



**SAMANTHA ALVES SEIXAS**

**Biologia e taxonomia de temnocefalídeos (Platyhelminthes,  
Temnocephalida) epibiontes em *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)  
(Mollusca, Ampullariidae) do Rio Grande do Sul, Brasil.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.

**Área de concentração:** Biodiversidade

**Orientador:** Prof. Dr José Felipe Ribeiro Amato

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PORTO ALEGRE

2008

**Biologia e taxonomia de temnocefalídeos (Platyhelminthes,  
Temnocephalida) epibiontes em *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)  
(Mollusca, Ampullariidae) do Rio Grande do Sul, Brasil.**

**Samantha Alves Seixas**

Aprovada em \_\_/\_\_/\_\_\_\_

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Ana Maria Leal-Zanchet

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Jocélia Grazia

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Inga Ludmila Veitenheimer Mendes

## SUMÁRIO

	Página
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	iii
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	v
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	vi
<b>RESUMO</b> .....	ix
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1. Filo Platyhelminthes .....	1
1.2. Temnocefalídeos .....	5
1.3. O hospedeiro: <i>Pomacea canaliculata</i> .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
<b>3. JUSTIFICATIVAS</b> .....	20
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
4.1. Locais de coleta .....	21
4.2. Coleta dos hospedeiros .....	21
4.3. Coleta dos temnocefalídeos e seus ovos .....	21
4.4. Morte, fixação e preparo dos temnocefalídeos .....	22
4.4.1. Montagem dos helmintos em lâminas permanentes .....	22
4.4.2. Visualização do cirro .....	23
4.4.3. Visualização das placas epidérmicas sinciciais .....	23

4.4.4. Visualização das glândulas rabditogênicas e do disco .....	24
4.4.5. Forma do corpo e pigmento ocelar.....	24
4.4.6. Visualização dos ovos em microscopia óptica .....	25
4.5. Pranchas e referências bibliográficas .....	25
4.6. Termos ecológicos aplicados à helmintologia .....	25
4.7. Identificação e descrição dos temnocefalídeos .....	26
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
5.1. Distribuição das espécies de temnocefalídeos epibiontes de <i>Pomacea</i> <i>canaliculata</i> no Estado do Rio Grande do Sul.....	33
5.2. Diferenciação prévia e caracterização de juvenis das espécies de temnocefalídeos epibiontes de <i>Pomacea canaliculata</i> .....	36
5.3. Descrições dos temnocefalídeos .....	40
<i>Temnocephala iheringi</i> .....	40
<i>Temnocephala rochensis</i> .....	57
<i>Temnocephala haswelli</i> .....	73
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>89</b>
6.1. <i>Temnocephala iheringi</i> .....	90
6.2. <i>Temnocephala rochensis</i> .....	94
6.3. <i>Temnocephala haswelli</i> .....	95
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>99</b>
<b>ANEXOS</b>	

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Amato por acreditar na pesquisadora que eu mesma, nos primeiros anos de faculdade, duvidei existir em mim. Pelos seis anos de ensinamentos, paciência e ‘puxões de orelha’ que me fizeram crescer como pessoa e profissional.

À Professora Suzana por ter sido a primeira pessoa a abrir as portas do Laboratório de Helminologia, e ao mundo da parasitologia com suas aulas, para mim.

A todos os amigos (Eliane, Viviane, Mariana, Prof. Amato, Fábio e Daudt) que me acompanharam/bancaram/ajudaram nas coletas nos momentos difíceis que passei em 2006, quando achei que não conseguiria terminar este trabalho.

Às minhas colegas de laboratório, Eliane, Viviane e Adriane pelo companheirismo e ajuda nestes anos de mestrado. Em especial a Eliane pelo apoio e amizade desde a minha graduação.

Aos antigos colegas de laboratório, Cassandra, Daudt, Cláudia e Laura que mesmo distantes geograficamente, estavam sempre presentes em mensagens/e-mails/telefonemas de incentivo, e pela amizade que permanecerá independente de nossos caminhos.

Ao Fábio Vilella pelas coletas em Jaguarão que ‘salvaram a pátria’ na última hora.

Aos Professores Mariath e Rinaldo do Laboratório de Anatomia Vegetal da UFRGS por autorizar e ajudar no uso de equipamento do laboratório, sempre que necessário e com especial atenção.

Aos técnicos do Centro de Microscopia Eletrônica da UFRGS pelo preparo das amostras e utilização do microscópio, mas, principalmente, pela capacitação no uso destes equipamentos.

Ao CNPq pela bolsa de mestrado concedida.

Ao Piti, por ser meu apoio canino nas horas de nervosismo, sempre disposto para um carinho e acordado até altas horas me acompanhando nos trabalhos.

Aos meus pais, José Renato e Maristela, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida, e cujo amor e respeito à natureza me levaram a escolha da profissão. Pelo apoio emocional, financeiro e braçal também, afinal foram inúmeras saídas de campo onde levantaram pedra e pegaram chuva comigo. Assim como o diploma, dedico este título a vocês.

Muito obrigada a todos, mas principalmente à natureza por fornecer material de pesquisa tão lindo e precioso...

## LISTA DE TABELAS

Página

<b>Tabela I.</b> Locais de coleta do hospedeiro <i>Pomacea canaliculata</i> .....	29
<b>Tabela II.</b> Prevalência e intensidade média de infestação dos temnocefalídeos por local de coleta .....	35
<b>Tabela III.</b> Comparação das medidas obtidas de <i>Temnocephala iheringi</i> em trabalhos anteriores e no presente trabalho .....	98

## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1.</b> Classificação filogenética do filo Platyhelminthes .....	4
<b>Figura 2.</b> Classificação sumarizada do grupo Temnocephalida .....	6
<b>Figura 3.</b> <i>Pomacea canaliculata</i> .....	17
<b>Figura 4.</b> Distribuição da família Ampullariidae e distribuição original e introduzida de <i>Pomacea canaliculata</i> .....	17
<b>Figura 5.</b> Mapa do Rio Grande do Sul mostrando os pontos de coleta .....	30
<b>Figura 6.</b> Diagrama da concha do hospedeiro mostrando as medidas .....	22
<b>Figura 7.</b> Diagrama de um temnocefalídeo mostrando os caracteres medidos....	31
<b>Figura 8.</b> Diagrama do sistema reprodutor de um temnocefalídeo mostrando os caracteres medidos .....	32
<b>Figura 9.</b> Diagrama do cirro de um temnocefalídeo mostrando os caracteres medidos .....	32
<b>Figura 10.</b> Posição dos testículos de <i>Temnocephala iheringi</i> .....	39
<b>Figura 11.</b> Posição dos testículos de <i>Temnocephala haswelli</i> .....	39
<b>Figura 12.</b> Posição dos testículos de <i>Temnocephala rochensis</i> .....	39
<b>Figura 13.</b> Limite das glândulas vitelogênicas de <i>Temnocephala iheringi</i> .....	39
<b>Figura 14.</b> Limite das glândulas vitelogênicas de <i>Temnocephala haswelli</i> .....	39

<b>Figura 15.</b> Limite das glândulas vitelogênicas de <i>Temnocephala rochensis</i> .....	39
<b>Figuras 16-17.</b> Concha do hospedeiro com ovos de temnocefalídeos.....	46
<b>Figuras 18-19.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , fotomicrografias .....	46
<b>Figuras 20-22.</b> Ovos de <i>Temnocephala iheringi</i> ou <i>Temnocephala haswelli</i> .....	46
<b>Figuras 23-24.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , fotomicrografias .....	47
<b>Figuras 25-27.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , fotomicrografias .....	48
<b>Figuras 28-30.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , MEV .....	49
<b>Figuras 31-33.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , MEV .....	50
<b>Figuras 34-39.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , fotomicrografias .....	51
<b>Figuras 40-48.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , fotomicrografias .....	52
<b>Figura 49.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , diagrama.....	53
<b>Figuras 50-51.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , diagramas .....	54
<b>Figuras 52-53.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , diagramas .....	55
<b>Figura 54.</b> <i>Temnocephala iheringi</i> , diagrama.....	56
<b>Figura 55.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , fotomicrografias .....	63
<b>Figuras 56-57.</b> Concha do hospedeiro com ovos de <i>Temnocephala rochensis</i> ...	63
<b>Figuras 58-61.</b> Ovos de <i>Temnocephala rochensis</i> .....	63
<b>Figuras 62-63.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , fotomicrografias .....	64
<b>Figuras 64-67.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , fotomicrografias .....	65
<b>Figuras 68-70.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , MEV .....	66
<b>Figuras 71-76.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , fotomicrografias .....	67
<b>Figuras 77-82.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , fotomicrografias .....	68
<b>Figura 83.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , diagrama .....	69
<b>Figuras 84-85.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , diagramas.....	70
<b>Figuras 86-87.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , diagramas.....	71

<b>Figura 88.</b> <i>Temnocephala rochensis</i> , diagrama .....	72
<b>Figuras 89-90.</b> Concha do hospedeiro com ovos de <i>Temnocephala haswelli</i> .....	79
<b>Figuras 91-92.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , fotomicrografias .....	79
<b>Figuras 93-94.</b> Ovos de <i>Temnocephala haswelli</i> .....	79
<b>Figuras 95-96.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , fotomicrografias .....	80
<b>Figuras 97-98.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , fotomicrografias .....	81
<b>Figuras 99-102.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , MEV .....	82
<b>Figuras 103-108.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , fotomicrografias .....	83
<b>Figuras 109-114.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , fotomicrografias .....	84
<b>Figura 115.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , diagrama .....	85
<b>Figuras 116-117.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , diagramas .....	86
<b>Figuras 118-119.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , diagramas .....	87
<b>Figura 120.</b> <i>Temnocephala haswelli</i> , diagrama .....	88

## RESUMO

*Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) é um molusco gastrópode da família Ampullariidae Gray, 1824. É a espécie de ampuláriídeo com a maior distribuição geográfica conhecida, sendo abundante tanto na América do Sul, Central e parte da América do Norte. Está presente em muitos países asiáticos, onde foi introduzida na década de 1980. Os temnocefálidos pertencem ao filo Platyhelminthes e ao grupo polifilético ‘Turbellaria’. Temnocefalídeos neotropicais são epibiontes em moluscos, insetos, crustáceos e quelônios de hábitos dulciaquícola. Na América do Sul, foram descritas 25 espécies do gênero *Temnocephala* Blanchard, 1849, três delas como epibiontes em *P. canaliculata*. O conhecimento sobre os temnocefalídeos epibiontes em *Pomacea canaliculata* no Brasil é escasso, tendo apenas uma das três espécies conhecidas, registrada no país. A partir da década de 1990, com a publicação de novas técnicas para a visualização de caracteres morfológicos importantes para a identificação das espécies, tornou-se necessário a complementação das descrições das espécies de temnocefalídeos descritas anteriormente. Quinhentos e noventa e um moluscos foram coletados no período de 1999 a 2007 em 11 pontos de coleta distribuídos em sete municípios do Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. As coletas foram feitas manualmente ou com puçá e os temnocefalídeos coletados, processados e identificados no Laboratório de Helminologia da UFRGS. Foram encontradas três espécies de temnocefalídeos: *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893, *Temnocephala rochensis*

Ponce de León, 1979 e *Temnocephala haswelli* Ponce de León, 1989. Duas destas espécies, *T. iheringi* e *T. haswelli*, foram encontradas em simpatria na Ilha da Pintada (Porto Alegre), Sava Clube (Porto Alegre), Ponta do Cirola (Barra do Ribeiro), Praia Florida (Guaíba), Arrozeira (Eldorado do Sul) e Distrito de Barra do Ouro (Maquiné), todos localizados na região leste do Estado. Infestações monoespecíficas de *T. haswelli* foram encontradas somente no Parque Marinha do Brasil (Porto Alegre). *Temnocephala rochensis* só foi encontrada no extremo sul do Estado, nas localidades Fazenda Sossego e Fazenda dos Afogados (Santa Vitória do Palmar); Fazenda da Invernada e Rodovia BR 116 (km 12) (Jaguarão). *Temnocephala iheringi* é a única das três espécies descrita do Brasil, sendo este o primeiro registro para o Estado do Rio Grande do Sul. Tanto *T. haswelli* quanto *T. rochensis* tinham sua distribuição restrita ao Uruguai, sendo este o primeiro registro para o Brasil. Novos caracteres de diferenciação das espécies foram estabelecidos para o estudo das infestações mistas de *T. iheringi* e *T. haswelli*. A posição relativa dos testículos, o limite ventral das glândulas vitelogênicas e a presença ou ausência do pigmento ocelar foram os caracteres utilizados nesta diferenciação. Com várias questões não resolvidas na sua descrição original, *T. rochensis* tem sua descrição atualizada e expandida. O fato da espécie ter sido descrita como tendo duas vesículas ‘resorbens’ foi resolvido. O que parecia ser uma segunda vesícula ‘resorbens’ ao autor, foi visto tratar-se de uma “vesícula intermedia”, a qual foi devidamente fotomicrografada e diagramada no presente trabalho. Os órgãos femininos do sistema reprodutor, pouco estudados nestas três espécies, tiveram sua descrição e morfometria detalhadas, desta forma tornando mais claras as diferenças entre as três espécies epibiontes do mesmo hospedeiro. Em *T. iheringi*, é mostrada pela primeira vez a placa sincicial do disco, assim como os poros no disco com a secreção de substância adesiva. Caracteres morfológicos importantes para a identificação das espécies, como o cirro

(forma e número de espinhos do *introvert*), as placas sinciciais dorsolaterais pós-tentaculares ‘excretoras’ e a morfologia geral do sistema reprodutor, foram documentados nas três espécies em estudo, atualizando a sua caracterização.

## 1. INTRODUÇÃO

*“a sound species description is more valuable to science than the most brilliant hypothesis”*

Ludwig v. Graff (RIEGER 1998)

Os temnocefalídeos são animais peculiares que surpreendem por suas novidades evolutivas, pelo caráter transitório dentro do táxon onde pertencem e por uma série de adaptações a seu modo de vida. Devido à complexidade das interações destes animais com seus hospedeiros é possível explorar tanto a biologia do helminto como a do hospedeiro, que junto com o ambiente, são fontes ricas para a pesquisa. Dentre todas as áreas de estudo da Zoologia, talvez a Helminologia tenha o maior caráter multidisciplinar, e comparados aos parasitos, onde as informações do ambiente se limitam ao interior do seu hospedeiro, os temnocefalídeos sendo sensíveis a variações ambientais podem ser importantes pelo possível potencial bioindicador, como para futuros estudos sobre a biodiversidade local. Mas tudo começa pela taxonomia...

### 1.1. Filo Platyhelminthes.

Os platielmintos são animais triploblásticos e acelomados, 80% parasitos (simbiontes incluídos) e 20% de vida livre. Entre as principais novidades evolutivas

estão o sistema excretor primitivo e a cefalização devido à centralização do sistema nervoso. Em sua primeira edição do *Systema Naturae*, Linnaeus (1735 *apud* RIEGER 1998) estabeleceu dois filos para englobar todos os invertebrados, um para os insetos e um para todo o restante, este último chamado de *Vermes*. A validade deste filo foi discutida e rejeitada por muitos anos, e os nomes aceitos hoje, Plathelminthes e Platyhelminthes (propostos por Gegenbaur em 1859 *apud* RIEGER *op. cit.*) são variações do nome Platyelmia proposto por Vogt em 1851 (*apud* RIEGER *op. cit.*). BRUSCA & BRUSCA (2003) apresentam uma das classificações mais simples e conhecida do filo:

### **CLASSE TURBELLARIA**

- Ordem Acoela
- Ordem Catenulida
- Ordem Haplopharyngida
- Ordem Lecithoepitheliata
- Ordem Macrostomida
- Ordem Nemertodermatida
- Ordem Polycladida
- Ordem Prolecithophora
- Ordem Proplicastomata
- Ordem Proseriata

### **ORDEM RABDOCOELA**

- Subordem Dalyellioida
- Subordem Typhloplanoida
- Subordem Kalyptorhynchia

### **SUBORDEM TEMNOCEPHALIDA**

- Ordem Tricladida

### Classe Monogenea

- Subclasse Monopisthocotylea
- Subclasse Polyopisthocotylea

### Classe Trematoda

- Subclasse Digenea
- Subclasse Aspidobothrea

### Classe Cestoda

- Subclasse Cestodaria
- Subclasse Eucestoda

No início dos estudos filogenéticos, baseados unicamente em caracteres anatômicos e de ultraestrutura, outras proposições foram surgindo e algumas são aceitas até hoje. A primeira publicação com sistemática filogenética do filo foi feita por Ehlers em 1984 (ZAMPARO *et al.* 2001), que anos mais tarde, seguido por outros autores, constatou que a classe ‘Turbellaria’ era um grupo polifilético (EHLERS 1986; SMITH *et al.* 1986). Existem muitas proposições filogenéticas para o grupo ‘Turbellaria’ na literatura, mas como a maioria dos resultados é inconclusiva, os estudos seguem até hoje (EHLERS 1986; ZAMPARO *et al.* 2001). Em seu estudo, EHLERS (1986) propôs o nome Neodermata para reunir todos os platielminhos parasitos, pois nestes animais o epitélio ciliado do primeiro estágio larval é perdido dando lugar ao tegumento sincicial dos adultos, ou seja, uma nova derme. O grupo Cercomeria (BROOKS *et al.* 1985) reúne boa parte dos platielminhos, inclusive Temnocephalida, devido (entre outros caracteres) à faringe doliiforme. Outra proposição importante foi do grupo Cercomeromorphae (BROOKS 1989) que reúne os platielminhos parasitos que possuem cercômero armado na fase larval ou adulta (Monogenea e Cestodaria). Utilizando estas novas idéias, BROOKS (1989) publicou a seguinte classificação:

Subfilo Rhabdocoela

Infrasubfilo Typhloplanoida

Infrasubfilo Doliopharyngophora

**SUPERCLASSE CERCOMERIA**

**INFRA-SUPERCLASSE TEMNOCEPHALIDEA**

Infrasuperclasse Neodermata

Classe Udonellidea

Classe Cercomeridea

Infraclasse Trematoda

Subclasse Aspidobothrea

Subclasse Digenea

Infraclasse Cercomeromorphae

Subclasse Monogenea

Subclasse Cestodaria

Infrasubclasse Gyrocotylidea

Infrasubclasse Cestoidea

Superordem Amphilinidea

Superordem Eucestoda

Nos anos seguintes (década de 1990 e início dos anos 2000), com o avanço da biologia molecular, muitas das questões levantadas sobre o filo já haviam sido explicadas com a análise filogenética clássica (JOFFE *et al.* 1995), mas algumas questões ainda se mantinham. Assim, diferentes seqüências de DNA e outros métodos moleculares foram somados à análise filogenética para responder questões como; qual o grupo irmão de Neodermata, muitas vezes representado pelo grupo Temnocephalida. Convictos de que a informação molecular era, inevitavelmente, superior à informação morfológica, muitos estudos ignoraram ou minimizaram uma base extensa e sólida de informações morfológicas coletadas nos últimos 200 anos. ZAMPARO *et al.* (2001) vendo que estudos morfológicos resultavam em árvores filogenéticas mais parcimoniosas, e que muitos dos estudos moleculares confirmavam estudos morfológicos anteriores, propôs uma classificação filogenética (Fig. 1) que, mesmo contendo alguns pontos não resolvidos, principalmente do grupo ‘Turbellaria’, é a classificação mais completa.

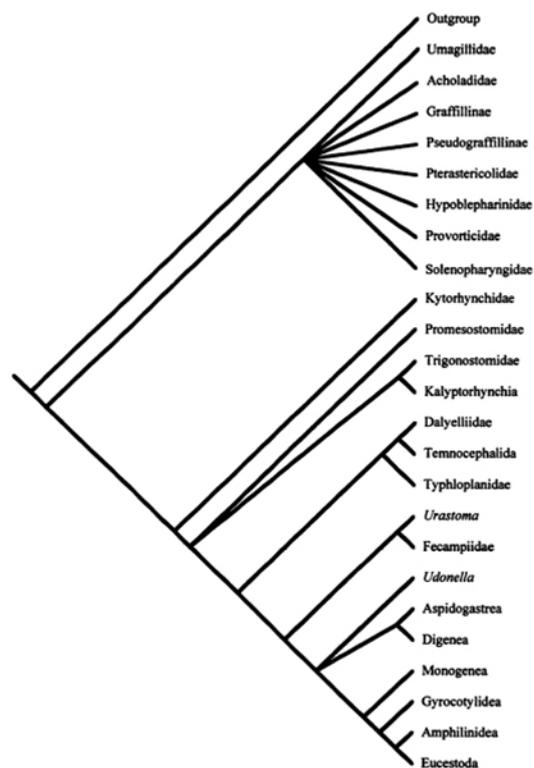


Figura 1. Classificação filogenética do filo Platyhelminthes proposta por ZAMPARO *et al.* (2001).

## 1.2. Temnocefalídeos.

A ordem Temnocephalida (Fig. 2) é considerada o maior táxon de turbelários simbiontes (CANNON & JOFFE 2001), com aproximadamente 100 espécies conhecidas. O primeiro registro dos temnocefalídeos foi feito por Moquin-Tandon em 1846 (WILLIAMS 1981), que os descreveu como anelídeos hirudíneos (*Branchiobdella chilensis*) usando espécimes epibiontes de *Aegla laevis* (Latreille, 1818), encontrados pelo explorador e naturalista Cláudio Gay em Santiago no Chile. BLANCHARD (1849) reconheceu que os tentáculos distinguiam estes espécimes dos representantes do gênero *Branchiobdella* (Odier, 1823) e propôs um gênero novo *Temnocephala* Blanchard, 1849 (espécie-tipo: *Temnocephala chilensis* (Moquin-Tandon, 1846)), mas manteve os temnocefalídeos entre os hirudíneos. A etimologia do nome do novo táxon vem do grego *temno* = dividido ou separado e *cephalos* = cabeça. HASWELL (1888) fez o primeiro estudo detalhado da anatomia interna destes animais, assim como o primeiro registro para Austrália, descrevendo *Temnocephala* (= *Temnosewellia*) *fasciata* Haswell, 1888 e *Temnocephala* (= *Temnosewellia*) *minor* Haswell, 1888 epibiontes de duas espécies de crustáceos parastacídeos (DAMBORENEA & CANNON 2001). Baseado em suas observações, concluiu que o grupo tinha maior afinidade com os monogenéticos, colocando-o pela primeira vez dentro do filo Platyhelminthes. Houve grande dificuldade no reconhecimento do táxon ao qual estes animais pertencem. Muito desta dificuldade se deve ao estilo de vida desses animais (CANNON & JOFFE 2001) que os levaram a mudanças morfológicas no seu plano corporal, como perda dos cílios locomotores e aquisição de órgãos de fixação. HASWELL (1893) voltou a questionar a posição taxonômica dos temnocefálidos concluindo que eles estariam em uma categoria taxonômica entre Monogenea e Trematoda; também propôs a “família

Temnocephaleae”. Com a criação da Comissão Internacional de Nomenclatura Zoológica em 1898, MONTICELLI (1898) corrigiu o nome da família para Temnocephalidae Haswell, 1893 seguindo as normas do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Somente em 1901, Benham definiu que os temnocefálicos formavam um grupo intermediário entre os turbelários e os monogenéticos dentro do filo Platyhelminthes (WILLIAMS 1981; CANNON & JOFFE 2001).

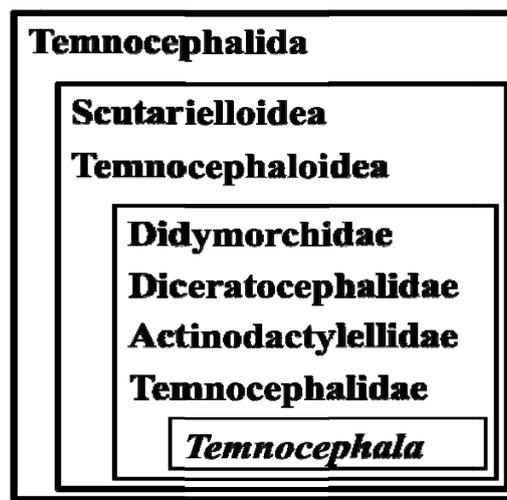


Figura 2. Classificação sumarizada da ordem Temnocephalida modificado de CANNON & JOFFE (2001).

Estes animais estão sempre associados a um hospedeiro, em algum tipo de simbiose e possuem um grau avançado de especificidade demonstrando certa dependência metabólica. Dentro da ordem Temnocephalida, apenas os representantes de Scutarielloidea são parasitos e o tipo de simbiose dos demais representantes tem sido motivo de discussão por vários autores. Wacke em 1905 (*apud* DIONI 1967) os definiu como parasitos, mas foi o termo comensal (BAER 1931) o mais utilizado ao longo dos anos, pois estes animais tiram vantagem de sua localização no hospedeiro para obter alimento, supostamente sem produzir dano algum. Entretanto, inúmeras definições para o tipo de interação dos temnocefalídeos e seus hospedeiros surgiram na literatura. Foi chamada de *veiculismo obrigatório* (DIONI 1967), associação *Temnocephala* - outros *epibiontes* - *hospedeiro* (PEREIRA & CUOCOLO 1940), e mais recentemente,

*protocooperação obrigatória* (DAUDT 2007). Até que um completo estudo ecológico seja feito com esses animais, os termos *epibiontes* ou *ectosimbiontes* (organismos que vivem sobre um hospedeiro em algum tipo de interação) são os que melhor os definem.

Entre os representantes da ordem Temnocephalida, algumas espécies demonstram passos intermediários de transição ao parasitismo, apresentando mudanças morfológicas importantes. Alguns se assemelham a um turbelário típico e outros possuem caracteres muito especializados como disco adesivo e tentáculos verdadeiros. A característica basal que une todos os organismos desta ordem é a epiderme multisincicial (JOFFE & CANNON 1998) e a descoberta desta característica foi fundamental para o entendimento da filogenia do grupo, da transição ao parasitismo dentro do filo e nos estudos taxonômicos. A epiderme em Temnocephalida surgiu a partir de um tecido com células individualizadas. Essas células foram se organizando em sincícios com especialização funcional. Ao longo da evolução, essa epiderme transformou-se em um tegumento com sincício único presente nos platielminhos parasitos. A inclusão da família Dydimorchiidae em Temnocephaloidea (SEWELL & CANNON 1998) só foi feita após o entendimento sobre as placas epidérmicas sinciciais. As diferenças entre os mosaicos epidérmicos dos representantes de Temnocephalida mostram que o caráter sofreu grandes mudanças durante a evolução. Sincícios similares se fusionaram durante a evolução do grupo (JOFFE *et al.* 1998), reduzindo o número de placas em representantes mais recentes. Temnocephalida é dividido em duas superfamílias, Scutarielloidea e Temnocephaloidea, pois as placas epidérmicas destes dois grupos não são homólogas tendo derivado independentemente de um estágio mais primitivo, fazendo deles grupos irmãos. Scutarielloidea, considerado o ‘grupo do Norte’ (CANNON & JOFFE 2001), ocorre na margem sul do continente Eurasiático, no nordeste da Itália e Balkans (sudeste da Europa), Sri Lanka e Japão (Ásia) (GELDER 1999). São

ectoparasitos de cavidade branquial de camarões (maioria da família Atyidae) onde habitam e se alimentam dos fluidos corporais. Temnocephaloidea, ‘grupo do Sul’, é muito mais diverso e inclui a maior parte dos temnocefálicos, sua distribuição compreende os países Madagascar (África), Índia e Indonésia (Ásia), Austrália, Tasmânia, Nova Guiné e Nova Zelândia (Oceania), Chile, Brasil, Uruguai e Argentina (América do Sul), Costa Rica (América Central) e México (América do Norte) (CANNON & JOFFE 2001). Os animais desta superfamília não possuem cílios locomotores (exceção de Didymorchiidae), possuem tentáculos na porção anterior do corpo (exceção de Didymorchiidae) e um disco adesivo posterior (exceção de *Diceratocephala*). Como todos os temnocefálicos são associados a um hospedeiro, a origem e distribuição destes epibiontes só foram elucidadas quando estudadas junto com a distribuição de seus hospedeiros. A distribuição de Temnocephalida é restrita, com raras exceções, ao Hemisfério Sul (SHAEFER 1971). O continente único ou *Pangea* existiu nas Eras Paleozóica e Mesozóica até que o processo das placas tectônicas o separou, por volta de 180 milhões de anos no Período Jurássico, em dois continentes: Gondwana no sul e Laurasia no norte. O continente gondwanico incluía Antártica, América do Sul, África, Oceania, Arábia Saudita e Índia, coincidindo quase que completamente com a distribuição dos temnocefálicos, que por esse motivo possuem uma ‘distribuição gondwanica’.

Há uma grande diversidade de temnocefálicos na Austrália indicando que, provavelmente, este continente seja o ponto de radiação destes animais (SHAEFER 1971; CANNON 1993). Na Região Australasiana, caracterizada pela alta diversidade (em número de gêneros e espécies), os temnocefálicos ocorrem quase que exclusivamente em crustáceos parastacídeos (CANNON 1991). Crustáceos da família Parastacidae têm relacionamento de longa data com esses helmintos e a análise da distribuição destes

crustáceos ajudou no entendimento sobre o surgimento e a dispersão de Temnocephalida. Suas histórias são bastante parecidas (CRANDALL *et al.* 2000; CANNON & JOFFE 2001; SHULL *et al.* 2005) ambos têm um grupo irmão australasiano e uma maior diversidade na Oceania.

DAMBORENEA & CANNON (2001) revisando os temnocefalídeos neotropicais, encontraram autapomorfias que permitiram a diferenciação das espécies australianas agora agrupadas no gênero *Temnosewellia* Damborenea & Cannon, 2001. As autapomorfias, ou seja, características únicas dos representantes do gênero *Temnocephala* (temnocefalídeos neotropicais) são: pigmento ocelar vermelho, poro excretor incluso nas placas sinciciais dorsolaterais pós-tentaculares ‘excretoras’ (PSDPEs) e, principalmente, a redução do número de placas sinciciais (sincício do corpo e tentáculos; sincício de parte do corpo e pedúnculo; sincício do disco adesivo e dois sincícios pós-tentaculares).

Apenas espécies dos gêneros *Temnocephala* e *Didymorchis* (Haswell, 1900) ocorrem na Região Neotropical, sendo o primeiro endêmico. Mesmo tendo um número pequeno de táxons superiores, há uma grande diversidade de espécies do gênero *Temnocephala* principalmente na América do Sul. Diferente dos australasianos, os neotropicais podem ocorrer em uma gama um pouco mais ampla de hospedeiros e acredita-se que foi nesta região que estes animais ganharam novos hospedeiros por dispersão e especiação.

Na Região Neotropical já foram descritas 25 espécies do gênero *Temnocephala* epibiontes em moluscos, insetos, crustáceos e quelônios de hábitos dulciaquícolas. Quatro destas espécies foram descritas no Rio Grande do Sul por AMATO *et al.* (2003), AMATO & AMATO (2005), AMATO *et al.* (2006) e AMATO *et al.* (2007) como epibiontes em crustáceos aeglídeos, hemípteros belostomatídeos, crustáceos tricodactilídeos e

hemípteros naucorídeos, respectivamente. As duas espécies descritas mais recentemente foram *Temnocephala mertoni* Volonterio, 2007, descrita no Uruguai como epibionte de *Aegla platensis* Schmitt, 1942 (VOLONTERIO 2007), e *Temnocephala minutocirrus* Amato, Seixas & Amato, 2007, epibionte de *Cryphocricos granulatus* De Carlo, 1967 do Rio Grande do Sul, Brasil (AMATO *et al.* 2007).

Nenhuma espécie de temnocefalídeo epibionte em *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) foi descrita ou registrada para o Rio Grande do Sul até o momento. No mundo, três espécies do gênero *Temnocephala* já foram descritas como epibiontes de *P. canaliculata* (HASWELL 1893; PONCE DE LEÓN 1979; PONCE DE LEÓN 1989): *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893, *Temnocephala rochensis* Ponce de León, 1979 e *Temnocephala haswelli* Ponce de León, 1989. Entre elas, somente *T. iheringi* tem como localidade-tipo o Brasil (PEREIRA & CUOCOLO 1941) e registros no Uruguai (identificação incorreta de DIONI (1967)) e na Argentina (HYMAN 1955; DAMBORENEA 1992; DAMBORENEA *et al.* 1997; DAMBORENEA & CANNON 2001). *Temnocephala haswelli* e *T. rochensis* possuem somente registros para o Uruguai e depois da sua descrição, em 1979, a espécie *T. rochensis* nunca mais foi encontrada, nem mesmo pelo próprio autor (com. pes.). Estas espécies apresentam uma relação muito próxima com seu hospedeiro (MARTÍN *et al.* 2005), sendo as únicas que vivem dentro de uma cavidade corporal (cavidade palial) mesmo que esta tenha contato com o exterior.

*Temnocephala iheringi* é a espécie de epibionte de *P. canaliculata* mais estudada (BAER 1931; PEREIRA & CUOCOLO 1941; HYMAN 1955; DIONI 1967; DAMBORENEA 1992; DAMBORENEA *et al.* 1997; DAMBORENEA & CANNON 2001). Há muitos registros desta espécie na literatura e não somente de cunho taxonômico. MORETTO & DURQUET (1977) e MORETTO (2001) usaram esta espécie para fazer importantes trabalhos sobre o sistema reprodutor dos temnocefalídeos. DAMBORENEA

(1996 e 1998), nos trabalhos sobre os padrões de distribuição e abundância de temnocefalídeos de crustáceos e moluscos na Argentina, usou infrapopulações de *T. iheringi*. A função das glândulas de Haswell só foi estudada e, em parte elucidada, quando VOLONTERIO & PONCE DE LEÓN (2004) descreveram a ultraestrutura dessas glândulas em espécimes de duas espécies ectosimbiontes de *P. canaliculata* do Uruguai, *T. iheringi* e *T. haswelli*. Recentemente, um importante trabalho sobre os fatores bióticos e abióticos que afetam a distribuição e a abundância dos temnocefalídeos foi realizado por pesquisadores argentinos usando infrapopulações de *T. iheringi* de *P. canaliculata* das regiões mais ao sul da Província de Buenos Aires, Argentina (MARTÍN *et al.* 2005).

Embora tenhamos interesse futuro em estudar a evolução do grupo e os padrões de distribuição das infrapopulações, ainda não temos conhecimento básico suficiente sobre as espécies neotropicais para este tipo de análise, pois grande parte da fauna dos temnocefalídeos no Brasil segue desconhecida. As primeiras descrições de temnocefalídeos sul americanos se baseavam no aspecto externo dos helmintos, seu hospedeiro e localidade-tipo, posteriormente outros caracteres morfológicos (diferenças específicas e medidas dos órgãos internos) foram sendo incorporados, acompanhando o avanço do conhecimento das técnicas necessárias para a visualização de caracteres hoje estudados. Essas diferenças nas descrições geram discrepâncias e dificuldades na determinação específica, possibilitando o encontro na literatura de descrições distintas sobre o mesmo helminto ou descrições baseadas em caracteres que posteriormente foram invalidados.

Algumas técnicas descritas na década de 1990 permitiram ou melhoraram a visualização de alguns caracteres específicos, como a montagem do cirro em meio de montagem de Faure (deF) e a impregnação com nitrato de prata 5% (NP) para

visualização das PSDPEs (ver Material e Métodos) (SEWELL & CANNON 1995; JOFFE & CANNON 1998). Essas técnicas se tornaram essenciais para descrições futuras e também necessárias para a caracterização das espécies já conhecidas. AMATO *et al.* (2005) reconheceram, usando técnicas apropriadas, a importância da distribuição das glândulas rabaditogênicas e do disco, assim como a forma do corpo, como caracteres de diferenciação entre as espécies.

Devido à alta capacidade de contorcer o corpo destes animais, que geram diferenças importantes nas medidas dependendo da técnica empregada, o cirro, por ser a única estrutura relativamente indeformável do corpo dos temnocefalídeos pela sua morfologia constante (salvo variações intra-específicas) para cada espécie e por ser uma das únicas estruturas evidentes desde o início da formação dos juvenis, é o caráter de maior valor taxonômico para identificação específica (DAMBORENEA 1991). CANNON (1993) ao descrever várias espécies de temnocefalídeos australianos, destinou um parágrafo à terminologia empregada no grupo, discutindo e corrigindo nomes em que a função da estrutura não correspondia com o seu significado. Destaque para a terminologia adotada para o cirro, que ajudou no melhor entendimento da estrutura.

