

ESTUDOS SOBRE O COMPORTAMENTO DOS PLANORBÍDEOS:
I – UMA TÉCNICA DE OBSERVAÇÃO E REGISTRO
COMPORTAMENTAL POR CINEMATOGRAFIA

OTÁVIO S. PIERI*
PEDRO JURBERG*
JORGE S. RAYMUNDO*

*Uma técnica envolvendo cinematografia com lapso de tempo foi elaborada para o estudo da atividade comportamental dos planorbídeos em condições de laboratório. As observações realizam-se em uma câmara dotada de ciclo de iluminação dia-noite, e os registros são feitos com uma filmadora super-8, operada quadro a quadro, sob luz de flash estroboscópico. Essa técnica tem permitido mensurações rigorosas de diferentes aspectos do comportamento de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), e pode ser utilizada na análise do nível de resposta dos planorbídeos aos moluscicidas, em testes experimentais, e dos comportamentos de proteção frente a condições adversas em geral.*

A importância dos dados comportamentais em estudos que visam ao combate aos moluscos vetores da xistosomose tem sido reiteradamente reconhecida (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1965; Malek & Cheng, 1974). A possibilidade de os caramujos escaparem às secas e à aplicação de moluscicidas graças a comportamentos de proteção, como fuga e enterramento, tem merecido especial atenção, já que uns poucos sobreviventes bastam para promover o repovoamento dos criadouros (Paraense, Pereira & Pinto, 1954; Paulini, 1958; Etges, 1963b; Richards, 1967). Por sua vez, os padrões básicos de atividade, como locomoção e ida à superfície para respirar, têm sido utilizados como indicadores do nível geral de resposta dos indivíduos a substâncias tóxicas, em testes experimentais (Nolan, Bond & Mann, 1953; Harry & Aldrich, 1963). Visando a propiciar meios para mensurações acuradas desse repertório comportamental, desenvolvemos uma técnica de observação e registro em condições de laboratório, fazendo uso de cinematografia com lapso de tempo.

O emprego de filmagem com intervalo de tempo é amplamente difundido nas pesquisas biológicas (Michaelis, 1955) e, no âmbito dos estudos de comportamento, tem alcançado crescente aplicação como instrumento de registro de atividade (Gans, 1966). No que se refere às bionfalárias, essa técnica tem-se mostrado promissora na análise de diferentes aspectos de seu comportamento, como o social (Simpson, Thomas & Townsend, 1973) e o de orientação (Townsend, 1973, 1974; Sodeman & Dowda, 1974).

* Instituto Oswaldo Cruz, Caixa Postal 926, 20000 – Rio de Janeiro, Brasil.

Recebido para publicação em 17 de agosto de 1977.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Câmara de observação*

Para a obtenção de registros sob condições de controle, uma caixa de madeira com paredes duplas, medindo internamente 70 x 50 x 50 cm (Fig. 1), foi construída para oferecer iluminação com ciclo dia-noite e temperatura controlada, além de permitir o uso de uma unidade de registro cinematográfico.

A iluminação da câmara é provida por duas lâmpadas fluorescentes de 15 W tipo "luz do dia" (1ª na Fig. 1), situadas no teto e cujos reatores ficam do lado de fora. Abaixo delas há uma placa de acrílico fosca (pd) para difundir a luz. Um programador de tempo SERMAR "Cronomat" (se), externo à câmara, é regulado para acender as lâmpadas às 6 horas e apagá-las às 18 horas, reproduzindo o ciclo diurno.

A temperatura da câmara é mantida dentro de limites pequenos de variação, graças à presença de um exaustor (ex) com motor de alta rotação localizado entre as lâmpadas e dirigido para uma abertura (as) praticada no teto; a entrada de ar é feita por outra abertura (ae), situada ao lado das portas (pe, pv). Em ambos os orifícios há um anteparo que impede a incidência de luz proveniente de fora, não obstante permita a circulação de ar. Com esse sistema, que opera durante o dia, sob controle do programador de tempo, a variação diária de temperatura da água é de 4°C.

2. *Unidade de registro cinematográfico*

A filmadora (fi), uma CANON "Auto-Zoom 814-E" super-8, situa-se fora da câmara de observação, havendo, na parede frontal aos aquários, um orifício por onde é introduzida a objetiva. Esta é ajustada para a menor distância focal (7,5 mm) e o menor valor na escala de distância (1,2m). Para facilitar o enquadramento, os aquários são colocados sobre uma plataforma de elevação (pl) CENCO "Lab-Jack", o que permite regular a altura sem movimentos bruscos. Um relógio (re) para registro do tempo decorrido é filmado simultaneamente à atividade dos caramujos.

