

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Revisão taxonômica e elaboração de mapas de distribuição geográfica de espécies
brasileiras da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815
(Gastropoda, Basommatophora)**

por

Camilla de Medeiros de Carvalho

Belo Horizonte, MG
Fevereiro/2014

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Revisão taxonômica e elaboração de mapas de distribuição geográfica de espécies
brasileiras da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815
(Gastropoda, Basommatophora)**

por

Camilla de Medeiros de Carvalho

**Tese apresentada com vistas à obtenção do Título
de Doutor em Ciências da Saúde na área de
concentração Doenças Infecciosas e Parasitárias.**

Orientação: Dra. Roberta Lima Caldeira

Co-orientações: Dra. Sthefane D'ávila

Dr. Omar dos Santos Carvalho

Belo Horizonte, MG
Fevereiro/2014

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do CPqRR
Segemar Oliveira Magalhães CRB/6 1975

C331r Carvalho, Camilla de Medeiros de.
2014

Revisão taxonômica e elaboração de mapas de distribuição geográfica de espécies brasileiras da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815 (Gastropoda, Basommatophora) / Camilla de Medeiros de Carvalho. – Belo Horizonte, 2014.

XX, 115 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f.: 107 - 135

Tese (Doutorado) – Tese para obtenção do título de Doutor em Ciências pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Centro de Pesquisas René Rachou. Área de concentração: Doenças Infecciosas e Parasitárias.

1. Fasciola/patogenicidade 2. Trematódeos/parasitologia 3. Moluscos/parasitologia I. Título. II. Caldeira, Roberta Lima (Orientação). III. D'ávila, Sthefane (Co-orientação) IV. Carvalho, Omar dos Santos (Co-orientação)

CDD – 22. ed. – 616.362

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Revisão taxonômica e elaboração de mapas de
distribuição geográfica de espécies brasileiras da
família Lymnaeidae Rafinesque, 1815
(Gastropoda, Basommatophora)**

por

Camilla de Medeiros de Carvalho

MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS RENÉ RACHOU
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**Revisão taxonômica e elaboração de mapas de
distribuição geográfica de espécies brasileiras da
família Lymnaeidae Rafinesque, 1815
(Gastropoda, Basommatophora)**

por

Camilla de Medeiros de Carvalho

Foi avaliada pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dra. Roberta Lima Caldeira (Presidente)

Prof. Dra. Suzete Rodrigues Gomes

Prof. Dra. Flávia Oliveira Junqueira

Prof. Dra. Cristiane Lafetá Furtado de Mendonça

Prof. Dr. Gustavo Mayr de Lima Carvalho

Suplente: Dra. Rita de Cássia Moreira de Souza

Tese defendida e aprovada em: 26/02/2014

“A mente que se abre a uma nova idéia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

AGRADECIMENTOS

À Deus que iluminou o meu caminho durante esta caminhada.

Aos meus pais Lenir e Carlos, por sempre estarem presentes e por me apoiarem em todos os momentos, por acreditarem em meu potencial, pelo seu amor incondicional. Aos demais familiares, primos(as) e tios(as), pelo apoio mesmo a distância, e aos que diretamente me incentivaram. Agradeço aos meus padrinhos Nilza e Antônio, meus tios e tias e em especial minhas primas Maria do Carmo, Marisa, Maria Eduarda e Ana Clara por todo o apoio.

Ao meu esposo e amor da minha vida Jorge, pessoa com quem escolhi partilhar a vida, obrigado por todo o amor, carinho e companheirismo. Com você tenho me sentido mais viva de verdade. Agradeço a sua família, que também se tornou a minha, por todo o carinho.

À minha orientadora Profa. Dra. Roberta Lima Caldeira, exemplo de profissional e de dedicação ao trabalho. Obrigado pela confiança, amizade, incentivo e pelos valiosos ensinamentos sobre Malacologia Médica.

Ao meu co-orientador Dr. Omar dos Santos Carvalho pelas valiosas sugestões, pela confiança e oportunidade de desenvolver o trabalho.

À minha co-orientadora Dra. Sthefane D'ávila, pela qual tenho admiração pela profissional e pessoal, agradeço por todos esses anos de amizade desde o período de estágio na graduação, por todas as oportunidades e incentivos na carreira científica.

Ao meu supervisor de doutorado sanduíche no exterior, Dr. Gary Rosenberg, por ter me recebido no departamento de Malacologia da Academia de Ciências Naturais da Universidade de Drexel, Filadélfia, Estados Unidos, por todos os ensinamentos sobre taxonomia e incentivo durante o período de intercâmbio.

Ao Dr. Jean Pierre Pointier (Universidade de Perpignan, França) por todos os ensinamentos sobre Lymnaeidae, pelo incentivo e generosidade na doação de limneídeos que fizeram parte deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica e Centro de Pesquisas René Rachou: Cryslaine, Tatiana, Antônio, Karen, Gisele, Lidiane, Sílvia, Ivana, Luandy, Sita, Ronaldo, Cristiane, Cristiano, Liana, Cíntia, Carlos, Raianna, Amanda, Ana Luiza e Felipe, que sempre estiveram presentes, e que me apoiaram em todos os momentos, pela amizade e por todos os momentos agradáveis na hora do café, que ajudaram a tornar este período "mais leve".

Agradeço especialmente aos amigos Cryslaine e André pelos momentos agradáveis de amizade e companhia, principalmente no meu começo em Belo Horizonte.

Aos amigos do Departamento de Malacologia da Academia de Ciências Naturais da Universidade de Drexel, Filadélfia, Samanta, Makiri, Francisco, Paul, David e demais estagiários e voluntários do departamento. Em especial à Samanta, por ter se tornado uma grande amiga. Agradeço especialmente à Alina do Departamento de Botânica, pela amizade, agradável companhia e por ter me ajudado na adaptação nos meses que moramos juntas na Filadélfia.

Aos amigos do Museu de Malacologia Maury Pinto de Oliveira, Universidade Federal de Juiz de Fora: Lidiane, Liliane, Tércia, Flávia, Maria Alice, Thays, Ana Carolina, Patrícia, Emily, Vinícius, Evelyn, Fabíola e Prof. Dra. Elisabeth Bessa pela amizade, ajuda no trabalho e pela alegria na convivência.

Aos demais amigos de Juiz de Fora e Teresópolis que mesmo a distância sempre me apoiaram e incentivaram.

Ao Centro de Pesquisas René Rachou pelo apoio estrutural, financeiro e pela bolsa concedida durante os 4 anos de estudo.

Às agências financiadoras: FAPEMIG pelo financiamento de parte do projeto e CNPq pela bolsa de doutorado sanduíche concedida.

Ao Dr. Andre Reimann e à Dra. Katrin Schniebs (Museu Senckenberg, Alemanha) pela doação de limnédeos que fizeram parte deste trabalho.

Ao Dr. Luiz R. Simone (Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo) e à Dra. Silvana Thiengo (Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz/RJ) por terem permitido meu acesso e consulta ao acervo das coleções de malacologia de suas respectivas instituições.

Ao técnico José Geraldo (Zezinho) pelo auxílio nas coletas e ensinamentos sobre como coletar moluscos no campo.

À técnica Ana Vitta e ao Pesquisador Dr. Paulo Filemon Paolucci Pimenta do Laboratório de Entomologia Médica, CPqRR, Fiocruz/MG por realizarem a Microscopia Eletrônica de Varredura das conchas dos limnédeos.

Às secretárias do LHMM, Sandra e Lorena, por todo suporte e auxílio durante a realização deste trabalho.

À Biblioteca do CPqRR em prover acesso gratuito local e remoto à informação técnico científica em saúde custeada com recursos públicos federais, integrante do rol de referências desta tese, também pela catalogação e normalização da mesma.

Enfim, agradeço a todos aqueles que de alguma forma estiveram presentes na minha pessoal e profissional, fazendo esta vida valer cada vez mais a pena.

SUPORTE FINANCEIRO

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica do Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz/MG, com suporte financeiro do Centro de Pesquisa René Rachou, Fiocruz/MG (Programa de Excelência em Pesquisa, PROEP/CPqRR - Processo 401968/2012-0), da Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (Edital Universal/Fapemig - Processo APQ-01633-10), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (Doutorado Sanduíche no Exterior/SWE/CNPq - Processo 245926/2012-7).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE TABELAS.....	xvii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xviii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT.....	xx
1 INTRODUÇÃO.....	21
1.1 Família Lymnaeidae Rafinesque, 1815.....	21
1.2 Classificação dos gêneros da família Lymnaeidae.....	31
1.3 Taxonomia dos limneídeos neotropicais.....	38
1.4 Moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiro intermediário de <i>Fasciola hepatica</i>	43
2 OBJETIVOS.....	47
2.1 Objetivo Geral.....	47
2.2 Objetivos Específicos.....	47
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.1 Amostras e técnicas morfológicas utilizadas.....	48
3.2 Coletas, transporte e embalagem dos moluscos.....	51
3.3 Revisão e retificação taxonômica dos limneídeos presentes na coleção Fiocruz-CMM.....	54
3.4 Elaboração de mapas de distribuição geográfica dos moluscos brasileiros da família Lymnaeidae.....	55
4 RESULTADOS.....	56
4.1 Análise dos espécimes tipo e/ou topótipos e confirmação da presença das espécies de limneídeos no Brasil.....	56
4.1.1 <i>Galba viatrix</i>	56
4.1.2 <i>Galba truncatula</i>	58
4.1.3 <i>Galba cubensis</i>	60
4.1.4 <i>Lymnaea rupestris</i>	63
4.1.5 <i>Pseudosuccinea columella</i> e proposta de um neótipo para a espécie.....	64
4.2 Refinamento e definição de novos caracteres morfológicos.....	68
4.3 Revisão e retificação taxonômica dos limneídeos presentes na coleção Fiocruz-CMM.....	72
4.4 Elaboração de mapas de distribuição geográfica dos moluscos brasileiros da família Lymnaeidae.....	75
5 DISCUSSÃO.....	88
6 CONCLUSÕES.....	102
7 ANEXOS.....	103
7.1 Artigo publicado.....	103
7.2 Prêmio “Dr. Wladimir Lobato Paraense” XI ICMAM.....	104
7.3 Bolsa de doutorado Sanduíche no exterior.....	105
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Exemplar vivo de *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) procedente de Belo Horizonte, MG. Escala: 1 cm..... 20
- Figura 2: *Pseudosuccinea columella*. A. concha; B. manto com o detalhe do ureter com dupla flexão; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata (Figuras B - D: Paraense, 1983).
Legenda: au: aurícula; bo: bolsa do oviduto; bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; eg: encruzilhada genital; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od: segmento distal do ovispermiduto; od': segmento proximal do ovispermiduto; ot: ovotestis; ov: porção inicial do oviduto; ov': porção terminal do oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; sp: espermateca; ur: ureter; ut: útero; va: vagina; vd: vaso deferente; ve: ventrículo; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm..... 27
- Figura 3: *Galba viatrix*. A. concha; B. manto; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata próstata (Figuras B - D: Paraense, 1976a). Legenda: au: aurícula; bo: bolsa do oviduto; bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; es: espermateca; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od: segmento proximal do ovispermiduto; od': segmento distal do ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; ur: ureter; va: vagina; vd: vaso deferente; ve: ventrículo; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm..... 27
- Figura 4: *Lymnaea rupestris*. A. concha; B. manto; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata (Figuras A - D: Paraense, 1982b). Legenda: bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; es: espermateca; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od: segmento proximal do ovispermiduto; od': segmento distal do ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia

	pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; ur: ureter; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.....	28
Figura 5:	<i>Galba truncatula</i> . A. concha; B. sistema reprodutor (Figura B: Samadi <i>et al.</i> , 2000). Legenda: ac: câmaras apicais; ag: glândula de albúmen; ng: glândula nidamental; od: ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; ps: bainha do pênis; rm: músculo retrator do prepúcio; sp: espermateca; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.....	28
Figura 6:	<i>Galba cubensis</i> . A. concha; B. sistema reprodutor (Figura B: Samadi <i>et al.</i> , 2000). Legenda: ac: câmaras apicais; ag: glândula de albúmen; ng: glândula nidamental; od: ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; ps: bainha do pênis; rm: músculo retrator do prepúcio; sd: espermiduto; sp: espermateca; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.....	29
Figura 7:	Filogenia dos moluscos da família Lymnaeidae proposta por Correa <i>et al.</i> , (2010).....	35
Figura 8:	Ciclo de vida de <i>Fasciola hepatica</i> . (Carvalho <i>et al.</i> , 2008).....	42
Figura 9:	A. Raspagem com a concha no fundo e nas margens do criadouro, local de coleta: Nova Teutônia, SC; B. Coletas utilizando pinças diretamente no criadouro, local de coleta: Juiz de Fora, MG.....	49
Figura 10:	<i>Galba viatrix</i> de Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 5100), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMM 5086); C. Vesícula seminal (Fiocruz-CMM 5102); D. Ovotestis (Fiocruz-CMM 5080), escala: 100 µ. Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.....	55
Figura 11:	<i>Galba viatrix</i> de Rio Negro, Argentina A. Concha, escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Ovotestis (Fiocruz-CMIOC 1900), escala: 100 µ. Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ov: oviduto, pp:	

prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente..... 56

Figura 12: *Galba truncatula* de Rio Acima, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 6336), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Vesícula seminal (Fiocruz-CMM 6344); E. Ovotestis (Fiocruz-CMM 6338), escala: 100 μ .
Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: oviespermiduto, ov: oviduto, pm: músculo protrator, pmp: músculo protrator do prepúcio, pms: músculo protrator da bainha do pênis, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, rm: músculo retrator, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente..... 57

Figura 13: *Galba truncatula* de Thuringia, Alemanha A. Concha (Fiocruz-CMM 14858), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Vesícula seminal; E. Ovotestis (Fiocruz-CMM 14856), escala: 100 μ .
Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: oviespermiduto, ot: ovotestis, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente..... 58

Figura 14: *Galba cubensis* de Belo Horizonte, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 6209), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMM 6185); C. Complexo peniano; D. Ovotestis (Fiocruz-CMM 6189), escala: 100 μ .
Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: oviespermiduto, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente..... 60

Figura 15: *Galba cubensis* de Havana, Cuba A. Concha (Fiocruz-CMM 14931), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Ovotestis (Fiocruz-CMM 14909), escala: 100 μ .
Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula

- nidamental, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente..... 61
- Figura 16: *Lymnaea rupestris* de Nova Teutônia, Seara, SC, Brasil A. Concha do lectótipo (Fiocruz-CMIOC 2741), escala: 1mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMIOC 2741); C. Complexo peniano (Fiocruz-CMIOC 2740); D. Ovotestis (Fiocruz-CMIOC 2741), escala: 100 µ. Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, sv: seminal vesicle, va: vagina, vd: vaso deferente..... 62
- Figura 17: *Pseudosuccinea columella* de Belo Horizonte, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 4545), escala: 1mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano (Fiocruz-CMM 4542), escala: 100 µ. Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, op: ovispermiduto, ot: ovotestis, ov: oviduto, pmp: músculo protractor do prepúcio; pms: músculo protractor da bainha do pênis, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, rm: músculo retrator, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, sv: vesícula seminal; va: vagina, vd: vaso deferente..... 64
- Figura 18: Exemplos considerados da série tipo depositados na coleção ANSP. A. Lote ANSP 58791; B. Etiqueta do lote ANSP 58791; C. Lote ANSP 330012, a seta indica a menção do autor que os exemplares são uma variação da espécie (var.); D. Etiqueta do lote ANSP 330012 com o número equivocado, ANSP 330011 ao invés de ANSP 330012..... 65
- Figura 19: *Pseudosuccinea columella* A. Concha, escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano (ANSP A15410), escala: 100 µ. Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ot: ovotestis; ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca,

	spd: ducto da espermateca, sv: vesícula seminal, va: vagina, vd: vaso deferente.....	66
Figura 20:	Sistema digestivo de Lymnaeidae. Estômago: A. <i>Pseudosuccinea columella</i> , B. <i>Galba</i> ; Lamela: C. <i>P. columella</i> , D. <i>Galba</i> ; Massa bucal: E. <i>Pseudosuccinea columella</i> , F. <i>Galba</i>	67
Figura 21:	Microscopia eletrônica de varredura de A - B. <i>Galba viatrix</i> (Fiocruz-CMM 5099 and 5087); C - D. <i>Galba truncatula</i> (Fiocruz-CMM 6361); E. - F. <i>Galba cubensis</i> (Fiocruz-CMM 6212).....	70
Figura 22:	Gráfico demonstrando a situação do acervo em relação ao número de exemplares de limneídeos depositados na coleção Fiocruz-CMM no período anterior à avaliação e retificação.....	71
Figura 23:	Gráfico demonstrando a situação do acervo em relação ao número de exemplares de limneídeos depositados na coleção Fiocruz-CMM no período posterior à avaliação e retificação.....	72
Figura 24:	Distribuição espacial de <i>Pseudosuccinea columella</i> no Brasil.....	83
Figura 25:	Distribuição espacial de <i>Galba viatrix</i> , <i>G. cubensis</i> , <i>G. truncatula</i> , <i>Lymnaea rupestris</i> e <i>Lymnaea</i> sp. no Brasil.....	83
Figura 26:	Distribuição espacial de Lymnaeidae na região Sul do Brasil.....	84
Figura 27:	Distribuição espacial de Lymnaeidae na região Sudeste do Brasil.....	85
Figura 28:	Distribuição espacial de Lymnaeidae nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil.....	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	Estado atual da taxonomia, sinonímia, ocorrência e suscetibilidade à <i>Fasciola hepatica</i> das espécies válidas de limneídeos neotropicais.....	20
Tabela 2:	Principais características morfológicas utilizadas na distinção das espécies válidas de limneídeos neotropicais de acordo com Barges <i>et al.</i> , (2007, 2011a,b, 2012); Hubendick (1951); Malek (1985); Paraense (1976, 1982, 1983, 1984, 1986, 1995); Pointier <i>et al.</i> (2004, 2009) e Velásquez (2006).....	21
Tabela 3:	Gêneros, subgêneros e espécies de limneídeos neotropicais segundo diferentes autores e a relação entre número de gêneros/espécies.....	34
Tabela 4:	Espécies, localidade da coleta, tamanho da amostra e lotes de limneídeos utilizados para confirmação das espécies presentes no Brasil.....	46
Tabela 5:	Exemplares de limneídeos coletados. Dados sobre data e localidade das coletas, quantidade de limneídeos coletados, identificação morfológica e códigos dos exemplares depositados na coleção Fiocruz-CMM.....	50
Tabela 6:	Diferenças morfológicas entre as espécies do gênero <i>Galba</i>	68
Tabela 7:	Principais características diagnósticas qualitativas da concha nas espécies do gênero <i>Galba</i>	69
Tabela 8:	Distribuição de <i>Pseudosuccinea columella</i> no Brasil de acordo com a literatura e depósito em coleções malacológicas brasileiras..	73
Tabela 9:	Distribuição de <i>Galba viatrix</i> , <i>G. rupestris</i> , <i>G. cubensis</i> , <i>Lymnaea truncatula</i> e <i>Lymnaea</i> sp. no Brasil de acordo com a literatura e depósito em coleções malacológicas brasileiras.....	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C = graus celsius

ANSP = Academia de Ciências Naturais da Universidade de Drexel, Filadélfia, Estados Unidos

CPqRR = Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, MG, Brasil

CRIA = Centro de Referência em Informação Ambiental

DNA = Ácido desoxirribonucleico

Fiocruz-CMIOC = Coleção de Malacologia, IOC/RJ

Fiocruz-CMM = Coleção de Malacologia Médica, CPqRR/MG

GPS = Sistema de Posicionamento Global

ICZN = Código Internacional de Nomenclatura Zoológica

INPA = Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, AM, Brasil

IOC = Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

ITS1 e ITS2 = Região espaçadora transcrita interna um e dois

km = quilômetro

LHMM = Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica, CPqRR, Fiocruz/MG

MEV = Microscopia Eletrônica de Varredura

mg = miligrama

mm = milímetro

MNHP = Museu de História Natural de Paris, França

MZUSP = Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, SP, Brasil

NHM = Museu Britânico de História Natural, Londres, Inglaterra

OMS = Organização Mundial da Saúde

P.A. = Pureza absoluta

PCR = Reação em Cadeia da Polimerase

PUCRS = Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil

rDNA = DNA ribossomal

DNAmt = DNA mitocondrial

RFLP = Polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição

UFES-Malacologia = Departamento de Malacologia, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil

UFJF = Universidade Federal de Juiz de Fora, MG, Brasil

UMMZ = Museu de Zoologia, Universidade de Michigan, Estados Unidos

UV = Universidade de Valência, Espanha

RESUMO

Moluscos da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815, atuam como hospedeiros intermediários do trematódeo *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758, agente etiológico da fasciolose, doença parasitária de importância médica e veterinária. As áreas mais críticas onde a doença representa um problema de saúde pública estão localizadas nos países Andinos (Bolívia, Peru, Chile, Equador), região do Caribe (Cuba), norte da África (Egito) e Europa ocidental (Portugal, França e Espanha). Estima-se que mais de 20 milhões de pessoas encontram-se infectadas em todo o mundo. A variabilidade na morfologia da concha e a uniformidade na anatomia interna são características de vários gêneros e espécies da família as quais dificultam a determinação específica. Os objetivos do presente trabalho foram: 1) Analisar a morfologia de espécimes tipo ou topótipos das espécies *Galba viatrix* d'Orbigny, 1835, *G. truncatula* (Müller, 1774), *G. cubensis* Pfeiffer, 1839, *Lymnaea rupestris* Paraense, 1982 e *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) e compará-las com limneídeos procedentes do Brasil; 2) Elucidar a localidade tipo de *P. columella*; 3) Refinar e definir novos caracteres morfológicos que possam ser utilizados na identificação; 4) Rever e retificar a taxonomia dos limneídeos do acervo da coleção Fiocruz-CMM; 5) Elaborar mapas de distribuição geográfica dos limneídeos brasileiros. Através das análises dos topótipos e de exemplares coletados no Brasil foram confirmadas a presença de *G. viatrix*, *G. truncatula*, *G. cubensis* e *P. columella*. Um neótipo é proposto para *P. columella*, considerando o desconhecimento da localidade tipo e a invalidade da série tipo para essa espécie. As diferenças evidenciadas entre as espécies de limneídeos foram encontradas principalmente na concha (microescultura e formato), sistema digestivo (estômago e glândulas salivares) e sistema reprodutor (oviduto, próstata, complexo peniano, vesicular seminal e ovotestis). Após avaliação e retificação, o acervo Fiocruz-CMM ficou composto por sete espécies em um total de 98 pontos de coleta, sendo 64 (65.3%) identificados com exemplares da espécie *P. columella*, 14 (14.3%) com *G. truncatula*, oito (8.2%) com *G. cubensis*, sete (7.1%) com *G. viatrix*, dois (2%) com *L. diaphana* King, 1830, dois (2%) com *L. peregra* (Müller, 1774) e um (1%) com *L. stagnalis* (Linnaeus, 1758). Após o levantamento da ocorrência das espécies no Brasil registrou-se: *P. columella* em 400 municípios (95,7%), *G. viatrix* em 10 (2,4%), *G. cubensis* em seis (1,4%), *G. truncatula* em três (0,7%) e *L. rupestris* em um (0,2%). Pela primeira vez, foi elaborado mapas de distribuição de limneídeos no Brasil.

ABSTRACT

Snails of the family Lymnaeidae act as intermediate hosts of the trematode *Fasciola hepatica*, the etiologic agent of fasciolosis, a parasitic disease of medical and veterinary importance. The most critical areas where this disease is a problem of public health are located in the Andean countries (Bolivia , Peru , Chile , Ecuador), the Caribbean region (Cuba), North Africa (Egypt) and western Europe (Portugal, France and Spain). It is estimated that over 20 million people are infected worldwide. The variability in shell morphology and uniformity in the internal anatomy of various genera and species are characteristic of the family Lymnaeidae hampering the specific determination. The objectives of this study were to perform: 1) To analyze the morphology of the type specimens or topotypes of species *Galba viatrix* d'Orbigny, 1835, *G. truncatula* (Müller, 1774), *G. cubensis* Pfeiffer, 1839, *Lymnaea rupestris* Paraense, 1982 and *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) and compares them with those species occurring in Brazil; 2) Elucidate the type locality of *P. columella*; 3) Refine and define new morphological characters for lymnaeids species from Brazil; 4) Review and rectify the taxonomy of the lymnaeids samples from Fiocruz-CMM; 5) Develop maps geographic distribution of brazilian lymnaeids. Through the analysis of topotypes and specimens collected in Brazil, we confirmed the presence of *G. viatrix*, *G. truncatula*, *G. cubensis* and *P. columella*. A new neotype was proposed for *P. columella*, regarding the unknown type locality and the invalidity of types series to this species. The differences observed between lymnaeids species were mainly found in the shell (microsculpture and shape), digestive system (stomach and salivary glands) and reproductive system (oviduct, prostate, penial complex, seminal vesicle and ovotestis). After rectifying and evaluating the collection Fiocruz-CMM is composed of seven species in a total of 98 sampling points, with 64 (65.3%) identified as *P. columella*, 14 (14.3%) as *G. truncatula*, eight (8.2%) as *G. cubensis*, seven (7.1%) as *G. viatrix*, two (2%) as *L. diaphana* King, 1830, two (2%) as *L. peregra* (Müller, 1774) and one (1%) as *L. stagnalis* (Linnaeus, 1758). After the research about occurrences of the species in Brazil was registered: *P. columella* in 400 municipalities (95.7 %), *G. viatrix* in 10 (2.4 %), *G. cubensis* in six (1.4 %), *G. truncatula* in three (0.7 %) and *L. rupestris* in one (0.2 %). For the first time, maps of the distribution of lymnaeids were developed in Brazil.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Família Lymnaeidae Rafinesque, 1815

Moluscos da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815 além de atuarem como pragas agrícolas (Stevens, 2002), participam como hospedeiros intermediários no ciclo biológico do trematódeo *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758, agente etiológico da fasciolose, parasitose de importância médica e veterinária (Hurtrez-Boussès *et al.*, 2001; Mas-Coma *et al.*, 2005). A fasciolose é responsável por significativas perdas econômicas, relacionadas à mortalidade, tratamento e baixa produção em animais da pecuária (Sinclair, 1967; Luz *et al.*, 1992; Mas-Coma *et al.*, 1995; Dacal, 1988; Coelho & Lima, 2003). Aproximadamente 2 bilhões de dólares por ano são gastos no tratamento dos animais (Smooker *et al.*, 1997). Desde 1980, o número de casos de fasciolose humana tem aumentado e estima-se que mais de 20 milhões de pessoas encontram-se infectadas em todo o mundo (Gayo & Mera y Sierra, 2010). Dessa maneira, uma nova classificação epidemiológica foi reconhecida pela OMS, a qual propõe que a fasciolose não deve mais ser considerada uma doença zoonótica secundária, mas uma importante doença parasitária humana (Chen & Mott, 1990; Mas-Coma *et al.*, 1999a, 2003; Mas-Coma, 2004).

As espécies da família Lymnaeidae estão amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América, Europa, Ásia, África e Oceania (Hubendick, 1951; Burch, 1982; Brown, 1994). A identificação e o conhecimento da distribuição das espécies presentes na região Neotropical, têm sido objeto de estudos por diversos autores, através da utilização de técnicas morfológicas, moleculares ou ambas (Paraense, 1976a, 1982a,b, 1983, 1984, 1986, 1994, 1995, 2004; Durand *et al.*, 2002; Pointier *et al.*, 2004, 2006, 2009; Carvalho *et al.*, 2004; Cardoso *et al.* 2006; Velásquez, 2006; Mera y Sierra, 2009; Artigas *et al.*, 2011; Bargues *et al.*, 2011a,b, 2012; Correa *et al.*, 2011).

Os limnédeos (Figura 1) são encontrados em diferentes habitats aquáticos, naturais (solo argiloso ou semi-argiloso parcialmente enterrados ou associados a vegetação macrófita, margens de córregos, riachos, lagos, lagoas e pântanos de águas com pouca correnteza) (Ueno *et al.*, 1982) ou artificiais (tanques, pequenos açudes e valas de irrigação) (Gomes *et al.*, 1975; Abilio & Watanabe, 1998; Coelho & Lima, 2003; Carvalho *et al.*, 2008).



Figura 1. Exemplar vivo de *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817) procedente de Belo Horizonte, MG. Escala: 1 cm.

Os moluscos da família Lymnaeidae são semelhantes aos da família Physidae, porém a concha nos limneídeos é dextrógira e os olhos localizam-se na base interna dos tentáculos que são achatados e triangulares. Os limneídeos possuem características morfológicas particulares, sendo facilmente distinguíveis em relação às espécies incluídas nas demais famílias de gastrópodes límnicos (Malek, 1985). A concha que varia de 7 a 17 mm é cônica alongada, fina, enrolada em hélice, apresenta voltas convexas, suturas rasas ou profundas, perióstraco lustroso de coloração marrom, sem opérculo, dextrógira, espira triangular pontiaguda ou pouco achatada, abertura geralmente oval alongada ou arredondada ovóide ocupando metade ou 3/4 do comprimento total da concha, lábio interno refletido sobre o umbílico e perístoma cortante ou levemente rebatido em sua porção basal. O pé é oblongo, com extremidade anterior e posterior arredondadas e superfícies ventrais lisas. A região cefálica possui tentáculos achatados e triangulares, na base dos quais localizam-se os olhos. No manto, a porção final do tubo renal, o ureter, pode apresentar flexão simples para a direita ou dupla flexão de acordo com a espécie. A abertura genital masculina localiza-se abaixo do tentáculo direito e a feminina abaixo do colar do manto, próximo ao pneumóstoma e a abertura renal na região da pseudobrânquia (Paraense, 1976a, 1982a,b, 1983, 1984, 1986, 1994, 1995, 2004).

Estudos comparativos da morfologia da concha, sistema reprodutor, sistema renal e rádula e de estudos de biologia molecular, possibilitaram o reconhecimento de 3 gêneros e 10 espécies válidas de limneídeos para a região Neotropical. Na tabela 1 estão as considerações sobre a taxonomia, distribuição e suscetibilidade à *Fasciola hepatica*, na tabela 2 estão listadas as principais características morfológicas dessas espécies.

Introdução

Tabela 1. Estado atual da taxonomia, sinonímia, ocorrência e suscetibilidade à *Fasciola hepatica* das espécies válidas de limneídeos neotropicais.

Espécies	Localidade-tipo	Depósito da série tipo	Descrição da Morfo-anatomia	Sinonímias	Distribuição na região neotropical	Suscetibilidade à <i>Fasciola hepatica</i>
<i>Pseudosuccinea columella</i> (Say, 1817)	Filadélfia, Pensilvânia, Estados Unidos	ANSP	Paraense, 1983 Paraense, 1986	<i>Lymnaea peregrina</i> (Paraense, 1994) <i>Lymnaea andeana</i> (Hubendick, 1951) <i>L. ubaquensis</i> (Malek, 1985)	Argentina, Brasil, Colômbia, Costa Rica, Chile, Cuba, Equador, Guatemala, Jamaica, México, Panamá, Porto Rico, Uruguai e Venezuela.	Suscetível (Rezende <i>et al.</i> , 1973; Prepelitchi <i>et al.</i> , 2003)
<i>Galba truncatula</i> (Müller, 1774)	Thangelstedt, Thuringia, Alemanha	?	Samadi <i>et al.</i> , 2000	-	Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Peru e Venezuela.	Suscetível (Bargues <i>et al.</i> , 2001)
<i>Galba viatrix</i> d'Orbigny, 1835	Rio Negro, Viedma-Patagônia, Argentina	MNHP	Paraense, 1976a Pointier <i>et al.</i> , 2006	-	Argentina, Bolívia, Brasil, Cuba, Chile, Haiti, Jamaica, Martinica, México, Porto Rico, Peru, República Dominicana e Uruguai.	Suscetível (Kleiman <i>et al.</i> , 2004)
<i>Galba cubensis</i> Pfeiffer, 1839	Havana, Cuba	?	Samadi <i>et al.</i> , 2000 Pointier <i>et al.</i> , 2006	-	Brasil, Colômbia, Cuba, Guadalupe, Martinica, Mexico, Porto Rico, República Dominicana, Uruguai e Venezuela .	Suscetível (Gutierrez <i>et al.</i> , 2000)
<i>Lymnaea diaphana</i> King, 1830	Estreito de Magalhães, San Gregorio, Chile	NHM	Paraense, 1984	<i>Lymnaea pictonica</i> <i>Lymnaea patagonica</i> <i>Lymnaea lebruni</i> (Hubendick, 1951)	Argentina, Chile e Peru.	Suscetível (Bargues & Mas-Coma, 2005; Malek, 1985)
<i>Lymnaea schirazensis</i> Küster, 1863	Shiraz, Irã	UV	Bargues <i>et al.</i> , 2011a	-	Equador, México, Peru, República Dominicana e Venezuela.	Suscetível (Bargues <i>et al.</i> , 2011a)
<i>Lymnaea cousini</i> Jousseume, 1887	Chanchu-Yacu, Quito, Equador	?	Paraense, 1995 Pointier <i>et al.</i> , 2004	<i>Lymnaea bogotensis</i> <i>Lymnaea ubaquensis</i> (Hubendick, 1951)	Bolívia, Chile, Colômbia, Equador e Venezuela.	Suscetível (Villavicencio & Vasconcellos, 2005)
<i>Lymnaea rupestris</i> Paraense, 1982	Distrito Nova Teutônia, Seara, Santa Catarina, Brasil	Fiocruz-CMIOC, ANSP, UMMZ, NHM	Paraense, 1982a	-	Brasil.	Sem registro
<i>Lymnaea neotropica</i> Bargues <i>et al.</i> , 2007	Rio Lurin, Lima, Peru	MNHP, UV	Bargues <i>et al.</i> , 2007 Paraense, 1976a	<i>Galba viatrix</i> var. B "elongata" d'Orbigny, 1835 (Bargues <i>et al.</i> , 2007)	Argentina, Peru e Venezuela.	Suscetível (Mera y Sierra, 2009)
<i>Lymnaea meridensis</i> Bargues <i>et al.</i> , 2011	Mucubaji, Merida, Venezuela	UV	Bargues <i>et al.</i> , 2011b		Venezuela.	Sem registro

Introdução

Legenda da tabela 1 = MNHP: Museu de História Natural de Paris; UV: Universidade de Valência; NHM: Museu Britânico de História Natural, Londres, Inglaterra; Fiocruz-CMIOC: Coleção de Malacologia, IOC/RJ; ANSP: Academia de Ciências Naturais da Universidade de Drexel, Filadélfia; UMMZ: Museu de Zoologia, Universidade de Michigan. ? = sem precisão da instituição de depósito dos lotes da série tipo.

Tabela 2. Principais características morfológicas utilizadas na distinção das espécies válidas de limnédeos neotropicais de acordo com Barges *et al.*, (2007, 2011a,b, 2012); Hubendick (1951); Malek (1985); Paraense (1976, 1982, 1983, 1984, 1986, 1995); Pointier *et al.* (2004, 2009) e Velásquez (2006).

	<i>Pseudosuccinea columella</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba viatrix</i>	<i>Galba cubensis</i>	<i>Lymnaea diaphana</i>	<i>Lymnaea schirazensis</i>	<i>Lymnaea cousini</i>	<i>Lymnaea rupestris</i>	<i>Lymnaea neotropica</i>	<i>Lymnaea meridensis</i>
Concha	Volta corporal bem definida	Voltas convexas	Voltas aumentam em diâmetro	Voltas convexas	Voltas corporais arredondadas	Cônica alongada	Mais cônica, voltas infladas	Voltas subangulosas	Umbílico pronunciado	Volta corporal evidente
Ornamentação da concha	Sulcos espirais cruzam as linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Finas linhas de crescimento	Linhas de crescimento grosseiras, aglomeradas	Linhas de crescimento pronunciadas	Finas linhas de crescimento
Comprimento máximo	17mm	10 mm	12 mm	10 mm	14 mm	5 mm	>14 mm	7 mm	9 mm	9 mm
Abertura	Oval	Oval	Oval	Oval	Oval	Oval, alongada	Oval, ampla	Oval ou arredondada	Oval arredondada	Oval, ampla
Abertura/ Comprimento	2 / 3	1 / 2	1 / 2	1 / 2	1 / 2	3 / 4	2 / 3	1 / 2	1 / 2	2 / 3
Suturas	Rasas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas	Profundas
Número de voltas	4 – 5	5 – 6	4 – 5	6	4 – 5	5,5	4 – 5	4	5,5	3
Rádula – 1 dente lateral	Tricúspide	Bicúspide	Bicúspide, mas pode variar	Bicúspide	Tricúspide	Bicúspide	Tricúspide	Bicúspide	Bicúspide	Não citado na literatura

Introdução

Tabela 2. Principais características morfológicas utilizadas na distinção das espécies válidas de limnédeos neotropicais de acordo com Barges *et al.*, (2007, 2011a,b, 2012); Hubendick (1951); Malek (1985); Paraense (1976, 1982, 1983, 1984, 1986, 1995); Pointier *et al.* (2004, 2009) e Velásquez (2006).

Relação Prepúcio/bainha do pênis	Prepúcio 2 a 6 vezes maior e largura duas vezes maior que a bainha do pênis	Bainha do pênis possui 2/3 do comprimento do prepúcio, muito menor que o prepúcio	1 vez e meia mais largo e mais comprido que a bainha do penis	Bainha do pênis um pouco maior ou menor que o prepúcio	Mesmo tamanho em comprimento e 2 vezes em largura do que a bainha do penis	Pouco mais da metade do comprimento do prepúcio. Largura máxima do prepúcio é 2 ou 3 vezes mais larga que a bainha do pênis	1,5 ou um pouco mais longa que o prepúcio e 2 vezes mais largo que a bainha do pênis	Mesmo tamanho e largura que a bainha do penis	Prepúcio é mais largo e comprido, cerca de 40% maior no comprimento	Bainha do penis um pouco maior, prepúcio é cerca de duas vezes mais largo. A bainha gradulmente se estreita ao poro genital
Bainha do pênis	Curta e cilíndrica, sem protuberância	Curta e cilíndrica	Cilíndrica, sarcobelo presente	Curta e cilíndrica	Com protuberância apical	Cilíndrica; sem protuberância apical	Cilíndrica, protuberância apical	Cilíndrica, protuberância apical	Cilíndrica, sarcobelo presente	Cilíndrica, parte proximal larga
Próstata	Fina linha da grossura do espermiduto	Em forma de cone (“pera”), maior q em <i>L. cubensis</i> e	Ovóide, mas grossa que o espermiduto	Ovóide arredondada, pequena	grande e ovoíde, mas grossa que o espermiduto	Varia de forma de cônica invertida a oval alongada	Grande, ovoíde, dobra na margem esquerda	Quase da mesma largura do espermiduto	Ovóide ou alongada	Aumenta em tamanho na porção final
Corte transversal da próstata	Lúmen reto	Lúmen invaginado	Lúmen invaginado	Lúmen invaginado	Lúmen invaginado	Lúmen reto	Lúmen em forma de J	Lúmen reto	Lúmen invaginado	Lúmen invaginado
Espermiduto	Reto	Reto	Reto	Reto	Muito sinuoso	Reto	Reto, superfície granular	Pouco sinuoso	Reto	Reto
Espermateca	Oval, voltada para o esfago	Oval	Oval, voltada para	Oval	Oval, voltada para a cavidade	Oval	Mais ou menos	Oval, voltada para a	Oval arredondada	Oval

Introdução

a cavidade pulmonar pulmonar alongada a oval cavidade pulmonar

Tabela 2. Principais características morfológicas utilizadas na distinção das espécies válidas de limnédeos neotropicais de acordo com Bargues *et al.*, (2007, 2011a,b, 2012); Hubendick (1951); Malek (1985); Paraense (1976, 1982, 1983, 1984, 1986, 1995); Pointier *et al.* (2004, 2009) e Velásquez (2006).