### 1.3. O hospedeiro: *Pomacea canaliculata*.

A classificação de *P. canaliculata* segundo PONDER & LINDBERG (1997) e SIMONE (2006) é a seguinte:

Filo Mollusca Linnaeus, 1758

Classe Gastropoda Cuvier, 1797

Subclasse Orthogastropoda Ponder & Lindberg, 1995

Ordem Caenogastropoda Cox, 1960

Superfamília Ampullarioidea Gray, 1824

Família Ampullariidae Gray, 1824

A família Ampullariidae compreende moluscos operculados de água doce, predominantemente distribuídos em habitats tropicais úmidos ou subtropicais, na África, Américas do Sul e Central e Ásia. São os maiores moluscos de água doce e, freqüentemente, correspondem à maior parte da fauna dessas regiões. Dos sete ou dez gêneros usualmente reconhecidos, os dois maiores são *Pomacea* Perry, 1810, com aproximadamente 50 espécies reais, mas 117 espécies nominalmente válidas, e *Pila* Röding, 1798 com aproximadamente 30 espécies. Moluscos desses dois gêneros são freqüentemente conhecidos como *apple snails*. O termo *apple-shell* foi usado pela primeira vez por Perry em 1810 na etimologia de *Pomacea* (na descrição de *Pomacea maculata* Perry, 1810) pela sua ‘geral semelhança a... uma maçã’ (maçã=*pomum* em latim) (COWIE & THIENGO 2003).

O sinônimo júnior de Ampullariidae é Pilidae Preston, 1915. Devido à constante confusão na literatura com o uso dos nomes genéricos *Pila*, *Ampullaria* Lamarck, 1799, *Pomacea* e *Ampullarius* de Montfort, 1810 foi publicado em 1999, no *Bulletin of Zoological Nomenclature*, um artigo de opinião onde o gênero *Pila* foi designado para

as espécies do velho mundo e o gênero *Pomacea* para as espécies neotropicais. O gênero *Ampullaria* foi considerado sinônimo júnior de *Pila* e o gênero *Ampullarius*, uma emenda não justificada do nome genérico *Ampullaria* e, portanto, sinônimo júnior de *Pila* também (COWIE 1997; ICZN 1999). As espécies do gênero *Pomacea* distribuem-se na América do Sul e são pouco estudadas. O gênero abrange um grande número de espécies nominais, muitas são descrições repetidas ou equivocadas. Devido à descrição falha de Lamarck e à diversidade morfológica de *P. canaliculata*, o molusco foi descrito várias vezes com diferentes nomes, o que foi chamado de “grupo *canaliculata*” (CAZZANIGA 2002). De tempos em tempos, algumas das espécies do grupo são formalmente sinonimizadas, informalmente ligadas a outras espécies, distinguidas como espécies diferentes e assim por diante. É possível que assim como um grande número de espécies da América Central foi sinonimizado como *Pomacea flagellata* (Say, 1827) por Pain em 1964 (*apud* COWIE & THIENGO 2003), muitas outras ‘espécies’ de ampulariídeos, incluindo o “grupo *canaliculata*”, devam ser rearranjadas posteriormente. Uma revisão moderna, envolvendo não somente conquiliologia, mas também anatomia interna e caracteres moleculares podem reduzir este grupo a poucas espécies, possivelmente *P. canaliculata*, *Pomacea lineata* (Spix, 1827) e *P. maculata* (COWIE & THIENGO 2003).

O gênero *Pomacea* tem como espécie-tipo *P. maculata* por monotipia. O gênero é dividido em dois subgêneros *Pomacea s. str.* (*sensu stricto*) e *Effusa* de distinção obscura. O primeiro citado é pouco estudado e inclui algumas espécies ainda sem combinação com o gênero *Pomacea*, estas espécies pertencem ao grupo americano erroneamente descrito como *Ampullaria* (COWIE & THIENGO 2003). *Pomacea canaliculata* (Fig. 3) foi descrita primeiramente por Lamarck como *Ampullaria canaliculata* e a descrição era desprovida de ilustrações e apontava a localidade-tipo

como “rivières de la Guadeloupe”. Tanto a nomenclatura quanto a localidade-tipo da espécie pareciam errôneas para vários autores. Pain em 1946 (*apud* THIENGO 1995) colocou como incerta a localidade-tipo do molusco, pois somente espécies do subgênero *Effusa* ocorrem na ilha caribenha de Guadeloupe, e em 1949 este mesmo autor indicou como localidade-tipo o Rio Paraná, próximo a Rosário, na Argentina. Hylton-Scott em 1957 (*apud* THIENGO *op. cit.*) confirmou esta informação, constatando a existência de uma lagoa chamada Guadalupe nesta área. Philippi em 1851 (*apud* THIENGO *op. cit.*) ilustrou pela primeira vez esta espécie como *Ampullaria gigas* Spix, 1827 e Reve em 1856 (*apud* THIENGO *op. cit.*) como *Ampullaria speciosa* Philippi, 1851. Estas várias espécies foram reunidas como *P. canaliculata* por Martens em 1857 (*apud* THIENGO *op. cit.*), mas a espécie só foi corretamente identificada e ilustrada por Sowerby em 1909 (*apud* THIENGO *op. cit.*) e Alderson em 1925 (*apud* THIENGO *op. cit.*), respectivamente.

A família Ampullariidae tem uma distribuição equatorial (Fig. 4), e entre as espécies desta família, *P. canaliculata* é a que tem maior distribuição geográfica conhecida, sendo uma espécie abundante nas bacias dos rios Paraná, Prata, Uruguai e Paraguai, ocorrendo no sul e sudeste do Brasil, na Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia (DAMBORENEA & DARRIGRAN 2002). Os moluscos desta família são particularmente resistentes a condições adversas do ambiente, pois possuem características morfológicas, como brânquias e pulmões, que permitem que estas espécies sobrevivam a longos períodos de dessecação e sejam resistentes à poluição, inclusive industrial.

A partir de 1979, a espécie foi introduzida da Argentina para a ilha de Taiwan com a finalidade de ser cultivada e utilizada como alimento, porém, como não teve aceitação, seu cultivo foi abandonado e desde então o molusco invadiu e colonizou diversos países asiáticos. Em muitos destes países, o cultivo de arroz é a principal fonte

econômica da região e a introdução de *P. canaliculata*, por não possuir predador natural (em sua distribuição original espécimes de *Rosthramus sociabilis* (Vieillot), gavião-caramujeiro, são os principais responsáveis pelo equilíbrio populacional destes moluscos), resultou em perdas nestas plantações prejudicando economicamente essas regiões. Atualmente a distribuição da espécie introduzida compreende o sul, leste e sudeste da Ásia, assim como o sul das China, Havaí, Guam, Papua Nova Guiné, República Dominicana e alguns estados dos Estados Unidos (Dr<sup>a</sup> Inga Veitenheimer Mendes com. pes.).

Seja pela sua condição de praga nos cultivos de arroz, como potencial agente controlador de plantas aquáticas ou como hospedeiro intermediário de vários parasitos, a biologia deste molusco e sua fauna associada são objetos de estudos recentes (ALBRECHT *et al.* 1999; DAMBORENEA & DARRIGRAN 2002). As estações do ano de maior atividade de *P. canaliculata* ocorrem durante a primavera e o verão. Segundo ALBRECHT *et al.* (1999) a temperatura da água é o fator ambiental responsável pela maior atividade nos períodos mais quentes do ano. Durante os meses mais frios, outono e inverno, os moluscos se enterram até 40 cm de profundidade em substratos lodosos (DAMBORENEA 1996 e 1998) dificultando a coleta neste período.

**Figura 3.** Concha de *Pomacea canaliculata*. (A) Vista frontal. (B) Vista dorsal. Barra = 1 cm.

**Figura 4.** Distribuição da família Ampullariidae e distribuição original e introduzida de *Pomacea canaliculata* (modificado de DAMBORENEA & DARRIGRAN 2002). (A) Distribuição da família Ampullariidae. (B) Em amarelo, distribuição original de *Pomacea canaliculata*, e em laranja, países asiáticos onde a espécie foi introduzida.



A



B



3



A



B

4

## 2. OBJETIVOS

- Identificar as espécies de temnocefalídeos epibiontes em *P. canaliculata* da região sul do Brasil.
- Complementar e ampliar as descrições das espécies de temnocefalídeos epibiontes de *P. canaliculata* no Rio Grande do Sul, com base nas técnicas atuais para melhor visualização dos caracteres específicos.
- Determinar, baseado em trabalhos recentes, o melhor método de diferenciação das espécies de temnocefalídeos, caso ocorram infestações mistas de epibiontes nos hospedeiros estudados (AMATO *et al.* 2005 e 2006).
- Estudar as variações intra-específicas das espécies de temnocefalídeos encontradas, sobretudo do cirro e das PSDPEs.
- Estudar os caracteres que podem ser usados na diferenciação entre adultos e juvenis e obter, em determinadas infrapopulações, as proporções entre o número de adultos e juvenis.

- Conhecer os aspectos ecológicos das infracomunidades de temnocefalídeos epibiontes, como locais preferenciais de infestação e para postura de ovos, relação entre as espécies de helmintos e relações com o hospedeiro e o ambiente.

### 3. JUSTIFICATIVAS

- A necessidade de complementar as descrições das três espécies de temnocefalídeos epibiontes de *P. canaliculata*, incluindo técnicas atuais para melhor visualização dos caracteres específicos.
- São escassos os registros de temnocefalídeos epibiontes em *P. canaliculata* no Brasil.
- Ampliar o conhecimento da biodiversidade de temnocefalídeos epibiontes em moluscos para o Estado do Rio Grande do Sul e para o Brasil.
- O estudo das variações intra-específicas de temnocefalídeos epibiontes em *P. canaliculata* poderá servir de modelo e facilitar na identificação de outras espécies de temnocefalídeos, impedindo a descrição como ‘nova’ de espécies já conhecidas.
- Conhecendo a diversidade dos temnocefalídeos de *P. canaliculata* no Brasil, será possível a realização de trabalhos ecológicos semelhantes àqueles realizados na Argentina, assim como o estabelecimento de relações entre as infracomunidades de temnocefalídeos epibiontes dos três países.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. Locais de coleta.**

Os espécimes de *P. canaliculata* foram coletados no período de 1999 a 2007 em sete municípios (Fig. 5 e Tabela I) do Rio Grande do Sul, Brasil.

### **4.2. Coleta dos hospedeiros.**

As coletas foram feitas manualmente ou com ajuda de puçá e os moluscos foram mantidos vivos no pote de viagem com água do local e levados para exame no Laboratório de Helminologia, do Departamento de Zoologia, do Instituto de Biociências da UFRGS.

### **4.3. Coleta dos temnocefalídeos e seus ovos.**

Durante o exame, a presença ou ausência, e a localização da postura dos ovos de temnocefalídeos sobre a concha do hospedeiro (nomenclatura segue THOMÉ *et al.* (2006)), assim como as medidas da concha (Fig. 6) foram observadas e registradas em fichas de exame padronizadas (Anexo 1). A coleta dos temnocefalídeos foi feita sob estereomicroscópio onde o hospedeiro foi imerso em água do local de coleta na placa de petri e, com ajuda de uma sonda odontológica, o músculo columelar foi rompido e o molusco retirado da concha, liberando os temnocefalídeos da sua cavidade palial. Uma

vez liberados do hospedeiro, os helmintos foram coletados com auxílio de um pincel ou fixados junto com as partes moles do hospedeiro para triagem posterior. Os temnocefalídeos coletados receberam uma sigla (SBA), referente à Coleção Helminológica do Laboratório de Helmintologia da UFRGS, seguida pelo número do hospedeiro. Os ovos dos helmintos foram raspados e armazenados antes da secagem da concha, para fotos do hospedeiro, a concha foi mantida com a postura de ovos em etanol 70°GL.

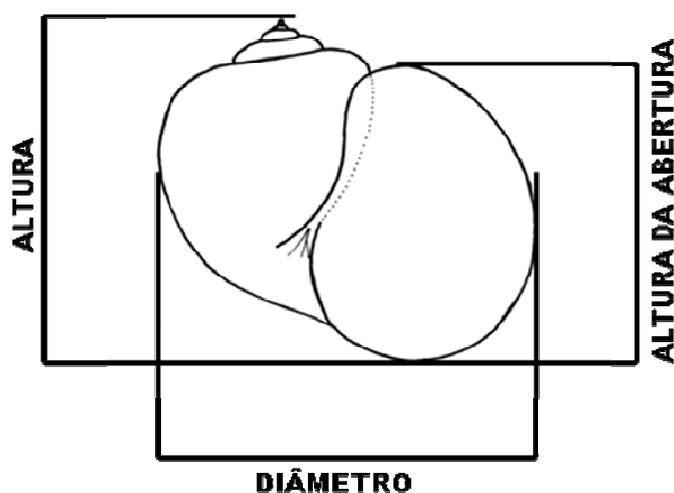


Figura 6. Diagrama da concha de *Pomacea canaliculata* mostrando as medidas.

#### 4.4. Morte, fixação e preparo dos temnocefalídeos.

Diferentes fixadores foram usados na prática de cada técnica. Os objetivos e descrições das técnicas estão indicados a seguir.

##### 4.4.1. Montagem dos helmintos em lâminas permanentes.

Para a coloração com hematoxilina de Delafield (HUMASON 1972) e Carmim acético/Fast green (GALIGHER & KOZLOFF 1971; HUMASON 1972), os helmintos foram fixados em AFA (93% etanol 70°GL, 5% formalina 37% e 2% ácido acético glacial) sob leve compressão entre lâmina e lamínula para diminuir o volume do espécime e

possibilitar, na observação em microscópio, a visualização dos órgãos internos. Após a coloração os espécimes foram diafanizados com óleo de cedro e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá. Esses espécimes foram usados para fotomicrografias, desenhos, medidas morfométricas e serão depositados em coleções científicas após a publicação dos artigos referentes à dissertação.

#### **4.4.2. Visualização do cirro.**

Espécimes comprimidos que não ficaram bons para a coloração ou que já estavam se decompondo antes de serem fixados, foram separados para a microdissecação e montagem do cirro em deF (50ml água destilada, 50g hidrato de cloral, 20ml glicerol e 30g goma arábica). A microdissecação do cirro foi feita sob estereomicroscópio, uma vez livre na placa, o cirro foi transferido com pincel para lâmina com uma gota do meio de montagem deF, observado, medido e fotografado em microscópio Leica DMR Hc de contraste diferencial com prismas de Nomarski (DIC) no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UFRGS.

#### **4.4.3. Visualização das placas epidérmicas sinciciais.**

Alguns espécimes foram impregnados com NP para morfometria das PSDPEs e outros foram fotografados em Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). A impregnação em NP foi feita com o animal ainda vivo. Cada espécime foi imerso na solução a 60°C por 1 min, transferido para uma placa de petri com água destilada e exposto à luz fria até a revelação das PSDPEs. Após a revelação, o espécime foi lavado por aproximadamente 10 min em água corrente, desidratado em série alcoólica (etanol) crescente, diafanizado em óleo de cedro e montado em lâmina permanente com bálsamo

do Canadá. Para MEV, os helmintos foram fixados em formalina 10% fosfato tamponada (1ℓ formalina 10%, 4g fosfato de sódio monobásico, 5,6g fosfato dissódico) a 90°C, ainda vivos, desidratados em série alcoólica (etanol) crescente, imersos por 4 h em 2,2 dimetoxipropano ou série etanol/acetona e o ponto crítico (BALL-TEC CPD030) foi feito com a substância desidratante. Os espécimes receberam uma camada de carbono e ouro no metalizador BAL-TEC SCD050 e foram observados e fotomicrografados ao MEV Jeol JSM5800 no Centro de Microscopia da UFRGS (CME).

#### **4.4.4. Visualização das glândulas rabaditogênicas e do disco.**

Para a visualização das glândulas foram usados espécimes fixados em formalina 10% fosfato tamponada, houve preferência na escolha dos juvenis por estes ainda não terem o completo desenvolvimento do vitelário, facilitando a visualização das estruturas. Estes espécimes foram clarificados e montados temporariamente em lactofenol (HUMASON 1972), onde ficaram por no mínimo uma hora (dependendo do tamanho do espécime), para total clarificação, antes da observação em microscópio. Estes espécimes foram fotomicrografados em microscópio Zeiss Axiolab em campo escuro. Após o estudo destas lâminas, os espécimes voltaram a ser armazenados em etanol 70°GL.

#### **4.4.5. Forma do corpo e pigmento ocelar.**

Para o registro fotográfico da forma do corpo e, quando presente, do pigmento ocelar, os helmintos foram fixados em formalina 10% fosfato tamponada a 90°C. Para que estas características fossem mantidas, os espécimes não foram armazenados em etanol 70°GL e sim mantidos no fixador.

#### **4.4.6. Visualização dos ovos em microscopia óptica.**

Os ovos de temnocefalídeos foram raspados das conchas durante o exame e armazenados em etanol 70°GL. Para montagem permanente foram furados com alfinete entomológico, para evitar que ficassem colapsados, desidratados em série alcoólica (etanol) crescente, diafanizados em óleo de cedro e montados com bálsamo do Canadá.

#### **4.5. Pranchas e referências bibliográficas.**

Os desenhos foram feitos em microscópio Nikon Eclipse E200, diagramados e passados a nankin. As pranchas foram montadas no programa Adobe Photoshop® CS2. As pranchas das ilustrações e a apresentação das referências bibliográficas seguem as normas da Revista Brasileira de Zoologia (Anexo 2).

#### **4.6. Termos ecológicos aplicados à helmintologia.**

*Infrapopulação*: todos os helmintos de uma determinada espécie que estão infestando um único hospedeiro.

*Infracomunidade*: conjunto das infrapopulações de helmintos em um único hospedeiro.

*Prevalência*: número de hospedeiros, da amostra, infestados por uma determinada espécie de helminto dividido pelo total de hospedeiros examinados.

*Intensidade média de infestação*: média das intensidades de infestação de uma determinada espécie de helminto entre os hospedeiros infestados em uma amostra.

Os termos ecológicos acima citados seguem MARGOLIS *et al.* (1982) e BUSH *et al.* (1997).

#### 4.7. Identificação e descrição dos temnocefalídeos.

A identificação foi baseada nas descrições de HASWELL (1893), PEREIRA & CUOCOLO (1941), PONCE DE LEÓN (1979), PONCE DE LEÓN (1989) e outros artigos especializados. Para a descrição das espécies encontradas em *P. canaliculata*, alguns espécimes foram medidos (Figs 7-9), fotomicrografados e desenhados. Para publicação, espécimes representativos de cada espécie serão depositados na Coleção Helminológica do Instituto Oswaldo Cruz (CHIOC). As medidas das estruturas nos animais montados *in toto*, dos cirros montados em deF e das PSDPEs reveladas com NP foram feitas em microscópio Zeiss Axiolab.

As medidas são apresentadas em micrometros ( $\mu\text{m}$ ) a menos que outra unidade métrica seja indicada, a amplitude de variação é seguida pela média, número de espécimes medidos (quando diferente do indicado no início de cada descrição) e desvio padrão, entre parênteses.

Algumas das estruturas são específicas do grupo estudado ou seus conceitos apresentam divergências de um artigo para outro, por isso os conceitos seguidos neste trabalho estão listados abaixo:

**Glândulas rhabditogênicas:** receberam este nome por produzirem uma secreção em forma de bastão (rod-shape) chamada de rhabdites. Estes bastões quando em contato com o ambiente se transformam em muco e são responsáveis pela locomoção, defesa, suporte e estímulo tátil, entre outras funções, nos turbelários (MARTIN 1978). Nos temnocefalídeos essas glândulas formam cachos localizados nas laterais do corpo do helminto e seus ductos levam as secreções para os tentáculos onde auxiliam na captura do alimento e na locomoção. Os limites, anterior e posterior, destas glândulas podem ser um caráter morfológico específico neste grupo (AMATO *et al.* 2005 e 2006).

**Glândulas de Haswell:** VOLONTERIO & PONCE DE LEÓN (2004) mostraram a ultraestrutura das Glândulas de Haswell, até então chamadas de Células de Haswell (CANNON 1993), demonstrando sua natureza neurosecretora. Embora não tenham função conhecida, a proximidade dessas glândulas com os ocelos reforça a função neural que elas podem exercer. Taxonomicamente são importantes, o número e a posição dessas estruturas.

**Grandes glândulas do disco:** são um grupo de glândulas que se destaca por serem maiores que as outras glândulas do disco e terem cor e textura diferentes quando observadas em lactofenol. Especula-se a possibilidade destas glândulas fazerem parte do sistema excretor, sendo então chamadas de paranefrócitos (FYFE 1942; HERTEL 1993; VOLONTERIO 2007), mas a real função dessas glândulas só será elucidada após estudo da sua ultraestrutura e histoquímica.

**Vagina:** o trecho feminino do sistema reprodutor é bastante complexo nos temnocefalídeos gerando confusões na nomenclatura de seus órgãos. Esta estrutura já recebeu vários nomes: útero (BAER 1931; MORETTO & DURQUET 1977; DAMBORENEA 1992), metratermo (PEREIRA & CUOCOLO 1941; VOLONTERIO 2007), oótipo (PONCE DE LEÓN 1989) e ducto ovovitelino (MORETTO 2001), sendo o primeiro mais utilizado, principalmente em publicações mais antigas. A utilização do termo vagina segue trabalhos do grupo do Dr Lester Cannon na Austrália (CANNON 1993; CANNON & JOFFE 2001; DAMBORENEA & CANNON 2001), além de ser o termo que melhor representa a sua função. Os espermatozóides entram através do átrio genital no momento da cópula e seguem da vagina até a vesícula ‘resorbens’. No momento da fecundação, os espermatozóides saem da vesícula ‘resorbens’ para os receptáculos seminais, e destes para o oótipo. O início da formação do ovo ocorre no oótipo, os ovos já formados são sempre encontrados no átrio genital, descartando a função de útero, e menos ainda, de

metratermo que, por definição, é uma porção diferenciada, normalmente musculosa e distal, do útero.

**Vesícula ‘resorbens’:** esta vesícula teve seu nome corrigido (antigamente chamada de vesícula ‘resorbiens’) por CANNON (1993) e tem a função de digestão do excesso de espermatozoides. Esta estrutura recebe, durante a cópula, o produto sexual do parceiro. Em um estágio pós-copulatório, o epitélio da vesícula digere todos os espermatozoides que não foram para os receptáculos seminais para a fecundação, e o produto resultante é incorporado no metabolismo do organismo. Não há conexões, permanentes ou transitórias, entre a vesícula ‘resorbens’ e o intestino (MORETTO 2001).

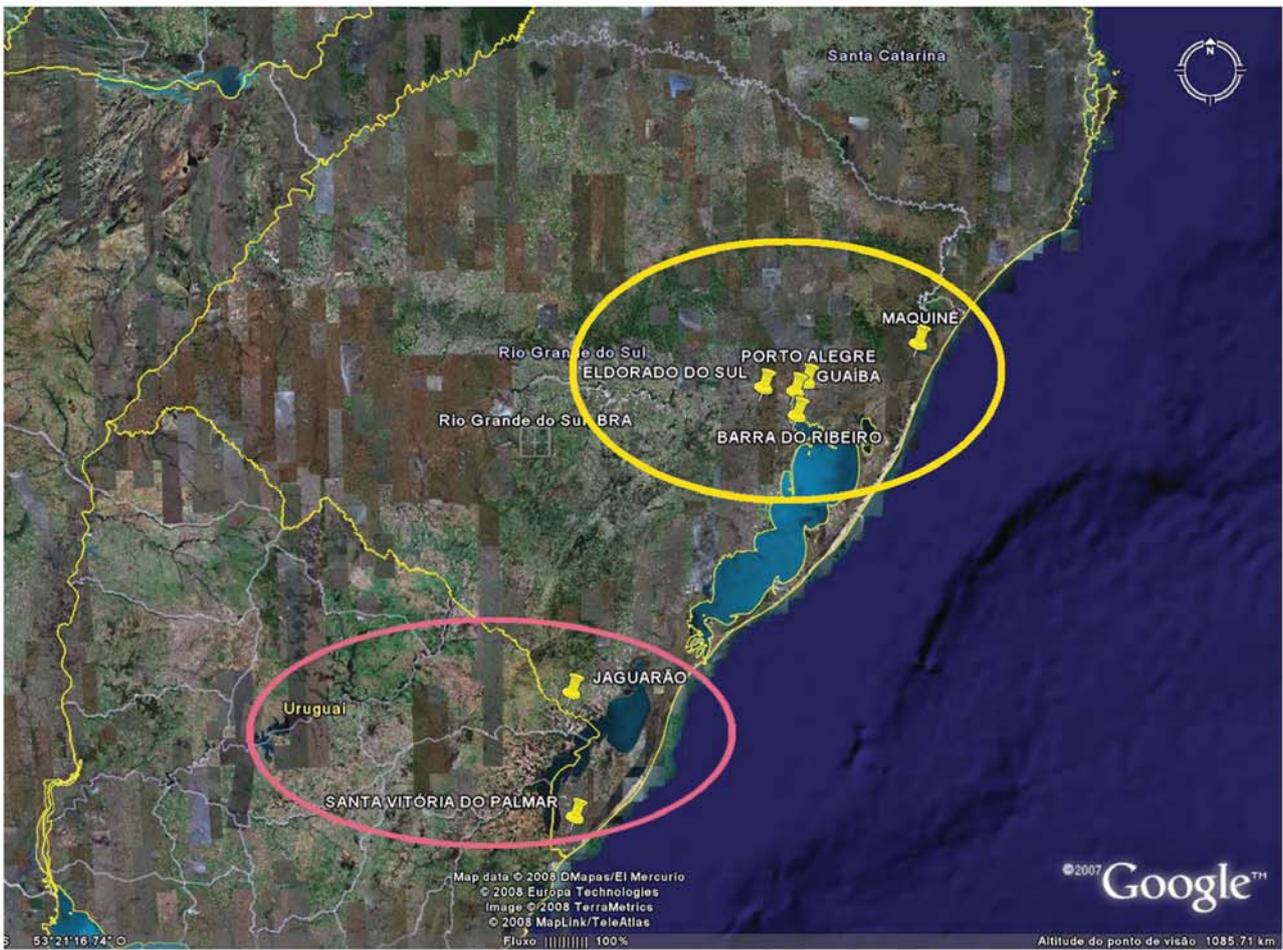
**Cirro:** HASWELL (1893) já havia descrito o órgão copulador masculino dos temnocefalídeos como um cirro, cuja parte terminal eversível, freqüentemente armada com espinhos, ele chamou de *introvert*. CANNON (1993) o corrigiu dizendo que cirro é o termo apropriado para a parte eversível do órgão, a base rígida pode ser considerada um estilete, chamada de *shaft*. Pela capacidade eversível do *introvert* e a natureza rígida do *shaft*, seria menos apropriado chamar esta estrutura de pênis ou estilete peniano, nomes ainda encontrados na literatura atual.

**Vesícula ejaculatória:** os temnocefalídeos australianos possuem um saco ejaculatório e esse órgão sai do bulbo prostático pareando com a vesícula seminal. Ele é encontrado freqüentemente vazio ou contendo poucos espermatozoides, e nunca contém secreções prostáticas (HASWELL 1893; CANNON 1993). Nos espécimes neotropicais estudados neste trabalho, este órgão está dentro do bulbo prostático formando uma vesícula circundada pelas células prostáticas, e é uma continuação da vesícula seminal onde são estocados os espermatozoides que irão receber as secreções prostáticas antes de irem ao exterior através do cirro. Esta vesícula também é denominada na literatura de vesícula contrátil (VOLONTERIO 2007).

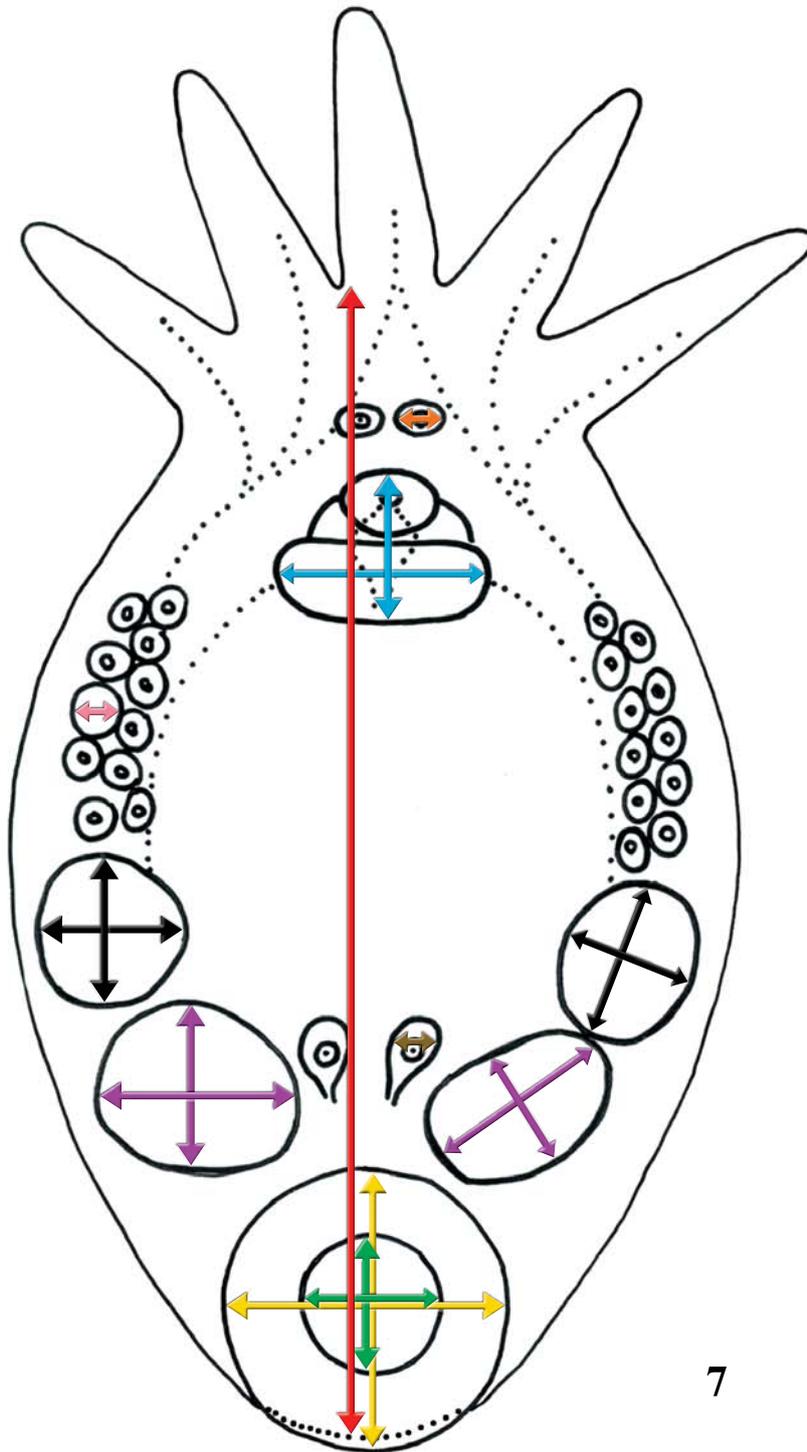
**Tabela I.** Locais de coleta do hospedeiro *Pomacea canaliculata*.

Local de coleta	Município	Período de coleta
Ilha da Pintada	Porto Alegre	(Abr/99 – Out/99)
Ponta do Cirola	Barra do Ribeiro	(Set/99 – Out/99)
Praia Florida	Guaíba	(Dez/99 – Maio/06)
Arrozeira	Eldorado do Sul	(Mai/00 – Mar/07)
Fazenda Sossego	Santa Vitória do Palmar	(Out/03 – Ago/04)
Fazenda dos Afogados	Santa Vitória do Palmar	(Set/04)
Parque Marinha do Brasil	Porto Alegre	(Set/05 – Nov/07)
Distrito de Barra do Ouro	Maquiné	(Nov/05)
Sava Clube	Porto Alegre	(Jun/00 - Abr/06)
Fazenda da Invernada	Jaguarão	(Ago/07)
Rodovia BR 116 (km 12)	Jaguarão	(Ago/07)

**Figura 5.** Mapa do Rio Grande do Sul mostrando os pontos de coleta localizados na região leste (círculo amarelo) e região sul (círculo rosa) do Estado.



**Figura 7.** Diagrama de um temnocefalídeo adulto mostrando como os diversos caracteres foram medidos para comporem as descrições.

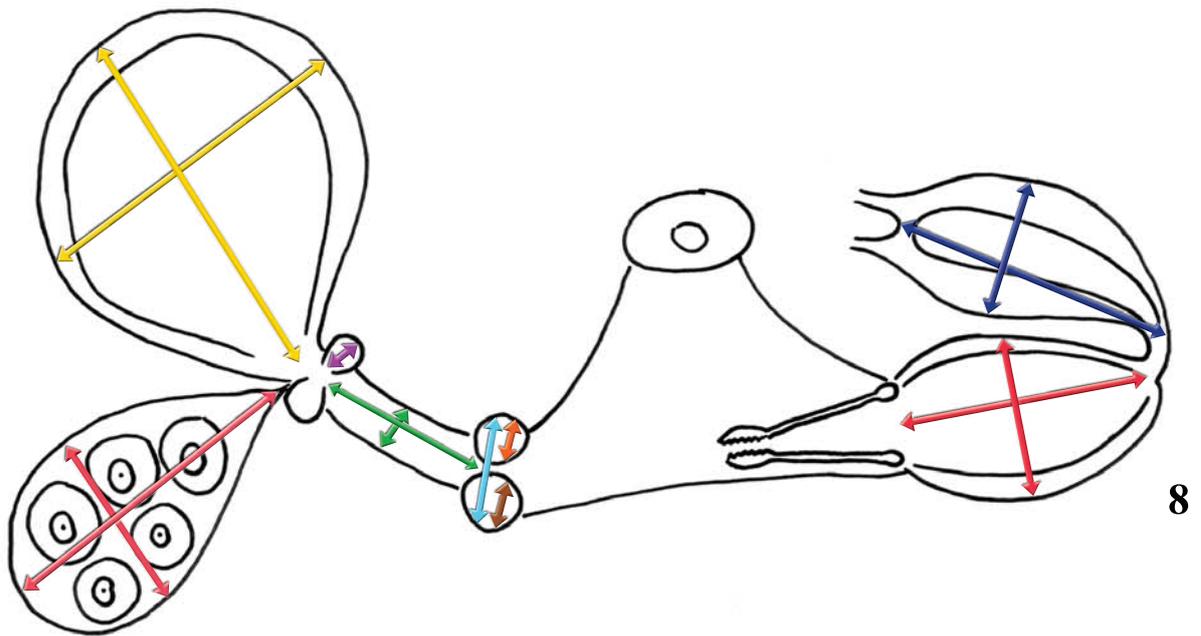


7

- |   |  |   |
|---|--|---|
| <span style="color: red;">■</span> Corpo sem tentáculos | <span style="color: blue;">■</span> Faringe                  | <span style="color: orange;">■</span> Glândulas de Haswell    |
| <span style="color: yellow;">■</span> Disco adesivo     | <span style="color: black;">■</span> Testículos anteriores   | <span style="color: pink;">■</span> Glândulas rhabditogênicas |
| <span style="color: green;">■</span> Pedúnculo do disco | <span style="color: purple;">■</span> Testículos posteriores | <span style="color: brown;">■</span> Glândulas do disco       |

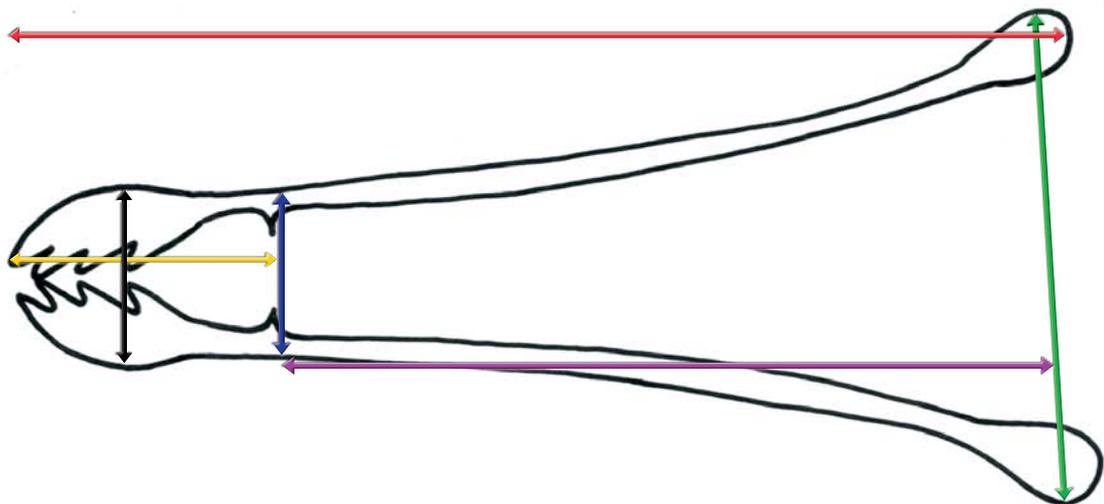
**Figura 8.** Diagrama do sistema reprodutor de um temnocefalídeo adulto mostrando como os diversos caracteres foram medidos para comporem as descrições.