As filmagens são realizadas quadro a quadro, e um dispositivo de controle de intervalo (in) CANON "Interval Timer E" aciona o mecanismo de exposição e avanço do filme, com lapsos que podem variar de 1 a 60 seg. A iluminação é fornecida por um flash eletrônico estroboscópico (fl) SUNNYSCOPE "120 De Luxe 5" (duração: 1/1000 a 1/1500 seg), sincronizado à filmadora. O flash é introduzido na câmara de observação através de uma abertura retangular feita acima do orifício para a objetiva, podendo os comandos ser operados externamente. Para evitar reflexos indesejáveis no vidro dos aquários, o flash (cujo arco de radiação de luz é de 65°) é inclinado 33° para cima, com auxílio de um suporte (su); além disso, há, à sua frente, um pequeno anteparo (an) opaco. Nessas condições, com as paredes internas da câmara pintadas de tinta alumínio, obtêm-se imagens de brilho e nitidez satisfatórios com abertura de diafragma f/8, usando-se película KODAK "Ektachrome 160".

A análise dos registros é feita com auxílio de um editor comum de filme super-8 (HANIMEX "E 300"), o que permite o exame de fotogramas individuais tantas vezes quanto necessário. Medidas de tempo podem ser calculadas não só com base na marcação do relógio da câmara (que serve inclusive para localizar trechos específicos), mas também por intermédio do número de quadros em que um comportamento é observado, em função do intervalo de registro. Mensurações espaciais, quanto a deslocamentos e distribuição de indivíduos, por exemplo, podem ser obtidas quadriculando-se, nos aquários, a face de fundo à filmagem.

