantitative information, no easy task to perform in their natural habitat.

The aim of this study was to compare 2 populations of *B.tenagophila* from different ecoepidemiological environments regarding the reproductive aspects.

The populations of the P and F1 generation from Sorocaba (defined as without Schistosomiasis transmission) and Tremembé (defined as with Schistosomiasis) were studied in laboratory for 12 and 11 weeks respectively. The same experimental design was used in both cases.

After reaching sexual maturity, the shell diameters of snails were measured with the aid of a vernier caliper. There were selected to cross-fertilize then were mated and the remainder kept isolated to self fertilize.

The variables analyzed to estimate fecundity and fertility were: egg-masses and numbers of viables eggs, inviables eggs and hatched eggs.

The analysis of results showed that cross-fertilization was predominant in both generations of *B. tenagophila* from Sorocaba, most of the parameters showed values significantly higher than those observed on the self fertilization populations. For *B. tenagophila* from Tremembé, such variables showed no significant difference comparing

the modes of fertilization in both generations. The average shell diameter of sexual mature snails was significantly smaller in *F1* individuals from Tremembé than in the other groups.

In both populations, a linear association was observed between shell diameter and the fecundity. The differences between the two populations are probably related to their natural history.

ÍNDICE

1. Introdução.....	1
1.1 Relevância do Estudo na Saúde Pública.....	1
1.2 Situação Epidemiológica da Esquistossomose.....	2
1.3 <i>Schistosoma mansoni</i> e o Ciclo Epidemiológico.....	3
1.4 Perspectivas Históricas do Controle da Esquistossomose: da eliminação dos caramujos ao controle integrado.....	6
2. Caracterização das Espécies Hospedeiras Intermediárias do <i>S. mansoni</i>.....	9
2.1 Apresentação e Distribuição.....	9
3. Aspectos Gerais da Ecologia e Biologia dos Caramujos.....	13
3.1 Controle Biológico.....	15
3.2 Parasitismo.....	17
4. Aspectos da Biologia Reprodutiva.....	18
4.1 Hermafroditismo.....	18
4.2 Aparelho Reprodutor.....	19
4.3 Sistema de Acasalamento.....	21
4.4 Um balanço da Literatura sobre a Biologia Reprodutiva dos Caramujos Hermafroditas.....	23
5. Evidências para Elaboração da Hipótese de Trabalho e Objetivos.....	28
5.1 Hipótese.....	29
5.2 Objetivos.....	29
6. Procedimentos Metodológicos.....	30
6.1 População de Estudo.....	30
6.2 Procedência das Populações de <i>B. tenagophila</i>	30
6.3 Coleta e Manutenção das Populações de <i>B. tenagophila</i> e Obtenção das Gerações de Laboratório.....	32
6.4 Delineamento Experimental.....	34
6.5 Coleta de Dados.....	36
7. Análises Estatísticas.....	37
7.1 Análise Descritivas.....	37

7.2 Análise Inferencial.....	38
7.2.1 Comparações das Medidas das Variáveis de reprodução.....	38
7.2.2 Comparações das Médias da Variável diâmetro.....	39
7.2.3 Associação entre a Variável Diâmetro e algumas Variáveis de Reprodução....	40
8. Resultados.....	41
9. Discussão.....	72
10. Conclusões.....	83
11. Referências bibliográficas.....	85
12. Anexo.....	101

I. Introdução

1.1 Relevância do Estudo na Saúde Pública

A esquistossomose é uma das doenças infecto-parasitárias, mais difundidas mundialmente, constituindo-se em significativo problema de Saúde Pública (WHO 1998; Engels *et al.* 2002).

É endêmica em 74 países; estima-se que aproximadamente 200 milhões de pessoas estejam infectadas, 120 milhões sejam sintomáticas, 20 milhões apresentem doença severa, 60 milhões sejam assintomáticas e 600 milhões estejam expostas ao risco (WHO 1998; CHITSULO *et al.* 2000).

No Brasil, segundo KATZ & PEIXOTO (2000), os dados da Fundação Nacional de Saúde (FNS) do ano de 1997 avaliam em 2,5 a 3 milhões o número de pessoas infectadas e em 25 milhões o número de pessoas expostas ao risco de infecção pelo *Schistosoma mansoni*.

Os estudos epidemiológicos revelam que o controle da morbidade e da mortalidade em diversas áreas do território nacional, e a prevalência da infecção foi reduzida, embora, exista ainda muitos obstáculos que dificultam a melhoria dos resultados obtidos até agora (CHITSULO *et al.* 2000).

A opção de estudar populações de caramujo hospedeiro intermediário da esquistossomose mansônica de áreas com e sem transmissão do *S. mansoni* no Estado de São Paulo deve-se à relevância que a doença tem na Saúde Pública e sua importância sócio-econômica (KLOETZEL 1989; WHO 1998).

1.2 Situação Epidemiológica da Esquistossomose

A esquistossomose é uma das doenças parasitárias mais graves e de maior notificação na Saúde Pública.

Nos últimos 50 anos, o perfil da distribuição da esquistossomose mudou, no entanto, o número global estimado de pessoas infectadas e o risco de infecção não vêm reduzindo, em muitas áreas endêmicas. Por outro lado, observou-se que muitos Programas de Controle da Esquistossomose foram implementados com sucesso em vários países (ZHOU *et. al.* 2002).

No Brasil, o movimento migratório, principalmente do Nordeste para outras áreas, foi e continua a ser o principal fator da ampliação das áreas de transmissão do *Schistosoma mansoni* (MACHADO 1982; SILVEIRA 1989). Outro fator a considerar é o aumento da densidade demográfica nas áreas endêmicas, o que significa maiores riscos de infecção. Com a crescente urbanização da população, associada à pobreza da periferia das cidades, surge um novo cenário no qual a esquistossomose urbana traz implicações importantes para o controle da transmissão. Segundo SOARES *et al.* (1995) os processos de urbanização estão ocorrendo de forma incompleta, pois nessas áreas as condições sanitárias são precárias, falta abastecimento de água potável, entre outros aspectos. Os autores ressaltam que nesses locais observa-se um perfil de baixa prevalência, ocultando muitas vezes a transmissão focal, o que pode acarretar pronunciada gravidade.

Além dessas características epidemiológicas e dos aspectos ambientais que favorecem a transmissão, há ainda o fator imunológico, que, segundo AMARAL & PORTO (1994), pode gerar casos severos de esquistossomose urbana nas áreas periféricas das cidades, onde estão

concentradas populações de baixa renda. São muitas as implicações desse quadro para a Saúde Pública.

WALDMAN *et al.* (1999), em suas análises, admitem que a crescente urbanização da endemia contribui para que a transmissão se apresente lenta e em contínua expansão; não devendo esperar para os próximos anos, uma queda substancial da prevalência da esquistossomose no país.

No Estado de São Paulo, o perfil de transmissão é focal e de baixa endemicidade, sendo as regiões do Vale do Paraíba, Vale do Ribeira, Baixada Santista os focos mais antigos e responsáveis pela transmissão severa da doença no passado. Hoje há que se acrescentar às áreas já conhecidas Ribeirão Preto (Bebedouro), Marília e as regiões metropolitanas de São Paulo e Campinas, que também respondem pelas ocorrências de transmissão. Nos últimos dez anos, foram notificados mais de 100 mil casos de esquistossomose no Estado, na maioria, casos importados; os casos autóctones somam apenas 10% (SUCEN 1994).

1.3 *Schistosoma mansoni* e o Ciclo Epidemiológico

O *S. mansoni* Sambon (1907) é um dos trematódeos mais difundidos que parasitam humanos, entre outros vertebrados, como por exemplo os roedores, seus hospedeiros definitivos.

Estimativas recentes apontam que o número global de pessoas infectadas pelo *Schistosoma mansoni* atinge 83 milhões, distribuídos em 54 países (CROMPSON 1999; CHITSULO *et al.* 2000).

Estudos revelam que no Brasil a introdução do *S. mansoni* teve início há aproximadamente 500 anos com a vinda dos escravos africanos, mas o parasita permaneceu incógnito por muitos anos. Foi somente em 1907 que o médico baiano Pirajá da Silva reconheceu a sua existência no País. Em São Paulo, mais especificamente em Santos foram notificados os primeiros casos autóctones da esquistossomose, no ano de 1923 (MACHADO 1982; AMARAL & PORTO 1994).

A partir de 1930, a doença se expandiu principalmente pelo fluxo migratório interno e em decorrência da existência de caramujos suscetíveis, dos quais inicialmente a única espécie conhecida era a espécie *Biomphalaria glabrata* (MACHADO 1982).

A distribuição do trematódeo *Schistosoma mansoni* está ligada ao caramujo pulmonado de água doce que, obrigatoriamente, é seu hospedeiro intermediário. Muitos fatores estão envolvidos na compatibilidade desta interação, considerada complexa e que há tempos tem sido objeto de inúmeras pesquisas (MORGAN *et al.* 2001). Os autores citaram em seus estudos o trabalho pioneiro de Adolfo Lutz, de 1916, sobre a esquistossomose no Brasil, no qual o pesquisador salientou a incapacidade da espécie *B. tenagophila* de infectar-se com o *S. mansoni*. No entanto, hoje esta é uma espécie bem adaptada ao parasita e considerada a principal hospedeira no Estado de São Paulo associada à esquistossomose. Já as espécies *B. glabrata* e *B. straminea* são de importância epidemiológica no Nordeste e na região central do Brasil (MACHADO 1982).

O ciclo epidemiológico da esquistossomose mansônica (Figura 1) apresenta uma dinâmica complexa e envolve obrigatoriamente a presença do molusco de água doce como hospedeiro intermediário, um hospedeiro definitivo (vertebrado) e a passagem do parasita *Schistosoma mansoni* pelo meio ambiente em dois momentos diferentes de seu ciclo de vida.

A descrição do ciclo de transmissão e sintomas da esquistossomose, baseou-se em CUNHA (1970) e REY (2002).

O ciclo da esquistossomose inicia-se normalmente pela contaminação ambiental, quando o homem parasitado defeca próximo a coleções hídricas, de modo que os ovos do *Shistosoma mansoni* (SAMBON 1907) são eliminados e alcançam as águas naturais, eclodindo e liberando uma larva ciliada denominada miracídio, que penetra no caramujo, seu hospedeiro intermediário.

Essas larvas desenvolvem-se nos tecidos dos caramujos, e ao cabo desse processo, transformam-se em cercárias.

As cercárias constituem-se na forma infectante para o homem e outros mamíferos, e, quando liberadas pelos caramujos, podem permanecer livres na água até três dias, dependendo das condições ambientais.

Para ocorrer a transmissão do parasita, deve haver o contato do hospedeiro definitivo (homem) com a água contaminada pela presença das cercárias. Ao penetrar na pele, a cada cercária que consegue sobreviver transforma-se em esquistossômulo, fazendo a migração através do corpo de seu novo hospedeiro. O *Schistosoma mansoni* adulto habitualmente se instala nas vênulas da parede do reto, do sigmóide e do intestino grosso do homem, mas também se registram localizações ectópicas, como nos pulmões.

O parasitismo humano pelo *S. mansoni* pode apresentar-se benigno, assintomático, dependendo da intensidade da infecção, ou então, produzir alterações anatomopatológicas conforme a localização e a intensidade do parasitismo, da capacidade de resposta do indivíduo ou do tratamento administrado.

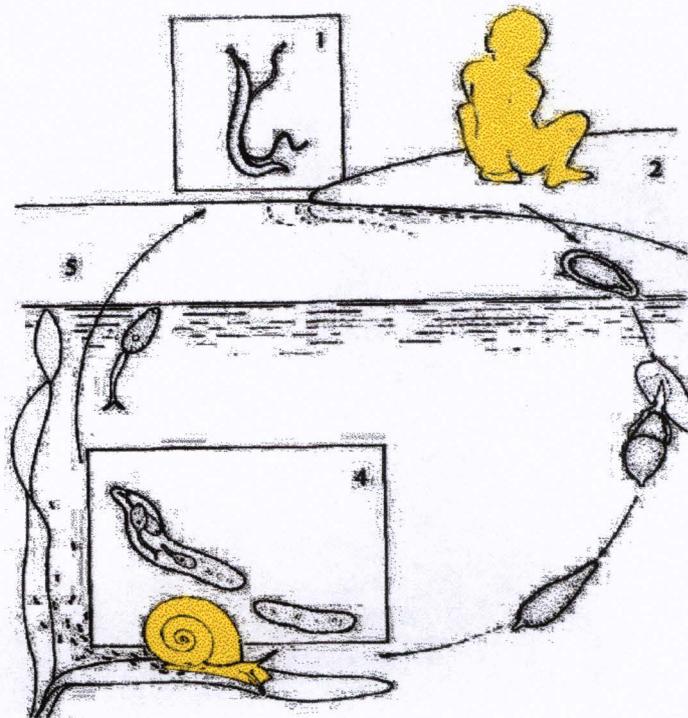


Figura 1: Ciclo Epidemiológico
Fonte: REY 1973, 2002

1.4 Perspectivas históricas do controle da esquistossomose: da eliminação dos caramujos ao controle integrado

Muitos autores, entre os quais THOMAS (1987) e AMARAL (1994), admitem que, no passado as medidas destinadas a limitar a expansão da esquistossomose nas áreas endêmicas resumiam-se quase que exclusivamente ao controle dos planorbídeos.

Ao tecer comentários a respeito, PARAENSE (1987) afirma que as populações de moluscos submetidas por longo prazo ao controle químico ou biológico tendem ser refratárias aos agentes utilizados. Isto acontece porque a seleção natural poupa os genótipos resistentes e seu

número cresce nas gerações posteriores por efeito da oscilação gênica. Em consequência, as ações de controle centradas nos planorbídeos tornam-se cada vez mais inoperantes devido às estratégias evasivas por eles desenvolvidas.

Considerações idênticas foram levadas em conta e de maneira implícita, na elaboração do Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE) iniciativa do governo federal, em 1976. A estratégia adotada pelo PECE consistia em agir intensivamente contra os pontos vulneráveis do ciclo de transmissão do parasita, empregando controle químico nos caramujos, medidas de saneamento básico, atividades de educação em saúde e quimioterapia em massa.

Em 1980, o PECE foi substituído pelo Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), subordinado à Fundação Nacional de Saúde (FNS). O novo programa pouco difere do anterior; seu principal objetivo continua sendo orientar a redução da densidade planorbídica em criadouros de importância epidemiológica (MARÇAL, 1995).

No Estado de São Paulo, os primeiros casos autóctones de esquistossomose foram notificados em 1923 em Santos (NASCIMENTO 1995), mas somente em 1968 é que foi criada, em nível estadual, a Campanha de Combate à Esquistossomose (CACESQ), que posteriormente, em 1976, foi incorporada à Superintendência de Controle de Endemias (SUCEN) com recursos próprios e autonomia em relação ao Programa Nacional (AMARAL & PORTO 1994). Os mesmos autores salientam que os anos que antecederam o surgimento dos medicamentos para esquistossomose, as medidas de profilaxia baseavam-se quase exclusivamente no combate aos moluscos, limitando-se ao controle químico e em menor frequência aos métodos físicos e o controle biológico.

O controle químico no Estado de São Paulo vem sendo realizado através da aspersão da niclosamida nos criadouros, moluscicida sintético (WHO 1998) que tem proporcionado a

diminuição da densidade planorbídica. Há que se mencionar os inconvenientes do uso desse moluscicida químico que exerce efeito transitório sobre as populações de moluscos, atingindo indistintamente outros animais e plantas (AMARAL & PORTO 1994).

Com relação ao Programa de Controle da Esquistossomose da Sucec, seu objetivo é o controle da transmissão e redução da morbidade por meio de medidas profiláticas aplicadas ao homem, hospedeiro intermediário e meio ambiente.

Resumidamente, as medidas que vêm sendo empregadas são as seguintes: tratamento químico de portadores, tratamento de coleções hídricas com planorbídeos infectados e saneamento ambiental. Cabe salientar que o saneamento ambiental não é de responsabilidade da Sucec, mas cabe a ela fornecer subsídios para às prefeituras e/ou outro órgão competente para definições de prioridades quanto às áreas com transmissão (SUCEN 1989).

Considerando a perspectiva adotada aqui para a análise do controle de caramujos, observa-se hoje que a utilização de agentes biológicos poderá substituir, em alguns casos, o emprego de moluscicidas químicos no controle dos hospedeiros nos casos em que a transmissão da doença for contínua e ocorrer em baixos níveis ou tiver sido interrompida (PONTIER & GIBODA. 1999; PONTIER & JOURDANE 2000).

Entre as ações de controle está o combate considerado imprescindível, aos hospedeiros intermediários. Porquanto, as atividades de saneamento ambiental e abastecimento de água são deficientes em muitas localidades.

É oportuno citar o trabalho de MOTT (1987), resultado da revisão das medidas até hoje empregadas no controle da esquistossomose, em que o autor afirma claramente que os conceitos referentes à profilaxia dessa doença nada tem de estático. Se, no passado, o principal objetivo era a interrupção da transmissão, hoje busca-se reduzir a morbidade em áreas com

alta prevalência, através de medidas ajustadas à realidade local, conferindo assim com as recomendações do Simpósio Internacional de Esquistossomose realizado na China em 2001 (ZHOU *et al.* 2002).

2. Caracterização das Espécies Hospedeiras Intermediárias do *Schistosoma mansoni*

2.1 Apresentação e Distribuição

No Brasil, foram identificadas até agora 10 espécies de *Biomphalaria* das quais três se comportam como hospedeiras intermediárias do *Schistosoma mansoni* em condições naturais: *Biomphalaria glabrata* (SAY 1818), *Biomphalaria tenagophila* (ORBIGNY 1835) e *Biomphalaria straminea* (DUNKER 1848).

A morfologia interna dos moluscos é de grande importância para a sistemática, sendo os caracteres da genitália os critérios utilizados na determinação das espécies de *Biomphalaria* (PARAENSE 1975; MALEK 1985). Utilizar aspectos da morfologia das conchas para identificar a espécie pode levar à identificação duvidosa, porque tais aspectos são variáveis (PARAENSE 1961).

Quanto à distribuição, a espécie hospedeira, *Biomphalaria glabrata* (SAY 1818) é encontrada nos Estados de Alagoas, Bahia, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, São Paulo e Sergipe (FUNASA).

No Estado de São Paulo (Figura 3) *B. glabrata* (SAY 1818) restringe-se ao oeste-sudoeste do Estado e à bacia do Rio Paranapanema. Ao longo da bacia do Rio Tietê e seus

afluentes, a *B. glabrata* é encontrada isoladamente nos Municípios de São Paulo, Porto Feliz e Cerquilha (TELES & VAZ 1987).

▸ A *Biomphalaria tenagophila* (ORBIGNY 1835) ocorre em ampla faixa costeira do Brasil, que se estende de Caravelas, na Bahia até Blumenau, em Santa Catarina: litoral e interior do Rio Grande do Sul, vários locais dos Estados de Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, Paraná e Goiás (em dois municípios). Fora do Brasil é encontrada na Argentina, Bolívia, Paraguai, Peru e Uruguai (VAZ 1989). No Estado de São Paulo, *B. tenagophila* (Figura 2) é a mais freqüente em número de focos, corpos de água doce com história de infecção pelo *S.mansoni* e criadouros, corpos de água doce sem história de infecção. Sua distribuição segue o adensamento populacional humano e, hoje essa espécie é adaptada às áreas urbanas em ambientes poluídos como os esgotos (SUCEN 1994).

▸ A *Biomphalaria straminea* (DUNKER 1848) tem vasta distribuição pelos Estados do Acre, Alagoas, Amazônia, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina, Sergipe e Tocantins (FUNASA).

No Estado de São Paulo, a *B. straminea* (Figura 4) distribui-se pelas principais bacias hidrográficas e predomina em municípios banhados pelo Rio Tietê (TELES 1996).

A expansão dos criadouros naturais das espécies hospedeiras no Brasil deve-se principalmente às modificações ambientais que se deram em decorrência da interferência humana, como construção de açudes, represas, barragens, entre outros, enquanto entre os fatores envolvidos na disseminação das espécies de *Biomphalaria* destacam-se o transporte de desovas e/ou exemplares de caramujos de um ambiente para outro, por meio de comércio de plantas aquáticas ou por intermédio de peixes (GUIMARÃES *et al.* 1990; TELES 1996).

Cabe destacar que a distribuição dos hospedeiros intermediários abrange um território muito maior do que a doença, sugerindo perigoso potencial de expansão da transmissão (WALDMAN *et al* 1999).

A seguir mapas do Estado de São Paulo com a distribuição das principais espécies hospedeiras de *Biomphalaria*, segundo os criadouros dos municípios.

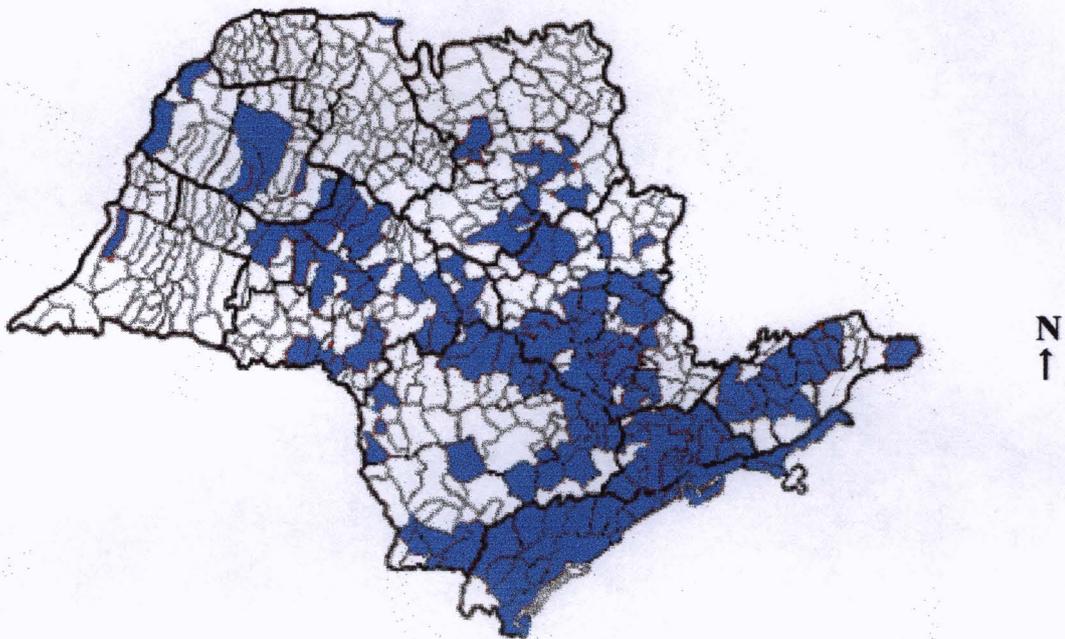


Figura 2: Distribuição de *Biomphalaria tenagophila* no Estado de São Paulo, segundo criadouros nos municípios. Fonte : SUCEN 1994.