**Figura 9.** Diagrama do cirro de um temnocefalídeo adulto mostrando como os diversos caracteres foram medidos para comporem as descrições.



8

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <span style="color: yellow;">■</span> Vesícula resorbens  | <span style="color: green;">■</span> Vagina            | <span style="color: brown;">■</span> Porção inferior |
| <span style="color: red;">■</span> Ovário                 | <span style="color: cyan;">■</span> Esfícter da vagina | <span style="color: red;">■</span> Bulbo prostático  |
| <span style="color: purple;">■</span> Receptáculo seminal | <span style="color: orange;">■</span> Porção superior  | <span style="color: blue;">■</span> Vesícula seminal |



9

- |   |  |
|---|--|
| <span style="color: red;">■</span> Comprimento total            | <span style="color: blue;">■</span> Largura da base do 'introvert'             |
| <span style="color: green;">■</span> Largura da base do 'shaft' | <span style="color: yellow;">■</span> Comprimento do 'introvert'               |
| <span style="color: purple;">■</span> Comprimento do 'shaft'    | <span style="color: black;">■</span> Largura máxima da inflação do 'introvert' |

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Distribuição das espécies de temnocefalídeos epibiontes de *Pomacea canaliculata* no Estado do Rio Grande do Sul.

Três espécies do gênero *Temnocephala* ocorrem em *P. canaliculata* do Rio Grande do Sul, *T. iheringi*, *T. rochensis* e *T. haswelli*. As prevalências e as intensidades médias de infestação nas diferentes localidades estão sumarizadas na Tabela II. Nas 11 localidades amostradas, distribuídas em sete municípios do Estado do Rio Grande do Sul, foram encontradas infrapopulações únicas e mistas destes epibiontes. A composição da infrapopulação, ou infracomunidade, variou de uma região do Estado para outra. As localidades de coleta se restringiram a dois extremos do Estado (Fig. 5): região ao leste (capital e cidades vizinhas, e uma na planície costeira) e região ao sul (extremo sul do estado e divisa com o Uruguai).

Na região ao leste foram encontradas duas espécies, *T. iheringi* e *T. haswelli*. *Temnocephala iheringi* foi encontrada somente em simpatria com *T. haswelli*, o que dificultou o estudo dos ovos nesta espécie, já que as posturas estavam localizadas nos mesmos locais das posturas encontradas nas conchas com infestações únicas de *T. haswelli*. O termo simpatria por definição é a ocorrência de espécies ou populações

compartilhando uma área geográfica (FUTUYMA 2002) e ao ser aplicado em simbiontes, não apenas delimita a área geográfica de ocorrência das espécies, mas também o microhabitat, no caso o molusco hospedeiro. Estas duas espécies ocorrem em simpatria nas seguintes localidades: Ilha da Pintada, Sava Clube, Ponta do Cirola, Praia Florida, Arrozeira e Distrito de Barra do Ouro nos Municípios de Porto Alegre, Barra do Ribeiro, Guaíba, Eldorado do Sul e Maquiné, todos localizados na região leste do Estado, e *T. haswelli* ocorre em infestações únicas somente no Parque Marinha do Brasil, Município de Porto Alegre.

*Temnocephala rochensis* é a única espécie que ocorre no extremo sul do Estado (nas localidades Fazenda Sossego e Fazenda dos Afogados no Município de Santa Vitória do Palmar; Fazenda da Invernada e Rodovia BR 116 (km 12) no Município de Jaguarão). É uma espécie difícil de ser encontrada segundo o próprio autor da espécie (Ponce de León com. pes.) e parece não ter uma distribuição muito ampla, já que as localidades onde foi encontrada no Rio Grande do Sul são muito próximas ou divisa com o Uruguai, localidade-tipo da espécie.

**Tabela II.** Prevalência e intensidade média de infestação dos temnocefalídeos por local de coleta.

Localidade	Prevalência	Intensidade média de infestação	<i>n</i>	Espécies do gênero <i>Temnocephala</i>
Ilha da Pintada	85%	11,8	89	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Ponta do Cirola	100%	26,6	8	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Praia Florida	100%	10,3	3	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Arrozeira	74%	10,2	195	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Fazenda Sossego	71%	68,1	14	<i>T. rochensis</i>
Fazenda dos Afogados	46%	2,1	15	<i>T. rochensis</i>
Parque Marinha do Brasil	100%	144,1	11	<i>T. haswelli</i>
Distrito de Barra do Ouro	100%	8,2	4	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Sava Clube	100%	165	2	<i>T. iheringi</i> e <i>T. haswelli</i>
Fazenda da Invernada	75%	20	4	<i>T. rochensis</i>
Rodovia BR 116 (km 12)	100%	36,6	5	<i>T. rochensis</i>

## **5.2. Diferenciação prévia e caracterização dos juvenis das espécies de temnocefalídeos epibiontes de *Pomacea canaliculata*.**

Uma das maiores dificuldades no estudo dos temnocefalídeos é fazer a caracterização das espécies quando são encontradas infestações mistas destes helmintos. Com o encontro freqüente de infestações concomitantes por *T. iheringi* e *T. haswelli* foi necessário fazer uma série de observações para a correta distinção destas espécies. Foi necessária a escolha de caracteres que diferenciassem as infrapopulações sem o emprego de técnicas mais invasivas, como a microdissecção do cirro que deixa o espécime inutilizado para as outras técnicas necessárias para a caracterização da espécie. Outra técnica que seria ideal é a clarificação de todos os espécimes para a visualização do cirro, caráter de maior valor taxonômico, mas para isso eles devem passar por uma série de produtos (lactofenol, bateria alcoólica (etanol), óleo de cedro...) que também impossibilitariam o uso posterior destes espécimes. Muitas das técnicas utilizadas necessitam de uma diferenciação prévia das espécies para sua execução. Para a visualização das PSDPEs (MEV e NP), por exemplo, os espécimes não podem ter passado por nenhum tipo de tratamento anterior.

No caso da diferenciação entre *T. iheringi* e *T. haswelli*, os animais foram observados *in vivo* a procura de caracteres que os diferenciassem antes da fixação. Durante o exame foi observada diferença no local preferencial de infestação, logo que o molusco é tirado da concha, espécimes de *T. haswelli* são liberados na placa de petri, já os espécimes de *T. iheringi* só são liberados quando a cavidade palial do molusco é rompida. As diferenças no pigmento ocelar, *T. iheringi* é desprovido de pigmento ocelar (Figs 18B e 19) enquanto *T. haswelli* possui ocelos vermelhos e conspícuos (Figs 91B e 92), foram utilizadas para a caracterização das espécies. O pigmento ocelar só é mantido

se o espécime for fixado em formalina 10% fosfato tamponada a 90°C e o pigmento é diluído se forem feitos tratamentos posteriores, com lactofenol por exemplo. Algumas espécies vão perdendo a intensidade do pigmento dos ocelos mesmo em formalina, possivelmente porque esta substância não é um conservante e sim um fixador e continua a agir sobre o espécime durante a armazenagem modificando-o. Como esse caráter não tem um resultado constante depois destes tratamentos, outros caracteres de diferenciação foram procurados.

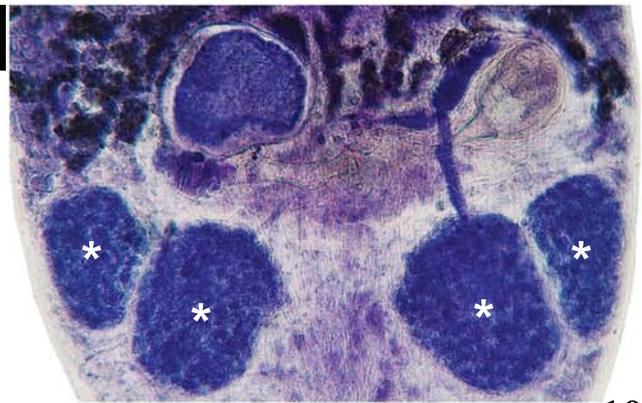
A posição e a forma dos testículos são específicas nas três espécies (Figs 10-12) e as diferenças se acentuam entre *T. iheringi* e *T. haswelli*. A primeira tem os testículos na mesma zona do corpo, praticamente alinhados (Fig. 10), já *T. haswelli*, tem os testículos anteriores e posteriores ocupando o mesmo campo nas margens do corpo. A posição dos testículos é semelhante entre *T. haswelli* e *T. rochensis*, mas enquanto a primeira espécie apresenta testículos de tamanho mediano e elipsoidais (Fig. 11), a segunda tem testículos grandes e arredondados (Fig. 12). A observação dos testículos pode ser feita nos animais recém fixados, em formalina ou comprimidos em AFA, onde são facilmente visualizados por serem grandes massas translúcidas que sobressaem aos outros órgãos, como também nos espécimes tratados com NP e com lactofenol (Figs 25, 64 e 97).

Tanto o pigmento ocelar, ou a falta deste, como a forma e posição dos testículos servem para diferenciar os juvenis de cada espécie em uma infracomunidade. Ambas as características, mesmo que os testículos em menor tamanho, estão presentes desde o início do desenvolvimento destes helmintos. A principal distinção entre juvenis e adultos, fora o tamanho corporal, é a maturação dos órgãos reprodutivos. Quando adultos, os temnocefalídeos apresentam as glândulas vitelogênicas conspicuas, arborescentes e marrons (Figs 19, 55 e 92) e a distribuição destas glândulas na região

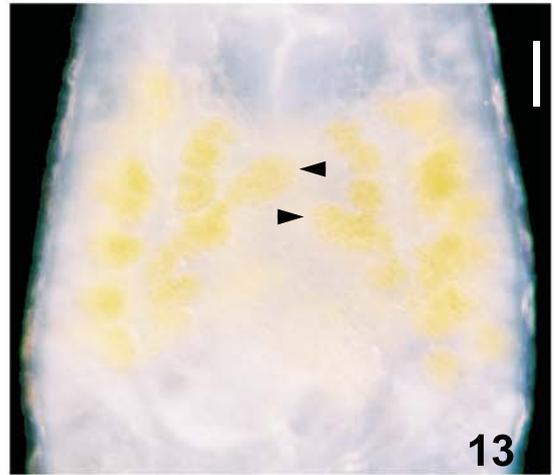
ventral do animal diferenciam os adultos destas espécies. Novamente, *T. haswelli* e *T. iheringi* apresentaram as maiores diferenças, sendo que o vitelário de *T. iheringi* possui ramos que quase se encontram na região ventral (Fig. 13), enquanto que os ramos de *T. haswelli* e *T. rochensis* ficam restritos às margens do corpo (Figs 14 e 15). Como faz parte do sistema reprodutor feminino e os temnocefalídeos são protândricos (do grego *proto* = primeiro e *andro* = macho, ou seja, os órgãos masculinos maturam antes dos órgãos femininos) (BRUSCA & BRUSCA 2003), o vitelário é uma das últimas estruturas a amadurecer. Nos espécimes juvenis não é possível observar esta glândula (Figs 24, 63 e 96), ou no caso dos indivíduos quase adultos, estes ramos são pouco arborescentes, mais compactos ao redor do intestino. Como em espécimes recém fixados ou vivos, órgãos como o cirro e a vagina não podem ser visualizados sem a aplicação de técnicas específicas, a distribuição destas glândulas facilita a diferenciação dos adultos, já que a visualização deste caráter nos juvenis não é possível, ou é pouco confiável. Para testar a reprodutibilidade destes caracteres, *T. rochensis*, que por ser encontrada sempre em infestações únicas não necessitava destas distinções, também foi utilizada no estabelecimento destes novos caracteres de diferenciação.

**Figuras 10-12.** Posição dos testículos (asterisco). (10) *Temnocephala iheringi*. Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (11) *Temnocephala haswelli*. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (12) *Temnocephala rochensis*. Barra = 250  $\mu\text{m}$ .

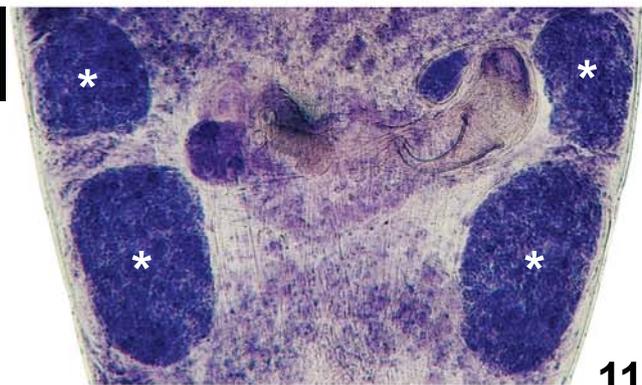
**Figuras 13-15.** Limite ventral das glândulas vitelogênicas (cabeça-de-seta). (13) *Temnocephala iheringi*. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (14) *Temnocephala haswelli*. Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (15) *Temnocephala rochensis*. Barra = 100  $\mu\text{m}$ .



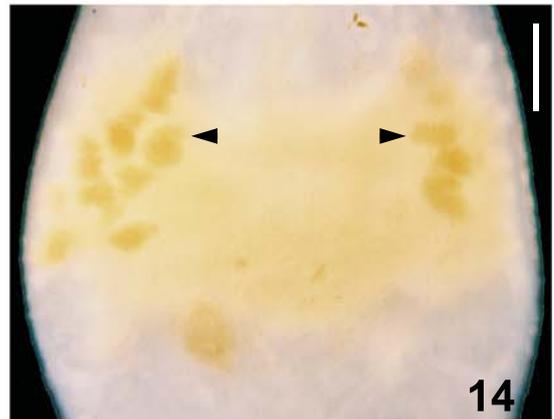
10



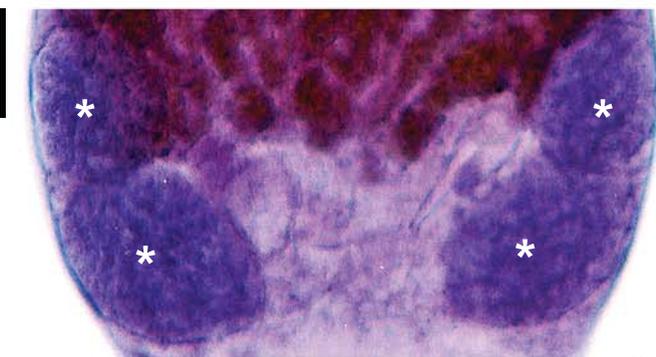
13



11



14



12



15

### 5.3 Descrições dos temnocefalídeos.

*Temnocephala iheringi* Haswell, 1893

(Figuras 10, 13 e 16-54)

#### DESCRIÇÃO.

Baseada em 340 espécimes fixados em AFA sob leve compressão e montados *in toto* em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá (237 adultos e 103 juvenis); 8 espécimes visualizados em MEV; 19 cirros dissecados e montados em deF; 12 espécimes fixados em NP; 30 espécimes medidos:

#### Características externas.

Tamanho corporal (excluindo os tentáculos) 1935,5-3199,5 (2437, 288) de comprimento, 513,5-1797,3 (1358, 237) de largura; disco adesivo ventral, subterminal, coberto parcialmente pelo corpo (Fig. 49) 410-790 (581, 92) de comprimento, 580-980 (701, 101) de largura; pedúnculo do disco adesivo, 80-300 (160,  $n = 26$ , 51) de comprimento, 190-370 (284, 52) de largura; relação entre o comprimento total do cirro/diâmetro do disco adesivo 3,4: 1. Pigmento corporal esverdeado presente em adultos e juvenis quando vivos (Fig. 18). Pigmento ocelar ausente (Fig. 19). Mosaico epidérmico com duas PSDPEs elípticas com a porção inferior mais estreita que a superior (Figs 28-30), placa esquerda 260-450 (352,5,  $n = 12$ , 59) de comprimento, 150-240 (189,  $n = 12$ , 25) de largura; placa direita 270-420 (346,  $n = 12$ , 52) de comprimento, 150-250 (198,  $n = 12$ , 30) de largura; relação entre o comprimento da PSDPE /comprimento total do corpo, excluindo os tentáculos, 4,9: 1. Poro excretor (nefridióporo) no centro das PSDPEs (Fig. 29).

### **Sistema alimentar.**

Boca circundada por um pequeno esfíncter muscular, entre o primeiro e o segundo terço do corpo (Figs 34 e 49), faringe mais longa do que larga (Figs 34 e 49), 360-553 (445, 133) de comprimento, 316-691 (409, 112) de largura, com um forte esfíncter muscular; glândulas esofagianas circundam a base da faringe (Figs 25 e 34); intestino sacular (Fig. 49), sem septos aparentes em adultos e juvenis, paredes intestinais grossas.

### **Sistema excretor.**

Vesículas excretoras arredondadas (Fig. 49), ao nível da boca. Poro excretor (nefridióporo) na porção anterior da vesícula, direcionado para a margem do corpo.

### **Glândulas.**

Glândulas rabditogênicas pequenas e numerosas com aparência granular, formando cachos (22 células em média) nas laterais do corpo (Figs 25 e 50), 35-77,5 (50, 11) de diâmetro. Estendem-se ao lado do intestino até os testículos anteriores, ductos (Figs 25 e 50) mais conspícuos em espécimes juvenis clarificados em lactofenol antes do completo desenvolvimento do vitelário. Dois conjuntos de quatro glândulas de Haswell (Figs 27 e 49), com baixa afinidade a corantes, em frente à faixa cerebral transversal (Fig. 48), 50-97,5 (66,  $n = 24$ , 15) de diâmetro da glândula maior. Glândulas esofagianas formando um colar entre a faringe e o intestino (Figs 25 e 34). Glândulas do disco entre o disco adesivo e o sistema reprodutor, formando dois cachos laterais, estendendo-se do nível do testículo posterior até a margem do disco adesivo (Fig. 51), e um cacho central que inclui dois pares de células maiores (paranefrócitos?), arredondadas e centralizadas (Figs 26 e 51), 37,5-72,5 (53, 9) de diâmetro.

### **Sistema reprodutor.**

Os temnocefalídeos são hermafroditos protândricos e o sistema reprodutor (feminino e masculino) se localiza na região postero-medial do corpo (Fig. 35).

**Feminino.** Poro genital central ao sistema reprodutor (Figs 35 e 37); ovário arredondado (Figs 36, 37 e 52) 67,5-145 (109, 19) de comprimento, 117,5-235 (170, 27) de largura; quatro receptáculos seminais (Figs 36, 37 e 52) 17,5-37,5 (28, 5) de diâmetro; vitelário arborescente (Fig. 19) envolvendo completamente o intestino na região dorsal e parcialmente, com ramos que quase se encontram, na região ventral (Fig. 13); átrio genital espaçoso (Figs 35 e 52), vagina longa, estreita com uma porção distal muscular (Figs 36, 37 e 52), 110-230 (163, 29) de comprimento, 50-160 (84, 22) de largura máxima; esfíncter muscular pequeno, assimétrico (Figs 36, 37 e 52), 50-70 (61, 5) de diâmetro total, 15-27,5 (22, 3) de diâmetro da porção superior, 27,5-40 (32, 3) de diâmetro da porção inferior; vesícula 'resorbens' com parede grossa, geralmente repleta de espermatozóides (Figs 36, 37 e 52), 157,5-410 (251, 57) de comprimento, 75-460 (302, 86) de largura, 2,5-15 (8, 3) de espessura da parede. Ovos eclodidos (Figs 21 e 22) e não eclodidos (Fig. 20) fixados no umbílico, na sutura e na espira, algumas vezes em maior quantidade na última volta da concha do hospedeiro (Figs 16 e 17).

**Masculino.** Quatro testículos ovais ocupando parcialmente a mesma zona do corpo, praticamente alinhados, anteriores menores que os posteriores (Figs 10, 35 e 49), testículo anterior direito 190-405 (302, 55) de comprimento, 110-310 (223, 46) de largura; testículo posterior direito 280-490 (366, 51) de comprimento, 240-490 (330, 56) de largura; testículo anterior esquerdo 230-450 (299, 49) de comprimento, 150-340 (226, 42) de largura; testículo posterior esquerdo 270-520 (368, 42) de comprimento, 200-450 (368, 42) de largura; ductos eferentes, inconspícuos, ligam os testículos anteriores e posteriores em ambos os lados; dos testículos posteriores saem dois ductos

deferentes (Figs 37-39 e 53) que se unem formando uma vesícula seminal longa, delgada, com parede fina (Figs 38, 39 e 53), 242,5-372,5 (298, 19) de comprimento, 25-117,5 (65, 19) de largura, 2,5-10 (4,5, 2) de espessura da parede; bulbo prostático com parede muscular (Figs 38, 39 e 53), 115-255 (182, 19) de comprimento, 130-235 (169, 19) de largura, 5-15 (10, 3) de espessura da parede; vesícula ejaculatória presente (Figs 38, 39 e 53). Cirro curto, reto (Figs 38-40, 53 e 54), 170-215 (193,  $n = 10, 15$ ) de comprimento total; *shaft* 120-157,5 (140,  $n = 10, 14$ ) de comprimento, 102,5-142,5 (122,  $n = 10, 14$ ) de largura da base; *introvert* 47,5-60 (53,  $n = 10, 4$ ) de comprimento, 20-27,5 (22,  $n = 10, 2$ ) de largura da base, 30-47,5 (35,  $n = 10, 5$ ) de largura máxima da inflação; reforço (Figs 41, 42 e 44) na parede do início da inflação, dando ao cirro a forma de uma taça. *Introvert* com, aproximadamente, 28 fileiras longitudinais de espinhos e 7 espinhos longos e finos por fileira (Figs 45-48); limite proximal marcado por leve constrição do lúmen do *shaft* que ao microscópio apresenta-se como dois finos espinhos (Figs 40 e 54). Base do *shaft* com bordas mais grossas em espécimes adultos (seu crescimento inicia pela extremidade distal, ou seja, pelo *introvert*) marcando o final do crescimento do cirro (Fig. 40). Relação entre o comprimento total do corpo/ comprimento total do cirro 12,6: 1; relação entre o comprimento total do cirro/ largura máxima da base do *shaft* 1,6: 1; relação entre comprimento total do cirro/ comprimento total do *introvert* 3,6: 1.

**Resenha taxonômica.**

Hospedeiro-tipo: *Ampullaria* (= *Pomacea*) sp. (Gastropoda, Ampullariidae).

Outros hospedeiros: *Pomacea lineata* (Spix, 1827), *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), *Asolene platae* (Maton, 1809) e *Pomella megastoma* (Sowerby, 1825).

Local de infestação: Adultos e juvenis na cavidade palial, postura de ovos no umbílico, na sutura e na espira, algumas vezes em maior quantidade na última volta da concha do hospedeiro.

Localidade-tipo: Brasil (HASWELL 1893).

Outras localidades: Salobra e Guaicurús, Mato Grosso, Brasil (PEREIRA & CUOCOLO 1941); Santa Fé, Argentina (HYMAN 1955); Santa Fé e Buenos Aires, Argentina (DAMBORENEA 1992); Ilha da Pintada e Sava Clube, Porto Alegre, RS, Brasil; Ponta do Cirola, Barra do Ribeiro, RS, Brasil; Praia Florida, Guaíba, RS, Brasil; Arrozeira, Eldorado do Sul, RS, Brasil; Distrito de Barra do Ouro, Maquiné, RS, Brasil (presente trabalho).

Espécimes depositados: CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo adulto fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo juvenil fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) cirro de espécime representativo em deF; CHIOC N° X - (SBA xxxx) ovos eclodidos e não eclodidos.

**COMENTÁRIOS.**

As PSDPEs de *T. iheringi* têm limites pouco marcados, sendo de difícil visualização em MEV e NP (Figs 28-30). Pela primeira vez mostrada nos temnocefalídeos neotropicais, a placa sincicial do disco adesivo foi fotomicrografada em MEV mostrando as secreções de adesão, produzidas pelas glândulas do disco, saindo por poros distribuídos em toda parte inferior da estrutura (Figs 31-33). A vagina,

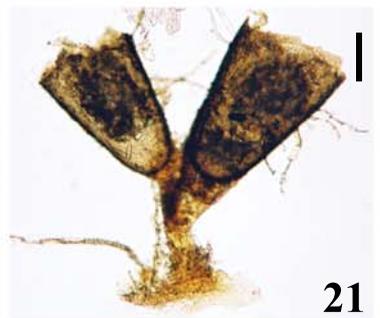
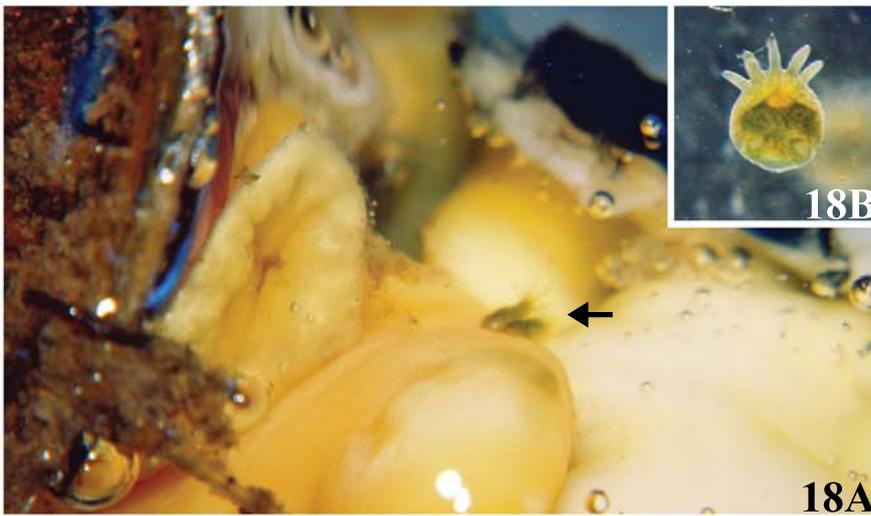
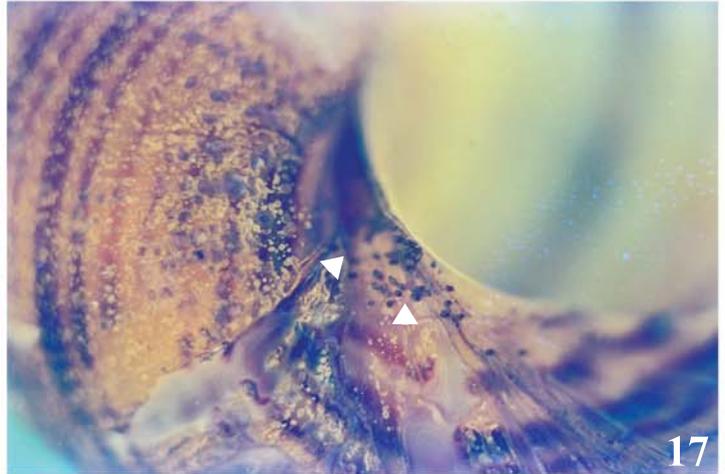
longa e estreita, tem uma porção distal musculosa (Fig. 36), de difícil observação, já que esta porção possui o mesmo tamanho de parede do resto da vagina. Sua função, provavelmente, é de auxiliar na expulsão do ovo recém formado para o átrio genital, e deste para o exterior. O esfíncter vaginal é bastante assimétrico, sendo que a espessura da porção superior é, em média, 10  $\mu\text{m}$  menor que a porção inferior. A vesícula seminal é muito longa (Fig. 39) nesta espécie sendo, em média, maior do que bulbo prostático (298  $\mu\text{m}$  de comprimento da vesícula seminal e 182  $\mu\text{m}$  de comprimento do bulbo prostático). A largura da base do *shaft* do cirro de *T. iheringi* apresentou uma variação grande (amplitude de variação: 102,5-142,5) frente ao fato de que o cirro é o caráter mais estável do corpo dos temnocefalídeos, que normalmente, apresenta pouca variação. Esta característica pode ser uma variação intra-específica da espécie. Essas diferenças não estão agrupadas por localidade de coleta, excluindo que seja variação de uma população (conjunto das infrapopulações de helmintos de todos os hospedeiros de uma determinada área geográfica) para outra. Outra característica peculiar do cirro desta espécie é o reforço no início da inflação do *introvert*, melhor visualizada em MEV (Fig. 44). Os ovos de *T. iheringi* não foram medidos porque só foram encontradas infestações mistas desta espécie com *T. haswelli*, impossibilitando a separação precisa dos ovos de cada espécie nas posturas encontradas.

**Figuras 16 e 17.** Postura de ovos de *Temnocephala iheringi* ou *Temnocephala haswelli* em concha de *Pomacea canaliculata* infestada por estas duas espécies de epibiontes. (16) Postura de ovos (cabeça-de-seta-branca) ao longo da sutura e nas linhas de crescimento (cabeça-de-seta-vermelha). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (17) Postura de ovos (cabeça-de-seta) no umbílico.

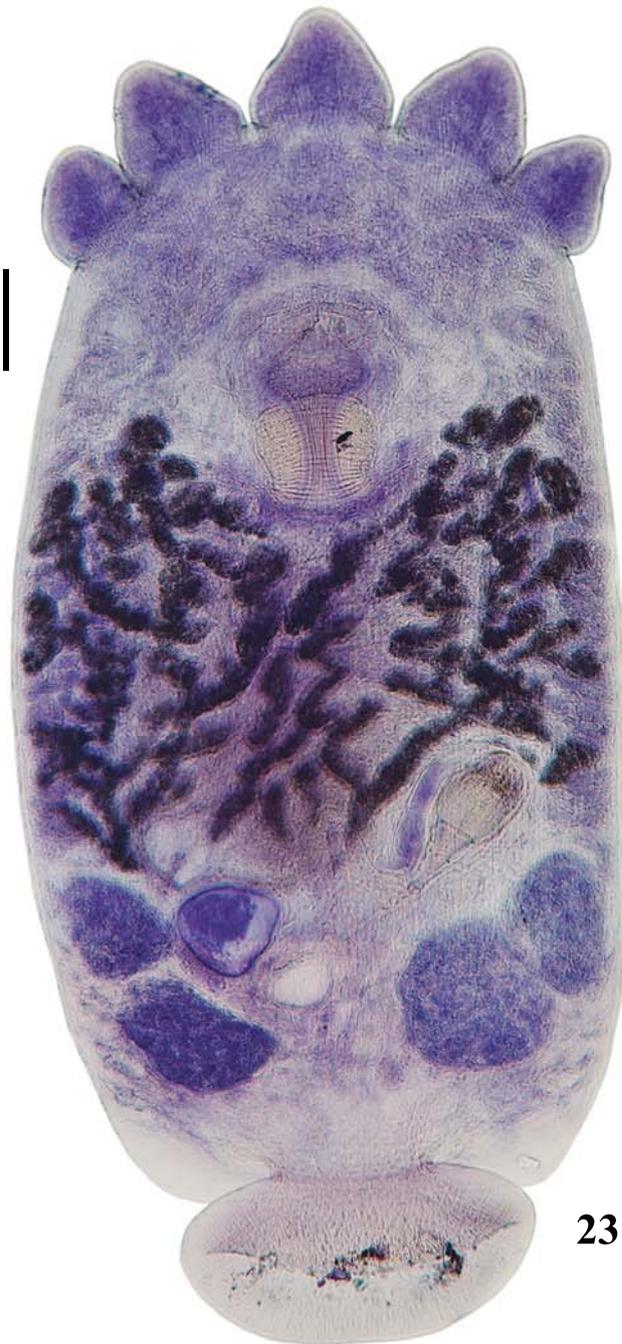
**Figura 18.** Espécimes de *Temnocephala iheringi* vivos. (18A) Espécimes sobre as partes moles do molusco (seta). (18B) Espécime livre em uma placa de petri mostrando o pigmento corporal e a ausência de pigmento ocelar.

**Figura 19.** Espécimes de *Temnocephala iheringi*, vista dorsal, fixados em formalina 10% fosfato tamponada a 90°C mostrando a variação de formas corporais, ausência de pigmento ocelar e as glândulas vitelogênicas arborescentes. Barra = 500  $\mu\text{m}$ .

**Figuras 20-22.** Ovos de *Temnocephala iheringi* ou *Temnocephala haswelli*. (20) Ovos não eclodidos, de diferentes formas e com o filamento em diferentes posições (cabeça-de-seta-preta), mostrando os limites das placas operculares (cabeça-de-seta-vermelha). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (21) Ovos pedunculados eclodidos. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (22) Ovos sésseis eclodidos. Barra = 100  $\mu\text{m}$ .



**Figuras 23 e 24.** Espécimes de *Temnocephala iheringi* montados *in toto*. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (22) Espécime adulto. (23) Espécime juvenil.