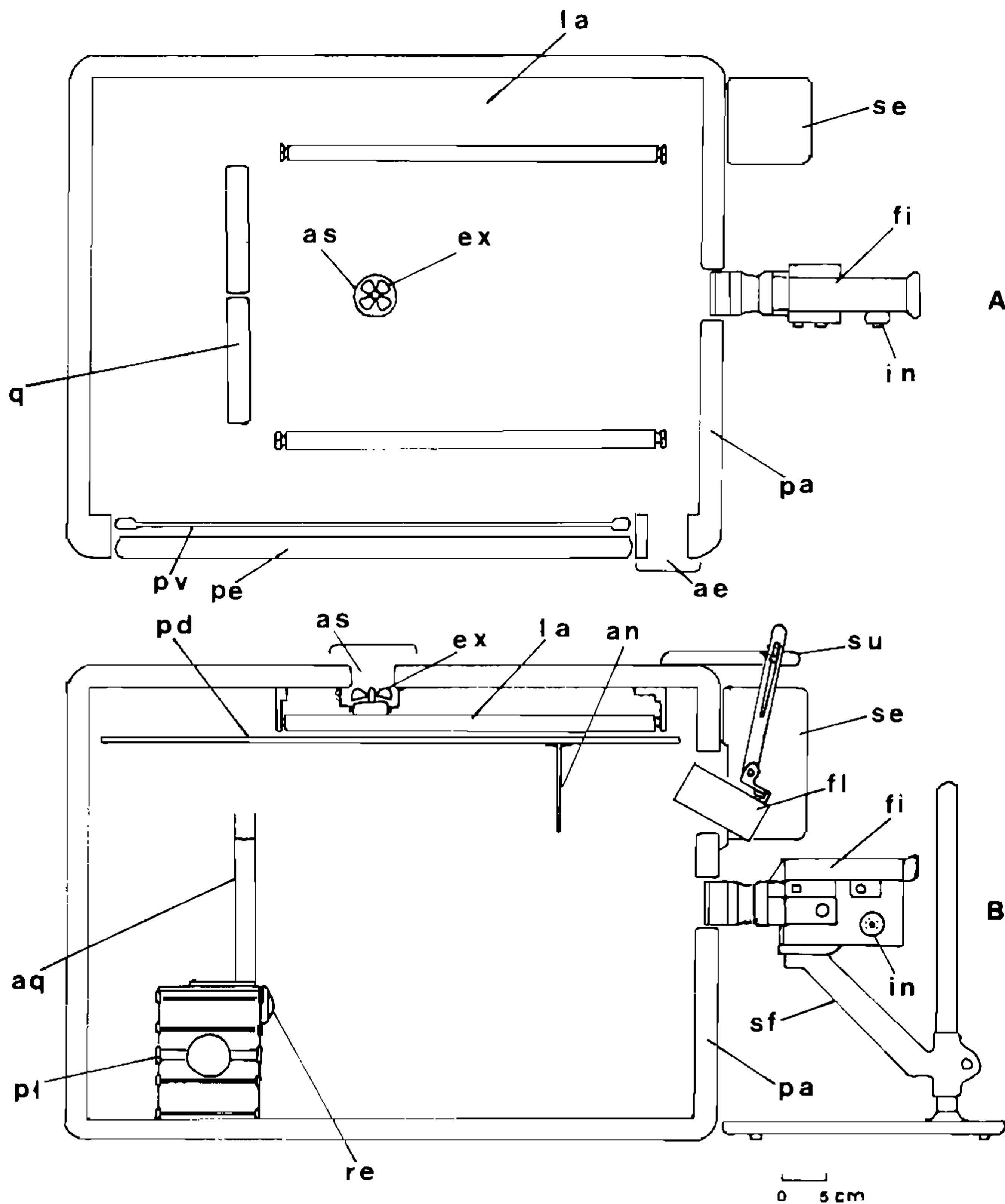


Fig. 1. Representação esquemática da câmara de observação e da unidade de registro cinematográfico. A, visão de topo; B, visão lateral; ac, abertura para entrada de ar; an, anteparo de luz; aq, aquários; as, abertura para saída de ar; ex, exaustor; fi, filmadora; fl, flash estroboscópico; in, intervalômetro; la, lâmpadas; pa, parede de isolamento da câmara; pd, placa difusora; pe, porta externa; pl, plataforma de elevação; pv, porta de vidro; re, relógio; se, seletor de programa; sf, suporte da filmadora; su, suporte do flash.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das dificuldades no estudo do comportamento dos planorbídeos está na obtenção de dados quantitativos rigorosos (Etges, 1963a, Pimentel-Souza et al., 1976a, 1976b). Quando se desejam medidas precisas do padrão de atividade comportamental sob condições adversas do meio, informações circunstanciais sobre a ocorrência de um evento não são suficientes. Com o emprego da técnica acima, obtêm-se registros permanentes que permitem quantificações múltiplas e acuradas.

A tabela 1 apresenta dados sobre a atividade de oito exemplares de *B. glabrata* medindo de 1,5 a 2,0cm de diâmetro (quatro em cada aquário de 20x15x2,5 cm), durante um período de quatro horas, à temperatura de 25°C, e com alimento (alface fervida) disponível no fundo. O registro foi efetuado com intervalos de 10 seg, permitindo calcular não só a frequência de idas à superfície, como também as velocidades de subida e retorno ao fundo, além do tempo de permanência na superfície. Esses dados, extraídos de um levantamento da linha de base nas condições padrão da câmara, ilustram uma aplicação da técnica aqui descrita.

TABELA 1

Medidas da atividade comportamental de oito exemplares de *Biomphalaria glabrata* em condições de laboratório, obtidas através de registro cinematográfico com lapso de 10 segundos, durante um período de quatro horas diurnas (médias e respectivos erros padrões).

Período de Registro (Horas)	Frequência de Emersões por Indivíduo *	Velocidade Média de Emersão (cm/min)	Tempo Médio de Permanência na Superfície (min)	Velocidade Média de Retorno ao Alimento (cm/min)
0-1	1,58	6,77 ± 0,81	2,23 ± 1,06	7,71 ± 0,44
1-2	1,88	5,90 ± 0,52	1,44 ± 0,20	6,88 ± 0,38
2-3	1,75	6,74 ± 0,34	2,21 ± 0,57	7,59 ± 0,59
3-4	2,13	7,13 ± 0,45	1,85 ± 0,40	7,03 ± 0,81
Total	1,78 ± 0,16	6,63 ± 0,24	2,18 ± 0,28	7,30 ± 0,27

OBS.: Na coluna assinalada com asterisco, os valores correspondem à razão entre o número de emersões observadas e o total de indivíduos (8).

Na atividade comportamental dos planorbídeos, é característico ocorrerem eventos com relativamente baixa frequência e longa duração. Por exemplo, nas referidas condições de observação, houve menos que duas idas à superfície por hora, em média, por indivíduo, e o tempo de permanência foi superior a 2 minutos, em média, para cada emersão (Tab. 1). Por isso a presença de um observador para registrar continuamente eventos como esses costuma acarretar uma perda de tempo desnecessária e um alto custo operacional.

A cinematografia com lapso de tempo, por outro lado, proporciona longos períodos de registro ininterrupto, sem perda de informações relevantes. Com intervalo de 10 segundos, escolhido para as observações em pauta, obtêm-se 10 horas e 30 minutos de registro, antes de ser necessária a substituição do filme. Além disso, para eventos como aqueles observados, o índice de fidedignidade é alto: comparando-se com registros contínuos, simultaneamente levados a efeito, houve acima de 98% de concordância em relação tanto às medidas de frequência e duração quanto às de velocidade.