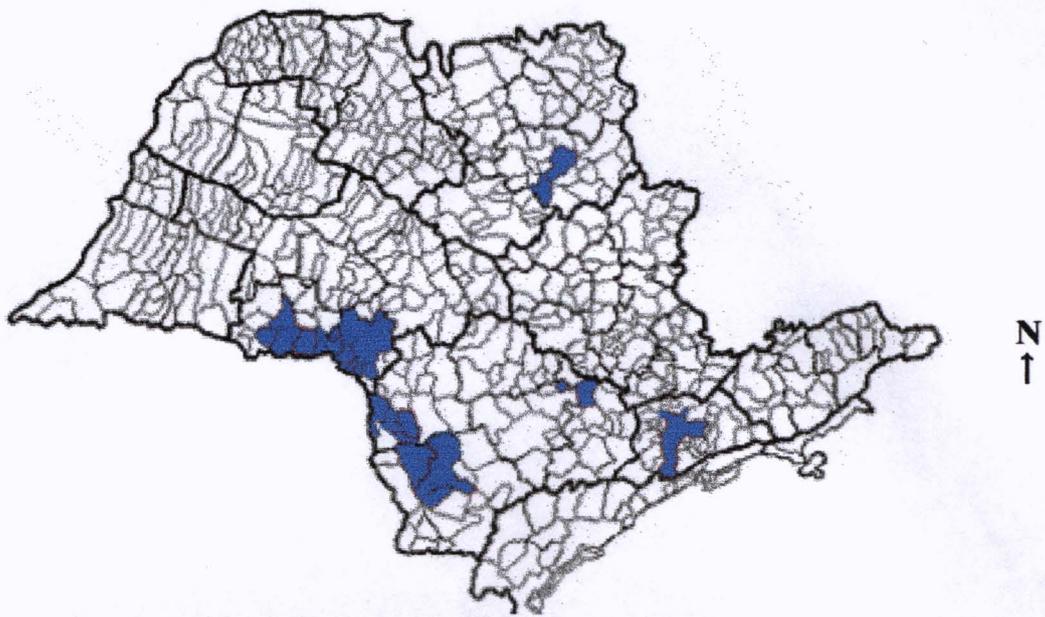


Figura 3: Distribuição de *Biomphalaria glabrata* no Estado de São Paulo, segundo criadouros nos municípios. Fonte : SUCEN 1994.

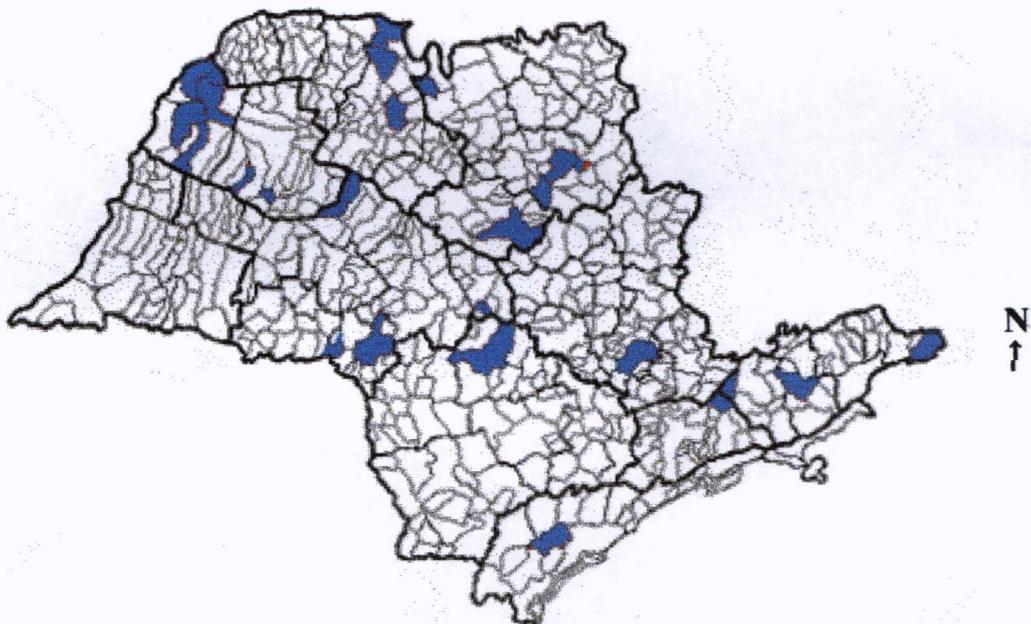


Figura 4: Distribuição de *Biomphalaria straminea* no Estado de São Paulo, segundo criadouros nos municípios. Fonte : SUCEN 1994.

3. Aspectos Gerais da Ecologia e Biologia dos Caramujos

Estudos realizados por diferentes autores sobre ecologia e a biologia dos hospedeiros intermediários do parasita *S. mansoni* visam à ampliação do conhecimento tendo em vista o controle da doença.

As espécies de *Biomphalaria* possuem características peculiares e conferem às espécies aspectos altamente vantajosos para sua sobrevivência, como a capacidade de dessecação e de autofecundação. As características gerais da biologia e ecologia das espécies de *Biomphalaria* foram baseadas em REY (1956) e em CUNHA (1970).

Os moluscos hospedeiros podem ser encontrados na maioria das águas continentais ulteriores de curso lento, tais como lagos, pântanos, banhados, remansos dos rios, várzeas, canais de irrigação e drenagem, plantações de arroz e agrião.

Na maioria dos *habitats* favoráveis à colonização pelas Bionfalárias, observam-se traços comuns caracterizados pela riqueza da macroflora e microflora que lhes servem de alimento e proteção.

A densidade populacional dos caramujos está condicionada principalmente à pluviosidade, responsável pelo aumento do volume de água, transbordamento e formação de lagos e banhados. Com isso, ocorre o transporte passivo dos caramujos para regiões distantes, propiciando, assim, a ampliação dos criadouros. Nos períodos de estiagem, ocorre a diminuição da densidade populacional devido à menor oferta de coleções hídricas e, na estação chuvosa, recuperam-se muitos indivíduos da população.

Em criadouros temporários, os caramujos podem dessecar; a capacidade de dessecação dos caramujos é uma característica genética (RICHARDS 1967) relacionada a uma estratégia adaptativa diferenciada entre espécies e populações, permitindo-lhes maior sobrevivência. Em dessecação, os caramujos têm seu metabolismo reduzido a níveis mínimos, o que acarreta alterações em seu organismo durante um período proporcional em dias e meses (BRAND *et al.* 1957).

O efeito da estivação do caramujo hospedeiro em relação ao parasitismo bem como os aspectos da biologia reprodutiva foram amplamente estudados, dada sua relevância epidemiológica (BARBOSA & DOBBIN 1952; BARBOSA & BARBOSA 1958; VIANEY-LIAUD & DUSSART 1994).

BADGER & OYERINDE (1996) estudaram em caramujos parasitados e não parasitados a relação entre o tempo de dessecação e a sobrevivência. Os resultados evidenciaram que o parasita rouba do caramujo dessecado as reservas de glicogênio, outros nutrientes e recursos energéticos, razão por que os caramujos parasitados suportam com dificuldades as condições anaeróbicas em relação aos caramujos sadios. Resultado semelhante foi encontrado por OHLWEILER & KAWANO (2002) que verificaram em espécimes de *B. tenagophila* livres de infestação por *S. mansoni* maior resistência à dessecação em relação às espécimes parasitadas.

OYEYI & NDIFON (1990) estudaram o efeito da dessecação na produção de desovas e taxa de crescimento da concha dos caramujos. Eles compararam dois grupos: pós-dessecado e grupo controle, verificaram que os caramujos pós-dessecados colocaram maior quantidade de desovas e obtiveram maior taxa de crescimento; segundo os autores tais comportamentos estão relacionados a melhor capacidade adaptativa às condições de seca.

O controle biológico é um aspecto bastante estudado na biologia dos caramujos hospedeiros, desde a década de 50 com os trabalhos de LAGRANGE (1957), CHERNIN (1956), MICHELSON (1957) entre outros, que investigaram diversos agentes biológicos capazes de controlar as populações planorbídicas.

3.1 Controle Biológico

O controle das populações hospedeiras continua sendo uma estratégia essencial nos programas de controle integrado da esquistossomose. O método mais difundido para controlar os planorbídeos é o emprego de um moluscicida sintético, a niclosamida. Este moluscicida pertence ao grupo químico derivado do chloronitrophenal; seu emprego nos moluscos destina-se à redução populacional recomendada pela Organização Mundial da Saúde (MCCULLOUGH 1992; WHO 1998). A principal crítica ao emprego desse moluscicida refere-se à recolonização dos caramujos devido à permanência de alguns deles no ambiente hídrico (AMARAL & PORTO 1994).

O controle biológico tem sido considerado nas últimas décadas como método alternativo ao moluscicida químico, configurando um modo de controle viável para determinadas situações epidemiológicas (PONTIER & GIBODA 1999).

Os estudos sobre as interações ecológicas visando ao controle da esquistossomose despertam significativo interesse, pela capacidade que uma população tem de afetar a taxa de crescimento e de mortalidade de outra população, conseqüentemente, influenciando a distribuição e a abundância dos organismos (ESCH *et al.* 2001).

Um grande número de organismos vem sendo empregado no controle biológico dos planorbídeos, tais como os macropatógenos, os predadores, os parasitas e os competidores. Um exemplo de controle biológico pode ser evidenciado pelo trabalho de BRÖDERSEN *et al.* (2002) sobre a relação de predação existente entre peixes e *Bulinus globosus* (planorbídeo de água doce), no qual o autor observa que o *tamanho* grande de *Bulinus* era o preferido dos peixes da espécie *Sargochromis codringtoni*, de modo que o caráter *tamanho* foi levado à seleção, trazendo conseqüências epidemiológicas.

As aves também são predadoras de caramujos de água doce; sua acuidade visual as capacitam a encontrar moluscos em qualquer coluna d' água (ARAGÃO 1967).

GERARD (2001) estudou o efeito do parasitismo na estrutura e na variação temporal das comunidades de trematódeos e caramujos. Verificou correlação negativa entre abundância de gastrópodo e prevalência de trematódeo. O autor recomenda um estudo mais aprofundado das interações entre organismos de importância médica tendo em vista o controle biológico.

PONTIER & JOURDANE (2000) sugerem que caramujos competidores sem importância epidemiológica podem ser empregados para controlar populações de caramujos hospedeiros, em muitos tipos de ambientes e em situações onde a transmissão é baixa. Eles recomendam o controle biológico em áreas de baixa transmissão, idéia compartilhada por diversos autores.

3.2 Parasitismo

A ecologia dos parasitas compõe-se de várias espécies de organismos que desempenham papéis importantes para a evolução de seus hospedeiros.

Alguns estudos verificaram associação entre parasitas e populações hospedeiras, sexualmente obtidas, segundo os pesquisadores, por reunirem melhores condições de escaparem do coenvolvimento parasitário sobre as populações partenogenéticas (JOKELA & LIVELY 1995; JOKELA *et al.* 1999; LIVELY 1987,1992).

A pressão parasitária pode ainda influenciar as taxas de oviposição e crescimento dos moluscos. THORNHILL *et al.* (1986) verificaram em *B. glabrata* um aumento da oviposição e crescimento depois da exposição aos miracídios de *S. mansoni*. Vários autores concordam que tais comportamentos são mecanismos de compensação ao parasitismo, podendo gerar uma série de implicações na dinâmica populacional dos planorbídeos (MINCHELLA & LOVERDE 1981; BLAIR & WEBSTER 2001; SORENSEN & MINCHELLA 2001).

Segundo AGNEW *et al.* (2000), as respostas parasitárias podem incluir maturidade sexual antecipada, aumento da atividade sexual e maior investimento na reprodução. Os autores salientaram que moluscos infestados apresentam maior produção de ovos nas primeiras semanas, podendo posteriormente evoluir para castração do hospedeiro. A associação entre moluscos e trematódeos pode resultar em uma ação física ou fisiológica do parasita sobre a gônada do hospedeiro, levando-o à castração parasitária (PEARSON & CHENG 1985).

variações nas respostas parasitárias foram observadas por THOMAS *et al.* (2000), como por exemplo, a remoção de recursos dos hospedeiros, resultando em redução da fecundidade, do crescimento e da sobrevivência.

O parasitismo pode interferir também no padrão de distribuição espacial dos hospedeiros, propiciando maior variabilidade genética dessas populações, com implicações epidemiológicas (MULVEY & VRINJENHOEK 1982; GARTON & HAAG 1991).

As relações coevolucionárias entre parasitas e seus hospedeiros são consideradas complexas, e os estudos que se propõem a investigá-las devem considerar a história de vida do parasita e do hospedeiro, lembrando que cada um é levado a maximizar seu próprio “fitness” (SORENSEN & MINCHELLA 2001).

4. Aspectos da Biologia Reprodutiva

4.1 Hermafroditismo

Os caramujos pertencentes à família Planorbidae da qual faz parte o gênero *Biomphalaria*, são hermafroditas simultâneos. Essa característica lhes permite usar duas estratégias reprodutivas, a fecundação cruzada e a autofecundação.

O hermafroditismo é caráter comum aos moluscos pulmonados; os ovos e os espermatozoides são produzidos no mesmo indivíduo em uma glândula bissexual o ovoteste (GERAERTS & JOOSSE 1984).

Dois são os tipos de hermafroditismo: o seqüencial, que envolve alternância na produção de gametas masculinos e femininos no decorrer de grande parte da vida do animal, e o simultâneo, no qual a produção de ambas as células reprodutivas se faz ao mesmo tempo.

O hermafroditismo possibilita ao organismo reproduzir por autofecundação e/ou fecundação cruzada, que, aliás, é mais freqüente (PARAENSE 1955; DUNCAN 1975) e também lhes confere a capacidade de alocar recursos para cada função sexual em resposta adaptativa às condições ambientais (GHISELIN 1969; MICHIELS 1999).

Segundo HELLER (1993) e MICHIELIS (1999), o hermafroditismo é vantajoso em situações onde é difícil o acasalamento devido à redução de oportunidades, como baixa mobilidade ou baixa densidade populacional. Muitas explicações teóricas são dadas para se entender o significado funcional do hermafroditismo.

4.2 Aparelho Reprodutor

A estrutura do aparelho reprodutor de *Biomphalaria* (Figura 5), tal como a dos demais pulmonados é relativamente complexa. Eles possuem uma gônada bissexual chamada ovosteste, que se situa na porção apical da massa visceral. Seus gametas, tanto masculinos como femininos são originados simultaneamente em ácinos, estrutura que forma a gônada; têm um canal coletor à vesícula seminal e chegam a uma pequena câmara denominada encruzilhada genital ou *carrefour* e, por fim, destacam-se o oviduto e espermiduto (JOOSSE & REITZ 1969).

Ao longo do trato genital feminino encontram-se o oviduto e a glândula nidamental, cuja função é acrescentar em torno dos ovos várias membranas, dando origem a uma cápsula gelatinosa que, após transitar por um pequeno trecho da via feminina, chamada oviduto livre ou útero, aborda a vagina. Do útero destaca-se o duto da espermateca com dilatações sacciformes que armazenam espermatozóides quer vindas do parceiro (aloespermatozóides) quer originados no próprio organismo.

O sistema reprodutor masculino inicia-se pelo espermiduto, seguido pela próstata e, na sua porção distal, o vaso deferente e o complexo peniano, que é formado pelo saco vérgico e prepúcio. O prepúcio abre-se no lado esquerdo do cefalopódio e a vagina abre-se no istmo (colo), que liga à massa visceral (MALEK 1985;)

Um esquema do sistema reprodutivo de *B. tenagophila* pode ser observado a seguir (Figura 5).

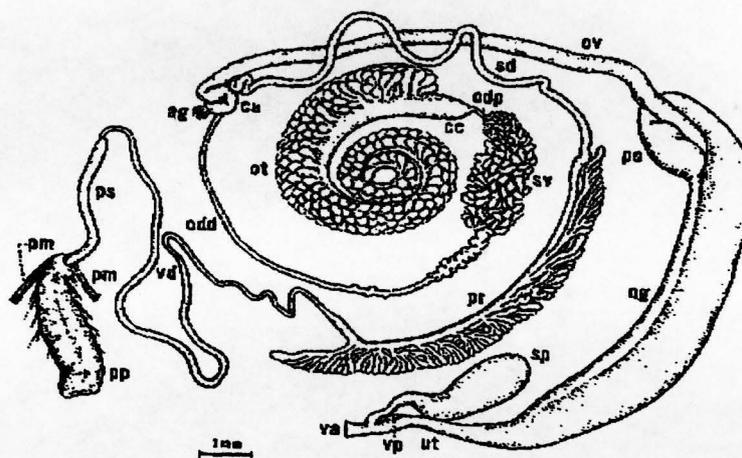


Figura 5- Sistema reprodutivo de *Biomphalaria tenagophila*. Fonte: Malek 1985.

Legenda

ag-glândula de albúmen; ca-carrefour; cc canal coletor do ovoteste; ng - glândula nidamental; odd - óviespermiduto (segmento distal) odp-oviespermiduto (segmento proximal); ot-ovoteste; ov-oviduto; pm - músculo protator; po-bolsa do oviduto; pp-prepúcio; pr-próstata; ps-saco vérgico; sd-espermiduto; sp - espermateca; sv - vesícula seminal; ut-útero; va-vagina; vd - vaso deferente; vp-bolsa vaginal.

Nos planorbídeos, a cópula é normalmente unilateral, com um caramujo agindo como macho e outro como fêmea (VIANEY-LIAUD *et al.* 1989; VERNON & TAYLOR 1996).

A fertilização é interna; os ovos são encapsulados para a proteção e eliminados, ocorrendo o desenvolvimento embrionário no meio externo. A cápsula de ovos é envolvida por uma membrana gelatinosa com substância albuminosa opaca denominada desova, que enrijece lentamente em contato com a água. O aspecto da desova é de um disco elíptico transparente, firme e flexível (GERAERTS & JOOSSE 1984; KAWANO 1995). Na natureza, as desovas são depositadas sobre o lado inferior das plantas aquáticas ou qualquer suporte sólido, como pedras e conchas de outros caramujos. A oviposição geralmente é noturna e, em laboratório, ocorre durante todo o ano.

O período do desenvolvimento embrionário dos ovos varia de 7 a 9 dias, seguido da eclosão, de acordo com a espécie (REY 1956). Os jovens caramujos levam de 2 a 3 meses para atingir a maturidade sexual na dependência da espécie e dos fatores ambientais (CAMEY & VERDONK 1970).

4.3 Sistema de Acasalamento

Conhecer as atividades sexuais e os papéis sexuais dos caramujos hermafroditas é importante para o esclarecimento do papel da autofecundação e fecundação cruzada, embora ainda muito controvertido. Os estudos sobre sistemas de acasalamento e os papéis sexuais desempenhados pelos moluscos de água doce foram iniciados em 1941 por BRUMPT, que observou numerosos acasalamentos em pares de *B. glabrata* com transferência unilateral de espermatozoides.

Estudos posteriores confirmam a observação de BRUMPT sobre a transferência unilateral de espermatozoides em caramujos pareados (VIANEY-LIAUD *et al.* 1989, 1996; VERNON & TAYLOR 1996).

Os métodos mais empregados para se conhecer os possíveis comportamentos de acasalamento, consistem em observações diretas e na utilização de marcadores genéticos, caramujos das linhagens albina (caráter recessivo) e pigmentada homocigota (caráter selvagem) envolvidos nos cruzamentos de interesse. Por meio das desovas dos caramujos albinos é fácil visualizar a frequência de embriões pigmentados, sendo possível, assim, inferir sobre o modo de reprodução (VIANEY-LIAUD 1989; JARNE *et al.* 1993). Segundo JARNE *et al.* (1993) os marcadores de eletroforese também foram muito usados em basomatoforos para estudo dos sistemas de acasalamento baseados na estrutura genética populacional.

Como se sabe, a reprodução sexual nesse grupo de moluscos é feita principalmente por meio da fecundação cruzada, e os tipos de pareamentos realizados durante a cópula dos pulmonados de água doce são variados. De modo geral, podem se apresentar como unilaterais, em cadeia e recíprocos (DUNCAN 1975; MONTEIRO *et al.* 1984; DIAS 1995). O trabalho de DIAS (1995) registrou pela primeira vez a transferência simultânea bilateral de espermatozoides (cópula recíproca simultânea) entre pares isolados de *B. tenagophila*. Já o trabalho de VERNON & TAYLOR (1996) demonstrou que os exemplares de *B. glabrata* copularam como macho e fêmea e que a transferência recíproca pode acontecer como exceção, em acasalamentos isolados. Eles afirmaram que a tendência para a cópula recíproca ocorre apenas com os caramujos que estiveram isolados.

Em agregados de caramujos, os autores acreditam que o acasalamento unilateral com parceiros diferentes a cada tempo é uma estratégia melhor do que a reciprocidade para se maximizar a quantidade da variabilidade genética da progênie.

Não obstante os inúmeros dados empíricos, constata-se que a literatura sobre o comportamento de cópula e papéis sexuais desempenhados pelos caramujos ainda é vaga, havendo muitas dúvidas a respeito.

4.4 Um Balanço da Literatura sobre a Biologia Reprodutiva dos Caramujos Hermafroditas

A maioria dos trabalhos referentes à biologia dos caramujos ressalta a importância dos aspectos reprodutivos, baseados principalmente em observações de laboratório, mesmo porque não se pode obter essas informações valiosas em campo, dada a impossibilidade de quantificar muitos parâmetros.

A biologia dos caramujos hospedeiros intermediários vem sendo estudada, pelo menos, desde a década de 1930, com os trabalhos de FAUST & HOFFMAN (1934) e BRUMPT (1941), que investigaram populações de *B. glabrata* em condições de laboratório.

No Brasil, REY (1956) foi pioneiro no estudo da bioecologia dos caramujos hospedeiros intermediários.

PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ, em 1958, estudando a biologia de *Biomphalaria*, obteve dados da idade e tamanho na maturidade sexual, fecundidade, taxa de eclosão de *B. glabrata* sob influência de diferentes temperaturas, entre outros fatores abióticos. Esses dados foram levados à comparação entre autofecundação e fecundação cruzada, sendo a fecundação

cruzada o modo de reprodução que obteve vantagens quantitativas na maioria das variáveis analisadas.

MICHELSON (1961) estudou o efeito de choques térmicos no crescimento e na reprodução de *B. glabrata* e concluiu que a temperatura de 25°C é a ideal para as funções metabólicas, assim como PAULINI & CAMEY (1964), que encontraram nessa temperatura maior frequência na oviposição de *B. glabrata*.

O efeito da densidade populacional na reprodução foi estudado por STURROCK & STURROCK (1970), concluíram que a elevada densidade acarreta menor fecundidade populacional. Os mesmos autores estudaram a influência da temperatura no desempenho reprodutivo de populações de laboratório e constataram um atraso no amadurecimento sexual e no crescimento de *B. glabrata* à temperatura de 20°C (STURROCK & STURROCK 1972).

A influência da alimentação na fecundidade dos moluscos criados em laboratório foi investigada por ANDRADE *et al.* (1972), que salientaram a importância desse fator na reprodução das populações que vivem em condições artificiais.

Um estudo comparativo dos caracteres reprodutivos observados entre *B. glabrata* e *B. tenagophila*, realizado por KAWAZOE (1975), a autora revelou que há diferenças significativas entre as duas espécies.

PARAENSE (1976) estudou o possível sítio de ocorrência da fecundação cruzada em *Biomphalaria glabrata*, usando ⁵⁹Fe radioativo como marcador de espermatozóides. Os resultados sugerem que os aloespermatozóides acumulam-se no ovoteste como possível sítio da fecundação cruzada, e a autofecundação, segundo todos os indícios, tem lugar na vesícula seminal, onde seus próprios espermatozóides podem ficar estocados por um período de tempo.

A influência dos fatores abióticos, como temperatura e luz artificial, nos acasalamentos de *B. glabrata* foi investigado por PIMENTEL-SOUZA *et al.* (1988). Seus resultados sugerem que sob certa intensidade de luz e temperatura há um aumento na frequência dos acasalamentos.