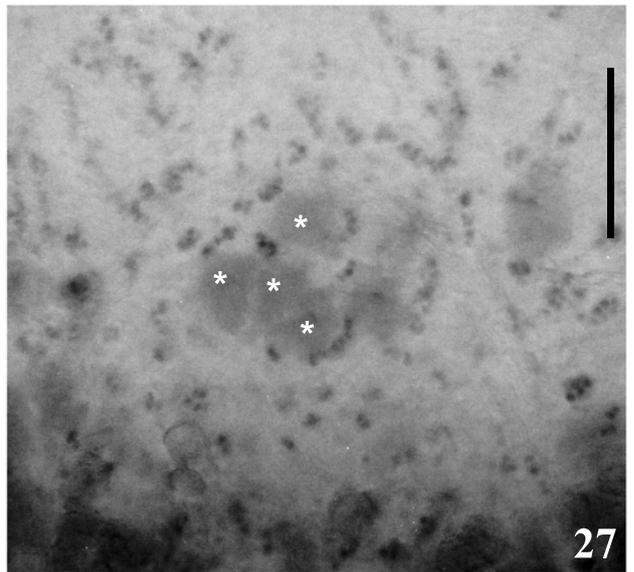
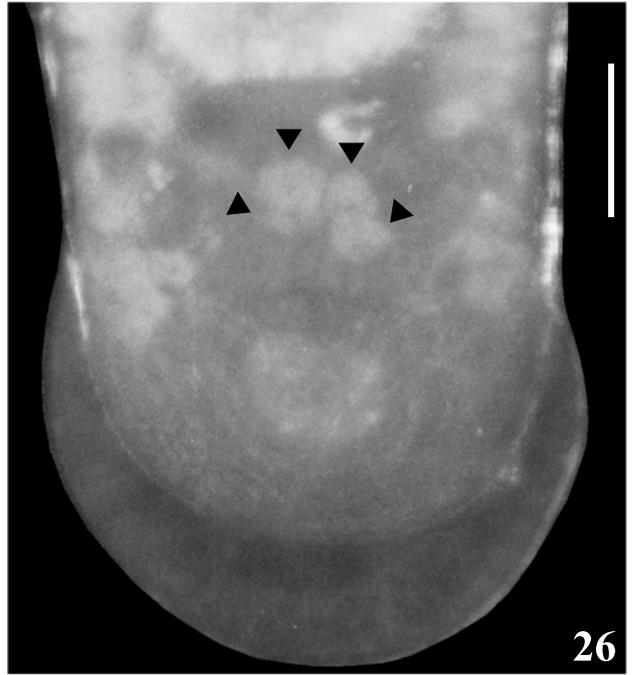


23

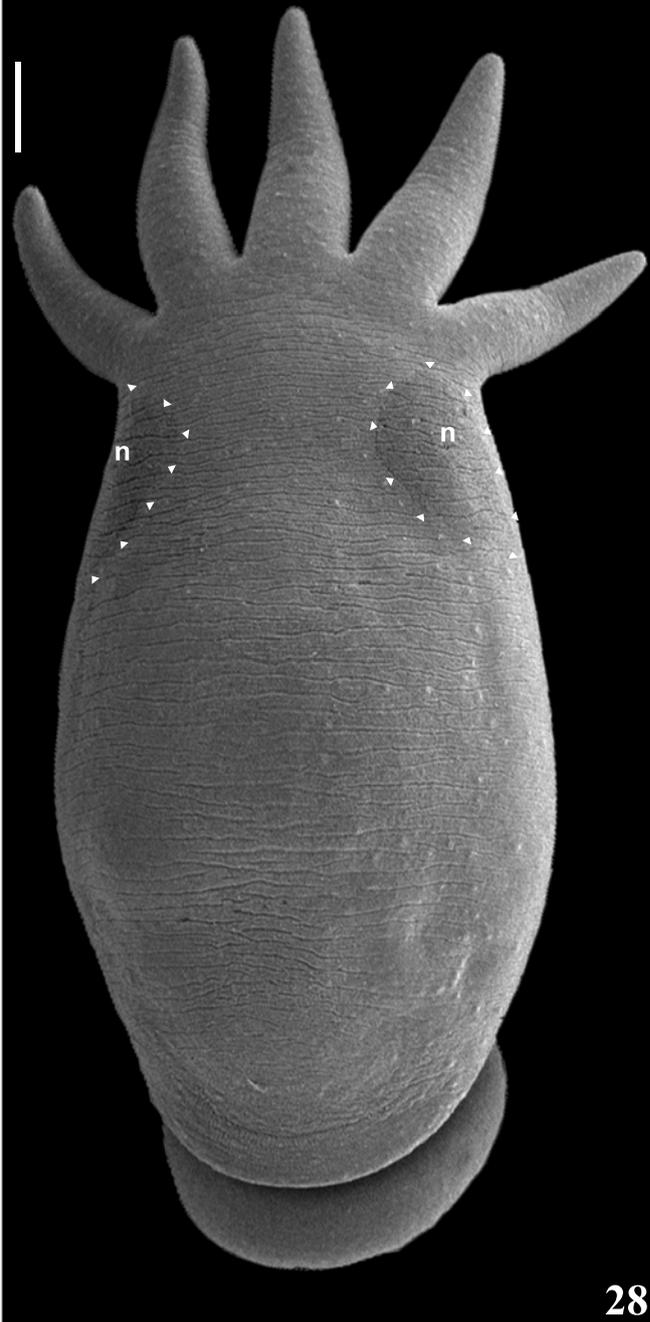


24

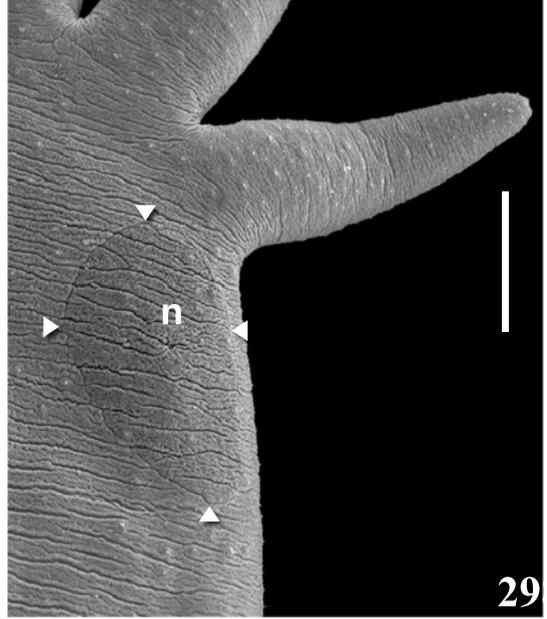
**Figuras 25-27.** Distribuição das glândulas em *Temnocephala iheringi*. (25) Limite das glândulas rabditogênicas e do disco (seta), ductos das glândulas rabditogênicas (cabeça-de-seta) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (26) Dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) (cabeça-de-seta). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (27) Glândulas de Haswell, foco no conjunto à esquerda (asterisco). Barra = 100  $\mu\text{m}$ .



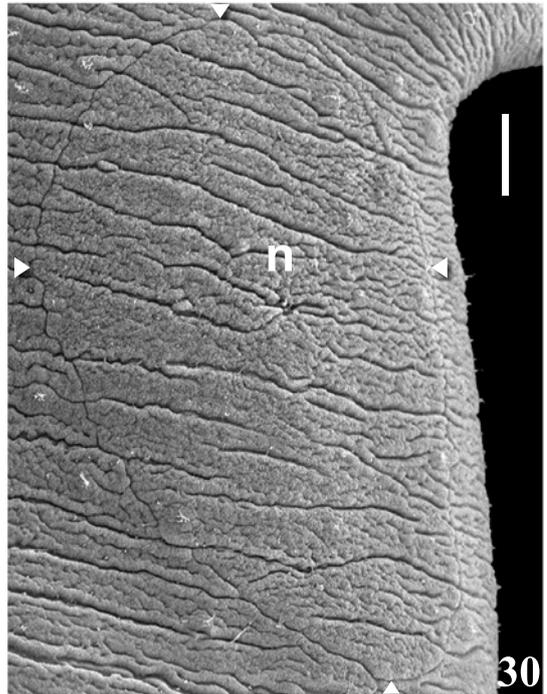
**Figuras 28-30.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das PSDPEs de *Temnocephala iheringi*. (28) Espécime montado *in toto* mostrando os limites das duas PSDPEs (cabeça-de-seta) e o nefridióporo (n). Barra = 100 µm. (29) PSDPE direita e último tentáculo, limite (cabeça-de-seta) e nefridióporo (n). Barra = 100 µm. (30) Detalhe da PSDPE direita, limite (cabeça-de-seta) e nefridióporo (n). Barra = 25 µm.



28

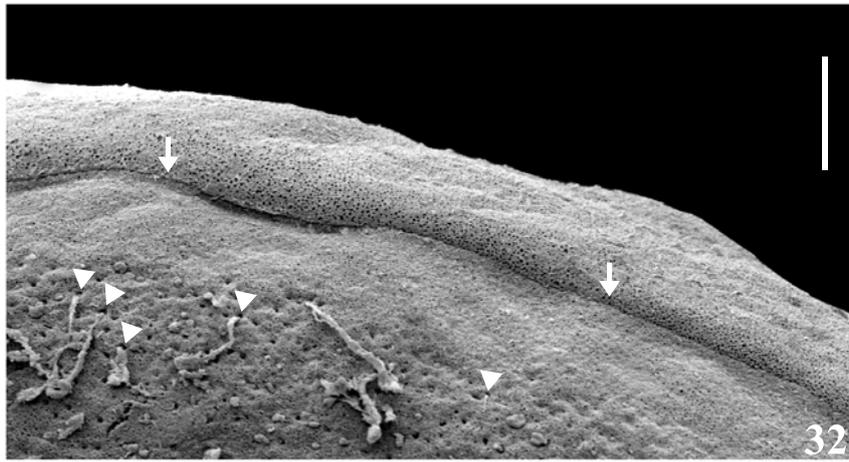
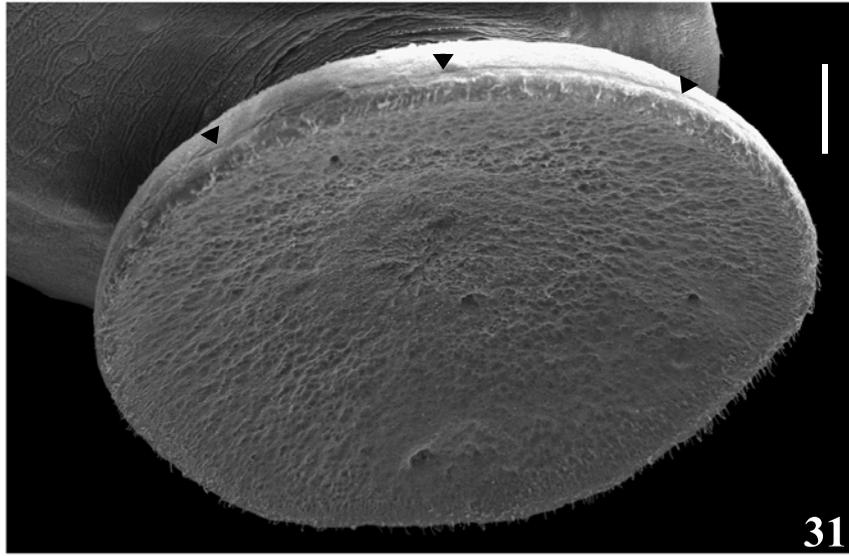


29



30

**Figuras 31-33.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do disco adesivo de *Temnocephala iheringi*. (31) Limite da placa sincicial do disco adesivo (cabeça-de-seta). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (32) Detalhe da sutura da placa sincicial do disco adesivo (seta) e poros do disco com secreções adesivas (cabeça-de-seta). Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (33) Detalhe dos poros do disco com secreções adesivas (cabeça-de-seta). Barra = 5  $\mu\text{m}$ .



**Figura 34.** Faringe de *Temnocephala iheringi*. Boca (b), faringe (f), esfíncter da faringe (ef) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 100 µm.

**Figura 35.** Sistema reprodutor de *Temnocephala iheringi*. Poro genital (pg), átrio genital (at), testículo anterior esquerdo (tae), testículo posterior esquerdo (tpe), testículo anterior direito (tad) e testículo posterior direito (tpd). Barra = 100 µm.

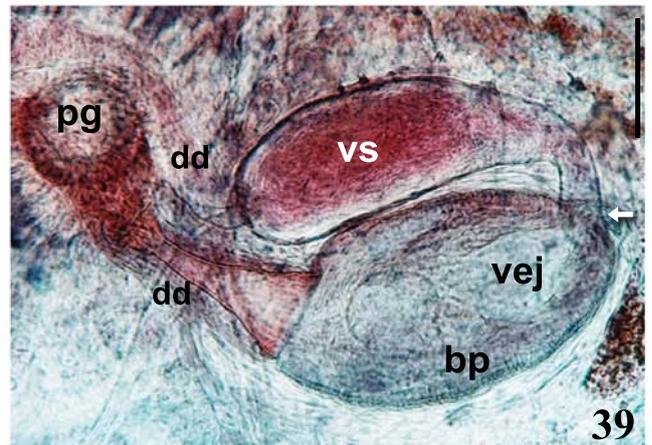
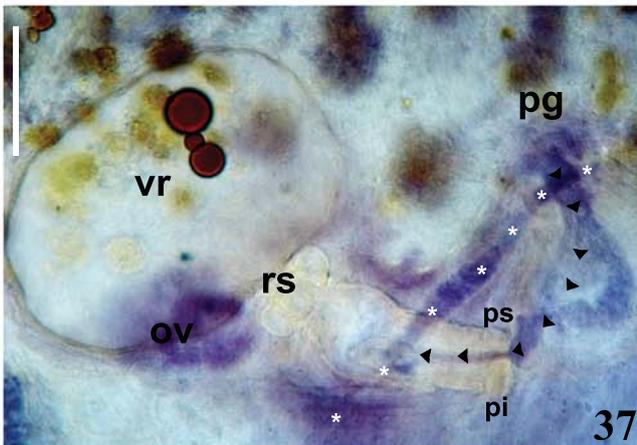
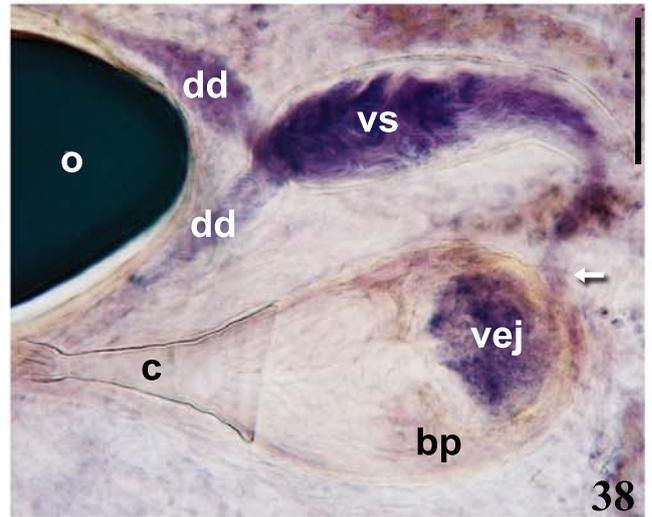
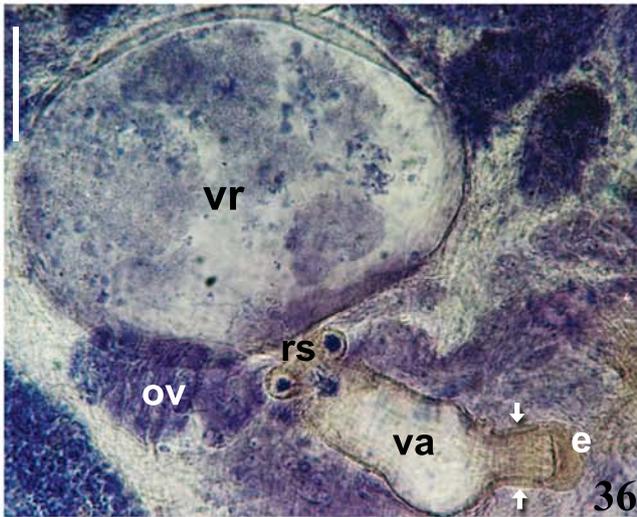
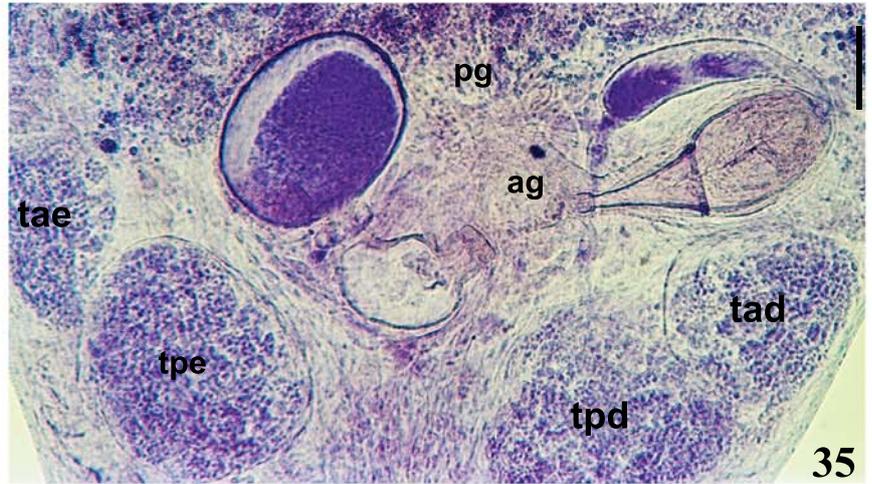
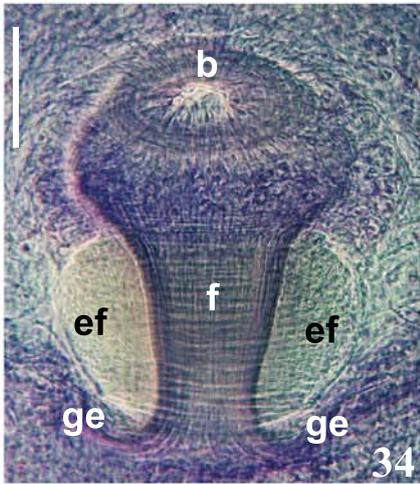
**Figuras 36 e 37.** Órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala iheringi*.

(36) Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), porção muscular da vagina (seta branca) e esfíncter da vagina (e). Barra = 100 µm.

(37) Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), porção superior do esfíncter da vagina (ps), porção inferior do esfíncter da vagina (pi), poro genital (pg), ducto deferente (asterisco) e trajetória dos espermatozoides do poro genital em direção à vagina (cabeça-de-seta). Barra = 250 µm.

**Figuras 38 e 39.** Órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala iheringi*.

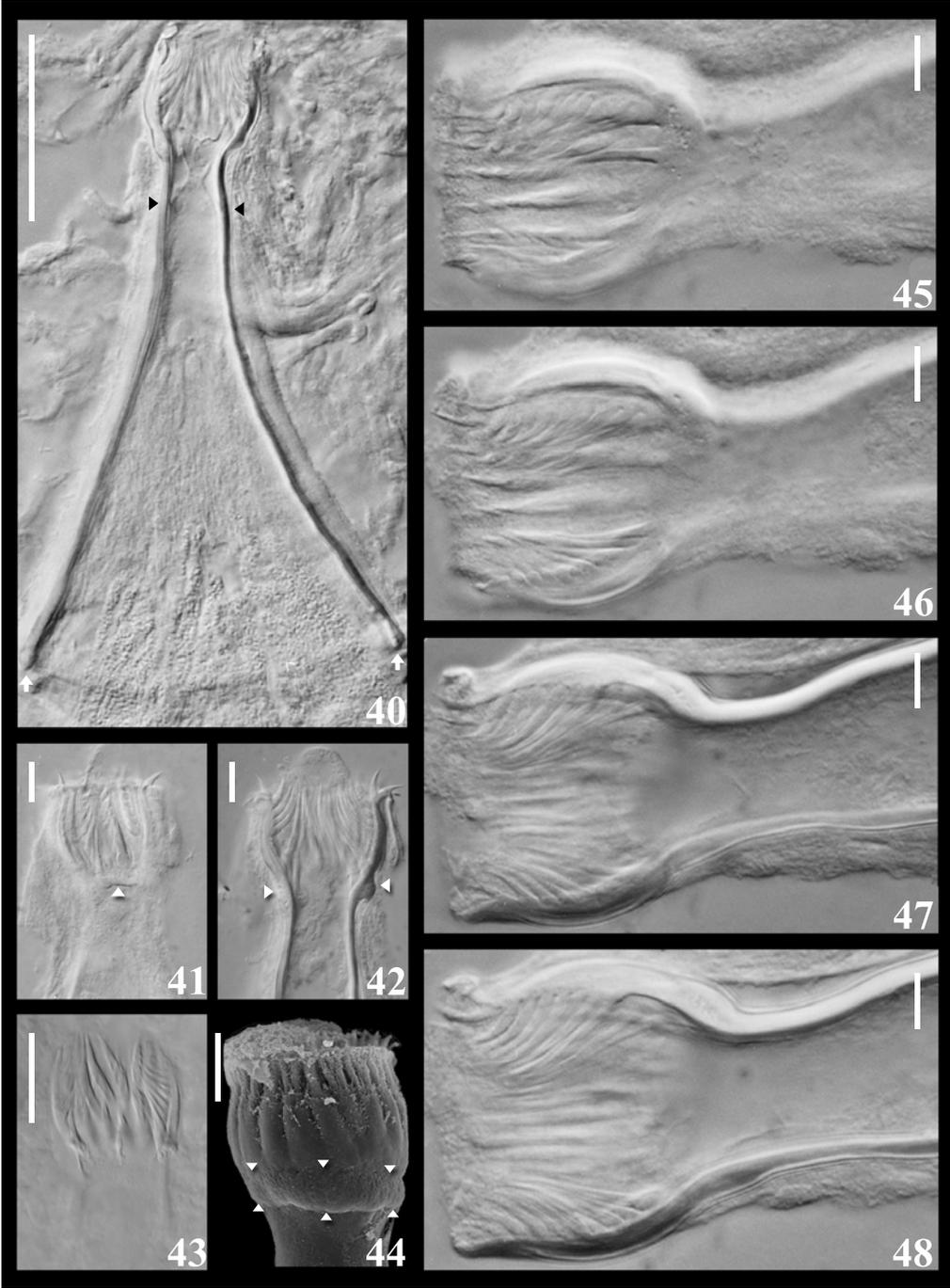
Barra = 100 µm. (38) Ovo no átrio genital (o), ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), entrada da vesícula seminal no bulbo prostático (seta branca), vesícula ejaculatória (vej), bulbo prostático (bp) e cirro (c). (39) Espécime corado com Carmim acético/Fast green. Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), entrada da vesícula seminal no bulbo prostático (seta branca), vesícula ejaculatória (vej), bulbo prostático (bp), cirro (c) e poro genital (pg).



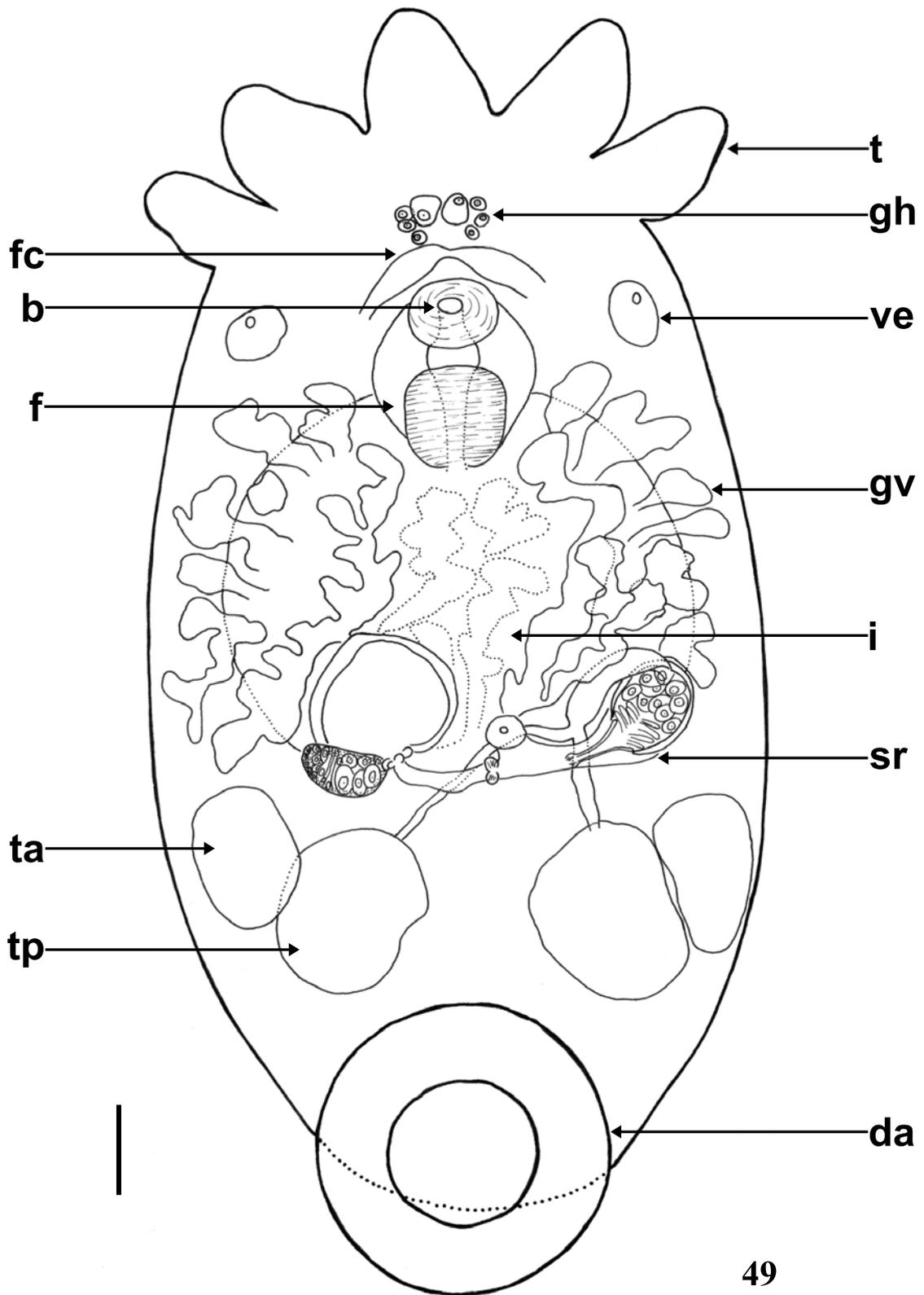
**Figuras 40-43.** Cirro de *Temnocephala iheringi* fotomicrografado com contraste diferencial com prismas de Nomarski (DIC). (40) Cirro inteiro mostrando o limite do *introvert* (cabeça-de-seta) e o reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (41 e 42) *Introvert* parcialmente evertido, em dois diferentes focos, mostrando o reforço no início da inflação (cabeça-de-seta). Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (43) Cirro de um espécime juvenil, onde toda a estrutura é formada quase que completamente pelo *introvert*. Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

**Figura 44.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) do *introvert* de *Temnocephala iheringi*, mostrando o reforço da parede no início da inflação (cabeça-de-seta). Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

**Figuras 45-48.** Sequência de focos do *introvert* de *Temnocephala iheringi* fotomicrografado com contraste diferencial de interferência com prismas de Nomarski (DIC). Barra = 10  $\mu\text{m}$ .

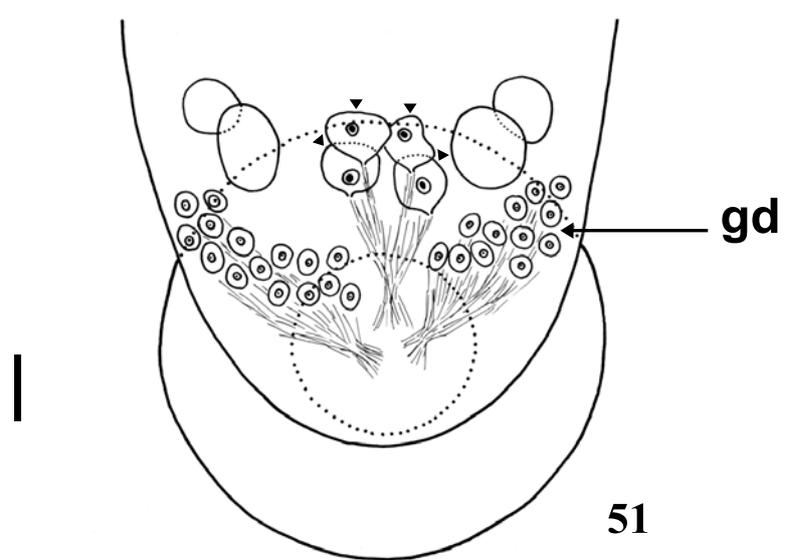
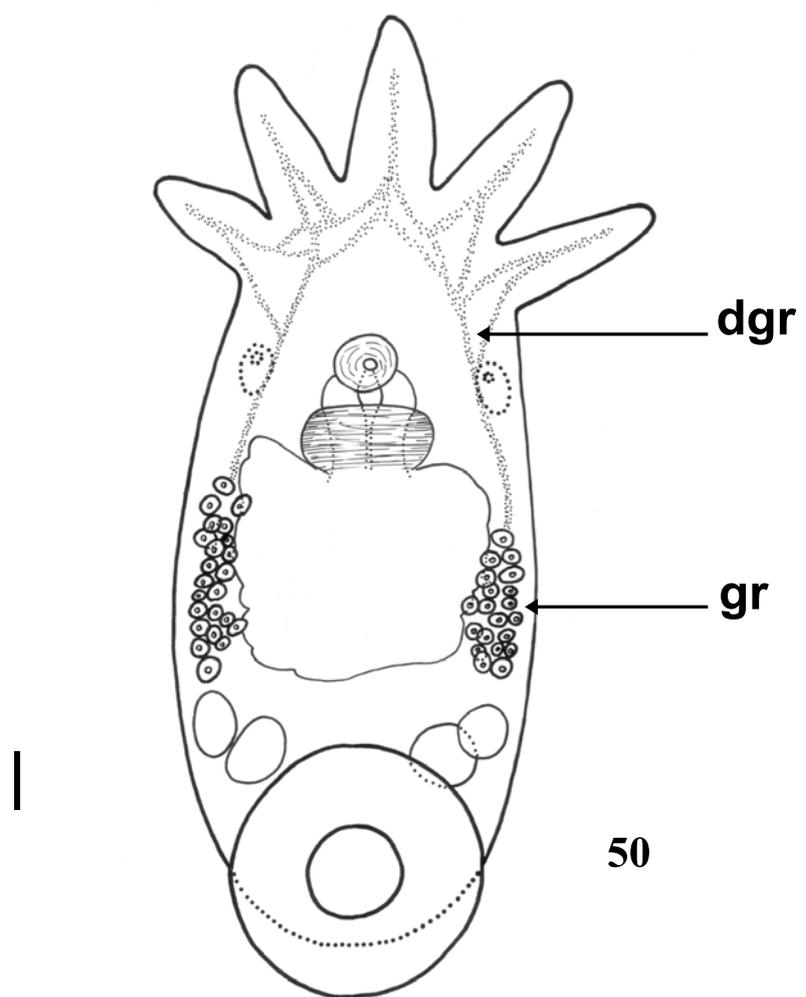


**Figura 49.** Diagrama parcial de um espécime adulto de *Temnocephala iheringi*, vista ventral. Tentáculos (t), glândulas de Haswell (gh), vesículas excretoras (ve), faixa cerebral (fc), boca (b), faringe (f), glândulas vitelogênicas (gv), intestino (i), sistema reprodutor (sr), testículos anteriores (ta), testículos posteriores (tp) e disco adesivo (da). Barra = 250  $\mu\text{m}$ .



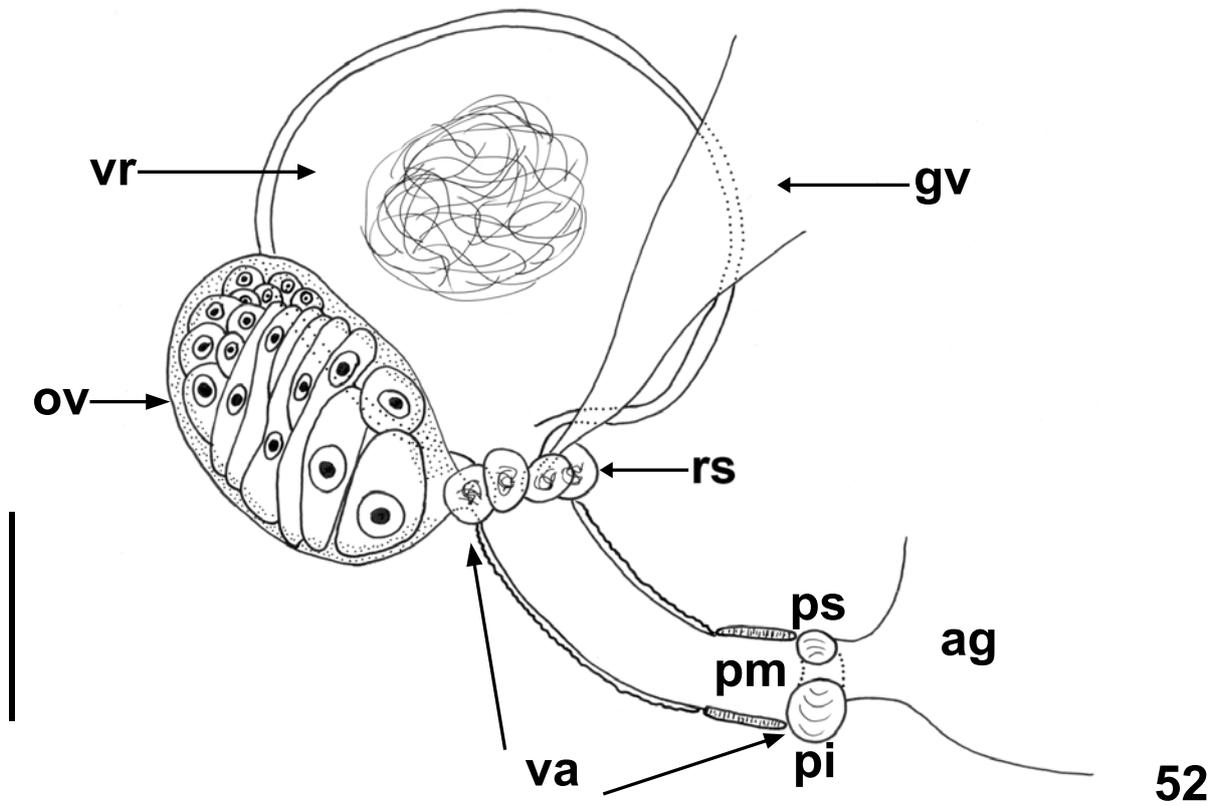
**Figuras 50 e 51.** Diagramas parciais de espécimes juvenis de *Temnocephala iheringi*.

(50) Glândulas rabditogênicas (gr) e seus ductos (dgr) que levam a secreção aos tentáculos. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (51) Glândulas do disco (gd) e os dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) (cabeça-de-seta). Barra = 50  $\mu\text{m}$ .

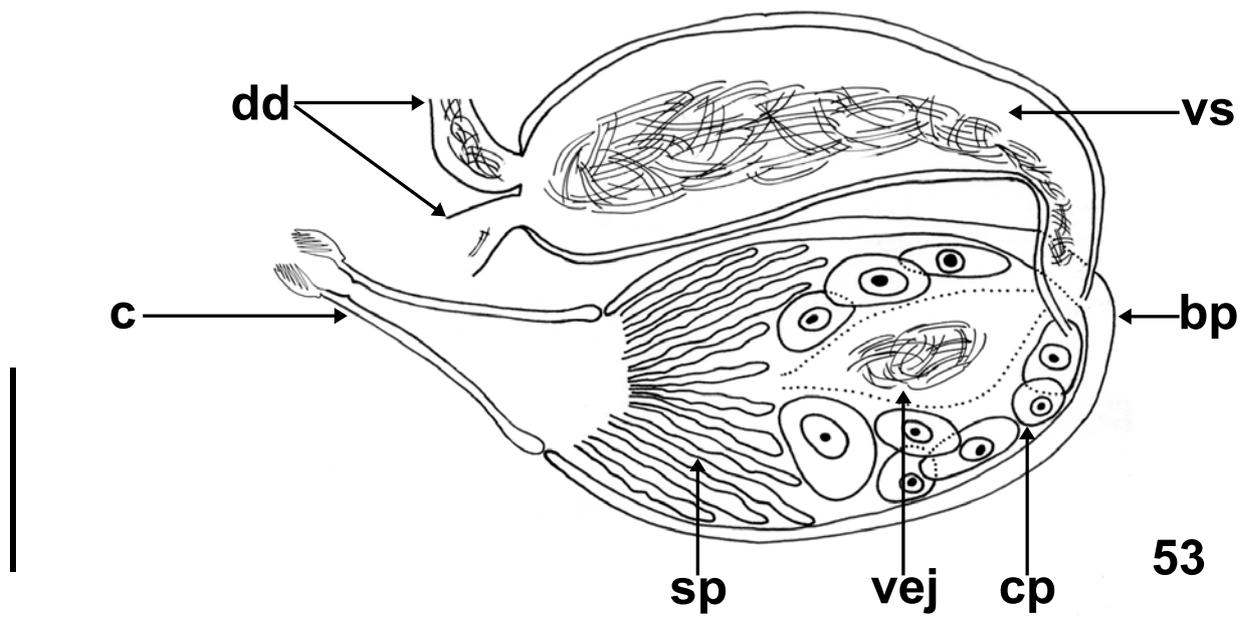


**Figura 52.** Diagrama parcial dos órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala iheringi*. Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), porção muscular da vagina (pm), porção superior do esfíncter da vagina (ps), porção inferior do esfíncter da vagina (pi), átrio genital (ag) e a chegada das glândulas vitelogênicas (gv). Barra = 100 µm.

**Figura 53.** Diagrama parcial dos órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala iheringi*. Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), bulbo prostático (bp), células prostáticas (cp), vesícula ejaculatória (vej), secreções prostáticas (sp) e cirro (c). Barra = 100 µm.

