

School of Public Health
and Tropical Medicine,
Section of Parasitology
Tulane University, New Orleans, U.S.A.

ATRACCION SEXUAL EN STRONGYLOIDES SP. (NEMATODA) *

por

HÉCTOR MARVAL F. **

SUMMARY

Sexual attraction in *Strongyloides* sp., was studied. A migration plate was devised for the *in vitro* testing of chemical attraction. *Strongyloides* free-living females secreted a substance which attracted males. Likewise males produced a substance which attracted only females, females being more strongly attracted to males. Mated and unmated *Strongyloides* free-living adults were similarly attractive. No attraction was observed between worms of the same sex.

INTRODUCCION

Se ha sugerido que la atracción sexual puede juzgar un papel importante en la copulación y localización de los helmintos. BEAVER (2) obtuvo infecciones patentes con *Necator americanus* en humanos voluntarios quienes habían sido expuestos a solamente tres larvas. OSHIMA et al. (10) encontraron un macho *Ancylostoma caninum* y 11 hembras inseminadas, dispersos en una distancia lineal de 80 cm en el intestino de un perro. Estas observaciones sugieren, que los anquilostomideos podrían poseer algún medio de comunicación que permite a machos y hembras encontrarse, posiblemente mediante una sustancia mensajera emitida por uno o por ambos sexos (11).

* Investigación subvencionada por la Universidad de Oriente (U.D.O.)

** Prof. Agreg. del Dpto. de Parasitología y Microbiología, Escuela de Medicina, U.D.O. Cd. Bolívar, Venezuela.

Recibido el 14-X-1977).

Para ensayar la posibilidad de atracción en helmintos, se han utilizado procedimientos *in vivo* (7 y 11). Técnicas *in vitro* también han sido usadas para comprobar la atracción de un helminto hacia otro (1, 3, 5, 6, 8). En el presente estudio se ha diseñado un nuevo modelo para comprobar la atracción sexual en *Strongyloides* adultos de vida libre.

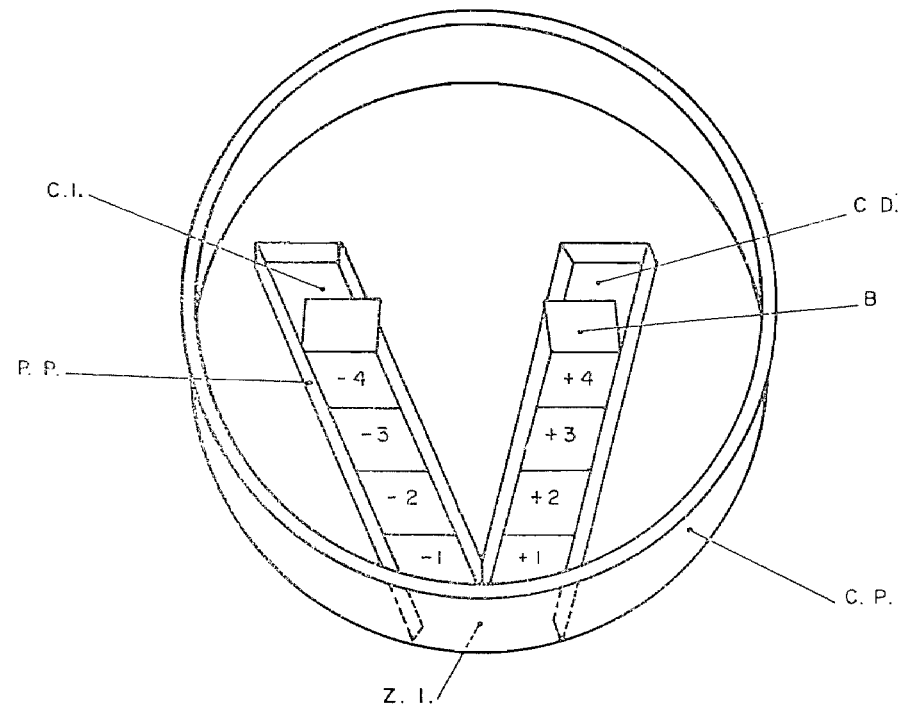
MATERIAL Y METODOS

El cultivo de *Strongyloides* usado en este estudio fue originalmente aislado de una rata almizclera de Louisiana, *Ondatra zibethica*, y luego transferida y mantenida en "gerbils". Los "gerbils" machos fueron infectados por vía subcutánea con 1.000 larvas infectantes recobradas de cultivos en papel de filtro-inclinado (9), los cuales fueron preparados con solución de Ringer en lugar de agua corriente. Los *Strongyloides* adultos fueron separados uno por uno de los cultivos por medio de agujas de disección y lavados varias veces en solución de Ringer antes de ser usados en los experimentos.