DOUMS *et al.* (1996) estudaram caramujos isolados e pareados; segundo os autores, a diferença entre ambos é a cópula, sendo a cópula mais custosa em termos de tempo e energia, e com o tempo é esperada a redução da fecundação cruzada.

O modo de reprodução é um dos aspectos mais pesquisados com o objetivo de elucidar os papéis da autofecundação e fecundação cruzada nos caramujos hermafroditas, com numerosos estudos teóricos e empíricos, alguns dos quais serão apresentados a seguir.

PARAENSE (1955) investigou o modo de reprodução em *B. glabrata* e concluiu que a fecundação cruzada é mais freqüente, embora a autofecundação seja mecanismo importante para recolonizar locais cujas populações sofreram drástica redução devido às variações climáticas. Salientou que a fecundação cruzada é o modo pelo qual se mantém a variabilidade genética.

O estudo de THOMAS & BENJAMIN (1974) revelou que caramujos em condições de isolamento desovam menos em relação a caramujos agrupados. Tal resultado foi interpretado como consequência do modo de reprodução.

Resultado oposto ao trabalho anterior foi obtido por BAYOMY & JOOSSE (1987) em seu estudo sobre o efeito do agrupamento na oviposição dos caramujos de água doce. Os caramujos em condições de isolamento desovaram mais em relação aos caramujos agrupados.

Ja o trabalho de MONTEIRO *et al.*(1984) revela uma compreensão menos exclusiva sobre o modo de reprodução que uma população de moluscos pode adotar. Os autores admitem que a fecundação cruzada pode ser mantida simultaneamente com a autofecundação.

Tal entendimento recebeu apoio de outros estudos, entre os quais os de HOFFMANN (1987), que analisou populações naturais de *Biomphalaria* e encontrou alto grau de monomorfismo e homozigidade, sugerindo que na natureza a autofecundação deve assumir papel mais importante do que aquele que lhe é atribuído.

NJOKOU *et al.* (1992) verificaram que a autofecundação pode ser selecionada por uma população e a fecundação cruzada pode ser o sistema de acasalamento regular de outra população, indicando assim uma possível incompatibilidade reprodutiva entre as duas populações. PARAENSE (1959) observou esse comportamento entre duas populações geograficamente distantes quando realizava cruzamentos experimentais e referiu-se ao parcial isolamento reprodutivo como consequência da variabilidade genética.

Os estudos de MCCRACKER & SELANDER (1980); MULVEY & VRIJENHOEK (1982), revelaram que a autofecundação é o mecanismo freqüente de reprodução quando a heterozigidade apresenta-se baixa, e a fecundação cruzada, quando é alta a heterozigidade.

VIARD *et al.* (1997) observaram que é comum uma população se reproduzir por autofecundação e apresentar menor variabilidade. Segundo os autores, determina-se a variabilidade populacional principalmente pela história de vida e dos processos demográficos expressos pela variação do tamanho populacional, deriva genética, efeito fundador, entre outros.

Estudos realizados por MASCARA & MORGANTE (1991) revelaram variação genética existente entre nove populações de *Biomphalaria tenagophila*. Os autores afirmam

que a fecundação cruzada é responsável pelo elevado polimorfismo encontrado nas populações.

Muitos estudos tentam responder em quais condições a autofecundação e fecundação cruzada são selecionadas. Segundo JARNE *et al.*(1993), “a evolução da autofecundação e fecundação cruzada é dirigida por numerosas forças; a autofecundação pode ser selecionada sob condições de baixa densidade populacional, para preservar uma adaptação local ou pelo *parasitismo*, enquanto a fecundação cruzada é favorecida em muitas situações, entre elas pelo estoque de espermatozoides por muitos meses”. Os mesmos autores salientam ainda que o papel da dessecação é particularmente relevante para autofecundação.

Finalmente, como se pode notar, a extensa literatura a respeito expressa a relevância do modo de reprodução na tentativa de desvendar o significado evolutivo da autofecundação e fecundação cruzada nos caramujos hermafroditas. Na verdade, muitos estudiosos vêem na reprodução sexual um dos problemas da teoria evolutiva mais difíceis de serem resolvidos, assim como a questão das condições que favorecem a evolução de fenômenos como a autofertilização (FUTUYMA 1986).

5. Evidências para a Elaboração da Hipótese de Trabalho e Objetivos

Algumas evidências foram relevantes para a proposição da hipótese norteadora do presente trabalho, que pretende estudar duas populações de *B. tenagophila* provenientes de Tremembé e Sorocaba:

I. *Estudo com marcadores moleculares realizados nas mesmas populações aqui estudadas* revelou variabilidade genética entre as populações de Sorocaba e Tremembé (TUAN 2001). A população de Tremembé mostrou-se mais homogênea e a população de Sorocaba mais heterogênea.

II. A história epidemiológica das localidades de origem de ambas populações é diferente: Tremembé é uma área endêmica e Sorocaba, uma área sem transmissão de esquistossomose. Os *habitats* das populações de *B. tenagophila* possuem características ecológicas distintas. Em Tremembé, os caramujos são encontrados nas várzeas de arroz e em Sorocaba, nas lagoas.

III. A morfologia das conchas das duas populações apresentaram diferenças, embora não se dê a este caráter valor taxonômico (PARAENSE 1961).

5.1 Hipótese

Diante de tais evidências referentes às populações de *B.tenagophila*, a hipótese de trabalho pode ser enunciada conforme segue:

As populações de *B. tenagophila* de Sorocaba e Tremembé se diferenciam também no aspecto reprodutivo, uma vez que seus contextos eco-epidemiológico são distintos.

5.2 Objetivos

- 1) Comparar as variações encontradas entre as populações de *B.tenagophila*, quanto aos aspectos reprodutivos.
- 2) Relacionar as características reprodutivas das populações de *B.tenagophila* no contexto do sistema eco-epidemiológico dos respectivos meio ambientes.
- 3) Discutir a relevância das variações encontradas com a perspectiva de ampliar os conhecimentos da biologia de *Biomphalaria* e visando a contribuir com medidas de controle da esquistossomose.

6. Procedimentos Metodológicos

6.1 População de Estudo

As populações de caramujos de água doce que foram estudadas pertencem à espécie *Biomphalaria tenagophila* (D'ORBIGNY 1838) (Mollusca : Pulmonata).

6.2 Procedência das Populações de *Biomphalaria tenagophila*

População de Tremembé

Os caramujos foram coletados nas várzeas de arroz da Fazenda Torogimbo, área rural da cidade de Tremembé (Figura 25), pertencente ao Vale do Paraíba, no Estado de São Paulo.

A cidade de Tremembé é considerada área endêmica de esquistossomose, com história de transmissão ocorrida nas várzeas de arroz das fazendas locais que se constituíram em grandes focos de esquistossomose no passado (SUCEN 1994).

A população de planorbídeos das várzeas de arroz está sujeita à ação de vários fatores, como fertilizantes e pesticidas, da alternância dos períodos de seca e inundação devido à fase do cultivo de arroz representando um ambiente instável.

Caracterização da várzea de arroz e da população planorbídica em duas épocas distintas: no período de inundação das várzeas, a população de *B. tenagophila* apresentou-se muito prolífica, característica esta evidenciada pela elevada densidade populacional. Na fase pós-colheita de arroz, a várzea seca e os caramujos são encontrados enterrados no local, em estado de dessecação, caracterizando um quadro de redução populacional drástica. O período

de seca dura aproximadamente 100 dias, correspondendo aos meses de maio a agosto, quando novamente inicia-se o período de inundação das várzeas para a fase de plantio, entre setembro e outubro, permanecendo cheia até final de março e o mais tardar início de abril.

População de Sorocaba

Os caramujos foram capturados numa lagoa que reúne várias outras (Figura 26), entre as quais lagoas com caminhos (trilhas) e a presença de árvores, arbustos e subarbustos. A vegetação marginal das lagoas é constituída de plantas aquáticas e semi-aquáticas, localizada em área urbana da cidade de Sorocaba, Estado de São Paulo. Estas lagoas ficam próximas ao rio Sorocaba que atravessa a cidade.

Foi possível observar em duas épocas distintas, verão e inverno, que as condições ambientais das lagoas apresentaram poucas variações, a não ser quanto ao volume de água, que diminui um pouco nas estações de pouca chuva, portanto, um ambiente mais estável, apresentando uma bióta constituída por muitos grupos de animais e vegetais. A densidade populacional de *B. tenagophila* nessas lagoas não variou nas diferentes épocas do ano nas quais foram observadas.

A importância epidemiológica da esquistossomose para a cidade de Sorocaba é pequena, sem ocorrência de transmissão autóctone, embora conte com a presença do hospedeiro intermediário (SUCEN 1994).

FIGURA 25: VÁRZEA DE ARROZ EM TREMEMBÉ

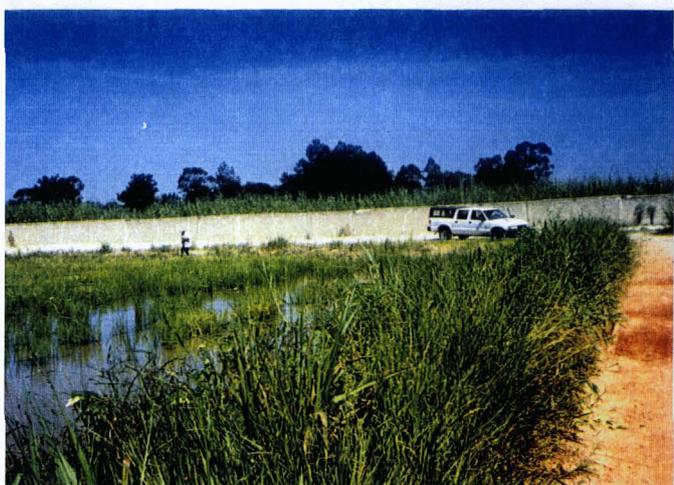
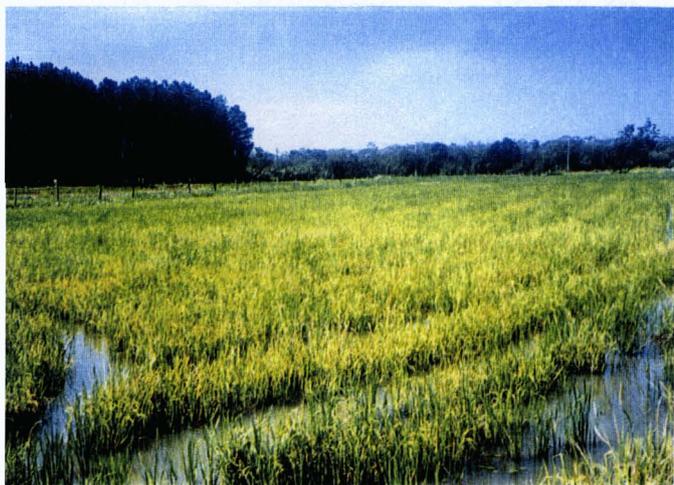


FIGURA 26: LAGOAS EM SOROCABA



6.3 Coleta e Manutenção das Populações de *Biomphalaria tenagophila* e Obtenção das Gerações de Laboratório

Os caramujos coletados das populações de *B. tenagophila* de Sorocaba e Tremembé foram levados ao laboratório de Malacologia da Sucen, onde foram identificados quanto à espécie e se realizou uma pesquisa para verificação de infestação de cercárias. O termo cercária é usado para designar o estágio larvário, forma imatura do parasita trematódeo *Schistosoma mansoni*, liberado pelos caramujos hospedeiros intermediários, quando infestados (REY 1973).

Ambas as populações de caramujos estiveram livres da infestação de cercárias e foram consideradas aptas para manutenção em laboratório.

Em seguida foram colocadas em caixas de plástico com capacidade para 20 litros de água, com aeração ininterrupta e alimentação à base de alface fresca. Nesses aquários foram mantidas as “populações matrizes” de Sorocaba e Tremembé.

A população matriz de Sorocaba foi composta com aproximadamente 50 caramujos e a população matriz de Tremembé com 90 caramujos.

Dessas populações, foram coletadas as desovas para dar início às gerações de laboratório. Provavelmente, a maioria das desovas resultou da fecundação cruzada ocorrida entre os caramujos, quando ainda estavam no campo e/ou nos próprios aquários-matrizes.

As desovas foram mantidas com água declorada em placa de Petri por um período de aproximadamente sete dias, até a eclosão dos caramujos. Uma vez eclodidos, os animais foram

transferidos para pequenos mini-aquários de vidro (copo de vidro) numa quantidade de 20 indivíduos por mini-aquário, identificados com a data de eclosão.

Esses recipientes foram previamente preenchidos com água dechlorada e abastecidos com pedacinhos de alface fresca para alimentar os caramujos recém-eclodidos. Semanalmente os aquários eram limpos e a água, trocada.

Após um período de 30 dias, os caramujos foram individualizados em copos de vidro (mini-aquário) com a finalidade de se acompanhar o desenvolvimento e a maturidade sexual. Ao atingir a maturidade sexual, os caramujos, ainda isolados, foram medidos quanto ao diâmetro da concha com a utilização de um paquímetro. Considerou-se essa a geração parental (P), a primeira obtida em laboratório.

Quando a maioria dos caramujos atingiu a maturidade sexual, foram formados os grupos experimentais para dar início ao estudo da autofecundação e fecundação cruzada. A geração F1 de laboratório foi formada com desovas selecionadas dos casais experimentais da geração P, que se reproduziram por fecundação cruzada. As etapas subseqüentes à seleção das desovas foram as mesmas descritas anteriormente. Na seqüência, com os caramujos maduros sexualmente, formaram-se os grupos experimentais.

6.4 Delineamento Experimental

Definiu-se o delineamento a ser adotado para verificar variações quanto a aspectos reprodutivos das populações de *B. tenagophila* de Sorocaba e Tremembé.

Para isso foram avaliadas duas gerações de laboratório (P e F1) de ambas as populações de *B. tenagophila*, de modo que a fase experimental foi executada em duas etapas. Os quadros 1 e 2 representados a seguir ilustram os delineamentos adotados para as populações de Sorocaba e Tremembé.

Modo de reprodução	Fecundação cruzada	Autofecundação
Geração P n= 45 caramujos	30 caramujos acasalados 15 casais	15 caramujos isolados
Geração F1 n= 60 caramujos	30 caramujos acasalados 30 casais	30 caramujos isolados

n= número amostral de caramujos

Quadro 1- Delineamento experimental utilizado para o estudo de *Biomphalaria tenagophila* procedente de Sorocaba, SP.

Modo de reprodução	Fecundação cruzada	Autofecundação
Geração P n= 45 caramujos	30 caramujos acasalados 15 casais	15 caramujos isolados
*Geração F1 n= 39 caramujos	26 caramujos acasalados 13 casais	13 caramujos isolados

n= número amostral de caramujos

Quadro 2- Delineamento experimental utilizado para o estudo de *Biomphalaria tenagophila* procedente de Tremembé, SP.

* Geração F1 de Tremembé foi constituída com menos indivíduos devido à alta mortalidade, em condições de laboratório.

Cada casal foi colocado em aquário com capacidade de 350ml de água e os caramujos individualizados em mini-aquário com 175ml de água, (metade do volume, eliminando, assim, possíveis interferências de densidade populacional).

Os caramujos foram alimentados com alface fresca duas vezes por semana; a água dos aquários era trocada uma vez por semana.

As desovas foram coletadas das pequenas folhas de plástico colocadas dentro de cada mini-aquário com função de suporte para os caramujos desovarem, tal procedimento foi repetido duas vezes por semana.

Com auxílio do microscópio estereoscópio, o número de ovos de cada capsula ovígera (desova) era contado e depois registrado. Após esse procedimento, as desovas eram colocadas em copinhos de plásticos, previamente preenchidos com água e identificados segundo o mini-aquário correspondente, desse modo foi obtido o número de ovos eclodidos por caramujo e por casal. O procedimento foi aplicado apenas na segunda etapa de observação, relacionada a geração F1.

A condição experimental foi conduzida em ambiente cujos fatores luz e temperatura não foram controlados, tendo sido registrada apenas as variações da temperatura da água e do ambiente local cuja iluminação era natural. O tempo de observação das duas populações foi simultâneo. A geração P de ambas populações foi observada por 12 semanas e a geração F1 por 11 semanas.

6.5 Coleta dos Dados

As variáveis abaixo foram observadas e registradas nas gerações (P e F1) das duas populações de *Biomphalaria tenagophila*:

- 1) desovas e ovos viáveis
- 2) ovos inviáveis
- 3) ovos (*embriões*) eclodidos
- 4) diâmetro da concha ao atingir a maturidade sexual
- 5) fecundidade: número de ovos viáveis / número de desovas (obs. consideraram-se ovos com qualidade fértil)
- 6) fertilidade: número de ovos eclodidos / número de ovos viáveis x 100

7. Análises Estatísticas

A análise estatística foi realizada no Centro de Estatística Aplicada (CEA) da USP e a descrição das técnicas baseou-se no ¹Relatório das Análises Estatísticas (ANDRÉ *et al.* 2002).

Técnicas estatísticas utilizadas:

- 1) Análise descritiva unidimensional
- 2) Regressão não linear
- 3) Análise de variância com efeitos fixos.

7.1 Análise Descritiva

Com o objetivo de comparar as variáveis desova, ovo viável, ovo inviável, ovo eclodido, fecundidade, fertilidade e diâmetro da concha na maturidade sexual, entre as populações de Sorocaba e Tremembé, gerações P e F1, bem como os modos de reprodução: autofecundação e fecundação cruzada, foram analisadas para cada variável de interesse:

- os perfis médios com respectivos erros padrões, ao longo das semanas, e também considerando o conjunto das semanas.

¹Relatório das Análises Estatísticas (RAE-CEA-02P13-2002) realizado pelo Centro de Estatística Aplicada do IME-USP.

7.2 Análise Inferencial

O objetivo da análise inferencial é extrapolar os resultados da amostra para o restante da população estudada. A análise foi separada em três partes:

- 1) comparações das médias das variáveis de reprodução entre as populações, gerações e os modos de reprodução (autofecundação e fecundação cruzada), considerando as semanas conjuntamente;
- 2) comparação dos diâmetros médios das conchas entre as populações e gerações.
- 3) avaliação da existência de associação linear entre o diâmetro da concha dos caramujos ao atingir a maturidade sexual e variáveis da reprodução (desova, ovo viável e fecundidade), considerando as semanas conjuntamente.

A seguir serão descritas as técnicas empregadas para o desenvolvimento dos itens 1, 2 e 3.

7.2.1 Comparações das Médias das Variáveis de Reprodução

Primeiramente, para cada uma das variáveis, verificou-se se há diferenças, em médias, entre as populações (Sorocaba ou Tremembé), gerações (P ou F1) e os dois modos de reprodução (autofecundação ou fecundação cruzada).

A técnica de análise geralmente utilizada para a comparação de médias é a análise de variância (ANOVA). Para utilizar essa técnica, é necessário que os dados tenham distribuição normal. Isto não se verificou, principalmente por causa da natureza dos dados que foram em sua maioria contagens. A suposição de independência das observações também não foi satisfeita, uma vez que várias observações do tipo

(população, geração e modo de reprodução) foram feitas em um mesmo casal ou caramujo isolado por várias semanas.

Os modelos marginais utilizam a técnica de equações de estimação generalizada (DIGGLE *et al.* 1994) incorporam a estrutura de dependência existentes nos dados e não exigem que os dados tenham distribuição normal. Apesar de se utilizar essa técnica mais apurada, a estratégia dos testes e a interpretação dos resultados são análogos aos que seriam obtidos com a ANOVA.

7.2.2 Comparações das Médias da Variável Diâmetro

Para comparar os diâmetros médios das conchas entre as populações (Sorocaba ou Tremembé) e gerações (P ou F1), a técnica geralmente utilizada é a análise de variância (ANOVA) com dois fatores fixos (NETER *et al.*, 1996), que são população e geração. Para utilizar essa técnica, necessita-se que os dados tenham distribuição normal e variância constante. Essas duas suposições não se verificaram, assim, ajustou-se um modelo linear generalizado (MCCULLAGH & NELDER 1989) com distribuição Gama. A estratégia dos testes e a interpretação dos resultados são feitos de forma análoga aos do item 6.2.1 “Comparações das médias das variáveis de reprodução”.

7.2.3 Associação entre a Variável Diâmetro e algumas Variáveis de Reprodução

Para verificar se existe associação linear entre o diâmetro da concha dos caramujos e algumas das variáveis da reprodução, foram considerados conjuntamente os dados obtidos nas várias semanas de estudos.

O procedimento adotado na análise foi o mesmo utilizado no item 6.2.2 a diferença está no objetivo, que antes era comparar as médias, e agora é ajustar e comparar modelos de regressão para descrever possíveis relações lineares entre o diâmetro da concha e as variáveis-respostas: desova, ovo e fecundidade.

Os caramujos acasalados (em dupla) tiveram os dados das variáveis associados a média dos dois diâmetros das conchas.

8. Resultados

As figuras e tabelas aqui apresentadas referem-se ao estudo comparativo dos aspectos reprodutivos entre duas populações de *Biomphalaria tenagophila*. Os resultados permitem as comparações intrapopulacional e interpopulacional das médias das variáveis de interesse segundo o modo de reprodução observados ao longo das semanas e o conjunto das semanas.

As figuras 5 e 6 a seguir apresentam médias das desovas nas populações Sorocaba e Tremembé na geração P e F1.

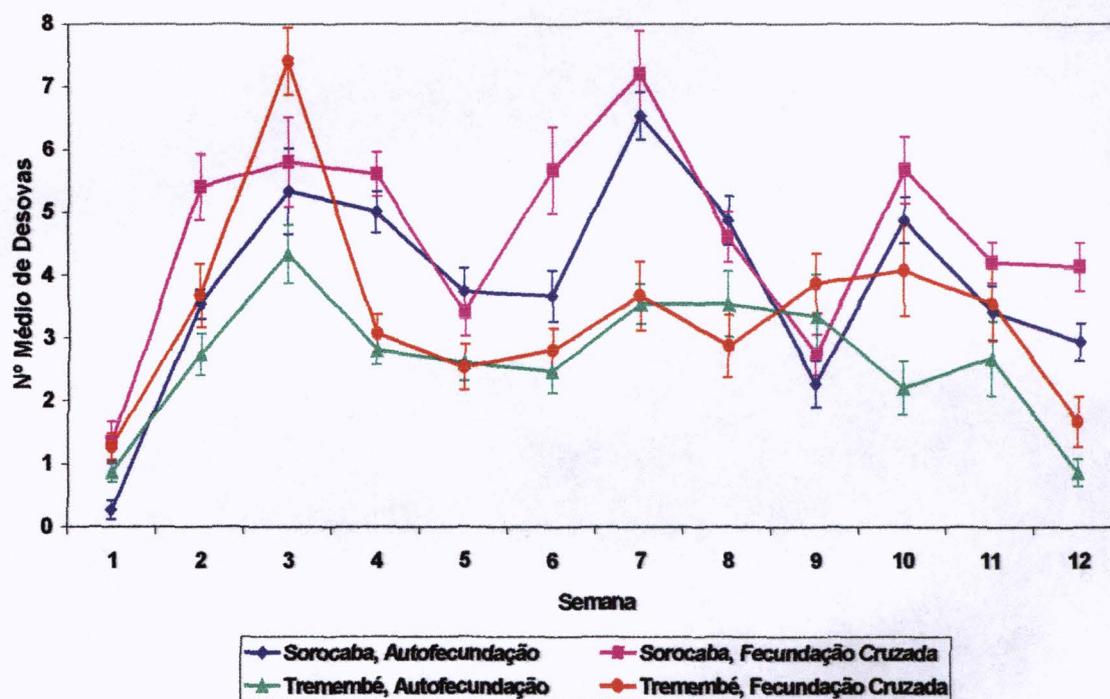


Figura 5: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável desova, segundo modo de reprodução, população da geração (P) ao longo das semanas.