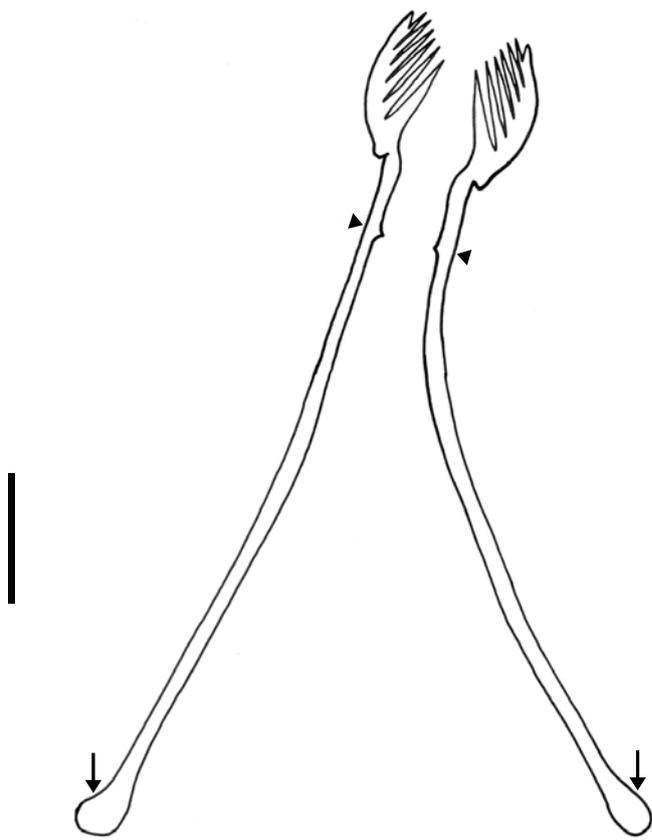


52



53

**Figura 54.** Diagrama do cirro de *Temnocephala iheringi* mostrando o limite do *introvert* (cabeça-de-seta) e o reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. Barra = 25  $\mu$ m.



54

*Temnocephala rochensis* Ponce de León, 1979

(Figuras 12, 15 e 55-88)

DESCRIÇÃO.

Baseada em 58 espécimes fixados em AFA sob leve compressão e montados *in toto* em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá (46 adultos e 12 juvenis); 2 espécimes visualizados em MEV; 5 cirros dissecados e montados em deF; 2 espécimes fixados em NP; 15 espécimes medidos:

**Características externas.**

Tamanho corporal (excluindo os tentáculos) 2231,7-3456,3 (2807, 361) de comprimento, 1106-2528 (1536, 352) de largura; disco adesivo ventral, subterminal, coberto parcialmente pelo corpo, 573-829,5 (689, 89) de comprimento, 513,5-1086 (799, 130) de largura; pedúnculo do disco adesivo, 99-375 (226, 73) de comprimento, 118,5-474 (349, 84) de largura; relação entre o comprimento total do cirro/ diâmetro do disco adesivo 3,51: 1. Pigmento corporal verde escuro presente em adultos e juvenis quando vivos. Pigmento ocelar presente (Fig. 55). Mosaico epidérmico com duas PSDPEs grandes e arredondadas (Figs 68-70), placa esquerda 480-520 (500,  $n = 2$ , 28) de comprimento, 550-750 (650,  $n = 2$ , 141) de largura; placa direita 430-700 (565,  $n = 2$ , 191) de comprimento, 540-560 (550,  $n = 2$ , 14) de largura; relação entre o comprimento da PSDPE /comprimento total do corpo, excluindo os tentáculos, 4,75: 1. Poro excretor (nefridióporo) no centro das PSDPEs (Fig. 70).

**Sistema alimentar.**

Boca circundada por um pequeno esfíncter muscular, entre o primeiro e o segundo terço do corpo (Figs 71 e 83), faringe mais longa do que larga (Figs 71 e 83), 296-513,5 (403, 63) de comprimento, 375-632 (492, 77) de largura, com um forte esfíncter muscular; glândulas esofagianas circundam a base da faringe (Figs 64, 65 e 71); intestino sacular (Fig. 83), sem septos aparentes em adultos e juvenis, paredes intestinais grossas.

**Sistema excretor.**

Vesículas excretoras arredondadas (Fig. 83), ao nível da boca. Poro excretor (nefridióporo) na porção anterior da vesícula, direcionado para a margem do corpo.

**Glândulas.**

Glândulas rabditogênicas pequenas e numerosas com aparência granular, formando cachos (27 células em média) nas laterais do corpo (Figs 64, 65 e 84), 40-85 (57, 12) de diâmetro. Estendem-se ao lado do intestino até os testículos anteriores, ductos (Figs 65 e 84) mais conspícuos em espécimes juvenis clarificados em lactofenol antes do completo desenvolvimento do vitelário. Dois conjuntos de cinco glândulas de Haswell (Figs 75 e 83), com baixa afinidade a corantes, em frente à faixa cerebral transversal (Fig. 83), 55-117,5 (78, 17) de diâmetro da glândula maior. Glândulas esofagianas formando um colar entre a faringe e o intestino (Figs 64, 65 e 71). Glândulas do disco entre o disco adesivo e o sistema reprodutor, formando dois cachos laterais, estendendo-se do nível do testículo posterior até a margem do disco adesivo (Figs 67 e 85), e um cacho central que inclui dois pares de células maiores (paranefrócitos?), arredondadas e centralizadas (Figs 66 e 85), 50-92,5 (63, 10) de diâmetro.

### **Sistema reprodutor.**

Os temnocefalídeos são hermafroditos protândricos e o sistema reprodutor (feminino e masculino) se localiza na região postero-medial do corpo (Fig. 72).

**Feminino.** Poro genital central ao sistema reprodutor (Figs 72 e 73); ovário arredondado (Figs 73 e 86) 155-372,5 (211, 55) de comprimento, 112,5-170 (138, 15) de largura; quatro receptáculos seminais (Figs 73 e 86) 22,5-40 (33, 5) de diâmetro; vitelário arborescente (Fig. 55) envolvendo completamente o intestino na região dorsal e parcialmente, limitando-se às margens do corpo, na região ventral (Fig. 15); átrio genital espaçoso (Fig. 86), vagina longa, estreita, com a porção proximal dilatada formando uma “vesícula intermedia” e a porção distal muito musculosa (Figs 73 e 86), 72,5-195 (128, 28) de comprimento, 52,5-92,5 (75, 11) de largura máxima; esfíncter muscular grande, simétrico (Figs 73 e 86) 67,5-100 (88, 10) de diâmetro total, 25-42,5 (35, 5) de diâmetro da porção superior, 27,5-47,5 (38, 5) de diâmetro da porção inferior; vesícula ‘resorbens’ com parede grossa, geralmente repleta de espermatozóides (Figs 73 e 86), 200-380 (281, 57) de comprimento, 170-350 (261, 52) de largura, 7,5-17,5 (12, 3) de espessura da parede. Ovos pedunculados e sésseis (Figs 58-61), fixados no umbílico, na sutura, na espira e na abertura da concha do hospedeiro (Figs 56 e 57) 400-520 (477,  $n = 9$ , 38) de comprimento, 220-290 (247,  $n = 9$ , 22) de largura; filamento longo, apical (Figs 56,58-60) 70-200 (131,  $n = 8$ , 49) de comprimento; pedúnculo, quando presente, 17,5-77,5 (50,  $n = 7$ , 20) de comprimento; placas operculares apicais (Figs 59 e 60).

**Masculino.** Quatro testículos grandes, arredondados, anteriores e posteriores ocupando o mesmo campo nas margens do corpo, anteriores um pouco menores que os posteriores (Figs 12 e 72), testículo anterior direito 340-640 (425, 84) de comprimento, 220-410 (295, 60) de largura; testículo posterior direito 400-710 (496, 89) de comprimento,

320-560 (425, 73) de largura; testículo anterior esquerdo 340-580 (421, 49) de comprimento, 240-400 (315, 49) de largura; testículo posterior esquerdo 360-710 (498, 86) de comprimento, 290-550 (407, 68) de largura; ductos eferentes, inconspícuos, ligam os testículos anteriores e posteriores em ambos os lados; dos testículos posteriores saem dois ductos deferentes (Figs 74, 75 e 87) que se unem formando uma vesícula seminal curta, com parede muscular muito espessa (Figs 74, 75 e 87), 137,5-337,5 (251, 57) de comprimento, 90-150 (113, 15) de largura, 12,5-27,5 (21, 5) de espessura da parede; bulbo prostático com uma espessa parede muscular (Figs 74, 75 e 87), 152,5-362,5 (240, 48) de comprimento, 100-225 (145, 35) de largura, 12,5-27,5 (16, 4) de espessura da parede; vesícula ejaculatória presente (Figs 74, 75 e 87). Cirro longo, levemente curvo (Figs 74, 75, 77, 78, 87 e 88), 237,5-250 (243,  $n = 5, 6$ ) de comprimento total; *shaft* 197,5-212,5 (204,  $n = 5, 6$ ) de comprimento, 70-100 (84,  $n = 5, 12$ ) de largura da base; *introvert* 35-42,5 (39,  $n = 5, 3$ ) de comprimento, 15-27,5 (20,  $n = 5, 5$ ) de largura da base, 22,5-30 (25,5,  $n = 5, 3$ ) de largura máxima da inflação. *Introvert* com, aproximadamente, 22 fileiras longitudinais de espinhos e 6 espinhos bem curtos e robustos por fileira (Figs 79-82); limite proximal marcado por leve constrição do lúmen do *shaft* que ao microscópio apresenta-se como dois finos espinhos (Figs 78, 79 e 88). Base do *shaft* com bordas mais grossas em espécimes adultos (seu crescimento inicia pela extremidade distal, ou seja, pelo *introvert*) marcando o final do crescimento do cirro (Figs 77 e 88). Relação entre o comprimento total do corpo/ comprimento total do cirro 11,5: 1; relação entre o comprimento total do cirro/ largura máxima da base do *shaft* 2,9: 1; relação entre comprimento total do cirro/ comprimento total do *introvert* 6,2: 1.

**Resenha taxonômica.**

Hospedeiro-tipo: *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (Gastropoda, Ampullariidae).

Local de infestação: Adultos e juvenis na cavidade palial, postura de ovos no umbílico, na sutura, na espira e na abertura da concha.

Localidade-tipo: Laguna Negra, Rocha, Uruguai (PONCE DE LEÓN 1979).

Outras localidades: Fazenda Sossego e Fazenda dos Afogados, Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil; Fazenda da Invernada e Rodovia BR 116 (km 12), Jaguarão, RS, Brasil (presente trabalho).

Espécimes depositados: CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo adulto fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo juvenil fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) cirro de espécime representativo em deF; CHIOC N° X - (SBA xxxx) ovos eclodidos e não eclodidos.

**COMENTÁRIOS.**

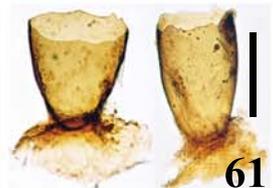
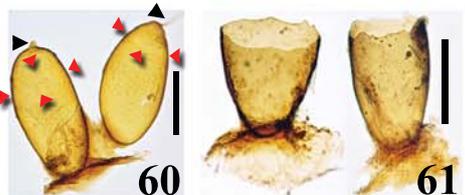
O pigmento ocular em *T. rochensis* não é muito intenso, comparado com o das outras espécies neotropicais, ele perde a intensidade com o tempo quando mantido em formalina 10% fosfato tamponada, técnica conhecida por manter este pigmento. A vagina é peculiar nesta espécie, apesar de curta, apresenta duas partes bem distintas. Possui uma região dilatada logo após os receptáculos seminais, na altura do oótipo, a “vesícula intermedia” e na região distal tem paredes muito musculosas. Este é um dos aspectos do sistema reprodutor mais característico desta espécie (Fig. 73B). O esfíncter vaginal é simétrico mesmo que em alguns espécimes houvesse diferenças no diâmetro entre a porção superior e a porção inferior. A diferença no diâmetro não justifica que seja classificado como assimétrico (média de 34,8 µm de diâmetro superior e 37,8 µm de diâmetro inferior).

Assim como a vagina, os testículos também são característicos, pois além de serem arredondados, são grandes e juntos ocupam um terço do tamanho corporal do helminto. A vesícula seminal apesar de pequena tem uma parede grossa e muscular, muito evidente quando fotomicrografada em contraste de fase (Fig. 75). O cirro possui uma leve curvatura a qual nem sempre é visualizada e depende da posição da estrutura ao ser observada. Quando o cirro é visto lateralmente (Fig. 77) a sua curvatura fica evidente, mas em vista dorsal ou ventral (Fig. 78), o cirro aparenta ser reto. Este simples detalhe na observação pode levar a erros de identificação. As posturas de ovos de *T. rochensis* foram observadas na sutura, espira e umbílico, sendo esta a única espécie, estudada no presente trabalho, onde posturas também foram encontradas na abertura da concha (Figs 56 e 57).

**Figura 55.** Espécimes de *Temnocephala rochensis*, vista dorsal, fixados em formalina 10% fosfato tamponada a 90°C mostrando a variação de formas corporais, fraco pigmento ocelar (cabeça-de-seta) e as glândulas vitelogênicas arborescentes. Barra = 500 µm.

**Figuras 56 e 57.** Postura de ovos de *Temnocephala rochensis* na abertura da concha de *Pomacea canaliculata*. (56) Ovos não eclodidos. (57) Ovos eclodidos.

**Figuras 58-61.** Ovos de *Temnocephala rochensis*. (58-60) Ovos sésseis ou com pedúnculos diminutos, não eclodidos, mostrando a variação de forma, o filamento apical (cabeça-de-seta-preta) e o limite das placas operculares (cabeça-de-seta-vermelha). Barra = 250 µm. (61) Ovos eclodidos. Barra = 250 µm.



**Figuras 62 e 63.** Espécimes de *Temnocephala rochensis* montados *in toto*. Barra = 500  $\mu\text{m}$ . (62) Espécime adulto. (63) Espécime juvenil.

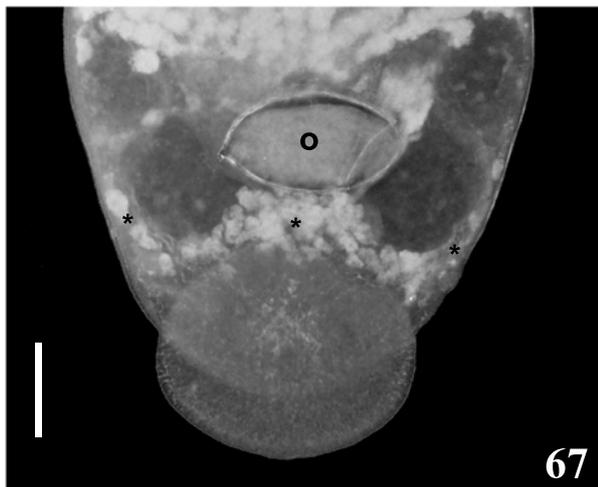
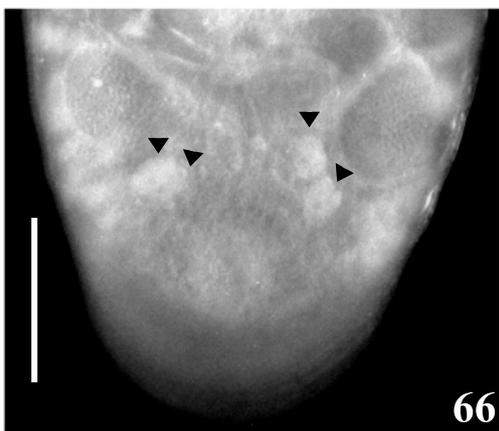
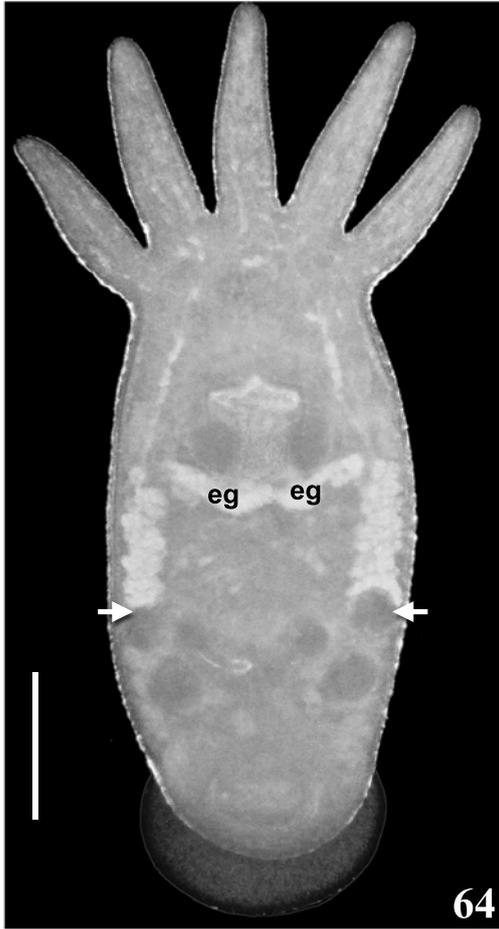


62

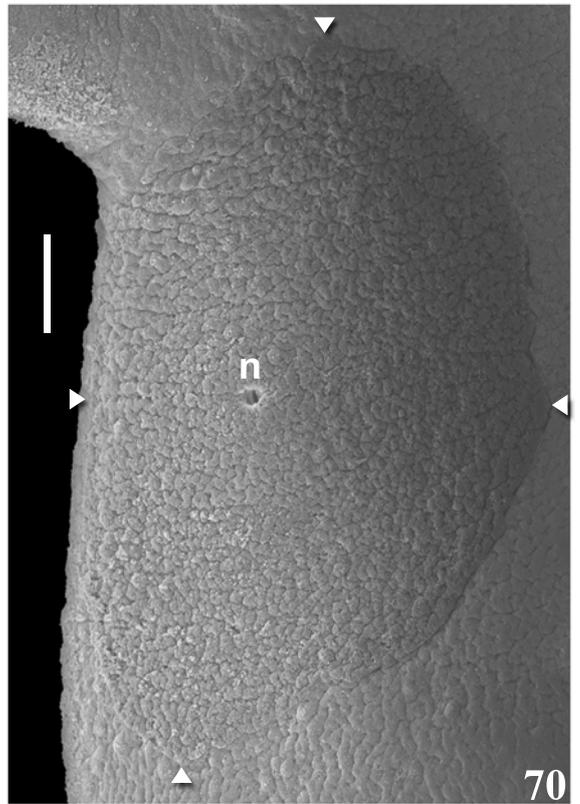
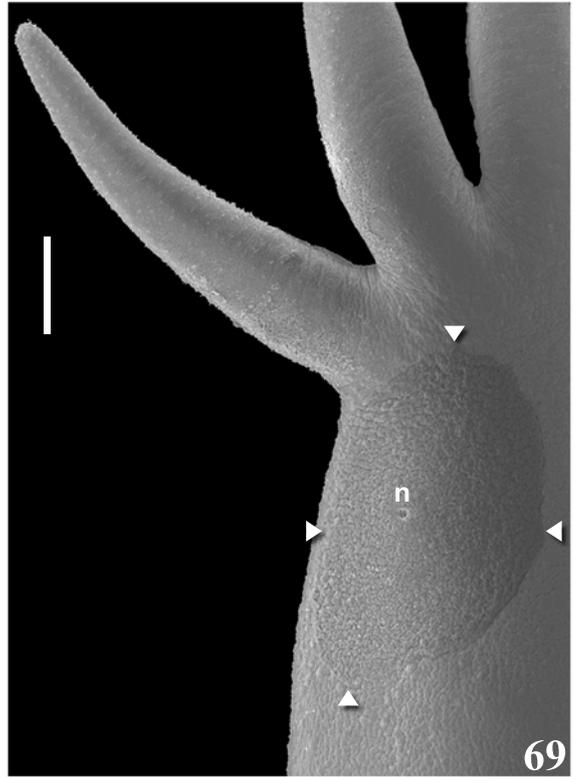


63

**Figuras 64-67.** Distribuição das glândulas em *Temnocephala rochensis*. (64) Limite das glândulas rabditogênicas e do disco (seta) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (65) Glândulas rabditogênicas (seta) e seus ductos (cabeça-de-seta) que levam a secreção aos tentáculos. Barra = 200  $\mu\text{m}$ . (66) Dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) (cabeça-de-seta). Barra = 200  $\mu\text{m}$ . (67) Cachos laterais e central das glândulas do disco (asterisco) e ovo (o) no átrio genital. Barra = 250  $\mu\text{m}$ .



**Figuras 68-70.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das PSDPEs de *Temnocephala rochensis*. (68) Espécime montados *in toto* mostrando os limites das duas PSDPEs (cabeça-de-seta) e o nefridióporo (n). Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (69) PSDPE esquerda e último tentáculo, limite (cabeça de seta) e nefridióporo (n). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (70) Detalhe da PSDPE esquerda, limite (cabeça-de-seta) e nefridióporo (n). Barra = 50  $\mu\text{m}$ .



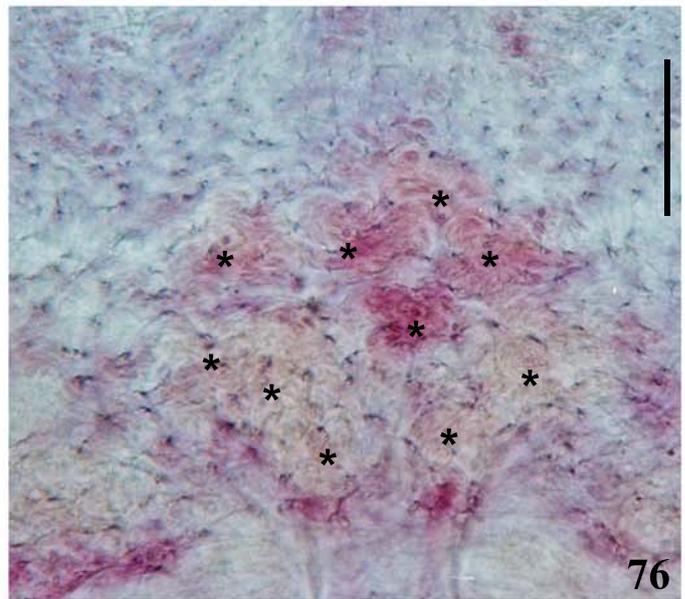
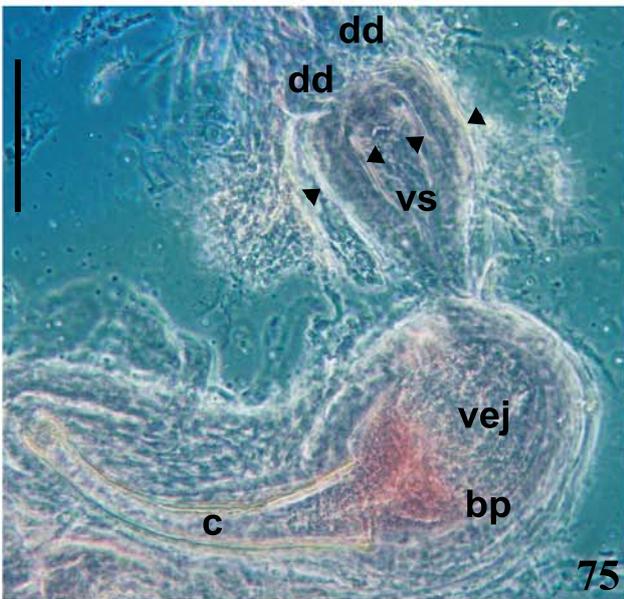
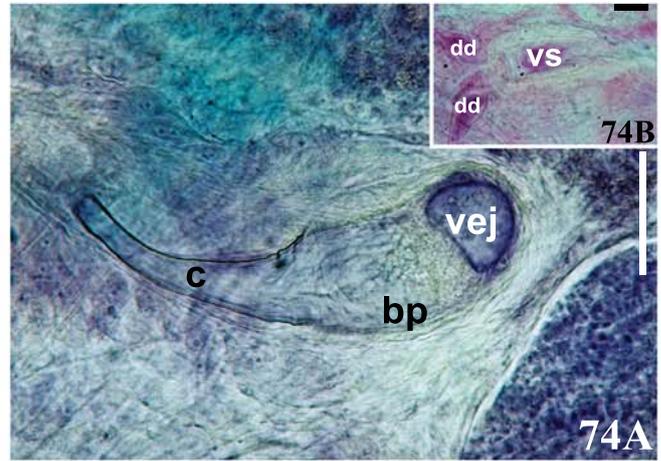
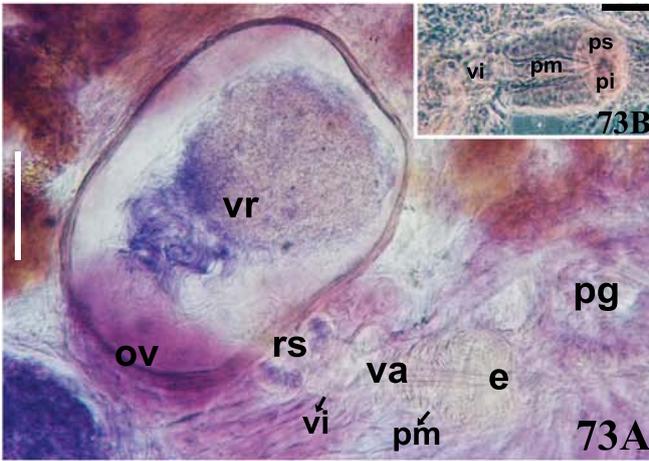
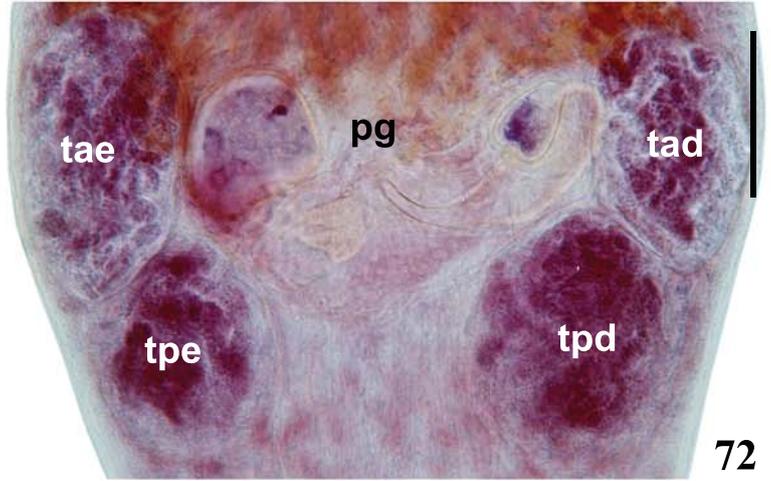
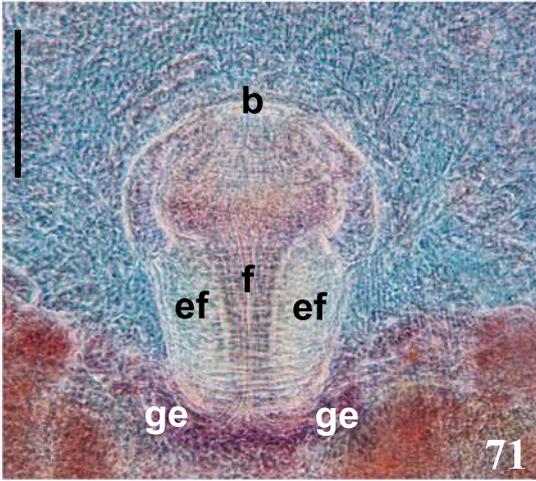
**Figura 71.** Faringe de *Temnocephala rochensis*. Boca (b), faringe (f), esfíncter da faringe (ef) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 250  $\mu\text{m}$ .

**Figura 72.** Sistema reprodutor de *Temnocephala rochensis*. Poro genital (pg), testículo anterior esquerdo (tae), testículo posterior esquerdo (tpe), testículo anterior direito (tad) e testículo posterior direito (tpd). Barra = 250  $\mu\text{m}$ .

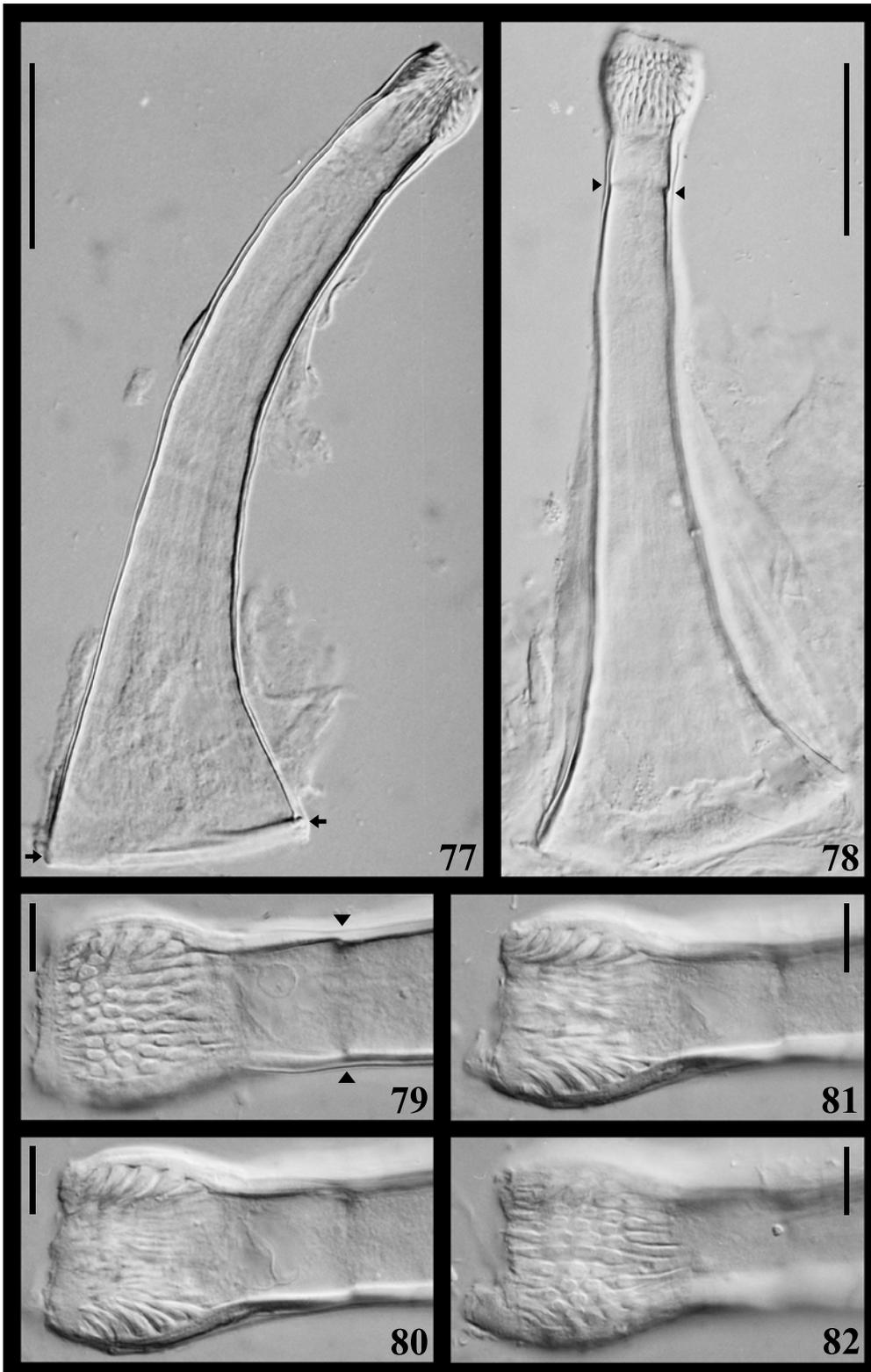
**Figura 73.** Órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala rochensis*. (72A) Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), “vesícula intermedia” (vi), vagina (va), porção muscular da vagina (pm), esfíncter da vagina (e) e poro genital (pg). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (72B) Detalhes da vagina em contraste de fase. “Vesícula intermedia” (vi), porção muscular da vagina (pm), porção superior do esfíncter da vagina (ps) e porção inferior do esfíncter da vagina (pi). Barra = 50  $\mu\text{m}$ .

**Figuras 74 e 75.** Órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala rochensis*. (74A) Vesícula ejaculatória (vej), bulbo prostático (bp) e cirro (c). Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (74B) Ductos deferentes (dd) e vesícula seminal (sm). Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (75) Detalhes em contraste de fase. Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (sm), vesícula ejaculatória (vej), bulbo prostático (bp) e cirro (c). Barra = 100  $\mu\text{m}$ .

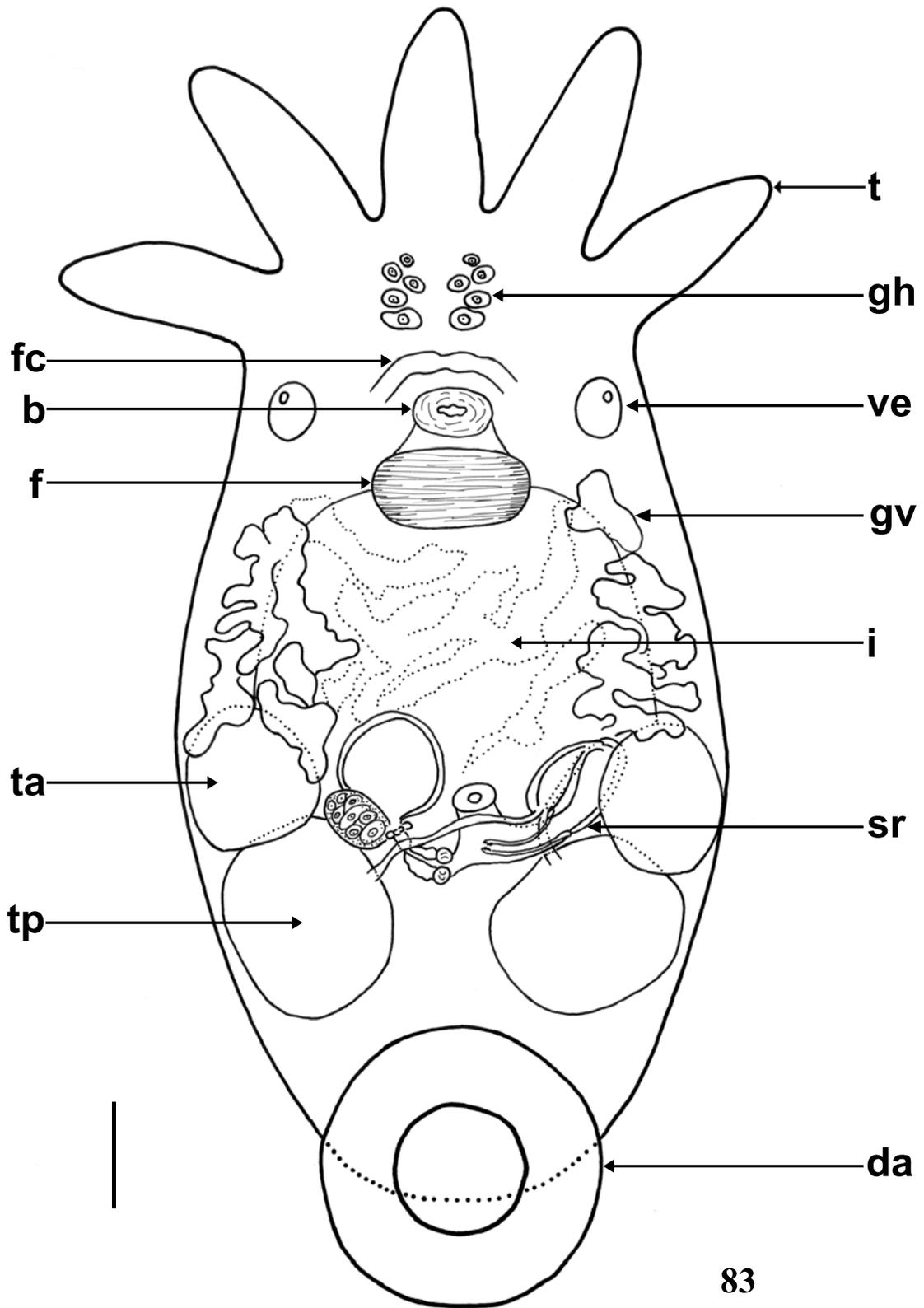
**Figura 76.** Glândulas de Haswell de *Temnocephala rochensis*. Dois conjuntos de cinco células cada (asterisco). Barra = 100  $\mu\text{m}$ .