Una cápsula de migración (fig. 1) fue diseñada para probar *in vitro* la atracción química de nematodos. El diseño básico fue similar al usado por CHIN y TAYLOR (6). La cápsula de migración consistió de un canal en forma de "V" en una cápsula de petri plástica de 55 mm. Al final de cada brazo de la "V" estaba ubicada una cámara de incubación. Cada una de estas cámaras estaba separada del resto del canal de migración por una barrera de papel de filtro. Las paredes del canal y las cámaras tenían 4 mm. de alto y fueron hechas de parafina de alto punto de fusión. El vértice del canal en forma de "V" fue usado como zona de inoculación. Cada brazo de la "V" tenía 20 mm. de largo por 5 mm. de ancho y cada cámara tenía 8 mm. de largo por 5 mm. de ancha. En el lado de afuera de la cápsula de petri se trazaron líneas perpendiculares a las paredes del canal, dividiendo así cada brazo en cuatro secciones (zonas) de 5 mm. cada una (—4, —3, —2, —1, +1, +2, +3 y +4).

Diseño de los experimentos

Las respuestas de las siguientes combinaciones heterosexuales y homosexuales fueron observadas: (1) machos copula



dos con hembras copuladas; (2) machos copulados con machos copulados; (3) hembras copuladas con machos copulados; (4) hembras copuladas con hembras copuladas; (5) hembras copuladas con machos no copulados, y (6) machos copulados con hembras no copuladas. Tanto en los experimentos heterosexuales como en los homosexuales, 50 especímenes del mismo sexo fueron colocados en la cámara de prueba (derecha) conteniendo 5 gotas (0,2 ml.) de una solución de Ringer y agar nutritivo. Una pequeña sección (0,5 cm.) del brazo conectado con la cámara de prueba fue provista con la misma solución. Diez a doce horas después de la incubación, a los canales de migración se les agregó la solución de agar nutritivo 2 por ciento a una profundidad de 3 a 4 mm. Hora y media más tarde 20 especímenes del sexo opuesto o del mismo sexo a los existentes en la cámara de incubación fueron introducidos en la zona de inoculación. La distribución de estos últimos fue anotada 4 horas más tarde de acuerdo a la zona alcanzada (—4, —3, —2, —1, 0,

+1, +2, +3, +4). Antes de cada experimento se comprobó la horizontalidad de las placas de migración con la superficie por medio de un nivel de burbuja; el lado correspondiente a las cámaras de la placa fue elevado con el fin de darle una ligera inclinación (3,5°). Los experimentos fueron realizados a temperatura ambiente (24-25° C). La prueba de Chi cuadrado (X^2) fue usada para determinar si la migración hacia la cámara de prueba era o no significativamente diferente a la migración hacia la cámara control. El nivel de confidencia de 0,05 fue considerado significativo.

RESULTADOS

Las respuestas de los machos y hembras de vida libre de *Strongyloides* a sus respectivos sexos opuestos, así como la distribución de los mismos en los experimentos homosexuales y controles son presentadas en la Tabla I. Cuatro horas después de que los machos fueron depositados en la zona de inoculación, el número de machos que migró hacia la cámara conteniendo hembras copuladas fue significativamente mayor ($P < 0,0005$) que el número que migró hacia la cámara que no contenía hembras. Una distribución similar ($X^2 = 40$ y $P < 0,0005$) fue observada en la migración de los machos cuando hembras no copuladas fueron incubadas en la cámara de prueba. La migración de las hembras hacia la cámara conteniendo machos fue altamente significativa ($X^2 = 244,4$ y $P < 0,0005$). Gran proporción de hembras ($X^2 = 302,4$ y $P < 0,0005$) migró hacia la cámara de prueba cuando ésta contenía machos no copulados. Una atracción no significativa fue observada en experimentos homosexuales con hembras o machos. Es de notar que en experimentos homosexuales con machos, un número significativo de parásitos ($X^2 = 5,7$) migró hacia la cámara que no contenía parásitos. Sin embargo, en dos de los experimentos homosexuales con hembras, un número significativo de ellas migró hacia la cámara conteniendo vermes del mismo sexo.