A população de *B. tenagophila* de Sorocaba apresenta superioridade nas médias semanais das desovas em relação à população de *B. tenagophila* de Tremembé.

Pode-se observar que a fecundação cruzada é o modo de reprodução com maiores médias nas populações de Sorocaba e Tremembé.

Pode-se observar que a fecundação cruzada é o modo de reprodução com maiores médias nas populações de Sorocaba e Tremembé.

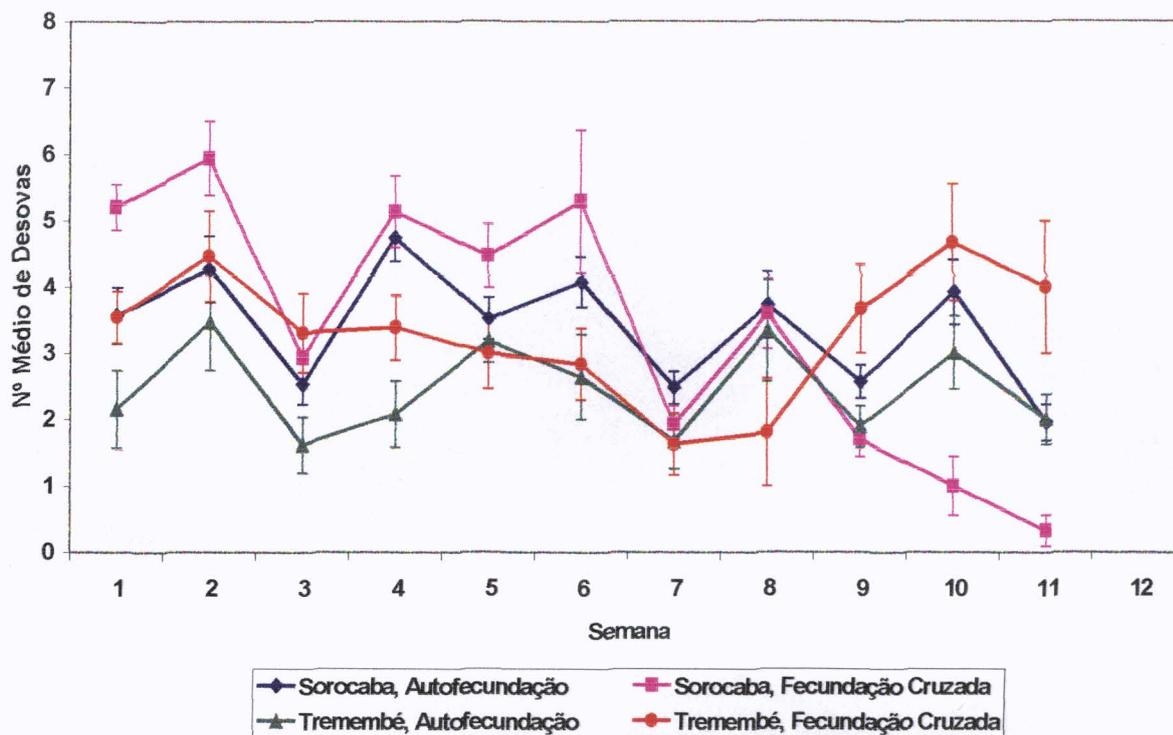


Figura 6: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável desova, segundo modo de reprodução população da geração (F1) ao longo das semanas.

A população de *B. tenagophila* de Sorocaba na Figura 6 apresenta as maiores médias em relação à população de *B. tenagophila* de Tremembé.

Novamente, as duas populações registram as maiores médias de desovas em fecundação cruzada.

De modo geral, observa-se que as duas populações nas gerações P e F1 apresentam variações semanais nas médias das desovas.

A Figura 7 compara as médias das desovas entre as populações, considerando o conjunto das semanas.

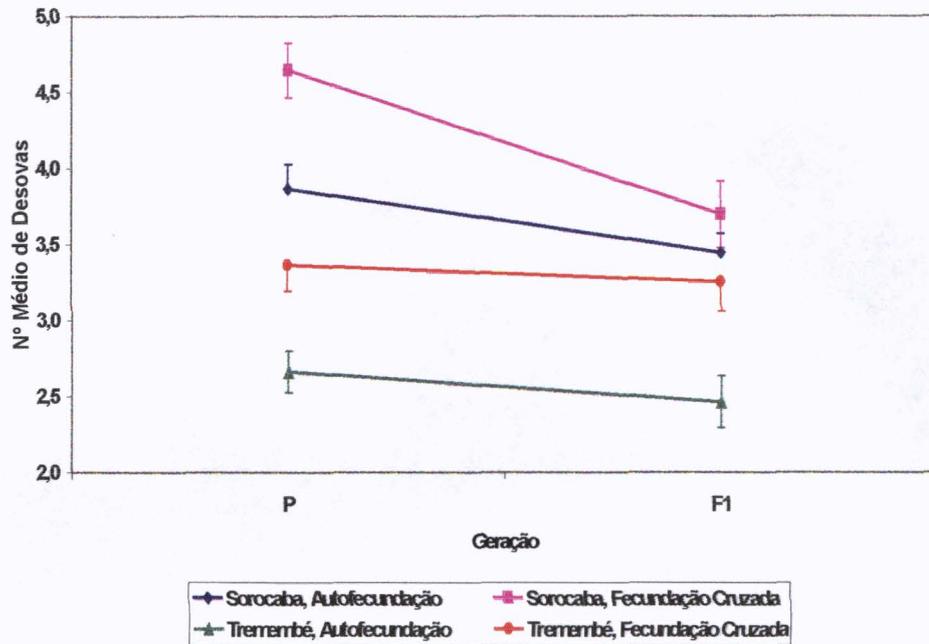


Figura 7: Médias com respectivos erros padrão da variável desova, segundo modo de reprodução, população e geração.

Nota-se que as médias das desovas obtidas na geração P é superior em relação à geração F1. As médias apresentam-se superiores em fecundação cruzada nas duas populações e gerações que foram observadas, podendo ser conferida na Tabela 1.

Tabela 1: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável desova, segundo modo de reprodução, população e geração.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
P	Sorocaba	Autofecundação	180	3,9	2,136
		Fecundação cruzada	180	4,6	2,405
	Tremembé	Autofecundação	180	2,7	1,825
		Fecundação cruzada	180	3,4	2,318
F1	Sorocaba	Autofecundação	296	3,4	2,137
		Fecundação cruzada	142	3,7	2,607
	Tremembé	Autofecundação	117	2,5	1,850
		Fecundação cruzada	98	3,3	1,949

Resultados da análise inferencial da variável desova:

- as populações de caramujos de Sorocaba e Tremembé da geração P desovaram em média 11% mais do que a geração F1 ($p < 0.0001$);
- a população de Sorocaba P e F1 desovou em média 36% a mais em relação a população de Tremembé P e F1 ($p < 0,0001$);
- quanto ao modo de reprodução, a fecundação cruzada de ambas as populações (Sorocaba e Tremembé) nas duas gerações obtiveram em média 20% mais desovas em relação à autofecundação ($p < 0,0001$).

As Figuras 8 e 9 a seguir apresentam as médias de ovos viáveis obtidas pelas duas populações nas gerações P e F1.

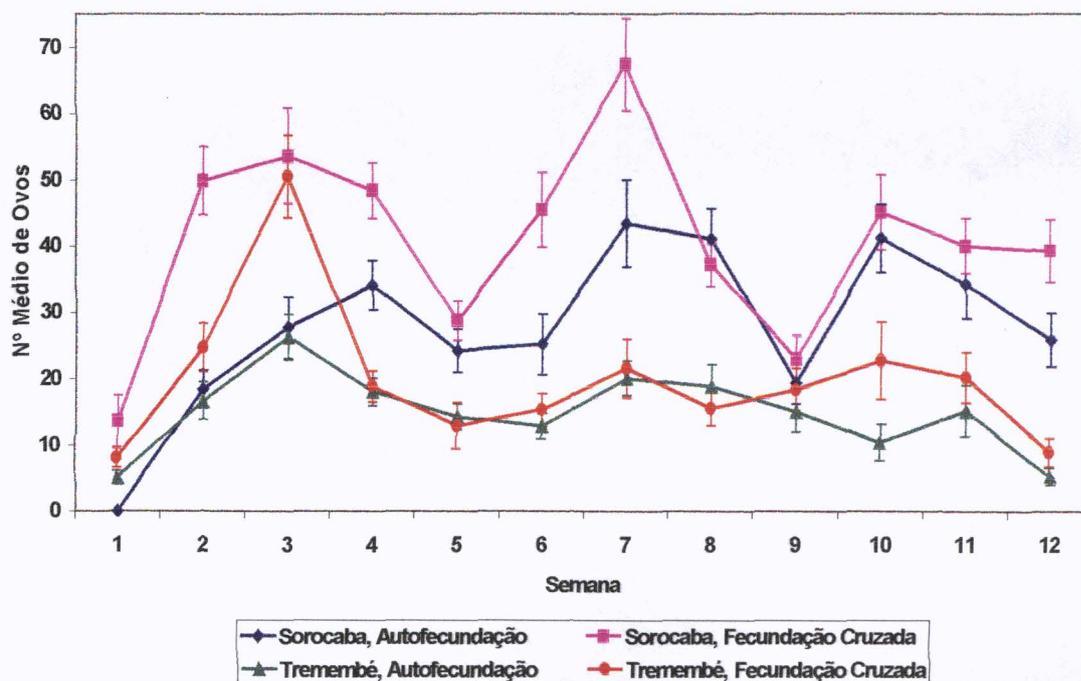


Figura 8: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo, segundo o modo de reprodução, população e geração P ao longo das semanas.

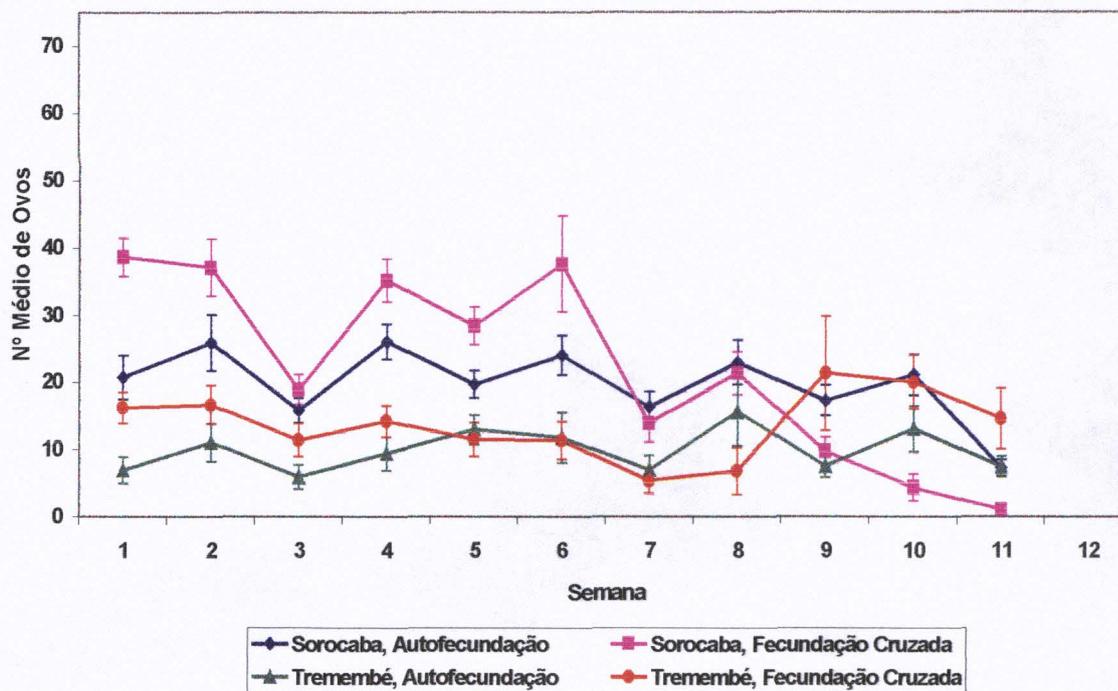


Figura 9: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo, segundo o modo de reprodução, população e geração F1 ao longo das semanas.

B. tenagophila de Sorocaba das gerações P e F1 apresentam superioridade nas médias dos ovos em relação à *B. tenagophila* de Tremembé nas respectivas gerações ao longo das semanas.

Quanto ao modo de reprodução, a fecundação cruzada da população de Sorocaba, apresenta as maiores médias de ovos e a população de Tremembé com médias de ovos discretamente maiores na fecundação cruzada em relação à autofecundação.

Ambas as populações apresentam variações semanais nas médias dos ovos, observadas nas gerações P e F1.

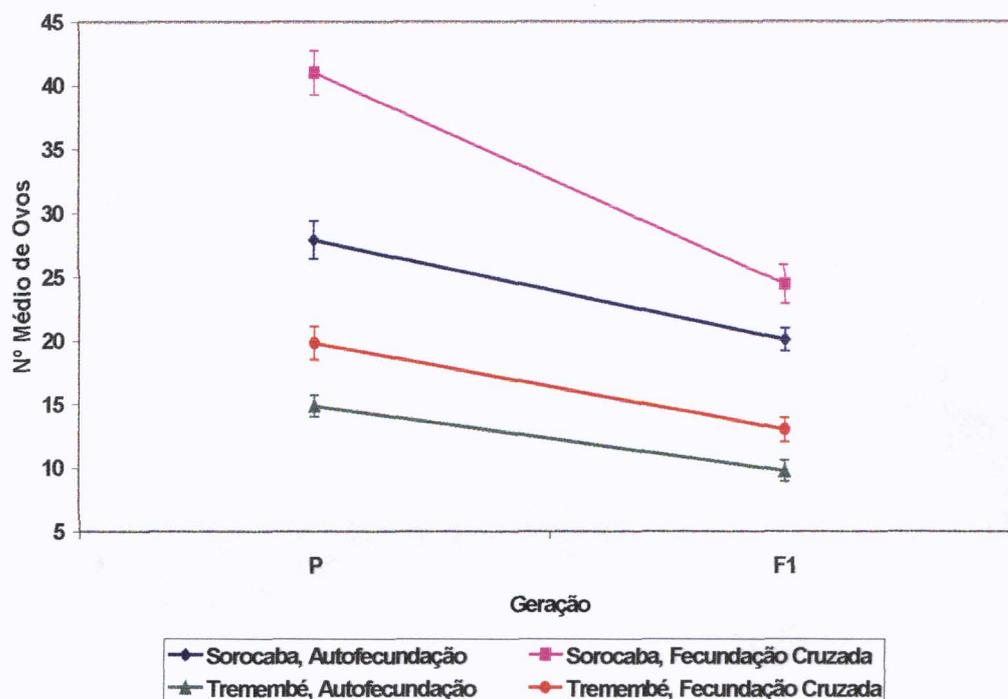


Figura 10: Médias com respectivos erros padrão da variável ovo, segundo modo de reprodução população e geração.

Observa-se melhor nesta figura que a fecundação cruzada está em vantagem nas duas populações e gerações, podendo ser conferida na tabela 2.

Tabela 2: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo, segundo o modo de reprodução, população e geração.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
P	Sorocaba	Autofecundação	180	27,9	19,842
		Fecundação cruzada	180	41,0	23,171
	Tremembé	Autofecundação	180	14,8	11,465
		Fecundação cruzada	180	19,8	17,518
F1	Sorocaba	Autofecundação	296	20,1	15,361
		Fecundação cruzada	142	24,5	18,081
	Tremembé	Autofecundação	117	9,8	9,093
		Fecundação cruzada	98	13,0	9,255

Resultados da análise inferencial da variável ovo viável:

- as populações de Sorocaba e Tremembé, geração P, colocaram, em média 51% mais ovos do que a geração F1 ($p < 0,0001$);
- a população de Sorocaba P e F1 colocou em média 99% mais ovos do que a população de Tremembé P e F1 ($p < 0,0001$);
- quanto ao modo de reprodução, a fecundação cruzada de ambas as populações (Sorocaba e Tremembé) nas duas gerações obtiveram em média 33% mais ovos em relação à auto fecundação ($p < 0,0001$);

As figuras 11 e 12 apresentam os perfis médios da variável ovo inviável das duas populações de *B. tenagophila* ao longo das semanas.

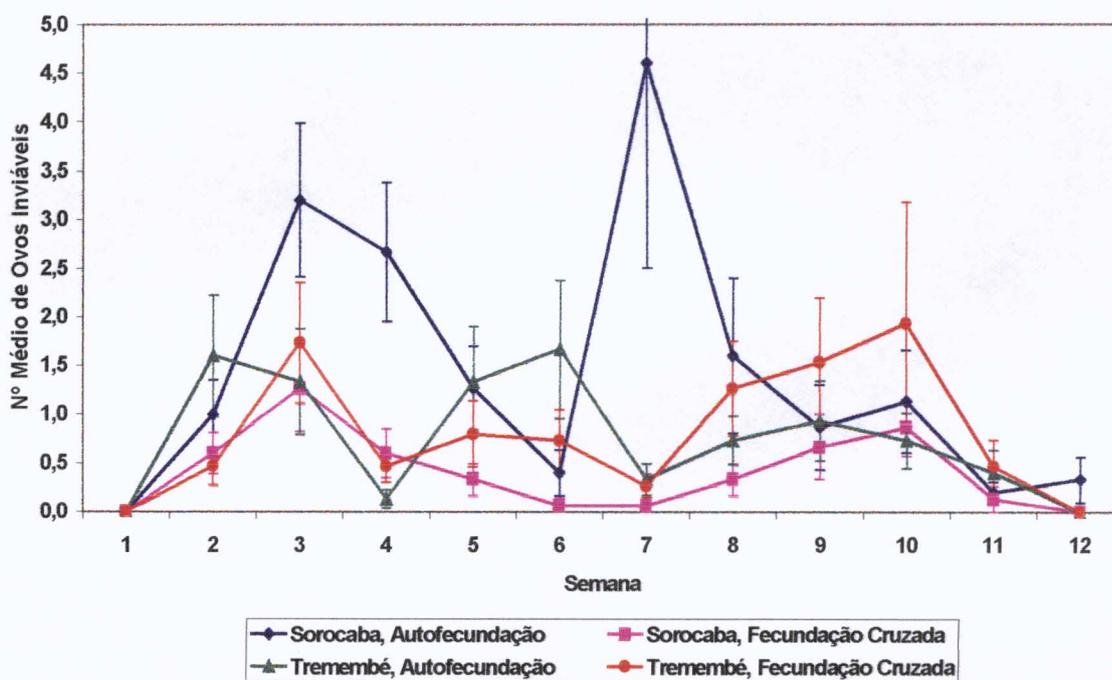


Figura 11: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo inviável, segundo modo de reprodução, população e geração P ao longo das semanas.

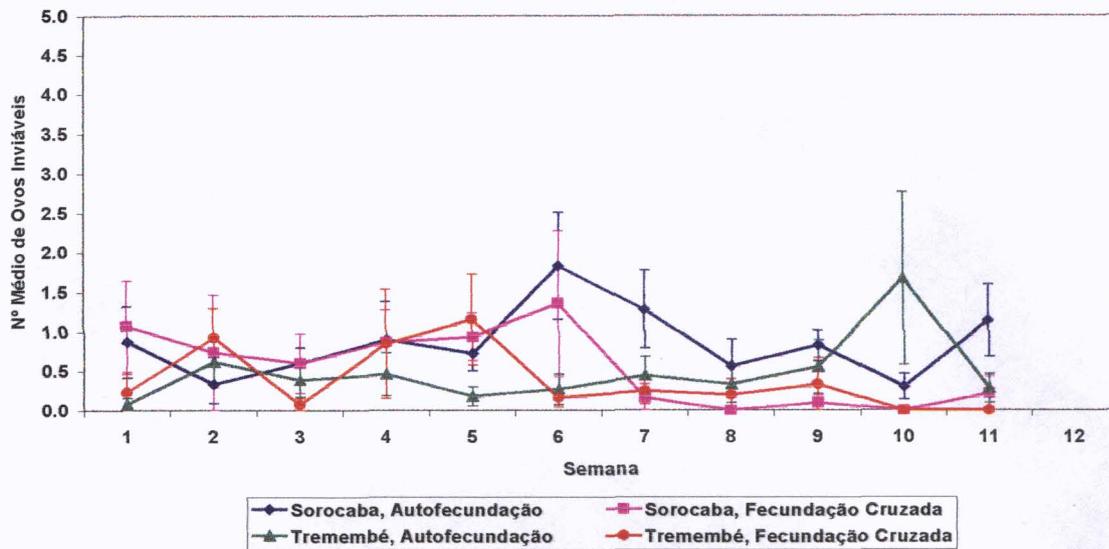


Figura 12: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo inviável, segundo modo de reprodução e populações da geração F1 ao longo das semanas.

Pode-se observar que a variação da média é alta entre as populações e modo de reprodução ao longo das semanas. A população de Sorocaba nas gerações P e F1 em autofecundação apresenta elevadas médias de ovos inviáveis.

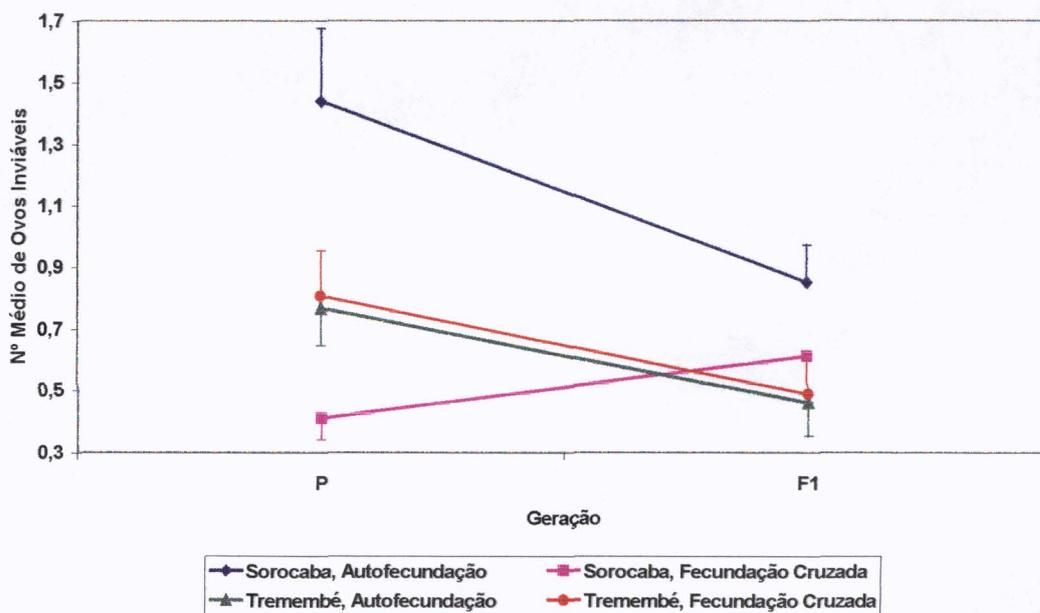


Figura 13: Médias com respectivos erros padrão da variável ovo inviável, segundo modo de reprodução, população e geração.