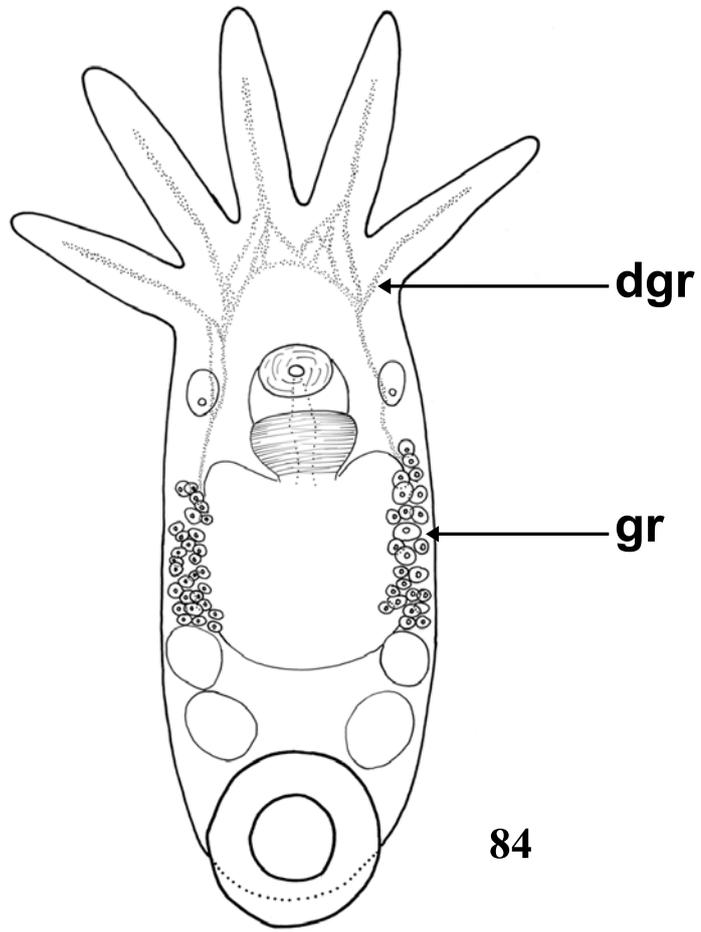
**Figuras 77-82.** Cirro de *Temnocephala rochensis* fotomicrografado com contraste diferencial com prismas de Nomarski (DIC). (77 e 78) Cirros inteiros em duas diferentes vistas. Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (77) Vista lateral mostrando leve curvatura. Reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. (78) Vista dorsal ou ventral onde a curvatura do cirro não é visualizada. Limite do *introvert* (cabeça-de-seta). (79-82) Sequência de focos do *introvert*. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (79) Limite do *introvert* (cabeça-de-seta).



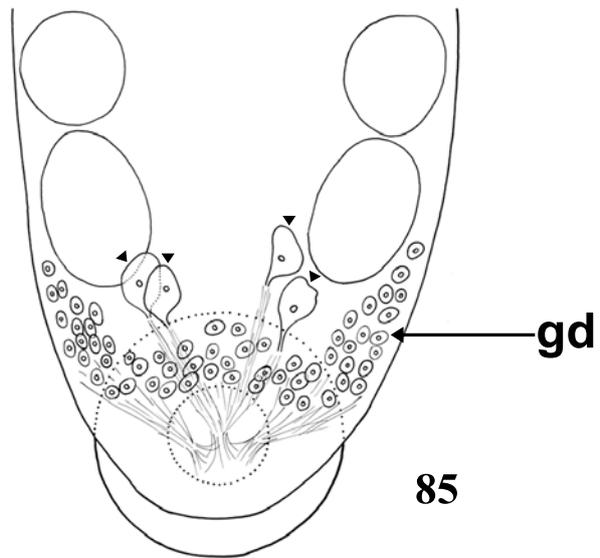
**Figura 83.** Diagrama parcial de um espécime adulto de *Temnocephala rochensis*, vista ventral. Tentáculos (t), glândulas de Haswell (gh), vesículas excretoras (ve), faixa cerebral (fc), boca (b), faringe (f), glândulas vitelogênicas (gv), intestino (i), sistema reprodutor (sr), testículos anteriores (ta), testículos posteriores (tp) e disco adesivo (da). Barra = 250 µm.



**Figuras 84 e 85.** Diagramas parciais de espécimes juvenis de *Temnocephala rochensis*. Barra = 100  $\mu\text{m}$ . (84) Glândulas rabditogênicas (gr) e seus ductos (dgr) que levam a secreção aos tentáculos. (85) Glândulas do disco (gd) e os dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) (cabeça-de-seta).



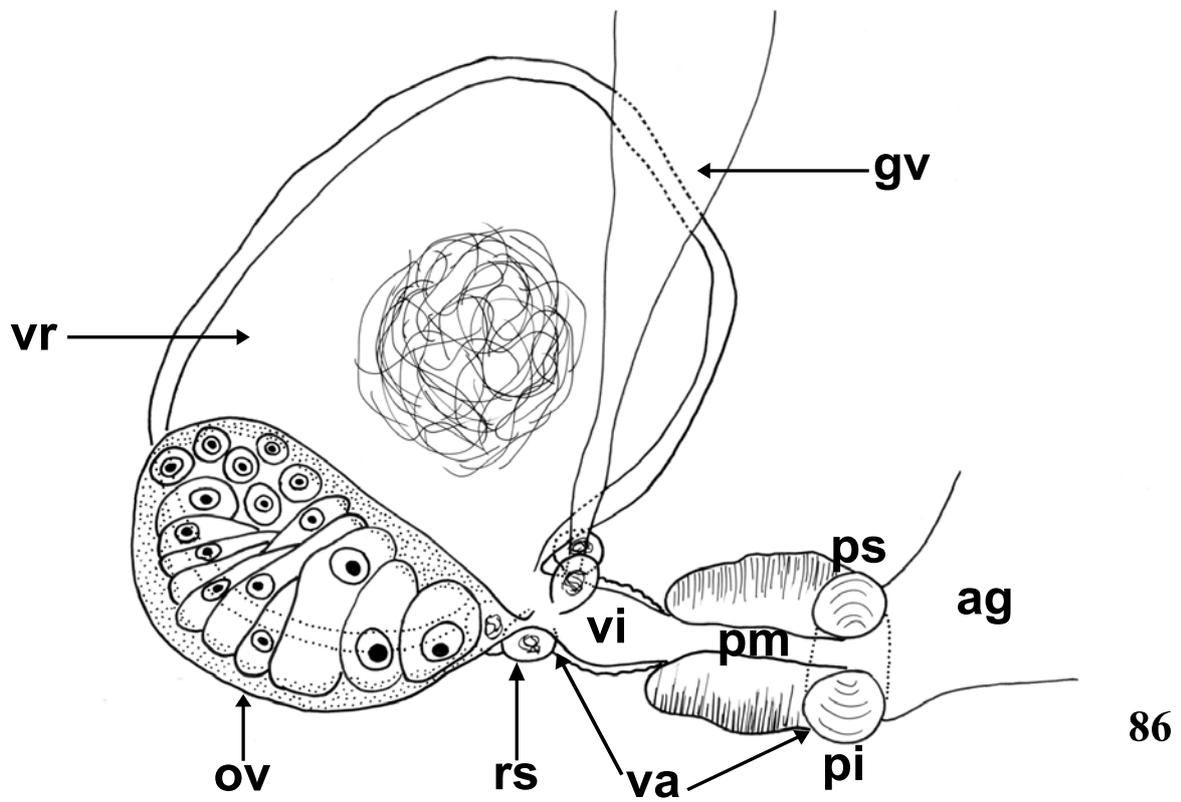
84



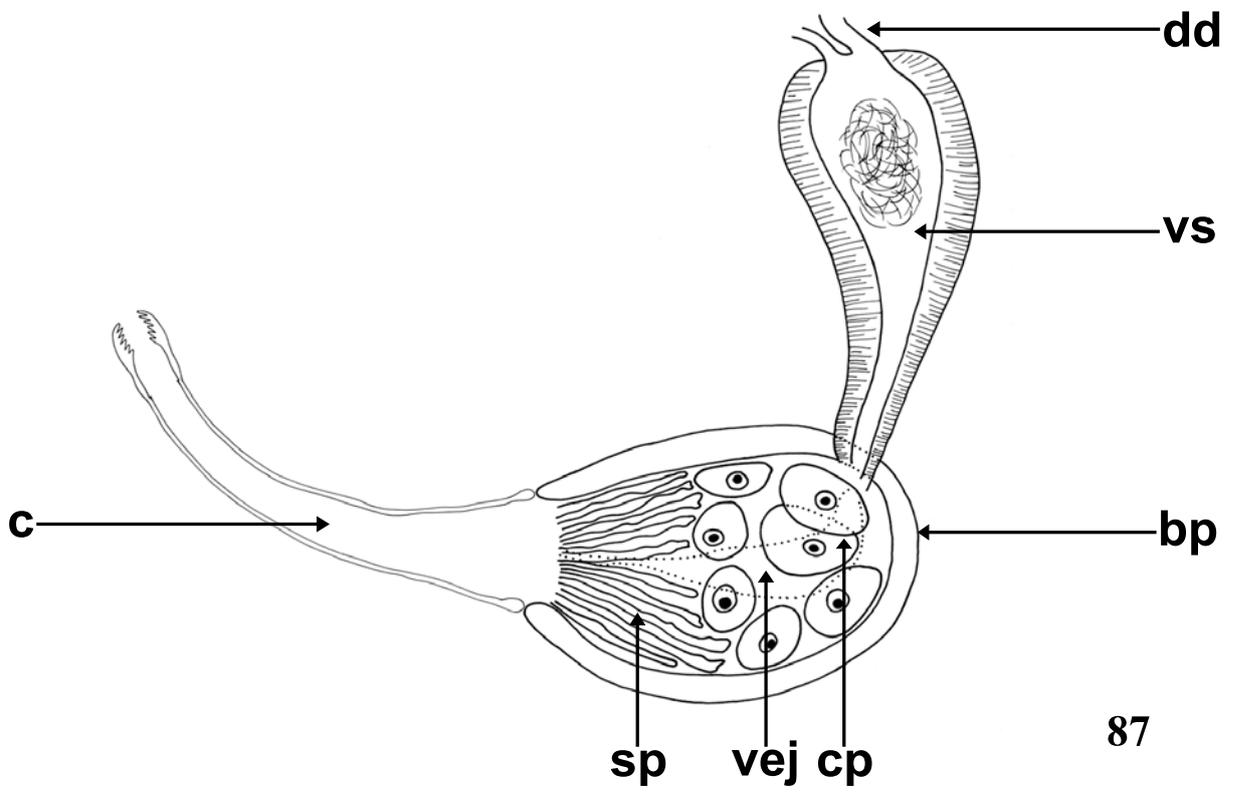
85

**Figura 86.** Diagrama parcial dos órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala rochensis*. Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), “vesicula intermedia” (vi), porção muscular da vagina (pm), porção superior do esfíncter da vagina (ps), porção inferior do esfíncter da vagina (pi), átrio genital (ag) e a chegada das glândulas vitelogênicas (gv). Barra = 50 µm.

**Figura 87.** Diagrama parcial dos órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala rochensis*. Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), bulbo prostático (bp), células prostáticas (cp), vesícula ejaculatória (vej), secreções prostáticas (sp) e cirro (c). Barra = 50 µm.

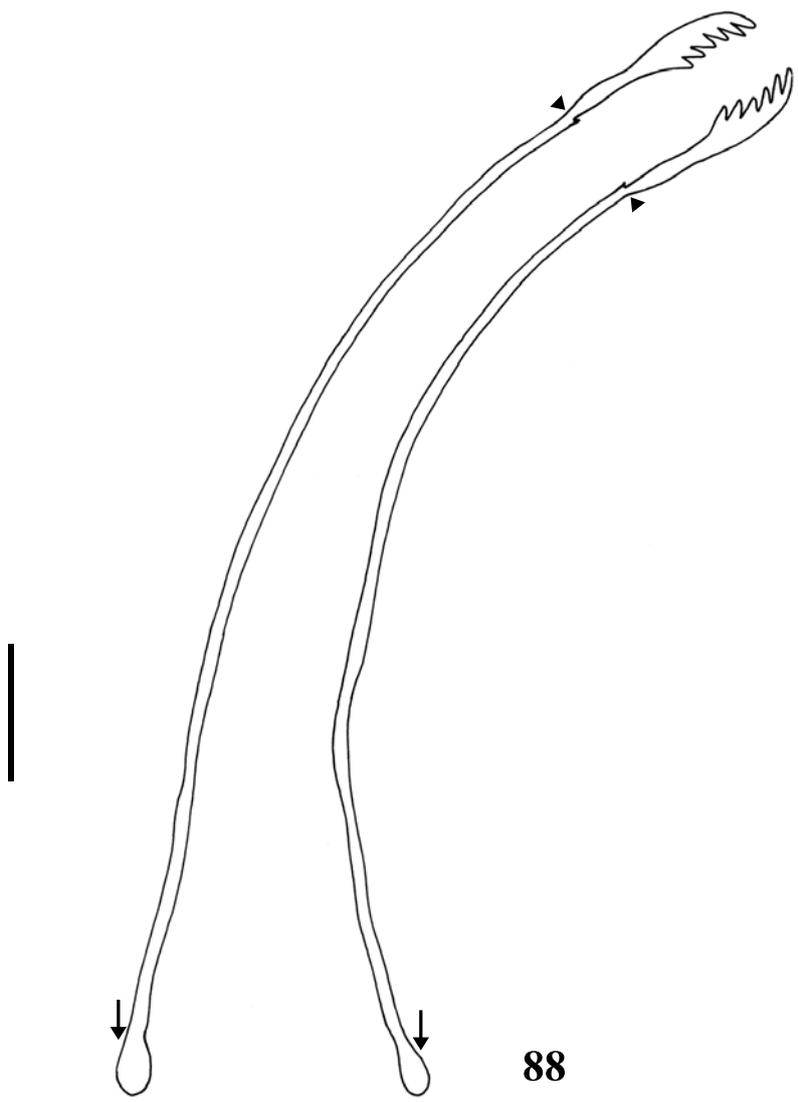


86



87

**Figura 88.** Diagrama do cirro de *Temnocephala rochensis* mostrando o limite do *introvert* (cabeça-de-seta) e o reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. Barra = 25  $\mu\text{m}$ .



88

*Temnocephala haswelli* Ponce de León, 1989

(Figuras 11, 14 e 89-120)

DESCRIÇÃO.

Baseada em 218 espécimes fixados em AFA sob leve compressão e montados *in toto* em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá (144 adultos e 74 juvenis); 6 espécimes visualizados em MEV; 15 cirros dissecados e montados em deF; 12 espécimes fixados em NP; 30 espécimes medidos:

**Características externas.**

Tamanho corporal (excluindo os tentáculos) 1461,5-3476 (2173, 462) de comprimento, 987,5-1935,5 (1329, 224) de largura; disco adesivo ventral, subterminal, coberto parcialmente pelo corpo, 350-940 (546, 115) de comprimento, 470-1150 (677, 153) de largura; pedúnculo do disco adesivo, 100-350 (177,  $n = 26$ , 55) de comprimento, 190-450 (308, 80) de largura; relação entre o comprimento total do cirro/ diâmetro do disco adesivo 3,15: 1. Pigmento corporal ausente (Fig. 91) ou levemente alaranjado (Fig. 92) em adultos e juvenis quando vivos. Pigmento ocelar presente (Figs 91 e 92). Mosaico epidérmico com duas PSDPEs arredondadas, mais largas do que longas (Figs 99, 101 e 102), margem externa da placa na região ventrolateral do corpo (Fig. 100), placa esquerda 150-340 (263,  $n = 12$ , 49) de comprimento, 170-300 (254,  $n = 12$ , 38) de largura; placa direita 180-360 (254,  $n = 12$ , 58) de comprimento, 190-330 (255,  $n = 12$ , 48) de largura; relação entre o comprimento da PSDPE /comprimento total do corpo, excluindo os tentáculos, 5,35:

1. Poro excretor (nefridióporo) central, às vezes deslocado mais acima, às PSDPEs (Fig. 102).

### **Sistema alimentar.**

Boca circundada por um pequeno esfíncter muscular, entre o primeiro e o segundo terço do corpo (Figs 103 e 115), faringe mais larga do que longa (Figs 103 e 115), 257-573 (382, 156) de comprimento, 237-652 (445, 143) de largura, com um forte esfíncter muscular; glândulas esofagianas circundam a base da faringe (Figs 97 e 103); intestino sacular (Fig. 115), sem septos aparentes em adultos e juvenis, paredes intestinais grossas.

### **Sistema excretor.**

Vesículas excretoras arredondadas (Fig. 115), ao nível da boca. Poro excretor (nefridióporo) na porção anterior da vesícula, direcionado para a margem do corpo.

### **Glândulas.**

Glândulas rabditogênicas pequenas e numerosas com aparência granular, formando cachos (18 células em média) nas laterais do corpo (Figs 97 e 116), 37,5-80 (51, 10) de diâmetro. Estendem-se ao lado do intestino até os testículos anteriores, ductos (Figs 97 e 116) mais conspícuos em espécimes juvenis clarificados em lactofenol antes do completo desenvolvimento do vitelário. Dois conjuntos de três glândulas de Haswell (Fig. 115), com baixa afinidade a corantes, em frente à faixa cerebral transversal (Fig. 115), 50-132,5 (74,  $n = 29$ , 17) de diâmetro da glândula maior. Glândulas esofagianas formando um colar entre a faringe e o intestino (Figs 97 e 103). Glândulas do disco entre o disco adesivo e o sistema reprodutor, formando dois cachos laterais, estendendo-se do nível do testículo posterior até

a margem do disco adesivo (Fig. 117), e um cacho central que inclui dois pares de células maiores (paranefrócitos?), arredondadas e centralizadas (Figs 98 e 117), 37,5-87,5 (55, 12) de diâmetro.

### **Sistema reprodutor.**

Os temnocefalídeos são hermafroditos protândricos e o sistema reprodutor (feminino e masculino) se localiza na região postero-medial do corpo (Fig. 104).

**Feminino.** Poro genital central ao sistema reprodutor (Figs 104 e 105); ovário arredondado (Figs 105, 106 e 118) 80-190 (121, 25) de comprimento, 90-240 (153, 42) de largura; quatro receptáculos seminais (Figs 105, 106 e 118) 20-40 (30,  $n = 28$ , 5) de diâmetro; vitelário arborescente (Fig. 92) envolvendo completamente o intestino na região dorsal e parcialmente, limitando-se às margens do corpo, na região ventral (Fig. 14); átrio genital espaçoso (Figs 105 e 118), vagina curta, larga, pouco musculosa e com parede grossa (Figs 105, 106 e 118), 40-120 (85, 17) de comprimento, 40-100 (71, 15) de largura máxima; esfíncter muscular grande, assimétrico (Figs 105, 106 e 118) 65-107,5 (86, 11) de diâmetro total, 25-40 (30, 4) de diâmetro da porção superior, 27,5-55 (39, 7) de diâmetro da porção inferior; vesícula 'resorbens' (Figs 105, 106 e 118) com parede grossa, geralmente repleta de espermatozóides, 140-400 (227, 60) de comprimento, 150-320 (234, 51) de largura, 2,5-22,5 (8, 5) de espessura da parede. Ovos sésseis ou com pedúnculos diminutos (Figs 93 e 94), fixados no umbílico, na sutura e na espira, algumas vezes em maior quantidade na última volta da concha do hospedeiro (Figs 89 e 90), 360-430 (400,  $n = 10$ , 21) de comprimento, 170-200 (189,  $n = 10$ , 10) de largura; filamento longo, subapical (Fig. 93) 50-140 (97,  $n = 10$ , 32) de comprimento; pedúnculo, quando presente, 37,5-72,5 (53,  $n = 3$ , 18) de comprimento; placas operculares apicais (Fig. 93).

**Masculino.** Quatro testículos ovais, anteriores e posteriores ocupando o mesmo campo nas margens do corpo, anteriores menores que os posteriores (Figs 11, 104 e 115), testículo anterior direito 190-470 (278, 68) de comprimento, 130-310 (195, 45) de largura; testículo posterior direito 240-550 (361, 76) de comprimento, 200-520 (324, 76) de largura; testículo anterior esquerdo 170-470 (269, 81) de comprimento, 140-330 (201, 45) de largura; testículo posterior esquerdo 220-570 (351, 16) de comprimento, 210-420 (290, 24) de largura; ductos eferentes, inconspícuos, ligam os testículos anteriores e posteriores em ambos os lados; dos testículos posteriores saem dois ductos deferentes (Figs 107 e 119) que se unem formando uma vesícula seminal curta, larga, com parede fina (Figs 107, 108 e 119), 122,5-287,5 (204, 25) de comprimento, 60-120 (86, 25) de largura, 5-17,5 (10, 4) de espessura da parede; bulbo prostático com parede muscular (Figs 107, 108 e 119), 115-267,5 (180, 25) de comprimento, 87,5-217,5 (151, 25) de largura, 5-22,5 (11, 4) de espessura da parede; vesícula ejaculatória presente (Figs 107, 108 e 119). Cirro curto, curvo (curvatura de aproximadamente 90°) (Figs 107, 108, 110, 119 e 120), 197,5-230 (215,  $n = 10$ , 12) de comprimento total; *shaft* 140-185 (163,  $n = 10$ , 14) de comprimento, 105-145 (122,  $n = 10$ , 12) de largura da base; *introvert* 45-57,5 (52,  $n = 10$ , 4) de comprimento, 20-22,5 (21,  $n = 10$ , 1) de largura da base, 25-32,5 (27,  $n = 10$ , 2) de largura máxima da inflação. *Introvert* com, aproximadamente, 18 fileiras longitudinais de espinhos e 4 espinhos longos e robustos por fileira (Figs 111-114), primeira fileira longitudinal com espinhos mais curtos (Fig. 111); limite proximal marcado por leve constrição do lúmen do *shaft* que ao microscópio apresenta-se como dois finos espinhos (Figs 109, 114 e 120). Base do *shaft* com bordas mais grossas em espécimes adultos (seu crescimento inicia pela extremidade distal, ou seja, pelo *introvert*) marcando o final do crescimento do cirro (Fig. 109). Relação entre o comprimento total do corpo/ comprimento total do cirro 10: 1;

relação entre o comprimento total do cirro/ largura máxima da base do *shaft* 1,7: 1; relação entre comprimento total do cirro/ comprimento total do *introvert* 4,1: 1.

### **Resenha taxonômica.**

Hospedeiro-tipo: *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (Gastropoda, Ampullariidae).

Local de infestação: Adultos e juvenis na cavidade palial, postura de ovos no umbílico, na sutura e na espira, algumas vezes em maior quantidade na última volta da concha do hospedeiro.

Localidade-tipo: Canelón Chico, Canelones, Uruguai (PONCE DE LEÓN 1989).

Outras localidades: Parque Marinha do Brasil, Ilha da Pintada e Sava Clube, Porto Alegre, RS, Brasil; Ponta do Cirola, Barra do Ribeiro, RS, Brasil; Praia Florida, Guaíba, RS, Brasil; Arrozeira, Eldorado do Sul, RS, Brasil; Distrito de Barra do Ouro, Maquiné, RS, Brasil (presente trabalho).

Espécimes depositados: CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo adulto fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) espécime representativo juvenil fixado em AFA; CHIOC N° X - (SBA xxxx) cirro de espécime representativo em deF; CHIOC N° X - (SBA xxxx) ovos eclodidos e não eclodidos.

### **COMENTÁRIOS.**

Como a maioria das espécies neotropicais, *T. haswelli* possui pigmento ocelar, mas nesta espécie o pigmento é intenso e conspícuo (Figs 91B e 92). As PSDPEs apresentaram uma variação intra-específica de forma. A PSDPE é arredondada e uma de suas margens fica na região ventrolateral do corpo do helminto, mas enquanto algumas são mais arredondas

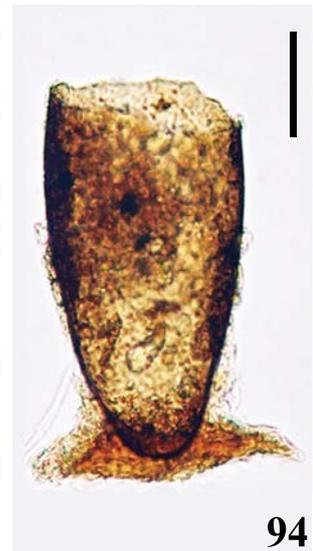
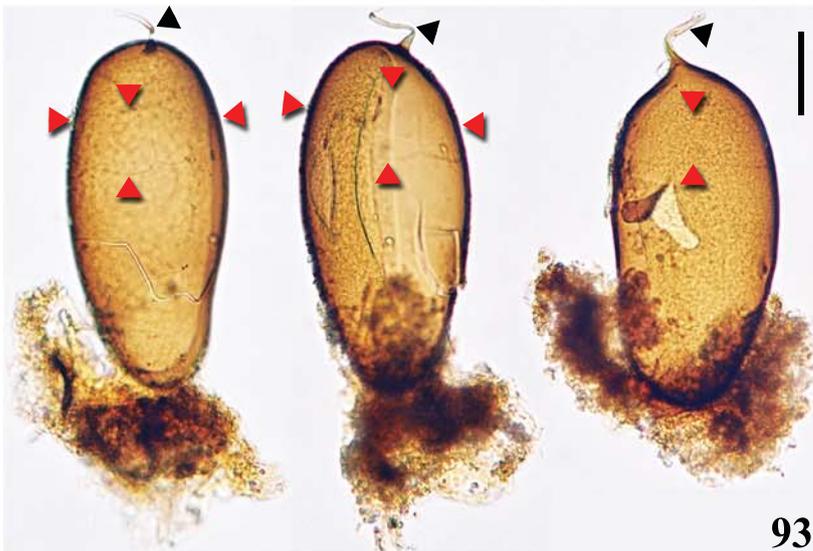
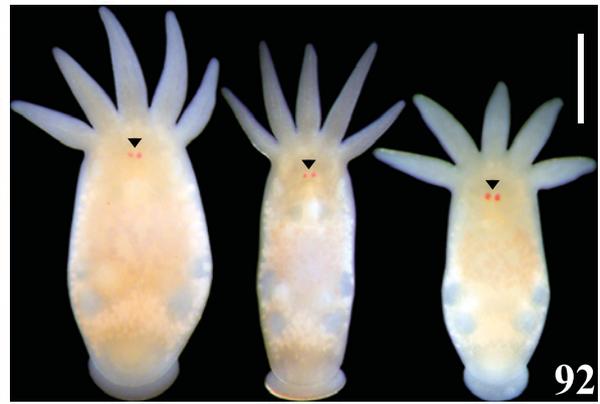
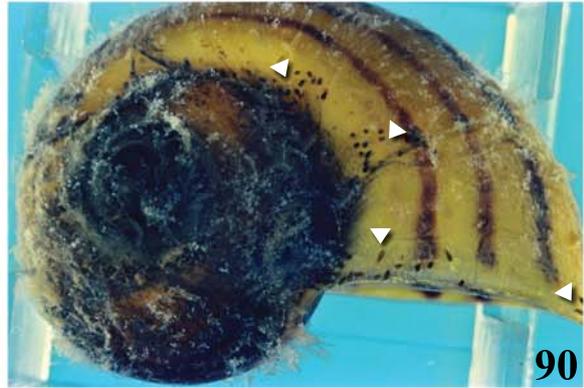
(Fig. 102) outras assumem um formato trapezoidal, com margens menos arredondadas (Fig. 101). O poro excretor, ou nefridióporo, que nessa espécie não é central, está deslocado para parte anterior da placa (Fig. 102). A vagina tem paredes grossas, mas não muscular, e há um maior espessamento na região mais próxima do esfíncter (Fig. 118). Os órgãos femininos do sistema reprodutor desta espécie praticamente não coram com hematoxilina de Delafield, as medidas e fotomicrografias foram feitas em espécimes corados com Carmim acético\ Fast green que evidenciou estes órgãos, diferenciando-os do parênquima (Figs 105 e 106). O esfíncter da vagina é de difícil classificação, pois em alguns espécimes, ele é simétrico, mas na grande maioria dos espécimes estudados, o diâmetro da porção superior é maior (média de 30  $\mu\text{m}$  na porção superior e 39,5  $\mu\text{m}$  na inferior) e este caráter teve uma variação grande dentro da amostra (25  $\mu\text{m}$  - 40  $\mu\text{m}$ ) justificando a classificação de assimétrico. Quase todos os ovos observados eram sésseis, alguns apresentavam pedúnculos diminutos. O cirro apresentou algumas variações intra-específicas importantes, tanto na curvatura como na largura da base que apresentou grande variação (70-100  $\mu\text{m}$ ). Para uma análise correta das diferenças na curvatura necessitaria um estudo morfométrico mais detalhado deste caráter. O tamanho dos espinhos no *introvert* de *T. haswelli* não é uniforme, esta espécie apresenta a primeira fileira com espinhos menores do que o restante da estrutura (Fig. 111).

**Figuras 89 e 90.** Postura de ovos de *Temnocephala haswelli* em concha de *Pomacea canaliculata*. (89) Postura de ovos (cabeça-de-seta) no umbílico e no lábio externo. (90) Postura de ovos ao longo da sutura e das linhas de crescimento (cabeça-de-seta).

**Figura 91.** Espécime de *Temnocephala haswelli* vivo. (91A) Espécime sobre as partes moles do molusco. (91B) Espécime em maior detalhe mostrando o pigmento ocelar conspícuo (cabeça-de-seta).

**Figura 92.** Espécimes de *Temnocephala haswelli*, vista dorsal, fixados em formalina 10% fosfato tamponada a 90°C mostrando a variação de forma, o pigmento ocelar (cabeça-de-seta) e o pigmento corporal levemente alaranjado. Barra = 500 µm.

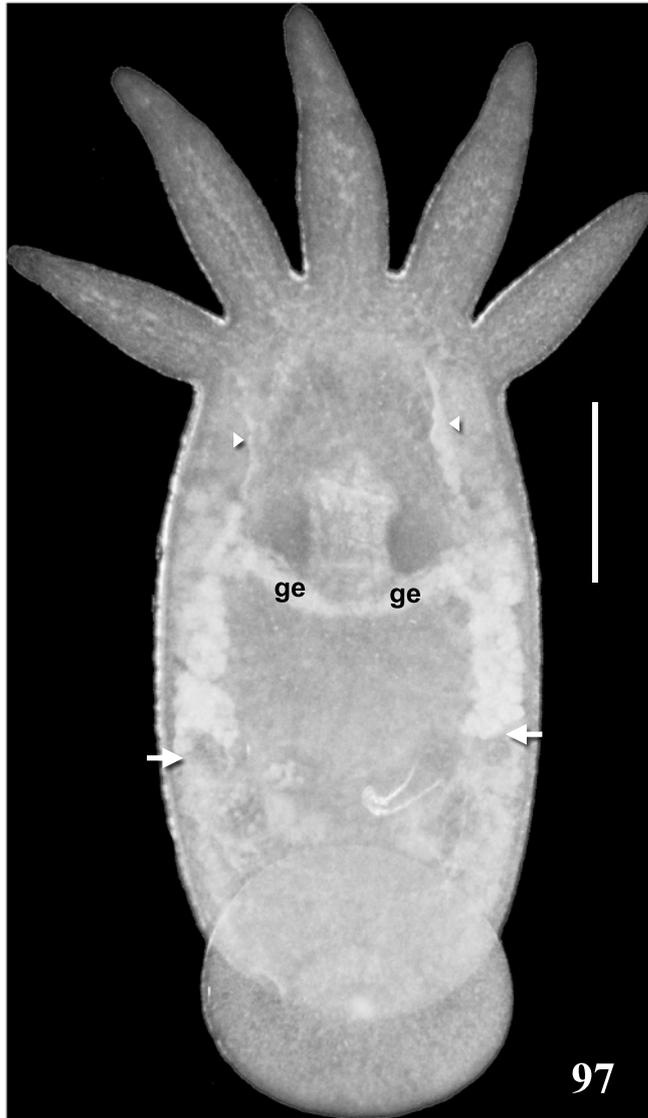
**Figuras 93 e 94.** Ovos de *Temnocephala haswelli*. (92) Ovos não eclodidos, sésseis, mostrando o filamento subapical (cabeça-de-seta-preta) e o limite das placas operculares (cabeça-de-seta-vermelha). Barra = 100 µm. (93) Ovo sésil eclodido. Barra = 250 µm.



**Figuras 95 e 96.** Espécimes de *Temnocephala haswelli* montados *in toto*. Barra = 500  $\mu\text{m}$ . (95) Espécime adulto. (96) Espécime juvenil.



**Figuras 97 e 98.** Distribuição das glândulas em *Temnocephala haswelli*. (97) Limite das glândulas rabditogênicas e do disco (seta branca), ducto das glândulas rabditogênicas (cabeça-de-seta) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 250  $\mu$ m. (98) Dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrécitos?) (cabeça-de-seta-preta). Barra = 250  $\mu$ m.

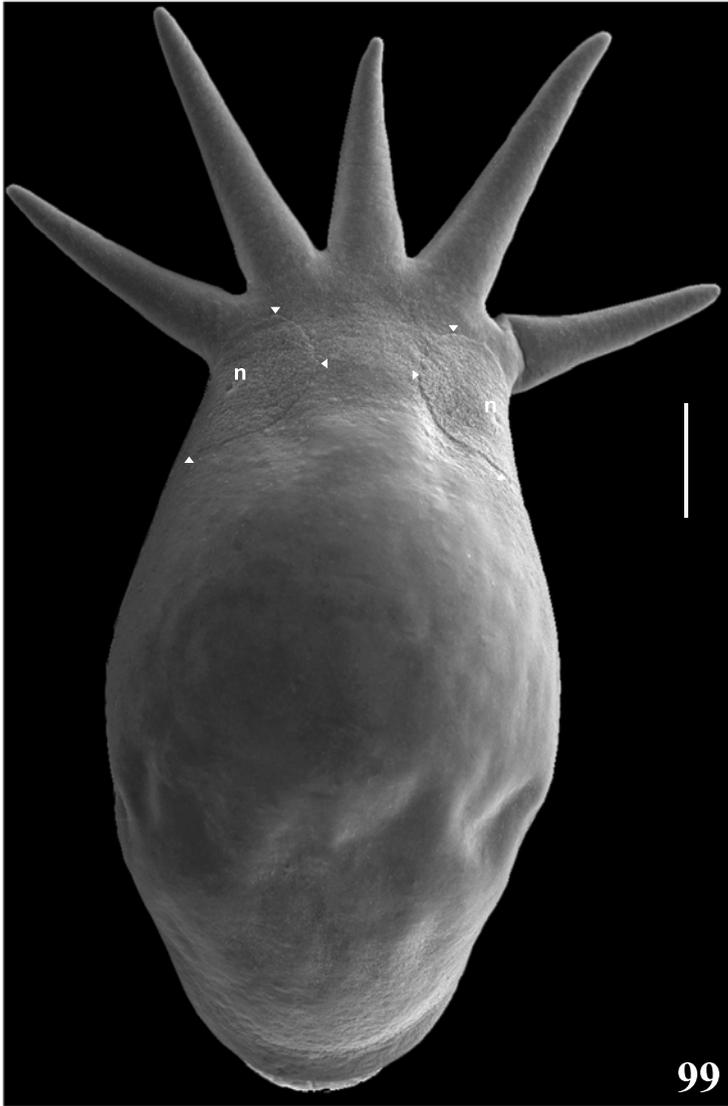


97

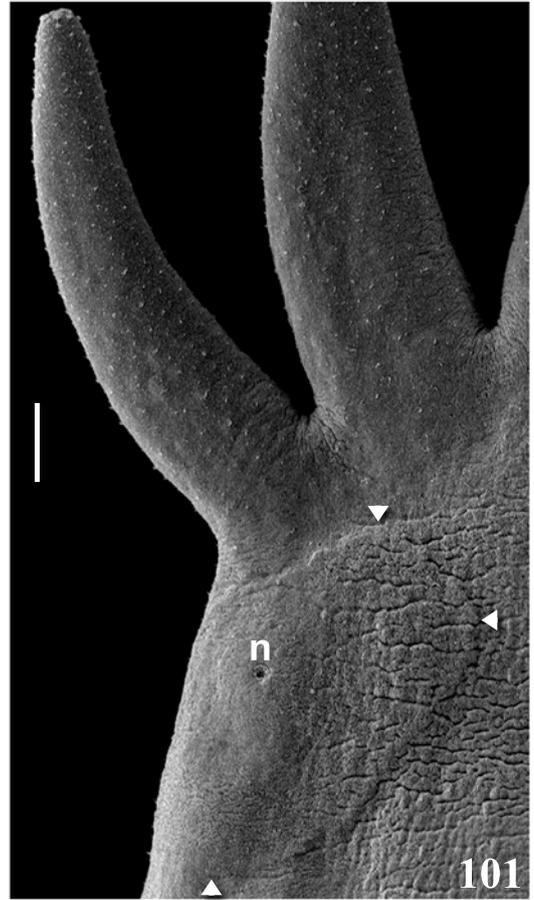


98

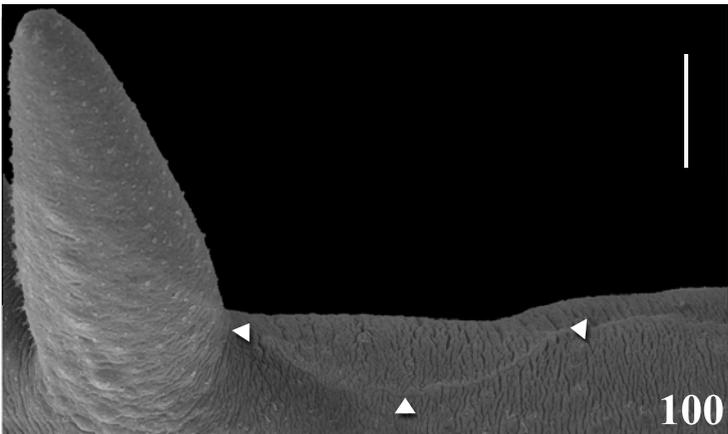
**Figuras 99-102.** Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das PSDPEs de *Temnocephala haswelli*. (99) Espécime montado *in toto* mostrando os limites das duas PSDPEs (cabeça-de-seta) e o nefridióporo (n). Barra = 250  $\mu\text{m}$ . (100) Espécime em vista lateral mostrando o limite ventrolateral (cabeça-de-seta) da PSDPE. Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (101) PSDPE esquerda e último tentáculo, limite (cabeça-de-seta) e nefridióporo (n). Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (102) Detalhe da PSDPE esquerda, limite (cabeça-de-seta) e nefridióporo (n). Barra = 50  $\mu\text{m}$ .