No que diz respeito a possíveis efeitos perturbadores da iluminação com flash sobre o comportamento dos caramujos, observações imediatamente anteriores e posteriores aos disparos nunca mostraram quedas, interrupções no movimento, mudanças bruscas de trajetória, ou qualquer outra alteração conspícua de atividade.

Com a aplicação dessa técnica, espera-se ter acesso a dados mais precisos acerca dos padrões de resposta comportamental dos caramujos vetores da xistosomose, especialmente no que diz respeito à ação de fatores adversos do meio, em testes de laboratório.

SUMMARY

Studies on the behavior of planorbids: I – A technique for behavioral observation and recording by use of cinematography.

A technique involving time-lapse cinematography was developed for studying the behavioral repertoire of planorbids in laboratory conditions. Observations were carried out within a chamber with controlled light and temperature; recording was done by single frame shooting at 10 second intervals, with synchronized strobed flash. This technique has allowed accurate measurements of different aspects of the activity of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), and can be useful in analysing the level of response of planorbids to molluscicides, in experimental tests, as well as their protective behavior under general adverse conditions.

AGRADECIMENTOS

Os a.a. agradecem a Jussara Calmon Reis de Souza Soares e Marta Pimenta Velloso, bolsistas da Fundação Oswaldo Cruz (TAS-1), pelo auxílio prestado na elaboração dos registros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ETGES, F. S., 1963a – Experimental studies on chemoreception and klinokinetic responses of *Australorbis*, *Bulinus* and *Helisoma* to chemical stimulation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 12 (4) :686-695.
- ETGES, F. S., 1963b – Effects of some molluscicidal chemicals on chemokinesis in *Australorbis glabratus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 12(4) :701-704.
- GANS, C., 1966 – An inexpensive arrangement of movie camera and electronic flash as a tool in the study of animal behavior. *Anim. Behav.*, 14 (1) :11-12.
- HARRY, H. N. & ALDRICH, D. V., 1963 – The distress syndrome in *Thaphius glabratus* (Say) as a reaction to toxic concentration of inorganic ions. *Malacologia*, 1 (2) :283-289.
- M₂ALEK, E. & CHENG, T. C., 1974 – *Medical and Economic Malacology*. Academic Press, New York, 389 p.
- MICHAELIS, A. R., 1955 – *Research Films in Biology, Anthropology, Psychology and Medicine*. Academic Press, New York, 490 p.
- NOLAN, M. O., BOND, H. W. & MANN, E. R., 1953 – Results of laboratory screening tests of chemical compounds for molluscicidal activity : I – phenol and related compounds. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 2 (4) :716-752.
- PARAENSE, W. L., PEREIRA, O. & PINTO, D. B., 1954. Re-invasion of breeding places by snails. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 48 (6) :540.
- PARAENSE, W. L., 1972 – Fauna planorbídica do Brasil. In Lacaz, C. S. e col. ed., *Introdução à Geografia Médica do Brasil*. p. 213-239. Eds. Blucher e Univ. São Paulo.
- PAULINI, E., 1958 – Bilharziasis control by application of molluscicides. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 18 (5-6) :975-988.
- PIMENTEL-SOUZA, F., FERNANDES-SOUZA, N., SHALL, V. T. & COELHO, P.M.Z., 1976a – Comportamento elementar do caramujo *Biomphalaria glabrata*. I – disposição espacial da concha. *Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol.*, 9 (2-3) :117-122.
- PIMENTEL-SOUZA, F., SHALL, V. T., FERNANDES-SOUZA, N. & COELHO, P.M.Z., 1976b – Comportamento elementar do caramujo *Biomphalaria glabrata*. II – localização e tamanho da massa cefalopodal exposta. *Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol.*, 9(2-3) :123-127.
- RICHARDS, C. S., 1967 – Estivation of *Biomphalaria glabrata* (Basommatophora: Planorbidae): associated characteristics and relation to infection with *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Méd. Hyg.*, 16 (6) :797-802.
- SIMPSON, A. W., THOMAS, J. D. & TOWNSEND, C. R., 1973 – Social behavior in the freshwater pulmonate snail *Biomphalaria glabrata*. *Behav. Biol.*, 9(6) :713-740.

- SODEMAN, W. A. Jr. & DOWDA, M. C., 1974 – Behavioral responses of *Biomphalaria glabrata*. *Physiol. Zool.*, 47 (3) :198-206.
- TOWNSEND, C. R., 1973 – The food-finding orientation mechanism of *Biomphalaria glabrata* (Say). *Anim. Behav.*, 21 (3).
- TOWNSEND, C. R., 1974 – Mucus trail following by the snail *Biomphalaria glabrata* (Say). *Anim. Behav.*, 22 (1):170-177.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1965 – Molluscicide screening and evaluation. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 33 (4) :567-581.