É possível visualizar na Figura 13 que a população de Tremembé obtém aproximadamente o mesmo número médio de ovos inviáveis entre autofecundação e fecundação cruzada, enquanto a população de Sorocaba em autofecundação apresenta elevado número médio de ovos inviáveis em relação à fecundação cruzada, podendo ser mais bem observada na Tabela 3.

Tabela .3: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo inviável, segundo modo de reprodução, população e geração.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
P	Sorocaba	Autofecundação	180	1,44	3,170
		Fecundação cruzada	180	0,41	0,908
	Tremembé	Autofecundação	180	0,77	1,603
		Fecundação cruzada	180	0,81	1,975
F1	Sorocaba	Autofecundação	296	0,85	2,078
		Fecundação cruzada	142	0,61	1,798
	Tremembé	Autofecundação	117	0,46	1,164
		Fecundação cruzada	98	0,49	1,349

Resultados da análise inferencial da variável ovo inviável:

- as populações de Sorocaba e Tremembé, geração P, colocaram em média 42% mais ovos inviáveis do que na geração F1 ($p=0,07372$);
- o efeito população e a interação população * modo de reprodução são significativas ($p=0,0083$ e $0,0003$ respectivamente). Conclui-se o seguinte:

* os caramujos da população de Tremembé que ficaram em fecundação cruzada, colocaram, em média, a mesma quantidade de ovos inviáveis em relação aos de autofecundação ($p=0,8388$);

* os caramujos da população de Sorocaba em condições de reprodução cruzada colocaram, em média, 56% menos ovos inviáveis em relação aos de autofecundação ($p=0,0003$);

* os caramujos que ficaram em fecundação cruzada da população de Sorocaba colocaram, em média, 24% menos ovos inviáveis em relação aos de fecundação cruzada da população de Tremembé ($p=0,0003$);

* os caramujos que ficaram em autofecundação da população de Sorocaba colocaram, em média, 82% mais ovos inviáveis em relação aos de autofecundação da população de Tremembé ($p=0,0083$).

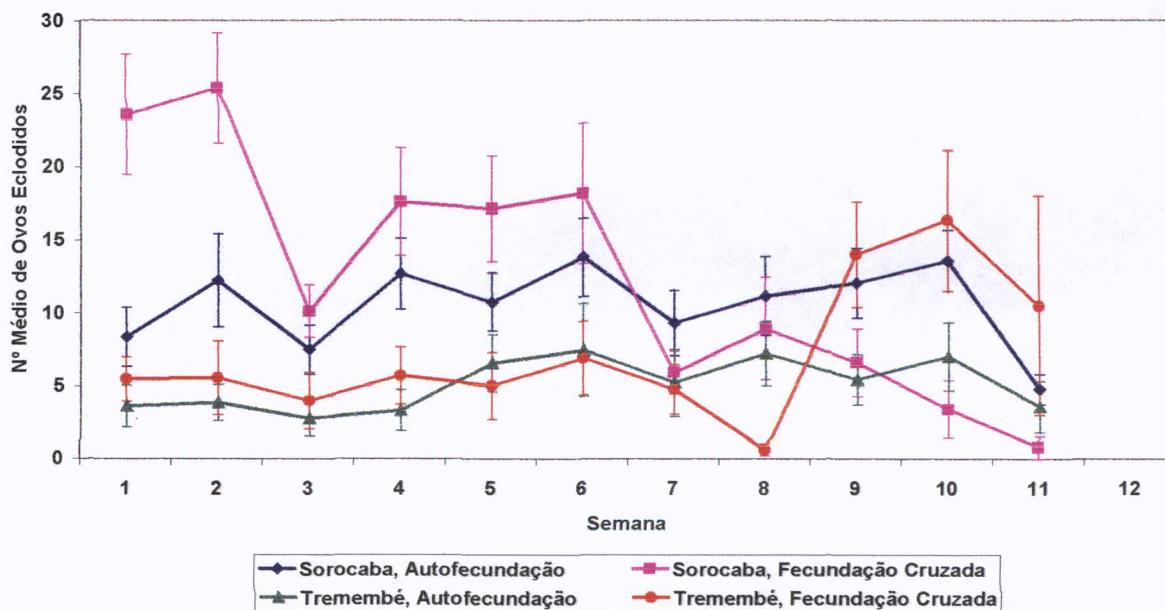


Figura 14: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo eclodido, segundo modo de reprodução e população da geração F1 ao longo das semanas.

A *B. tenagophila* de Sorocaba em fecundação cruzada apresenta elevadas médias de ovos eclodidos em relação à população de Tremembé até a semana 6,

diminuindo nas semanas subseqüentes. Em autofecundação, a média de ovos eclodidos não variou tanto ao longo das semanas.

A população de Tremembé apresenta médias de ovos eclodidos muito próximas entre autofecundação e fecundação cruzada.

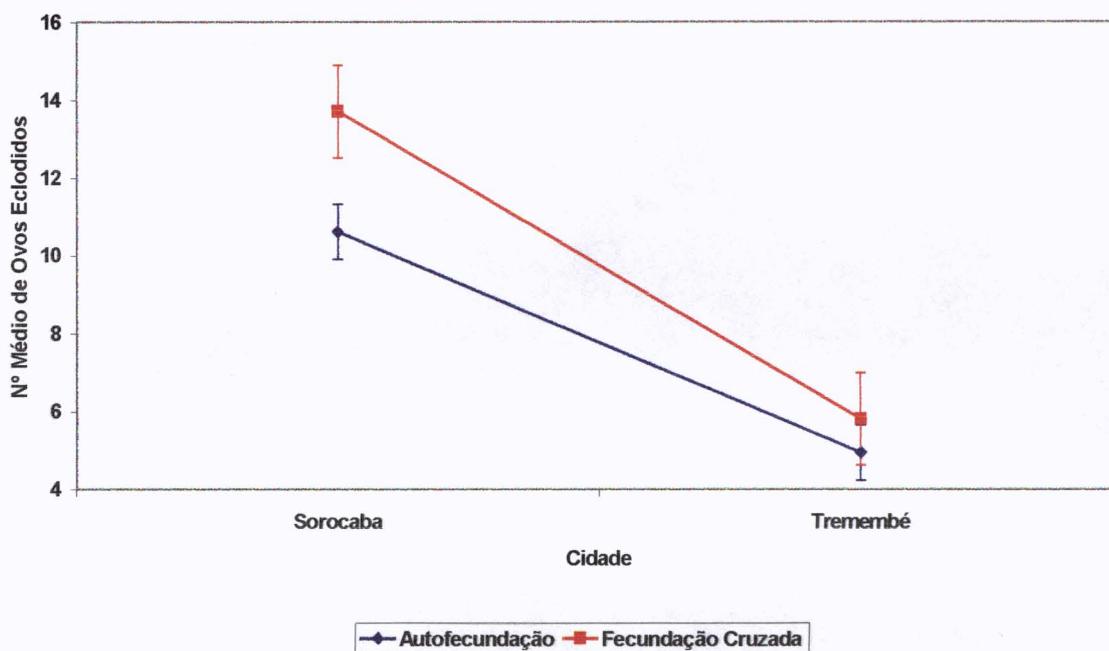


Figura 15: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável ovo eclodido, segundo modo de reprodução e população F1.

Observa-se na Figura 15 que as maiores médias de ovos eclodidos estão em fecundação cruzada nas duas populações, (vide Tabela 4).

Tabela.4: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo eclodido, segundo geração, população e modo de reprodução.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
F1	Sorocaba	Autofecundação	296	10,6	12,167
		Fecundação cruzada	142	13,7	14,185
	Tremembé	Autofecundação	117	4,9	6,209
		Fecundação cruzada	98	5,8	7,521

É possível observar que *B. tenagophila* de Sorocaba apresenta em fecundação cruzada médias maiores de ovos eclodidos em relação à autofecundação, enquanto *B. tenagophila* de Tremembé apresenta médias muito próximas entre os dois modos de reprodução.

Resultados da análise inferencial da variável ovo eclodido da geração F1:

- Para os dois modos de reprodução, autofecundação e fecundação cruzada, os caramujos da população de Sorocaba tiveram, em média, 126% mais ovos eclodidos do que a população de Tremembé ($p < 0,0001$);
- Para as duas populações, os caramujos que ficaram em fecundação cruzada obtiveram, em média, 35% mais ovos eclodidos do que aqueles em autofecundação ($p = 0,079530$).

As Figuras 16 e 17 abaixo apresentam as médias da fecundidade semanal.

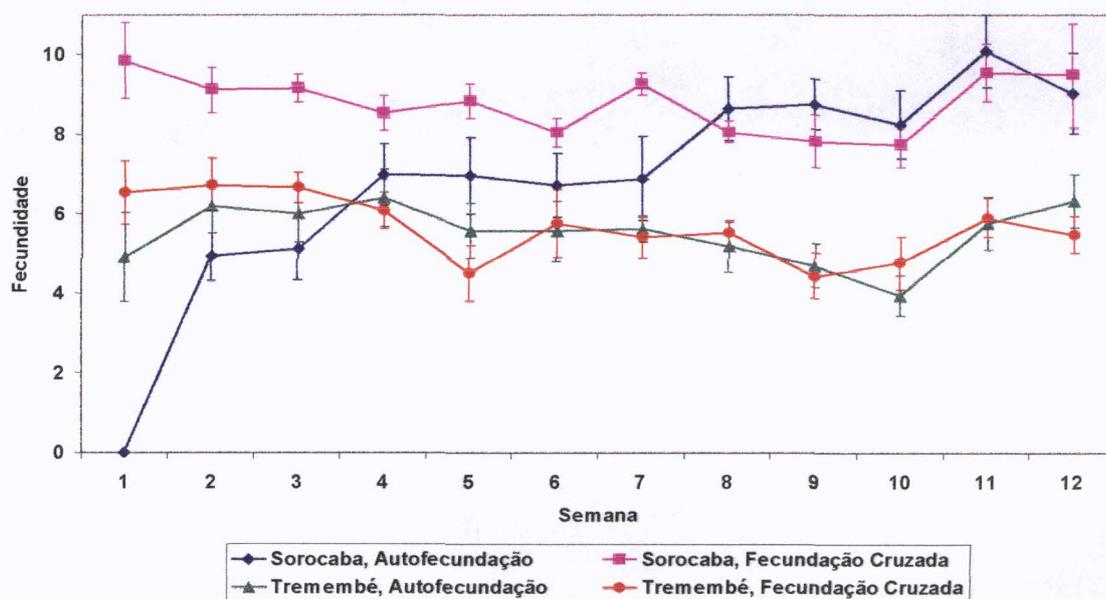


Figura 16: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável fecundidade, segundo modo de reprodução, população e geração P ao longo das semanas.

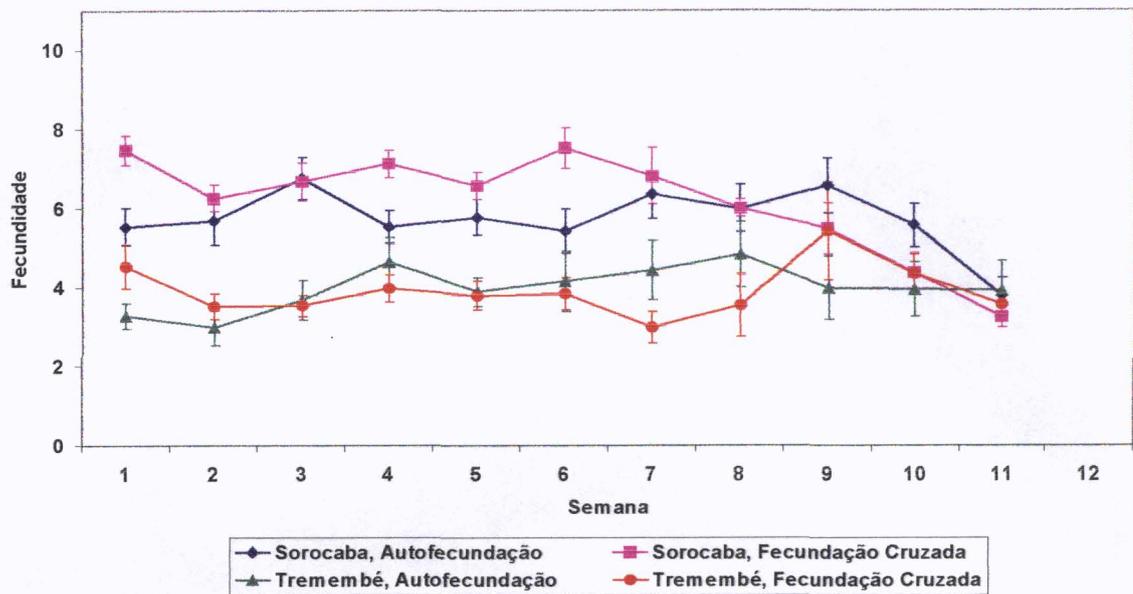


Figura 17: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável fecundidade, segundo modo de reprodução, população e geração F1 ao longo das semanas.

Observa-se que nas duas gerações de *B. tenagophila* de Sorocaba as maiores médias são encontradas em fecundação cruzada.

Já em *B. tenagophila* de Tremembé, as médias de fecundidade parecem ser semelhantes entre autofecundação e fecundação cruzada.

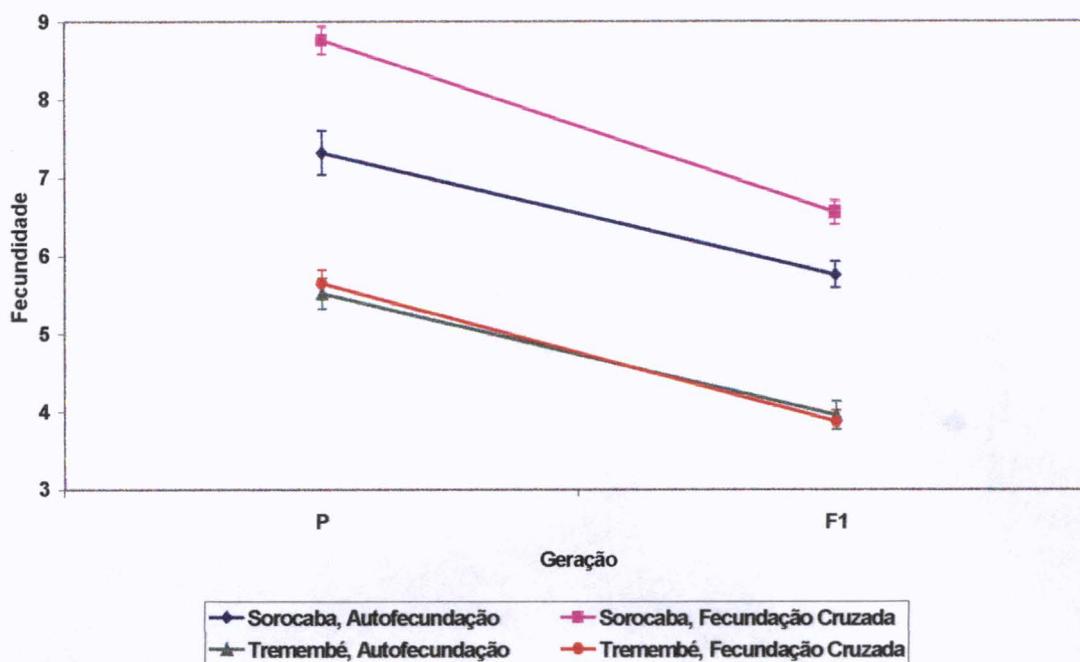


Figura 18: Médias com respectivos erros padrão da variável fecundidade, segundo modo de reprodução, reprodução e geração P e F1.

Considerando o conjunto das semanas, constata-se que a população de *B. tenagophila* Sorocaba apresenta médias superiores em relação a *B. tenagophila* de Tremembé nas gerações P e F1. Os números médios podem ser conferidos na Tabela 5.

Tabela.5: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável fecundidade, segundo modo de reprodução, população e geração.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
P	Sorocaba	Autofecundação	163	7,32	3,593
		Fecundação cruzada	175	8,76	2,415
	Tremembé	Autofecundação	161	5,52	2,508
		Fecundação cruzada	171	5,65	2,334
F1	Sorocaba	Autofecundação	268	5,76	2,744
		Fecundação cruzada	126	6,56	1,740
	Tremembé	Autofecundação	95	3,96	1,821
		Fecundação cruzada	88	3,87	1,354

Resultados da análise inferencial da variável fecundidade:

- as duas populações e os dois modos de reprodução dos caramujos da geração P obtiveram em média uma fecundidade 37% maior que a geração F1 ($p < 0,0001$);

- como o efeito da população e a interação da população * modo de reprodução são significativas ($p < 0,0001$ e $0,0020$, respectivamente), conclui-se que:

- * para a população de Tremembé, os caramujos que ficaram em fecundação cruzada, obtiveram em média, a mesma fecundidade em relação aos que ficaram em autofecundação ($p = 0,5350$);

- * para a população de Sorocaba, os caramujos colocados em fecundação cruzada obtiveram, em média, fecundidade 22% maior em relação àqueles em autofecundação ($p = 0,0020$);

- * os caramujos da população de Sorocaba colocados em fecundação cruzada obtiveram, em média, fecundidade 63% maior em relação àqueles em fecundação cruzada da população de Tremembé ($p = 0,0020$);

- * os caramujos da população de Sorocaba que ficaram em autofecundação obtiveram, em média, fecundidade 34% maior em relação aos que ficaram em autofecundação da população de Tremembé ($p < 0,0001$).

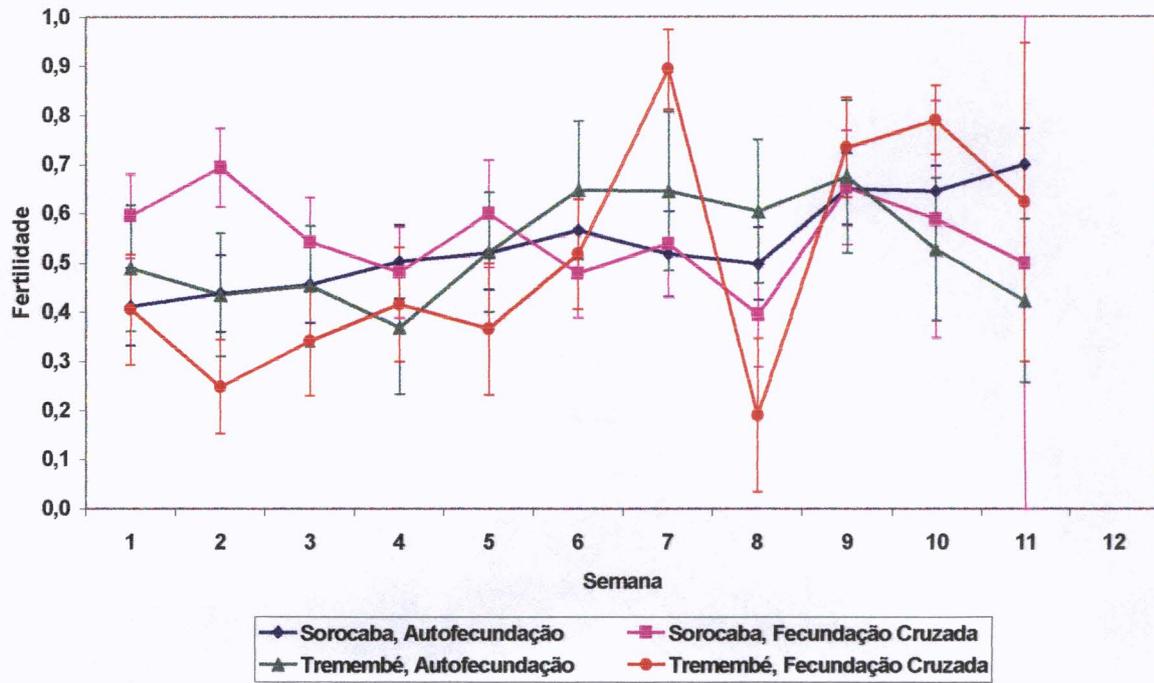


Figura 21: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável fertilidade, segundo modo de reprodução, população e geração F1 ao longo das semanas.

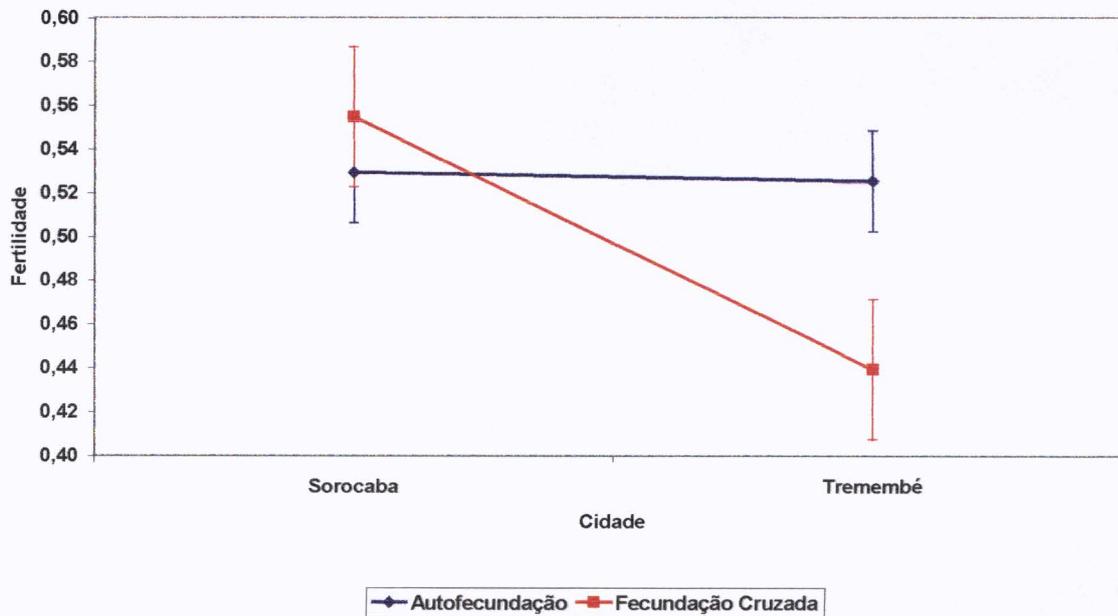


Figura 22: Perfis médios com respectivos erros padrão da variável fertilidade, segundo modo de reprodução e população da geração F1.

Pode-se observar que as médias da fertilidade entre populações e modo de reprodução da figura 21 acima apresentam-se próximas.

É possível notar também que as médias entre autofecundação e fecundação cruzada apresentam-se muito próximas tanto para *B. tenagophila* de Sorocaba quanto para *B. tenagophila* de Tremembé. A fecundação cruzada tem média discretamente menor (vide Tabela 6).

Tabela.6: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável fertilidade, segundo população F1 e modo de reprodução.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio padrão
F1	Sorocaba	Autofecundação	264	0,530	0,374
		Fecundação cruzada	126	0,555	0,359
	Tremembé	Autofecundação	95	0,525	0,400
		Fecundação cruzada	88	0,439	0,392

Resultados da análise inferencial da variável fertilidade:

- A variável fertilidade não apresentou diferença significativa relativamente ao nível estabelecido, tanto para a comparação entre as populações de Sorocaba e Tremembé ($p=0,3575$), como para a comparação entre fecundação cruzada e autofecundação ($p=0,8639$). A Figura a seguir apresenta as médias dos diâmetros.