Vagina	Curta, sem protuberância bulbar	Curta	Curta, sem protuberância a bulbar	Curta	Sem protuberância bulbar	Curta, sem bulbo, parte final tubular	Com protuberância bulbar	Curta, sem protuberância a bulbar	Curta, sem protuberância a bulbar	Curta, com protuberância a bulbar
Útero	Curvado para a direita	Levemente curvado para a direita	Levemente curvado para a direita	Levemente curvado para a direita	Curvado para a direita	Curvado para a direita, paredes enrugadas	Curvado para a direita	Curvado para a direita de forma pronunciada	Curvado para a direita	Curvado
Bolsa do oviduto	Visível	Visível	Visível	Visível	Rudimentar, quase imperceptível	Visível	Visível	Rudimentar, quase imperceptível	Visível, oviduto circunda o espermiduto	Não citado na literatura
Ovotestis	Compacto, pequeno	Superfície lobulada	Superfície lobulada	Superfície lobulada	Compactado, ramificado	Superfície lobulada	Tubos sinuosos	Lobulado, compactado	Superfície lobulada	Compactado
Flexão do ureter	Dupla flexão	Flexionado para a direita	Flexionado para a direita	Flexionado para a direita	Flexionado para a direita	Flexionado para a direita	Dupla flexão	Flexionado para a direita	Flexionado para a direita	Dupla flexão

Para o Brasil, as espécies de limneídeos registradas até o momento são: *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817); *Galba viatrix* d'Orbigny, 1835; *Lymnaea rupestris* Paraense, 1982; *Galba truncatula* (Müller, 1774) e *Galba cubensis* Pfeiffer, 1839. Com exceção de *L. rupestris*, sem informação quanto a sua suscetibilidade, as demais espécies são suscetíveis à infecção por *F. hepatica*. Entretanto, *G. truncatula* e *G. cubensis*, até o momento, não foram encontradas naturalmente infectadas no Brasil (Medeiros *et al.*, 2014).

De acordo com a taxonomia e diagnose, a família Lymnaeidae é caracterizada como: concha de tamanho e formato variáveis (até 70 mm em comprimento, subangulada ou turrizada a oval cônica ou auriculada), próstata não pregueada ou com uma ou várias (5 a 10) pregas internas, número cromossômico haplóide de 18 a 19. A estrutura taxonômica de acordo com a literatura, incluindo os gêneros e espécies mencionadas para o Brasil, seria (Vinarski, 2013):

Família: Lymnaeidae Rafinesque, 1815

Subfamília: Lymnaeinae Rafinesque, 1815

Gênero-tipo: *Lymnaea* Lamarck, 1799

Gênero *Lymnaea* Lamarck, 1799

Diagnose: Concha oblonga, subturrizada, abertura inteira maior em comprimento do que em largura, parte inferior da borda direita se volta entrando na abertura e forma sobre a columela uma dobra oblíqua.

Espécie-tipo: *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758)

Localidade-tipo: Europa

Espécies mencionadas para o Brasil: *L. rupestris* Paraense, 1982.

Distribuição no Brasil: Nova Teutônia, Santa Catarina.

Gênero *Pseudosuccinea* Baker, 1908

Diagnose: Próstata pequena em formato de pera quando vista lateralmente, pênis delgado e maior que a bainha do pênis, primeiro dente lateral tricúspide, concha com espira curta e grande volta corporal.

Espécie-tipo: *P. columella* (Say, 1817)

Localidade tipo: Filadélfia, Pensilvânia, Estados Unidos, embora na descrição original da espécie o autor não tenha referenciado o local específico, Baker (1911) afirma que provavelmente seria essa localidade.

Espécies mencionadas para o Brasil: *P. columella* (Say, 1817).

Distribuição no Brasil: Regiões Sul, Sudeste e nos estados Acre, Amazonas, Bahia, Ceará, Centro-oeste e Paraíba, Brasil.

Gênero: *Galba* Schrank, 1803

Espécie-tipo: *G. truncatula* (Müller, 1774)

Localidade tipo: Thangelstedt, Thuringia, Alemanha.

Diagnose: Conchas pequenas turríadas com uma espira aproximadamente de mesmo comprimento do que a abertura. A protoconcha é cônica e lisa. As suturas da teleoconcha são profundas e possuem suas voltas bem arredondadas. A columela é reta e se reflete sobre o umbílico. O umbílico é geralmente aberto e em forma de fenda.

Espécies mencionadas para o Brasil: *G. truncatula* (Müller, 1774), *G. viatrix* d'Orbigny, 1835 e *G. cubensis* Pfeiffer, 1839.

Distribuição no Brasil: *Galba truncatula* nos estados de Minas Gerais e Rio Grande do Sul. *Galba viatrix* e *G. cubensis* nos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro.

As características morfológicas da concha e anatomia dos órgãos dos sistemas reprodutor e renal são utilizadas para identificação dos moluscos da família Lymnaeidae. São observados a forma e tamanho da concha, abertura da concha (proporção do comprimento da abertura em relação ao comprimento total da concha), tipo de flexão do ureter no manto (flexão simples para a direita ou dupla flexão), formato da próstata, presença ou ausência de protuberância apical na bainha do pênis e ainda a relação do comprimento entre a bainha do pênis e prepúcio (Hubendick, 1951; Paraense, 1976a, 1982b, 1983, 1984, 1986; Malek, 1985; Samadi *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2008), algumas características morfológicas das espécies de limneídeos brasileiras estão nas figuras 2, 3, 4, 5 e 6.

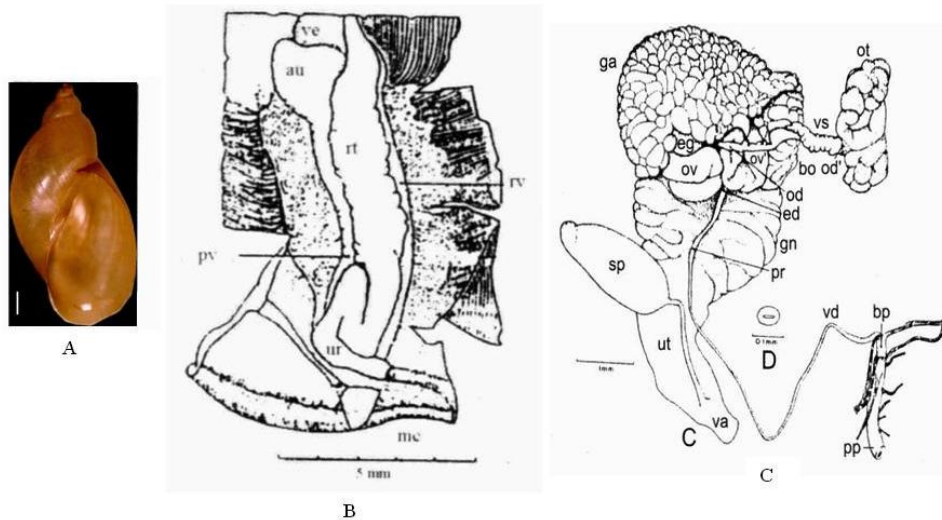


Figura 2. *Pseudosuccinea columella*. A. concha; B. manto com o detalhe do ureter com dupla flexão; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata (Figuras B - D: Paraense, 1983). Legenda: au: aurícula; bo: bolsa do oviduto; bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; eg: encruzilhada genital; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od: segmento distal do ovispermiduto; od': segmento proximal do ovispermiduto; ot: ovotestis; ov: porção inicial do oviduto; ov': porção terminal do oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; sp: espermateca; ur: ureter; ut: útero; va: vagina; vd: vaso deferente; ve: ventrículo; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.

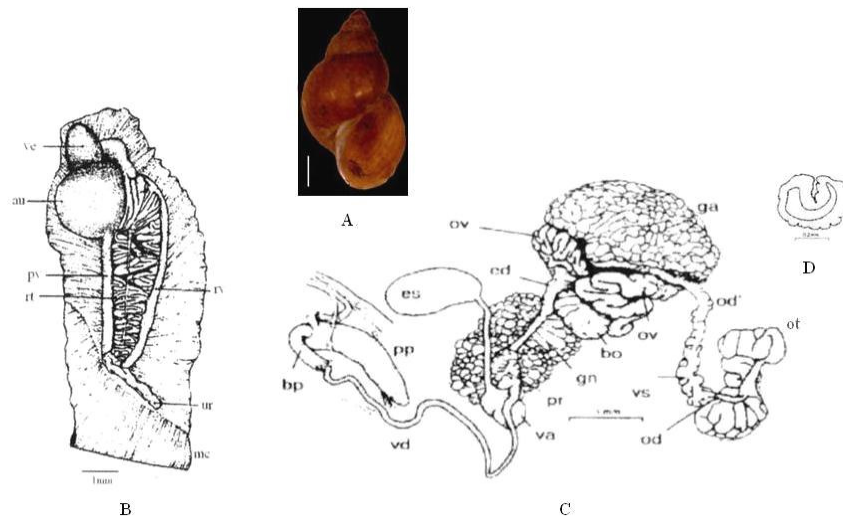


Figura 3. *Galba viatrix*. A. concha; B. manto; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata (Figuras B - D: Paraense, 1976a). Legenda: au: aurícula; bo: bolsa do oviduto; bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; es: espermateca; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od:

segmento proximal do ovispermiduto; od': segmento distal do ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; ur: ureter; va: vagina; vd: vaso deferente; ve: ventrículo; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.

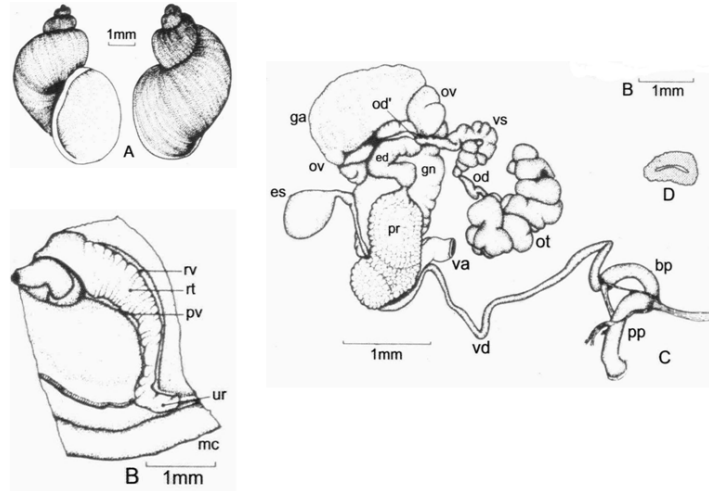


Figura 4. *Lymnaea rupestris*. A. concha; B. manto; C. sistema reprodutor; D. corte transversal da luz da próstata (Figuras A - D: Paraense, 1982b). Legenda: bp: bainha do pênis; ed: espermiduto; es: espermateca; ga: glândula de albúmen; gn: glândula nidamental; mc: músculo columelar; od: segmento proximal do ovispermiduto; od': segmento distal do ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; pv: veia pulmonar; rt: tubo renal; rv: veia renal; ur: ureter; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.

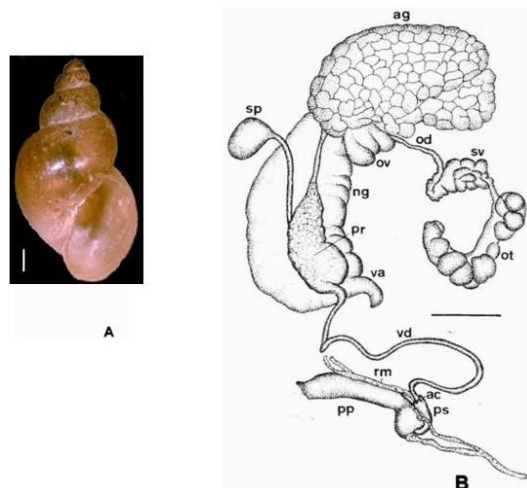


Figura 5. *Galba truncatula*. A. concha; B. sistema reprodutor (Figura B: Samadi *et al.*, 2000). Legenda: ac: câmaras apicais; ag: glândula de albúmen; ng: glândula nidamental; od: ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; ps: bainha do

pênis; rm: músculo retrator do prepúcio; sp: espermateca; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.

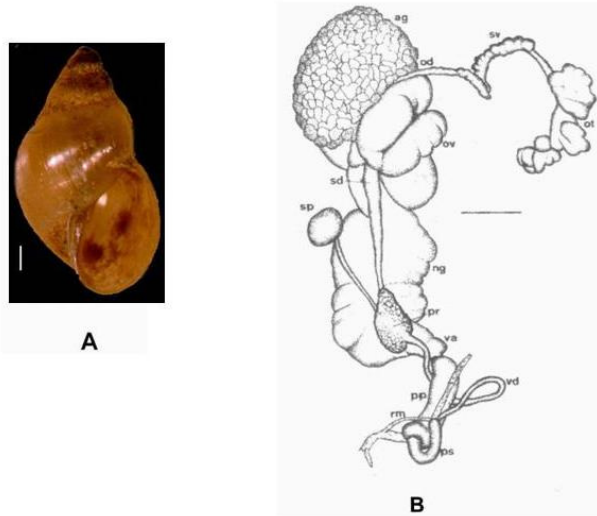


Figura 6. *Galba cubensis*. A. concha; B. sistema reprodutor (Figura B: Samadi *et al.*, 2000). Legenda: ac: câmaras apicais; ag: glândula de albúmen; ng: glândula nidamental; od: ovispermiduto; ot: ovoteste; ov: oviduto; pp: prepúcio; pr: próstata; ps: bainha do pênis; rm: músculo retrator do prepúcio; sd: espermiduto; sp: espermateca; va: vagina; vd: vaso deferente; vs: vesícula seminal. Escala: 1 mm.

1.2 Classificação dos gêneros da família Lymnaeidae

A nomenclatura dos gêneros em Lymnaeidae é confusa em sua sistemática e a maioria dos nomes genéricos não são padronizados e são baseados principalmente em semelhanças fenotípicas do que em relações filogenéticas ou evolutivas (Correa *et al.*, 2010; Vinarski, 2013). Somente um gênero foi reconhecido por Walter (1968), dois por Hubendick (1951) e até 34 gêneros por outros autores (Burch, 1982; Jackiewicz, 1993; Correa *et al.*, 2010).

A delimitação e quantidade de gêneros nos limnédeos dependem de qual taxonomia é utilizada. Quando o grupo é considerado não parafilético, a família é dividida em vários gêneros, levando em consideração principalmente as características da concha. Essa abordagem é chamada de poligenérica. Os gêneros do sistema poligenérico são caracterizados por uma maior homogeneidade nas características da concha entre as espécies de mesmo gênero, refletindo melhor a heterogeneidade de Lymnaeidae (Correa *et al.*, 2010). Quando o grupo é considerado parafilético, o sistema bigenérico é utilizado, a maioria das espécies é alocada no gênero *Lymnaea* (que

apresenta pronunciada variabilidade e geralmente é subdividido em vários subgêneros) e o restante alocado em um gênero menor incluindo espécies morfologicamente distintas (Jackiewicz, 1998; Vinarski *et al.*, 2011; Vinarski, 2013), como no gênero *Galba* (concha pequena de 10 a 13 mm de comprimento, oval-cônica, alongada-oval ou quase de formato turricado) (Burch, 1989; Ponder & Waterhouse, 1997).

Apesar das características da anatomia interna possuírem maior valor taxonômico do que as características da concha, a rádula da maioria das espécies de limneídeos são muito similares e parecem ser de pouca importância para a taxonomia (Kruglov, 2005). Também no que diz respeito ao sistema reprodutor, quase todas as espécies apresentam características homogêneas, o que é um forte argumento contra dividir a família em uma grande quantidade de gêneros (Hubendick, 1951; Jackiewicz, 1998). Por outro lado, levando em consideração a heterogeneidade na morfologia da concha, o sistema poligenérico parece ser o mais adequado, entretanto, essa característica pode ter origem na homoplasia (Vinarski *et al.*, 2011). Esse sistema também parece refletir de forma mais adequada a distinção ecológica, pois permite que ao menos alguns desses gêneros, como *Galba*, sejam caracterizados por sua própria zona adaptativa (Burch, 1989). Portanto, a abordagem poligenérica segue uma das definições para a delimitação genérica de acordo com Laurent (1956): quando um gênero contém um grande número de espécies as quais são possíveis de se reconhecer por grupos naturais, é desejável dividi-lo em vários gêneros.

É comum, o agrupamento de espécies em subcategorias, em que as espécies estão relacionadas entre si, no que diz respeito à morfologia ou origem do taxon. Entre os limneídeos, alguns grupos, como no caso de *Galba/Fossaria*, são tratados como subgêneros do gênero *Lymnaea* “sensu lato” que abrange o maior número de espécies. Dessa forma, na Europa teríamos somente um representante do gênero *Galba* que seria *G. truncatula*, enquanto as espécies do grupo Neotropical, *G. viatrix*, *G. cubensis* e *G. neotropica* estariam classificadas no gênero sinônimo *Fossaria*. A nomenclatura do gênero *Lymnaea* “sensu stricto”, possui poucas espécies, cuja característica comum é possuir o ápice agudo na espira da concha. Neste caso, na Europa apenas uma espécie foi reconhecida, a espécie tipo *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758), sendo as outras espécies incluídas nos gêneros *Galba*, *Fossaria* e *Pseudosuccinea*. Entretanto, devido à pequena resolução sistemática e discordância dos dados obtidos, cada autor propõe uma classificação, não havendo consenso para o melhor arranjo taxonômico desse grupo,

sendo sua sistemática tratada de acordo com o critério utilizado por cada pesquisador (Bargues *et al.*, 2001). Alguns autores consideram como válidos vários gêneros e subgêneros (Malek, 1985), outros apenas aceitam utilizar o nome genérico *Lymnaea*, seguindo a classificação de Hubendick (1951). Entretanto, o agrupamento desse gênero em subgêneros, como *Galba/Fossaria*, tem servido como meio conveniente para a identificação dos grupos de espécies relacionadas.

Em uma revisão da família Lymnaeidae, Hubendick (1951) analisou os caracteres morfológicos do sistema reprodutor e da rádula das espécies até então descritas para a América do Sul, restringindo em sinonímia todos os nomes genéricos. O autor retirou a espécie *P. columella* do gênero *Pseudosuccinea*, proposto por Baker (1908) e a espécie *L. diaphana* do gênero *Pectinidens* proposto por Pilsbry (1911), reconhecendo apenas o gênero *Lymnaea* “sensu lato” com as seguintes espécies: *L. columella* Say, 1837, *L. viator* (d'Orbigny, 1835), *L. diaphana*, *L. peculiare*, *L. pictonica* Rochebrune & Mabilie, 1885 e *L. cousini*. Contudo, não justificou o agrupamento dos gêneros discutindo somente a uniformidade e confiabilidade dos caracteres anatômicos. Colocou ainda em em sinonímia as seguintes espécies entre si: 1) *L. columella*, *L. peregrina* Clessin, 1882 e *L. andeana* Pilsbry, 1911; 2) *L. viator* e *L. cubensis*; 3) *L. cousini* e *L. bogotensis* Pilsbry, 1935. O autor ressalta ainda que a espécie *L. diaphana* apresenta morfologia similar à *L. viatrix* e *L. pictonica* sendo facilmente confundidas, como é o caso de *L. cousini* com as espécies européias *L. peregrina* (Müller, 1774) e *L. natalensis* Krauss, 1848. Hubendick (1951) descreve também uma nova espécie com base nos caracteres da concha de dois exemplares a qual denominou *L. peculiare*. Ressaltou, entretanto, que esses exemplares poderiam ser uma forma aberrante da espécie européia *L. peregrina*.

Hylton-Scott (1953), em uma revisão sobre os limneídeos argentinos, reavaliou a classificação sugerida por Baker (1908) que propôs colocar *P. columella* no gênero *Pseudosuccinea*. Segundo este último autor, a espécie apresenta características da concha (tipo succineiforme, com última volta do corpo muito expandida e superfície brilhante com impressões lineares espiraladas) e da próstata (pequena e tubular), correspondentes à descrição do gênero *Pseudosuccinea* e não de *Lymnaea*. Hylton-Scott (1953) reafirma que as características mencionadas por Baker (1908) são suficientes para manter *P. columella* no gênero *Pseudosuccinea*. É comum encontrar na literatura estudos citando *P. columella* como sinônimo de *L. columella*, como sugerido por

Hubendick (1951). Hylton-Scott (1953), no mesmo estudo, descreveu uma nova espécie, a *L. plicata* Hylton-Scott, 1953, para a Argentina (localidade tipo Arroyo Verde, Chubut), com base nos caracteres da concha e do sistema reprodutor, justificando a colocação dessa espécie no gênero *Lymnaea* devido às características da próstata.

Malek (1985), utilizando os caracteres morfológicos da concha, rádula e sistema reprodutor reconhece para a região neotropical praticamente as mesmas espécies que Hubendick (1951), apesar de colocá-las sob diferentes gêneros e sub-gêneros: *Pseudosuccinea columella*, *L. cousini*, *L. diaphana*, *L. pictonica* e *L. patagonica* Strebel, 1907, *Fossaria* (*Bakerilymnaea*) *viatrix* e *F.* (*B.*) *cubensis* e *Stagnicola attenuata* Say, 1829. Dessa forma, elevou *Fossaria* a gênero, colocando as espécies *F. cubensis* e *F. viatrix* no subgênero *Bakerilymnaea*. O autor ressaltou ainda a necessidade de mais estudos sobre a biologia dos limneídeos e de uma análise mais detalhada dos caracteres morfológicos para a determinação do estado genérico e subgenérico do grupo. Além disso, comenta que *F. viatrix* e *F. cubensis* serem muito semelhantes e que não deveriam ser consideradas como espécies distintas.

Paraense (1976, 1982a,b, 1983, 1984, 1995) utilizando caracteres morfológicos reconhece para a região Neotropical as seguintes espécies de limneídeos: *L. viatrix*, *L. columella*, *L. diaphana*, *L. cousini*, *L. rupestris*, *L. cubensis* e *L. plicata*. Afirmou que somente essas sete espécies nominais poderiam ser morfológicamente reconhecidas e, portanto válidas. O autor acrescenta que *L. viatrix* é anatomicamente indistinguível de *L. cubensis* e, provavelmente, sinônimos (Paraense 1982a,b). Paraense (1994) ainda admite que *L. peregrina* e *L. columella* são sinonímias por não apresentarem diferenças anatômicas. Paraense (1976), discutindo o estado genérico de *L. viatrix* observa que de acordo com o sistema de classificação proposta, essa espécie poderia ser colocada no gênero *Fossaria* ao invés de *Lymnaea*, o qual a espécie tipo é *L. stagnalis*, que possui como característica uma espira aguda no ápice da concha. Entretanto, de acordo com Baker (1928 *apud* Paraense, 1976a), em *Fossaria*, o dente lateral é tricúspide, característica das espécies do gênero *Lymnaea*, e o prepúcio não tem sarcobelo, presente nas espécies do gênero *Galba/Fossaria* (Tabela 3). Dessa forma, o autor considera que não haveria gênero para a espécie ser colocada e cita ainda que embora alguns autores a colocassem no gênero *Galba*, de acordo com Pilsbry & Bequaert (1927), este deveria ser rejeitado e trocado por *Fossaria*, pela espécie tipo não ser *L. truncatula*, mas sim *G.*

pusilla, provavelmente um espécime jovem muito pequeno, impossível de ser reconhecida como gênero sem uma espécie tipo. Em decorrência disso, menciona: “Devido à indefinição taxonômica mencionada, a presente espécie é mantida provisoriamente no gênero *Lymnaea*”. Além disso, concorda com Draparnaud (1801 *apud* Paraense, 1976a) na afirmação que o epíteto específico masculino *viator* deveria ser substituído pelo epíteto específico feminino *viatrix*, para concordar com o nome feminino do gênero *Lymnaea* de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

Correa *et al.* (2010, 2011) utilizando dados morfológicos e moleculares, reconhecem para o gênero *Galba*, as espécies *G. truncatula*, *G. viatrix* e *G. cubensis* e para o gênero *Pseudosuccinea*, uma única espécie *P. columella*. Devido a falta de dados morfológicos para *L. rupestris*, esses autores sugeriram a permanência da espécie em *Lymnaea*. Na tabela 3 pode-se observar a classificação dos gêneros e subgêneros das espécies de limneídeos encontrados na América do Sul segundo a revisão taxonômica de diferentes autores.

Tabela 3. Gêneros, subgêneros e espécies de limneídeos neotropicais segundo diferentes autores e a relação entre número de gêneros/espécies.

Autores	Gêneros	Espécies da América do Sul	Relação entre o número de gêneros/espécies
Hubendick (1951)	<i>Lymnaea</i>	<i>L. columella</i> , <i>L. viator</i> , <i>L. diaphana</i> , <i>L. cubensis</i> , <i>L. truncatula</i> e <i>L. cousini</i>	1/6
Hylton-Scott (1953)	<i>Lymnaea</i> e <i>Pseudosuccinea</i>	<i>P. columella</i> , <i>L. plicata</i> , <i>L. viator</i> , <i>L. diaphana</i> , <i>L. peculiare</i> , <i>L. pictonica</i> e <i>L. cousini</i>	2/7
Malek (1985)	<i>Pseudosuccinea</i> , <i>Lymnaea</i> , <i>Fossaria</i> (<i>Bakerilymnaea</i>) e <i>Stagnicola</i>	<i>P. columella</i> , <i>L. cousini</i> , <i>L. diaphana</i> , <i>L. pictonica</i> , <i>L. patagonica</i> , <i>Fossaria</i> (<i>Bakerilymnaea</i>) <i>viatrix</i> , <i>F. (B.) cubensis</i> e <i>Stagnicola attenuata</i>	4/8
Paraense (1976, 1982a,b, 1983, 1984, 1995)	<i>Lymnaea</i>	<i>L. viatrix</i> , <i>L. columella</i> , <i>L. diaphana</i> , <i>L. cousini</i> , <i>L. rupestris</i> , <i>L. cubensis</i> e <i>L. plicata</i>	1/7
Correa <i>et al.</i> (2010, 2011)	<i>Galba</i> <i>Lymnaea</i> <i>Pseudosuccinea</i>	<i>G. cousini</i> , <i>G. cubensis</i> , <i>G. neotropica</i> , <i>G. truncatula</i> , <i>G. viatrix</i> , <i>L. diaphana</i> , <i>L. rupestris</i> , <i>P. columella</i>	3/8

Neste trabalho, vamos utilizar a nomenclatura *Lymnaea* “sensu stricto” de acordo com Correa *et al.* (2010) que recentemente propuseram uma filogenia (Figura 7) em que, exceto por *Radix* (clado C3b), a classificação genérica em Lymnaeidae não reflete as relações filogenéticas entre os gêneros. De acordo com os resultados obtidos por esses autores e levando em consideração a posição na árvore das espécies tipos dos gêneros *Lymnaea* (espécie tipo: *Lymnaea stagnalis*), *Stagnicola* (espécie tipo: *Stagnicola palustris*) e *Omphiscola* (espécie tipo: *Omphiscola glabra*) essas três espécies pertencem ao mesmo clado (C2) e confirmam que *Lymnaea* não é um grupo monofilético. Os autores propõem que todas as espécies do clado C2 deveriam ser nomeadas como *Lymnaea*. Dessa forma, *Stagnicola* não deveria ser utilizada como

nome genérico das espécies do clado C1a, uma vez que a espécie tipo pertence ao Clado C2. No clado C1b, quatro nomes genéricos foram utilizados: *Lymnaea*, *Galba*, *Fossaria* e *Bakerilymnaea*, com base nos resultados seria recomendável identificar todas as espécies do clado sob um nome genérico para melhor refletir as relações evolutivas entre as espécies. De acordo com o ICZN, *Lymnaea* seria definido como o nome genérico mais apropriado para o clado C1b, entretanto a espécie tipo desse gênero pertence ao clado C2, dessa forma o nome genérico *Galba* seria mais apropriado. Correa *et al.* (2011) ainda confirmam que as espécies do gênero *Galba* são mais relacionadas entre si do que com espécies de outros gêneros.

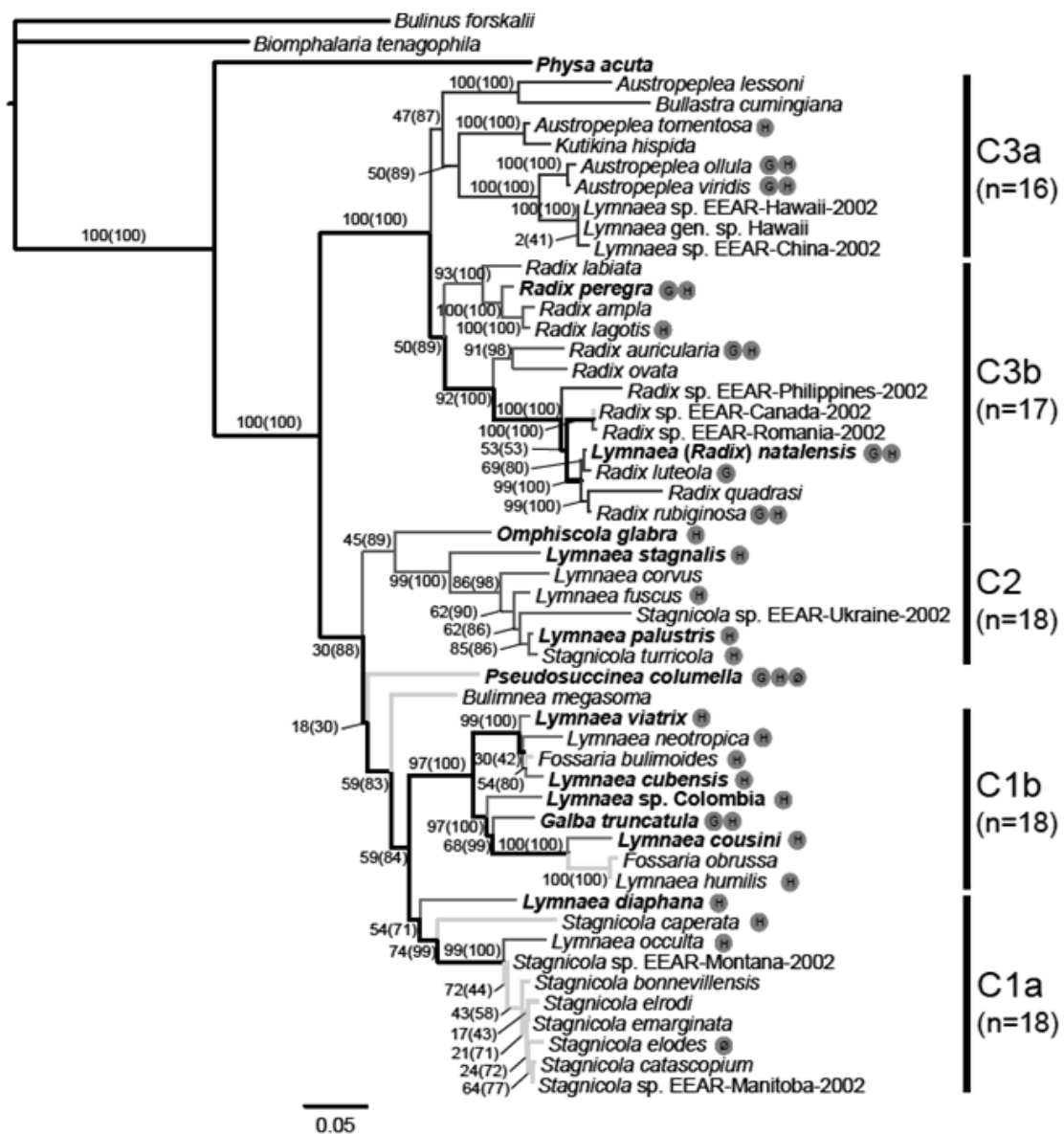


Figura 7. Filogenia dos moluscos da família Lymnaeidae proposta por Correa *et al.*, (2010).

1.3 Taxonomia dos limneídeos neotropicais

Apesar da importância epidemiológica da família Lymnaeidae, o conhecimento atual sobre a sua sistemática bem como o papel das espécies na transmissão da fasciolose ainda é incipiente. A confusa sistemática é resultado principalmente da uniformidade morfológica interespecífica da anatomia interna, como ocorre no gênero *Galba* Schrank, 1803 e da variabilidade intraespecífica da morfologia externa, como ocorre em *P. columella* (Ueta, 1977; Samadi *et al.*, 2000; Pointier *et al.*, 2004, 2006, 2009; Bargues *et al.*, 2011a,b, 2012; Correa *et al.*, 2011). É provável, portanto, que muitas espécies descritas correspondam a uma mesma espécie, e por outro lado, podem existir complexos de espécies sob uma denominação comum. Tais características limitam o número de caracteres morfológicos disponíveis para a distinção entre espécies. Além disso, as mudanças de posicionamento de alguns gêneros dentro da família (Hubendick, 1951; Hylton-Scott, 1953; Malek, 1985) e a de epíteto específico diferente da descrição original (Paraense, 1976a), tem adicionado confusão à sistemática do grupo. Acrescenta-se o fato de novas espécies estarem sendo descritas como é o caso de *L. meridensis* (Bargues *et al.*, 2011b). A dificuldade na identificação das espécies desse grupo, também é afetada pela deficiência no número de pesquisadores envolvidos na área da taxonomia.

A plasticidade na morfologia da concha relacionada ao ambiente é uma característica da família Lymnaeidae e dificulta a distinção das espécies (Hurtrez-Boussès *et al.*, 2005; Pointier *et al.*, 2009). De fato, *P. columella*, apresenta uma baixa variação intrapopulacional em contraste com uma alta variabilidade interpopulacional em relação a morfologia da concha (Ueta, 1977) e variabilidade genética (Cardoso *et al.*, 2006). Nesse caso, o ambiente define morfotipos distintos para uma mesma espécie. Em algumas espécies, como as pertencentes ao gênero *Galba*, a distinção somente com base nas características da concha é de difícil resolução devido a grande variabilidade (Samadi *et al.*, 2000) e homogeneidade em relação a anatomia do sistema reprodutor (Paraense 1976, 1982b; Pointier *et al.*, 2006). Por outro lado, algumas espécies são facilmente distinguidas com base no sistema reprodutor e na concha, como *P. columella*, *L. diaphana* King, 1830 e *L. rupestris*.

Como exemplo da dificuldade da sistemática dos limneídeos, o grupo *Galba/Fossaria* caracterizado pelo formato mais arredondada e pequeno tamanho da concha, possui *Fossaria* Westerlund, 1885 como sinônimo de *Galba*, sendo ambos

considerados subgêneros de *Lymnaea* Lamarck, 1799 (ICZN, 1998; Barges *et al.*, 2011). Na América do Sul, este grupo inclui as espécies *L. diaphana*, *L. viatrix* (d'Orbigny, 1835), *L. cubensis* (Pfeiffer, 1839), *L. truncatula* (Müller, 1774), *L. cousini* Jousseume, 1887 e *L. rupestris* Paraense, 1982 e as mais recentemente descritas *L. neotropica* Barges *et al.*, 2007 (= *L. viatrix* variedade B "elongata") e *L. meridensis* Barges *et al.*, 2011. Com exceção de *L. diaphana* e *L. rupestris* as outras espécies são de difícil distinção com base na morfologia, principalmente com relação aos caracteres da concha (Correa *et al.*, 2010, 2011; Pointier *et al.*, 2004).

Em decorrência da confusa taxonomia da família Lymnaeidae, estudos têm sido realizados para reavaliar as relações entre as espécies com o intuito de organizar a sistemática desse grupo. Entre os diversos trabalhos realizados, destacam-se os de morfologia (Hubendick 1951; Walter 1968; Paraense 1976, 1994; Burch 1988), paleontologia (Inaba, 1969), cruzamento experimental (Burch & Ayers, 1973) e de citogenética (Burch, 1960). A identificação dos limneídeos realizada principalmente pelo uso da morfologia clássica (Hubendick, 1951; Paraense, 1976a; 1982a,b; 1983; 1984; 1986; 1995; Malek, 1985) fornece uma fraca resolução para a definição das relações entre as espécies, devido à extensa variabilidade morfológica não relacionada à origem geográfica (Hyman, 1959) e pelo fato dos trabalhos serem mais descritivos do que comparativos entre as espécies.

A identificação de espécies através da morfologia requer especialistas com grande conhecimento no táxon estudado. Além disso, é efetiva apenas para o estágio de vida adulto, para o nível de gênero (Hebert *et al.*, 2003) e nos espécimes em bom estado de conservação. O diagnóstico morfológico específico dos limneídeos está associado à habilidade do investigador em dissecar e identificar as diferenças morfológicas, especialmente nas espécies de pequeno tamanho. Essas diferenças devem abranger uma quantidade razoável de exemplares e uma ampla área geográfica de ocorrência de limneídeos. A habilidade em dissecar é dificultada pelo pequeno tamanho de algumas espécies, tais como *G. viatrix*, *G. cubensis* e *G. truncatula* (Tabela 2), justamente espécies que pertencem ao gênero *Galba*, cujas diferenças morfológicas são de difícil distinção. Somando-se a variação intra-específica e as semelhanças inter-específicas dos caracteres morfológicos, torna-se difícil estabelecer e delimitar as espécies de modo correto (Barges *et al.*, 2007). Dessa forma, em decorrência das dificuldades em determinar se algumas espécies são válidas ou não, e o posicionamento das espécies

válidas dentro do grupo, observa-se a tendência de redução do número de táxons, ou de dividir a família Lymnaeidae em gêneros, sub-gêneros, espécies e subespécies tornando a sistemática confusa e controversa (Burch & Ayers, 1973). A plasticidade fenotípica bem como a variabilidade genética nos caracteres morfológicos diagnósticos pode também induzir equívocos na identificação das espécies (Hebert *et al.*, 2003).