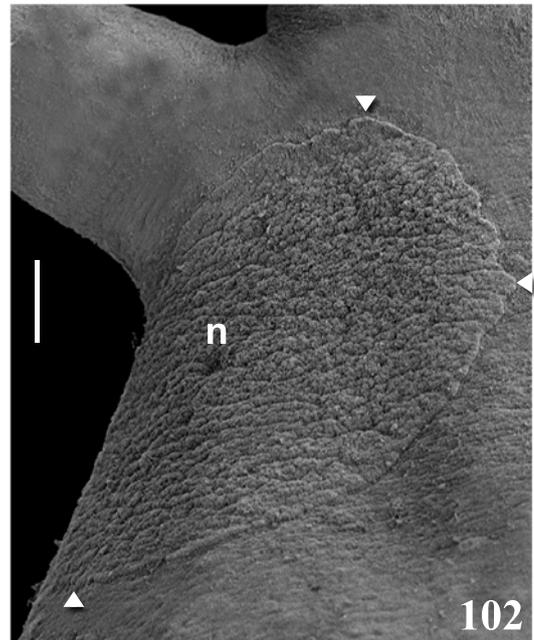
99



101



100



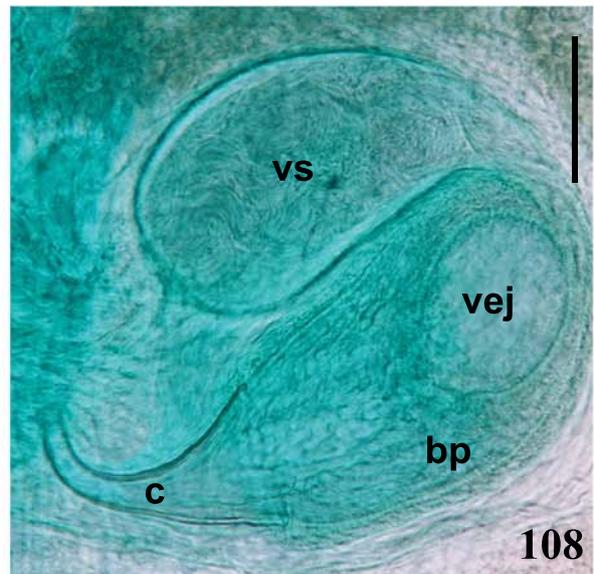
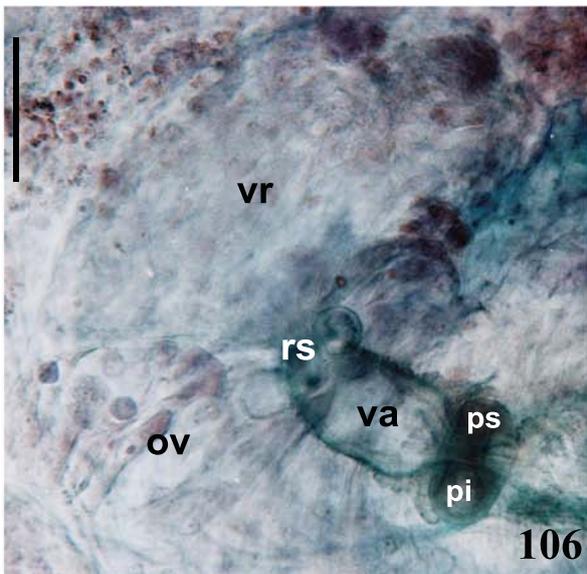
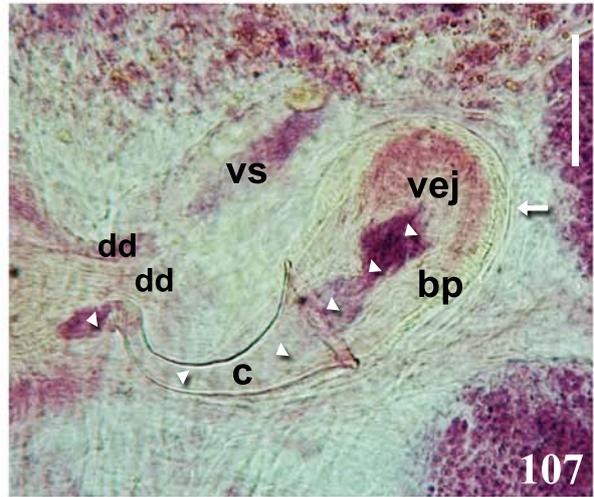
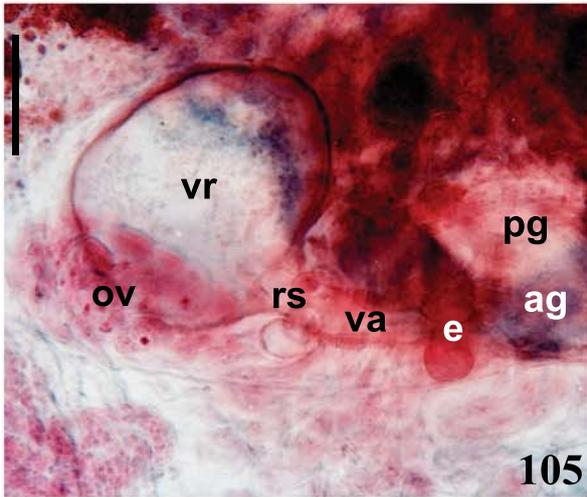
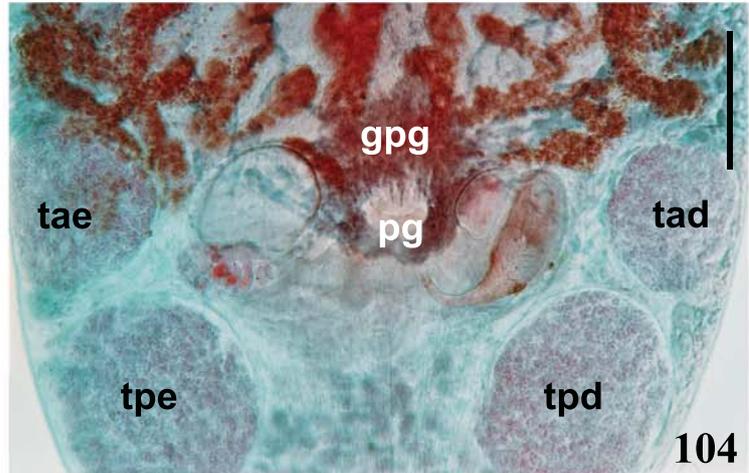
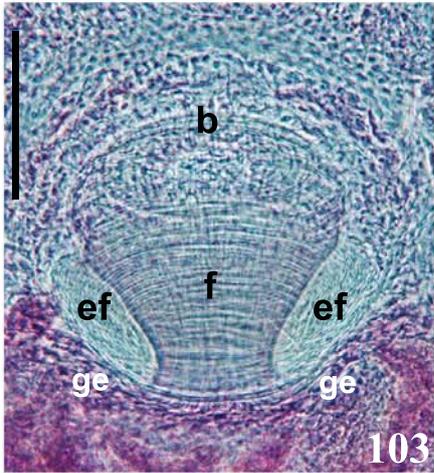
102

**Figura 103.** Faringe de *Temnocephala haswelli*. Boca (b), faringe (f), esfíncter da faringe (ef) e glândulas esofagianas (ge). Barra = 250 µm.

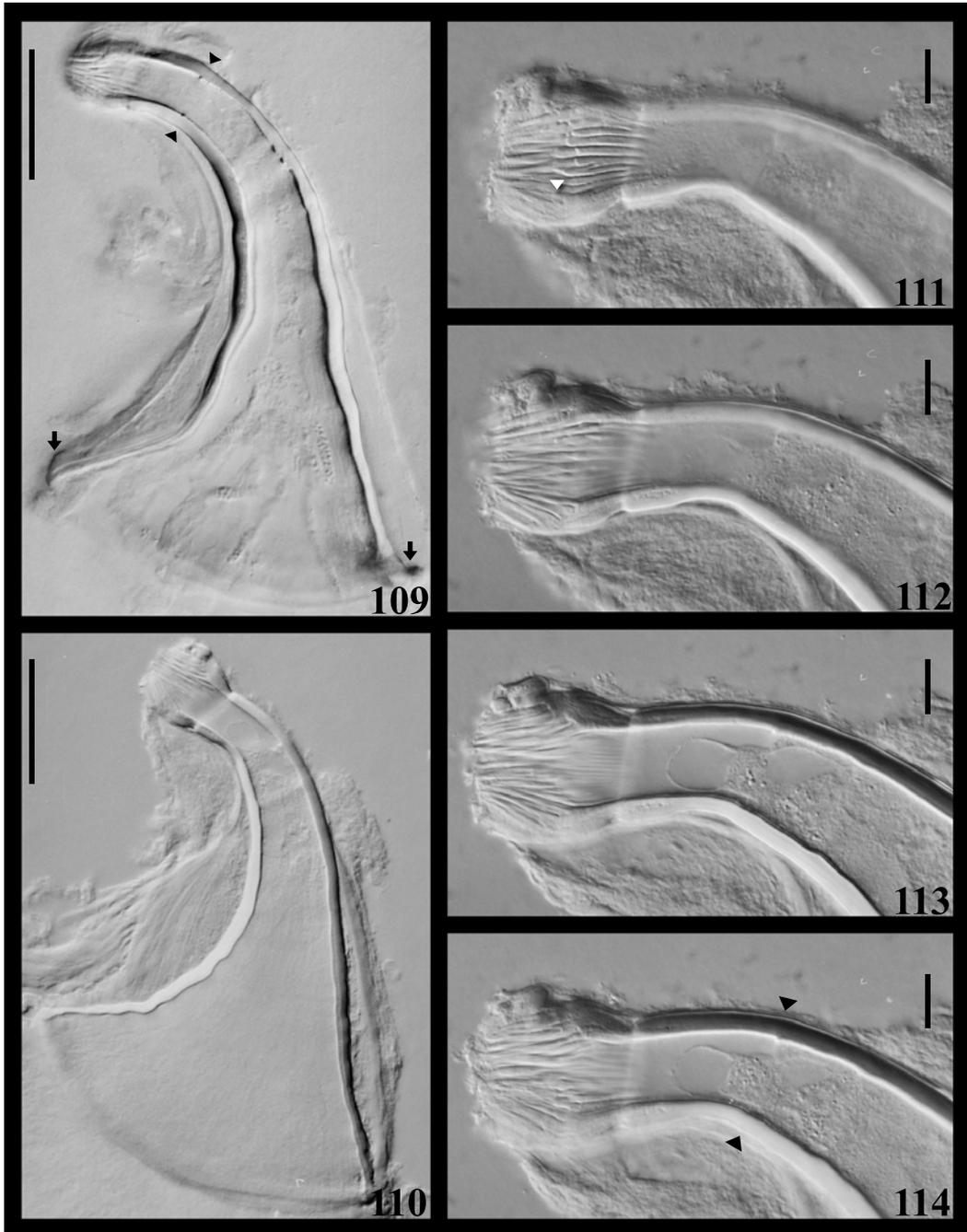
**Figura 104.** Sistema reprodutor de *Temnocephala haswelli*. Espécime corado com Carmim acético/Fast green. Glândulas do poro genital (gpg), poro genital (pg), testículo anterior esquerdo (tae), testículo posterior esquerdo (tpe), testículo anterior direito (tad) e testículo posterior direito (tpd). Barra = 250 µm.

**Figuras 105 e 106.** Órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala haswelli*. Espécimes corados com Carmim acético/Fast green. Barra = 100 µm. (105) Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), esfíncter da vagina (e), átrio genital (ag) e poro genital (pg). (106) Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), porção superior do esfíncter da vagina (ps) e porção inferior do esfíncter da vagina (pi).

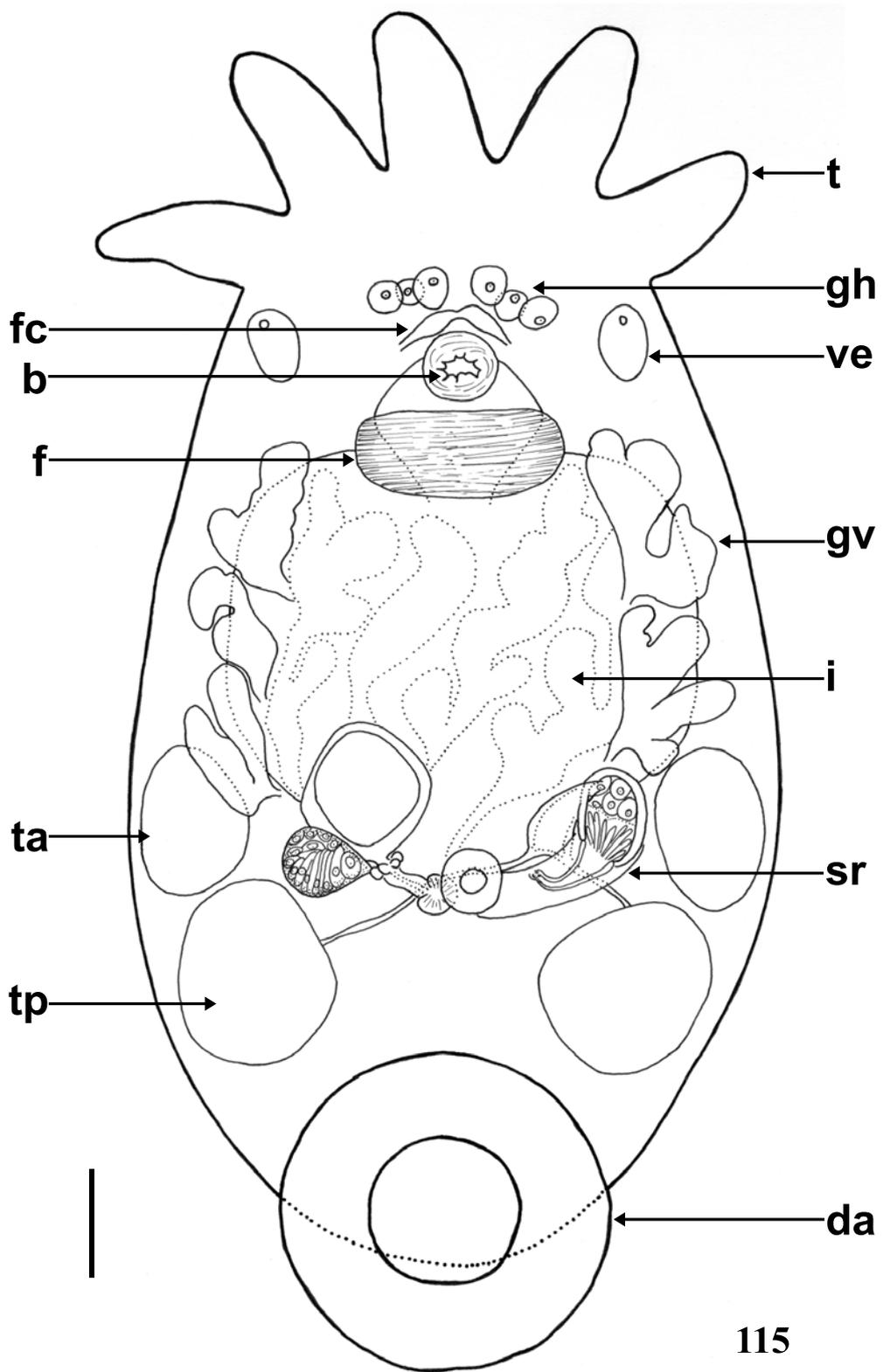
**Figuras 107 e 108.** Órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala haswelli*. Barra = 100 µm. (107) Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), vesícula ejaculatória (vej), entrada da vesícula seminal no bulbo prostático (seta branca), bulbo prostático (bp), cirro (c) e trajetória do esperma do bulbo prostático até a saída pelo cirro (cabeça-de-seta). (108) Espécime corado com Carmim acético/Fast green. Vesícula seminal (vs), vesícula ejaculatória (vej), bulbo prostático (bp) e cirro (c).



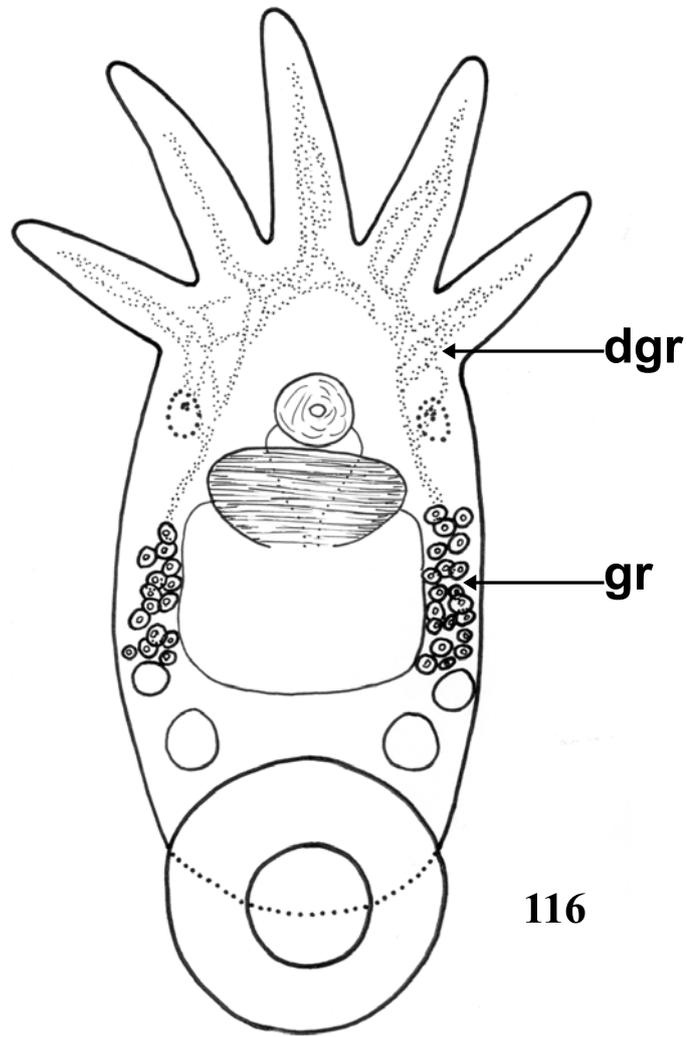
**Figuras 109-114.** Cirro de *Temnocephala haswelli* fotomicrografado com contraste diferencial de interferência com prismas de Nomarski (DIC). (109 e 110) Cirros inteiros mostrando a variação na curvatura e na abertura da base do *shaft*. Barra = 50  $\mu\text{m}$ . (109) Limite do *introvert* (cabeça-de-seta) e reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. (111-114) Seqüência de focos do *introvert*. Barra = 10  $\mu\text{m}$ . (111) Espinho lateral da primeira fileira, com espinhos menores, do *introvert* (cabeça-de-seta). (114) Limite do *introvert* (cabeça-de-seta).



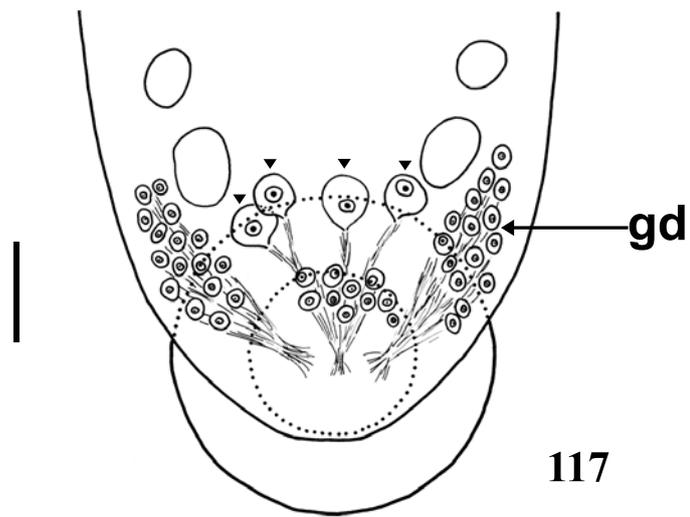
**Figura 115.** Diagrama parcial de um espécime adulto de *Temnocephala haswelli*, vista ventral. Tentáculos (t), glândulas de Haswell (gh), vesículas excretoras (ve), faixa cerebral (fc), boca (b), faringe (f), glândulas vitelogênicas (gv), intestino (i), sistema reprodutor (sr), testículos anteriores (ta), testículos posteriores (tp) e disco adesivo (da). Barra = 250  $\mu\text{m}$ .



**Figuras 116 e 117.** Diagramas parciais de espécimes juvenis de *Temnocephala haswelli*. Barra = 100 µm. (116) Glândulas rabditogênicas (gr) e seus ductos (dgr) que levam a secreção aos tentáculos. (117) Glândulas do disco (gd) e os dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) (cabeça-de-seta).



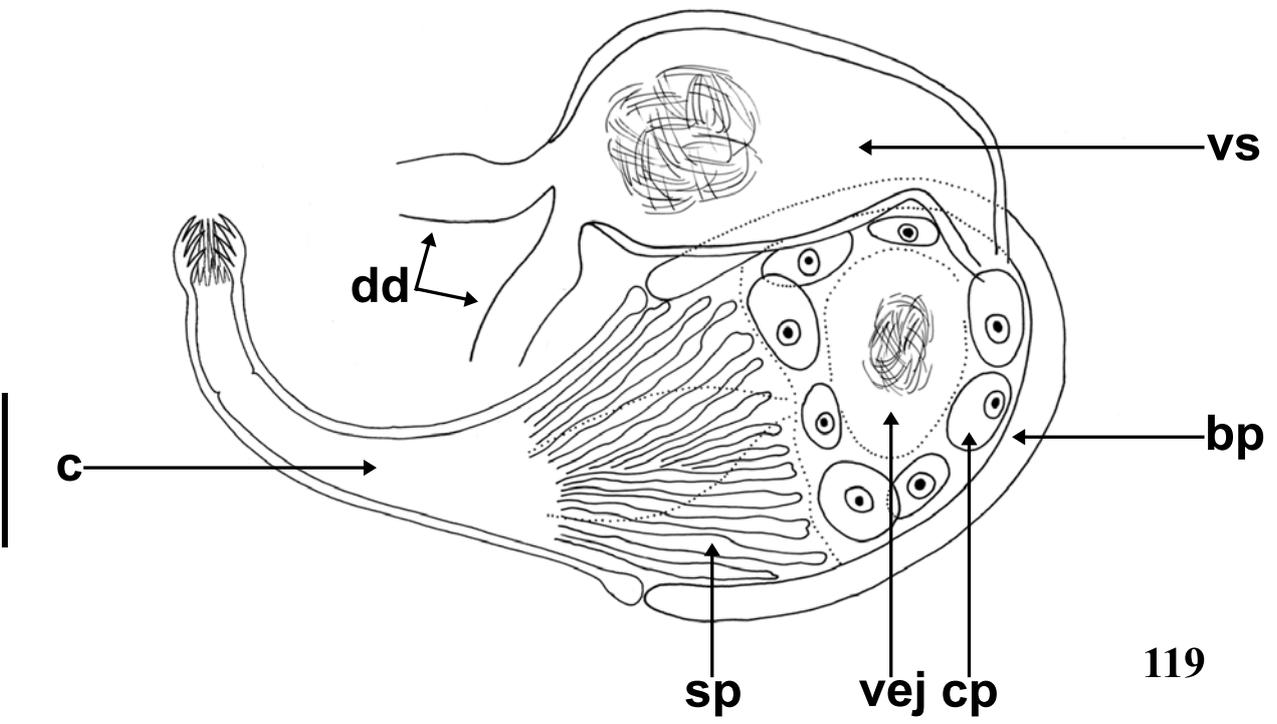
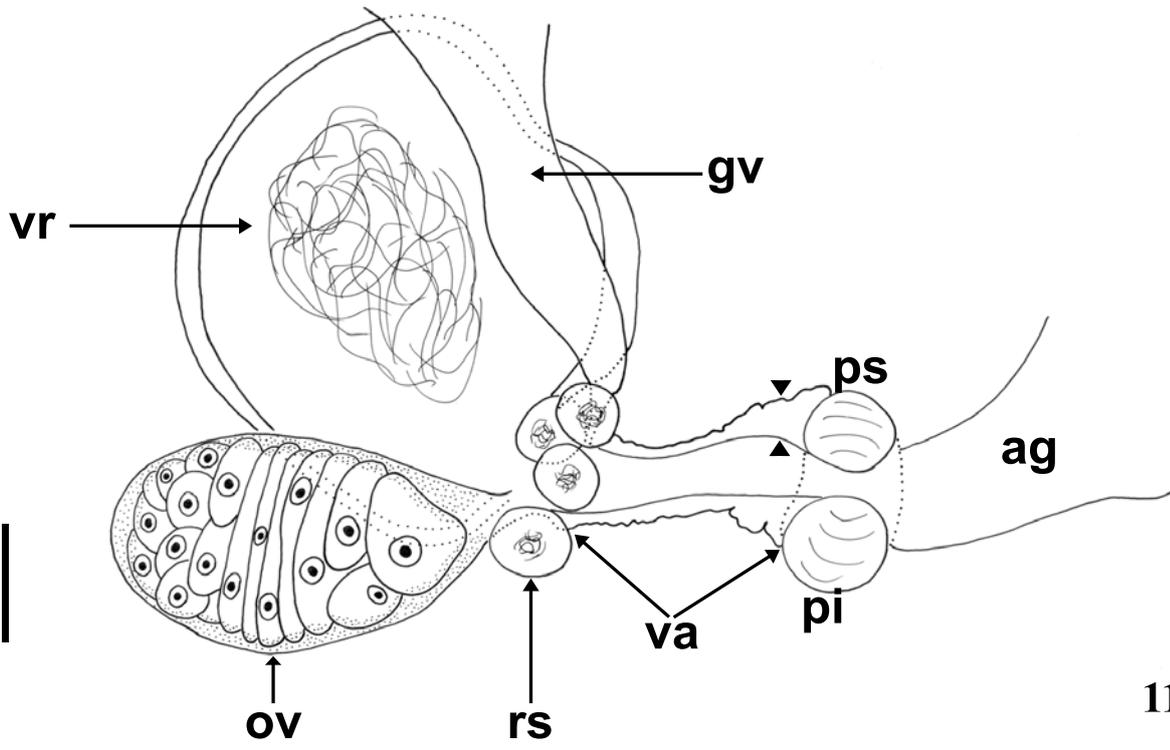
116



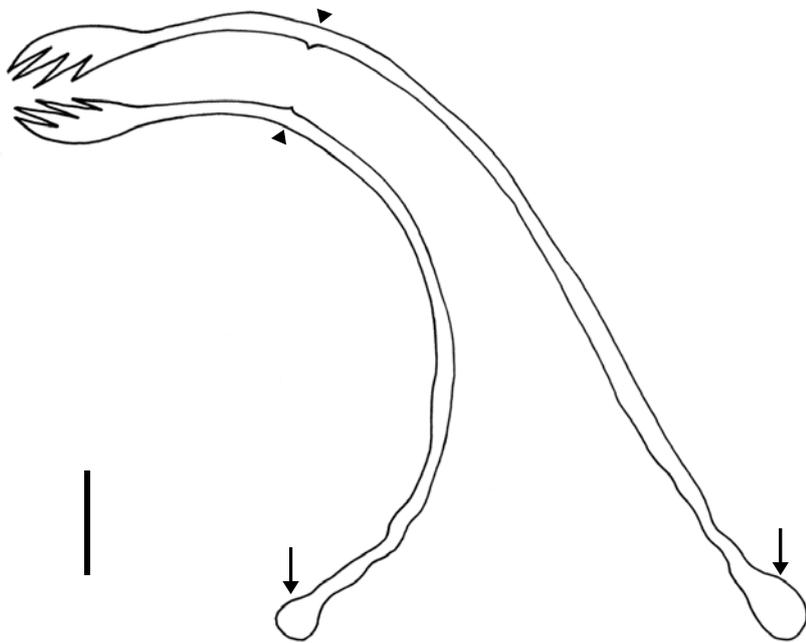
117

**Figura 118.** Diagrama parcial dos órgãos femininos do sistema reprodutor de *Temnocephala haswelli*. Vesícula ‘resorbens’ (vr), ovário (ov), receptáculos seminais (rs), vagina (va), porção superior do esfíncter da vagina (ps), porção inferior do esfíncter da vagina (pi), átrio genital (ag) e a chegada das glândulas vitelogênicas (gv). Barra = 50 µm.

**Figura 119.** Diagrama parcial dos órgãos masculinos do sistema reprodutor de *Temnocephala haswelli*. Ductos deferentes (dd), vesícula seminal (vs), bulbo prostático (bp), células prostáticas (cp), vesícula ejaculatória (vej), secreções prostáticas (sp) e cirro (c). Barra = 50 µm.



**Figura 120.** Diagrama do cirro de *Temnocephala haswelli* mostrando o limite do *introvert* (cabeça-de-seta) e o reforço na borda proximal do *shaft* (seta) indicando o fim do crescimento do cirro. Barra = 25  $\mu\text{m}$ .



120

## 6. DISCUSSÃO

As infestações mistas, como ocorre em *P. canaliculata* em infestações concomitantes de *T. iheringi* e *T. haswelli*, não são muito comuns. Apenas em trabalhos sobre os epibiontes do crustáceo *Trichodactylus fluviatilis* Latreille, 1828 (*Temnocephala lutzi* Monticelli, 1913 e *Temnocephala trapeziformis* Amato, Amato & Seixas, 2006), os autores mencionaram a existência de duas espécies simpátricas (AMATO *et al.* 2005 e 2006) e também foi necessária a escolha de novos caracteres para a diferenciação (com. pes.). No caso dos epibiontes do tricodactilídeo, foram observadas diferenças na postura de ovos, no limite das glândulas rabditogênicas e na forma do corpo, caracteres estes que nas espécies epibiontes de *P. canaliculata*, não foram suficientes para a diferenciação.

A distribuição de *T. iheringi* está restrita ao Brasil e à Argentina (HASWELL 1893; BAER 1931; PEREIRA & CUOCOLO 1941; HYMAN 1955; DAMBORENEA 1992; DAMBORENEA *et al.* 1997; DAMBORENEA & CANNON 2001), já que o único registro para o Uruguai na verdade trata-se de um erro de identificação (DIONI 1967). Este é o primeiro registro da espécie para o Rio Grande do Sul. Já *T. rochensis* e *T. haswelli* tinham suas distribuições conhecidas restritas ao Uruguai até o presente trabalho, que é o primeiro registro das duas espécies para o Brasil.

### 6.1. *Temnocephala iheringi*.

*Temnocephala iheringi* foi a primeira espécie descrita como ectosimbionte de *P. canaliculata*. Em 1893, William A. Haswell recebeu do Dr von Ihering espécimes de temnocefalídeos coletados da cavidade palial de um molusco do gênero *Ampullaria* (= *Pomacea*) do Brasil. HASWELL (1893) homenageou Dr Ihering descrevendo estes espécimes como “*T. jheringii*”, nome corrigido para *T. iheringi* (segundo o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica) em trabalho posterior. Apesar da falha na indicação da localidade-tipo e identificação do hospedeiro, a descrição é bastante precisa e completa. Muitos caracteres, como a posição dos testículos, a distribuição das glândulas vitelogênicas e a falta de pigmentação ocelar, encontrados nos espécimes estudados no presente trabalho são semelhantes aos da descrição original. Contrariamente ao que HASWELL (1893) observou, os espécimes coletados no RS apresentaram uma pequena variação no pigmento corporal, alguns espécimes apresentavam uma coloração bem intensa, próxima ao verde escuro. Outro problema discutido em trabalhos posteriores foi o fato da espécie ter sido descrita como desprovida de vesícula seminal, mas como todas as espécies do gênero, *T. iheringi* a possui. O autor também fez confusão quanto à forma do cirro, descrevendo-o como curvo, ao fazer uma comparação de *T. iheringi* com *Temnocephala semperi* (= *Temnosewellia semperi* (Weber, 1890)), mas na descrição e na ilustração o cirro aparece como curto e reto, característico da espécie.

Em sua monografia sobre o ‘grupo dos temnocefalídeos’, BAER (1931) listou esta espécie novamente para o Brasil tendo em mãos apenas a descrição original. Fez confusão ao copiar erroneamente a ilustração de *Temnocephala minor* (= *Temnosewellia minor* (Haswell, 1888)) (originalmente desenhado ao lado de *T. iheringi* na descrição

original) que possui a posição dos testículos (entre outros caracteres menos visíveis na ilustração) muito diferente de *T. iheringi*.

PEREIRA & CUOCOLO (1941), pesquisadores do Instituto Biológico de São Paulo, fizeram uma revisão da família Temnocephalidae e julgaram falha a descrição original da espécie devido à incerteza sobre a procedência do material. Os autores redescreveram *T. iheringi* baseados em espécimes ectosimbiontes de *Ampullarius lineatus* Spix (= *Pomacea lineata* (Spix, 1827)) coletados em fevereiro de 1941 em Salobra e Guaicurus, Mato Grosso, Brasil, mesmo concordando que o material apresentava diferenças importantes quando comparado à descrição original. A ausência de pigmento ocelar e de vesícula seminal foi contestada pelos autores atribuindo estas informações à deficiência técnica, mas a falta de pigmento ocelar em *T. iheringi* foi comprovada no presente trabalho, sendo essa então a única espécie neotropical sem este caractere.