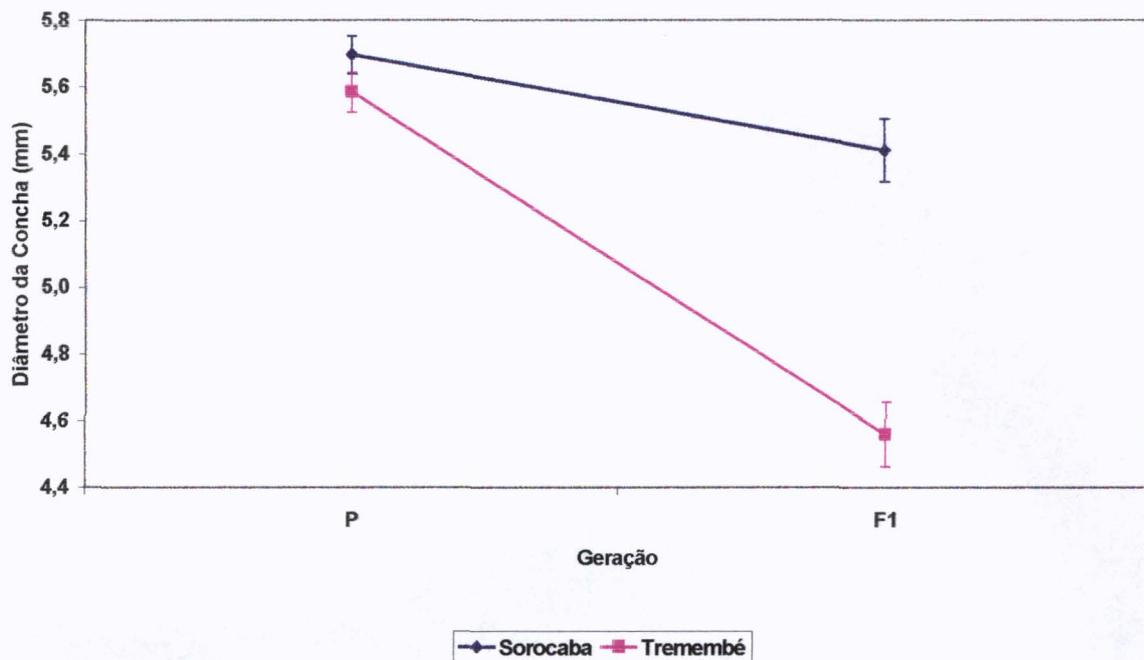


Figura 24: Médias com respectivos erros padrão da variável diâmetro, segundo população e geração.

Observa-se na geração P de ambas as populações de *B. tenagophila* que o tamanho apresenta-se maior em relação à geração F1.

O tamanho de *B. tenagophila* de Sorocaba da geração P está muito próximo de *B. tenagophila* de Tremembé. Na geração F1 de *B. tenagophila* de Tremembé em fecundação cruzada obteve-se a menor média, podendo ser conferida na Figura. 23 pela análise da distribuição dos dados.

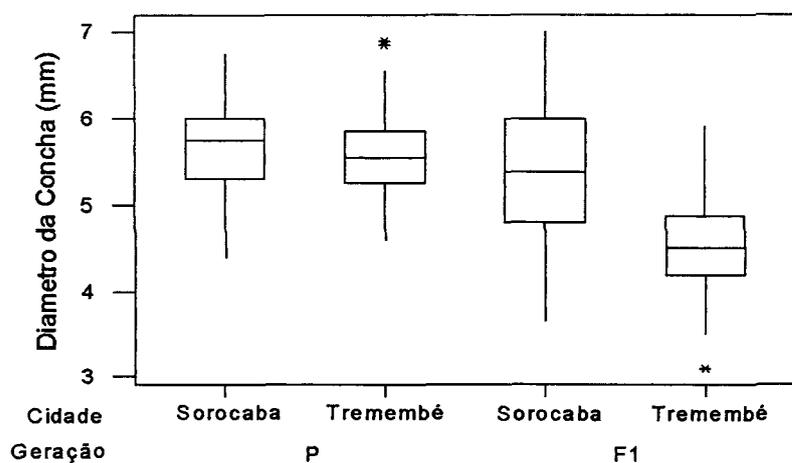


Figura 23: Diâmetro da concha, segundo população e geração, considerando o conjunto de semanas.

Comparação das médias dos diâmetros, nota-se que a menor média é encontrada na população de Tremembé (F1).

Tabela .7: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável diâmetro, segundo geração, população e modo de reprodução.

Geração	População	Modo de reprodução	n	Média	Desvio Padrão
P	Sorocaba	Autofecundação	67	5,7	0,464
		Fecundação cruzada	57	5,6	0,458
F1	Tremembé	Autofecundação	60	5,4	0,724
		Fecundação cruzada	41	4,6	0,623

Resultados da análise inferencial da variável diâmetro:

Verificou-se que o diâmetro médio da concha na geração P das duas populações é significativamente igual ($p=0,3043$). A seguir, constatou-se que o diâmetro da concha dos caramujos da população de Sorocaba P foi, em média, igual ao diâmetro da concha dos da geração F1 ($p=0,1128$). Os diâmetros das conchas dos caramujos da população de Tremembé F1 são, em média, 1 mm menores que os demais ($p<0,0001$).

Associação entre diâmetro e as variáveis de reprodução

Ao avaliar a existência de associação linear entre o tamanho da concha dos caramujos ao atingir a maturidade sexual e as variáveis desovas, ovos e fecundidade, obtivemos os seguintes resultados:

- variável desova: a cada 1 mm de aumento no diâmetro da concha dos caramujos da população de Sorocaba, houve um aumento médio de 0,9 desovas ($p=0,0361$); para a população de Tremembé, a associação linear não foi significativa a (0,05);
- variável ovo: apresentou associação linear significativa apenas para a população de Sorocaba P em fecundação cruzada, na qual, a cada 1 mm a mais no diâmetro da concha, os caramujos aumentaram em média 1,1 ovo ($p=0,0001$);
- variável fecundidade: a cada 1mm a mais no diâmetro da concha:

* a população de Sorocaba P em autofecundação obteve um aumento médio na fecundidade de 0,8 ($p=0,0156$) e, na geração F1, um aumento médio na fecundidade de 1,3 ($p<0,0001$);

* a população de Sorocaba P e F1 em fecundação cruzada obteve um aumento médio na fecundidade de 1,0 ($p=0,0030$);

* a população de Tremembé P e F1 em autofecundação teve um aumento médio na fecundidade de 1,3 ($p<0,0001$);

* a população Tremembé P em fecundação cruzada teve um aumento médio na fecundidade de 1,5 ($p=0,0105$).

A seguir serão apresentadas as tabelas B1- B6 das médias e desvio padrão das variáveis de reprodução, segundo população, geração e modo de reprodução ao longo das semanas estudadas.

Observação: Vale lembrar que não foram correlacionados os diâmetros das conchas com as variáveis reprodutivas da população de Tremembé F1 em fecundação cruzada.

Tabela B.1: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável desova, segundo geração, população e modo de reprodução, fecundação e semana.

Semana	Geração	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	P	Sorocaba	Auto	15	0,3	0,594
			Cruzada	15	1,3	1,291
	Tremembé	Auto	Auto	15	0,9	0,640
			Cruzada	15	1,3	0,799
	F1	Sorocaba	Auto	30	3,6	2,329
			Cruzada	15	5,2	1,320
Tremembé	Auto	Auto	13	2,2	2,115	
		Cruzada	13	3,5	1,391	
2	P	Sorocaba	Auto	15	3,5	0,915
			Cruzada	15	5,4	2,028
	Tremembé	Auto	Auto	15	2,7	1,280
			Cruzada	15	3,7	1,952
	F1	Sorocaba	Auto	30	4,3	2,753
			Cruzada	15	5,9	2,187
Tremembé	Auto	Auto	13	3,5	2,602	
		Cruzada	13	4,5	2,470	
3	P	Sorocaba	Auto	15	5,3	2,637
			Cruzada	15	5,8	2,783
	Tremembé	Auto	Auto	15	4,3	1,799
			Cruzada	15	7,4	2,063
	F1	Sorocaba	Auto	30	2,5	1,676
			Cruzada	15	2,9	1,335
Tremembé	Auto	Auto	13	1,6	1,502	
		Cruzada	13	3,3	2,136	
4	P	Sorocaba	Auto	15	5,0	1,254
			Cruzada	15	5,6	1,352
	Tremembé	Auto	Auto	15	2,8	0,862
			Cruzada	15	3,1	1,163
	F1	Sorocaba	Auto	30	4,7	1,929
			Cruzada	15	5,1	2,066
Tremembé	Auto	Auto	13	2,1	1,801	
		Cruzada	13	3,4	1,758	
5	P	Sorocaba	Auto	15	3,7	1,438
			Cruzada	15	3,4	1,454
	Tremembé	Auto	Auto	15	2,6	1,121
			Cruzada	15	2,5	1,407
	F1	Sorocaba	Auto	29	3,5	1,703
			Cruzada	15	4,5	1,885
Tremembé	Auto	Auto	11	3,2	1,079	
		Cruzada	13	3,0	1,958	
6	P	Sorocaba	Auto	15	3,7	1,589
			Cruzada	15	5,7	2,690
	Tremembé	Auto	Auto	15	2,5	1,302
			Cruzada	15	2,8	1,373
	F1	Sorocaba	Auto	29	4,1	2,052
			Cruzada	14	5,3	4,027
Tremembé	Auto	Auto	11	2,6	2,111	
		Cruzada	12	2,8	1,850	

(continuação)

7	P	Sorocaba	Auto	15	6,5	1,457
			Cruzada	15	7,2	2,678
	Tremembé	Auto	15	3,5	1,246	
		Cruzada	15	3,7	2,127	
	F1	Sorocaba	Auto	25	2,5	1,229
			Cruzada	12	1,9	0,996
Tremembé	Auto	9	1,7	1,225		
	Cruzada	8	1,6	1,302		
8	P	Sorocaba	Auto	15	4,9	1,506
			Cruzada	15	4,6	1,549
	Tremembé	Auto	15	3,5	2,031	
		Cruzada	15	2,9	1,922	
	F1	Sorocaba	Auto	25	3,7	2,509
			Cruzada	12	3,6	1,832
Tremembé	Auto	9	3,3	2,291		
	Cruzada	5	1,8	1,789		
9	P	Sorocaba	Auto	15	2,3	1,438
			Cruzada	15	2,7	1,223
	Tremembé	Auto	15	3,3	2,637	
		Cruzada	15	3,9	1,846	
	F1	Sorocaba	Auto	23	2,6	1,199
			Cruzada	10	1,7	0,823
Tremembé	Auto	9	1,9	0,928		
	Cruzada	3	3,7	1,155		
10	P	Sorocaba	Auto	15	4,9	1,407
			Cruzada	15	5,7	2,059
	Tremembé	Auto	15	2,2	1,656	
		Cruzada	15	4,1	2,815	
	F1	Sorocaba	Auto	23	3,9	2,372
			Cruzada	10	1,0	1,414
Tremembé	Auto	9	3,0	1,658		
	Cruzada	3	4,7	1,528		
11	P	Sorocaba	Auto	15	3,4	1,682
			Cruzada	15	4,2	1,265
	Tremembé	Auto	15	2,7	2,289	
		Cruzada	15	3,5	2,264	
	F1	Sorocaba	Auto	22	2,0	1,290
			Cruzada	9	0,3	0,707
Tremembé	Auto	7	2,0	1,000		
	Cruzada	2	4,0	1,414		
12	P	Sorocaba	Auto	15	2,9	1,163
			Cruzada	15	4,1	1,506
	Tremembé	Auto	15	0,9	0,834	
		Cruzada	15	1,7	1,543	

Tabela B.2: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo, segundo geração, população e modo de reprodução.

Semana	Geração	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	P	Sorocaba	Auto	15	0,0	0,000
			Cruzada	15	13,6	15,094
	Tremembé	Auto	15	5,1	3,936	
		Cruzada	15	8,1	5,849	
	F1	Sorocaba	Auto	30	20,7	18,053
			Cruzada	15	38,7	11,153
Tremembé	Auto	13	6,9	7,124		
	Cruzada	13	16,2	8,335		
2	P	Sorocaba	Auto	15	18,4	10,921
			Cruzada	15	49,9	20,032
	Tremembé	Auto	15	16,7	11,069	
		Cruzada	15	24,7	14,141	
	F1	Sorocaba	Auto	30	25,9	22,923
			Cruzada	15	37,1	16,686
Tremembé	Auto	13	11,0	10,075		
	Cruzada	13	16,6	10,469		
3	P	Sorocaba	Auto	15	27,7	18,038
			Cruzada	15	53,7	27,635
	Tremembé	Auto	15	26,3	13,392	
		Cruzada	15	50,6	24,112	
	F1	Sorocaba	Auto	30	15,8	10,234
			Cruzada	15	18,9	8,709
Tremembé	Auto	13	5,9	6,563		
	Cruzada	13	11,4	8,627		
4	P	Sorocaba	Auto	15	34,1	14,357
			Cruzada	15	48,5	16,291
	Tremembé	Auto	15	18,1	8,137	
		Cruzada	15	18,9	9,023	
	F1	Sorocaba	Auto	30	26,1	14,336
			Cruzada	15	35,2	12,463
Tremembé	Auto	13	9,4	8,903		
	Cruzada	13	14,2	8,533		
5	P	Sorocaba	Auto	15	24,2	12,525
			Cruzada	15	28,8	11,546
	Tremembé	Auto	15	14,3	7,564	
		Cruzada	15	12,9	13,509	
	F1	Sorocaba	Auto	29	19,7	10,998
			Cruzada	15	28,4	10,927
Tremembé	Auto	11	12,9	7,314		
	Cruzada	13	11,5	8,885		
6	P	Sorocaba	Auto	15	25,2	17,749
			Cruzada	15	45,5	21,948
	Tremembé	Auto	15	12,9	7,511	
		Cruzada	15	15,3	9,686	
	F1	Sorocaba	Auto	29	24,0	16,002
			Cruzada	14	37,6	26,757
Tremembé	Auto	11	11,7	12,240		
	Cruzada	12	11,3	9,604		

(continuação)

7	P	Sorocaba	Auto	15	43,5	25,346
			Cruzada	15	67,4	26,782
	Tremembé	Auto	15	20,1	10,089	
		Cruzada	15	21,6	17,070	
	F1	Sorocaba	Auto	25	16,3	11,484
			Cruzada	12	13,8	9,437
Tremembé	Auto	9	7,0	6,124		
	Cruzada	8	5,4	5,208		
8	P	Sorocaba	Auto	15	41,1	18,010
			Cruzada	15	37,2	12,768
	Tremembé	Auto	15	18,9	12,609	
		Cruzada	15	15,5	10,006	
	F1	Sorocaba	Auto	25	22,9	16,681
			Cruzada	12	21,3	11,007
Tremembé	Auto	9	15,6	15,059		
	Cruzada	5	6,8	7,694		
9	P	Sorocaba	Auto	15	19,4	11,993
			Cruzada	15	22,9	14,310
	Tremembé	Auto	15	15,1	11,829	
		Cruzada	15	18,4	12,443	
	F1	Sorocaba	Auto	23	17,2	11,025
			Cruzada	10	9,7	6,800
Tremembé	Auto	9	7,6	5,151		
	Cruzada	3	21,3	14,742		
10	P	Sorocaba	Auto	15	41,2	19,789
			Cruzada	15	45,1	21,928
	Tremembé	Auto	15	10,4	10,582	
		Cruzada	15	22,7	22,525	
	F1	Sorocaba	Auto	23	21,1	14,538
			Cruzada	10	4,4	6,257
Tremembé	Auto	9	13,0	10,137		
	Cruzada	3	20,0	7,000		
11	P	Sorocaba	Auto	15	34,3	20,158
			Cruzada	15	40,1	15,922
	Tremembé	Auto	15	15,2	14,751	
		Cruzada	15	20,2	14,394	
	F1	Sorocaba	Auto	22	7,3	5,792
			Cruzada	9	1,1	2,421
Tremembé	Auto	7	7,4	4,036		
	Cruzada	2	14,5	6,364		
12	P	Sorocaba	Auto	15	25,9	15,738
			Cruzada	15	39,3	18,337
	Tremembé	Auto	15	5,3	5,063	
		Cruzada	15	8,9	8,146	

Tabela B.3: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo inviável, segundo geração, população e modo de reprodução.

Semana	Geração	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	P	Sorocaba	Auto	15	0,0	0,000
			Cruzada	15	0,0	0,000
		Tremembé	Auto	15	0,0	0,000
			Cruzada	15	0,0	0,000
	F1	Sorocaba	Auto	30	0,9	2,474
			Cruzada	15	1,1	2,219
		Tremembé	Auto	13	0,1	0,277
			Cruzada	13	0,2	0,832
2	P	Sorocaba	Auto	15	1,0	1,363
			Cruzada	15	0,6	0,828
		Tremembé	Auto	15	1,6	2,414
			Cruzada	15	0,5	0,743
	F1	Sorocaba	Auto	30	0,3	1,322
			Cruzada	15	0,7	2,840
		Tremembé	Auto	13	0,6	0,961
			Cruzada	13	0,9	1,320
3	P	Sorocaba	Auto	15	3,2	3,052
			Cruzada	15	1,3	1,710
		Tremembé	Auto	15	1,3	2,093
			Cruzada	15	1,7	2,404
	F1	Sorocaba	Auto	30	0,6	1,102
			Cruzada	15	0,6	1,454
		Tremembé	Auto	13	0,4	0,768
			Cruzada	13	0,1	0,277
4	P	Sorocaba	Auto	15	2,7	2,769
			Cruzada	15	0,6	0,986
		Tremembé	Auto	15	0,1	0,352
			Cruzada	15	0,5	0,640
	F1	Sorocaba	Auto	30	0,9	2,657
			Cruzada	15	0,9	1,598
		Tremembé	Auto	13	0,5	0,967
			Cruzada	13	0,8	2,478
5	P	Sorocaba	Auto	15	1,3	1,668
			Cruzada	15	0,3	0,617
		Tremembé	Auto	15	1,3	2,193
			Cruzada	15	0,8	1,320
	F1	Sorocaba	Auto	29	0,7	1,192
			Cruzada	15	0,9	1,163
		Tremembé	Auto	11	0,2	0,405
			Cruzada	13	1,2	2,076
6	P	Sorocaba	Auto	15	0,4	0,910
			Cruzada	15	0,1	0,258
		Tremembé	Auto	15	1,7	2,743
			Cruzada	15	0,7	1,223
	F1	Sorocaba	Auto	29	1,8	3,646
			Cruzada	14	1,4	3,433
		Tremembé	Auto	11	0,3	0,647
			Cruzada	12	0,2	0,389

(continuação)

7	P	Sorocaba	Auto	15	4,6	8,113
			Cruzada	15	0,1	0,258
	Tremembé	Auto	15	0,3	0,617	
		Cruzada	15	0,3	0,458	
	F1	Sorocaba	Auto	25	1,3	2,441
			Cruzada	12	0,2	0,577
Tremembé	Auto	9	0,4	0,726		
	Cruzada	8	0,3	0,463		
8	P	Sorocaba	Auto	15	1,6	3,089
			Cruzada	15	0,3	0,617
	Tremembé	Auto	15	0,7	0,961	
		Cruzada	15	1,3	1,870	
	F1	Sorocaba	Auto	25	0,6	1,710
			Cruzada	12	0,0	0,000
Tremembé	Auto	9	0,3	0,707		
	Cruzada	5	0,2	0,447		
9	P	Sorocaba	Auto	15	0,9	1,685
			Cruzada	15	0,7	1,291
	Tremembé	Auto	15	0,9	1,580	
		Cruzada	15	1,5	2,560	
	F1	Sorocaba	Auto	23	0,8	0,937
			Cruzada	10	0,1	0,316
Tremembé	Auto	9	0,6	1,014		
	Cruzada	3	0,3	0,577		
10	P	Sorocaba	Auto	15	1,1	2,031
			Cruzada	15	0,9	1,125
	Tremembé	Auto	15	0,7	1,100	
		Cruzada	15	1,9	4,832	
	F1	Sorocaba	Auto	23	0,3	0,765
			Cruzada	10	0,0	0,000
Tremembé	Auto	9	1,7	3,279		
	Cruzada	3	0,0	0,000		
11	P	Sorocaba	Auto	15	0,2	0,414
			Cruzada	15	0,1	0,516
	Tremembé	Auto	15	0,4	0,910	
		Cruzada	15	0,5	1,060	
	F1	Sorocaba	Auto	22	1,1	2,122
			Cruzada	9	0,2	0,667
Tremembé	Auto	7	0,3	0,488		
	Cruzada	2	0,0	0,000		
12	P	Sorocaba	Auto	15	0,3	0,900
			Cruzada	15	0,0	0,000
	Tremembé	Auto	15	0,0	0,000	
		Cruzada	15	0,0	0,000	

Tabela B.5: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável Fecundidade, segundo geração, população e modo de reprodução.

Semana	Geração	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	P	Sorocaba	Auto	3	0,0	0,000
			Cruzada	10	9,8	3,036
		Tremembé	Auto	11	4,9	3,700
			Cruzada	13	6,5	2,854
	F1	Sorocaba	Auto	24	5,5	2,315
			Cruzada	15	7,5	1,421
2	P	Sorocaba	Auto	15	4,9	2,296
			Cruzada	15	9,1	2,201
		Tremembé	Auto	14	6,2	2,480
			Cruzada	15	6,7	2,628
	F1	Sorocaba	Auto	26	5,7	3,214
			Cruzada	15	6,3	1,280
3	P	Sorocaba	Auto	15	5,1	2,959
			Cruzada	15	9,2	1,425
		Tremembé	Auto	15	6,0	2,775
			Cruzada	15	6,7	1,494
	F1	Sorocaba	Auto	25	6,8	2,661
			Cruzada	14	6,7	1,779
4	P	Sorocaba	Auto	15	7,0	3,000
			Cruzada	15	8,5	1,665
		Tremembé	Auto	15	6,4	2,816
			Cruzada	15	6,1	1,731
	F1	Sorocaba	Auto	29	5,5	2,255
			Cruzada	15	7,1	1,345
5	P	Sorocaba	Auto	15	7,0	3,716
			Cruzada	15	8,8	1,652
		Tremembé	Auto	15	5,6	2,654
			Cruzada	15	4,5	2,695
	F1	Sorocaba	Auto	27	5,8	2,408
			Cruzada	14	6,6	1,293
6	P	Sorocaba	Auto	14	6,7	3,021
			Cruzada	15	8,1	1,404
		Tremembé	Auto	15	5,6	2,941
			Cruzada	15	5,8	3,299
	F1	Sorocaba	Auto	28	5,4	2,939
			Cruzada	13	7,5	1,896
		Tremembé	Auto	8	4,2	2,156
			Cruzada	10	3,9	1,245

(continuação)

7	P	Sorocaba	Auto	15	6,9	4,077
			Cruzada	15	9,3	1,065
		Tremembé	Auto	15	5,6	1,322
	Cruzada		15	5,4	2,008	
	F1		Sorocaba	Auto	24	6,3
		Cruzada		11	6,8	2,340
Tremembé		Auto	8	4,4	2,098	
	Cruzada	6	3,0	0,989		
8	P	Sorocaba	Auto	15	8,6	3,096
			Cruzada	15	8,1	1,099
		Tremembé	Auto	14	5,2	2,369
	Cruzada		13	5,5	1,172	
	F1		Sorocaba	Auto	23	6,0
		Cruzada		12	6,0	0,750
Tremembé		Auto	9	4,8	2,488	
	Cruzada	3	3,6	1,388		
9	P	Sorocaba	Auto	13	8,8	2,271
			Cruzada	15	7,8	2,560
		Tremembé	Auto	14	4,7	2,072
	Cruzada		15	4,4	2,232	
	F1		Sorocaba	Auto	23	6,6
		Cruzada		10	5,5	2,040
Tremembé		Auto	8	4,0	2,289	
	Cruzada	3	5,4	2,135		
10	P	Sorocaba	Auto	15	8,3	3,304
			Cruzada	15	7,7	2,156
		Tremembé	Auto	13	4,0	1,858
	Cruzada		15	4,8	2,537	
	F1		Sorocaba	Auto	21	5,6
		Cruzada		5	4,4	1,092
Tremembé		Auto	9	3,9	2,105	
	Cruzada	3	4,4	0,844		
11	P	Sorocaba	Auto	14	10,1	3,403
			Cruzada	15	9,6	2,793
		Tremembé	Auto	11	5,8	2,219
	Cruzada		15	5,9	1,908	
	F1		Sorocaba	Auto	18	3,8
		Cruzada		2	3,3	0,354
Tremembé		Auto	7	3,9	1,946	
	Cruzada	2	3,6	0,330		
12	P	Sorocaba	Auto	14	9,0	3,708
			Cruzada	15	9,5	5,002
		Tremembé	Auto	9	6,3	1,984
Cruzada	10		5,5	1,458		

Tabela B.4: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável ovo eclodido, segundo geração, população e modo de reprodução.