As dificuldades relacionadas à identificação morfológica vêm incentivando o emprego de técnicas de biologia molecular como ferramenta auxiliar na caracterização das espécies e de suas relações filogenéticas (Jabbour-Zahab *et al.*, 1997; BARGUES *et al.*, 1997, 2001; Correa *et al.*, 2010, 2011). Esse tipo de análise produz resultados eficazes que permitem propor uma classificação tanto no nível específico quanto no supra-específico diminuindo os erros de interpretação do pesquisador. Essas metodologias geram marcadores que permitem avaliação da variabilidade intra e inter populacional e facilitam a comparação entre indivíduos de diferentes espécies e populações.

Jabbour-Zahab *et al.* (1997) utilizaram isoenzimas para o estudo filogeográfico de limneídeos, com populações da região Altiplana da Bolívia em comparação com as do Caribe e da Europa. O primeiro registro de moluscos hospedeiros da *F. hepatica* na região Altiplana da Bolívia foi feita por Ueno *et al.* (1975) que identificaram na região *G. viatrix* e *G. cubensis*. Posteriormente, Paraense (1982a) reportou *G. viatrix* na região de Guaqui na Bolívia. Oviedo *et al.* (1995) concluíram que as duas espécies identificadas por Ueno *et al.* (1975) poderiam ser duas formas extremas (morfortipos 1 e 2) de uma única espécie variável e que se parecia muito com a espécie européia *G. truncatula*. Jabbour-Zahab *et al.* (1997) identificaram dois grupos geneticamente divergentes: um pertencente à *G. cubensis* agrupando as populações da área do Caribe e outro pertencente à *G. truncatula* agrupando as populações européias e de Marrocos com as da Bolívia. A partir desses resultados, os autores concluíram que a espécie presente na região Altiplana da Bolívia era *G. truncatula*, provavelmente de origem européia.

BARGUES *et al.* (1997) realizaram estudo de filogenia, utilizando a região 18S do gene DNA ribossomal com exemplares da região Altiplana da Bolívia em comparação com populações de *G. cubensis* do México e das Ilhas do Caribe e com as espécies européias *G. truncatula*, *L. auricularia*, *L. peregra*, *L. palustris*, *L. glabra* e *L. stagnalis*. As análises das seqüências revelaram que, os exemplares da Bolívia apresentaram seqüências idênticas à *G. truncatula*, sugerindo que essa é a espécie

presente na região Altiplana. Esses autores sugerem ainda que *G. cubensis* seja uma espécie válida apesar das árvores filogenéticas mostrarem *G. cubensis* do Caribe no mesmo ramo de *G. truncatula*. A comparação dos nucleotídeos no alinhamento das seqüências mostrou diferenças significativas entre essas duas espécies separando-as em dois táxons supra-específicos.

Bargues *et al.* (2001) sequenciaram a região ITS2 do gene DNA ribossomal de 66 populações de 13 espécies de limneídeos europeus e de uma espécie norte-americana conseguindo identificar relações supra-específicas, específicas e populacionais. Distinguiram vários genótipos em um total de 11 espécies (incluindo duas subespécies) distribuídas em quatro gêneros diferentes (um composto por dois sub-gêneros). Correa *et al.* (2010) examinaram as relações filogenéticas entre 50 espécies de limneídeos provenientes de vários países, analisando as sequencias nucleotídicas dos genes 16S, ITS1 e ITS2 concatenados, utilizando a máxima parcimônia e a inferência Bayesiana. Esses autores demonstraram a existência de três clados bem definidos representando principalmente a origem geográfica (regiões das Américas, Eurásia e Indo-pacífico) das espécies, clado C1 incluindo as espécies americanas e duas espécies da Europa (*G. truncatula* e *L. occulta*), clado C2 incluindo as espécies da região eurásia e o clado C3 incluindo as espécies australianas e do gênero *Radix*, concluindo que a nomenclatura da maior parte dos gêneros em Lymnaeidae não reflete as relações evolutivas. Propuseram dessa forma, o uso de cinco nomes genéricos, incluindo as espécies *G. truncatula*, *G. viatrix* e *G. cubensis* no gênero *Galba* e mantendo *P. columella* no gênero *Pseudosuccinea* por essa espécie possuir características peculiares e ser fracamente agrupada na filogenia.

Neste contexto, as coleções biológicas são importantes como fonte de informações, que auxiliam o taxonomista na comparação da morfologia entre exemplares coletados atualmente e os depositados nos acervos. Esta prática de comparação é relevante para a confirmação específica e redescrição das espécies que foram descritas há longo tempo. Na busca de novos caracteres taxonômicos adicionais e confirmação específica, torna-se relevante a redescrição de espécies. A análise da morfologia dos espécimes tipo (exemplares utilizados na descrição original da espécie) permite verificar se exemplares encontrados atualmente representam na realidade, as mesmas espécies descritas anteriormente.

Vários estudos, principalmente taxonômicos, se desenvolvem com base em coleções científicas (Puillandre *et al.*, 2012). Dessa forma, a organização e retificação de coleções de moluscos contribuem para o conhecimento da biodiversidade, uma vez que estas podem servir de base para estudos sobre variabilidade morfológica e genética, história evolutiva, distribuição geográfica, dentre outros. As mesmas podem conter registros únicos de espécies em extinção ou raras, importantes para o estabelecimento de áreas prioritárias de conservação de grupos taxonômicos pouco estudados (Marinoni & Peixoto, 2010).

Com o advento da biologia molecular as coleções passaram a representar importantes bancos genéticos, permitindo análises mais avançadas em relação à biodiversidade e história evolutiva dos animais. A informatização dos dados tem permitido o compartilhamento das informações sobre espécimes depositados em acervos científicos de todo o mundo. No entanto, para que as informações das coleções sejam úteis, deve-se promover o acesso aos dados solucionando problemas relacionados à qualidade da informação taxonômica e garantindo a visibilidade dos acervos (Egler & Santos, 2006). Considerando a importância epidemiológica no mapeamento para a detecção de possíveis áreas de risco de doenças endêmicas, vários estudos combinaram informações provenientes de bancos de dados de coleções científicas e/ou de busca sistemática da literatura com técnicas de espacialização para avaliação da distribuição do parasito e de seus hospedeiros (Araújo *et al.*, 2008; Correa *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2008; Scholte *et al.*, 2012; Bennema *et al.*, 2014).

No Laboratório de Helmintologia e Malacologia Médica (LHMM) do Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR, Fiocruz/MG), está localizada a coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) com aproximadamente 15.000 exemplares de moluscos provenientes da Alemanha, Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Cuba, Equador, França, México, Paraguai, República Dominicana, Uruguai e Venezuela. O acervo é composto por representantes do gênero *Physa* Draparnaud, 1801; *Drepanotrema* Fischer & Crosse, 1880; *Helisoma* Swainson, 1840; *Melanoides* Olivier, 1804; *Pseudosuccinea* Baker, 1908; *Galba*; *Lymnaea* e *Biomphalaria* Preston, 1910. Neste último gênero encontram-se os hospedeiros intermediários, no Brasil, do trematódeo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, agente etiológico da esquistossomose mansoni. Esta coleção possui a peculiaridade de ser pioneira entre as coleções zoológicas da Fiocruz, por possuir uma parte da região cefalopodal dos moluscos

criopreservada para estudos moleculares. De fato a equipe do LHMM foi a primeira a utilizar técnicas de biologia molecular no estudo destes moluscos (Carvalho *et al.*, 2008), que passaram a ser utilizadas na rotina de trabalho sempre que a identificação morfológica fosse inconclusiva. O desenvolvimento e a padronização dessas ferramentas moleculares resultaram na publicação de diversos trabalhos científicos (Vidigal *et al.*, 1994, 1996, 1998a,b, 2000a,b, 2001, 2002, 2004; Caldeira *et al.*, 1998, 2000, 2001, 2004; Spatz *et al.*, 1998, 1999, 2000). Silva (2012) realizou a avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do gênero *Biomphalaria* na Fiocruz-CMM, ressaltando a importância da utilização de mais de uma técnica na confirmação taxonômica, necessidade de adequada preservação dos exemplares do acervo e de incentivos para o fortalecimento das coleções científicas biológicas.

1.4 Moluscos da família Lymnaeidae como hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*

A suscetibilidade dos limneídeos à *F. hepatica* está relacionada a fatores ambientais que podem afetar a biologia dos moluscos, podendo variar dependendo da região e entre populações. A idade, resistência dos moluscos à infecção, origem dos ovos do parasito e a espécie de hospedeiro também podem influenciar na suscetibilidade à infecção (Boray, 1978; Vignoles *et al.*, 2002). *Pseudosuccinea columella* está presente nas margens de pequenas coleções hídricas de correnteza fraca, enquanto que *G. viatrix*, *G. truncatula* e *G. cubensis* são geralmente encontradas nesses locais, porém em solos argilosos ou barro-argilosos com pouca água e com lodo (Ueno *et al.*, 1982). *Lymnaea rupestris* foi encontrada em habitat com rochedos úmidos, localizados frequentemente fora das coleções hídricas, porém contíguos a elas (Paraense, 1982).

O ciclo do parasito *F. hepatica* inicia-se pela eliminação de ovos nas fezes do hospedeiro definitivo. Na água, após desenvolvimento embrionário, os miracídios eclodem, e penetram, principalmente, a região cefalopodal ou o manto dos hospedeiros intermediários, moluscos da família Lymnaeidae. No molusco os miracídios transformam-se em esporocistos, preferencialmente, nas regiões do coração, rim e na massa cefalopodal. Os esporocistos reproduzem-se assexuadamente por divisão mitótica, formando as rédias que migram através dos tecidos para a glândula digestiva, ou mesmo para o ovoteste, onde se desenvolvem e dão origem às cercárias. As cercárias liberadas pelo molusco nadam até algum substrato (plantas, pedras, etc), encistam-se,

perdem a cauda e transformam-se em metacercárias, que são as formas infectantes para os hospedeiros definitivos. Esses se infectam por ingestão de água ou plantas contaminadas com as metacercárias. Nos hospedeiros definitivos, as metacercárias desencistam na luz do intestino e as larvas liberadas penetram a parede intestinal, invadem a cavidade peritoneal, migram em direção ao fígado alojando-se nos dutos biliares. Nesse local, desenvolvem-se até atingirem a maturidade sexual quando iniciam a oviposição, sendo parte dos ovos eliminados nas fezes (Carvalho *et al.*, 2008) (Figura 8).

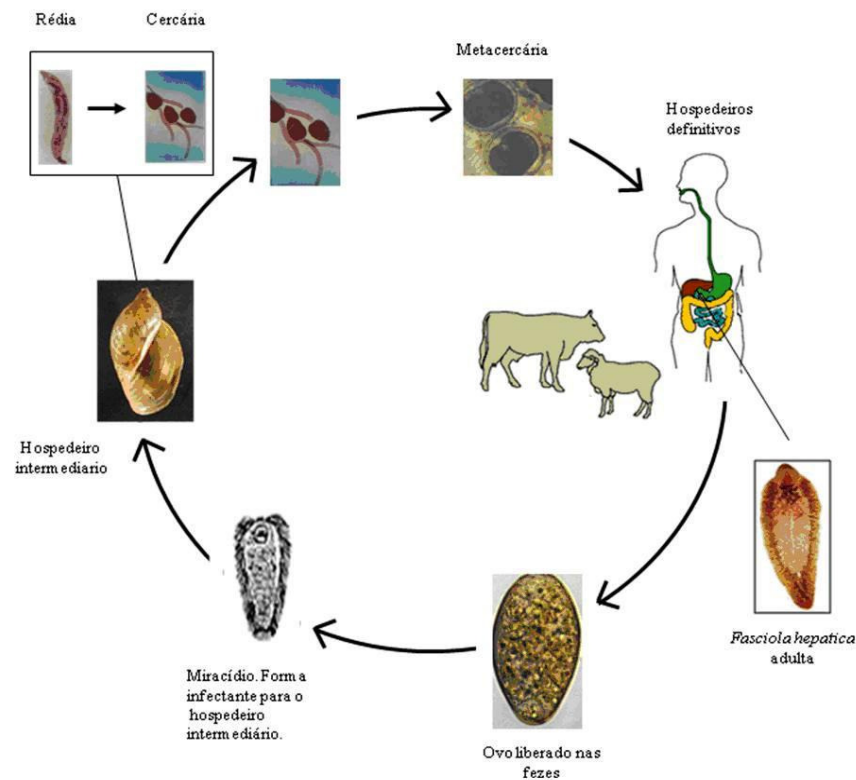


Figura 8. Ciclo de vida de *Fasciola hepatica*. (Carvalho *et al.*, 2008).

Em alguns países da região Neotropical, como Argentina, Cuba e Porto Rico, estudos têm reportado uma alta suscetibilidade de *P. columella*, *G. viatrix* e *G. cubensis* à infecção por *F. hepatica* (Leon-Dancel, 1970; Mattos & Ueno, 1985, 1989; Dacal *et al.*, 1988; Gutierrez *et al.*, 2000; Gutierrez *et al.*, 2001a, 2002; Prepelitchi *et al.*, 2003; Kleiman *et al.*, 2004). Nos países Andinos (Bolívia e Peru) e na região do Caribe, *G. truncatula* (Mas-Coma *et al.*, 1999b; Vignoles *et al.*, 2001) e *G. cubensis* (Gutierrez *et al.*, 2001b) são, respectivamente, os principais transmissores de *F. hepatica*, e *G. truncatula* é responsável pela manutenção do ciclo na Europa. Apesar da escassez de

informações sobre *L. diaphana*, *L. cousini* e *L. plicata*, Malek (1985) admite que somente *L. diaphana* atua como hospedeiro de *F. hepatica*, na Argentina. No Brasil, exemplares de *P. columella* foram encontrados naturalmente infectados nos estados do Rio Grande do Sul (González *et al.*, 1974; Mattos *et al.*, 1997), São Paulo (Ueta, 1980; Amato *et al.*, 1986; Oliveira *et al.*, 2002), Minas Gerais (Silva *et al.*, 1994; Coelho & Lima, 2003; Coelho *et al.*, 2009; Lima *et al.*, 2009) e Rio de Janeiro (Lutz, 1921; Rezende *et al.*, 1973; Bruno *et al.*, 1995) e exemplares de *G. viatrix* no estado do Rio Grande do Sul (Ueno *et al.*, 1982). A ocorrência destas espécies naturalmente infectadas tem importante significado epidemiológico, uma vez que para maioria desses estados, há registro de fasciolose humana (Ueta, 1980).

Os maiores problemas relacionados à fasciolose humana são conhecidos nos países Andinos (Bolívia, Peru, Chile, Ecuador), região do Caribe (Cuba), norte da África (Egito) e Europa ocidental (Portugal, França e Espanha) (Esteban *et al.*, 1999; Mas-Coma, 2004; Fuentes, 2006). No Brasil, cerca de 50 casos de fasciolose humana foram registrados para os municípios de Curitiba (Amaral & Busetti, 1979a,b; Busetti, 1982; Andrade Neto *et al.*, 1999) e Cornélio Procópio, PR (Corrêa & Fleury, 1971); Porto Alegre, RS (Coral *et al.*, 2007); Caçapava (Amato Neto & Silva, 1977), Taubaté, Natividade, Redenção da Serra, São Luiz do Pairitinga e Jambeiro, SP (Santos & Vieira, 1967); Nova Guarita, MT (Mezarri *et al.*, 2000); Campo Grande, MS (Rey, 1958); Volta Redonda (Pile *et al.*, 2000), Sumidouro e Paracambi, RJ (Igreja *et al.*, 2004); Uruçuca, BA (Santos *et al.*, 1967) e Canutama, AM (Oliveira *et al.*, 2007). As áreas de ocorrência da fasciolose animal situam-se nas regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e no estado do Pará (Bennema *et al.* 2014), sendo nas regiões centro-sul as áreas de maior ocorrência (Honer, 1979). De fato, casos de fasciolose animal já foram reportados para os Estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais e Goiás (Rezende *et al.*, 1973; Ueno *et al.*, 1982; Beck 1985; Serra-Freire & Nuernberg 1992; Bruno *et al.*, 1995; Serra-Freire *et al.*, 1995; Mattos *et al.*, 1997; Fuji *et al.*, 1998; Serra-Freire, 1999; Lessa *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2007; Bernardo *et al.*, 2011). Os registros de fasciolose indicam que a distribuição de casos humanos no Brasil se superpõe à fasciolose animal (Busetti, 1982; Pile *et al.*, 2000), diferente do que ocorre em alguns países como sugerido por Mas-Coma *et al.* (1999a). A presença de moluscos hospedeiros intermediários pode refletir a distribuição da doença, esse dado é essencial para descrever áreas de risco uma

vez que há relação entre o número de casos de fasciolose humana e a presença do hospedeiro intermediário (Mattos & Ueno, 1985). Nesse sentido, considerando a importância epidemiológica do mapeamento para a detecção de possíveis áreas de risco de doenças endêmicas, vários estudos combinaram informações provenientes de bancos de dados de coleções científicas e/ou de busca sistemática da literatura com técnicas de espacialização para avaliação da distribuição do parasito e de seus hospedeiros (Correa *et al.*, 2004; Araújo *et al.*, 2008; Carvalho *et al.*, 2008; Scholte *et al.*, 2012; Bennema *et al.*, 2014). Entretanto, nenhum estudo havia sido realizado mapeando as espécies de limneídeos presentes do Brasil.

Estudos taxonômicos e parasitológicos sobre as espécies da família Lymnaeidae são necessários e fornecem informações complementares, uma vez que a identificação das espécies é relevante para a avaliação de áreas de risco da fasciolose associadas com a presença e/ou infecção desses hospedeiros intermediários (Sierra *et al.*, 2009). Entretanto, a taxonomia desse grupo apresenta dificuldades, que vêm sendo superadas por meio da utilização de ferramentas moleculares, abordagem morfométrica, bem como a busca de caracteres taxonômicos (Samadi *et al.*, 2000; Carvalho *et al.*, 2004; Cardoso *et al.*, 2006; Correa *et al.*, 2011).

2.1 OBJETIVO GERAL

Revisão taxonômica e elaboração de mapas de distribuição geográfica de espécies brasileiras da família Lymnaeidae Rafinesque, 1815 (Gastropoda, Basommatophora).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analisar e identificar exemplares da família Lymnaeidae procedentes do Brasil, através de dados morfológicos e compara-los com espécimes tipo, ou na ausência destes, de topótipos das espécies *Galba viatrix*, *G. truncatula*, *G. cubensis*, *Lymnaea rupestris* e *Pseudosuccinea columella*, confirmando as espécies de limneídeos presentes no Brasil;

Elucidar a localidade tipo de *P. columella*;

Refinar e definir novos caracteres morfológicos diagnósticos que possam ser utilizados na identificação das espécies de limneídeos;

Rever e retificar a taxonomia dos exemplares da família Lymnaeidae do acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM), localizada no Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica (LHMM), do Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz/MG;

Elaborar mapas de distribuição geográfica dos moluscos brasileiros da família Lymnaeidae através de dados obtidos de coleções científicas malacológicas e de buscas na literatura.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras e técnicas morfológicas utilizadas

Os resultados do presente estudo estão baseados na análise de 89 espécimes anteriormente depositados na coleção Fiocruz-CMM, seis espécimes depositados na coleção ANSP e 60 espécimes depositados na coleção Fiocruz-CMIOC. Os dados sobre as espécies brasileiras, local de coleta, tamanho da amostra e lotes das coleções utilizadas estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Espécies, localidade da coleta, tamanho da amostra e lotes de limneídeos utilizados para confirmação das espécies presentes no Brasil.

Espécie	Localidade da coleta	Amostra	Lotes
<i>Pseudosuccinea columella</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	10 (concha e corpo)	Fiocruz-CMM 4542 - 4551
	Chester, PA, EUA	2 (corpo)	ANSP A7117A
		6 (concha)	ANSP 98122
	Filadélfia, PA, EUA	2 (concha) 2 (corpo)	ANSP A15410
Lago Saunders, NY, EUA	1 (concha)	ANSP 58791	
	3 (concha)	ANSP 330012	
<i>Galba viatrix</i>	Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil	23 (concha e corpo)	Fiocruz-CMM 5076 - 5105
	Rio Negro, Argentina	11 (concha)	Fiocruz-CMIOC 1900
		1 (corpo)	Fiocruz-CMIOC 1909
		1 (corpo)	Fiocruz-CMIOC 1909
Buenos Aires, Argentina	1 (concha)	Fiocruz-CMM 5681	
<i>Galba truncatula</i>	Rio Acima, MG, Brasil	17 (concha e corpo)	Fiocruz-CMM 6334 - 6363
	Thuringia, Alemanha	12 (concha e corpo)	Fiocruz-CMM 14848 a 14859 ⁺
	Montpezat, França	1 (concha)	Fiocruz-CMM 14870*
<i>Galba cubensis</i>	Belo Horizonte, MG, Brasil	22 (concha e corpo)	Fiocruz-CMM 6174 - 6212
	Cuba, Havana	33 (concha)	Fiocruz-CMIOC 262
		3 (corpo)	Fiocruz-CMM 14909 a 14935*
		5 (corpo)	Fiocruz-CMM 14909 a 14935*
1 (concha)	Fiocruz-CMM 10357		
<i>Lymnaea rupestris</i>	Nova Teutônia, Seara, SC, Brasil	1 (concha)	Fiocruz-CMIOC 2740
		3 (corpo)	(lectótipo)
		6 (concha)	Fiocruz-CMIOC 2741
		1 (corpo)	(paralectótipos)

Legenda: ⁺Doação de Katrin Schniebs e André Reimann (Museu Senckenberg, Alemanha).

*Doação de Jean P. Pointier (Universidade de Perpignan, França).

Para análise da morfologia, os espécimes provenientes da coleção Fiocruz-CMM foram primeiramente anestesiados com pentobarbital sódico (0,25mg/ml) por 4 horas e em seguida sacrificados em água a 70°C, o corpo foi separado da concha e colocado em fixador Raillet Henry (0,6% de cloreto de sódio, 5% de formol e 2% de ácido acético) (Paraense, 1976b). Os demais exemplares recebidos por doação e de outras instituições foram pré fixados em álcool 70%. Posteriormente à fixação, os moluscos foram dissecados utilizando pinças de ponta reta, tesoura, estiletes e alfinetes entomológicos de acordo com a técnica modificada proposta para *Biomphalaria* por Paraense & Deslandes (1955) para visualização da anatomia interna sob um microscópio estereoscópio. A morfologia interna (sistema reprodutor, sistema digestivo e manto) foi desenhada e mensurada com retículo micrométrico de precisão de 1 μ enquanto que a morfologia externa (concha) foi fotografada com uma câmera acoplada ao microscópio, modelo MEM1300 Digital Eyepiece, e medida com paquímetro de precisão de 0.01 mm.

Devido ao fato dos planorbídeos possuírem uma concha plano-espiral diferente da concha cônica-espiral dos limneídeos, e conseqüentemente uma diferente disposição dos órgãos internos, isso afeta os procedimentos adotados na dissecção desses animais. Dessa forma, foi realizada a padronização de uma técnica adaptada a limneídeos, que ao mesmo tempo auxilie na dissecção de outros gastrópodes que apresentam concha de formato semelhante. A dissecção foi realizada de acordo com o seguinte protocolo:

- 1) Na placa de Petri, com um pouco de água destilada, coloque o molusco com seu lado direito para cima e visualize as aberturas feminina e masculina do sistema reprodutor. Antes do início da dissecção pode-se observar algumas estruturas através da transparência do manto e da massa cefalopodal, como o complexo peniano e o vaso deferente.
- 2) Com a pinça, retire cuidadosamente o “fio columelar” (junção entre o músculo columelar e o manto), começando pelo lado direito (próximo ao pneumóstoma) até a altura da glândula digestiva, dessa forma toda a junção será retirada.
- 3) Com tesoura, faça uma incisão próxima ao pneumóstoma em sentido oposto ao fio columelar e continue lateralmente para a direita no colar do manto deixando exposta a cavidade do manto. Com uma pinça, rebata o manto em direção a região distal, o manto se desprenderá do corpo e da espermateca que pode estar aderida à sua

superfície. O sistema renal é visualizado na parede do manto e o sistema reprodutor feminino próximo ao pneumóstoma.

4) Observe a abertura genital masculina localizada atrás do tentáculo direito. Vire o corpo do molusco para cima. Com duas pinças faça uma incisão mediana na região da cabeça do molusco. Na parte interna no lado direito do molusco está localizado o complexo peniano, a dissecação inicia-se nesta região retirando-se com a pinça pele e músculos ao redor da abertura masculina e do complexo, até que o prepúcio e o ducto deferente fiquem expostos e liberados. O vaso deferente é de difícil dissecação, uma vez que é uma estrutura extremamente fina e se apresenta intimamente associado ao tegumento da parede da massa cefalopodal.

5) Remova cuidadosamente na região cefalopodal o bulbo bucal, glândulas salivares, gânglios cerebrais. Separe o sistema digestivo. O ovotestis poderá ser liberado da glândula digestiva utilizando agulhas bem finas.

6) Observe a abertura do sistema genital feminino, nessa região retire as camadas de tecido até a exposição do útero e da vagina que possuem paredes finas. Ao separar o esôfago observe para não romper essa região. Limpe o sistema reprodutor com auxílio de agulhas de ponta fina.

Além da observação dos caracteres morfológicos citados pela literatura (Paraense, 1976a, 1983, 1984; Malek, 1985; Samadi *et al.*, 2000), a morfologia foi caracterizada com o objetivo de estabelecer perfis diagnósticos morfológicos para cada espécie e elucidar melhor as definições (semelhanças e diferenças morfológicas) entre estas. Alguns caracteres morfológicos do sistema reprodutor e digestivo foram observados minuciosamente para a busca de caracteres diagnósticos adicionais para as espécies *G. viatrix*, *G. cubensis* e *G. truncatula*. Os moluscos utilizados foram provenientes de localidades brasileiras da coleção Fiocruz-CMM (Tabela 4).

A microcultura das conchas do gênero *Galba* foi investigada pelo uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV) de acordo com a técnica modificada de Fischer *et al.*, 2012, em que previamente as conchas foram deixadas por 30 minutos em solução de hipoclorito de sódio diluída em água destilada na proporção de 5:1, após foram lavadas com água destilada duas a três vezes no vórtex e em seguida foram deixadas em solução de acetona P.A. por aproximadamente 14 horas, ao final foram retiradas da solução e colocadas sobre papel filtro para secagem e armazenadas em tubos de eppendorf contendo algodão até o processamento pelo MEV. Duas conchas

foram utilizadas para cada espécie (*G. viatrix*: Fiocruz-CMM 5087, 5099, 5681; *G. truncatula*: Fiocruz-CMM 6361 e 1487; *G. cubensis*: Fiocruz- CMM 6212 e 10357) (Tabela 4).

Os dados morfológicos obtidos de exemplares coletados no Brasil foram comparados com os dados obtidos de espécimes tipo e/ou topótipos de cada espécie.

3.2 Coletas, transporte e embalagem dos moluscos

Foram realizadas coletas em alguns municípios de Minas Gerais com registro de *G. viatrix* e *G. cubensis*, bem como no distrito de Nova Teutônia, Seara, SC a qual é a localidade tipo de *L. rupestris* e nas cidades do Paraná Quatro Barras e Curitiba com registro de *G. viatrix* e na Filadélfia, Estados Unidos, localidade tipo de *P. columella*. Os espécimes foram fixados e dissecados de acordo com a metodologia descrita no item 3.1. Dados sobre data e localidade das coletas, quantidade de limneídeos coletados, identificação morfológica e códigos dos exemplares depositados na coleção Fiocruz-CMM podem ser encontrados na tabela 5. As coletas foram realizadas utilizando concha metálica perfurada (Figura 9) e pinças. Foram utilizadas duas metodologias: 1) raspagem com a concha do fundo e margens do criadouro, observando se foi coletado algum molusco (Figura 9A); 2) coleta com pinça diretamente na margem e na região mais enlameada do criadouro (Figura 9B). Os exemplares foram retirados com auxílio da pinça e transferidos para um saco plástico até o processamento no laboratório. Foram anotadas a data da coleta, a posição geográfica com o GPS (sistema de posicionamento global), o tipo de criadouro e o nome do coletor.



Figura 9. A. Raspagem com a concha no fundo e nas margens do criadouro, local de coleta: Nova Teutônia, SC; B. Coletas utilizando pinças diretamente no criadouro, local de coleta: Juiz de Fora, MG.

Tabela 5. Exemplares de limneídeos coletados. Dados sobre data e localidade das coletas, quantidade de limneídeos coletados, identificação morfológica e códigos dos exemplares depositados na coleção Fiocruz-CMM.

Número da coleta	Localidade	Data da coleta	Quantidade de limneídeos coletados	Identificação morfológica	Códigos da Coleção Fiocruz-CMM
01	Sabará, MG , Lago da Reta	13/09/10	50	<i>Pseudosuccinea columella</i>	11660-11664
02	Raposos, MG , Rua Jarbas Leocádio Magalhães Silva, esquina com Travessa Antônio Martins Vieira, Bairro Recanto Feliz	17/09/10	33	<i>P. columella</i>	11680-11684
03	Raposos, MG , Encontro do Ribeirão das Pratas com o Rio das Velhas	17/09/10	6	<i>P. columella</i>	11685-11689
04	Belo Horizonte, MG , Nascente, Rua Carapicba com Benedito Faria Tavares, Bairro Vida e Esperança	22/09/10	03	<i>P. columella</i>	*
05	Belo Horizonte, MG , Córrego do Carvalho e Desengano, Parque Juscelino Kubitschek, Bairro Comiteco	24/09/10	15	<i>P. columella</i>	*
06	Belo Horizonte, MG , Rua Martins Cardoso, 126, Bairro Santo Agostinho	27/09/10	16	<i>P. columella</i>	*
07	Belo Horizonte, MG , Nascente, Parque Professor Guilherme, Rua Angola, 665, Bairro São Paulo	30/09/10	13	<i>P. columella</i>	*
08	Belo Horizonte, MG , Lagoa e Brejo, Futuro Parque da Serra, Bairro Venda Nova	01/10/10	2	<i>P. columella</i>	*
09	Belo Horizonte, MG , Parque Vila Santa Sofia, Rua Alice s/n, Bairro Jardim América	28/10/10	66	<i>P. columella</i>	*
10	Belo Horizonte, MG , Parque Municipal das Mangabeiras, Av. José do Patrocínio Pontes, 580, Bairro Mangabeiras	28/10/10	21	<i>P. columella</i>	*
11	Juiz de Fora, MG , Horta Comunitária, Parque Independência, Avenida Juiz de Fora, Bairro Vale dos Bandeirantes	08/06/11	30	<i>P. columella</i>	12021-12025
12	Rio Acima, MG , Condomínio Canto das águas	15/06/11	4	<i>P. columella</i>	12017-12020
13	Leopoldina, MG , Fazenda Mato Dentro, Distrito de Abaida	25/07/11	8	<i>P. columella</i>	*

Material e Métodos

14	Teresópolis, RJ , Estrada de Vargem Grande, Zona Rural de Teresópolis	04/08/11	2	<i>P. columella</i>	*
15	Jeceaba, MG , Tanque de Peixe, Sítio Ponte Pequena	04/08/11	22	<i>P. columella</i>	*
16	Rezende Costa, MG , Córrego do Marisco, Várzea	12/08/11	3	<i>P. columella</i>	*
17	Prados, MG , Vala de Irrigação, Rua 7 de setembro, Bairro Vitoriano Veloso	25/08/11	7	<i>P. columella</i>	*
18	Prados, MG , Vala, Bairro Caxambu	25/08/11	18	<i>P. columella</i>	*
19	Barroso, MG , Córrego, Bairro Caetés	30/08/11	17	<i>P. columella</i>	*
20	Barroso, MG , Córrego do Padeiro, Bairro Bedeschi	30/08/11	10	<i>P. columella</i>	*
21	Ritápolis, MG , Córrego, Várzea	12/08/11	15	<i>P. columella</i>	*
22	Ouro Preto, MG , Córrego Tabuleiro, Distrito de Antônio Pereira	30/09/11	9	<i>P. columella</i>	*
23	Juiz de Fora, MG , Barreira do Triunfo	21/09/11	6	<i>P. columella</i>	*
24	Juiz de Fora, MG , Bairro Chapéu D'uvas	21/09/11	1	<i>P. columella</i>	*
25	Belo Horizonte, MG , Parque Ecológico UFMG	01/10/11	9	<i>P. columella</i>	*
26	Belo Horizonte, MG , Floricultura Tirol, Avenida Bráulio Gomes Nogueira, 170, Bairro Tirol	27/10/11	13	<i>P. columella</i>	*
27	Nova Teutônia (distrito do município de Seara, SC) , Rio,	28/11/11	1	<i>P. columella</i>	*
28	Nova Teutônia (distrito do município de Seara, SC) , Açude do Sítio Horstogomann	28/11/11	20	<i>P. columella</i>	*
29	Quatro Barras, PR , Povoado do Tigre, Chácara Bumerangue	30/11/11	10	<i>P. columella</i>	*
30	Quatro Barras, PR , Povoado do Tigre, ao lado da casa de recuperação	30/11/11	10	<i>P. columella</i>	*
31	Curitiba, PR , Parque Tinguí	30/11/11	6	<i>P. columella</i>	*
32	Filadélfia, PA, EUA , Bartram's Garden	06/04/13	-	-	-
33	Filadélfia, PA, EUA , Lagoa perto do Memorial Hail, Parque Fairmount	01/05/13	-	-	-
34	Filadélfia, PA, EUA , Wister's woods, Bairro Germatown	01/05/13	-	-	-
35	Filadélfia, PA, EUA , Parque Tookany/Tacony Creek	07/07/13	-	-	-

Legenda: *Moluscos coletados e não depositados na coleção Fiocruz-CMM.

3.3 Revisão e retificação taxonômica dos limneídeos presentes na coleção Fiocruz-CMM

Através de consultas realizadas nos “Livro de Registro de Recebimento de Moluscos” e do Livro de Tombo foi realizado o levantamento de todos os pontos de coleta, registrados com a presença de limneídeos depositados no acervo da coleção Fiocruz-CMM no período de 1995 até 2012. Nessa coleção, o material correspondente ao exemplar é constituído por concha mantido em recipiente de vidro com algodão, corpo armazenado em fixador Raillet-Henry e parte da massa cefalopodal criopreservada para estudos moleculares. Os lotes que possuíam ao menos concha e/ou corpo foram escolhidos para a identificação. Foram desconsiderados para a identificação morfológica, os espécimes que possuíam somente a região cefalopodal preservada para a caracterização molecular. Devido à semelhança morfológica entre as famílias Lymnaeidae e Physidae, foi observado que alguns moluscos do gênero *Physa*, estavam equivocadamente identificados como limneídeos, o contrário também ocorreu, dessa forma, o gênero *Physa* foi incluído nas buscas para retificar esse equívoco.

Foram analisadas inicialmente todas as conchas dos moluscos, com objetivo de realizar a triagem dos exemplares pertencentes à família Lymnaeidae (classificados como *Lymnaea* "sensu lato"). Os moluscos foram separados por pontos de coleta, pelo menos um exemplar foi utilizado na confirmação específica, preferencialmente os previamente dissecados, quando não havia exemplares dissecados ou quando a dissecação não fornecia partes relevantes para identificação, foi realizada nova dissecação. Somente foi utilizado mais de um exemplar por ponto de coleta quando a análise morfológica do primeiro exemplar foi inconclusiva e/ou quando o número de exemplares por ponto era superior a cinco. Nos dois casos foi respeitada a proporção de no máximo dois exemplares dissecados para cada cinco exemplares presentes no ponto de coleta, levando em consideração os exemplares já dissecados. Após a análise morfológica, todos os exemplares utilizados foram devolvidos à coleção, sem danos para estudos morfológicos posteriores.

Os resultados obtidos foram agrupados em seis categorias: 1) dados corretos; 2) equívocos (classificados como outra espécie, gênero ou família); 3) adequações; 4) material degradado; 5) exemplares identificados pela primeira vez (espécies depositadas que estavam sem identificação) e 6) identificados (exemplares enviados a coleção por especialistas ou identificados através da biologia molecular).

Após as identificações morfológicas, os dados foram registrados no Livro de Registro de Recebimento de Moluscos (planilha do Excel) e no Livro de Tombo. Quando necessário, no caso dos equívocos e adequações, a nova informação substituiu a anterior nos livros acima mencionados, sendo os registros anteriores não eliminados, mantendo o histórico do acervo. As informações foram padronizadas, o que facilitará o acesso e armazenamento de novos dados na planilha do programa Excel. O material degradado (concha e/ou corpo) foi mantido na coleção para estudos futuros.

3.4 Elaboração de mapas de distribuição geográfica dos moluscos brasileiros da família Lymnaeidae

Para a elaboração dos mapas de distribuição das espécies foram levantados registros de ocorrência a partir das seguintes fontes: 1) a Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) do Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica, Centro de Pesquisas René Rachou (CPqRR/Fiocruz-MG); 2) Coleção de Malacologia do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP); 3) Através da rede (<http://www.splink.org.br/>) "SpeciesLink" (CRIA), pelo uso da palavra-chave Lymnaeidae no banco de dados; 4) buscas sistemáticas em artigos científicos, dissertações, teses e comunicações, pelo uso das palavras-chaves combinadas: *Lymnaea/Galba/Pseudosuccinea/Lymnaeidae* + ocorrência + Brasil; *Lymnaea/Galba/Pseudosuccinea/Lymnaeidae* + distribuição + Brasil; *Lymnaea/Galba/Pseudosuccinea/Lymnaeidae* + registro + Brasil; *Lymnaea/Galba/Pseudosuccinea/Lymnaeidae* + coleta + Brasil; *Fasciola* + ocorrência + Brasil; *Fasciola* + distribuição + Brasil; *Fasciola* + registro + Brasil; Fasciolose + ocorrência + Brasil; Fasciolose + distribuição + Brasil e Fasciolose + registro + Brasil. De acordo com o tipo do banco de dados (ou sites), os termos foram utilizados em inglês ou em português: "Google scholar", "Web of Knowledge", "Scielo", "PubMed", Periódicos Capes e Banco Digital de Teses e Dissertações. Os dados coletados continham informações relacionadas à ocorrência dos limneídeos por estado e município das regiões brasileiras e se os moluscos foram encontrados naturalmente infectados por *F. hepatica*. A manipulação dos dados, visualização e mapeamento foram realizados através do programa ArcGIS versão 9.3 (ESRI; Redlands, CA, USA).