Sem acesso ao trabalho dos brasileiros, HYMAN (1955) também julgou necessária uma descrição mais completa da espécie, usando espécimes ectosimbiontes de *Asolene platae* (Maton, 1809) coletados do Arroio Malabrigo, tributário do Rio San Javier, 5 km ao norte de Romang, Província de Santa Fé, Argentina, sem data de coleta. Este foi o primeiro registro de *T. iheringi* em outro gênero de ampulariídeo e também o primeiro registro da espécie fora do Brasil. Para este trabalho, a autora usou espécimes montados *in toto* e cortes histológicos (longitudinais e frontais) que estão depositados no Museu Nacional dos Estados Unidos (National Museum of Natural History). Alguns caracteres discordam da descrição da espécie; o comprimento total (erroneamente incluindo os tentáculos) é muito menor quando comparado àqueles informados por outros autores, inclusive os do presente trabalho (Tabela III). A posição dos testículos apresentada pela autora, não é a posição característica da espécie, as glândulas rabaditogênicas, ao contrário da observação feita no presente que se limitam nos

testículos anteriores, se estendem até o disco adesivo. O cirro parece proporcionalmente maior, mas não pode ser comparado porque a autora não apresentou medidas deste órgão. HYMAN (1955) também afirmou que *T. iheringi* não tem pigmento ocelar e descreveu o bulbo do cirro como uma vesícula prostática com uma parede bastante muscular cujo interior contém uma massa de células alongadas envolvendo o lúmen central. Esse tipo de bulbo prostático foi observado no material aqui estudado, onde o lúmen central na parte proximal do bulbo se dilata formando a vesícula ejaculatória. Ainda segundo a autora, não há evidências de glândulas prostáticas externas.

DIONI (1967) em seu trabalho sobre os temnocefalídeos do Uruguai atribuiu erroneamente espécimes coletados de um gavião-caramujeiro, que teria predado um ampullariídeo, à espécie *T. iheringi*. Ao produzir uma chave dicotômica para as espécies encontradas no país, descreveu *T. iheringi* como tendo “cirro cônico, curvo, de base muito larga e extremidade apical tendo uma única fila de longos espinhos”, características indubitavelmente atribuídas a *T. haswelli* que foi descrita 22 anos mais tarde.

Outros registros da espécie foram feitos para a Argentina, DAMBORENEA (1992) em seu trabalho sobre temnocefalídeos de crustáceos e moluscos, elaborou uma chave dicotômica para as espécies de temnocefalídeos (usando apenas algumas das espécies descritas até aquele momento, em sua maioria, espécies com registros para a Argentina) e registrou *T. iheringi* usando espécimes coletados em Buenos Aires (Punta Lara, Canteras de Los Talas, Arroyo Doña Flora e Punta Indio) e Santa Fé (Laguna Don Felipe). Afirma, sem estudos histológicos, que as glândulas prostáticas são externas ao bulbo e que circundam a região do cirro, livres no parênquima, discordando de HYMAN (1955) e do presente trabalho, onde as glândulas sempre foram visualizadas no interior do bulbo prostático ao redor da vesícula ejaculatória.

O primeiro registro de *T. iheringi* em *Asolene megastoma* (= *Pomella megastoma* (Sowerby, 1825)) foi feito por DAMBORENEA *et al.* (1997) em um trabalho sobre a fauna bentônica da Ilha Martín García, Rio de La Plata, Buenos Aires, Argentina. O trabalho apresentou um estudo morfométrico completo e possibilitou a comparação destes espécimes, de um novo hospedeiro, com os trabalhos anteriores e o presente estudo (Tabela III).

DAMBORENEA & CANNON (2001) em um importante trabalho sobre os temnocefalídeos neotropicais, re-coletaram espécimes de *T. iheringi* de *P. canaliculata* no rio Zapata, Magdalena, Província de Buenos Aires, Argentina em setembro de 1998. Este foi o primeiro trabalho a mostrar cirros e PSDPEs com maior detalhe. A representação diagramática das PSDPEs de *T. iheringi* é bastante semelhante ao formato encontrado neste estudo, mas a maior riqueza de observações (NP e MEV) mostrou detalhes não revelados por DAMBORENEA & CANNON (2001), inclusive a observação, pela primeira vez, da placa sincicial do disco adesivo (Figs 31 e 32) e de poros no disco adesivo mostrando a secreção das substâncias de adesão (Fig. 33). Os autores afirmaram que *T. iheringi* possui manchas ocelares, mas não as documentaram fotograficamente. DAMBORENEA & CANNON (2001) consideraram que todas as espécies neotropicais possuíam o pigmento ocelar vermelho, definindo este como uma autapomorfia do gênero. A ausência deste pigmento é tão incomum que nem entre as espécies do gênero *Temnosewellia*, gênero com uma diversidade grande, que estavam agrupadas às espécies neotropicais até 2001, há registros da falta do pigmento ocelar. Isto exige que as autapomorfias do gênero *Temnocephala* sejam revistas no futuro.

Comparando as medidas dos espécimes de *T. iheringi* do presente trabalho com aquelas indicadas nos trabalhos anteriores vemos que os espécimes do RS têm tamanhos semelhantes ao dos espécimes, também brasileiros (coletados em Mato Grosso),

registrados por PEREIRA & CUOCOLO (1941). Todos os outros registros, com espécimes argentinos, apresentam tamanhos menores do que os do presente trabalho e o material dos pesquisadores paulistas. Analisando apenas o comprimento do cirro, vemos que os espécimes argentinos têm uma uniformidade em tamanho, uniformidade esta que só é contestada quando incluída a medida dos espécimes epibiontes de *P. megastoma* que são ainda menores (Tabela III). Essa falta de uniformidade entre as medidas pode ser reflexo da diferença de técnicas usadas na obtenção das medidas ou de uma variação intra-específica, que pode ocorrer ao longo da distribuição geográfica da espécie ou entre as populações dos diferentes hospedeiros.

### **6.2. *Temnocephala rochensis*.**

*Temnocephala rochensis* foi a segunda espécie descrita como epibionte em *P. canaliculata*. PONCE DE LEÓN (1979) descreveu a espécie baseado em 30 helmintos de dois espécimes de hospedeiro coletados na Luguna Negra, Departamento de Rocha, Uruguai em janeiro de 1978 e, segundo o próprio autor, esta espécie nunca mais havia sido encontrada (com. pes.). DAMBORENEA & CANNON (2001) na revisão das espécies neotropicais trabalharam com *T. rochensis* usando lâminas depositadas na coleção particular do autor da espécie. Um espécime representativo desta mesma coleção foi enviado para o Laboratório de Helminologia da UFRGS e a julgar pelo estado da mesma, acredito que a identificação tenha sido baseada unicamente na morfologia do cirro, pois esse era o único caráter visível devido à coloração usada nesses espécimes.

Segundo PONCE DE LEÓN (1979) a espécie apresenta um tamanho pequeno, discordando do material estudado no presente trabalho. A média do tamanho corporal (excluindo os tentáculos) dos temnocefalídeos coletados no Rio Grande do Sul é de 2,8 mm enquanto que os espécimes uruguaios apresentaram média de 1,42 mm. O cirro

também apresentou um tamanho maior nos espécimes coletados no presente trabalho (0,243 mm no RS e 0,186 mm no Uruguai), mas estas diferenças poderiam ser explicadas caso o autor tenha baseado sua descrição em espécimes juvenis, o que fica aparente quando observamos suas ilustrações. A porção feminina do sistema reprodutor de *T. rochensis* é bastante peculiar, tanto que levou o autor, na descrição original, a descrevê-la como possuindo uma vesícula ‘resorbens’ dupla, que ele chamou de “vesícula accesoria”. Um estudo mais detalhado feito no presente trabalho revelou que a estrutura, erroneamente chamada de ‘vesícula acessória’, é na verdade um alargamento da região proximal da vagina, formando uma vesícula já vista em outras espécies (*Temnocephala kingsleyae* Damborenea, 1994 e *Temnocephala lutzi* Monticelli, 1913) (DAMBORENEA 1994; AMATO *et al.* 2005) chamada de “vesícula intermedia”. Segundo DAMBORENEA (1994) esta vesícula substituiria os receptáculos seminais, o que ocorre nas outras espécies citadas acima, mas *T. rochensis* apresenta também quatro receptáculos seminais. A vagina nesta espécie apresenta duas porções distintas, a “vesícula intermedia” e uma porção bastante muscular na região distal próxima ao esfíncter grande, musculoso e simétrico. Outra característica particular da espécie são os testículos, grandes e arredondados, e a parede da vesícula seminal, normalmente pouco musculosa, em *T. rochensis* é bastante espessa chegando a medir 27,5 µm. Apesar das diferenças, muitos caracteres concordam com a descrição original de PONCE DE LEÓN (1979), principalmente a morfologia do cirro, estrutura com maior valor taxonômico, mas também a distribuição das glândulas rãbitogênicas e as particularidades do sistema reprodutor feminino.

### 6.1. *Temnocephala haswelli*.

*Temnocephala haswelli* é a terceira espécie descrita como epibionte de *P. canaliculata*. Sua descrição foi baseada em 23 espécimes coletados no rio Canelón Chico, Uruguai em 1979 (PONCE DE LEÓN 1989). O segundo e único registro da espécie após sua descrição, até o presente, foi feito por VOLONTERIO & PONCE DE LEÓN (2004) no trabalho sobre a natureza das glândulas de Haswell, onde os autores também usaram infrapopulações da espécie *T. iheringi*. PONCE DE LEÓN (1989) descreveu a coloração corporal da espécie como uma variação do branco para o amarelo, muito semelhante à coloração encontrada neste trabalho que variou do branco para o laranja (Figs 91 e 92). Há diferenças no tamanho corporal (sem tentáculos) do material do RS quando comparado com a descrição original, mas apesar de ser menor em tamanho (2,17 mm no RS e 3,82 mm no Uruguai) o comprimento do cirro e seu formato são praticamente iguais e característicos da espécie (média do comprimento do cirro: 215  $\mu\text{m}$  no RS e 200  $\mu\text{m}$  no Uruguai). O pigmento ocelar em *T. haswelli* é conspícuo (Figs 91 e 92) e as glândulas vitelogênicas são muito características, segundo PONCE DE LEÓN (1989), ela é arborescente com ramos muito grandes que não ultrapassam o número de 4-8, concordando com este trabalho onde as glândulas formam em média quatro grossos ramos na região dorsal e dois ramos que se limitam às margens da região ventral do animal (Figs 14, 95 e 115). Com a aplicação da coloração com Carmim acético/Fast green ficaram evidentes, nesta espécie, estruturas glandulares ao redor do poro genital (Fig. 104). Na descrição original, PONCE DE LEÓN (1989) descreveu glândulas semelhantes chamando-as de glândulas de cimento, mas sem inferir sobre sua função.

Os ovos de *T. haswelli* foram medidos e tiveram sua forma, localização do filamento e placas operculares estudadas porque foram encontrados hospedeiros infestados unicamente por esta espécie e estas medidas apresentaram diferenças

significativas quando comparadas àquelas apresentadas na descrição original. PONCE DE LEÓN (1989) utilizou ovos do interior do “oótipo” dos helmintos para seu estudo, este método equivocado levou a uma série de dados duvidosos. A medida apresentada como sendo do pedúnculo é na verdade do filamento subapical do ovo. O pedúnculo é formado pelo acúmulo de substância de fixação utilizada pelo animal no momento da postura, ou seja, não está presente até o momento da postura. Isso pode ser comprovado quando a média do comprimento do suposto pedúnculo (115  $\mu\text{m}$ ) é comparada com a média do comprimento do filamento dos espécimes do RS (97,5  $\mu\text{m}$ ), que são bastante semelhantes. Estes valores contrastam com a média do comprimento do pedúnculo (53,3  $\mu\text{m}$ ) que, além de diminuto, só está presente em 30% dos ovos observados no presente estudo, pois os ovos são em sua maioria, sésseis. Apesar da descrição original conter os limites das glândulas rabditogênicas e do disco, os dois pares de grandes glândulas do disco (paranefrócitos?) são visualizadas e fotomicrografadas pela primeira vez (Figs 98 e 117).

As variações intra-específicas encontradas nas PSDPEs de *T. haswelli* e no cirro de *T. iheringi* e *T. haswelli*, não estão ligadas ao local de coleta, por isso, foram consideradas verdadeiras variações intra-específicas.

**Tabela III.** Comparação das medidas obtidas de *Temnocephala iheringi* em trabalhos anteriores e no presente trabalho.

	(PEREIRA & CUOCOLO 1941)	(DAMBORENEA 1992)	(DAMBORENEA <i>et al.</i> 1997)	(HYMAN 1955)	(DAMBORENEA & CANNON 2001)	Presente trabalho
	Amplitude de variação	Média	Média	Média (+ tentáculos)	Média	Média e amplitude de variação
Compr. total s/ tentáculos*	2,4 -3,48	1,81	2	1.3	-	<b>2,43 (1,93-3,19)</b>
Largura máxima*	1,1 - 1,85	1,274	1,2	-	-	<b>1,35 (0,51-1,79)</b>
Disco adesivo diâmetro*	0,49 - 0,70	0,506	0,62	-	-	<b>0,7 (0,53-0,98)</b>
Faringe comprimento*	0,38 - 0,60	-	-	-	-	<b>0,44 (0,36-0,55)</b>
Faringe largura*	0,28 - 0,43	-	-	-	-	<b>0,4 (0,31-0,69)</b>
Testículos posteriores compr.*	0,30 - 0,42	-	-	-	-	<b>0,36 (0,28-0,49)</b>
Testículos posteriores largura*	0,20 - 0,34	-	-	-	-	<b>0,33 (0,24-0,49)</b>
Testículos anteriores compr.*	0,18 - 0,30	-	-	-	-	<b>0,3 (0,19-0,45)</b>
Testículos anteriores largura*	0,16 - 0,24	-	-	-	-	<b>0,22 (0,11-0,31)</b>
Vesícula seminal comprimento	260 -380	221,71	218,97	-	-	<b>298 (242-372)</b>
Vesícula seminal largura	60 - 70	107,54	50,89	-	-	<b>65 (25-117)</b>
Bulbo prostático comprimento	220 - 240	131,79	148,6	-	-	<b>182 (115-255)</b>
Bulbo prostático largura	120 - 160	126,15	127,24	-	-	<b>169 (130-235)</b>
Cirro comprimento	160 - 180	157,06	153	-	157	<b>193</b>
Cirro largura da base	-	68,92	100,8	-	69	<b>122</b>
Ovário comprimento	-	142,02	101,79	-	-	<b>109</b>
Ovário largura	-	89,43	123,47	-	-	<b>169</b>
Compr. total/ diâm. disco	-	-	3,23	-	-	<b>3,47</b>
Compr. total/ compr. cirro	-	-	13,08	-	-	<b>12,61</b>

(-) Caracteres não medidos.

(\*) Medidas em milímetros.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBRECHT, E.A.; N.B. CARREÑO & A. CASTRO-VAZQUEZ. 1999. A quantitative study of environmental factors influencing the seasonal onset of reproductive behaviour in the south american apple-snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). **Journal of Molluscan Studies** **65**: 241-250.
- AMATO, J.F.R.; S.B. AMATO & L.C.C. DAUDT. 2003. New species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Aegla serrana* Buckup & Rossi (Crustacea, Anomura) from southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** **20** (3): 493-500.
- AMATO, J.F.R. & S.B. AMATO. 2005. New species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on giant water bugs, *Belostoma* spp. (Hemiptera, Belostomatidae) from southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (1): 107-118.
- AMATO, J.F.R.; S.B. AMATO & S.A. SEIXAS. 2005. *Temnocephala lutzii* Monticelli (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on two species of *Trichodactylus* Latreille (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae) from southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** **22** (4): 1085-1094.
- AMATO, J.F.R.; S.B. AMATO & S.A. SEIXAS. 2006. A new species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on *Trichodactylus*

*fluviatilis* Latreille (Crustacea, Decapoda, Trichodactylidae) from southern Brazil.

**Revista Brasileira de Zoologia** 23 (3): 796-806.

AMATO, J.F.R.; S.A. SEIXAS & S.B. AMATO. 2007. A new species of *Temnocephala* Blanchard (Platyhelminthes, Temnocephalida) ectosymbiont on creeping water bugs, *Cryphocricos granulatus*, De Carlo (Hemiptera, Naucoridae) from southern Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia** 24 (4): 1043-1051.

BAER, J.G. 1931. Étude monographique du groupe des Temnocephales. **Bulletin Biologique de la France et de la Belgique** 1: 1-57.

BLANCHARD, E. 1849. Anelides, III. Branquiobdelidos, I. Temnocefala – *Temnocephala*, p. 51-52. In: GAY, C. (Ed.). **Historia Fisica y Politica de Chile, Zoologia – Tomo Tercero**. Museo de Historia Natural de Santiago, Santiago, 318p.

BROOKS, D.R.; R.T. O'GRADY & D.R. GLEN. 1985. The phylogeny of the Cercomeria Brooks, 1982 (Platyhelminthes). **Proceedings of the Helminthological Society Washington** 52 (1): 1-20.

BROOKS, D.R. 1989. A summary of the database pertaining to the phylogeny of the major groups of parasitic platyhelminths, with a revised classification. **Canadian Journal of Zoology** 67: 714-720.

BRUSCA, R.C. & J.G. BRUSCA. 2003. **Invertebrates**. 2<sup>a</sup> ed. Sunderland, Sinauer Associates, 936p.

BUSH, A.O.; K.D. LAFFERTY; J.M. LOTZ & A.W. SHOSTAK. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: MARGOLIS *et al.* revisited. **Journal of Parasitology** 83 (4): 575-583.

CANNON, L.R.G. 1991. Temnocephalan symbionts of the freshwater crayfish *Cherax quadricarinatus* from northern Australia. **Hydrobiologia** 227: 341-347.

- CANNON, L.R.G. 1993. New temnocephalans (Platyhelminthes): ectosymbionts of freshwater crabs and shrimps. **Memoirs of the Queensland Museum** **33**: 17-40.
- CANNON, L.R.G. & B.I. JOFFE. 2001. The Temnocephalida. p. 83-91. *In*: LITTLEWOOD, D.T.J. & R.A. BRAY (eds). **Interrelationships of the Platyhelminthes**. London, Taylor & Francis, XII + 356 p.
- CAZZANIGA, N.J. 2002. Old species and new concepts in the taxonomy of *Pomacea* (Gastropoda: Ampullariidae). **Biocell** **26** (1): 71-81.
- COWIE, R.H. 1997. *Pila* Roding, 1798 and *Pomacea* Perry, 1810 (Mollusca, Gastropoda): Proposed placement on the Official List, and Ampullariidae Gray, 1824: Proposed confirmation as the nomenclaturally valid synonym of Pilidae Preston, 1915. **Bulletin of Zoological Nomenclature** **54** (2): 83-88.
- COWIE, R.H. & S.A.R.C. THIENGO. 2003. The apple snail of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *Asolene*, *Felipponea*, *Marisa*, *Pomacea*, *Pomella*): A nomenclatural and type catalog. **Malacologia** **45** (1): 41-100.
- CRANDALL, K.A.; J.W. FETZNER; C.G. JARA & L. BUCKUP. 2000. On the phylogenetic positioning of the south american freshwater crayfish genera (Decapoda: Parastacidae). **Journal of Crustacean Biology** **20** (3): 530-540.
- DAMBORENEA, M.C. 1991. *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) de la Argentina: Revisión de caracteres específicos. **Iheringia**, Ser. Zool. **71**: 111-120.
- DAMBORENEA, M.C. 1992. Especies de *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) de crustaceos y moluscos de la Argentina. **Iheringia**, Ser. Zool. **72**: 3-21.
- DAMBORENEA, M.C. 1994. Temnocefalos neotropicales: *Temnocephala kingsleyae* sp. n. y *T. lutzi* Monticelli, 1913 (Platyhelminthes, Temnocephalidea) comensales de crustáceos de Brasil. **Iheringia**, Ser. Zool. **77**: 99-105.

- DAMBORENEA, M.C. 1996. Patrones de distribución y abundancia de *Temnocephala iheringi* (Platyhelminthes: Temnocephalidae) en una población de *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae). **Gayana Zoológica** **60** (1): 1-12.
- DAMBORENEA, M.C.; I.I. CÉSAR & L.C. ARMENDÁRIZ. 1997. Especies de *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalidae) de la Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina. **Neotropica** **43** (109-110): 123-124.
- DAMBORENEA, M.C. 1998. Distribution patterns of temnocephalids commensal with Crustacea and Mollusca from Argentina. **Hydrobiologia** **383**: 269-274.
- DAMBORENEA, M.C. & L.R.G. CANNON. 2001. On neotropical *Temnocephala* (Platyhelminthes). **Journal of Natural History** **35**: 1103-1118.
- DAMBORENEA, M.C. & G. DARRIGRAN. 2002. Un sudamericano invade Ásia. **Ciência Hoy** **11** (66): 1-6.
- DAUDT, L.C.C. 2007. **Taxonomia e ecologia de temnocefalídeos (Platyhelminthes, Temnocephalidae) e histriobdelídeos (Annelida, Histriobdellidae) de duas espécies do gênero *Parastacus* Huxley (Crustacea, Parastacidae) do Rio Grande do Sul**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Porto Alegre, 54p. (Dissertação de Mestrado).
- DIONI, W. 1967. Temnocephalas uruguayas II. Descripción de *Temnocephala talicei* n. sp. y notas sobre *T. axenos* Monticelli (Platyhelmintha). **Physis** **26** (73): 477-484.
- EHLERS, U. 1986. Comments on a phylogeny system of the Platyhelminthes. **Hydrobiologia** **132**: 1-12.
- FUTUYMA, D.J. 2002. **Biología Evolutiva**. 2ª ed. Ribeirão Preto, FUNPEC-RP, 631p.
- FYFE, M.L. 1942. The anatomy and systematic position of *Temnocephala novae-zealandiae* Haswell. **Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand** **72**: 253-267.

- GALIGHER, A.E. & E.N. KOZLOFF. 1971. **Essentials of practical microtechnique**. 2<sup>nd</sup> edition. Lea & Febiger ed. Philadelphia. 531p.
- GELDER, S.R. 1999. Zoogeography of branchiobdellidans (Annelida) and temnocephalidans (Platyhelminthes) ectosymbiotic on freshwater crustaceans, and their reactions to one another *in vitro*. **Hydrobiologia** **406**: 21-31.
- HASWELL, W.A. 1887. On *Temnocephala*, an aberrant monogenetic trematode. **Quarterly Journal of Microscopical Science** **33**: 279-302.
- HASWELL, W.A. 1893. A monograph of the Temnocephaleae. **Linnean Society of New South Wales. Macleay Memorial Volume**: 93-152.
- HERTEL, L.A. 1993. Excretion and osmoregulation in the flatworms. **Transactions of the American Microscopical Society** **112** (1): 10-17.
- HUMASON, G. 1972. **Animal Tissue Techniques**. 3<sup>rd</sup> ed. San Francisco, W. H. Freeman, 641p.
- HYMAN, L.H. 1955. Miscellaneous marine and terrestrial flatworms from South America. **American Museum Novitates** **1742**: 1-33.
- INTERNACIONAL COMMISSION ON ZOOLOGICAL NOMENCLATURE (ICZN). 1999. Opinion 1913. *Pila* Roding, 1798 and *Pomacea* Perry, 1810 (Mollusca, Gastropoda): Placed on the Official List, and Ampullariidae Gray, 1824: Confirmed as the nomenclaturally valid synonym of Pilidae Preston, 1915. **Bulletin of Zoological Nomenclature** **56** (1): 74-76.
- JOFFE, B.I.; K.M. VALIEJO ROMAN; V.YA. BIRSTEIN & A.V. TROITSKY. 1995. 5S rRNA sequences of 12 species of flatworms: Implications for the phylogeny of the Platyhelminthes. **Hydrobiologia** **305**: 37-43.

- JOFFE, B.I. & L.R.G. CANNON. 1998. The organization and evolution of the mosaic of the epidermal syncytia in the Temnocephalida (Plathelminthes: Neodermata). **Zoologischer Anzeiger** **237**: 1-14.
- JOFFE, B.I.; L.R.G. CANNON & E.R. SCHOCKAERT. 1998. On the phylogeny of families and genera within the Temnocephalida. **Hydrobiologia** **383**: 263-268.
- MARGOLIS, L.; G.W. ESCH; J.C. HOLMES; A.M. KURIS & G.A. SCHAD. 1982. The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). **Journal of Parasitology** **68** (1): 131-133.
- MARTÍN, G.G. 1978. A new function of rabdites: Mucus production for ciliary gliding. **Zoomorphologie** **91**: 235-248.
- MARTÍN, P.R.; A.L. ESTEBENET & S. BURELA. 2005. Factors affecting the distribution and abundance of the commensal *Temnocephala iheringi* (Platyhelminthes: Temnocephalidae) among the southernmost populations of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Mollusca: Ampullariidae). **Hydrobiologia** **545**: 45-53.
- MONTICELLI, F.S. 1898. Sulla *Temnocephala brevicornis* Montc. (1889) e sulle temnocefale in generale. **Bollettino della Società dei Naturalisti in Napoli** **12**: 72-127.
- MORETTO, H.J.A. & J. DURQUET. 1977. El sistema reproductor en *Temnocephala iheringi* Haswell, 1893 (Temnocephaloidea), epibionte de *Pomacea canaliculata* (Scott, 1957) (Mollusca). **Physis** **37** (93): 75-88.
- MORETTO, H.J.A. 2001. The resorptive vesicle of *Temnocephala iheringi* (Temnocephalida). **Belgian Journal of Zoology** **131** (Sup. 1): 179-182.
- PEREIRA, C. & R. CUOCOLO. 1940. Contribuição para o conhecimento da morfologia, bionomia e ecologia de "*Temnocephala brevicornis* Monticelli, 1889". **Arquivos do Instituto Biológico** **11** (42): 367-397.

- PEREIRA, C. & R. CUOCOLO. 1941. Estudos sobre “*Temnocephalidae* Monticelli, 1899”, com estabelecimento de dois novos gêneros australianos e descrição de duas novas espécies neotrópicas. **Arquivos do Instituto Biológico** **12** (9): 101-127.
- PONCE DE LEÓN, R. 1979. Espécies americanas de *Temnocephalidea* Benham (Platyhelmintha), I. Descripción de *Temnocephala rochensis* n. sp. de la cámara paleal de *Pomacea canaliculata* (Lamarck). **Revista de Biología del Uruguay** **7** (1): 39-48.
- PONCE DE LEÓN, R. 1989. Description of *Temnocephala haswelli* n. sp. (Platyhelminthes) from the mantle cavity of *Pomacea canaliculata* (Lamarck). **Journal of Parasitology** **75** (4): 524-526.
- PONDER, W.F. & D.R. LINDBERG. 1997. Towards a phylogeny of gastropod molluscs: an analysis using morphological characters. **Zoological Journal of the Linnean Society** **119**: 83-265.
- RIEGER, R.M. 1998. 100 years of research on ‘Turbellaria’. **Hydrobiologia** **383** (1-3): 1-27.
- SCHAEFER, C.W. 1971. Observations on temnocephalid hosts and distributions. **Zeitschrift für Zoologische Systematik und Evolutionforschung** **9**: 139-143.
- SEWELL, K.B. & L.R.G. CANNON. 1995. A scanning electron microscope study of *Craspedella* sp. from the branchial chamber of redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, from Queensland, Australia. **Hydrobiologia** **305**: 151-158.
- SEWELL, K.B. & L.R.G. CANNON. 1998. The taxonomic status of the ectosymbiont flatworm *Didymorchis paranephropis* Haswell. **Memoirs of the Queensland Museum** **42** (2): 585-595.
- SHULL, H.C.; M. PÉREZ-LOSADA; D. BLAIR; K. SEWELL; E.A. SINCLAIR; S. LAWLER; M. PONNIAH & K.A. CRANDALL. 2005. Phylogeny and biogeography of the freshwater

- crayfish *Euastacus* (Decapoda: Parastacidae) based on nuclear and mitochondrial DNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **37**: 249-263.
- SIMONE, L.R.L. 2006. **Land and freshwater molluscs of Brazil**. São Paulo, FAPESP, 390p.
- SMITH, J.P.S.; S. TYLER & R.M. RIEGER. 1986. Is the Turbellaria polyphyletic? **Hydrobiologia** **132**: 13-21.
- THIENGO, S.A.R.C. 1995. **Estudo da helmintofauna dos moluscos em áreas de ocorrência de angiostrongilose abdominal no Brasil**. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro, 90p. (Tese de Doutorado).
- THOMÉ, J.W.; S.R. GOMES & J.B. PICANÇO. 2006. **Guia ilustrado – Os caracóis e as lesmas dos nossos bosques e jardins**. Pelotas, Coleção Manuais de Campo USEB, 124p.
- VOLONTERIO, O. & R. PONCE DE LEÓN. 2004. The first ultrastructural description of the Haswell cells in Temnocephalidae (Platyhelminthes, Temnocephalida), with insights into their function. **Parasitology Research** **92**: 355-360.
- VOLONTERIO, O. 2007. A new species of *Temnocephala* (Platyhelminthes, Temnocephalida) and a description of *T. axenos* from Uruguay. **Journal of Natural History** **41** (21-24): 1245-1257.
- WILLIAMS, J.B. 1981. Classification of the Temnocephaloidea (Platyhelminthes). **Journal of Natural History** **15**: 277-299.
- ZAMPARO, D.; D.R. BROOKS; E.P. HOBERG & D.A. MCLENNAN. 2001. Phylogenetic analysis of the Rhabdocoela (Platyhelminthes) with emphasis on the Neodermata and relatives. **Zoologica Scripta** **30** (1): 59-77.

# **Anexos**

## Anexo 1.

Ficha de exame para moluscos.



## Anexo 2.

Normas da Revista Brasileira de Zoologia.

## INSTRUÇÕES AOS AUTORES

### INFORMAÇÕES GERAIS

A Revista Brasileira de Zoologia, órgão da Sociedade Brasileira de Zoologia (SBZ), destina-se a publicar artigos científicos originais em Zoologia de seus sócios. Todos os autores deverão ser sócios e estarem quites com a tesouraria, para poder publicar na Revista.

Artigos redigidos em outro idioma que não o português, inglês ou espanhol poderão ser aceitos, a critério da Comissão Editorial.

### MANUSCRITOS

Devem ser acompanhados por carta de concessão de direitos autorais e anuência, modelo disponível no site da SBZ, assinada por todos os autores. Os artigos devem ser enviados em três vias impressas e em mídia digital, disquete ou CD, em um único arquivo no formato PDF, incluindo as figuras e tabelas. O texto deverá ser digitado em espaço duplo, com margens esquerda e direita de 3 cm, alinhado à esquerda e suas páginas devidamente numeradas. A página de rosto deve conter: 1) título do artigo, mencionando o(s) nome(s) da(s) categoria(s) superior(es) à qual o(s) animal(ais) pertence(m); 2) nome(s) do(s) autor(es) com endereço(s) completo(s), exclusivo para recebimento de correspondências, e com respectivos algarismos arábicos para remissões; 3) resumo em inglês, incluindo o título do artigo se o mesmo for em outro idioma; 4) palavras-chave em inglês, no máximo cinco, em ordem alfabética e diferentes daquelas utilizadas no título; 5) resumo e palavras-chave na mesma língua do artigo, ou em português se o artigo for em inglês, e equivalentes às do resumo em inglês. O conjunto de informações dos itens 1 a 5 não deve exceder a 3500 caracteres considerando-se espaços.

Os nomes de gênero(s) e espécie(s) são os únicos do texto em *itálico*. A primeira citação de um taxa no texto, deve vir acompanhada do nome científico por extenso, com autor e data, e família.

Citações bibliográficas devem ser feitas em caixa alta reduzida (VERSALETE) e da seguinte forma: SMITH (1990), SMITH (1990: 128), LENT & JURBERG (1965), GUIMARÃES *et al.* (1983), artigos de um mesmo autor ou seqüências de citações devem ser arrolados em ordem cronológica.

### ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Fotografias, desenhos, gráficos e mapas serão denominados figuras. Desenhos e mapas devem ser feitos a traço de nanquim ou similar. Fotografias devem ser nítidas e contrastadas e não misturadas com desenhos. A relação de tamanho da figura, quando necessária, deve ser apresentada em escala vertical ou horizontal.

As figuras devem estar numeradas com algarismos arábicos, no canto inferior direito e chamadas no texto em ordem crescente, devidamente identificadas no verso, obedecendo a proporcionalidade do espelho (17,0 x 21,0 cm) ou da coluna (8,3 x 21,0 cm) com reserva para a legenda.

Legendas de figuras devem ser digitadas logo após à última referência bibliográfica da seção Referências Bibliográficas, sendo para cada conjunto um parágrafo distinto.

Gráficos gerados por programas de computador, devem ser inseridos como figura no final do texto, após as tabelas, ou enviados em arquivo em separado. Na composição dos gráficos usar fonte Arial. Não utilizar caixas de texto.

Figuras em formato digital devem ser enviadas em arquivos separados, no formato TIF com compactação LZW. No momento da digitalização utilizar as seguintes definições mínimas de resolução: 300 ppp para fotos coloridas ou em tons de cinza; 600 ppp para desenhos a traço. Não enviar desenhos e fotos originais quando da submissão do manuscrito, se necessário, serão solicitados a posteriori.

Tabelas devem ser geradas a partir dos recursos de tabela do editor de texto utilizado, numeradas com algarismos romanos e inseridas após a última legenda de figura. O cabeçalho de cada tabela deve constar junto à respectiva tabela.

Figuras coloridas poderão ser publicadas com a diferença dos

encargos custeada pelo(s) autor(es).

### AGRADECIMENTOS

Agradecimentos, indicações de financiamento e menções de vínculos institucionais devem ser relacionados antes do item Referências Bibliográficas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As Referências Bibliográficas, mencionadas no texto, devem ser arroladas no final do trabalho, como nos exemplos abaixo.

Periódicos devem ser citados com o nome completo, sem utilização de abreviaturas.

Não serão aceitas referências de artigos não publicados (ICZN, Art. 9).

#### Periódicos

NOGUEIRA, M.R.; A.L. PERACCHI & A. POL. 2002. Notes on the lesser white-lined bat, *Saccopteryx leptura* (Schreber) (Chiroptera, Emballonuridae), from southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia* 19 (4): 1123-1130.

LENT, H. & J. JURBERG. 1980. Comentários sobre a genitália externa masculina em *Triatoma* Laporte, 1832 (Hemiptera, Reduviidae). *Revista Brasileira de Biologia* 40 (3): 611-627.

SMITH, D.R. 1990. A synopsis of the sawflies (Hymenoptera, Symphita) of America South of the United States: Pergidae. *Revista Brasileira de Entomologia* 34 (1): 7-200.

#### Livros

HENNIG, W. 1981. *Insect phylogeny*. Chichester, John Wiley, XX+514p.

#### Capítulo de livro

HULL, D.L. 1974. Darwinism and historiography, p. 388-402. *In*: T.F. GLICK (Ed.). *The comparative reception of Darwinism*. Austin, University of Texas, IV+505p.

#### Publicações eletrônicas

MARINONI, L. 1997. Sciomyzidae. *In*: A. SOLÍS (Ed.). *Las Familias de insectos de Costa Rica*. Disponível na World Wide Web em: <http://www.inbio.ac.cr/papers/insectoscr/Texto630.html> [data de acesso].

### ENCAMINHAMENTO

Os artigos enviados à RBZ serão protocolados e encaminhados para consultores. As cópias do artigo, com os pareceres emitidos serão devolvidos ao autor correspondente para considerar as sugestões. Estas cópias juntamente com a versão corrigida do artigo impressa e o respectivo disquete, devidamente identificado, deverão retornar à RBZ. Alterações ou acréscimos aos artigos após esta fase poderão ser recusados. Provas serão enviadas eletronicamente ao autor correspondente.

### SEPARATAS

Todos os artigos serão reproduzidos em 50 separatas, e enviadas gratuitamente ao autor correspondente. Tiragem maior poderá ser atendida, mediante prévio acordo de custos com o editor.

### EXEMPLARES TESTEMUNHA

Quando apropriado, o manuscrito deve mencionar a coleção da instituição onde podem ser encontrados os exemplares que documentam a identificação taxonômica.

### RESPONSABILIDADE

O teor gramatical, independente de idioma, e científico dos artigos é de inteira responsabilidade do(s) autor(es).