Los resultados de los experimentos controles, mostraron una distribución esencialmente al azar. El número de especímenes que migró hacia la cámara derecha de la placa de migración no fue significativamente diferente del número que migró hacia la cámara izquierda.

TABLA I
Tabla comparativa de los totales de los diferentes experimentos realizados con adultos de vida libre de *Strongyloides*

Respuesta	Número de parásitos por zona *								X ²	P
	Brazo izquierdo				Brazo derecho					
	-4	-3	-2	-1	Zona Inoc.	+1	+2	+3	+4	
M a H	16(32)	9(13.5)	4(4)	12(6)	40	33(16.5)	21(21)	11(16.5)	54(118)	+ 52.1 <.0005
H a M	53(106)	5(7.5)	6(6)	2(1)	44	27(13.5)	17(17)	16(24)	230(460)	+ 244.4 <.0005
H a M	67(134)	4(6)	7(7)	6(3)	18	7(3.5)	14(14)	7(10.5)	70(140)	+ 2.5 >.15
M a M	97(194)	5(7.5)	1(1)	4(2)	7	6(3)	4(4)	2(3)	74(148)	- 5.7 <.02
Machos	64(128)	1(1.5)	6(6)	13(6.5)	27	20(10)	13(13)	4(6)	52(104)	- .2 >.05
Hembras	86(172)	0(0)	4(4)	5(2.5)	17	4(2)	4(4)	3(4.5)	77(154)	- .5 >.05
M a H ^a	17(34)	6(9)	15(15)	19(9.5)	36	9(4.5)	25(25)	23(34.5)	50(100)	+ 40. <.0005
H a M ^a	41(82)	6(9)	5(5)	7(3.5)	45	12(6)	18(18)	22(33)	241(482)	+ 302.4 <.0005

M = Machos previamente copulados
H = Hembras previamente copuladas
M^a = Machos no copulados
H^a = Hembras no copuladas
* Diez experimentos individuales en cada combinación, excepto en la de hembras a machos. El número en paréntesis representa la cantidad de parásitos multiplicada por el factor distancia de cada zona; ejemplo factor para zona 1, 0.5; zona 2, 1; zona 3, 1.5; y zona 4, 2.

Se observó también que en experimentos controles tanto para hembras como para machos, un número significativo de parásitos migró hacia la cámara izquierda en algunos experimentos individuales.

DISCUSION

Las observaciones de ROCHE (11) trabajando con *Ancylostoma caninum* sugieren que los anquilostomídeos podrían emitir una substancia semejante, la cual mantendría ambos sexos reunidos. BONNER y ETGES (3), trabajando con *Trichinella spiralis* indicaron que las hembras secretan una substancia atrayente específica para los machos y también que los machos producen una substancia que atrae solamente a las hembras. Ellos también establecieron que los machos de *T. spiralis* son atraídos hacia las hembras, pero no de una manera tan consistente como las hembras son atraídas hacia los machos. SALM y FRIED (12) trabajando con *camallanus* sp. reportaron resultados de experimentos heterosexuales, los cuales indicaron que substancias solubles en aguas, emitidas por los machos atrajeron a las hembras y en menor grado substancias atrayentes emitidas por las hembras provocaron respuestas en los machos. CHIN y TAYLOR (6) presentaron resultados, los cuales indicaron que hembras de *Cylindrocorpus longystoma* y *C. curzii* secretan substancias atrayentes, las cuales sirven probablemente para reunir a nemátodos de sexos opuestos antes de la copulación.