4 RESULTADOS

4.1 Análise dos espécimes tipo e/ou topótipos e confirmação da presença das espécies de limneídeos no Brasil

4.1.1 *Galba viatrix*

Com base nos exemplares examinados de *G. viatrix* (Tabela 4), verificou-se que a concha nos espécimes procedentes do Brasil possui formato variável, de alongada (comprimento mais evidente que largura) a mais larga (largura mais evidente que comprimento) e altura média de 4.4 ± 0.5 mm (3.5 - 5). A abertura da concha é arredondada pouco e ovalada, ocupando cerca de metade do comprimento total da concha. A volta corporal é arredondada, e a columela é refletida gerando um umbílico e um lábio interno largo em seu início, arredondado e triangular que se estreita suavemente para formar um fino perístoma cortante. A espira é pontiaguda e variável no tamanho, variando de curta a alongada. Não possuem microescultura visível no perióstraco além das linhas de crescimento. As voltas são arredondadas e convexas, em média 5,5, aumentam em comprimento gradualmente conforme o sentido de crescimento, suturas profundas e retas (Figura 10A). Na parte interna do manto o tubo renal está flexionado somente para a direita. A glândula de albúmen possui uma depressão ventral e diminui pouco em largura em suas extremidades, configurando aspecto arredondado. O oviduto é sinuoso, a bolsa do oviduto é visível no lado direito do oviduto. A glândula nidamental é mais larga que a porção proximal do oviduto, de formato oval e algumas vezes dobrada dorsoventralmente. O espermiduto é inicialmente expandido apresentando superfície granular e, então, se afina e apresenta superfície lisa, ocorre então uma nova expansão para formar a próstata. A próstata possui formato triangular alongado sendo um pouco achatada dorsoventralmente em sua porção caudal, com seção transversal com lúmen internamente pregueado devido a uma invaginação do lúmen na parede dorsal. O vaso deferente termina na bainha do pênis que possui pequenas câmaras apicais. O prepúcio é pouco maior que a metade do comprimento da bainha do pênis e possui aproximadamente a mesma largura que a bainha. O útero se dobra para a direita e se estreita para dar lugar a uma curta vagina, sem protuberância bulbar e perístoma. O corpo da espermateca é redondo ou ovóide, contornada por tecido conjuntivo que a leva para o lado esquerdo-ventral do pericárdio, possui um ducto estreito, às vezes um pouco maior em comprimento que o corpo ou de mesmo tamanho

(Figura 10B). A vesícula seminal é lobulada e relativamente desenvolvida (Figura 10C) e o ovotestis (Figura 10D) é compacto e parcialmente embebido na glândula digestiva.

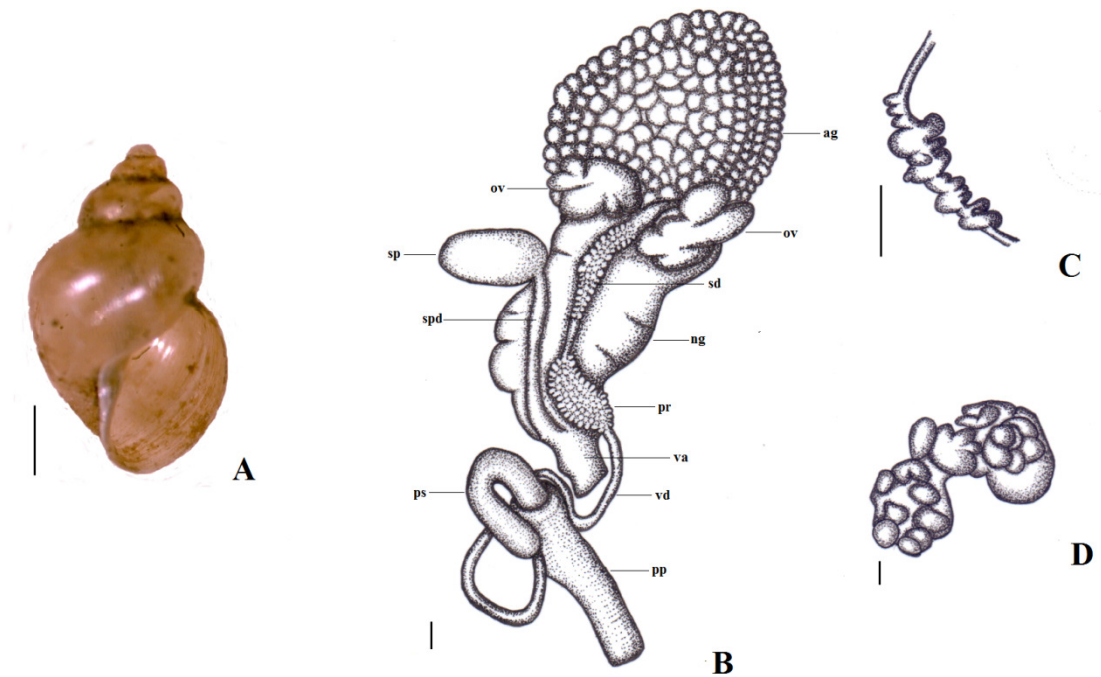


Figura 10. *Galba viatrix* de Santa Vitória do Palmar, RS, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 5100), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMM 5086); C. Vesícula seminal (Fiocruz-CMM 5102); D. Ovotestis (Fiocruz-CMM 5080), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

A concha dos topótipos de *G. viatrix* procedentes da Argentina (Tabela 4) possui morfologia similar aos exemplares desta espécie procedentes do Brasil (Figura 11A), diferindo apenas na altura média um pouco maior de 5.8 ± 0.9 mm (4.2 - 7). A análise da morfologia interna do sistema reprodutor e manto revelou que esses topótipos apresentaram vagina mais longa e e mais estreita e complexo peniano relativamente mais desenvolvido em relação aos exemplares desta espécie e coletados no Brasil (Figura 11B-D).

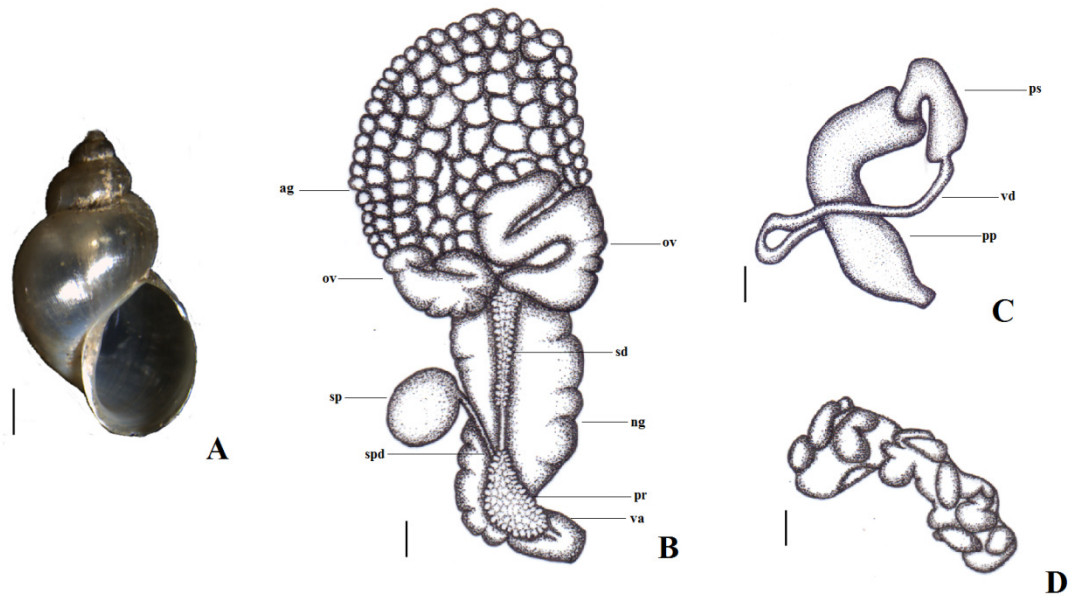


Figura 11. *Galba viatrix* de Rio Negro, Argentina A. Concha, escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Ovotestis (Fiocruz-CMIOC 1900), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

4.1.2 *Galba truncatula*

Com base nos exemplares de *G. truncatula* examinados verificou-se que a concha dos moluscos provenientes do Brasil (Tabela 4) apresentaram concha com formato oval alongada com altura média de 4.1 ± 0.5 mm (3.1 - 4.8). Abertura da concha oval ocupando aproximadamente metade do comprimento da concha. A volta corporal não é muito expandida e a columela está refletida, resultando em umbílico relativamente profundo e um lábio interno triangular com base larga, que se estreita a medida que forma um perístoma pouco refletido na base. Perístoma externo fino cortante. A espira é pontiaguda e alongada. Não possuem microescultura visível no perióstraco além das linhas de crescimento. Concha com suturas profundas e pouco inclinadas e voltas (média de 5 a 6) marcadamente convexas resultando no formato de "ombro", as quais aumentam gradualmente em diâmetro (Figura 12A). Na parte interna do manto o tubo renal está flexionado somente para a direita. A glândula de albúmen possui extremidade e formato arredondado. O oviduto é enrugado com dobras estreitas em comprimento, a bolsa do oviduto é visível no lado direito do mesmo, parcialmente

encoberta por este. A glândula nidamental é de mesmo tamanho que a porção proximal do oviduto, tem formato oval e não está dobrada dorsoventralmente. O espermiduto é inicialmente expandido e possui superfície granular. Após afina-se e apresenta superfície lisa, e ocorre então uma nova expansão para que dá lugar à próstata. A próstata é marcadamente volumosa e apresenta formato cônico ovóide, com a metade basal larga e arredondada e a metade apical que se estreita gradualmente, na região mediana apresenta uma dobra ventral que dá origem ao lúmen internamente pregueado. O vaso deferente termina na bainha do pênis que possui pequenas protuberâncias apicais. O prepúcio é cerca de dois terços mais longo que a bainha do pênis, que é curta e cilíndrica e mais marcadamente mais estreita em largura que o prepúcio. O útero é altamente pregueado e de formato uniforme, não se estreita em direção à vagina que é curta, mas bem definida, voltada para a direita, relativamente mais musculosa com perístoma evidente. O corpo da espermateca é arredondado, localiza-se da mesma forma que em *G. viatrix*, o ducto corresponde em comprimento aproximadamente duas vezes e meia ao comprimento do corpo da espermateca (Figura 12B). O ovotestis (Figura 12C) é compacto e associado à glândula digestiva, relativamente desenvolvido, bem como a vesícula seminal (Figura 12D).

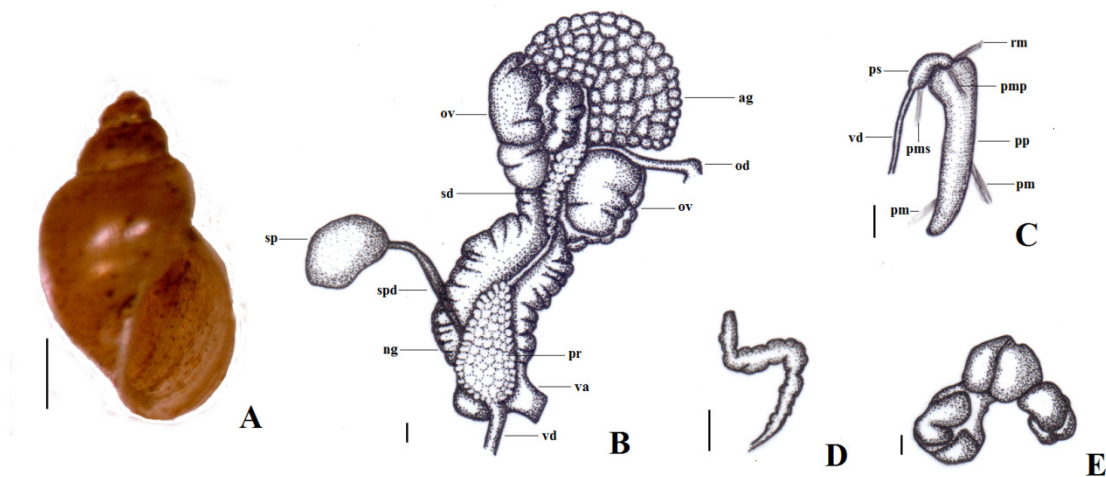


Figura 12. *Galba truncatula* de Rio Acima, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 6336), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Vesícula seminal (Fiocruz-CMM 6344); E. Ovotestis (Fiocruz-CMM 6338), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, ov: oviduto, pm: músculo protractor, pmp: músculo protractor do prepúcio, pms: músculo protractor da bainha do pênis, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, rm:

músculo retrator, sd: espermióduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

A morfologia da concha dos topótipos de *G. truncatula* da Alemanha (Tabela 4) apresentou comprimento médio da concha maior de 6.8 ± 0.7 mm (6 - 8 mm), superior em relação aos exemplares coletados no Brasil desta espécie (Figura 13A). A análise da morfologia interna do sistema reprodutor e manto revelou que os topótipos de *G. truncatula* apresentaram oviduto mais largo em relação aos exemplares da mesma espécie procedentes do Brasil (Figura 13B-D).

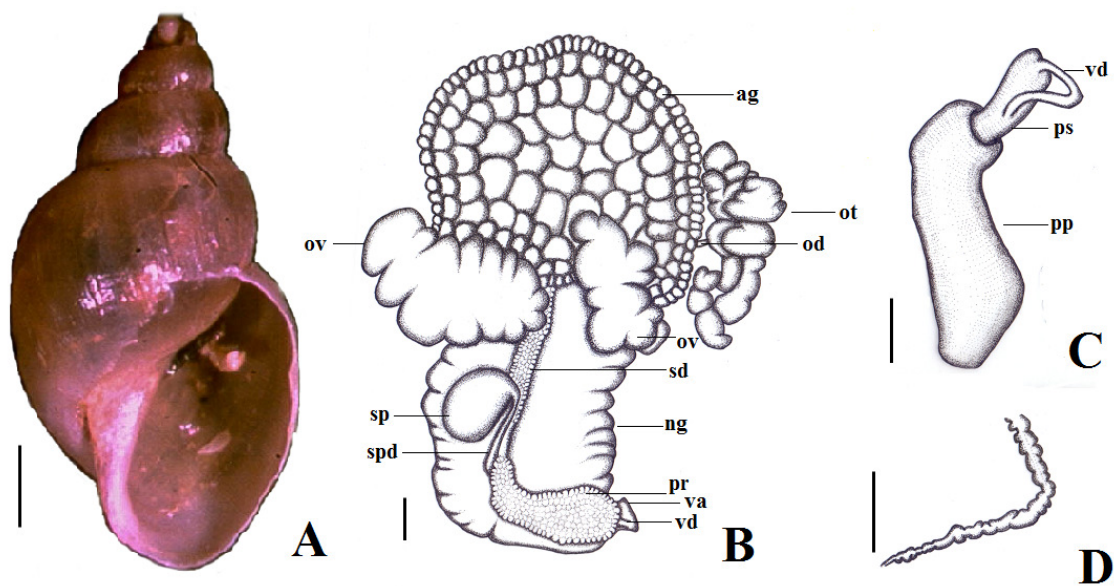


Figura 13. *Galba truncatula* de Thuringia, Alemanha A. Concha (Fiocruz-CMM 14858), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Vesícula seminal; E. Ovotestis (Fiocruz-CMM 14856), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, ot: ovotestis, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermióduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

4.1.3 *Galba cubensis*

Os exemplares examinados de *G. cubensis* procedentes do Brasil (Tabela 4) apresentaram concha com formato oval e comprimento médio de 5 ± 0.6 mm (3.1 - 6.1). A abertura da concha é oval e possui aproximadamente a metade do comprimento da concha. A volta corporal é ampla e arredondada, com a columela refletida formando um

umbílico pouco profundo e um lábio interno com base larga que se estreita a medida que forma o perístoma que possui base levemente refletida e lábio externo fino cortante. A espira é suavemente piramidal e alongada e não possui microescultura visível no perióstraco, além das linhas de crescimento. As voltas (em torno de 6) são levemente arredondadas, aumentando gradualmente em diâmetro. As suturas são marcadas normalmente e pouco inclinadas (Figura 14A). Na parte interna do manto o tubo renal é flexionado somente para a direita. A glândula de albúmen possui uma depressão ventral e diminui pouco em largura em suas extremidades, adquirindo forma arredondada. O oviduto é marcadamente enrugado com dobras largas em comprimento. A bolsa do oviduto não é evidente podendo estar sob o oviduto. A glândula nidamental é de mesmo tamanho que a porção proximal do oviduto. O espermiduto é desenvolvido. A próstata é ampla de formato piramidal arredondado, com base larga que se estreita suavemente. O comprimento do prepúcio varia em cerca de uma vez e meia maior o comprimento da bainha do pênis ou de quase o mesmo tamanho. A bainha do pênis é mais estreita em largura que o prepúcio, possui formato cilíndrico sem protuberância apical. O útero pode se dobrar para a direita ou ser reto, a vagina é pouco alongada, voltada para baixo e pode apresentar uma saliência bulbosa na porção proximal, apresenta perístoma marcado. O corpo da espermateca é arredondado e o ducto da espermateca é cerca de três vezes o comprimento do corpo e se localiza da mesma forma que em *G. viatrix*. O ovotestis é compacto e parcialmente embebido na glândula digestiva. A vesícula seminal é lobulada e bem desenvolvida.

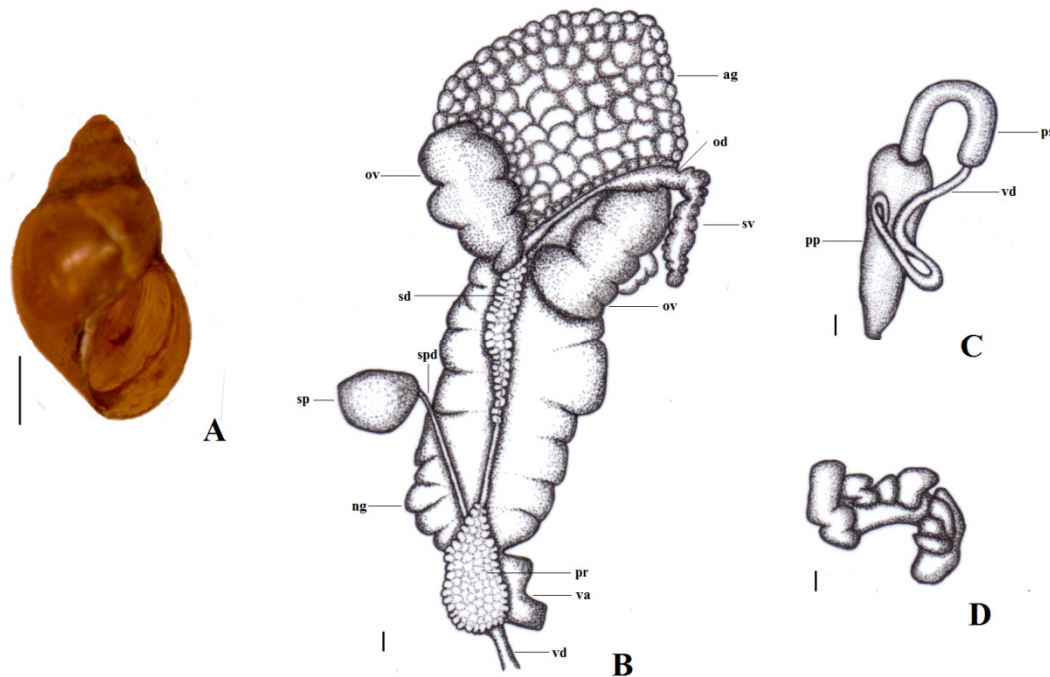


Figura 14. *Galba cubensis* de Belo Horizonte, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 6209), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMM 6185); C. Complexo peniano; D. Ootestis (Fiocruz-CMM 6189), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermioduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

Nos topótipos de *G. cubensis* provenientes de Cuba, a concha apresentou comprimento médio de 6.2 ± 0.5 mm (5.8 - 7.2 mm) e, portanto, superior aos exemplares da mesma espécie e procedentes do Brasil. A análise da morfologia interna do sistema reprodutor e manto revelou que os topótipos de *G. cubensis* apresentaram útero não curvado para a direita quando comparados aos exemplares da mesma espécie procedentes do Brasil (Figura 15).

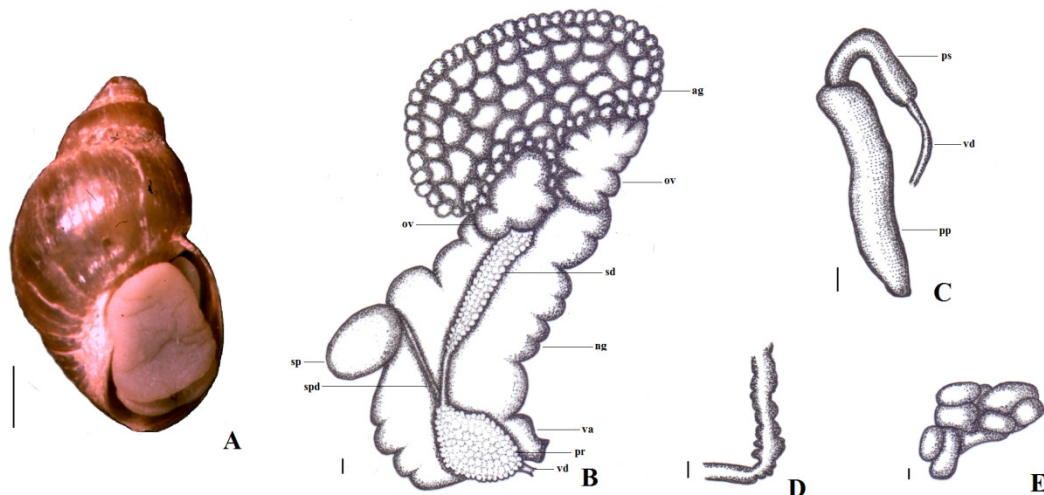


Figura 15. *Galba cubensis* de Havana, Cuba A. Concha (Fiocruz-CMM 14931), escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano; D. Ootestis (Fiocruz-CMM 14909), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, va: vagina, vd: vaso deferente.

4.1.4 *Lymnaea rupestris*

Com relação as coletas realizadas na localidade tipo de *L. rupestris*, somente foram encontrados exemplares de *P. columella*. Dessa forma, a análise limitou-se aos tipos depositados na coleção Fiocruz-CMIOC (Tabela 4). As características observadas nesses exemplares permitiu verificar que como descrito por Paraense (1982b) a concha possui comprimento médio de 4.8 ± 0.7 mm (3.8 - 5.9 mm), com até 4 voltas "infladas" com suturas profundas em formato de "ombros" ou "degraus" e linhas de crescimento fortemente marcadas, também verificou-se que a abertura da concha é extremamente arredondada, o lábio interno é pouco refletido, encobrindo parcialmente o umbílico e concha. Em relação à morfologia interna, o útero está abruptamente flexionado para a direita, formando um ângulo agudo com o lado direito da glândula nidamental, a bolsa do oviduto está ausente e há apenas uma "capa" nessa região, parte basal do ducto da espermateca escondido pela próstata, a luz da próstata tem formato de fenda simples, o espermiduto é amplo e sinuoso e a bainha do pênis é tão longa e ampla quanto o prepúcio e vagina curta, também foi observado a presença de uma faixa branca no colar do manto, perístoma na vagina, próstata bipartida, vesícula seminal bem desenvolvida e

comprimento do ducto da espermateca aproximadamente três vezes o comprimento da espermateca (Figura 16).

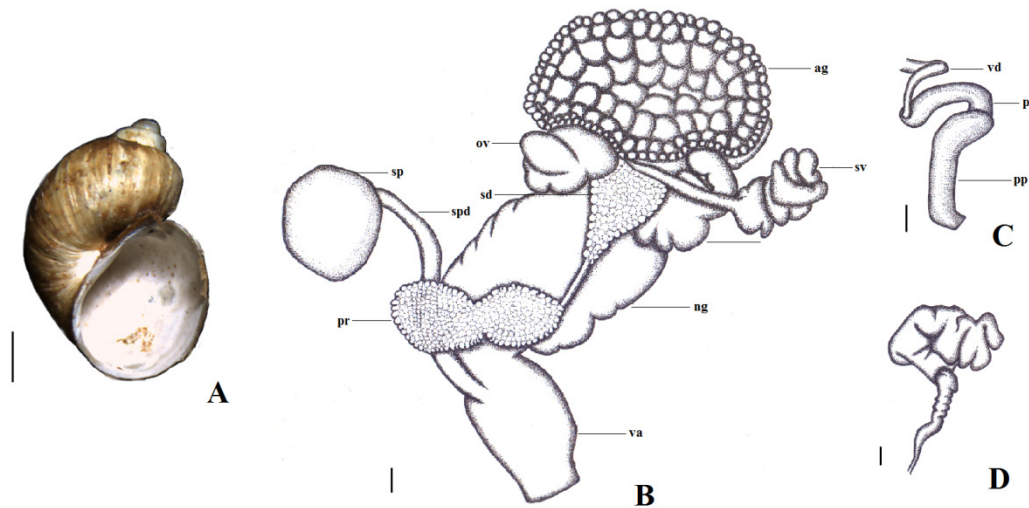


Figura 16. *Lymnaea rupestris* de Nova Teutônia, Seara, SC, Brasil A. Concha do lectótipo (Fiocruz-CMIOC 2741), escala: 1mm; B. Visão geral do sistema reprodutor (Fiocruz-CMIOC 2741); C. Complexo peniano (Fiocruz-CMIOC 2740); D. Ootestis (Fiocruz-CMIOC 2741), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermioduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, sv: seminal vesicle, va: vagina, vd: vaso deferente.

4.1.5 *Pseudosuccinea columella* e proposta de um neótipo para a espécie

Os exemplares examinados de *P. columella* procedentes do Brasil (Tabela 4) apresentaram concha de formato oval, alongada, com altura média de 16.23 ± 1.5 mm (14.4 - 17.8 mm) e a abertura ampla, com formato oval, ocupando cerca de 1/3 do comprimento total da concha. A volta corporal é ampla e a columela é refletida suavemente, cobrindo o umbílico parcialmente. O lábio interno é triangular e fino e estreita-se para formar um perístoma fino e cortante. A espira é curta e possui ápice acuminado. O perióstraco apresenta microescultura composta por evidentes linhas de crescimento entrecortadas por finas linhas espirais, resultando em um aspecto

característico da espécie (Figura 17A). As voltas corporais (média de 4) são levemente arredondadas, com suturas pouco marcadas, que aumentam gradativamente em diâmetro. No manto, no final do tubo renal encontra-se o ureter que apresenta dupla flexão. O sistema reprodutor consiste de um ovotestis de ácinos lobulados intimamente associados à glândula digestiva que continua-se em um fino canal, o ovispermiduto, onde é possível visualizar a vesícula seminal lobulada e bem desenvolvida. A glândula de albúmen é volumosa e cobre parcialmente o oviduto, que possui uma pequena depressão ventral e diminuindo pronunciadamente em largura em ambas as extremidades, assumindo uma forma ovalada. O oviduto é altamente sinuoso sobre si mesmo, inicia-se ventralmente no "carrefour" e divide-se em duas porções inicial (esquerda) e terminal (direita). Em certo ponto, o oviduto está conectado a bolsa do oviduto, que possui paredes finas compostas por lóbulos achatados empilhados, os quais, terminam, em seguida, na glândula nidamental. Esta glândula, possui formato hemisférico volumoso, convexo dorsalmente, com uma depressão ventral e dobras que diminuem em largura em direção a/sua porção final. Esta também apresenta um sulco ventral em sua porção mediana, ocupado pelo espermiduto e pela próstata. O espermiduto começa no "carrefour" e continua na próstata. Em alguns exemplares é difícil detectar a distinção entre esses dois órgãos. Naqueles exemplares em que é possível essa distinção pode se notar que a próstata é de aspecto granular, formato tubular ou achatado, e de calibre um pouco maior do que o do espermiduto. Em seguida da próstata encontra-se o vaso deferente, que é de fino diâmetro que aumenta em direção ao complexo peniano. Antes de atingir este, o vaso deferente se estende intimamente e fica ligado à parede da massa cefalopodal, sendo difícil a sua dissecação nesse ponto. A porção seguinte do ducto feminino é o útero, que possui paredes de aspecto fino e gradualmente se estreita até a vagina, que é curta, deslocada para a direita e sem protuberância e perístoma visível. O ducto da espermateca, de fino calibre, se inicia na vagina e possui comprimento semelhante ao da espermateca, que possui formato ovalado ou, mais frequentemente, arredondado. No molusco, o corpo da espermateca fica situado próximo ao esôfago, voltado para a direita e aderido ao teto da cavidade pulmonar (Figura 17B). Próximo ao complexo peniano o vaso deferente emerge da parede cefalopodal e se insere na região proximal da bainha do pênis. O complexo peniano é pequeno em relação ao restante do sistema reprodutor nessa espécie. A bainha do pênis não apresenta protuberâncias apicais e é cerca de 2 a 6 vezes

menor em comprimento e um pouco menor em largura do que o prepúcio. Os músculos retratores e protatores variam, podendo estar representados por dois pares de músculos, os quais (cada par) aderem-se as regiões proximais da bainha do pênis e do prepúcio, outros músculos menores se aderem na parte central do prepúcio (Figura 17C).

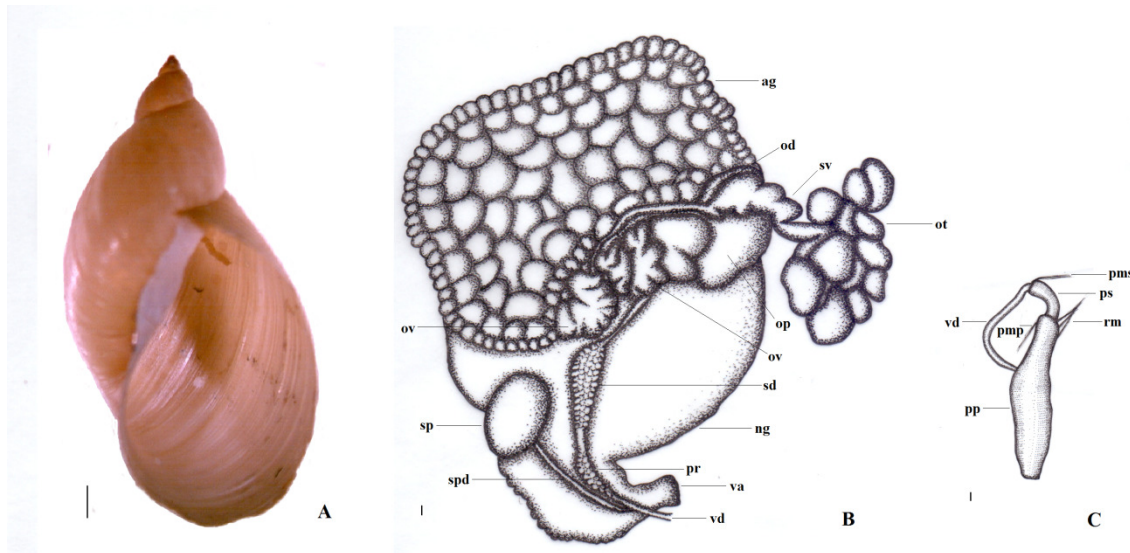


Figura 17. *Pseudosuccinea columella* de Belo Horizonte, MG, Brasil A. Concha (Fiocruz-CMM 4545), escala: 1mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano (Fiocruz-CMM 4542), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, od: ovispermiduto, op: ovispermiduto, ot: ovotestis, ov: oviduto, pmp: músculo protrator do prepúcio; pms: músculo protrator da bainha do pênis, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, rm: músculo retrator, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, sv: vesícula seminal; va: vagina, vd: vaso deferente.

Em relação aos topótipos de *P. columella* procedentes da Filadélfia, EUA e depositados na coleção ANSP, os dois lotes considerados da série tipo, lotes ANSP 330012 (parátipo) e ANSP 58791 (lectótipo + paralectótipo) (Figura 18), não estavam de acordo com os artigos 72.4.1 e 74.5¹ do Código Internacional de Nomenclatura

¹Códigos do ICZN em que os lotes não estavam de acordo, obtidos através do link <http://www.nhm.ac.uk/hosted-sites/iczn/code/>:

- 72.4.1. A série de tipos de uma espécie é constituído por todos os exemplares incluídos pelo autor na nomeação do novo táxon (seja diretamente ou por referência bibliográfica), exceto os que o autor expressamente exclui da série de tipos (Art. 72.4.6), ou duvidosamente atribui ao táxon.

Zoológica (ICZN, 2004). Na etiqueta original da espécie (baseado na caligrafia do autor), no lote ANSP 330012 há uma referência mencionando esta como uma distinta variação da espécie (seta na figura 18C). Dessa forma, o autor exclui o lote da série tipo de acordo com o artigo 72.4.1 do ICZN. Além disso, a nova etiqueta deste lote estava com o número equivocado (ANSP 330011 ao invés de ANSP 330012) (Figura 18D).



Figura 18. Exemplos considerados da série tipo depositados na coleção ANSP. A. Lote ANSP 58791; B. Etiqueta do lote ANSP 58791; C. Lote ANSP 330012, a seta indica a menção do autor que os exemplares são uma variação da espécie (var.); D. Etiqueta do lote ANSP 330012 com o número equivocado, ANSP 330011 ao invés de ANSP 330012.

Esses fatos demonstraram que a série de tipos na ANSP não era válida o que o nos levou a propor um neótipo para esta espécie. Apesar das tentativas de coleta nos pontos selecionados na Filadélfia (Tabela 5), não foram encontrados exemplares de limneídeos. Dessa forma, foi selecionado para a designação do neótipo, o lote ANSP A15410, que faz parte do acervo da coleção de malacologia da ANSP, baseado no lote e

- 74.5. Designações de lectótipo antes de 2000. Em uma designação de lectótipo feita antes de 2000, ou o termo "lectótipo", ou uma tradução exata ou expressão equivalente (por exemplo "tipo"), deve ter sido usado ou o autor deve ter inequivocadamente selecionado um sítipo particular para agir como o único exemplar tipo do táxon que porta o nome. Quando o trabalho original revela que o táxon foi baseado em mais de um exemplar, um uso subsequente do termo "holótipo" não constitui uma designação de lectótipo válida ao menos que o autor, quando erroneamente usando esse termo, explicitamente indicou que este foi selecionado da série tipo e serve como o tipo para portar o nome. últimos excluí-os da série de tipos.

histórico da taxonomia da espécie a localidade tipo estabelecida é Filadélfia, Pensilvânia, Estados Unidos.

Dos cinco exemplares depositados no lote, a morfologia externa foi examinada e somente um exemplar foi dissecado para análise da morfologia interna. Os exemplares do lote do nêotipo possuem a morfologia da concha similar aos exemplares desta espécie, procedentes do Brasil. Os neótipos analisados apresentaram concha com altura média menor de 10.39 ± 1.2 mm (8.4 - 18.8 mm) (Figura 19A). O sistema reprodutor dos neótipos também possui morfologia similar aos exemplares coletados no Brasil, embora, nos topótipos de *P. columella* a vagina seja mais longa (Figuras 19B) e complexo peniano mais desenvolvido em relação aos espécimes do Brasil (Figura 19C). Em alguns exemplares coletados no Brasil, por outro lado, a próstata apresentou-se mais desenvolvida.

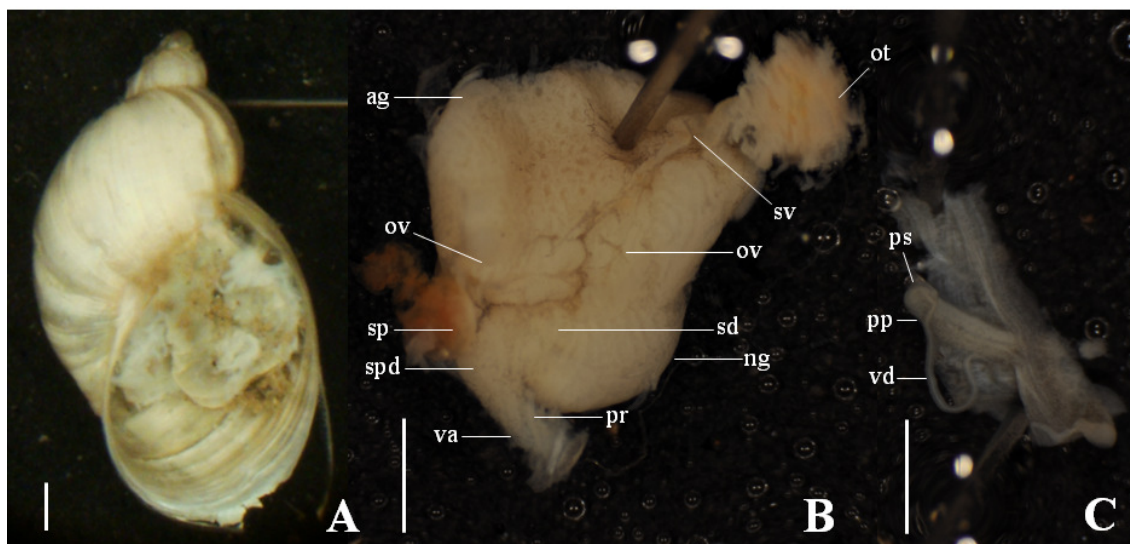


Figura 19. *Pseudosuccinea columella* A. Concha, escala: 1 mm; B. Visão geral do sistema reprodutor; C. Complexo peniano (ANSP A15410), escala: 100 μ . Legenda: ag: glândula de albúmen, ng: glândula nidamental, ot: ovotestis; ov: oviduto, pp: prepúcio, pr: próstata, ps: bainha do pênis, sd: espermiduto, sp: espermateca, spd: ducto da espermateca, sv: vesícula seminal, va: vagina, vd: vaso deferente.

4.2 Refinamento e definição de novos caracteres morfológicos

Também foram encontradas diferenças morfológicas entre as espécies de limneídeos, relacionadas à concha, sistema digestivo (estômago e glândulas salivares) e

ao sistema reprodutor (oviduto, próstata, complexo peniano, vesícula seminal e ovotestis).