Semana	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	Sorocaba	Auto	30	8,4	11,118
		Cruzada	15	23,6	16,044
	Tremembé	Auto	13	3,6	5,189
		Cruzada	13	5,5	5,395
2	Sorocaba	Auto	30	12,2	17,411
		Cruzada	15	25,4	14,633
	Tremembé	Auto	13	3,8	4,506
		Cruzada	13	5,5	9,107
3	Sorocaba	Auto	30	7,5	9,206
		Cruzada	15	10,1	6,988
	Tremembé	Auto	13	2,8	4,362
		Cruzada	13	4,0	7,012
4	Sorocaba	Auto	30	12,7	13,121
		Cruzada	15	17,6	14,302
	Tremembé	Auto	13	3,3	5,023
		Cruzada	13	5,7	7,017
5	Sorocaba	Auto	29	10,8	10,756
		Cruzada	15	17,1	14,055
	Tremembé	Auto	11	6,5	6,517
		Cruzada	13	5,0	8,297
6	Sorocaba	Auto	29	13,8	14,321
		Cruzada	14	18,2	17,967
	Tremembé	Auto	11	7,5	10,624
		Cruzada	12	6,9	8,785
7	Sorocaba	Auto	25	9,3	11,228
		Cruzada	12	5,9	5,054
	Tremembé	Auto	9	5,2	6,924
		Cruzada	8	4,8	4,803
8	Sorocaba	Auto	25	11,2	13,450
		Cruzada	12	8,9	12,199
	Tremembé	Auto	9	7,2	6,685
		Cruzada	5	0,6	0,894
9	Sorocaba	Auto	23	12,0	11,328
		Cruzada	10	6,6	7,260
	Tremembé	Auto	9	5,4	5,175
		Cruzada	3	14,0	6,245
10	Sorocaba	Auto	23	13,6	10,022
		Cruzada	10	3,4	6,257
	Tremembé	Auto	9	7,0	7,071
		Cruzada	3	16,3	8,387
11	Sorocaba	Auto	22	4,8	4,730
		Cruzada	9	0,8	2,333
	Tremembé	Auto	7	3,6	4,685
		Cruzada	2	10,5	10,607

Tabela B.6: Tamanho da amostra (n), média e desvio padrão da variável fertilidade, segundo geração, população e modo de reprodução.

Semana	Cidade	Fecundação	n	Média	Desvio Padrão
1	Sorocaba	Auto	24	0,41	0,383
		Cruzada	15	0,60	0,331
	Tremembé	Auto	8	0,49	0,364
		Cruzada	13	0,41	0,403
2	Sorocaba	Auto	26	0,44	0,397
		Cruzada	15	0,69	0,311
	Tremembé	Auto	10	0,43	0,394
		Cruzada	12	0,25	0,333
3	Sorocaba	Auto	25	0,46	0,387
		Cruzada	14	0,54	0,336
	Tremembé	Auto	9	0,45	0,369
		Cruzada	13	0,34	0,399
4	Sorocaba	Auto	29	0,50	0,401
		Cruzada	15	0,48	0,359
	Tremembé	Auto	8	0,37	0,382
		Cruzada	13	0,42	0,417
5	Sorocaba	Auto	27	0,52	0,389
		Cruzada	14	0,60	0,406
	Tremembé	Auto	11	0,52	0,402
		Cruzada	10	0,37	0,422
6	Sorocaba	Auto	26	0,57	0,383
		Cruzada	13	0,48	0,326
	Tremembé	Auto	8	0,65	0,397
		Cruzada	10	0,52	0,355
7	Sorocaba	Auto	24	0,52	0,427
		Cruzada	11	0,54	0,353
	Tremembé	Auto	8	0,65	0,455
		Cruzada	6	0,89	0,201
8	Sorocaba	Auto	22	0,50	0,345
		Cruzada	12	0,39	0,366
	Tremembé	Auto	9	0,60	0,436
		Cruzada	3	0,19	0,270
9	Sorocaba	Auto	22	0,65	0,341
		Cruzada	10	0,65	0,367
	Tremembé	Auto	8	0,68	0,440
		Cruzada	3	0,73	0,174
10	Sorocaba	Auto	21	0,64	0,242
		Cruzada	5	0,59	0,538
	Tremembé	Auto	9	0,53	0,435
		Cruzada	3	0,79	0,121
11	Sorocaba	Auto	18	0,70	0,309
		Cruzada	2	0,50	0,707
	Tremembé	Auto	7	0,42	0,438
		Cruzada	2	0,62	0,458

9. Discussão

O sucesso dos Programas de Controle da Esquistossomose além de outros fatores depende também dos conhecimentos que se tem sobre a biologia e a ecologia dos caramujos hospedeiros.

Estudar a influência do modo de reprodução na biologia das espécies de *Biomphalaria* em condições de laboratório garante informações que seriam difíceis de obter na natureza, uma vez que, em laboratório é possível isolar e acasalar os animais, permitindo assim identificar e comparar as variações reprodutivas entre autofecundação e fecundação cruzada, bem como gerar informações quantitativas. Os trabalhos realizados com caramujos hermafroditas são relativamente recentes cujo objetivo é elucidar o sentido biológico da autofecundação e fecundação cruzada. A maioria dos trabalhos teóricos e empíricos sobre o tema sempre se concentrou em plantas (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1987; JARNE & CHARLESWORTH 1993).

No presente estudo foram feitas análises comparativas entre duas populações de *B. tenagophila* de áreas sem história de transmissão de esquistossomose (Sorocaba) e com história de transmissão (Tremembé), por meio de análises quantitativas das variáveis reprodutivas que foram comparadas entre autofecundação e fecundação cruzada e demonstradas pelas figuras e tabelas.

Ao iniciar as análises, observou-se nas Figuras 5, 6, 8 e 9 e nas Tabelas B1 e B2 variação semanal nas médias das desovas e ovos. Em laboratório, é comum observar tal variação na oviposição dos caramujos; LUCMADEC *et al.* (1997) explicaram que este

comportamento está relacionado ao esgotamento seguido da recuperação das reservas de energia e nutrientes para reprodução dos moluscos.

As variáveis desovas e ovos (Figuras 5, 6, 7, 8, 9 e 10) alcançaram suas maiores médias entre os caramujos pareados de Sorocaba e Tremembé que se reproduziram por fecundação cruzada. Cabe ressaltar que a fecundação cruzada das duas populações de *B. tenagophila* obteve em média 20% mais desovas e 33% mais ovos em relação à autofecundação. Sem dúvida, a fecundação cruzada apresentou maior vantagem sobre a autofecundação nas populações hospedeiras de Sorocaba e Tremembé.

O desempenho reprodutivo da população de Sorocaba merece atenção, pois apresentou 33% mais desovas e 99% mais ovos em relação à população de Tremembé, mostrando-se mais prolífica em laboratório.

As duas populações de *B. tenagophila* da geração P reproduziram-se mais que a geração F1 e nenhuma causa aparente foi identificada, de modo que justificasse a diferença entre as duas gerações.

Na literatura, vários trabalhos avaliaram o desempenho reprodutivo entre autofecundação e fecundação cruzada, encontraram vantagens e desvantagens para ambos os modos de reprodução. Porém, a maioria dos trabalhos apontou a fecundação cruzada como o modo mais freqüente de reprodução (VIANEY-LIAUD 1976; JARNE *et al.* 1994, 2000; AMANCIO *et al.* 2002; GUTIERREZ *et al.* 2001; DE VISSER *et al.* 1994; DOUMS *et al.* 1996).

As variações encontradas no sistema de acasalamento entre espécies e populações podem ser explicadas, em grande parte, como consequência da pressão seletiva local (NJIOKOU *et al.* 1992; VIARD & JARNE *et al.* 1997).

A variável ovo inviável (Figuras. 11, 12 e 13; Tabelas 3, B3) apresentou-se em média 42% mais freqüente na geração P das populações de Sorocaba e Tremembé, provavelmente dada a elevada oviposição ocorrida nessa geração. Resultados peculiares foram obtidos com relação às duas populações. Os caramujos de Sorocaba em fecundação cruzada produziram 56% menos ovos inviáveis em relação à autofecundação. Esta, por sua vez, apresentou 82% mais ovos inviáveis em relação à autofecundação de *B. tenagophila* de Tremembé.

A fecundação cruzada entre os pares de caramujos de Sorocaba obteve em média 24% menos ovos inviáveis em relação aos caramujos de Tremembé, que por sua vez, colocaram em média a mesma quantidade de ovos inviáveis entre autofecundação e fecundação cruzada.

Estes resultados, constituem-se em mais uma evidência a favor da fecundação cruzada sobre a autofecundação na população de *B. tenagophila* de Sorocaba.

Na seqüência, a variável ovo eclodido (Figuras 14 e 15; tabelas. 4 e B4) foi analisada apenas na geração F1. A população de Sorocaba obteve 126% mais ovos eclodidos do que a população de Tremembé devido à sua melhor performance reprodutiva. A fecundação cruzada de ambas as populações de *B. tenagophila*, apresentaram 35% mais ovos eclodidos em relação à autofecundação. Embora a Figura 15 sugere que as diferenças entre a autofecundação e fecundação cruzada nas populações de Sorocaba e Tremembé não são empiricamente iguais, não obtivemos evidências de que uma das populações apresenta uma diferença mais acentuada do que a outra ($p= 0,079530$). Portanto, elas são consideradas iguais.

A variável fecundidade (Figuras 16, 17 e 18; Tabelas 5 e B5) foi 37% maior na geração P do que na geração F1, pelo fato de revelarem as maiores taxas reprodutivas.

A população de *B. tenagophila* de Tremembé não apresentou diferença na fecundidade entre autofecundação e fecundação cruzada, enquanto a população de *B. tenagophila* de Sorocaba mantém a diferença a favor da fecundação cruzada.

Para interpretar esses dados, é necessário recorrer aos resultados anteriores. Os ovos inviáveis produzidos pela população de Tremembé não apresentaram diferenças nas médias entre autofecundação e fecundação cruzada, nem as apresentou para a fecundidade e os ovos eclodidos, apesar da análise inferencial, consideramos que não houve diferenças nas médias entre os dois modos de reprodução. Isto sugere que existem vantagens na autofecundação dessa população.

Há que se salientar que as médias inferiores de desovas e ovos que a população de Tremembé obteve em autofecundação pode ser compensada através dos melhores índices de ovos por desovas (fecundidade). PERLOWAGORA-SZUMLEWICZ (1958) já afirmava que o potencial reprodutivo de uma população sofre a interferência do número de ovos por desovas, podendo ser mais elevado em populações com menor frequência de postura e, nesse caso, a população de Tremembé em autofecundação supera sua inferioridade na frequência de postura pela fecundidade obtida.

A variável fertilidade é parâmetro de sucesso reprodutivo, as médias apresentadas nas Figuras 21 e 22 e Tabelas 6 e B6, estão próximas entre os grupos formados pelas populações e modo de reprodução. Considerou-se que a variável fertilidade é igual entre os grupos. No entanto, tudo indica que, se a amostra fosse maior, a diferença teria sido significativa.

DOUMS *et al.* (1994) e JARNE & STADLER (1995), estudando o gênero *Bulinus*, verificaram que fertilidade baixa é sinal de desvantagens para um determinado modo de reprodução. Provavelmente, se a fertilidade fosse observada na geração P, alguma variação (diferença) teria sido identificada entre as populações estudadas.

Os resultados aqui apresentados levaram às seguintes suposições sobre as variações encontradas entre as populações quanto ao modo de reprodução:

1. a população de *B. tenagophila* de Tremembé não exibiu diferenças entre autofecundação e fecundação cruzada para a maioria das variáveis reprodutivas, constituindo-se em evidências para sugerir que a autofecundação foi selecionada pela população, embora sua melhor performance reprodutiva ocorreu em fecundação cruzada.
2. a população de *B. tenagophila* de Sorocaba tem na fecundação cruzada seu principal modo de reprodução, com menor percentual de ovos inviáveis e superioridade na quantidade de ovos eclodidos. Os dados obtidos por essa população não deixam dúvidas, pois facilmente percebe-se as diferenças entre autofecundação e fecundação cruzada.

As diferenças no modo de reprodução apresentadas pelas populações de *B. tenagophila* aqui estudadas parecem coerentes com a variabilidade genética encontrada por TUAN (2001) para as mesmas populações de *B. tenagophila*; seus resultados informam que a *B. tenagophila* de Sorocaba apresentou-se mais heterogênea e a *B. tenagophila* de Tremembé, mais homogênea.

A identificação de variações existentes no modo de reprodução das populações, a exemplo das encontradas para as bionfalárias estudadas, pode estar associada a

fatores ambientais, parasitários (JOHNSON 1994; LIVELY *et al.* 1998) e variabilidade genética (VIARD *et al.* 1997; COUTELLE-CVRETO *et al.* 1998).

Neste último caso, a análise da estrutura genética é muito usada para avaliar o sistema de acasalamento dos caramujos; segundo JARNE *et al.* (1993), quando ocorre deficiência na heterogeneidade, a autofecundação tem sido sugerida como sistema regular de acasalamento, embora a autofecundação não seja a única causa da deficiência.

Elevado nível de heterozigidade foi encontrado por MASCARA & MORGANTE (1991) em populações de *B. tenagophila* de Sorocaba. Os autores concluíram que a fecundação cruzada resultou em elevado polimorfismo.

Segundo um estudo realizado por MULVEY & VRIJENHOEK (1982), alto grau de heterozigidade sugere que os caramujos se reproduzem predominantemente por fecundação cruzada. Efeito contrário, baixa heterozigidade, tem sido observado em plantas que se reproduzem mais por autofecundação do que fecundação cruzada (NJIOKOU *et al.* 1993). Examinando tais considerações, pode-se inferir que as populações mais monomórficas de caramujos ocorrem, por exemplo, quando sofrem efeitos de gargalos devido à seca ambiental, tendendo a recolonizar o ambiente com poucos indivíduos fundadores em função do isolamento espacial, levando-os à autofecundação e, com isso, à redução da heterozigidade e polimorfismo.

Embora esta idéia seja aceita, o papel da autofecundação nos processos de recolonização gera certa controvérsia, pelo fato de os caramujos poderem estocar aloespermatozóides por vários meses, não garantindo, portanto, que a recolonização seja realizada exclusivamente por autofecundação.

A história natural de *B. tenagophila* de Tremembé, revela que a população passou por vários processos de extinção e recolonização em decorrência de seu ambiente instável. Esperava-se que a autofecundação fosse o modo de reprodução mais freqüente ou que pelo menos fosse também favorecida, como de fato parece ter ocorrido.

Nas várzeas, a *B. tenagophila* apresentou elevada densidade populacional nos períodos de cheia, quando foram observados muitos indivíduos de tamanhos médio e grande. Provavelmente, gerado pela dinâmica de vida que os ambientes temporários impõem, sugerindo seqüências de gerações rápidas. Nesses ambientes, é comum observar explosões populacionais devido à alta taxa de reprodução intrínseca dos poucos caramujos sobreviventes da dessecação, fazendo com que eles repovoem e cresçam rapidamente (VERA *et al.* 1995).

No entanto, em laboratório, o potencial reprodutivo da população de Tremembé apresentou-se baixo. Deve-se salientar, no entanto, que tal desempenho não trouxe implicações à avaliação do seu modo reprodutivo.

E a história natural da população de Sorocaba, mais uma vez, por meio das observações de campo, revela densidade populacional moderada, durante todo o ano, com a presença predominante de caramujos de tamanhos médio e pequeno. Acredita-se que a explicação detém significado seletivo devido à predação animal que possivelmente ocorre neste ambiente por parte de aves e peixes.

Já em condição de laboratório, esta população obteve bom desempenho reprodutivo, principalmente os caramujos acasalados que se reproduziram por fecundação cruzada.

Em estudo semelhante a este analisou-se as adaptações entre autofecundação e fecundação cruzada de duas populações e mostrou-se fortes diferenças entre as populações 1 e 2, sendo que a população 1 apresentou menor “adaptação” em autofecundação e a população 2, obteve aproximadamente a mesma adaptação para ambos os sistemas de acasalamento (NJIOKOU *et al.* 1992). Segundo os autores, quando a autofecundação é selecionada por uma população e a fecundação cruzada por outra população, um aparente isolamento reprodutivo pode ocorrer quando os indivíduos dessas duas populações forem pareados. Do mesmo modo que a população 2, a população de Tremembé apresentou a mesma “adaptação” em autofecundação e fecundação cruzada. E a população de Sorocaba apresentou-se como a população 1.

No entanto, não foi possível no presente trabalho a realização dos testes de cruzamentos entre indivíduos das duas populações de caramujos de *B. tenagophila*, devido à ausência dos marcadores genéticos albinos.

Dando seqüência as análises, a variável tamanho, foi utilizada para comparar as duas populações de *B. tenagophila*, uma vez que estas foram submetidas às mesmas condições experimentais. Os resultados apresentaram as duas populações de *B. tenagophila* com os mesmos tamanhos, menos a geração F1 de Tremembé (Figuras 23, 24 e Tabela 7), que apresentou tamanho médio menor em 1 mm em relação aos demais grupos.

A idade observada na maturidade sexual em condições experimentais foi de três meses, aproximadamente, para ambas as populações.

Esperava-se encontrar diferenças significativas para o tamanho dos animais na maturidade sexual entre as populações de *B. tenagophila* de Sorocaba e Tremembé,

tendo em vista que as populações possuem histórias naturais distintas, inclusive pelo contexto eco-parasitário.

Pouco se pode inferir sobre o menor tamanho dos caramujos de Tremembé F1 na maturidade sexual, pois não foi observada nenhuma causa que justificasse a relação de menor diâmetro e baixo desempenho da população da geração F1 de Tremembé em laboratório.

Com objetivo ainda de comparar as duas populações, buscou-se um outro referencial do aspecto reprodutivo para ser avaliado. Por meio da análise inferencial foi possível descrever algumas relações lineares entre diâmetro da concha na maturidade sexual e as variáveis desovas, ovos e fecundidade.

Os resultados revelaram que a população de Sorocaba apresentou associação linear significativa entre tamanho e todas as variáveis testadas. Enquanto a população de Tremembé, apresentou associação linear significativa apenas entre diâmetro e a fecundidade. Este resultado pode ser explicado pelo fato de nem todos os indivíduos de maior tamanho na maturidade sexual, obter boa oviposição no período reprodutivo analisado. Uma variação nesse sentido, pode diminuir as associações tanto para desova quanto para ovo, como ocorreu para a população de Tremembé. Nesse contexto, cabe salientar que os melhores índices de desovas e ovos obtidos pela população de Sorocaba, possivelmente compensou este tipo de variação.

Entretanto, quando se constrói uma relação de ovos/desovas (fecundidade) estamos de certa forma corrigindo possíveis variações e a associação linear aumenta, como de fato ocorreu, inclusive para a população de Tremembé.

Mediante os resultados da associação linear, pode-se esperar que animais de maior diâmetro na maturidade sexual terão melhor capacidade reprodutiva.

É oportuno lembrar que no período da maturidade sexual dos caramujos do gênero *Biomphalaria* grandes mudanças morfológicas e fisiológicas estão ocorrendo, sendo pertinente investigar mais a fundo o sentido biológico dessas correlações.

O presente estudo, permitiu identificar as variações existentes entre as populações de *B. tenagophila* de Tremembé e Sorocaba sob o ponto de vista reprodutivo. E quando se pensa em estratégias de controle, é importante considerar as variações populacionais. Um exemplo de possíveis implicações em decorrência da variabilidade populacional foi dado por ZHOU *et al.* (2002), que referiram sobre a variação nas respostas dadas à niclosamida em condição experimental por populações de *Oncomelania hupensis* coletadas em 37 sítios em área endêmica, no sudeste da China. Os pesquisadores salientaram que os sítios em que foram coletadas as populações, pertencem a uma área geograficamente isolada, não justificando tamanha variação natural das respostas.

No entanto, é preciso considerar que a variabilidade populacional encontra-se distribuída em subpopulações devido às diferentes histórias demográficas, resultantes da variação do tamanho populacional, efeito fundador, deriva genética, entre outros fatores (NJIOKOU *et al* 1994; VIARD & JARNE 1997).

À exemplo das populações hospedeiras aqui estudadas, as variações encontradas implicariam em diferentes respostas às medidas de controle; no caso de extinção populacional, os caramujos de Tremembé seriam restaurados em menor tempo, por ser uma população mais especializada na sobrevivência. Considerando sua

história natural, que inclui o moluscicida, que recebeu por vários anos, as adversidades ambientais, já conhecidas e suas estratégias reprodutivas especializadas, como foi observada pela sua capacidade diferenciada em se reproduzir por autofecundação em relação à população de Sorocaba, que provavelmente, não desenvolveu estas estratégias de modo mais eficiente.

10. Conclusões

- A fecundação cruzada foi o modo de reprodução que obteve as maiores médias entre as variáveis reprodutivas das populações de *B. tenagophila* de Sorocaba e Tremembé nas duas gerações estudadas.
- *B. tenagophila* de Tremembé não exibiu diferenças entre autofecundação e fecundação cruzada para a maioria das variáveis reprodutivas, constituindo-se em evidências para sugerir que a autofecundação foi selecionada.
- A população de Sorocaba sendo mais heterogênea geneticamente apresentou sua melhor performance reprodutiva em fecundação cruzada. A população de Tremembé com um perfil genético mais homogêneo, mostrou vantagens em autofecundação.
- Não houve diferença de diâmetro entre os caramujos na maturidade sexual das duas populações.
- Caramujos de maior diâmetro na maturidade sexual está associado com a maior fecundidade, nas condições experimentais estabelecidas.
- As populações de *Biomphalaria tenagophila* de Sorocaba e Tremembé apresentaram variações no modo de reprodução relacionada à sua história de vida.

- As variações populacionais devem ser consideradas na elaboração das medidas de controle da esquistossomose.