Los resultados en el presente trabajo (Tabla I) indican que las hembras de vida libre *Strongyloides* sp. atraen vigorosamente a los machos desde una distancia de 2 cm. en un período de 4 horas. No hubo diferencias significativas en la atracción cuando se usaron hembras copuladas o no copuladas en esos experimentos. Estos resultados concuerdan con aquellos de CHENG y SAMOILOFF (5) quienes encontraron que el número de *Panagrellus silusiae* machos que migró hacia la cámara de prueba conteniendo hembras vírgenes o grávidas fue similar. Sin embargo, los machos atrajeron a las hembras más energicamente que las hembras a los machos, como lo muestran las grandes diferencias en el X^2 de los resultados totales de dichos experimentos.

Una evidencia de repulsión es observada en los experimentos homosexuales de machos (Tabla I). Un número más significativo ($X^2 = -5.7$ y $P < 0.02$) de machos migró hacia la cámara sin parásitos, que el que emigró hacia la cámara conteniendo parásitos del mismo sexo. Un fenómeno similar fue reportado por BONNER y ETGES (3) en su trabajo con *T. spiralis*.

Los resultados de los experimentos controles tanto de hembras como de machos soportan nuestros hallazgos, ya que tanto las hembras como los machos se distribuyeron al azar cuando no habían especímenes del sexo opuesto en las cámaras de incubación.

RESUMEN

Se estudiaron diversos aspectos de la atracción sexual en *Strongyloides* sp. Se diseñó una cápsula para probar la migración de nemátodos *in vitro*. No se observó atracción entre especímenes del mismo sexo. Las hembras de vida libre de *Strongyloides* secretaron una substancia, la cual atrajo los machos y viceversa, pero siendo las hembras notablemente más atraídas hacia los machos. *Strongyloides*, tanto copulados como no copulados fueron similarmente atrayentes.

AGRADECIMIENTO

El autor expresa su agradecimiento al Dr. Mauricio D. Little, School of Public Health and Tropical Medicine, Tulane University, por su valiosa colaboración en la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS

1. ALPHEY, T. J. (1971).—Studies on the aggregation behavior of *Nippostrongylus brasiliensis*. Parasitology, 63, 109-117.
2. BEAVER, P. C. (1955).—Observations on *Necator* infections resulting from exposures to three larvae. Rev. Iber. Parasit. Granada, España. Tomo Extraordinario, pp. 713-721.
3. BONNER, T. P. and ETGES, F. J. (1967).—Chemically mediated sexual attraction in *Trichinella spiralis*. Exp. Parasit., 21, 53-60.
4. CHANDLER, A. G. (1941).—Helminth of muskrats in southeast Texas. J. Parasit., 27, 175-181.
5. CHENG, R. and SAMOILOFF, M. R. (1971).—Sexual attraction in the free-living nematode, *Panagrellus silusiae* (Cephalobidae). Can. J. Zool., 49, 1443-1448.
6. CHIN, D. A. and TAYLOR, D. P. (1969).—Sexual attraction and mating patterns in *Cylindrocorpus longistoma* and *C. curzii* (Nematoda: Cylindrocorporidae). J. Nematol., 1, 313-317.

7. GIMENEZ, A. and ROCHE, M. (1972).—Influence of male and female *Nippostrongylus brasiliensis* on each other's distribution in the intestine of the rat. *Parasitology*, 64, 305-310.
8. BREET, D. N. (1964).—Observations on sexual attraction and copulation in the nematode *Panagrolaimus rigidus* (Schneider). *Nature*, 204, 96-97.
9. LITTLE, M. D. (1966).—Comparative morphology of six species of *Strongyloides* (Nematoda) and redefinition of the genus. *J. Parasit.*, 52, 69-84.
10. OSHIMA, T. S., NISHI, S. and KIHATA, M. (1962).—Observations on insemination of eleven female dog hookworms by a single male in the dog intestine. *Jap. J. Parasit.*, 11, 305-306.
11. ROCHE, M. (1966).—Influence of male and female *Ancylostoma caninum* on each other's distribution in the intestine of the dog. *Exp. Parasit.*, 19, 327-331.
12. SALM, R. W. and FRIED, D. (1973).—Heterosexual chemical attraction in *Camallanus* sp. (Nematoda) in the absence of worm-mediated tactile behavior. *J. Parasit.*, 59, 434-436.