O sistema digestivo entre as espécies da família Lymnaeidae que ocorrem no Brasil é bastante similar e compreende uma região bucal com faringe musculosa contendo a rádula, glândulas salivares associadas, esôfago, estômago, glândulas digestivas, intestino e ânus. As diferenças principais foram encontradas entre as espécies do gênero *Galba* e *P. columella*, principalmente, no estômago e glândulas salivares. Na região do estômago posterior nota-se a presença da abertura anterior e posterior dos ductos da glândula digestiva. Na abertura anterior localiza-se um ceco que em *P. columella* está um pouco abaixo desta abertura (Figura 20A), nas espécies do gênero *Galba*, o ceco está na mesma altura que esta abertura (Figura 20B). Também na região posterior do estômago, internamente nota-se uma lamela em direção longitudinal para o intestino. Em *P. columella* essa lamela tem aspecto enrugado (Figura 20C) enquanto que no gênero *Galba* é lisa (Figura 20D). As glândulas salivares são desenvolvidas em *P. columella* (Figura 20E) e mais compactas em *Galba* (Figura 20F).

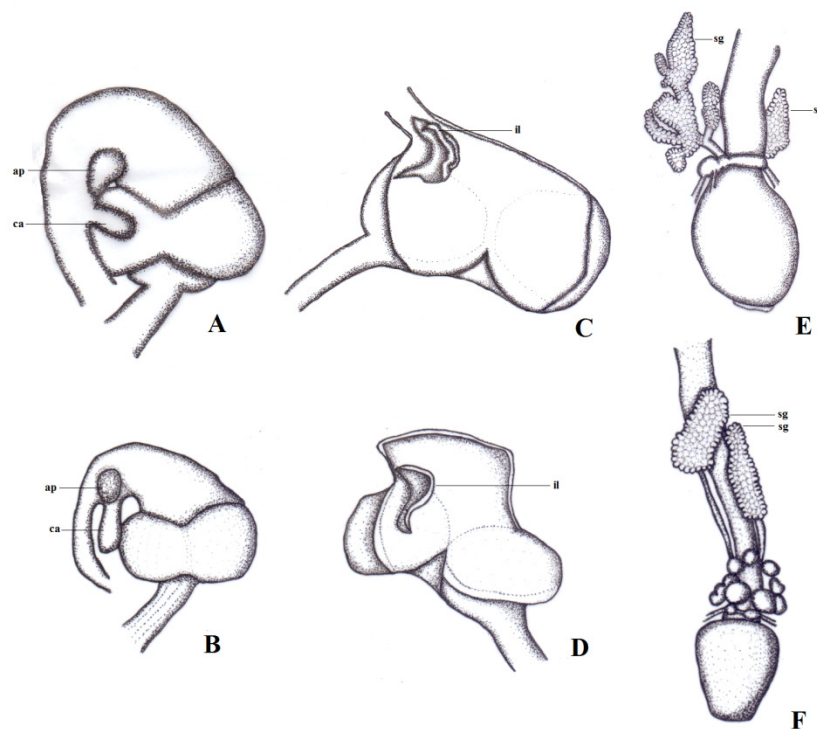


Figura 20. Sistema digestivo de Lymnaeidae. Estômago: A. *Pseudosuccinea columella*, B. *Galba*; Lamela: C. *P. columella*, D. *Galba*; Massa bucal: E. *Pseudosuccinea columella*, F. *Galba*.

As diferenças morfológicas mais evidentes do sistema reprodutor entre as espécies do gênero *Galba* foram encontradas principalmente no complexo peniano, próstata e oviduto. Entre as espécies de *G. viatrix* e *G. cubensis* as diferenças em geral foram menos evidentes e ocorrem principalmente nas características do complexo peniano e da próstata (Tabela 6).

Tabela 6. Diferenças morfológicas entre as espécies do gênero *Galba*.

	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba viatrix</i>	<i>Galba cubensis</i>
Relação comprimento prepúcio/bainha do pênis	Prepúcio cerca de 2/3 maior que a bainha do pênis	Prepúcio um pouco maior que a metade da bainha do pênis	Prepúcio aproximadamente 1.5 maior do que a bainha do pênis
Relação largura prepúcio/bainha do pênis	Prepúcio pouco maior que a bainha do pênis	Prepúcio aproximadamente igual que a bainha do pênis	Prepúcio maior que a bainha do pênis
Formato geral da próstata	Cônica bulbosa, desenvolvida e volumosa	Oval triangular, não muito desenvolvida, pequena	Triangular, desenvolvida
Relação ápice/base da próstata	Ápice triangular afinado cerca de três vezes menor que a largura da base larga arredondada, se estreita abruptamente da base para o ápice	Ápice afinado triangular cerca de metade da base arredondada, se estreita suavemente da base para o ápice	Ápice afinado triangular cerca de metade da base arredondada, ápice menor que em <i>G. viatrix</i> , se estreita suavemente
Oviduto	Extremamente enrugado com dobras de pequeno comprimento	Pouco enrugado	Extremamente enrugado com dobras de grande comprimento

Outros caracteres morfológicos menos evidentes que diferenciam as espécies se referem ao ducto deferente que apresenta maior largura em *G. viatrix* e a vagina que é bulbosa em *G. cubensis*. O ovotestis é mais compacto em *G. cubensis* do que em *G. truncatula* e por sua vez mais compacto do que em *G. viatrix*. A vesícula seminal é mais lobulada em *G. viatrix* do que nas outras espécies.

Com relação à concha, a tabela 7 evidencia as principais diferenças qualitativas nas características da concha para a diferenciação das espécies *Galba viatrix*, *Galba truncatula* e *Galba cubensis*.

Tabela 7. Principais características diagnósticas qualitativas da concha nas espécies do gênero *Galba*.

	<i>Galba viatrix</i>	<i>Galba truncatula</i>	<i>Galba cubensis</i>
Formato	Alongada ou ampla	Oval alongada	Arredondadas
Altura média	4 mm	5 mm	4,4 mm
Número médio de voltas da concha	4,4	4,5	4
Abertura da concha	Oval, um pouco arredondada	Oval	Oval
Umbílico	Pouco profundo	Profundo	Pouco profundo
Perístoma	Simple	Refletido na base	Um pouco refletido na base
Volta corporal	Arredondadas	Arredondadas	Amplo e arredondado
Voltas da espira	Arredondadas	Extremamente Arredondadas	Fracamente arredondadas
Espira	Proeminente ou baixa	Proeminente e alongada	Piramidal e alongada
Suturas	Profundas e retas	Profundas e inclinadas	Pouco profundas e inclinadas

Nas análises da morfologia externa das conchas através da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), os detalhes da microescultura das conchas do perióstraco dos topótipos e as conchas coletadas em localidades do Brasil, foram semelhantes entre as mesmas espécies. A protoconcha de todas as espécies se caracteriza como sendo lisa sem ornamentação. Entretanto, ocorreram pequenas diferenças na ornamentação do perióstraco entre as espécies. Em *G. viatrix* (Figura 21A e 21B) e *G. truncatula* (Figura 21C e 21D) as linhas de crescimento são moderadamente impressas no perióstraco, enquanto em *G. cubensis* (Figura 21E e 21F) essas linhas são fortemente marcadas. Nas suturas das conchas, as linhas de sutura possuem aspecto mais reto em *G. truncatula* do que nas outras espécies. A presença de faixas longitudinais impressas cortando as linhas de crescimento foram verificadas em todas as espécies, entretanto foram mais evidentes em *G. truncatula* (Figura 21C).

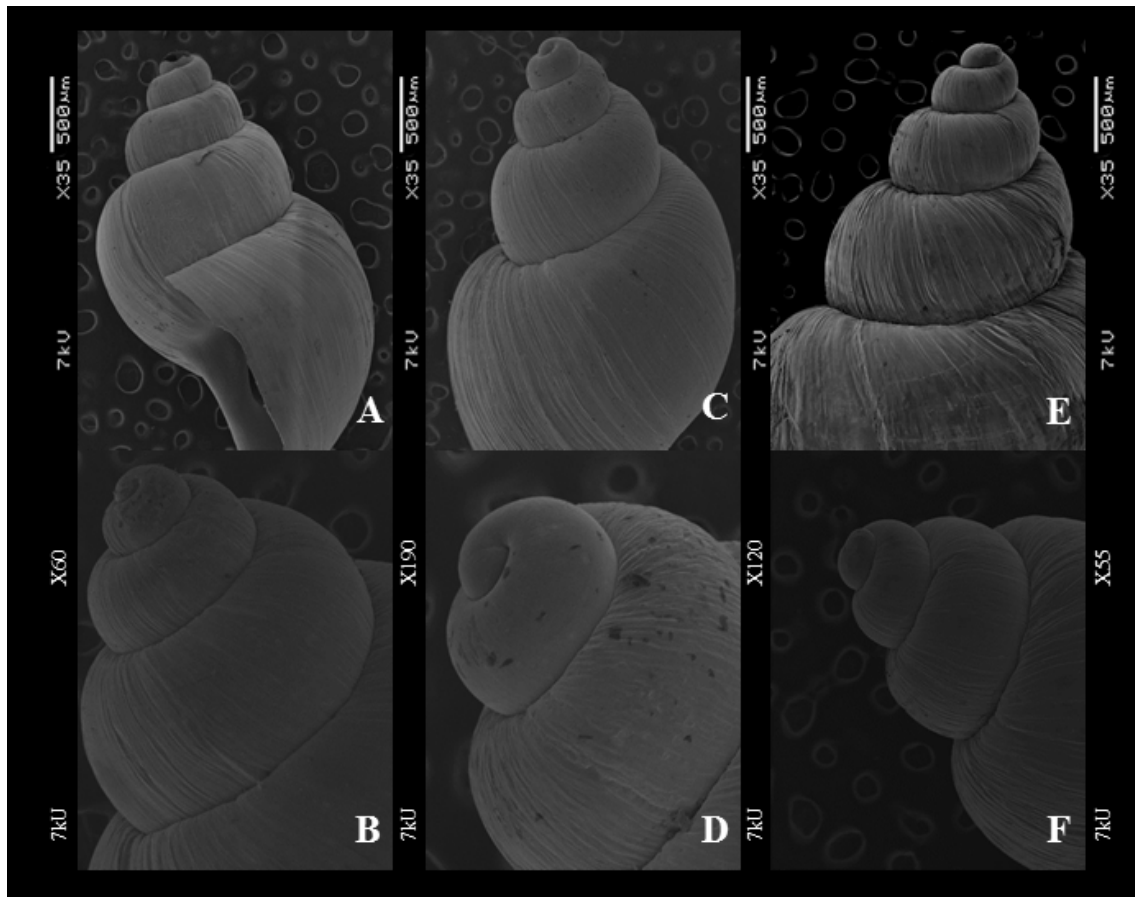


Figura 21. Microscopia eletrônica de varredura de A - B. *Galba viatrix* (Fiocruz-CMM 5099 and 5087); C - D. *Galba truncatula* (Fiocruz-CMM 6361); E. - F. *Galba cubensis* (Fiocruz-CMM 6212).

4.3 Revisão e retificação taxonômica dos limneídeos presentes na coleção Fiocruz-CMM

Entre os 15.486 exemplares de moluscos depositados na coleção Fiocruz-CMM, 924 moluscos (6%) estão representados por exemplares da família Lymnaeidae, catalogados em 98 pontos de coleta. Do total de limneídeos depositados na coleção, 615 (67%) exemplares possuem corpo, concha e região cefalopodal, 695 (75%) possuem corpo e/ou concha e 6 (0,6%) possuem somente a região cefalopodal preservada.

No período anterior a este estudo, em um total de 101 pontos de coleta, haviam sete espécies de limneídeos registradas no acervo em 54 pontos (54%) enquanto que em 47 pontos (46.1%), os limneídeos estavam sem identificação específica. As espécies estavam classificadas como *Lymnaea* “sensu lato”, sendo 29 pontos (28.7%) contendo *L. columella*, nove com *L. viatrix* (8.9%), seis com *L. truncatula* (5.9%), cinco com *L.*

cubensis (5%), dois com *L. diaphana* (2%), dois com *L. peregra* (2%) e um com *L. stagnicola* (1%). Com relação ao número de exemplares por espécie, em um total de 561 limnédeos, haviam 158 espécimes (28.2%) identificados como *L. columella*, 44 (7.8%) como *L. viatrix*, 40 (7.1%) como *L. cubensis*, 26 (4.6%) como *L. truncatula*, 20 (3.6%) como *L. stagnicola*, 6 (1.1%) como *L. diaphana*, 4 (0.7%) como *L. peregra* e 263 (47%) exemplares sem identificação específica designados como *Lymnaea* sp.. A Figura 22 mostra a situação do acervo Fiocruz-CMM antes da realização deste trabalho, com relação ao número de exemplares de limnédeos.

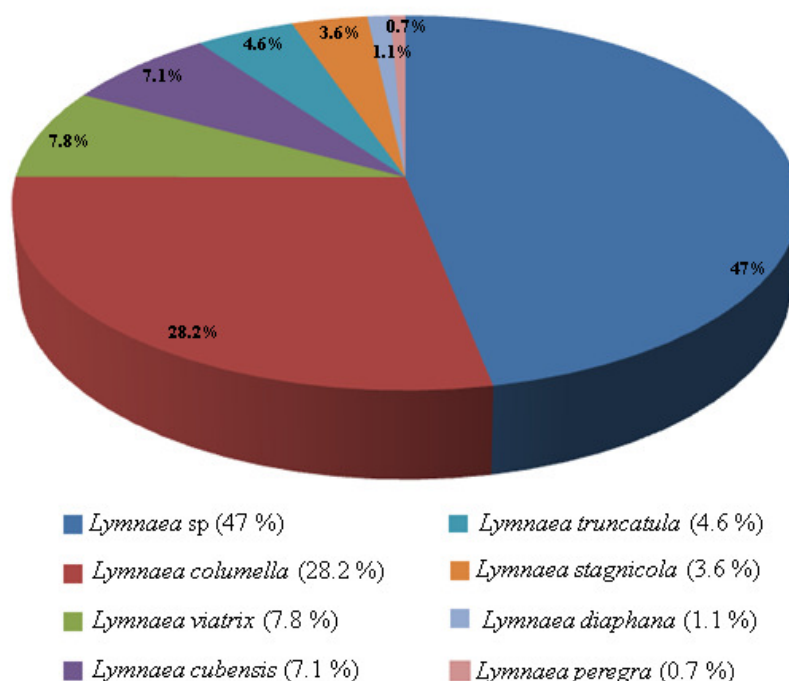


Figura 22. Gráfico demonstrando a situação do acervo em relação ao número de exemplares de limnédeos depositados na coleção Fiocruz-CMM no período anterior à avaliação e retificação.

Após a realização deste trabalho o acervo Fiocruz-CMM ficou composto por sete espécies em um total de 98 pontos de coleta, sendo identificados como *Lymnaea* "sensu stricto" com 64 pontos (65.3%) com exemplares da espécie *P. columella*, 14 (14.3%) com *G. truncatula*, oito (8.2%) com *G. cubensis*, sete (7.1%) com *G. viatrix*, dois (2%) com *L. diaphana*, dois (2%) com *L. peregra* e um (1%) com *L. stagnalis*. Em alguns pontos, principalmente naqueles em que os exemplares pertenciam ao gênero

Galba, foram consultados livros de registro de colaboradores anteriores para confirmar a identificação morfológica, que no caso é de difícil resolução através da morfologia. Em nenhum dos pontos a identificação foi inconclusiva. Com relação ao número de exemplares por espécie, em um total de 924 limneídeos haviam 612 espécimes (66.2%) identificados como *P. columella*, 126 (13.6%) como *G. truncatula*, 105 (11.4%) como *G. cubensis*, 51 (5.5%) como *G. viatrix*, 20 (2.2%) como *L. stagnalis*, 6 (0.6%) como *L. diaphana* e 4 (0.4%) como *L. peregra*. A Figura 23 mostra a situação do acervo Fiocruz-CMM após a realização deste trabalho, com relação ao número de exemplares de limneídeos.

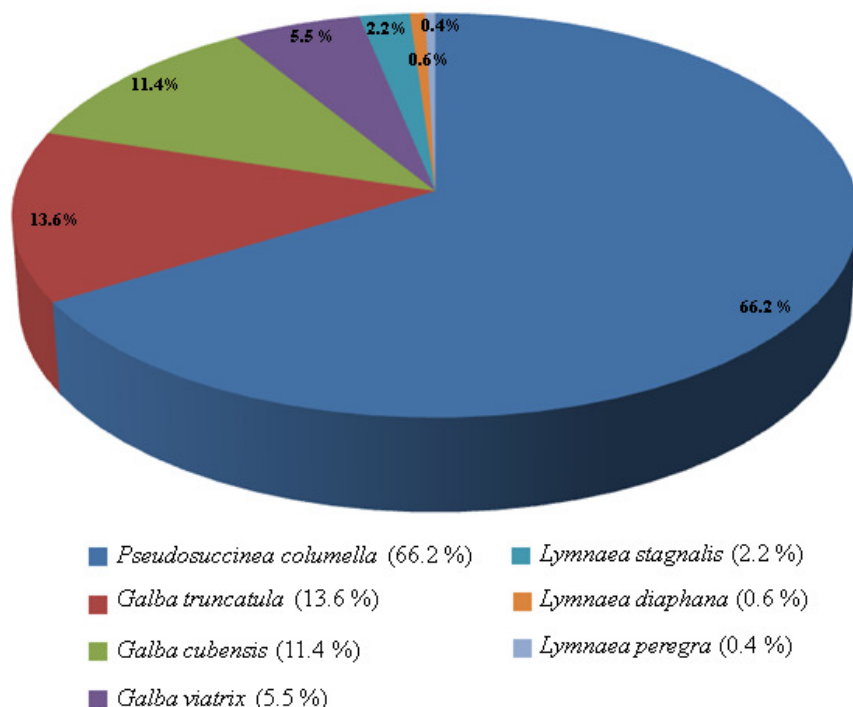


Figura 23. Gráfico demonstrando a situação do acervo em relação ao número de exemplares de limneídeos depositados na coleção Fiocruz-CMM no período posterior à avaliação e retificação.

Alguns moluscos dos gêneros *Acorrbis*, *Succinea* e *Biomphalaria* em um ponto cada por gênero, e do gênero *Physa* em sete pontos, estavam equivocadamente identificados como sendo da família Lymnaeidae, esses exemplares foram excluídos das análises e foram retificados corretamente de acordo com o gênero ao qual pertenciam.

Para o acesso aos dados do acervo, os registros taxonômicos e demais informações referentes aos moluscos da coleção Fiocruz-CMM foram atualizados no *site* do CRIA através do programa *SpeciesBase*, disponíveis na rede *SpeciesLink*. Estes dados encontram-se disponíveis para consulta na rede mundial de computadores (World Wide Web) no endereço <http://splink.cria.org.br>.

4.4 Elaboração de mapas de distribuição geográfica dos moluscos brasileiros da família *Lymnaeidae*

Nas tabelas 8 e 9 estão relacionadas às espécies encontradas nas localidades brasileiras segundo o levantamento realizado. Na rede “SpeciesLink” (CRIA), encontramos os dados relativos à quatro coleções: Coleção de Moluscos do Museu de Ciência e Tecnologia, PUCRS; Coleção de Moluscos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA; Coleção Malacológica do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, DCBio/UFES e Coleção de Malacologia do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz-CMIOC. Nesta última coleção citada as informações sobre as localidades não estavam disponíveis e estas não foram incluídas nos resultados.

Tabela 8: Distribuição de *Pseudosuccinea columella* no Brasil de acordo com a literatura e depósito em coleções malacológicas brasileiras.

Regiões/Estados	Localidades	Fonte: Artigos/Rede “SpeciesLink” (CRIA)
1) Sul		
Rio Grande do Sul		
	Agudo	1
	Arroio Grande	2
	Cachoeira do Sul	4
	Camaquã ⁺	4; 5; 6
	Candiota	MCP-Moluscos
	Capão do Leão	4; 2
	Dom Pedrito ⁺	4
	Eldorado do Sul	81
	Gramado	Fiocruz-CMM
	Guaíba	4
	Morro Reuter	4
	Nova Petrópolis	4
	Pelotas	8; 9; Fiocruz-CMM
	Porto Alegre	11; 4
	Rosário do Sul ⁺	12
	Santa Maria	13
	Santa Vitória do Palmar	4
	Santo Antônio da Patrulha	84
	São Borja	15
	São Leopoldo	MZUSP
	São Martinho da Serra	13
	Sapucaia do Sul ⁺	12
	Reserva ecológica do Taim	4

	Rio Pardo	MCP-Moluscos
	Taquara	4; 87
	Tramandaí	4
	Triunfo	16; Fiocruz-CMM
	Viamão	4
Santa Catarina		
	Araranguá	4
	Biguaçu	18; 19; 20
	Blumenau	18; 19; 20
	Brusque	18; 19; 20
	Camboriú	18; 19; 20
	Criciúma	18; 19; 20
	Florianópolis	4; 17; 18; 19; 20
	Itá	MCP-Moluscos
	Joinville	4
	Lages	4
	Lauro Müller	MZUSP
	Nova Trento	18; 19; 20
	Palhoça	18; 19; 20
	São João do Sul	18; 19; 20
	Seara	4; 24 Fiocruz-CMM
	Tubarão	18; 19; 20
	Urubici	25
Paraná		
	Antonina	91
	Balsa Nova	91
	Bocaiúva do Sul	26; 91
	Cambará	Fiocruz-CMM
	Campina Grande do Sul	91
	Campo Largo	91
	Contenda	91
	Curitiba	27; 4; 28; 24; 87; 52; 91; Fiocruz-CMM; MZUSP
	Dionísio Cerqueira (Barracão)	4
	Morretes	4; 91
	Paranaguá	MZUSP
	Quatro Barras	91
	Rio Branco do Sul	91
	São José dos Pinhais	87; 91
	Tunas do Paraná	26; MZUSP
2) Sudeste		
São Paulo		
	Águas de Santa Bárbara	29
	Altinópolis	30
	Álvares Machado	31
	Americana	80
	Américo Brasiliense	30
	Angatuba	29
	Anhembi	29
	Araçoiaba da Serra	29
	Aramina	30
	Arandu	29
	Araraquara	30
	Areiópolis	29
	Atibaia	80
	Avanhandava	MZUSP
	Avaré	29
	Barão de Antonina	29
	Barra Bonita	33
	Barretos	30
	Batatais	30
	Bebedouro	30
	Boa Esperança do Sul	30
	Bofete	29
	Boituva	29
	Borborema	30
	Botucatu	29
	Brodowski	30
	Brotas	MZUSP

	Buri	29
	Cabreúva	29
	Caçapava	4; 80
	Caiuá	31
	Cajurú	30
	Campinas	34; 4; 35; 36; 80
	Cândido Rodrigues	30
	Capão Bonito	29
	Capela do Alto	29
	Caraguatatuba	MZUSP
	Cássia dos Coqueiros	30
	Catiguá	37
	Cerqueira Cesar	29
	Cerquilha	29
	Cesário Lange	29
	Colina	30
	Colômbia	30
	Conchas	29
	Coronel Macedo	29
	Cravinhos	30
	Cristais Paulista	30
	Descalvado	30
	Dourado	30
	Eldorado ⁺	41
	Estrela do Norte	31
	Fernando Prestes	30
	Franca	30
	Guaiara	30
	Guapiaçú	37
	Guapiara	29
	Guará	30
	Guaraci	37
	Guareí	29
	Guarujá	MZUSP
	Ibaté	30
	Ibirá	37
	Ibitinga	30
	Ibiúna	29
	Iepê	31
	Igarapava	30; Fiocruz-CMM
	Indiana	31
	Iperó	29
	Irapuã	37
	Itaberá	29
	Itaí	29
	Itapetininga	29
	Itapeva	29
	Itápolis	30
	Itaporanga	29
	Itararé	29
	Itariri	4; 32
	Itatinga	29
	Itu	29
	Itupeva	MZUSP
	Ituverava	30
	Jaboticabal	30
	Jaguariúna	36
	Jardinópolis	30
	João Ramalho	31
	Junqueirópolis	31
	Louveira	36
	Luis Antônio	30
	Mairinque	29
	Marinópolis	37
	Martinópolis	31
	Matão	30
	Miguelópolis	30
	Miracatu ⁺	36; 41
	Monte Alto	30
	Monte Aprazível	37

	Monte Azul Paulista	30
	Morro Agudo	30
	Narandiba	31
	Nova Europa	30
	Nova Granada	37
	Novo Horizonte	37
	Olímpia	37
	Orlândia	30
	Oswaldo Cruz	31
	Palestina	37
	Palmital	Fiocruz-CMM
	Panorama	31
	Paraíso	37
	Paranapanema	29
	Parapuã	31
	Pardinho	29
	Patrocínio Paulista	30
	Pedregulho	30
	Pereiras	29
	Piedade	29
	Pilar do Sul	29
	Piquerobi	31
	Piquete ⁺	38; 39; 75; MZUSP
	Piracicaba	36
	Pirangi	30
	Pirassununga	4; 36; 80
	Pitangueiras	30
	Planalto	37
	Pontal	30
	Porangaba	29
	Porto Feliz	29
	Pradópolis	30
	Presidente Bernardes	31
	Rancharia	31
	Redenção da Serra	38
	Regente Feijó	31
	Registro	36
	Restinga	30
	Ribeirão Bonito	30
	Ribeirão Branco	29
	Ribeirão Preto	4; 30; MZUSP
	Rincão	30
	Rinópolis	31
	Rio Claro	4
	Riversul	29
	Rubinéia	37
	Sales	37
	Sales Oliveira	30
	Salesópolis	78; MZUSP
	Salto	29
	Salto de Pirapora	29
	Sandovalina	31
	Santa Adélia	37
	Santa Mercedes	31
	Santa Rita do Passa Quatro	30
	Santa Rosa do Viterbo	30
	Santo Anastácio	31
	Santo Expedito	31
	São Carlos	30
	São Joaquim da Barra	30
	São José do Rio Preto	37
	São José dos Campos	4
	São Manoel	29
	São Miguel Arcanjo	29
	São Paulo	4; MZUSP
	São Roque	29
	São Simão	30
	São Vicente	MZUSP
	Sarapuí	29
	Serrana	30

	Sertãozinho	30
	Sorocaba	29
	Tabatinga	30
	Taiacu	30
	Taiuva	30
	Tapuaí	29
	Taquaritinga	30
	Taquarituba	29
	Tarabaí	31
	Tatuí	29
	Taubaté	4; 80
	Terra Roxa	30
	Tietê	29
	Urupês	37
	Vista Alegre do Alto	30
	Votorantim	29
Rio de Janeiro		
	Angra dos Reis	42
	Aperibé	43
	Araruama	44
	Areal	45
	Barra do Pirai	42
	Barra Mansa	42
	Bom Jardim	45
	Bom Jesus de Itabapoana	43
	Cachoeiras de Macacu ⁺	46; 76
	Cambuci	43
	Campos dos Goytacazes ⁺	47; 48; 49
	Cantagalo	45
	Cardoso Moreira	49
	Carmo	45
	Casimiro de Abreu	44
	Comendador Levy Gasparian	45
	Conceição de Macabu	49
	Cordeiro	45
	Duas Barras	45
	Engenheiro Paulo de Frontin	46
	Guapimirim	50
	Itaboraí	46
	Itaguaí ⁺	46; 51; 85
	Italva	43
	Itaocara	43
	Itaperuna	43
	Itatiaia	42
	Japeri	46
	Laje do Muriaé	43
	Macaé	49
	Magé	50; 51
	Mangaratiba	46
	Maricá	46
	Mendes	46
	Miguel Pereira	46
	Miracema	43
	Natividade	43
	Niterói	46; 53
	Nova Friburgo	45
	Nova Iguaçu	46
	Paracambi	46
	Paraíba do Sul	45
	Parati	42
	Paty dos Alferes	46
	Petrópolis	50
	Pinheiral	42
	Pirai	42
	Porciúncula	43
	Quatis	42
	Resende	42
	Rio Bonito	46

	Rio Claro	42
	Rio das Flores	42
	Rio das Ostras	44
	Rio de Janeiro	4; 46; 54; 86
	Santa Maria Madalena	45
	Santo Antônio de Pádua	43
	São Fidélis	49
	São Gonçalo	46; 51
	São João de Meriti	46
	São José de Ubá	43
	São José do Vale do Rio Preto	50
	São Sebastião do Alto	45
	Sapucaia	45
	Saquarema	44
	Seropédica	56; 89; Fiocruz-CMM
	Silva Jardim	44
	Sumidouro	45
	Tamoios	44
	Teresópolis	50
	Trajano de Moraes	45
	Três Rios	4; 45
	Valença	42
	Varre-Sai	43
	Vassouras	11; 46
	Volta Redonda	42
Minas Gerais		
	Alfenas	Fiocruz-CMM
	Barbacena	4
	Belo Horizonte	11; 4; 58; 59; 23; 24 Fiocruz-CMM; INPA-Mollusca
	Betim	4; 59; 61; Fiocruz-CMM
	Bicas	61
	Brasópolis	61
	Cachoeira de Minas	61
	Careaçú	61
	Diamantina	4
	Ferros	4
	Igarapé	61
	Itabirito	61
	Itajubá ⁺	9; 61; 62; 24; 8; Fiocruz-CMM
	Jaboticatubas	8; 63; Fiocruz-CMM
	Januária	64
	Juiz de Fora	4; 65; 61; 83; Fiocruz-CMM
	Lagoa Santa	59
	Machado	Fiocruz-CMM
	Mariana	66
	Nova Lima	59
	Ouro Fino	4
	Passos	MZUSP
	Pedro Leopoldo	59
	Perdões	Fiocruz-CMM
	Piranguinho	61
	Raposos	Fiocruz-CMM
	Ribeirão das Neves	59
	Rio Acima	Fiocruz-CMM
	Rio Doce	8
	Sabinópolis	4
	Santa Luzia	59
	Santa Rita do Sapucaí	61
	São Gonçalo do Sapucaí	11; 61
	Sete Lagoas	11
	Timóteo	Fiocruz-CMM
	Três Pontas	24; Fiocruz-CMM
	Ubá	4
	Varginha	61
	Vespasiano	59

	Viçosa	11; 4
Espírito Santo		
	Alegre	68
	Atílio Vivacqua	68
	Cachoeiro do Itapemirim	68
	Castelo	68
	Guaçuí	68
	Guarapari	UFES-Malacologia
	Jerônimo Monteiro	68
	Marataízes	68
	Mimoso do Sul	68
	Muniz Freire	68
	Muqui	68
	Piúma	68
	Presidente Kennedy	68
	Serra	UFES-Malacologia
	Vartem Alta	68
	Itapemirim	68
3) Centro-Oeste		
Goiás		
	Barro Alto	69
	Brasília	4
	Campinaçu	69
	Campinorte	69
	Colinas do Sul	69
	Formosa	4
	Goiânia	4; 24; 77; Fiocruz-CMM
	Minaçu	69
	Mineiros	70
	Niquelândia	69
	Santa Rita do Novo Destino	69
	Uruaçu	69
Mato Grosso		
	Cuiabá	4
Mato Grosso do Sul		
	Aquidauana	4
	Bela Vista	4
4) Nordeste		
Bahia		
	Salvador	71
Ceará		
	Fortaleza	8; Fiocruz-CMM
Paraíba		
	Campina Grande	72; 73
5) Norte		
Amazonas		
	Benjamin Constant	74
	Careiro	Fiocruz-CMM
	Coari	Fiocruz-CMM
	Manaus	74
	Tefé	71; Fiocruz-CMM
	Irlanduba	INPA-Mollusca
Acre		
	Rio Branco	24; Fiocruz-CMM

Tabela 9: Distribuição de *Galba viatrix*, *G. rupestris*, *G. cubensis*, *Lymnaea truncatula* e *Lymnaea* sp. no Brasil de acordo com a literatura e depósito em coleções malacológicas brasileiras.

Regiões/ Estados	Localidades	Espécies	Fonte: Artigos/Rede “Species Link” (CRIA)
1) Sul			
Rio Grande do Sul			
	Bagé	<i>G. viatrix</i>	3
	Bom Jesus	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Cambará do Sul	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Dom Pedrito	<i>G. viatrix</i> ⁺	4; 3; 7; 82
	Erval Grande	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Estrela	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Ibirubá	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Jaguarão	<i>G. viatrix</i> ⁺	4; 3
	Lavras do Sul	<i>G. viatrix</i>	3
	Pelotas	<i>G. viatrix</i>	10
	Porto Alegre	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Santa Vitória do Palmar	<i>G. viatrix</i> ⁺	4; 14; 3; 89; Fiocruz-CMM
	São Borja	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	São Francisco de Paula	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Selbach	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Três Coroas	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Vacaria	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Viamão	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
Santa Catarina			
	Campos Novos	<i>Lymnaea</i> sp.	MCP-Moluscos
	Florianópolis	<i>G. viatrix</i>	21
	Seara	<i>G. viatrix</i>	22; 4
		<i>L. rupestris</i>	23
Paraná			
	Curitiba	<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP
2) Sudeste			
São Paulo			
	Piracicaba	<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP
	Presidente Prudente	<i>Lymnaea</i> sp.	40
	São Paulo	<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP
	Ubatuba	<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP
Rio de Janeiro			
	Nova Friburgo	<i>Lymnaea</i> sp.	45
		<i>G. truncatula</i>	Fiocruz-CMM
	Paraíba do Sul	<i>G. cubensis</i>	51
	Petrópolis	<i>G. cubensis</i>	51
	Rio de Janeiro	<i>G. cubensis</i>	55
		<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP
	Teresópolis	<i>Lymnaea</i> sp.	50
		<i>G. cubensis</i>	51
		<i>G. truncatula</i>	Fiocruz-CMM
	Três Rios	<i>G. cubensis</i>	51; 90
	Vassouras	<i>Lymnaea</i> sp.	57
Minas Gerais			
	Belo Horizonte	<i>G. cubensis</i>	60; Fiocruz-CMM
		<i>G. viatrix</i>	4
	Careaçú	<i>Lymnaea</i> sp. ⁺	79
	Ouro Branco	<i>Lymnaea</i> sp.	67
	Rio Acima	<i>G. viatrix</i>	63
		<i>G. truncatula</i>	60; Fiocruz-CMM
3) Norte			
Pará			
	Belém	<i>Lymnaea</i> sp.	MZUSP

Legendas para as tabelas 10 e 11: Os números da coluna Artigos são referências aos autores que registraram a ocorrência dos exemplares de Lymnaeidae: 1: Simões (2002); 2: Amaral *et al.* (2007); 3: Ueno *et al.* (1982); 4: Paraense (1982a); 5: Mattos *et al.* (1997); 6: Pereira *et al.* (2000a); 7: Mattos & Ueno (1985); 8: Coelho (2007); 9: Coelho *et al.* (2009); 10: Rey (1957); 11: Dacal *et al.* (1988); 12: Gonzáles *et al.* (1974); 13: Indrusiak (1983); 14: Müller *et al.* (1998); 15: Martello *et al.* (2008); 16: Pereira *et al.* (2000b); 17: Agudo (2004) *in* Agudo-Padrón (2008); 18: Agudo (2005); 19: Agudo (2007); 20: Agudo (2006); 21: Agudo-Padrón (2008); 22: Hubendick (1951); 23: Paraense (1982b); 24: Cardoso *et al.* (2006); 25: Bellato *et al.* (1996); 26: Queiroz *et al.* (2002); 27: Amaral & Buseti (1979b); 28: Buseti (1982); 29: Vaz *et al.* (1987); 30: Vaz *et al.* (1986); 31: Vaz *et al.* (1983); 32: Muniz (2007); 33: Gouveia & Henry (1990); 34: Ueta (1976); 35: Magalhães *et al.* (1991); 36: Carvalho *et al.* (2001); 37: Vaz *et al.* (1992); 38: Maure *et al.* (1998); 39: Ueta (1980); 40: Tostes *et al.* (2004); 41: Oliveira *et al.* (2002); 42: Thiengo *et al.* (2004a); 43: Thiengo *et al.* (2006); 44: Thiengo *et al.* (2002a); 45: Thiengo *et al.* (2002b); 46: Thiengo *et al.* (2001); 47: Gomes *et al.* (2002); 48: Fiúza *et al.* (2006); 49: Thiengo *et al.* (2004b); 50: Thiengo *et al.* (1998); 51: Rezende *et al.* (1973); 52: Andrade Neto *et al.* (1999); 53: Medeiros *et al.* (2002); 54: Fernandez *et al.* (2001); 55: Nuernberg (1978); 56: Pinheiro & Amato (1996); 57: Lutz (1921); 58: Souza *et al.* (2002); 59: Souza *et al.* (1998); 60: Cardoso (2004); 61: Lima *et al.* (2009); 62: Coelho & Lima (2003); 63: Carvalho *et al.* (2004); 64: Vianna *et al.* (2007); 65: Martins & Alves (2008); 66: Souza *et al.* (2006); 67: Silva *et al.* (1994); 68: Almeida (2010); 69: Thiengo *et al.* (2005); 70: Teles *et al.* (1991); 71: Paraense (1986); 72: Abílio & Watanabe (1998); 73: Abílio *et al.* (2006); 74: Paraense (1983); 75: Amato *et al.* (1986); 76: Bruno *et al.* (1995); 77: Araújo *et al.* (1995); 78: Silva (2010); 79: Oliveira (2008); 80: Ueta (1977); 81: Silva-Santos *et al.* (1994); 82: Silva-Santos *et al.* (1987); 83: Martins & Alves (2010); 84: Veitenheimer-Mendes (1992); 85: Pile *et al.* (1999); 86: Braun (2005); 87: Morretes (1949); 88: Pinheiro *et al.* 2009; 89: Lara *et al.* 1988; 90: Nuernberg *et al.* 1983; 91: Luz *et al.* (1994). Fiocruz-CMM representa os dados obtidos da Coleção de Malacologia Médica, CPqRR, Fiocruz/MG. MCP-Moluscos representa dados obtidos da Coleção de Moluscos do Museu de Ciência e Tecnologia, PUCRS. INPA-Mollusca representa os dados obtidos da Coleção de Moluscos do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, INPA. UFES-Malacologia representa os dados obtidos da Coleção Malacológica do Departamento de Ciências Biológicas, DCBio/UFES. MZUSP representa os dados obtidos da Coleção Malacológica do Museu de Zoologia da Universidade Federal de São Paulo. O símbolo ⁺ representa as cidades onde os moluscos foram encontrados naturalmente infectados com *Fasciola hepatica*.