11. *Referências

- Agnew P, Koella JC, Michalakis Y. Host life history responses to parasitism. **Microbes infect** 2000; 2: 891-896.
- Amancio E, Freitas JS. Diminuição do sucesso reprodutivo de *B. tenagophila* (Mollusca: Planorbidae) após a fecundação cruzada. In **Caderno de Resumos do V Congresso Latino Americano de Malacologia 2002 jun 30- jul 4**; São Paulo, Brasil. São Paulo: Instituto Butantan/ Instituto Biociências da USP; p 265-6.
- Andrade RM, Carvalho OS. Alimentação e fecundidade de Planorbídeos criados em laboratório I: *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny 1835) (Pulmonata, Planorbidae). **Rev Bras Biol** 1972; 32: 225-233.
- André CDS, Artes R, Poletto FZ. **Biologia Reprodutiva de Duas Populações de *Biomphalaria tenagophila* de Áreas com e sem Transmissão de Esquistossomose no Estado de São Paulo**. São Paulo; 2002. IME-USP. (Relatório de Análise Estatística RAE- 02P13B).
- Aragão MB. Equilíbrio da natureza e controle biológico. **Rev Bras Malariol Doenças Trop** 1967; 19: 655- 95.
- Amaral RS, Porto MAS. Evolução e situação do controle da esquistossomose no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop** 1994; 27 suppl 3: 73-90.

* As referências foram baseadas nas normas do Grupo de Vancouver.

- Badger LI, Oyerinde JPO. *Schistosoma mansoni*: effect of aestivation on the intra-molluscan stages and the survival rate of infected *Biomphalaria pfeifferi*. **An Trop Med Parasitol** 1996; 90: 617-620.
- Barbosa FS, Dobbin Jr JE. Resistência de *Australorbis glabratus* a dessecação em condições naturais. **Pub Avulsas Inst Ageu Magalhães** 1952; 1:141- 4.
- Barbosa FS, Barbosa I. Dormancy during the larval stages of trematode *Schistosoma mansoni* in the snail aestivating on the soil of dry natural habitats. **Ecology** 1958; 39: 763-4.
- Bayomy MFF, Joosse J. The effects of isolation, grouping and population density on fecundity of *Bulinus truncates*. **Int J Invertebr Reprod Dev** 1987; 12: 319-330.
- Blair L, Webster JP. The impact of parasite pressure on the reproductive fitness. In **Livro de resumos do 8º International Symposium on Schistosomiasis; 2001 dec 2-5; Recife-Pe, Brazil; ST4-48.**
- Brand T, McMahon P, Nolan MG. Physiological observations on starvation and desiccation of the snail *Australorbis glabratus*. **Biol Bull** 1957; 113: 89-102.
- Brøderson J, Chimbari Mj, Madsen H. Laboratory experiments on snail-size selection by a snail predator, *Sargochromis codringtoni* (Pices: Cichlidae). **J Moll Stud** 2002; 68: 194-6.
- Brumpt E. Observations biologique diverses concernant *Planorbis glabratus* hote intermediaire of *Schistosoma mansoni*. **Ann Parasitol** 1941; 18: 9-45.

- Camey T and Verdonk NH. The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* and the origin of head organs. **Netherlands J Zool** 1970; 20: 93-121.
- Charlesworth D, Charlesworth B. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. **Ann Rev Ecology Systematic** 1987; 18: 237- 268.
- Chernin E, Michelson EH, Augustine DL, The control of *Australorbis glabratus* populations by the snail *Marisa corumarietis*, tender laboratory conditions. **Am J Trop Med Hyg.** 1956; 5: 297-30.
- Chitsulo L, Engels D, Montresor A, Savioli L. The global status of schistosomiasis and its control. **Acta Tropica** 2000; 77:41-51.
- Coutellec-Vreto MA, Jarne P, Guiler A, Madec L. Inbreeding and fitness in the freshwater snail *Lymnaea peregra*: an evaluation over two generations of self-fertilization. **Evolution** 1998; 52: 1635-1647.
- Crompton DWT. How much human helminthiasis is there world? **J Parasitol** 1999; 85: 397-403.
- Cunha AS. **Esquistossomose mansoni**. Editora da Universidade de São Paulo. 1970.
- De Visser JACM, Ter Maat A, Zonneveld, C. Energys budgets and reproductive allocation in the simultaneous hermaphrodite pond snail, *L stagnalis*: a trade-off between male and female function. **Am Nat** 1994; 144: 861-7.
- Dias MLF. Padrões Comportamentais da Reprodução de *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny) (Mollusca, Planorbidae). São Paulo; 1995. [Tese de Doutorado apresentada ao Dept. de Biologia do IBUSP].

- Diggle P, Liang K, Zeger SL. **Analyses of longitudinal data**. New York: Oxford; 1994.
- Doums C, Delay B, Jarne P. A problem with the estimate of self-fertilization depression in the hermaphrodite freshwater snail *Bulinus truncatus*: the effect of grouping. **Evolution** 1994; 48: 498-504.
- Doums C, Viard F, Pernot AF, Delay B, Jarne P. Inbreeding depression, neutral polymorphism and copulatory behavior in freshwater snails: a self-fertilization syndrome. **Evolution** 1996; 50: 1908-1918.
- Duncan CJ. **Reproduction**. In: Fretter V, Peake I, editores. Pulmonates. Functional anatomy and physiology. New York: Academic Press; 1975. vol I; p309-65.
- Engels D, Chitsulo L, Montresor A, Savioli L. The global epidemiological situation of Schistosomiasis and new approaches to control and research. **Acta Tropica**. 2002; 82: 139-46.
- Esch GW, Curtis LA, Barger MA. A perspective on the ecology of trematode communities in snails. **Parasitology** 2001; 123: 57-75.
- Faust EC, Hoffman WA. Studies on Schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological studies. 1. the extra-mammalian phases of the cycle. Puerto Rico. **Publ Health Trop Med**. 1934; 10: 1-47.
- Freitas JR. Ecologia de vetores de doenças, o *habitat* primitivo de *Biomphalaria glabrata*. **Ciência e Cultura**. 1976; 28: 212-17.
- [FUNASA] Fundação Nacional de Saúde. Esquistossomose mansônica. [on line] disponível em URL: <http://www.funasa.gov.br/pub/gve/gve0510a.htm> [2003 jan 31].

- Futuyma DJ. **Biologia evolutiva**. 2ª ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética/CNPq; 1992.
- Garton DW, Haag WR. Heterozygosity, shell length and metabolism in the European mussel *Dreissena polymorpha* from a recently established population in lake Erie. **Comp Biochem Physiol**. 1991; v 99a (1/2): 45-48.
- Geraerts WPM, Joosse J. Freshwater snail (Basommatophora). **The Mollusca** 1984; 7: 142-99.
- Gerard C. Structure and temporal variation of trematodeo and gastropod communities in a freshwater ecosystem. **Parasite** 2001; Dec; 8: 275-87.
- Ghiselin MT. Evolution of hermafroditism among animals. **Q Rev Biol** 1969; 44: 189-208.
- Guimarães CT, Souza CP, Soares DM, Araújo N, Schuster LMR. Ocorrência de moluscos em aquático of ornamental fishes in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1990; 85: 127.
- Gutiérrez A, Perera G, Wong MYL .The effect of isolation on life-history traits of *Pseudosuccinea collumela* **Mem Inst Oswaldo Cruz** 2001; 96: 577-81.
- Heller J. Hermaphroditism in moluscs. **Biol J Linn Soc Lond** 1993; 48: 19-42.
- Hoffman PRP. **Aspectos da Biologia e do Polimorfismo Enzimático em Três Espécies do Gênero *Biomphalaria***. São Paulo; 1987 [Tese de Doutorado- Instituto de Biociências da USP].

- Jarne P, Vianey-Liaud M, Delay B. Selfing and outcrossing in hermaphrodite freshwater gastropods (Basommatophora): Where, When and Why. **Biol J Linn Soc** 1993; 43: 99-125.
- Jarne P and Charlesworth D. The Evolution of selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. **Ann Rev Ecol Syst** 1993; 24: 441-66.
- Jarne P, Viard F, Delay B, Cuny G. Variable microsatellite in the highly selfing snail *B. truncatus* (Basommatophora: Planorbidae). **Mol Ecol** 1994; 3: 327-8.
- Jarne P & Städler T. Population genetic structure and mating system evolution in freshwater pulmonates. **Experientia**. 1995; 51: 482-97.
- Jarne P, Perdieu MA, Pernot AF, Delay B, David P. The influence of self-fertilization and grouping on fitness attributes in the freshwater snail *Physa acuta*: population and individual inbreeding depression. **J Evol Biol** 2000; 13: 645-55.
- Jokela J, Lively CM . Parasites, sex and early reproduction in mixed population of freshwater snails. **Evolution** 1995; 49(6): 1268-1271.
- Jokela J, Dybdahl MF, Lively CM. Habitat-specific variation in life-history, clonal population structure and parasitism in a freshwater snail (*Potamopyrgus antipodarum*). **J Evol Biol** 1999; 12: 350-360.
- Johson SG. Parasitism, reproductive assurance and the evolution of reproductive mode in a freshwater snail. **Proc R Soc Lond B**. 1994; 225: 209-213.
- Joosse J and Reitz D. Functional anatomical aspects of the ovotestis of *Lymnaea stagnalis*. **Malacologia**. 1969; 9: 101-109.

- Kawano T. **Embriologia**. In Frederico Simões Barbosa, organizador. Tópicos em Malacologia Médica. Rio de Janeiro: Fiocruz; 1995. p.157-200.
- Katz N, Peixoto SV. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop** 2000; 33: 303-8.
- Kawazoe U. **Alguns Aspectos da Biologia de *B.glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny 1835) (Pulmonata:Planorbidae)**. Belo Horizonte, 1975 [Tese Mestrado-Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais].
- Kloetzel K. Schistosomiasis in Brazil: does social development suffice? **Parasitol Today** 1989; 5: 388-91.
- Lagrange E. La lutte biologique contre les planorbes. **Ann Soc Bel Med Trop**. 1953; 33: 227-36.
- Lively CM. Evidence from a New Zealand snail for the maintenance of sex by parasitism. **Nature Lond** 1987; 328: 519-21.
- Lively CM. Parthenogenesis in a freshwater snail: reproductive assurance versus parasitic release. **Evolution** 1992; 46: 907-913.
- Lively CM, Lyons EJ, Peters AD, Jokela J. Environmental stress and maintenance of Sex in a freshwater snail. **Evolution** 1998; 52(5): 1482-86.
- Machado PA. The Brazilian Program for Schistosomiasis Control. **Am J Trop Med Hyg** 1982; 31: 76-86.

- McCracken G, Selander RK. Self-fertilization and monogenic strains in natural population of terrestrial slugs. **Proc Natl Acad Sci (USA)** 1980; 77:684-88.
- McCullough FS. Biological control of the intermediate hosts of human *Schistosoma* spp: a review of its present status and future prospects. **Acta Tropica**. 1981; 81: 5-13.
- McCullough FS. The role of mollusciciding in schistosomiasis control. Documents WHO/Schisto/92.107, p 34. 1992.
- McCullagh P, Nelder JA. **Generalized Linear Models** (The monographs on Statistics and Applied Probability). 2^a ed. London: Chapman & Hall; vol.37; 1989.
- Madec L, Guiler A, Coutellec-Vreto MA, Desbuquois C. Size-fecundity relationships in the land snail *Helix aspersa*: preliminary results on a form outside the norm. **Invertebr Reprod Dev** 1998; 34: 83-90.
- Malek EA. **Snail hosts of schistosomiasis and others snail transmitted diseases in tropical America: A manual morphology**. Pan American Health Organization, WHO. 1985; (Scientific publication n° 478).
- Mascara D, Morgante JS. Enzyme polymorphism and genetic structure of *B. tenagophila* (Gastropoda, Planorbidae) populations: founder effect. **Rev Bras Genética** 1991; 14: 631-44.
- Marçal OJ. **Impacto do Controle da Esquistossomose mansônica sobre o Hospedeiro Humano em Área de Baixa Endemicidade (Pedro de Toledo, São Paulo, 1980-1992)**. Campinas (SP), 1995. [Tese de Doutorado-Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas].

- Michiels NK. Sexual adaptations to high density in hermaphrodites. **Invertebr Reprod Dev** 1999; 36: (1/3);35-40.
- Michelson EH. The effects of temperature on growth and reproduction of *Australorbis glabratus* in laboratory. **Am J Hyg** 1961; 73: 66-74.
- Michelson EH. Studies on the biological control of Schistosome-bearing snail predator and parasites of freshwater mollusca. A review of the literature. **Parasitology** 1957; 47: 413-420.
- Minchella, D.J. & Loverde, P.T. A cost of increased early reproductive effort in the snail *Biomphalaria glabrata* stocks which are susceptible and insusceptible to infection with *Schistosoma mansoni*. **Parasitology** 1981; 86:335- 44.
- Monteiro W, Almeida JMG Jr., Dias BS. Sperm sharing in *Biomphalaria* snail: a new behavioural strategy in simultaneous hermaphroditism. **Nature** 1984; (308): 727-729.
- Monteiro W, Dias BFS. Estratégias reprodutivas em *Biomphalaria* (Mollusca, Planorbidae). **Ciência e Cultura** 1989; 41: 1051-54.
- Morgan JAT, Dejong RJ, Snyder SD, Mkoji GM, Loker ES. *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: post history and future trends. **Parasitology** 2001; 123: 211-28.
- Mott KE. **Schistosomiasis Control**. Parasitic Diseases Programm-WHO. 1987; 431-47.
- Mulvey M, Vrijenhoek RC. Population structure in *Biomphalaria glabrata*: examination of an hypothesis for patchy distribution of susceptibility to Schistosomes. **Am J Trop Med Hyg** 1982; 31: 1195-1200.

- Nascimento CB. Esquistossomose mansônica em São Paulo: o controle na década de 80. São Paulo; 1995. [Dissertação de Mestrado- Faculdade de Saúde Pública/USP].
- Neter J, Kutner MH, Nachtsheim CJ, Wasserman W. **Applied Linear statistical Models**. 4^a ed. Boston: McGraw Hill;1996. 1408 p
- Nicolas KM. Sexual adaptation to high density in hermaphrodites. **Invertebr Reprod Dev** 1999; 36(1/3): 35-40.
- Njiokou F, Bellec C, N'Goran EK, YapiYapi G, Delay B, Jarne P. Comparative fitness and reproductive isolation between two *Bulinus globosus* (Gastropoda:planorbidae). **J Moll Stud** 1992; 58: 367-76.
- Njiokou F, Bellec C, Jarne P, Finot L, Delay B. Mating-system analysis using protein electrophoresis in the self-fertile hermaphrodite species *Bulinus truncates* (Gastropoda: Planorbidae). **J Moll Stud** 1993; 59: 125-33.
- Njiokou F, Delay B, Bellec C, N'Goran EK, Yapi Yapi G, Jarne P. Population Genetic structure of the schistosome-vector snail *Bulinus globosus*: examining the role of genetic drift, migration and human activities. **Heredity** 1994; 72: 488-97.
- Ohlweiler FP & Kawano T. *Biomphalaria tenagophila*(Obigny, 1835) (Mollusca): Adaptation to desiccation and Susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. **Rev. Inst Med Trop** 2002. 44: 191-201.
- Oyeyi TI, Ndifon GT. Post-aestivation biology of *B. rohefsi*. **An Trop Med Parasitol** 1990; 84: 535-36.

- Paraense WL. Autofecundação e fecundação cruzada em *Australorbis glabratus*. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1955; 53(2/4): 277-84.
- Paraense WL. One-sided reproductive isolation between geographically remote populations of planorbid snail. **American Naturalist** 1959; 93: 93-101.
- Paraense WL. Shell versus anatomy in planorbid systematics. I *Australorbis glabratus*. **Rev Bras Biologia** 1961; 21: 163-70.
- Paraense WL. The distribution of the molluscan vectors of Schistosomiasis in the America. **Brasília Médica** 1975; 11(1/2): 11-14.
- Paraense WL. The sites of cross and self fertilization in Planorbis snail. **Rev Bras Biologia** 1976; 36: 535-39.
- Paraense WL. Control of schistosomiasis mansoni: na outlook from current expectation. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1987; 82 suppl. IV: 1-12.
- Paulini E, Camey T. Observações sobre a biologia do *Australorbis glabratus* : influência da temperatura do ambiente sobre a frequência da postura. **Rev Bras Malariol Doenças Trop** 1964; 499-504.
- Pearson EJ and Cheng TC. Studies on parasitic castration: occurrence of a gametogenesis-inhibiting factor in extract of *Zoogonus lasius* (trematoda). **J Invertebr Pathol** 1985; 46: 239-246.
- Perlowagora-Szumlewicz A. Studies on the biology of *Australorbis glabratus*, *Schistosoma*- bearing snail. **Rev Bras Malariol. Doenças Trop** 1958; 10: 459-531.

- Pimentel-Souza F, Shall VT, Barbosa NDC, Schettino M, Lautner Jr R. Influence of experimental illumination and seasonal variation on crossbreeding mating in the snail *B. glabrata*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro** 1988; 83(1): 79-85.
- Pontier JP and Giboda M. The case for biological control of snail intermediate hosts of *Schistosoma mansoni*. **Parasitology Today** 1999; 15: 395-6.
- Pontier JP, Jourdane J. Biological control of the snail hosts of schistosomiasis in areas of low transmission: the example of the Caribbean area. **Acta Tropica** 2000; 77:53-60.
- Rey L. **Contribuição para o conhecimento da morfologia, biologia e ecologia dos planorbídeos brasileiros transmissores da esquistossomose: Sua importância em epidemiologia**. Rio de Janeiro: Serviço Nacional de Educação Sanitária; 1956.
- Rey L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1973; 21: 477-478.
- Rey L. **Bases da Parasitologia Médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 2002; 2ª edição. 153-171.
- Richards C. Estivation of *B. glabrata* (Basommatophora, Planorbidae): genetic studies. **Malacoglia** 1967; 7: 109- 116.
- Silveira AC. Controle da Esquistossomose no Brasil. **Mem Inst Oswaldo** 1989; 84 suppl.I: 451-58.
- Soares MS, Barreto MGM, Silva CLPAC, Pereira JB, Moza PG, Rey L, Calçado MS, Lustosa A, Maspero R. Schistosomiasis in low prevalence area: incomplete

- urbanization increasing risk of infection in Piracambi, RJ, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1995; 90: 451-8.
- Sorensen RE and Minchella DJ. Snail – trematode life history interaction. **Parasitology** 2001; 123: S3-S18.
- Sturrock RF and Sturrock BM. Observation on some factors affecting the growth rate and fecundity of *B. glabrata*. **Ann Trop Med Parasitol** 1970; 64: 349-55.
- Sturrock RF and Sturrock BM. The influence of temperature on the biology of *Biomphalaria glabrata*, intermediate host of *Schistosoma mansoni* on Santa Lucia, West Indies. **Ann Trop Med Parasitol** 1972; 66: 385-90.
- [SUCEN] Superintendência de Controle de Endemias. **Programa de Controle de Esquistossomose**; 1989. Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.
- [SUCEN] Superintendência de Controle de Endemias. **Relatório de avaliação do Programa da Esquistossomose no Estado de São Paulo 1981-1992**. São Paulo; 1994.
- Teles HMS. Distribuição de *Biomphalaria straminea* ao sul da região neotropical, Brasil. **Rev Saúde Pública** 1996; 30: 341-9.
- Teles HMS, Vaz JF. Distribuição de *Biomphalaria glabrata* (Say 1818) (Pulmonata, Planorbidae) no Estado de São Paulo. **Rev Saúde Pública**. 1987; 21: 508-12.
- Thomas F, Guegan JF, Michalakis Y, Renaud F. Parasites and host life-history traits: implications for community ecology and species co-existence. **Int J Parasitol** 2000; 30: 669-74.

- Thomas JD and Benjamin M. The effects of populations density on growth and reproduction of *B. glabrata* (Say, 1818) (Gastropoda: pulmonata). **J An Ecol** 1974; 43: 31-50.
- Thomas JD. A holistic view of Schistosomiasis and snail control. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1987; 82: 183-192.
- Thornhill JA, Jones J and Kusel JR. Increase oviposition and growth in immature *Biomphalaria glabrata* after exposure to *Schistosoma mansoni*. **Parasitology** 1986; 93:443-50.
- Tuan, R. **Polimorfismo de Microsatélites no caramujo hermafrodita *B.tenagophila* (Pulmonata: Planorbidae)**. São Paulo: FAPESP; 2001 (Relatório, nº 1999/0091-7).
- Universidade de São Paulo. Faculdade deSaúde Pública. **Guia de Apresentação de Teses**. São Paulo;1998.
- Vaz JF. Distribuição e dispersão de *B. tenagophila* (D'Orbigny) (Gastropoda, Pulmonata). **Ciência e Cultura** 1989; 41: 14-27.
- Vera C, Bremond P, Labbo R, Mouchet F, Sellin E, Boulanger D, Pontier JP, Delay B, Sellin B. Seasonal fluctuations in population densities of *Bulinus senegalesis* and *Bulinus truncatus* (Planorbidae) in temporary pools in a focus of *Schistosoma haematobium* in Niger: implications for control. **J Mollusc Stud** 1995; 61: 79-88.
- Vernon JG, Taylor JK. Low reproductive output of isolated self-fertilization snail: inbreeding depression or absence of social facilitation. **P Roy Soc Lond B Biol** 1994; 259: 131-6.

- Vernon JG, Taylor JK. Patterns of sexual roles adopted by the *Schistosoma*-vector snail *B. glabrata* (Planorbiadae). **J Moll Stud** 1996; 62: 235-41.
- Vianey-Liaud M. Influence de L'isolement et de la taille sur la fecondité du planorbe *Australorbis glabratus* (Gasterópode-Pulmoné). **Bull Biol Fran Bel** 1976; 110: 5-29.
- Vianey-Liaud M, Nassi H, Lancastre F, Dupouy J. Duration of pairing and use of allosperm in *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda Planorbidae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1989; 84(1); 41-45.
- Vianey-Liaud M, Dussart G. Starvation, desiccation and use of alloesperm in the hermaphrodite freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata). **J Moll Stud** 1994; 60: 225-62.
- Vianey-Liaud M, Joly D, Dussart G. Sperm competition in the simultaneous hermaphrodite freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Pulmonata). **J Moll Stud** 1996; 62: 451- 57.
- Viard F, Justy F, Jarne P. The influence of self-fertilization and population dynamics on the genetic structure of subdivided populations: a case study using microsatellite markers in the freshwater snail *B. truncatus*. **Evolution** 1997; 51: 1518-28.
- Waldman EA, Silva LJ, Monteiro CA. Trajetória das doenças infecciosas: da eliminação da poliomelite a reintrodução da cólera. **Informe Epidemiológico do SUS**. São Paulo; HUCITEC/NUPENS/USP; 1999.

Warren KS. Schistosomiasis: past, present and future. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 1987; 82(suppl IV): 25-9.

[WHO] World Health Organization. *Report of the WHO Informal Consultation on Schistosomiasis Control.* Geneva; 1998. (WHO/CDS/CPC/SIP/99.2).

Zhou X, Minggang C, Mcmanus D, Bergquist R. Schistosomiasis control in the 21 st century Proceedings of the International Symposium on Schistosomiasis, Shangai, July 4-6, 2001. **Acta Tropica.** 2002; 82: 95-104.

ANEXO: FOTOGRAFIA DOS MINI-AQUÁRIOS



DESOVAS



**OVIPOSIÇÃO DE
*BIOMPHALARIA***