Registros de limneídeos foram encontrados em 417 municípios e uma reserva ecológica (Taim) de 16 estados, os quais corresponderam a 7.5% de todos os municípios do Brasil. *Pseudosuccinea columella* foi registrada em 400 (95.7%) localidades enquanto *G. viatrix* em 10 (2.4%), *G. cubensis* em seis (1.4%), *G. truncatula* em três (0.7%), e *L. rupestris* em uma (0.2%). Em 25 (6%) municípios: Bom Jesus, Cambará do Sul, Erval Grande, Estrela, Ibirubá, Porto Alegre, São Borja, São Francisco de Paula, Selbach, Três Coroas, Vacaria e Viamão do estado do Rio Grande do Sul; Piracicaba,

Presidente Prudente, São Paulo e Ubatuba do estado de São Paulo; Rio de Janeiro, Nova Friburgo, Teresópolis e Vassouras do estado do Rio de Janeiro; Ouro Branco e Careaçú do estado de Minas Gerais; Campos Novos, SC; Curitiba, PR e Belém,PA, os exemplares foram identificados somente como *Lymnaea* sp. A ocorrência de mais de uma espécie foi registrada em 13 municípios (3.1%): Dom Pedrito, Pelotas e Santa Vitória do Palmar no estado do Rio Grande do Sul; Florianópolis e (*P. columella* e *G. viatrix*) Seara (*L. rupestris*, *P. columella* e *G. viatrix*) no estado de Santa Catarina; Teresópolis (*P. columella*; *G. cubensis* e *G. truncatula*), Nova Friburgo (*P. columella* e *G. truncatula*), Paraíba do Sul, Petrópolis, Rio de Janeiro e Três Rios (*P. columella* e *G. cubensis*) no estado do Rio de Janeiro; Belo Horizonte (*P. columella*, *G. viatrix* e *G. cubensis*) e Rio Acima (*P. columella*, *G. viatrix* e *G. truncatula*) no estado de Minas Gerais.

Pseudosuccinea columella foi registrada naturalmente infectada com *F. hepatica* em 11 municípios dos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais e Rio de Janeiro (Tabela 8), *G. viatrix* foi encontrada naturalmente infectada em três municípios do Rio Grande do Sul enquanto *Lymnaea* sp. foi encontrada em um município de Minas Gerais (Tabela 9). Em Dom Pedrito/RS, ambas as espécies foram encontradas naturalmente infectadas.

Nas figuras 24 até 28 encontram-se os mapas com a distribuição geográficas dos limneídeos brasileiros.

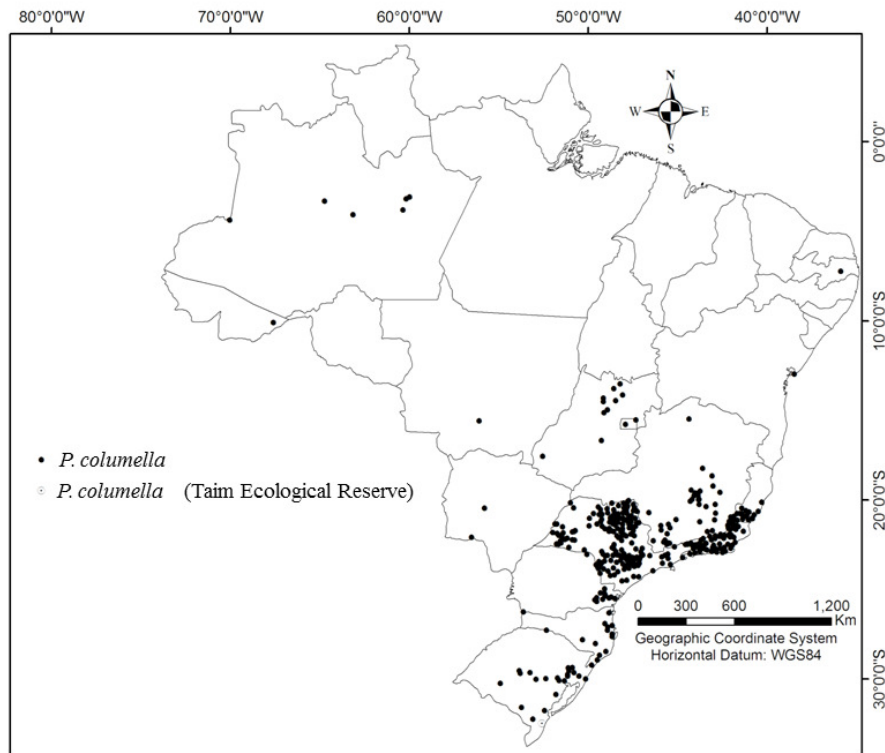


Figura 24. Distribuição espacial de *Pseudosuccinea columella* no Brasil.

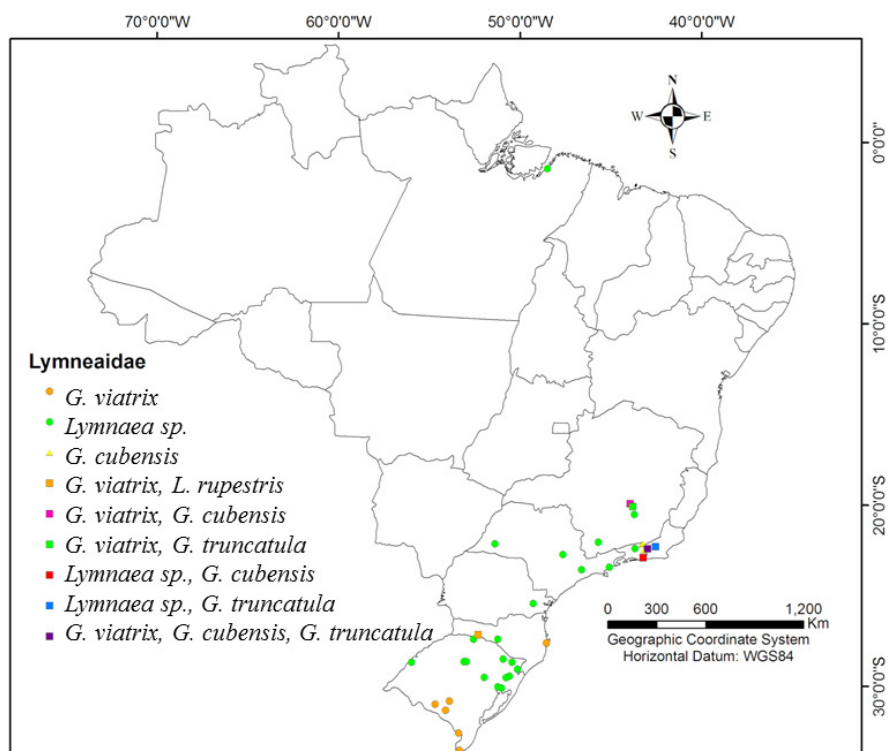


Figura 25. Distribuição espacial de *Galba viatrix*, *G. cubensis*, *G. truncatula*, *Lymnaea rupestris* e *Lymnaea sp.* no Brasil.

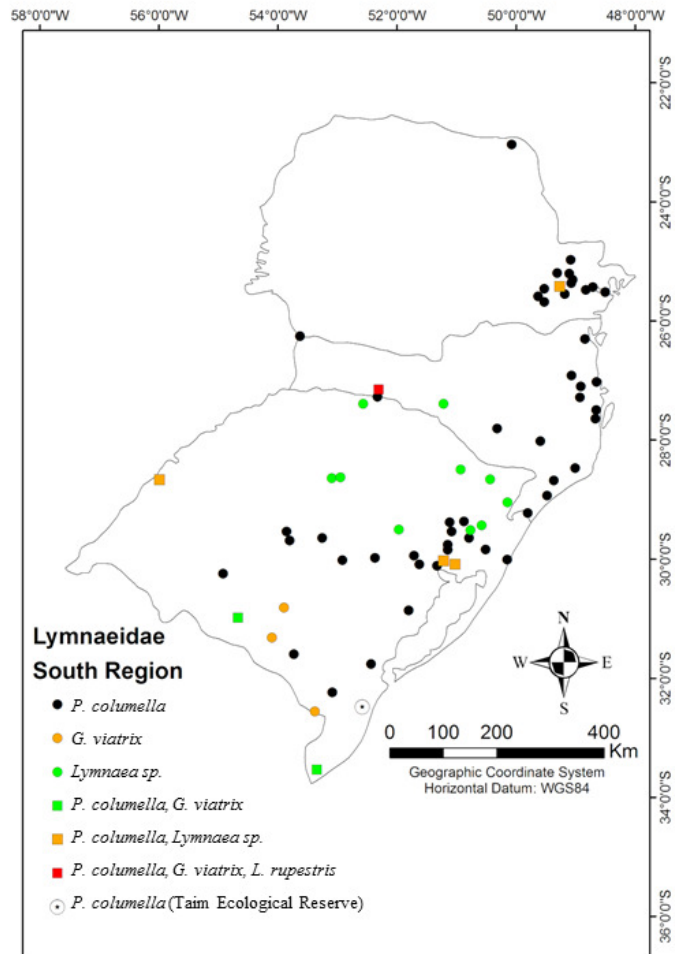


Figura 26. Distribuição espacial de Lymnaeidae na região Sul do Brasil.

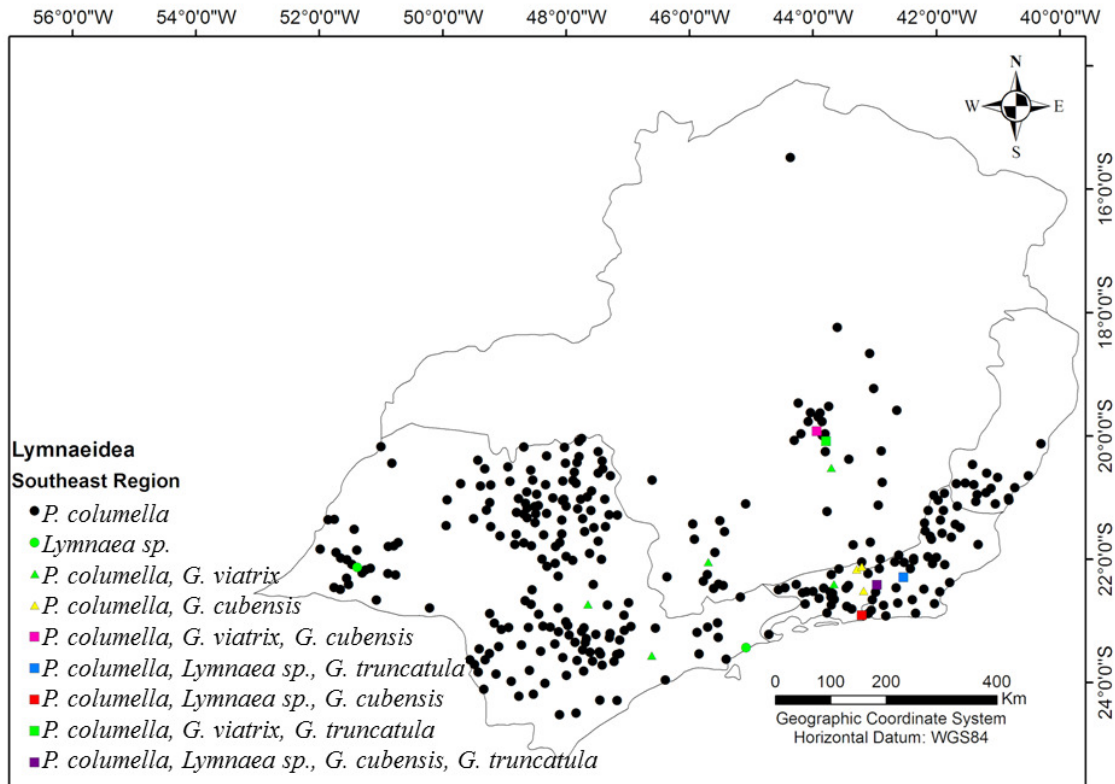


Figura 27. Distribuição espacial de Lymnaeidae na região Sudeste do Brasil.

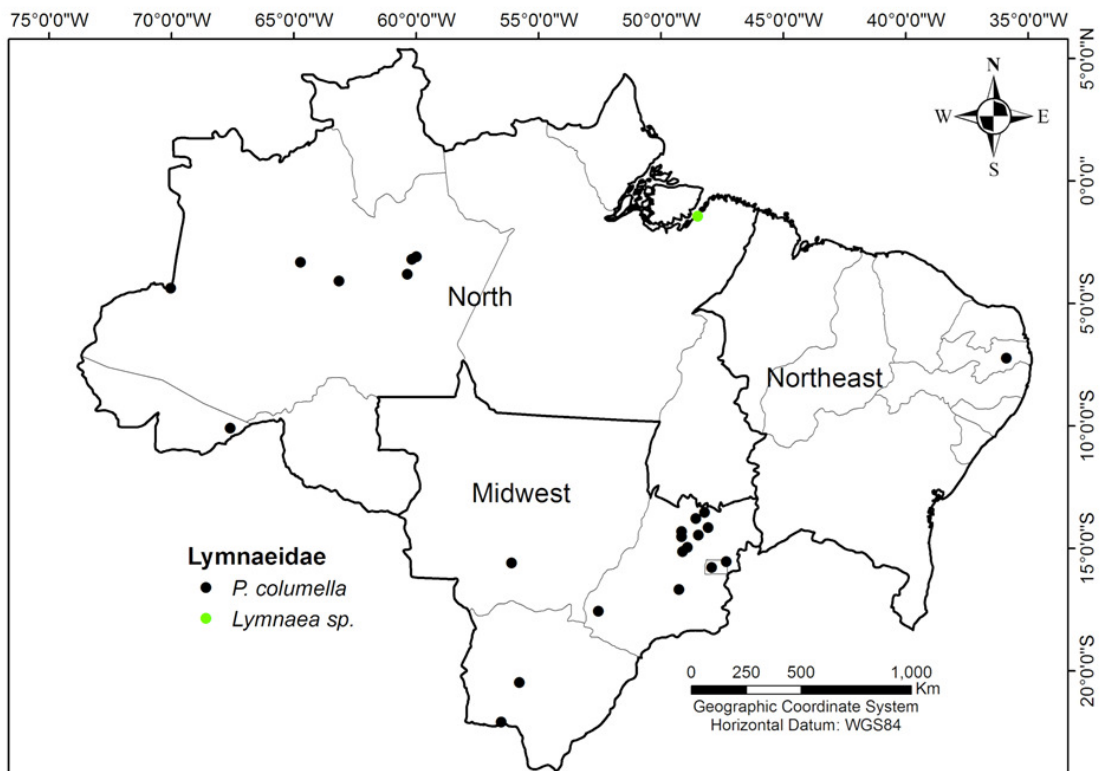


Figura 28. Distribuição espacial de Lymnaeidae nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste do Brasil.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo foi possível confirmar a presença das espécies da família Lymnaeidae que ocorrem no Brasil através da comparação dos exemplares tipos ou topótipos presentes em coleções científicas, além da observação da variabilidade morfológica entre os topótipos e os exemplares procedentes do Brasil, assim como propor um neótipo para *P. columella*. Foi possível também propor novos caracteres morfológicos para as espécies brasileiras, para facilitar principalmente a distinção entre as espécies do gênero *Galba*. Através da morfologia os lotes de limneídeos no acervo da coleção Fiocruz-CMM foram retificados. Através do acesso a dados de coleções científicas e da literatura, o primeiro mapeamento da distribuição de limneídeos no Brasil foi elaborado.

A análise dos topótipos é importante para a confirmação das espécies atualmente válidas (Paraense, 1976a; Pointier *et al.*, 2006), principalmente em relação à *P. columella* descrita no início do século XIX, uma vez que nesta época taxonomistas baseavam-se apenas descrição da concha, enquanto que a morfologia interna (manto, sistema reprodutor e digestivo) era frequentemente não analisada (Perez & Minton, 2008), a qual é essencial para a distinção das espécies e resolução de problemas taxonômicos como a sinonimização ou detecção de complexo de espécies. As características da morfologia interna e externa dos exemplares coletados no Brasil estavam de acordo com as descrições feitas dos topótipos das espécies *G. viatrix* (Paraense, 1976a), *G. truncatula* e *G. cubensis* (Malek, 1985; Samadi, 2000; Carvalho *et al.*, 2008) e *P. columella* (Paraense, 1983,1986). Para as espécies do gênero *Galba*, a análise dos topótipos foi essencial porque essas três espécies possuem uma similaridade morfológica significativa, sendo difícil a distinção entre as espécies, representando esses exemplares as unidades taxonômicas coletadas naquele local. Dessa forma, a morfologia realizada de forma minuciosa teve como objetivo evidenciar as diferenças entre essas espécies.

A análise dos espécimes brasileiros e topótipos, permitiu verificar que a concha dos limneídeos brasileiros apresentou comprimento médio da concha um pouco menor do que em relação aos topótipos, varia de ovalada a alongada, com abertura da concha ocupando 1/3 ou metade do comprimento total da concha. A espira varia de curta a alongada e as linhas de crescimento são mais evidentes em *G. cubensis*. Também verificamos que em *P. columella* o ovotestis é mais compacto e está intimamente

associado à glândula digestiva (Paraense, 1982a), sendo de difícil separação durante a dissecação, diferindo das demais espécies nas quais o ovotestis é menos associado à glândula digestiva. O ureter possui dupla flexão em *P. columella* e nas demais espécies analisadas o ureter é curvado para a direita. O corpo da espermateca permanece em contato com o esôfago em *P. columella* e projeta-se para cavidade pulmonar próxima ao pericárdio em *Galba*. A bolsa do oviduto não é claramente visível em *G. cubensis* e está ausente em *L. rupestris*. O oviduto possui diferentes graus de enrugamento em *Galba*, e é liso em *P. columella*. O espermiduto é desenvolvido em *G. cubensis* e *L. rupestris*. A próstata possui formato filiforme e tubular em *P. columella* e expandida nas demais espécies analisadas. Esta é triangular em *G. viatrix* e *G. cubensis* e cônica bulbosa em *G. truncatula*. O prepúcio é cerca de 2 a 6 vezes mais longo que a bainha do pênis em *P. columella*, cerca de uma vez e meia maior em *G. cubensis*, um pouco maior em *G. viatrix* e cerca de dois terços maior em *G. truncatula*. A bainha do pênis em *P. columella*, *G. truncatula* e *L. rupestris* possui pequenas protuberâncias apicais. O útero em *L. rupestris* é relativamente alongado em comparação às outras espécies. O pequeno tamanho do complexo peniano em comparação com o restante do sistema genital em *P. columella*, é evidente (Paraense, 1976a, 1982a). Nas demais espécies o tamanho do complexo peniano foi proporcional ao restante do sistema reprodutor. A morfologia do sistema digestivo das espécies brasileiras de limnédeos foi similar aquela descrita para Basommatophora (Fretter & Peake, 1975), com diferenças no local de abertura das glândulas digestivas em relação ao ceco e no desenvolvimento das glândulas salivares, entre *P. columella* e moluscos do gênero *Galba*.

A distinção entre os exemplares de *P. columella* e moluscos do gênero *Galba* é facilitada devido a diferenças morfológicas evidentes e características dessa espécie na concha, manto e sistema reprodutor (Paraense, 1982a; Malek, 1985). Baker (1908) e Hylton-Scott (1953) verificaram que as diferenças na concha de formato “succineiforme”, última volta corporal expandida e perióstraco brilhante com microesculturas, são características incomuns do gênero *Lymnaea*. Baker (1908) ainda constatou diferenças no sistema reprodutor, principalmente na próstata, que é de proporções e formas distintas ao de *Lymnaea*. Tais diferenças enfatizam uma separação genérica desta espécie em relação aos gêneros *Lymnaea* e *Galba*. De acordo com a relação filogenética proposta por Correa *et al.* (2010), as espécies *G. viatrix*, *G. cubensis* e *G. truncatula* e também outros pequenos limnédeos pertencem ao mesmo clado e,

conseqüentemente, ao mesmo gênero. Para *P. columella*, contudo foi mantida nesse gênero por agrupar-se fracamente aos demais gêneros. Para *L. rupestris*, não foram analisados dados moleculares, mas pela morfologia assemelha-se ao gênero *Galba*.

Em relação à variabilidade morfológica observada de *P. columella*, principalmente nas características da concha (alongadas ou mais arredondadas), estas não são suficientes para o estabelecimento de novas espécies, principalmente devido a homogeneidade nos sistemas reprodutor e renal (Ueta, 1977). Essa variabilidade pode estar relacionada com a plasticidade fenotípica conhecida nos limneídeos (Hurtrez-Boussès *et al.*, 2005) e pode confundir a sistemática e taxonomia (Perez & Minton, 2008), levando a possibilidade de excluir espécies válidas, no caso de espécies crípticas e dificultando a distinção de espécies (Perez & Minton, 2008). Essa espécie já foi sinonimizada várias vezes ao longo de sua história taxonômica, como exemplo, Hubendick (1951) e Paraense (1994) indicaram *L. peregrina* como sinônima de *P. columella*.

Cardoso *et al.* (2006) indicaram que em populações de *P. columella*, os níveis de variabilidade genética intrapopulacional (18.4%) foram baixas e a maior parte dessa variabilidade foi interpopulacional (81.6%), esse fato pode ser explicado devido as populações adotarem a autofecundação como modo principal de reprodução. Esse mecanismo associado à baixa mobilidade dos moluscos e conseqüente baixo fluxo gênico entre populações, podem favorecer o isolamento reprodutivo, a diferenciação genética e morfológica de populações isoladas. O isolamento reprodutivo leva à aquisição de adaptações morfológicas e de história de vida altamente relacionadas às condições locais do ambiente em que vivem (Pfenninger & Posada, 2002). A presença de múltiplos fenótipos dentro de determinadas espécies e em populações é comum em gastrópodes de água doce (Dillon, 1984) e, como no caso de *P. columella*, fornecendo evidência que a delimitação das espécies não pode ser baseada somente na morfologia da concha, visto que algumas características similares podem convergir em taxons não relacionados (Minton & Lydeard 2003; Minton *et al.*, 2003).

Devido à facilidade de distinção de *P. columella* em relação às outras espécies brasileiras de limneídeos, neste trabalho foi enfatizado o refinamento dos caracteres morfológicos entre as espécies *G. viatrix*, *G. truncatula* e *G. cubensis*, que possuem historicamente difícil distinção morfológica (Samadi *et al.*, 2000; Durand *et al.*, 2002; Pointier *et al.*, 2006, 2009; Barges *et al.*, 2007; Correa *et al.*, 2010, 2011). Com relação

à concha, *P. columella* possui características únicas como comprimento da abertura que corresponde a 1/3 do comprimento total da concha e microesculturas características presentes no perióstraco (Figura 17). A distinção das conchas entre as espécies do gênero *Galba* é facilitada se as conchas dos exemplares coletados forem comparadas com seus topótipos, as quais são muito semelhantes (Figuras 11, 13 e 15). Em relação ao sistema reprodutor, as diferenças encontradas são mais evidentes entre essas espécies e encontradas principalmente no oviduto, próstata, complexo peniano, vesícula seminal e ovotestis.

A morfologia da concha e do sistema reprodutor de limneídeos foi estudada por Paraense (1982a, 1984, 1986, 1995; Samadi *et al.*, 2000; Pointier *et al.*, 2004, 2006, 2009). Entretanto, nesses estudos foi priorizado o detalhamento das espécies em relação a comparação entre estas, além disso os topótipos algumas vezes não foram utilizados para comparação. A confusa distinção entre as espécies do gênero *Galba* ocorre principalmente entre as espécies *G. viatrix* e *G. cubensis*. Em relação a *G. viatrix*, d'Orbigny (1835) descreveu duas variedades dessa espécie: variedade A "ventricosa" (localidade tipo Rio Negro, Patagônia, Argentina) e variedade B "elongata" (Lima, Peru). Paraense (1976) em um dos poucos estudos utilizando topótipos das duas variedades concluiu que estas eram anatomicamente idênticas. Em outro trabalho, considerou que *G. cubensis* (localidade Soroa, Cuba) era anatomicamente indistinguível de *G. viatrix* (Paraense, 1982b). De fato essas espécies em nosso estudo foram mais similares principalmente nas características da concha, próstata e complexo peniano, possuindo uma difícil distinção entre estas. Além disso, principalmente em relação às conchas de *G. viatrix*, foi observado certo grau de polimorfismo. Em outro estudo morfológico envolvendo topótipos das duas variedades de *G. viatrix* e de *G. cubensis*, em apenas um parâmetro no complexo peniano, comprimento relativo da bainha do pênis e do prepúcio mostrou diferenças significativas entre a variedade A "ventricosa" de *G. viatrix* e os outros dois táxons e nenhum dos outros separou *G. cubensis* de *G. viatrix* variedade B "elongata".

Samadi *et al.* (2000) no estudo de comparação morfológica entre *G. cubensis* de populações do Caribe e *G. truncatula* de populações da Bolívia demonstraram a presença de alta variabilidade intra e inter-populacional nas características da concha que não permitiram a diferenciação dessas espécies, que só foi possível considerando-se as características do sistema reprodutor, apesar da alta variabilidade encontrada. De

fato, no presente trabalho, as características da próstata e do complexo peniano foram bastante peculiares a cada espécie, permitindo a diferenciação entre estas, bem como em relação às características da concha. *Galba truncatula* apresenta uma volta corporal pouco expandida, uma espira pontiaguda e alongada diferente do observado em *G. cubensis*.

Carvalho *et al.* (2004) encontraram de um a seis perfis moleculares de restrição diferentes em populações morfologicamente identificadas de *G. viatrix* quando utilizaram a técnica de PCR-RFLP em populações de Buenos Aires e Chubut (Argentina), Uruguay, Rio Grande do Sul, Rio Acima e Belo Horizonte (Brasil). As duas últimas foram as mesmas utilizadas neste estudo e posteriormente identificadas no LHMM como sendo das espécies *G. truncatula* e *G. cubensis*, apesar disso a alta variabilidade encontrada nas outras populações de *G. viatrix*, foi considerada como sendo variação intra-específica. Outros estudos envolvendo variabilidade genética revelaram que dentro da variedade B "elongata" de *G. viatrix* foi encontrada diferenças genéticas entre as duas variedades (Durand *et al.*, 2002). Barges *et al.* (2007) através de um estudo de biologia molecular utilizando as regiões ITS1, ITS2 e COI propõem uma nova espécie *Lymnaea neotropica* para a variedade B "elongata" de *G. viatrix* e afirmou que *G. cubensis* parecia ser indistinguível da nova espécie e pouco distinguível com *G. viatrix*, entretanto somente relatou as características da nova espécie, que são praticamente idênticas a *G. viatrix*, não confrontando estas características com as espécies de morfologia similar. Dessa forma mais estudos de morfologia e biologia molecular são necessários para afirmar se esta espécie é válida ou não e os motivos desta não ter sido considerada *G. cubensis*.

Ao iniciar a análise dos topótipos de *P. columella* depositados na coleção ANSP, houve um impasse quanto a verdadeira localidade tipo desta espécie. Thomas Say, pesquisador que a descreveu, trabalhou na Academia de Ciências Naturais da Filadélfia desde 21 de Março de 1812, foi o primeiro curador do Departamento de Malacologia e mantinha em sua coleção particular muitos exemplares que utilizava para descrever suas espécies. Após sua morte, muitos exemplares descritos e coletados por ele retornaram à Academia, mas a distinção dos tipos dentre os vários exemplares foi raramente possível (Callomon & Robertson, 2009). Entre estas espécies está *P. columella*, que não teve sua localidade tipo mencionada em sua descrição original. De acordo com Baker (1911), contudo, essa localidade seria próxima à Filadélfia, devido Thomas Say ter o hábito de

explorar intensivamente os arredores da cidade. De acordo com a literatura, a sistemática dessa espécie está definida como:

Família Lymnaeidae Lamarck, 1799

Lymnaea columella Say, 1817. Journ. Phil. Acad. I, p. 14

(Localidade tipo: não mencionada).

Sinonímias

Lymnaea columellaris Adams, 1839. Amer. Journ. Sci. 36, p. 392.

Limnaea peregrina Clessin, 1882. Malak. Bl. 5, p. 188.

Pseudosuccinea columella F. C. Baker, 1908. Science, 27, p. 943.

(Localidade tipo: provavelmente Filadélfia).

Lymnaea columella = *L. peregrina* Meeuse, A. D. J. & Hubert, B. 1949. Basteria 13 : I.

Pseudosuccinea peregrina Lange de Morretes, 1949. Arq. Mus. Paranaense, 7, p. 124.

Lymnaea columella, Hubendick, 1951. Kungl. Svenska velensahad. Handl. B. 3.

Nº I, p. 140.

Pseudosuccinea columella Hylton-Scott, 1953. Physis. 1953; 20(5):401-408.

O papel do taxonomista é delimitar os nomes taxonômicos de acordo com os princípios do ICZN, que fornece uma série de parâmetros universais para a descrição e redescricao das espécies. Historicamente, a maior parte das descrições das espécies de gastrópodes foram baseadas nas características morfológicas da concha, algumas utilizando apenas uma concha ou conchas jovens, o que levou a ambiguidade no delineamento das espécies (Perez & Minton, 2008). Burch (1982) também notou que muitos gêneros foram descritos com base somente na concha. A descrição de *P. columella*, igualmente foi baseada somente em caracteres da concha sem muitos detalhes, o autor em um único parágrafo foi vago em sua descrição, não forneceu figura e localidade tipo da espécie e os espécimes-tipo foram perdidos. Provavelmente a redescoberta de populações provenientes da Filadélfia parece ter servido de base para a sua descrição, naquela época no início do século 19 não havia o conceito de localidade tipo e muitas espécies foram descritas sem essa informação. De acordo com o banco de dados da coleção da ANSP, o parátipo 330012 e o lectótipo lote 58791 foram coletados no Lago Saunders, New York. O lectótipo provavelmente foi designado por Baker (1911) ou Baker (1964), mas em ambos os trabalhos essa designação não é clara. Se o autor da espécie possuía o lote 330012 no momento em que nomeou a espécie, ele teria

mencionado essa localidade, como não foi feito, os exemplares provavelmente foram coletados após a espécie ter sido nomeada, o que a excluiria da série de tipos. Desde que o lote não faz parte da série de tipos, um lectótipo, no caso o lote 58791, não poderia ser designado dele, assim este lectótipo não é válido e não há presença de paralectótipos² uma vez que há somente um exemplar no lote.

Por outro lado, se o lote 58791 foi realmente um sítipo designado provavelmente por Baker (1911), somente poderia ter sido designado sobre os termos do artigo 74.5 do ICZN, o qual governa essa situação. Entretanto, este autor não usou a palavra lectótipo ou a frase "o tipo", quando utiliza a palavra "tipo" próximo de uma das medidas de *P. columella*, isso poderia significar "um dos tipos do lote" ou "o lectótipo", mas devido a essa classificação não ter sido clara, não pode ser enquadrada nos requerimentos para uma designação de lectótipo. Entretanto, Baker (1964) coloca uma definição não ambígua de lectótipo e preenche o requisito do artigo 74.5, mas desde que o espécime selecionado não é um sítipo, esse requisito não é relevante.

De acordo com o conceito de neótipo do artigo 75.1² do ICZN, foi selecionado um neótipo para *P. columella*, uma vez que o material tipo não pode ser rastreado e devido aos vários fatores como a incerteza de sua origem, variação colocada pelo autor na etiqueta original e parte do material estar destruído (concha quebrada), um neótipo foi designado para estabilidade da nomenclatura de acordo com os termos do ICZN (2004, Article 75.3.1³).

Como nenhum exemplar de *P. columella* foi encontrado nos locais de coleta selecionados na Filadélfia e após a comparação dos lotes da academia, o lote A15410 foi selecionado para ser designado como neótipo. A localidade tipo Filadélfia, pareceu adequada de acordo como o histórico da taxonomia e provavelmente o autor se baseou em um exemplar dessa localidade para descrever a espécie. Além disso, registros fósseis e estudos moleculares confirmam a origem dessa espécie na América do Norte (Correa *et al.*, 2010). Atualmente essa espécie é distribuída mundialmente e possui registros nos

² 75.1. Definição. Um neótipo é o tipo que nomeia a espécie ou um taxon sobre condições designadas específicas neste artigo quando o espécime que portava o nome (holótipo, lectótipo, sítipo ou neótipo anterior) é dado como extinto e um autor considera necessário que um tipo defina o nome do taxon objetivamente. A existência de parátipos ou paralectótipos não impede a designação de um neótipo.

³ 75.3.1. Designado com o objetivo de esclarecer o status taxonômico ou a localidade tipo de um táxon.

Estados Unidos (Vanatta, 1915), México, Jamaica, Porto Rico (Harry & Hubendick, 1964), Guatemala, Costa Rica, Cuba (Gutierrez *et al.*, 2001a; Pointier *et al.*, 2005), Panamá (Thompson, 2008), Equador, Uruguai, (Paraense, 1982a), Peru (Larrea *et al.*, 2007), Venezuela (Malek, 1964; Pointier *et al.*, 2009), Bolívia (Jabbour-Zahab *et al.*, 1997), Colômbia (Malek & Cogswell, 1980), Brasil (Paraense, 1982a; 1983), Argentina (Prepelitchi *et al.*, 2003; Hylton-Scott, 1953) República Checa (Horsák *et al.*, 2010), França (Pointier *et al.*, 2007), Austrália (Boray *et al.*, 1985), Nova Zelândia (Pullan, 1969), Ilhas do Pacífico (Pointier & Marquet, 1990), Suíça, Áustria, Hungria, Grécia, Espanha, Itália, Ilhas Baleares e Canárias (Cianfanelli *et al.*, 2007), Egito (Brown, 1994) e África (Brown, 1994; Appleton, 2003).

A Coleção Fiocruz-CMM é composta por um acervo estratégico uma vez que é constituído por grupos taxonômicos de importância médico/veterinária como o gênero *Biomphalaria* e a família Lymnaeidae. Esta coleção subsidia pesquisas, auxilia na formação de recursos humanos e seu banco de dados é utilizado pelo Programa de Controle da Esquistossomose no planejamento de programas para o controle dessa doença. O Laboratório de Helminologia e Malacologia Médica que abriga esta coleção, desde 2003, é um laboratório de Referência Nacional em Esquistossomose executando atividades de exame e identificação de moluscos do gênero *Biomphalaria* (Silva, 2012). Essa atividade principal pode estar relacionada ao fato do baixo número de exemplares de limneídeos depositados na coleção (6%) e da falta de especialistas neste grupo, o que refletiu no número de equívocos encontrados, até mesmo ao nível de gênero.

Os incentivos de agências financiadoras às coleções científicas atualmente visam a retificação taxonômica, a redução do número de exemplares não identificados, o aumento na confiabilidade da identificação e boa preservação do acervo (Egler & Santos, 2006). No caso da Fiocruz-CMM, em 2012, foi concluída a primeira avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do gênero *Biomphalaria* do acervo da coleção Fiocruz-CMM, realizada através da morfologia e pela técnica molecular de PCR-RFLP (Silva, 2012). Até 2013, os exemplares de limneídeos não haviam retificados desde o início da coleção. Dessa forma, na coleção Fiocruz-CMM há dois grandes grupos de moluscos de importância médica que atualmente possuem dados mais precisos em relação a sua identificação específica. Além disso em relação aos limneídeos não há pontos identificados somente com *Lymnaea* sp.

O número de pontos de coleta com limneídeos registrados diminuiu de 101 para 98, em decorrência de equívocos na identificação anterior à esta retificação. Apesar do número de pontos com equívocos ser maior do que esta diferença de quatro pontos, foram encontrados lotes em que os limneídeos não possuíam nenhuma identificação ao nível de gênero ou pontos que estavam identificados como sendo do gênero *Physa*. Além de ter sido verificado que moluscos registrados como pertencentes a vários pontos, pertenciam na verdade a um único ponto, entretanto possuíam entradas nos livros de registro em épocas distintas, neste caso, foram considerados com pertencentes ao mesmo ponto.

O principal equívoco encontrado (sete pontos) foi entre exemplares das famílias Lymnaeidae e Physidae. As semelhanças morfológicas na concha, como a concha espiralada, perióstraco brilhante como em *P. columella*, hábito ecológico semelhante, ampla distribuição do gênero *Physa* e a escassez de especialistas em ambos os grupos, foram fatores que contribuíram para esse equívoco. Entretanto, em relação à morfologia, facilmente os fisídeos são distinguíveis por apresentarem concha sinistrógira, tentáculos longos e finos, pé lanceolado e borda do manto em ambos os lados, lobulado ou digitado, enquanto que os limneídeos apresentam concha dextrógira na maioria das espécies, inclusive em todas que ocorrem no Brasil, tentáculos achatados e triangulares, pé arredondado e borda do manto simples. Destaca-se a importância da identificação da morfologia interna de moluscos que apresentem concha sinistrógira, porém semelhante a dos limneídeos, devido a algumas espécies apresentarem ambas as conchas sinistrógira e dextrógira, como em *L. stagnalis* (Vinarski, 2007). Outros gêneros identificados equivocadamente foram retificados como pertencentes aos gêneros *Acrorbis* sp. e *Biomphalaria* sp., a identificação desses exemplares foi realizada somente pela concha, pela fácil distinção. A adequação do nome específico foi realizada em "*Lymnaea stagnicola*", no caso o epíteto específico *stagnalis* é o correto, o equívoco pode ter ocorrido por "*stagnicola*" representar o nome de outro gênero dentro da família Lymnaeidae (Jeffreys, 1830).

O total de exemplares identificados de Lymnaeidae na coleção Fiocruz-CMM, aumentou de cerca de 561 para 924, esse aumento foi devido aos fatores de exemplares terem sido depositados sem identificação específica ou genérica, dos equívocos encontrados e adequações realizadas. Todos os exemplares sem identificação específica foram identificados, gerando confiabilidade nos dados do acervo. A espécie com maior

porcentagem de lotes no acervo foi *P. columella*, principalmente devido à sua maior distribuição e capacidade de colonização de novos habitats, seguida das espécies *G. truncatula*, *G. cubensis* e *G. viatrix*. No que diz respeito às espécies pertencentes ao gênero *Galba*, as identificações morfológicas foram conferidas com as identificações moleculares realizadas anteriormente por Cardoso (2004). A identificação morfológica de exemplares da espécie *G. truncatula* foi realizada mais facilmente, confirmando a maior similaridade entre *G. viatrix* e *G. cubensis*. *Pseudosuccinea columella* e *G. viatrix* foram encontradas ocorrendo em simpatria em um ponto na cidade de Belo Horizonte, MG, esse fato não é comum, sendo necessários mais estudos sobre a dinâmica das relações interespecíficas.

As espécies menos representativas no acervo foram as que não ocorrem no Brasil como *L. peregra* (2%), *L. diaphana* (2%) e *L. stagnalis* (1%), sendo estas enviadas por colaboradores internacionais ao acervo. Anteriormente nenhum espécime tipo e/ou topótipo da família Lymnaeidae estava depositada na coleção Fiocruz-CMM, entretanto, atualmente encontram-se topótipos das espécies *P. columella*, *G. cubensis* e *G. truncatula* devido ao envio por pesquisadores estrangeiros. A doação e a permuta de exemplares entre coleções e colaboradores só enriquece o acervo da coleção, uma vez que estes podem ser analisados e comparados com as espécies que ocorrem atualmente nas localidades brasileiras. Muitas vezes não é possível a coleta de topótipos na localidade tipo ou em localidades de coletas anteriores devido a degradação e modificação do ambiente, como aconteceu neste estudo. A conservação dos ambientes é importante porque preservam as adaptações, características biológicas únicas e diversidade genética das espécies que possuem sucesso nesses ambientes, historicamente representados em coleções, e atualmente, em coletas atuais (Perez & Minton, 2008).

No acervo há depósito de exemplares que confirmam o primeiro registro através da biologia molecular de *G. cubensis* no Brasil (Estado de Minas Gerais), espécie que atua como hospedeira de *F. hepatica* (Cardoso, 2004). A distribuição dessas e outras espécies certamente está subestimada no Brasil, dessa forma destaca-se a importância das coleções biológicas para o conhecimento da biodiversidade e delineamento de áreas estratégicas de atuação de combate à doenças relacionadas a esses hospedeiros intermediários.

Foi constatado um baixo número de pontos contendo exemplares degradados de limneídeos no acervo da Fiocruz-CMM (dois pontos), ainda assim, esses exemplares foram mantidos na coleção para futuros estudos, uma vez que o LHMM desenvolveu técnicas moleculares capazes de realizar identificações a partir de conchas de exemplares de *Biomphalaria* depositados no acervo da Fiocruz-CMM por cerca de 10 anos (Caldeira *et al.*, 2004) ou novas técnicas poderão surgir possibilitando a identificação dos mesmos. O encontro de material degradado salienta a importância da manutenção periódica no acervo de uma coleção, e de recursos humanos destinados a tal fim, principalmente para a conservação do material em que o valor agregado é alto, como o caso de espécimes-tipo e/ou topótipos. O pequeno tamanho dos limneídeos também dificulta o processamento de fixação e armazenamento, dessa forma, é necessário buscar alternativas para esse armazenamento, como a colocação dos pequenos exemplares em tubos de polietileno de 1 ml.

Os dados do acervo da Fiocruz-CMM passaram a ser acessíveis a toda comunidade em decorrência da parceria com o CRIA que, desde 2002, vem desenvolvendo estratégias para a disseminação de informações biológicas na rede mundial de computadores (Egler & Santos, 2006). O CRIA desenvolveu o projeto *SpeciesLink*, um sistema de informação elaborado para recuperação de dados de acervos de coleções biológicas e possibilitar o gerenciamento dos dados publicados através de uma série de ferramentas para visualização das informações, como mapas e gráficos (Egler & Santos, 2006). Atualmente, 18 coleções da Fiocruz possuem os dados do seu acervo disponíveis (<http://www.splink.org.br/>) através deste sistema.

Na maioria dos dados utilizados, a identificação das espécies de limneídeos foi realizada utilizando apenas características morfológicas, exceto quando os dados foram provenientes da coleção Fiocruz-CMM, onde marcadores moleculares foram utilizados para confirmar a identificação morfológica. A técnica molecular utilizada foi a reação em cadeia da polimerase associada ao polimorfismo de tamanho de fragmentos de restrição (PCR-RFLP) aplicada as regiões espaçadoras transcritas internas um e dois (ITS1 e ITS2) do rDNA e do gene mitocondrial 16S (16S rDNAmt) (Cardoso, 2004; Carvalho *et al.*, 2004).

No presente estudo foi possível mapear pela primeira vez a distribuição espacial das espécies da família Lymnaeidae no Brasil. A verificação da presença destes

hospedeiros intermediários de *F. hepatica* pode refletir a distribuição da fasciolose, sendo essencial para delimitar áreas de risco (Mas-Coma *et al.*, 1999a,b).

Paraense (1982b) demonstrou que *G. viatrix* possui poucos registros no Sul e *P. columella* estava distribuída principalmente no Sul e Sudeste, onde um alto número de casos de fasciolose ocorreu (Honer, 1979), com poucos registros na região Centro-Oeste. Após, o mesmo autor registrou duas novas localidades de *P. columella* para os estados da Amazônia e Bahia (Paraense, 1986) no Norte e Nordeste respectivamente, o que está de acordo com este estudo onde também foi registrada uma baixa presença dessa espécie nessas regiões. Nossos mapas de distribuição de limneídeos demonstraram que *P. columella* é a espécie mais comum e distribuída no Sul e Sudeste com poucos registros nas regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste. *Galba viatrix* é predominante no Sul (oito registros) com apenas dois registros para a região Sudeste (Belo Horizonte e Rio Acima, Minas Gerais). A distribuição de *G. viatrix*, *G. cubensis* e *G. truncatula* está restrita a algumas localidades nas regiões Sudeste e Sul, e ausente das regiões Centro-Oeste, Norte e Nordeste. Para a região Sul, a espécie *L. rupestris* foi apenas descrita em Nova Teutônia, distrito de Seara, Santa Catarina (Paraense, 1982a).

Apesar dos poucos registros de *G. viatrix* em nosso estudo, de acordo com Mattos & Ueno (1989), esta é a espécie mais eficiente na transmissão da *F. hepatica* devido a sua alta suscetibilidade quando comparada à *P. columella*. Entretanto, essa espécie mostrou ser a mais distribuída e é certamente o mais importante hospedeiro intermediário no Brasil. Provavelmente devido a aspectos que favorecem a dispersão e colonização de novos habitats (Gutiérrez *et al.*, 2001a; Cardoso *et al.*, 2006). *Pseudosuccinea columella* é comumente encontrada em regiões onde a fasciolose humana ou animal ocorre enquanto que a ocorrência de *G. viatrix* está, atualmente, restrita aos estados do Rio Grande do Sul (Rezende *et al.*, 1973; Gonzales *et al.*, 1974; Ueta, 1980; Oliveira *et al.*, 2002; Coelho & Lima, 2003) e Minas Gerais (Carvalho *et al.*, 2004).

Em relação às outras espécies suscetíveis, *G. cubensis* ocorre apenas no Sudeste, principalmente no estado do Rio de Janeiro (Rezende *et al.*, 1973; Nuernberg, 1978; Cardoso, 2004) havendo um intervalo de 30 anos em seu registro e até agora sua presença em outras regiões não foi reportada. *Galba truncatula* é também suscetível à *F. hepatica*, entretanto com poucos registros (0,7%) nunca foi encontrada naturalmente infectada no Brasil apesar de representar o principal hospedeiro intermediário deste

parasito na Europa (Caron *et al.*, 2014). *Lymnaea rupestris* foi apenas descrita e não há informação sobre sua suscetibilidade (Paraense, 1982b). Devido a esses fatos, o papel na transmissão da fasciolose das espécies acima mencionadas permanece desconhecido.

No presente estudo, foi possível observar o registro de *P. columella* em localidades do Sul (quatro municípios) e Sudeste (sete) e de *G. viatrix* no Sul (três), naturalmente infectados por *F. hepatica* (Tabela 8 e 9). Na região Sul, a presença de extensas áreas endêmicas de fasciolose é frequente, enquanto nas regiões Sudeste e Centro-Oeste há apenas pequenas áreas (Lima *et al.*, 2009). Alguns fatores climáticos e ambientais na região Sul fornecem habitats favoráveis para o estabelecimento de hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, como a baixa elevação (onde há vários campos de arroz), solo argiloso, áreas úmidas e clima temperado. Estes habitats, como demonstrado por Ueno *et al.* (1982) contribuem para a manutenção do ciclo de vida dos moluscos nessa região.

Apesar dos esforços feitos por grupos científicos, algumas importantes considerações relacionadas à natureza e precisão da presença das espécies de limneídeos no Brasil precisam ser consideradas quando interpretamos nossos resultados. A completa distribuição dos hospedeiros intermediários de *F. hepatica* no Brasil permanece desconhecida, especialmente devido as grandes áreas que necessitam ser pesquisadas, principalmente nas regiões Norte e Centro-Oeste. A concentração de pesquisadores nas regiões Sudeste e Sul do país pode ter sido outro fator que contribuiu para um melhor mapeamento dessas áreas. Outros fatores restritivos incluem o número insuficiente de pesquisadores envolvidos na área da taxonomia, causando dificuldades na identificação dos moluscos. Foi confirmado por nosso estudo que em várias localidades (25 municípios = 6%) a identificação específica não foi realizada. Em Careçu, MG, a ocorrência de exemplares naturalmente infectados sem identificação específica foi registrada (Tabela 9).

Outro importante ponto sobre a validade da identificação das espécies utilizando dados da literatura e de coleções malacológicas é a confusão sistemática dos limneídeos. Esta identificação é essencial no objetivo de justificar a distribuição das espécies de limneídeos no Brasil. Levando em consideração *L. rupestris* e *P. columella*, não há problema devido a essas duas espécies serem facilmente distinguíveis utilizando um conjunto de confiáveis características e os dados da literatura podem ser usados com razoável confiança. Entretanto, esse não é o caso das espécies *G. viatrix*, *G. cubensis* e

G. truncatula, por serem de difícil distinção morfológica e em alguns casos apenas marcadores moleculares permitirem separação confiável (Samadi *et al.*, 2000; Meunier *et al.*, 2001; Pointier *et al.*, 2006; Bargues *et al.*, 2007; Correa *et al.*, 2010; 2011). Em nossa pesquisa de literatura foram identificadas 19 localidades onde a identificação específica pode ser preocupante (10 localidades com *G. viatrix*, seis com *G. cubensis* e três com *G. truncatula*). Apenas a ocorrência de *G. cubensis* para Belo Horizonte (Cardoso, 2004), *G. truncatula* para Rio Acima, MG (Carvalho *et al.*, 2004) e os dados provenientes de Fiocruz-CMM os autores utilizaram a identificação molecular.

A correta distinção das espécies é importante para o planejamento de estratégias de controle para a prevenção das doenças a que estes hospedeiros estão relacionadas. Na área endêmica da região altiplana da Bolívia, acreditava-se que as espécies *G. viatrix* e *G. cubensis* ocorriam nessa região, entretanto, em estudos posteriores foi demonstrado que de fato *G. truncatula* atuava como hospedeiro intermediário (Oviedo *et al.*, 1995; Jabbour-Zahab *et al.*, 1997; Mas-Coma *et al.*, 1999a,b; Meunier *et al.*, 2001; Bargues & Mas-Coma, 2005).

Estudos sobre a fauna limneídica deveriam ser incentivados em todo o Brasil, principalmente onde a informação é escassa ou não existe, com o objetivo de melhor conhecer a distribuição espacial dos hospedeiros intermediários de *F. hepatica*. A metodologia utilizada e os mapas de distribuição finais poderiam ser úteis na identificação de áreas prioritárias para intervenções de controle da fasciolose, dessa forma, recursos poderiam ser alocados mais efetivamente. A importância da formação de recursos humanos especializados na identificação de moluscos de importância médica no Brasil torna-se essencial, principalmente para os limneídeos, uma vez que não há especialistas no grupo no Brasil. Os resultados apresentados neste trabalho também confirmam a importância da utilização e facilitação do acesso às informações do acervo de coleções científicas e da necessidade de preservação e retificação dos exemplares, uma vez que não foram encontrados nas coletas realizadas exemplares das espécies *L. rupestris*, *G. viatrix*, *G. truncatula* e *G. cubensis* no Brasil, provavelmente devido ao fato da modificação dos ambientes o que pode levar a extinção dessas espécies.

6 CONCLUSÕES

- ✓ A presença das espécies *Galba viatrix*, *G. truncatula*, *G. cubensis* e *Pseudosuccinea columella* foram confirmadas no Brasil através da análise de seus topótipos;
- ✓ A série de tipos de *P. columella* depositados na Academia de Ciências Naturais da Universidade de Drexel, Filadélfia, Estados Unidos, foi classificada como não válida de acordo com o Código Internacional de Nomenclatura Zoológica e um neótipo foi designado tendo como localidade tipo Filadélfia, Pensilvânia, Estados Unidos;
- ✓ As características da concha, principalmente o formato e a microescultura, características do sistema digestivo (estômago e glândulas salivares) e as características do sistema reprodutor, principalmente no complexo peniano, próstata e oviduto, diferenciaram as espécies de limneídeos brasileiras;
- ✓ Os lotes de limneídeos na coleção Fiocruz-CMM correspondem a 6% do acervo e este é composto pelas espécies *P. columella* (65,3%), *G. truncatula* (14,3%), *G. cubensis* (8,2%), *Galba viatrix* (7,1%), *Lymnaea stagnalis* (2%), *L. diaphana* (2%) e *L. peregra* (1%);
- ✓ De acordo com a literatura e o acervo de coleções malacológicas brasileiras registros de limneídeos foram encontrados em 417 municípios e uma reserva ecológica (Taim) de 16 estados (7.5%);
- ✓ *Pseudosuccinea columella* foi registrada em 400 (95,7%) municípios, *G. viatrix* em 10 (2,4%), *G. cubensis* em seis (1,4%), *G. truncatula* em três (0,7%) e *L. rupestris* em um (0,2%).

7 ANEXOS

7.1 Artigo publicado

Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo
56(3):235-252, May-June, 2014
doi: 10.1590/S0036-46652014000300010

SPATIAL DISTRIBUTION OF LYMNAEIDAE (MOLLUSCA, BASOMMATOPHORA), INTERMEDIATE HOST OF *Fasciola hepatica* LINNAEUS, 1758 (TREMATODA, DIGENEA) IN BRAZIL

Camilla MEDEIROS(1,2,3), Ronaldo Guilherme Carvalho SCHOLTE(2), Sthefane D'ÁVILA(3,4), Roberta Lima CALDEIRA(1,2) & Omar dos Santos CARVALHO(2)

SUMMARY

Snails of the family Lymnaeidae act as intermediate hosts in the biological cycle of *Fasciola hepatica*, which is a biological agent of fasciolosis, a parasitic disease of medical importance for humans and animals. The present work aimed to update and map the spatial distribution of the intermediate host snails of *F. hepatica* in Brazil. Data on the distribution of lymnaeids species were compiled from the Collection of Medical Malacology (Fiocruz-CMM, CPqRR), Collection of Malacology (MZUSP), "SpeciesLink" (CRIA) network and through systematic surveys in the literature. Our maps of the distribution of lymnaeids show that *Pseudosuccinea columella* is the most common species and it is widespread in the South and Southeast with few records in the Midwest, North and Northeast regions. The distribution of the *Galba viatrix*, *G. cubensis* and *G. truncatula* showed a few records in the South and Southeast regions, they were not reported for the Midwest, North and Northeast. In addition, in the South region there are a few records for *G. viatrix* and one occurrence of *Lymnaea rupestris*. Our findings resulted in the first map of the spatial distribution of Lymnaeidae species in Brazil which might be useful to better understand the fasciolosis distribution and delineate priority areas for control interventions.

KEYWORDS: Lymnaeids; Fasciolosis; Spatial distribution; Snails; Brazil.

INTRODUCTION

Snails of the family Lymnaeidae are small Basommatophora hermaphrodites, approximately 10 mm long and 6 mm wide. The lymnaeids species is widely distributed around the tropical and subtropical areas of the Americas, Europe, Asia, Africa, and Oceania²⁶ and inhabits natural (streams, ponds, swamps) or artificial (irrigation ditches, small dams, floodplain) types of water collections²³.

The importance of the lymnaeids is due to the fact that they act as intermediate hosts in the biological cycle of the digenetic trematode *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea), biological agent of fasciolosis, which is a parasitic disease of medical importance for both humans and animals.

Based on an increasing number of human cases since 1980, MAS-COMA *et al.*⁵⁰ proposed that fasciolosis should be considered an important parasitic human disease rather than just a secondary zoonotic disease with an estimated number of infected people of more than 2.4 million people worldwide¹⁰⁸. The economic losses caused by this disease include a significant impact on the livestock industry due to the high costs for therapeutic treatments in cattle, goat, and sheep breeding^{24,29,43,49,83}. SMOOKER *et al.*⁸⁴ calculated a global cost of more than two billion dollars a year because of the infection.

In Brazil, the lymnaeids species already recorded are: *Pseudosuccinea columella* (Say, 1817), *Galba viatrix* d'Orbigny, 1835, *Galba truncatula* (Müller, 1774), *Galba cubensis* Pfeiffer, 1839 and *Lymnaea rupestris* Paraense, 1982. Except for *L. rupestris*, the other species have proved to be susceptible to infection by *F. hepatica*. Regarding the identification of lymnaeids species, their systematics is confused and there are a lot of difficulties in identifying some species using only morphological characters^{28,77}, so molecular markers are frequently necessary. Here, we used the taxonomy proposed by BAKER¹³ for the species *P. columella*.

The present work aimed to update and map the spatial distribution of the intermediate host snails of *F. hepatica* in Brazil.

MATERIAL AND METHODS

Malacological data: Data on the distribution of lymnaeids species were obtained from: i) Collection of Medical Malacology (Fiocruz-CMM) of the Laboratory of Medical Helminthology and Malacology, René Rachou Research Center (Fiocruz/MG); ii) Collection of Malacology of the Museum of Zoology of University of São Paulo (MZUSP); iii) "SpeciesLink" (CRIA) network (<http://www.splink.org.br/>), by using the keyword Lymnaeidae in the database search; iv) systematic surveys in scientific articles, gray literature, dissertations, theses, and communications, by using the combined keywords: *Lymnaea/*

(1) Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Doenças Infecciosas e Parasitárias, Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

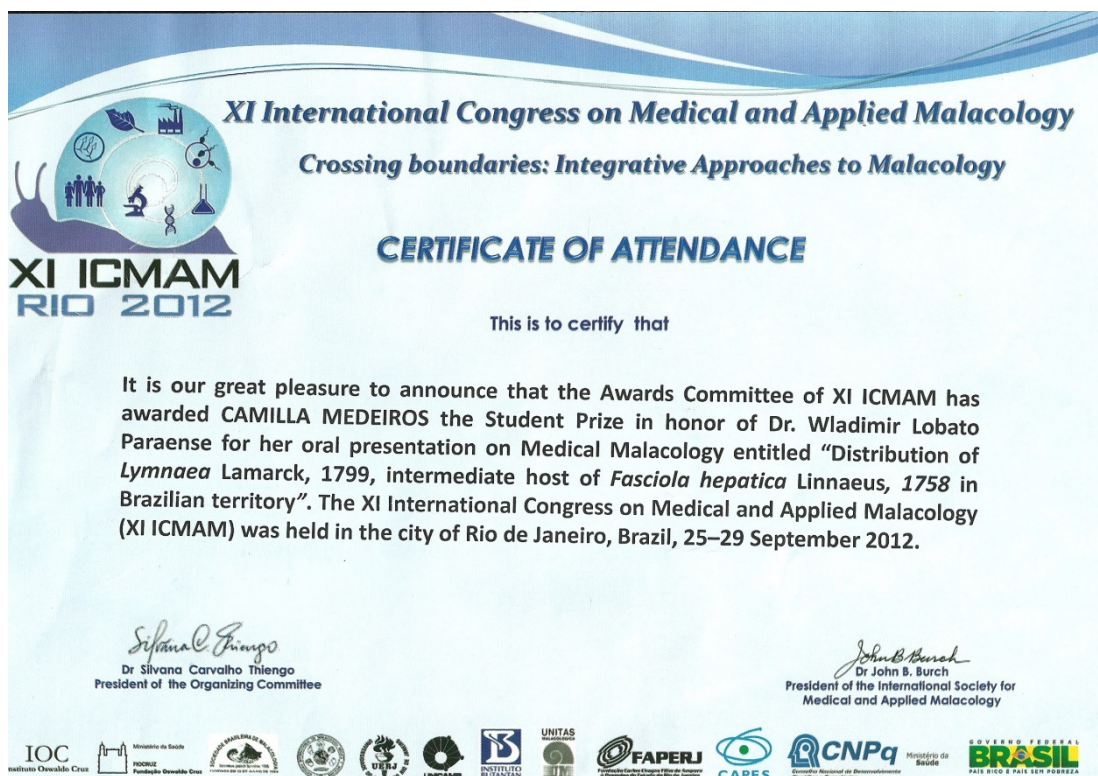
(2) Laboratório de Helminthologia e Malacologia Médica, Centro de Pesquisas René Rachou, Fiocruz, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil.

(3) Museu de Malacologia Prof. Maury Pinto de Oliveira, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

(4) Programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal, Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil.

Correspondence to: Camilla Medeiros, Tel: +55-3133497816, E-mail: ccarvalho@cpqrr.fiocruz.br

7.2 Prêmio “Dr. Wladimir Lobato Paraense” XI ICMAM



7.3 Bolsa de Doutorado Sanduíche no exterior



Ministério da
Ciência, Tecnologia
& Inovação



9179811162346057

Camilla de Medeiros de Carvalho
Rua Timbiras, 2500, Funcionários
30140-903 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil

Diretoria de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde
PROGRAMA CIÊNCIAS SEM FRONTEIRAS

Ofício SNC/GEFO/CNPq

Brasília, 19 de dezembro de 2012

Processo número: 245926/2012-7

Modalidade: Doutorado Sanduíche no Exterior - SWE

Chamada: Doutorado Sanduíche - SWE (CsF)

Inst.: Drexel University/Estados Unidos

Em aditamento a mensagem eletrônica na qual lhe foi comunicada a concessão de uma bolsa de estudos no exterior, vimos informar-lhe os benefícios, prazos e condições da referida bolsa, em conformidade com as normas em vigor no CNPq.

Modalidade: Doutorado Sanduíche no Exterior - SWE

Vigência: 01/03/2013 até 31/07/2013

Mês de remessa da documentação para análise quanto à prorrogação (se pertinente): 60 dias

Benefícios:

Mensalidade: USD 1.300,00 (valor-base: USD 1.300,00)

Seguro-Saúde: USD 450,00

Taxa de Bancada: USD 0,00 (parcela única)

Auxílio Instalação: USD 1.300,00

Auxílio Deslocamento o trecho: *****

CONDIÇÕES

1 - Quaisquer informações relacionadas a esta concessão deverão ser encaminhadas, preferencialmente, para o e-mail do Serviço de Bolsas Individuais no Exterior - SEBIE (sebie@cnpq.br) ou direcionadas para o endereço abaixo:

CNPq
Serviço de Bolsas Individuais no Exterior - SEBIE
SHIS, Quadra 01, Conjunto B, Bloco B, Térreo
Edifício Santos Dumont - Lago Sul - CEP: 71605-170 - Brasília - DF - Brasil

Ministério da Ciência e Tecnologia e Inovação MCTI

Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico - CNPq
Serviços de Bolsas Individuais no Exterior
SHIS Quadra 01 Conjunto B - Bloco B, Térreo
Edifício Santos Dumont
Lago Sul, Brasília - DF
CEP: 71605-170

Telefone +55 61 3211 9581
Fax +55 61 3211 9810
e-mail: sebie@cnpq.br



Camilla Medeiros <camilla.medeirosc@gmail.com>

[245926/2012-7] - Análise do relatório técnico do processo 245926/2012-7

Cnpq <COBIO@cnpq.br>
Para: camilla.medeirosc@gmail.com

4 de fevereiro de 2014 22:51

Prezado(a) Pesquisador(a) Camilla Medeiros,

O CNPq informa que seu relatório técnico referente ao processo 245926/2012-7 foi aprovado do ponto de vista técnico.

Atenciosamente,

COBIO - Coordenacao do Programa de Pesquisa Em Biociencias em 04/02/2014.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abílio FJP, Watanabe T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae), hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*, para o estado da Paraíba, Brasil. Rev Saúde Pública. 1998; 32: 184-185.

Abílio FJP, Gessner AAF, Leite RL, Ruffo TLM. Gastrópodes e outros invertebrados do sedimento e associados à macrófita *Eichhornia crassipes* de um açude hipertrófico do semi-árido paraibano. Rev ista de Biologia e Ciências da Terra. 2006; 1: 165-178.

Agudo AI 2004 in Agudo-Padrón AI. Listagem sistemática dos moluscos continentais ocorrentes no Estado de Santa Catarina, Brasil. Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay. 2008; 9: 147-179.

Agudo AI. The freshwater mussels/naiads of Upper and Medium sessions of the Uruguay River Basin, Southern Brazil: a brief approach to its knowledge. Ellipsaria. 2005; 7: 9-10.

Agudo AI. Intermediate host mollusks (Gastropoda: Pulmonata) of parasitic diseases in Santa Catarina's State, Southern Brazil, with inclusion of new records to add to regional inventory. Ellipsaria. 2006; 8: 11-13.

Agudo AI. Exotic isolated occurrence of the mussel naiad *Leila blainvilleana* (Lea, 1834) in a freshwater coastal lagoon of the Santa Catarina Island, Southern Brazil. Ellipsaria. 2007; 9: 10-12.

Agudo-Padrón AI. Listagem sistemática dos moluscos continentais ocorrentes no Estado de Santa Catarina, Brasil. Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay. 2008; 9: 147-179.

Almeida BR. Malacologia dos gêneros *Lymnaea* e *Biomphalaria* na Mesorregião Sul Espírito-Santense, e a avaliação de extratos de *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, e *Cymbopogon winterianus* como agentes moluscidas, [Dissertação]. Vitória (ES):

Universidade Federal do Espírito Santo, 2010.

Amaral ADF, Buseti ET. Observações preliminares sobre a fasciolose hepática humana em Curitiba. *Acta Biol Par Curitiba*. 1979a; 8/9: 107-15.

Amaral ADF, Buseti ET. Fasciolose hepática humana no Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1979b; 21: 141-5.

Amaral HLC, Pepe MS, Müller G, Rodrigues AP, Berne MEA. Suscetibilidade de populações de *Lymnaea columella* à infecção por *Fasciola hepatica*. [homepage on the Internet]. IX Encontro de Pós-Graduação; XVI Congresso de Iniciação Científica. 2007; www.ufpel.edu.br/cic/2007/cd/pdf/CB/CB_01122.pdf.

Amato SB, Rezende HEB, Gomes DC, Serra-Freire NM. Epidemiology of *Fasciola hepatica* infection in the Paraíba River Valley, São Paulo, Brasil. *Vet Parasitol*. 1986; 22: 275.

Amato Neto V, Silva LJ. Infecção humana por *Fasciola hepatica* no Brasil: relato de um novo caso e análise da questão. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1977; 19(4): 275-7.

Andrade Neto JL, Carneiro Filho M, Luz E, Siciliano RF, Oliveira Filho AG, Pisani JC. Human Fascioliasis in The Metropolitan Area of Curitiba, Brazil - Evaluation of The Foci of Infection and Report of Nine Cases Treated with Triclabendazole. *Braz J Infect Dis*. 1999; 3: 220-225.

Appleton CC. Alien and invasive freshwater gastropoda in South Africa. *Afr J Aquat Sci*. 2003; 28:69–81.

Araújo JLB, Linhares GFC, Paçô JM. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Say , 1817) (Mollusca, Pulmonata, Lymnaeidae), no Estado de Goiás. Considerações sobre os parasitos por ela transmitidos. *Rev Patol Trop*. 1995; 24: 291-300.

Araújo JLB, Linhares GFC, Oliveira APM, Amoril JG, Freitas MR, Costa IC, Pinheiro

JL, Esselin IRR, Reis AS. Infecções autóctones de bovinos por *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Fasciolidae) no estado de Goiás, Brasil. Rev Patol Trop. 2007; 36: 96-100.

Araújo JR, Ferreira EF, Abreu MHNG. Systematic review of spatial analysis studies on dengue in Brazil. Rev Bras Epidemiol. 2008; 11: 696-708.

Artigas P, Bargues MD, Mera y Sierra RL, Agramunt VH, Mas-Coma S. Characterisation of fascioliasis lymnaeid intermediate hosts from Chile by DNA sequencing, with emphasis on *Lymnaea viator* and *Galba truncatula*. Acta Trop. 2011; 120: 245-257.

Baker, F.C. 1908. Suggestions for a natural classification of the family Lymnaeidae. Science 27 (703): 942-943. New York.

Baker FC. The Lymnaeidae of North and Middle America, recent and fossil. vol. Special Publication No. 3. Chicago: Chicago Academy of Sciences (1911).

Baker, 1928 in Paraense WL. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca, Lymnaeidae). Rev Brasil Biol. 1976a; 36: 419-428.

Baker HB. Type land snails in the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. Part III. Limnophile and Thalassophile Pulmonata. Part IV. Land and fresh-water Prosobranchia. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 1964; 116:149-193.

Bargues MD, Mas-Coma S. Phylogenetic analysis of lymnaeid snails based on 18S rDNA sequences. Mol Biol Evol. 1997; 14: 569-577.

Bargues MD, Vigo M, Horak P, Dvorak J, Patzner RA, Pointier JP, Jackiewicz M, Meier-Brook C, Mas-Coma S. European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. Infec Gen Evol. 2001; 1: 85-107.

Bargues MD, Mas-Coma S. Reviewing lymnaeid vectors of fascioliasis by ribosomal DNA sequence analysis. *J Helminthol.* 2005; 79: 1-11.

Bargues MD, Artigas P, Mera Y Sierra RL, Pointier JP, Mas-Coma S. Characterisation of *Lymnaea cubensis*, *L. viatrix* and *L. neotropica* n. sp., the main vectors of *Fasciola hepatica* in Latin America, by analysis of their ribosomal and mitochondrial DNA. *Ann Trop Med Parasitol.* 2007; 101:621-41.

Bargues MD, Artigas P, Khoubbane M, Flores R, Glöer P, Rojas-García R, Ashrafi K, Falkner G, Mas-Coma S. *Lymnaea schirazensis*, an overlooked snail distorting fascioliasis data: genotype, phenotype, ecology, worldwide spread, susceptibility, applicability. *Plos One.* 2011a; 6: 1-33.

Bargues MD, Artigas P, Khoubbane M, Mas-Coma S. DNA sequence characterisation and phylogeography of *Lymnaea cousini* and related species, vectors of fascioliasis in northern Andean countries, with description of *L. meridensis* n. sp. (Gastropoda: Lymnaeidae). *Parasit Vectors.* 2011b; 4: 1-22.

Bargues MD, Artigas P, Khoubbane M, Ortiz P, Naquira C, Mas-Coma S. Molecular characterisation of *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* and *L. schirazensis* from Cajamarca, Peru and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis. *Parasites & Vectors* 2012, 5:174

Beck AAH. Fasciolose bovina. EMPASC, Boletim técnico. 1985; 33: 5-18.

Bellato V, Souza AP, Sobrinho DAP. Prevalência de *Fasciola hepatica* em bovinos do município de Urubici - SC. *Universidade & Desenvolvimento, Série Científica.* 1996; 3: 38-48.

Bennema SC, Scholte RGC, Molento MB, Medeiros C, Carvalho OS. *Fasciola hepatica* in bovines in Brazil: data availability and spatial distribution. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.* 2014; 56: 35-41.

Bernardo CC, Carneiro MB, Avelar BR, Donatele DM, Martins IVF, Pereira MJS. Prevalence of liver comndenation due to bovine fasciolosis in Southern Espirito Santo: temporal distribution and economical losses. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2011; 20: 49-53.

Boray JC. The potential impact of exotic *Lymnaea* spp. on fascioliasis in australasia. *Vet Parasitol.* 1978; 4: 127-141.

Boray JC, Fraser GC, Williams JD, Wilson JM. The occurrence of the snail *Lymnaea columella* on grazing areas in New South Wales and studies on its susceptibility to *Fasciola hepatica*. *Aust Vet J.* 1985; 62: 4-6.

Braun BS. Comunidades de molusco em córregos impactados da macrobacia das lagoas costeiras de Jacarepaguá, RJ [Dissertação], Rio de Janeiro (RJ). Universidade Estadual do Rio de Janeiro; 2005.

Brown DS. Freshwater snails of Africa and their medical importance. Taylor e Francis, London (1994).

Bruno SF, Mattos DG, Silva EV, Francis M, Brito DB. *Fasciola hepatica* (Linnaeus 1758) em bovinos do município de Cachoeiras de Macacu. Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitol al Dia.* 1995; 19: 65-68.

Burch JB. Chromosomes of aquatic pulmonate snails. *Nucleus.* 1960; 3: 177-208.

Burch JB. North American Freshwater snails, keys to the freshwater gastropods of North America. *Walkerana.* 1982; 4: 217-222.

Burch JB. North American Freshwater snails, Introduction, systematics, nomenclature, identification, morphology, habitats, distribution. *Walkerana.* 1988; 2: 1-80.

Burch, JB. Nort American Freshwater Snails. Malacological Publications, Hamburg, Michigan (1989).

Burch JB, Ayers PA. Breeding experiments with *Stagnicola elodes* and *S. emarginata*. Malacol Review. 1973; 6: 51-52.

Busetti ET. Informações adicionais sobre a fasciolose hepática em Curitiba (Estado do Paraná, Brasil). Rev Inst Med Trop. 1982; 24: 104-106.

Caldeira RL, Vidigal T, Paulinelli ST, Simpson AJG, Carvalho OS. Molecular identification of similar species of the genus *Biomphalaria* (Mollusca: Planorbidae) determined by a polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93: 219-25.

Caldeira RL, Vidigal T, Martinella L, Simpson AJG, Carvalho OS. Identification of planorbids from Venezuela by polymerase chain reaction amplification and restriction fragment length polymorphism of internal transcriber spacer of the RNA ribosomal gene. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95(2):171-7.

Caldeira RL, Vidigal THDA, Simpson AJG, Carvalho OS. Genetic variability in Brazilian populations of *Biomphalaria straminea* complex detected by simple sequence repeat anchored polymerase chain reaction amplification. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96: 293-302.

Caldeira RL, Jannotti-Passos LK, Lira PM, Carvalho OS. Diagnostic of *Biomphalaria* snails and *Schistosoma mansoni*: DNA obtained from traces of shell organic materials. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99(5): 499-502.

Callomon P, Robertson R. The department of Malacology at the Academy of Natural Sciences of Philadelphia. American Malacologist. 2009; 37: 4-10.

Cardoso PCM. Diferenciação molecular de moluscos do gênero *Lymnaea* (Gastropoda, Lymnaeidae) utilizando a PCR-RFLP e o estudo da variabilidade genética de *L. columella* pela RAPD [Dissertação]. Belo Horizonte (MG): FIOCRUZ/CPqRR; 2004.

Cardoso PCM, Caldeira RL, Lovato MB, Coelho PMZ, Berne MEA, Müller G, Carvalho OS. Genetic variability of Brazilian populations of *Lymnaea columella*

(Gastropoda: Lymnaeidae), an intermediate host of *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea). *Acta Trop.* 2006; 97: 339-345.

Caron Y, Martens K, Lempereur L, Saegerman C, Losson B. New insight in lymnaeid snails (Mollusca, Gastropoda) as intermediate hosts of *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) in Belgium and Luxembourg. *Parasites and Vectors.* 2014; 66: 1-8

Carvalho GA, Ueta MT, Andrade CFS. Búsqueda de xifidiocercarias (Trematoda) en moluscos de agua dulce recolectados en nueve municipios del Estado de São Paulo, Brasil. *Bol Chil Parasitol.* 2001; 56: 3-9.

Carvalho OS, Cardoso PCM, Lira PM, Rumi A, Roche A, Berne E, Müller G, Caldeira RL. The use of the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism technique associated with the classical morphology for characterization of *Lymnaea columella*, *L. viatrix*, and *L. diaphana* (Mollusca: Lymnaeidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99: 503-507.

Carvalho OS, Passos LKJ, Mendonça CLFG, Cardoso PCM, Caldeira RL. Moluscos de importancia medica no Brasil. Fiocruz/Centro de Pesquisas Rene Rachou, Belo Horizonte, MG (2008).

Chen, M.G., Mott, K.E. Progress in assessment of morbidity due to *Fasciola hepatica* infection: a review of recent literature. *Trop. Dis. Bull.* 1990; 87, 1—38.

Cianfanelli S, Lori E, Bodon M. Non-indigenous freshwater molluscs and their distribution in Italy. *Biological invaders in inland waters: Profiles, distribution, and threats Invading Nature - Springer Series In Invasion Ecology.* 2007; 2: 103-121.

Coelho LHL, Lima WS. Population dynamics of *Lymnaea columella* and its natural infection by *Fasciola hepatica* in the State of Minas Gerais, Brazil. *J Helminthol.* 2003; 77: 7-10.

Coelho LHL. *Lymnaea columella*: Dinâmica de populações em Itajubá, MG e suscetibilidade à infecção por *Fasciola hepatica* em associações simpátricas e

alopátricas entre parasito e hospedeiro [Tese]. Belo Horizonte (MG). Universidade Federal de Minas Gerais. 2007.

Coelho LHL, Lima WS, Guimarães MP. Sympatric and allopatric combinations of *Lymnaea columella* and *Fasciola hepatica* from southern and south-eastern Brazil. *J Helminthol.* 2009; 83: 285-288.

Coral RP, Mastalir ET, Mastalir FP. *Fasciola hepatica* removal from common duct through choledoscopy. *Rev Colégio Brasileiro de Cirurgiões.* 2007; 34: 70-71.

Corrêa MOA, Fleury GC. Fasciolíase hepática humana: novo caso autóctone. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1971; 5: 267-270.

Correa VR de M, Carvalho MS, Sabroza PC, Vasconcelos CH. Remote sensing as a tool to survey endemic diseases in Brazil. *Cad. Saúde Pública.* 2004; 20: 891-904.

Correa AC, Escobar JS, Durand P, Renaud F, David P, Jarne P, Pointier JP, Hurtrez-Boussès S. Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of Fascioliasis. *BMC Evol Biol.* 2010; 9: 10:381.

Correa AC, Escobar JS, Noya O, Velásquez LE, González-Ramírez C, Hurtrez-Boussès S, Pointier JP. Morphological and molecular characterization of Neotropic Lymnaeidae (Gastropoda: Lymnaeoidea), vectors of fasciolosis. *Infect Genet Evol.* 2011; 11: 1978-88.

Dacal ARC, Costa HMD, Leite ACR. Susceptibility of *Lymnaea (Pseudosuccinae) columella* (Say, 1817) to infection by miracidia of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758). *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1988; 30: 361-369.

Dillon RTJr. Geographic distance, environmental difference, and divergence between isolated populations. *Syst Zool.* 1984; 33: 69-82.

Draparnaud, 1801 in Paraense WL. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca, Lymnaeidae). Rev Brasil Biol. 1976a; 36: 419-428.

Durand P, Pontier JP, Escoubeyrou K, Arenas JA, Yong M, Amarista M, Bargues MD, Mas-Coma S, Renaud F. Occurrence of a sibling species complex within Neotropical lymnaeids, snail intermediate hosts of fascioliasis. Acta Tropica. 2002; 83: 233-240.

Egler I & Santos MM. (Coord.). Diretrizes e estratégias para a modernização de coleções biológicas brasileiras e a consolidação de sistemas integrados de informação sobre biodiversidade. MCT/CGEE. Brasília. 2006.

Esteban JG, Flores A, Angles R, Mas-Coma S. High endemicity of human fascioliasis between Lake Titicaca and La Paz valley, Bolivia. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1999; 93: 151-156.

Fernandez MA, Thiengo SC, Boaventura MF. Gastrópodes límnicos do Campus de Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. Rev Soc Bras Med Trop. 2001; 34: 279-282.

Fischer ER, Hansen BT, Nair V, Hoyt FH, Dorward DW. Scanning electron microscopy SEM: Suplemento 25. Current Protocols in Microbiology. John Wiley & Sons, Inc., Wiley Online Library, New Jersey (2012).

Fiúza VRS, Gomes FF, Paes RB, Oliveira FCR. *Lymanea columella* Say, 1817 (Gastropoda: Lymnaeidae): Distribuição espacial no Município de Campos dos Goytacazes, RJ. Revista da Universidade Rural do Rio de Janeiro, Série Ciências da Vida. 2006; 26: 199-200.

Fuentes MV. Remote sensing and climate data as a key for understanding fasciolosis transmission in the Andes: review and update of an ongoing interdisciplinary project. Geospatial Health. 2006; 1: 59-70.

Fuji TU, Oliveira SM, Fuji T, Palazzo JPC. Prevalência da fasciolose hepática em búfalo (*Bubalus bubalis* L., 1758) da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. Arq Inst Biol, São Paulo. 1998; 65: 11-15.

Fretter, V and I. Peake. 1975. Pulmonates. Vol.1, Functional Anatomy and Physiology Academic Press, London, New York.

Gayo V, Mera y Sierra R. With IAEA support, Latin America controls liver fluke (*Fasciola hepatica*) in livestock and humans. 2010. FAO/IAEA. <<http://www-naweb.iaea.org/nafa/aph/stories/2010-fasciola-project.html>>.

Gomes PAC, Nuernberg S, Pimentel M, Oliveira G, Rezende HEB, Araujo JLB; Mello RP. Biologia de *Lymnaea columella* Say, 1817. Arq Mus Nac. 1975; 55: 67-70.

Gomes FF, Oliveira FCR, Pile EA, Lopes CWG. Estabelecimento de foco de fasciolose hepática em propriedade do município de Campos dos Goytacazes no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2002; 11: 53-56.

González JC, Sanchez VM, Thome JW, Gonçalves PC, Oliveira CMB. *Lymnaea columella*, hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* L. 1758, no Rio Grande do Sul, Brasil. Arq Faculd Vet Rio Grande do Sul. 1974; 2: 37-40.

Gouveia L, Henry R. Efeito do tamanho e temperatura no consumo de oxigênio de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Gastropoda). Ciência e Cultura. 1990; 42: 397-402.

Gutierrez A, Perera G, Yong M, Sánchez J, Wong L. Life History Traits of *Fossaria cubensis* (Gastropoda: Lymnaeidae) under experimental exposure to *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000; 95: 747-752.

Gutierrez A, Perera G, Yong M. The effect of isolation on the life-history traits of *Pseudosuccinea columella* (Pulmonata: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001a; 96: 577-581.

Gutierrez A, Yong M, Wong L, Sánchez J. The combined effect of isolation and *Fasciola hepatica* infection on the life history traits of *Fossaria cubensis* (Pulmonata: Lymnaeidae). J Invert Pathol. 2001b; 78: 66-71.

Gutierrez A, Yong M, Perera G, Sánchez J, Théron A. *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea): its effect on the life history traits of *Pseudosuccinea colemella* (Gastropoda: Lymnaeidae), an uncommon interaction. Parasitol Res. 2002; 88: 535-539.

Harry HW, Hubendick B. The freshwater pulmonate Mollusca of Puerto Rico. Mittellanden från Goteborgs Musei Zoologiska Advelning. 1964; 136: 1-77.

Hebert PD, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. Biological identifications through DNA barcodes. Proc Biol Sci. 2003; 270: 313-21.

Honer MR. Aspectos da epidemiologia da fasciolose. Seminário Nacional sobre Parasitoses de Bovinos. Campo Grande, EMBRAPA/ CNPGC. 1979. p. 386.

Horsák M, Juříčková L, Beran L, Čejka T, Dvořák L. Annotated list of mollusc species recorded outdoors in the Czech and Slovak Republics. Malacologica Bohemoslovaca. 2010; 1: 1-37.

Hubendick B. Recent Lymnaeidae. Their variation, morphology, nomenclature and distribution. K. Sven. Vetenskapsakad Fjärde Serien. 1951; 3: 1-223.

Hurtrez-Boussès S, Meunier C, Durand P, Renaud F. Dynamics of host-parasite interactions: the example of population biology of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). Microbes and Infection. 2001;3:841-849.

Hurtrez-Boussès S, Pendino A, Barnabé C, Durand P, Rondelaud D, Durand C, Meunier C, Hurtrez JE, Renaud F. Comparison between shell morphology and genetic diversity in two sympatric lymnaeid snails, vectors of fasciolosis. Can J. Zool. 2005; 83: 1643-1648.

Hyman LH. The Invertebrates: volume V. Smaller Coelomate groups. McGraw-Hill, New York (1959).

Hylton-Scott MI. Sobre *Limnaeidae* argentinos. Physis. 1953; 20: 401-408.

Igreja RP, Barreto MGM, Soares MS. Fascioliasis: report of two cases from rural areas of Rio de Janeiro. Rev Soc Bras Med Trop. 2004; 37: 416-417.

Inaba A. Cytotaxonomic studies of lymnaeid snails. Malacologia. 1969; 7: 143-168.

Indrusiak LF. Inventory of the malacological fauna from Ibibuí Mirim River, RS. Ciência & Natura. 1983; 5: 127-134.

International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN). Opinion 1896: *Galba Schrank*, 1803 (Mollusca, Gastropoda): *Buccinum truncatulum* Müller, 1774 designated as the type species. Bull Zool Nomencl. 1998; 55: 123.

International Commission on Zoological Nomenclature (ICZN). Fourth Edition. The International Trust for Zoological Nomenclature, London (2004).

Jabbour-Zahab R, Pointier JP, Jourdane J, Jarne P, Oviedo JA, Bargues MD, Mas-Coma S, Angles R, Perera G, Balzan C, Khallaayoune K, Renaud F. Phylogeography and genetic divergence of some lymnaeid snails, intermediate hosts of human and animal fascioliasis, with special reference to lymnaeids from the Bolivian Altiplano. Acta Tropica. 1997; 64: 191-203.

Jackiewicz M. Phylogeny and relationships within the European species of the family Lymnaeidae. Folia Malacologica. 1993; 5: 61-95.

Jackiewicz M. European species of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata, Basommatophora). Genus. 1998; 9: 1-102.

Jeffreys JG. A synopsis on the testaceous pneumonobranchous Mollusca of Great Britain. Transactions of the Linnean Society of London. 1830; 16: 323-392.

Kleiman F, Pietrokovsky S, Paraense WL, Wisnivesky-Colli C. Southernmost Finding of *Lymnaea viatrix* Orbigny, 1835 (Pulmonata: Lymnaeidae), Intermediate Host of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea), in Urban and Rural Areas of Patagonia, Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99: 23-24

Kruglov N.D. Lymnaeid snails of Europe and Northern Asia. Smolensk: Smolensk State Pedagogical University Press. (2005).

Lara SIM, Fernandez FG, Muller G, Silveira P. Biologia de *Lymnaea viatrix* Orb., 1835. II Desenvolvimento, postura e longevidade. Arq Bras Med Vet Zootec, 1988; 40: 101-113.

Larrea HC, Flórez MF, Vivar RG, Huamán PM, Velásquez JP. Hospederos intermediarios de *Fasciola hepatica* en Perú. Revista Horizonte Médico. 2007; 7: 39-46.

Laurent M. Notes herpétologiques africaines. 1. Revue de Zoologie et de Botanique Africaines. 1956; 53: 229-256.

Leon-Dancel D. Life history of *Lymnaea columella* (Say) and its experimental infection with *Fasciola hepatica* (L.). J Agricult Univers Puerto Rico. 1970; 54: 297-305.

Lessa CSS, Scherer PO, Vasconcelos MC, Freire LS, Santos JAA, Freire NMS. Registro de *Fasciola hepatica* em eqüinos (*Equus caballus*), caprinos (*Capra kircus*) e ovinos (*Ovis aries*) no muicípio de Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Ciência Vet. 2000; 7: 63-64.

Lima WS, Soares LRM, Barçante TA, Guimarães MP, Barçante JMP. Occurrence of *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) infection in Brazilian cattle of Minas Gerais, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009; 18: 27-30.

Lutz A. Sobre a ocorrência de *Fasciola hepatica* no estado do Rio de Janeiro. Boletim do Instituto Oswaldo Cruz. 1921; 1: 9-13.

Luz E, Gazda CM, Yada RS. Fasciolose animal no Estado do Paraná - Análise de dados. Arq Biol Tecnol. 1992; 35: 777-780.

Luz E, Vieira AM, Cesar TCP. Aspectos de *Lymnaea columella* Say, 1817, *Physa cubensis* Pfeiffer, 1839 e *Physa marmorata* Guilding, 1928 (Mollusca-Pulmonata) no primeiro planalto e litoral paranaense. Arq Biol Tecnol. 1994; 37: 667-71

Magalhães LA, Zanotti-Magalhães EM, Carvalho JF, Faraone M. Atração miraxonal exercida por *Biomphalaria straminea*, *Lymnaea columella* e *Physa* sp., sobre miracídios de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH. Rev Saude Publica. 1991; 25: 23-7.

Malek EA. *Snail hosts of schistosomiasis and other snail transmitted diseases in tropical America: A manual*. Scientific Publication no. 478, Pan American Health Organization, WHO, Washington D.C., USA. 1985; 325p.

Malek E, Chrosciechowski P. *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* from Venezuela and notes on distribution of *Pseudosuccinea*. Nautilus. 1964; 78: 54-56

Malek EA, Cogswell FB. *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* in Colombia. Nautilus. 1980; 94: 112-114.

Marinoni L, Peixoto AL. As coleções biológicas como fonte dinâmica e permanente de conhecimento sobre a biodiversidade. Ciênc cult. 2010; 62: 54-57.

Martins RT, Alves RG. Occurrence of Naididae (Annelida: Oligochaeta) from three gastropod species in irrigation fields in southeastern Brazil. Biota Neotropica. 2008; 8: 255-257.

Martins RT, Alves RG. Occurrence of *Chaetogaster limnaei* K. von Baer, 1927 (Oligochaeta, Naididae) associated with Gastropoda mollusks in horticultural channels in Southeastern Brazil. Braz J Biol. 2010; 70: 1055-1057.

Martello AR, Nunes IGW, Boelter RA, Leal LA. Malacofauna límnic associada à macrófitas aquáticas do rio Iguariaçá, São Borja, RS, Brasil. *Ciência e Natura*. 2008; 30: 27-41.

Mas-Coma S, Angles R, Strauss W, Esteban JG, Oviedo JA, Buchon P. Human fascioliasis in Bolivia: a general analysis and a critical review of existing data. *Res Rev Parasitol*. 1995; 55: 73-79.

Mas-Coma S, Esteban JG, Bargues MD. Epidemiology of human fascioliasis: a review and proposed new classification. *B World Health Organ*. 1999a; 77: 340-346.

Mas-Coma S, Angles R, Esteban JG, Bargues MD, Buchon P, Franken M, Strauss W. The northern bolivian altiplano: a region highly endemic for human fascioliasis. *Trop Med Inter Health*. 1999b; 4: 454-467.

Mas-Coma S. Chapter 19: Human fascioliasis. In: Cotruvo JA, Dufour A, Rees G, Bartram J, Carr R, Cliver DO, Craun GF, Fayer R, Gannon VPJ (Eds.), *World Health Organization (WHO), Waterborne Zoonoses: Identification, Causes and Control*. IWA Publishing, London (2004).

Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Fascioliasis and other plant-borne trematode zoonoses. *Int J Parasit*. 2005; 35:1255-1278.

Mas-Coma S, Valero MA, Bargues MD. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. *Vet Parasitol*. 2009; 163: 264–280.

Mattos MJT, Ueno H. Manutenção de *Lymnaea viatrix* Orbigny, 1835 em condições laboratoriais. *A Hora Veterinaria*. 1985; 26: 48-50.

Mattos MJT, Ueno H. Suscetibilidade de *Lymnaea viatrix* e *L. columella* as infecções experimentais com *Fasciola hepatica*. *Pesq Agropec Bras*. 1989; 24: 615-622.

Mattos MJT, Ueno H, Gonçalves PC, Almeida JEM. Ocorrência estacional e bioecologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeidae) em habitat natural no Rio Grande do Sul. R Bras Med Vet. 1997; 19: 248-252.

Maure EAP, Bustamante M, Serra-Freire NM, Gomes DC. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeiro intermediario de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do estado de São Paulo, Brasil. Braz J Vet Res Anim Sci. 1998; 35: 151-155.

Medeiros ADS, Cruz OJ, Fernandez MA. Esquistossomose mansônica e distribuição dos moluscos límnicos em criadouros naturais no Município de Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Cad Saúde Pública. 2002; 18: 1463-1468.

Medeiros CM, Scholte RGC, D'ávila S, Caldeira RL. Spatial distribution of Lymnaeidae (Mollusca, Basommatophora), intermediate host of *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 (Trematoda, Digenea) in Brazil. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 2014; 56:235-252.

Mera y Sierra R, Artigas P, Cuervo P, Deis E, Sidoti L, Mas-Coma S, Bargues MD. Fascioliasis transmission by *Lymnaea neotropica* confirmed by nuclear rDNA and mtDNA sequencing in Argentina. Vet Parasitol. 2009; 166: 73-9.

Meunier C, Tirard C, Hurtrez-Boussès S, Durand P, Bargues MD, Mas-Coma S, Pontier JP, Jourdanes J, Renaud F. Mol Ecol. 2001; 10: 1333-1340.

Mezarri A, Antunes HBB, Coelho N, Cauduro PF, Brodt TC. Fasciolíase humana no Brasil diagnosticada por colangiografia endoscópica retrógrada. Jornal Brasileiro de Patologia. 2000; 36: 93-5.

Minton RL, Lydeard C. Phylogeny, taxonomy, genetics and global heritage ranks of an imperiled, freshwater snail genus *Lithasia* (Pleuroceridae). Molecular Ecology. 2003; 12:75-87.

Minton RL, Garner J, Lydeard C. Rediscovery, systematics, and re-description of *Leptoxis melanoides* (Conrad, 1834) (Gastropoda: Pleuroceridae) from the Black Warrior River drainage, Alabama, U.S.A. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 2003; 116: 531-541.

Morretes FL. Ensaio de catálogo dos moluscos do Brasil. *Arquivos do Museu Paranaense*, 1949; VII: 124.

Müller G, Lara SIM, Silveira Jr P, Antunes PL. Acompanhamento laboratorial do ciclo biológico de *Lymnaea viatrix*, hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica*. *Revista Brasileira de Agrociência*. 1998; 4: 172-176.

Muniz C. Levantamento da malacofauna límnic e aspectos ecológicos de focos de esquistossomose em Ana Dias, Vale do Ribeira-SP [Dissertação]. São Paulo (SP), Universidade de São Paulo. 2007. 142 p.

Nuernberg S. Estudos experimentais com *Lymnaea cubensis* Pfeiffer, 1839 (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae) como hospedeiro intermediário de *Fasciola hepatica* L. 1758 (Trematoda, Fasciolidae), no Estado do Rio de Janeiro [Tese], Rio de Janeiro (RJ): Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1978.

Nuernberg S, Rezende HEB, Serra-Freire NM, Gomes PAC, Araújo JLB. Biologia e susceptibilidade de *Lymnaea cubensis* (Mollusca, Lymnaeidae) a infecções por *Fasciola hepatica* em condições experimentais. *Pesq Vet Bras*. 1983; 3:1- 10

Oliveira SM, Fujii TU, Sposito Filha E, Martins AMCRPF. Ocorrência de *Lymnaea columella* Say, 1817 infectada naturalmente por *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), no vale do ribeira, Sao Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol SãoPaulo*. 2002; 69: 29-37.

Oliveira AA, Nascimento AS, Santos TAM, Carmo GMI, Dimech CPN, Alves RMS, Malaspina FG, Garcia MHO, Santos DA, Aguiar GPR, Albuquerque BC, Carmo EH. Estudo da prevalência e fatores associados à fasciolose no Município de Canutama, Estado do Amazonas, Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2007; 16: 251-259.

Oliveira EL. Prevalência e fatores associados à distribuição da *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 em bovinos dos municípios de Careacú e Itajubá, região da bacia do rio Sapucaí - Minas Gerais [Dissertação]. Belo Horizonte (MG), Universidade Federal de Minas Gerais; 2008.

Oviedo JA, Bargues MD, Mas-Coma S. Lymnaeid snails in the human fascioliasis high endemic zone of the Northern Bolivia Altiplano. Res Rev Parasitol. 1995; 55: 35-43.

Paraense WL. *Lymnaea viatrix*: a study of topotypic specimens (Mollusca, Lymnaeidae). Rev Brasil Biol. 1976a; 36: 419-428.

Paraense WL. The sites of cross and self-fertilization in planorbid snails. Rev Bras Biol. 1976b; 36: 535-39.

Paraense WL. *Lymnaea viatrix* and *Lymnaea columella* in the Neotropical Region: a distributional outline. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1982a; 77: 181-188.

Paraense WL. *Lymnaea rupestris* sp.n. from Southern Brazil (Pulmonata: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1982b; 77: 437-443.

Paraense WL. *Lymnaea columella* in Northern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1983; 78: 477-482.

Paraense WL. *Lymnaea diaphana*: a study of topotypic specimens (Pulmonata: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984; 79: 75-81.

Paraense WL. *Lymnaea columella*: Two new brazilian localities in the states of Amazonas and Bahia. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1986; 8: 121-123.

Paraense WL. *Lymnaea peregrina* Clessin, 1882, synonym of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89: 561-566.

Paraense WL. *Lymnaea cousini* Jousseume, 1887, from Ecuador (Gastropoda: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 1995; 90: 605-609.

Paraense WL. Planorbidade, Lymnaeidae and Physidae of Ecuador (Mollusca: Basommatophora). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99: 357-362.

Paraense WL, Deslandes N. Observations on the morphology of *Australorbis glabratus*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1955; 53: 87-103.

Pereira D, Konrad HG, Paloski NI. Gastrópodos límnicos da bacia do rio Camaquã, RS, Brasil. Acta Biologica Leopoldensia. 2000a; 22: 55-66.

Pereira D, Veitenheimer-Mendes IL, Mansur MCD, Silva MCP. Malacofauna límnic do sistema de irrigação do arroio Capivara, Triunfo, RS, Brasil. Biociências. 2000b; 8: 137-157.

Perez KE, Minton RL. Practical applications for systematics and taxonomy in North American freshwater gastropod conservation. J. N. Am. Benthol. Soc. 2008; 27:471–483.

Pfenninger M, Posada D. Phylogeographic history of the land snail *Candidula unifasciata* (Helicellinae, Stylommatophora): fragmentation, corridor migration and secondary contact. Evolution. 2002; 56: 1776-1778.

Pile E, Lessa CSS, Scherer PO, Santos JAA, Vasconcellos MC. Ocorrência de fasciolosis bovina em Itaguaí, Ríó de Janeiro, Brasil. Parasitol al día. 1999; 23: 123-124.

Pile E, Gazela G, Santos JAA, Coelho B, Serra-Freire NM. Ocorrência de fascioliasis humana no município de Volta Redonda, RJ, Brasil. Rev Saude Publica. 2000; 34: 413-414.

Pilsbry HA. Non-marine mollusca of Patagonia. In: Scott WB (ed). Reports of the Princeton University Expeditions to Patagonia. Stuttgart, E. Schweizerbart'sche Verlaghandlung. 1911; 3: 513-687.

Pilsbry HA, Bequaert JC. The aquatic molluscs of the Belgian Congo, with a geographical and ecological account of Congo malacology. Bulletin of the American Museum of Natural History. 1927; 53: 69-602.

Pinheiro J, Amato SB. Consumo de Oxigênio Por *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda) Infectada Com Estágios Larvais de *Fasciola Hepatica* (Platyhelminthes, Digenea). Revista da Universidade Rural. Série Ciências da Vida. 1996; 18: 95-99.

Pinheiro J, Maldonado Jr A, Lanfredi RM. Physiological changes in *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Mollusca, Gastropoda) in response to *Echinostoma paraensei* Lie and Basch, 1967 (Trematoda: Echinostomatidae) infection. Parasitol Res. 2009; 106: 55-59.

Pointier JP, Marquet G. Taxonomy and distribution of freshwater mollusks of French Polynesia. Venus. 1990; 49:215–231.

Pointier JP, Noya O, Amarista M, Théron A. *Lymnaea cousini* Jousseume, 1887 (Gastropoda: Lymnaeidae): First Record for Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004; 99: 567-569.

Pointier JP, Yong M, Gutiérrez A. Guide to the freshwater molluscs of Cuba, Conchbooks, Hackenheim (2005).

Pointier JP, Cazzaniga NJ, González-Salas C, Gutiérrez A, Arenas JA, Bargues MD, Mas-Coma S. Anatomical studies of sibling species within neotropical lymnaeids, snail intermediate hosts of fascioliasis. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006; 101: 431-5.

Pointier JP, Coustau C, Ronelaud D, Theron A. *Pseudosuccinea columella* (Say 1817) Gastropoda, Lymnaeidae), snail host of *Fasciola hepatica*: first record for France in the wild Parasitol Res. 2007; 101:1389–1392.

Pointier JP, Noya O, Alarcón de Noya B, Théron A. Distribution of Lymnaeidae (Mollusca: Pulmonata), intermediate snail hosts of *Fasciola hepatica* in Venezuela. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009; 104: 790-6.

Ponder WF, Waterhouse, JH. A New Genus and Species of Lymnaeidae from the Lower Franklin River, South Western Tasmania, Australia. Journal of Molluscan Studies. 1997; 63: 441.

Puillandre N, Bouchet P, Boisselier-Dubayle MC, Brisset J, Buge B, Castelin M, Chagnoux S, Christophe T, Corbari L, Lambourdière J, Lozouet P, Marani G, Rivasseau A, Silva N, Terryn Y, Tillier S, Utge J, Samadi S. New taxonomy and old collections: integrating DNA barcoding into the collection curation process. Molecular Ecology Resources. 2012; 12: 396-402.

Pullan NB. The first record in New Zealand of *Lymnaea columella* Say (Mollusca: Gastropoda) an intermediate host of the liver-fluke *Fasciola hepatica*. Vet. J. 1969; 17: 255-6.

Prepelitchi L, Kleiman F, Pietrokovsky SM, Moriena RA, Racioppi O, Alvarez J, Wisnivesky-Colli C. First Report of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae) Naturally Infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus,1758) (Trematoda: Digenea) in Argentina. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2003; 98: 889-891.

Queiroz VS, Luz E, Leite LC, Círio SM. *Fasciola hepatica* (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas do Paraná (Brasil). Acta Biol Par. 2002; 31: 99-111.

Rey L. *Fasciola hepatica* no gado, no Rio Grande do Su. Investigações sobre a possibilidade de ocorrência de casos humanos. Rev Bras Malariol Doenças Trop. 1957; 9: 473-483.

Rey L. Primeiro encontro de ovos de *Fasciola hepatica* em inquérito helmintológico de populações brasileiras (Campo Grande, Mato Grosso). Rev Paul Med. 1958; 53: 60.

Rezende HEB, Araujo JLB, Gomes PAC, Nuernberg S, Neto MP, Oliveira GP, Mello RP. Notas sobre duas espécies de *Lymnaea* Lamark, 1799, hospedeiros intermediários da *Fasciola hepatica* no estado do Rio de Janeiro. (Mollusca, Gastropoda, Basommatophora, Lymnaeidae). Arq Univ Fed Rural. 1973; 3: 21-23.

Samadi S, Roumégoux A, Barges MD, Mas-Coma S, Yong M, Pontier JP. Morphological studies of lymnaeid snails from human fascioliasis endemic zone of Bolivia. J Mollus Stud. 2000; 66: 31-44.

Santos L, Vieira TF. Contribuições sobre os sete primeiros casos de fasciolose humana no Vale do Paraíba, Estado de São Paulo. Rev Inst Adolfo Lutz. 1967. 25/27: 65-109.

Santos NR, Garcia AC, Cardoso AL, Kung D, Rolino DC, Gouveia DC, Yehia E, Filho ER, Prandini F, Silva GE, Hironaka H, Almeida IF, Pocinho JL, Franco JR, Y J, Antunes JR, Baruki LA, Azevedo LS, Valle LO, Brites ME, Kovacs MH, Yagima, ME, Srougi M, Nakaie M, Maragna M, Yasuda N, Coltro O, Peso RA, Hayashi S, Imaizumi S, Sterman S, Obermeyer S, Shimizu T, Yoshikawa T, Tannuri U, Filho VO. Inquérito coprológico, sorológico e médico-social realizado em Ilhéus e Uruçuca (Bahia) pela VIII Bandeira Científica do Centro Acadêmico "Oswaldo Cruz" da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em janeiro de 1967. Rev Cent Acad Oswaldo Cruz. 1967. 51: 63-70.

Serra-Freire NM, Nuernberg S. Geopolitical dispersion of the occurrence of *Fasciola hepatica* in the state of Santa Catarina, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1992; 87: 263-269.

Serra-Freire NM, Bordin EL, Lessa CSS, Scherer PO, Farias MT, Malacco A, Tschumi JA. Reinvestigação sobre a distribuição da *Fasciola hepatica* no Brasil. Hora Vet. 1995; 1: 19-21.

Serra-Freire NM. Fasciolose hepatica no Brasil: Análise retrospectiva e prospectiva. Caderno Técnico-Científico da Escola de Medicina Veterinária. 1999; 1: 9-44.

Scholte RGC, Carvalho OS, Malone JB, Utzinger J, Vounatsou P. Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. *Geospatial Health*. 2012; 6: S95-S101.

Sierra RM, Artigas P, Cuervo P, Deis E, Sidoti L, Mas-Coma S, Bargues MD. Fasciolosis transmission by *Lymnaea neotropica* confirmed by nuclear rDNA and mtDNA sequencing in Argentina. *Veterinary Parasitology*. 2009; 166: 73-79.

Silva JC. Levantamento e monitoramento da malacofauna de água doce da região de influência direta do Sistema Produtor do Alto Tietê (SPAT). [Dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 2010.

Silva CA. Avaliação e retificação da identificação específica de moluscos do gênero *Biomphalaria* PRESTON, 1910 do acervo da Coleção de Malacologia Médica (Fiocruz-CMM) [Dissertação]. Belo Horizonte (MG): FIOCRUZ/CPqRR; 2012.

Silva RE, Melo AL, Pereira LH, Frederico LF. Levantamento malacológico da bacia hidrográfica do lago Soledade, Ouro Branco (Minas Gerais, Brasil). *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1994; 36: 437-444.

Silva-Santos IC, Albite-Silva FC, Pascotini LC. *Lymnaea columella* (Say, 1817) no município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul. *Hora Vet*. 1994; 14: 30-32.

Silva-Santos IC, Laranja RK, Costa NC, Botelho GA, Ceresér VH, Martins JK. *Lymnaea columella* (Linnaeus, 1758) interagindo na disseminação da fasciolose na Estação Experimental Zootécnica de Dom Pedrito, RS. *Hora Vet*. 1987; 35: 42-48.

Sinclair KB. Pathogenesis of Fasciola and other liver - flukes. *Heminthol. Abstr.*, 36: 115-134. *Helminthological Abstracts*. 1967; 36: 115-134.

Simões RI. Comunidade de moluscos bentônicos na área de abrangência da usina hidrelétrica de Dona Francisca, Rio Jacuí, Rio Grande do Sul, Brasil: Fase de pré e pós-enchimento do reservatório [Dissertação]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do

Rio Grande do Sul; 2002

Smooker PM, Hickford DE, Vaiano SA, Spithell TW. Isolation, cloning and expression of fatty acid binding proteins from *Fasciola gigantica*. *Exp Parasitol*. 1997; 85: 86-91.

Souza CP, Lima LC, Jannotti-Passos LK, Ferreira SS, Guimarães CT, Vieira IBF, Junior RM. Limnic snails in the microregion of Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil: a survey emphasizing on vectors of parasitosis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998; 31: 449-456.

Souza CP, Magalhães KG, Jannotti-Passos LK, Santos GCP, Ribeiro F, Katz N. Aspects of the Maintenance of the Life Cycle of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea columella* in Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97: 407-410.

Souza MAA de, Souza LA de, Machado-Coelho GLL, Melo AL de. Levantamento malacológico e mapeamento das áreas de risco para transmissão da esquistossomose mansoni no município de Mariana, Minas Gerais, Brasil. *R Ci Méd Biol*. 2006; 5: 132-139.

Spatz L, Vidigal THDA, Caldeira RL, Neto ED, Cappa SMG, Carvalho OS. Molecular study of similar *Biomphalaria* species. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1998; 93: 169-170.

Spatz L, Vidigal T, Caldeira RL, Neto ED, Cappa SMG, Carvalho OS. Study of *Biomphalaria tenagophila tenagophila*, *B. t. guaibensis* and *B. occidentalis* by polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion of the ribosomal RNA intergenic spacer regions. *J Moll Stud*. 1999; 65: 143-49.

Spatz L, Vidigal THDA, Silva MCA, Cappa SMG, Carvalho OS. Characterization of *Biomphalaria orbigny*, *Biomphalaria peregrina* and *Biomphalaria oligoza* by Polymerase Chain Reaction and Restriction Enzyme Digestion of the Internal Transcribed Spacer Region of the RNA Ribosomal Gene. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2000; 95: 807-814.

Stevens MM. Planorbidae and Lymnaeidae as pests of rice, with particular reference to *Isidorella newcombi* (Adams & Angus). pp. 217 - 233 in: Barker G (ed). Molluscs as Crop Pests. CAB International, Wallingford, UK (2002).

Teles HMS, Leite RPA, Rodrigues FL. Moluscos límnicos de uma área do Alto Araguaia (Brasil). Revista de Saúde Pública. 1991; 25: 179-183.

Thiengo SC, Fernandez MA, Boaventura MF, Stortti MA. A survey of freshwater gastropods in the Microrregião Serrana of the state of Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998; 93: 233-234.

Thiengo SC, Fernandez MA, Boaventura MF, Gault CE, Silva HFR, Mattos AC, Santos SB. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: I - Metropolitan. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001; 96: 177-184.

Thiengo SC, Fernandez MA, Boaventura MF, Magalhães MG, Santos SB. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: III - Baixadas Mesoregion. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002a; 97: 43-46.

Thiengo SC, Fernandez MA, Boaventura MF, Santos SB, Mattos AC. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: II - Centro fluminense mesoregion. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002b; 97: 621-626.

Thiengo SC, Mattos AC, Boaventura MF, Fernandez MA. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: IV - Sul Fluminense Mesoregion. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004a; 99: 275-280.

Thiengo SC, Mattos AC, Boaventura MF, Loureiro MS, Santos SB, Fernandez MA. Freshwater snails and Schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: V - Norte fluminense Mesoregion. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004b; 99: 99-103.

Thiengo SC, Santos SB, Fernandez MA. Freshwater molluscs of the lake of Serra da Mesa, Goiás, Brazil. I. Qualitative study. Rev Bras Zool. 2005; 22: 867-874.

Thiengo SC, Mattos AC, Santos SB, Fernandez MA. Freshwater snails and schistosomiasis mansoni in the state of Rio de Janeiro, Brazil: VI - Noroeste Fluminense Mesoregion. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006; 101: 239-245.

Thompson FG. An annotated checklist and bibliography of the land and freshwater snails of Mexico and Central America: Part 1 Vetigastropoda - The Operculates. [homepage on the Internet]. 2008; http://www.flmnh.ufl.edu/malacology/mexico-central_america_snail_checklist/part1.htm.

Tostes RA, Santarém VA, Alberti H, Sanches OC. Casos autóctones de *Fasciola hepatica* na região de Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. Ciência Rural. 2004; 34: 961-962.

Ueno H, Arandia R, Morales G, Medina. Fascioliasis livestock and snail host for *Fasciola* in the Altiplano region of Boliva. Natl Inst Anim Health. 1975; 15: 61-67.

Ueno H, Gutierrez VC, Mattos MJT, Muller G. Fascioliasis problems in ruminants in Rio Grande do Sul, Brazil. Veterinary Parasitology. 1982; 11: 185-191.

Ueta MT. Alguns aspectos da biologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda, Pulmonata). Rev Saúde Pública. 1976; 10: 355-366.

Ueta MT. Variações anatômicas em *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda). Rev Soc Bras Med Trop. 1977; 1: 217-237.

Ueta MT. Ocorrência de infecção natural de *Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758 em *Lymnaea columella* Say, 1817 no vale do Paraíba, SP, Brasil. Rev Saude Pub São Paulo. 1980; 14: 230-23.

Vanatta EG *Lymnaea (Pseudosuccinea) columella* in Oregon. Nautilus. 1915; 29: 60.

Vaz JF, Elmor MRD, Goncalves LMC, Ishihata GK. Planorbic inventory of the area of Presidente Prudente, SP, Brasil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1983; 25: 120-126.

Vaz JF, Elmör MRD, Gonçalves LMC. Levantamento planorbídico do estado de São Paulo: 8a região administrativa (Grande área de São José do Rio Preto). Rev Inst Med Trop S Paulo. 1992; 34: 527-537.

Vaz JF, Mantegazza E, Teles HMS, Leite SPS, Morais LVC. Levantamento planorbídico do estado de São Paulo (Brasil): 4a Região Administrativa. Rev Saúde Pública. 1987; 21: 371-379.

Vaz JF, Teles HM, Leite SP da S, Corrêa MA, Fabbro ALD, Rosa WS. Levantamento planorbídico do estado de São Paulo: Sexta região administrativa. Rev Saúde Pública. 1986; 20: 358-361.

Veitenheimer-Mendes IL, Lopes-Pitoni VL, da Silva MCP, Almeida-Caos JE, Schröder-Pfeifer NT. Moluscos (Gastropoda e Bivalvia) ocorrentes nas nascentes do Ri9o Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil. Iheringia Ser Zool. 1992; 73: 69-76.

Velásquez LE. Sfyonymy between *Lymnaea bogotensis* Pilsbry, 1935 and *Lymnaea cousin* Jousseau, 1887 (Gastropoda: Lymnaeidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2006; 101: 795-799.

Vianna GJC, Lima LF, Paula EV, Melo AL. Levantamento preliminar dos gastrópodes límnicos no município de Januária, mesorregião norte de Minas Gerais, Brasil. Rio de Janeiro, RJ. Anais do XX Encontro Brasileiro de Malacologia, Rio de Janeiro. 2007; 224p.

Vidigal THDA, Dias Neto E, Carvalho OS, Simpson AJG. *Biomphalaria glabrata*: extensive genetic variation in Brazilian isolates revealed by random amplified polymorphic DNA analysis. Exp Parasitol. 1994; 79: 187-194.

Vidigal THDA, Neto ED, Simpson AJG, Carvalho OS. A low stringency polymerase chain reaction approach to identification of *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria tenagophila* intermediate snail hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1996; 91: 739-744.

Vidigal THDA, Neto ED, Spatz L, Nunes DN, Pires ER, Simpson AJG, Carvalho OS. Genetic Variability and Identification of the Intermediate Snail Hosts of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1998a; 93: 103-10.

Vidigal THDA, Spatz L, Nunes DN, Simpson AJG, Carvalho OS and Neto ED. *Biomphalaria spp*: Identification of the Intermediate Snail Hosts of *Schistosoma mansoni* by Polymerase Chain Reaction Amplification and Restriction Enzyme Digestion of the Ribosomal RNA Gene Intergenic Spacer. Exp Parasitol. 1998b; 89, 180-87.

Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS. Further studies on the molecular systematics of *Biomphalaria* snails from Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2000a; 95: 57-66.

Vidigal THDA, Kissinger JC, Caldeira RL, Pires EC, Monteiro E, Simpson, AJ, Carvalho OS. Phylogenetic relationships among Brazilian *Biomphalaria* species (Mollusca: Planorbidae) based upon analysis of ribosomal ITS2 sequences. Parasitology. 2000b; 121: 611-620.

Vidigal THDA, Caldeira RL, Simpson AJG, Carvalho OS. Identification of *Biomphalaria havanensis* and *Biomphalaria obstructa* Populations from Cuba Using Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism of the Ribosomal RNA Intergenic Spacer. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001 July; 96: 661-665, 2001.

Vidigal THDA, Motressor LC, Simpson AJG, Carvalho OS. Polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of cytochrome oxidase I used for differentiation Brazilian *Biomphalaria* species intermediate host of *Schistosoma mansoni*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002; 97: 47-52.

Vidigal THDA, Spatz L, Kissinger JC, Redondo RAF, Pires ECR, Simpson AJG, Carvalho OS. Analysis of the First and Second Internal Transcribed Spacer Sequences

of the Ribosomal DNA in *Biomphalaria tenagophila* Complex (Mollusca: Planorbidae). Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004 March; 99: 153-158.

Vignoles P, Menard A, Rondelaud D, Chauvin A, Dreyfuss G. *Fasciola hepatica*: the characteristics of experimental infections in *Lymnaea truncatula* subjected to miracidia different in their mammalian origin. Parasitol Res. 2001; 87: 949.

Vignoles P, Dreyfuss G, Rondelaud D. Redial growth and cercarial productivity of *Fasciola hepatica* in three species of young lymnaeid snails. J Helminthol. 2002; 76: 269-272.

Villavicencio A, Carvalho de Vasconcellos M. First report of *Lymnaea cousini* Jousseume, 1887 naturally infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea) in Machachi, Ecuador. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2005; 100:735-737.

Vinarski MV. An interesting case of predominantly sinistral population of *Lymnaea stagnalis* (L.) (Gastropoda: Pulmonata: Lymnaeidae). Malacologica Bohemoslovaca. 2007; 6: 17-21.

Vinarski M, Schniebs K, Glöer P, Hundsdoerfer A. The taxonomic status and phylogenetic relationships of the genus *Aenigmomphiscola* Kruglov et Starobogatov, 1981 (Gastropoda: Pulmonata: Lymnaeidae). Journal of Natural History. 2011; 45: 2049-2068.

Vinarski M. One, two, or several? How many lymnaeid genera are there? Ruthenica. 2013; 23: 41-58.

Walter HJ. Evolution, taxonomic revolution, and zoogeography of the Lymnaeidae. Bull Am Malacol Union. 1968; 34: 18-20.