

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

ASPECTOS DA BIOLOGIA DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) E *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

Armando de Lemos Ribeiro

1997



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ASPECTOS DA BIOLOGIA DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) E *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

ARMANDO DE LEMOS RIBEIRO

Sob a Orientação do Professor
Dr. João Luiz Horacio Faccini

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Dezembro de 1997

595.42

R484a

T

Ribeiro, Armando de Lemos, 1955-.

Apectos da biologia de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em condições experimentais / Armando de Lemos Ribeiro - 1997.

56 f. : il.

Orientador: João Luiz Horacio Faccini.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 50-56.

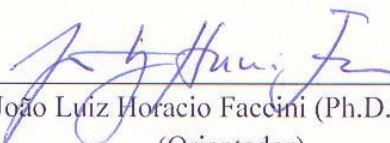
1. Carrapato - Controle Teses. 2. *Rhipicephalus sanguineus* - Teses. I. Faccini, João Luiz Horacio, 1947-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

ARMANDO DE LEMOS RIBEIRO

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

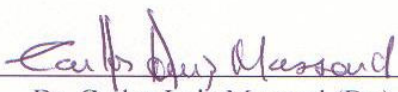
TESE APROVADA EM: 16 / 12 / 1997



Dr. João Luiz Horacio Faccini (Ph.D.) - UFRRJ
(Orientador)



Dr. Valdomiro Bellato (Dr.) - UDESC



Dr. Carlos Luiz Massard (Dr.) - UFRRJ

Dr. Eliane Maria Milward de Azevedo (Dr.) – UFRRJ



Dr. Kátia Maria Famadas (Dr.) - FIOCRUZ

Aos meus pais, Alda e Raphael.

A minha esposa Kelma e à minha filha
Graziela.

AGRADECIMENTOS

Aos professores João Luiz Horário Faccini e Erik Daemon, pela orientação.

A Heloísa Maria Kreling da Silva, pelo fornecimento do material biológico.

À CAPES, pelo auxílio financeiro.

Aos professores Joaquim Eduardo de Alencar e Sylvio Barbosa Cardoso, pelos seus incentivos no início da minha iniciação científica (UFC e UECE).

À todos que contribuíram para a realização desta tese.

BIOGRAFIA

Armando de Lemos Ribeiro, filho de Alda de Lemos Ribeiro e Raphael Moura de Paula Ribeiro, nasceu a 16 de janeiro de 1955, na cidade de Macapá, Estado do Amapá.

Cursou o primário na Escola Paroquial São José em Macapá, o ginásial no Instituto São Pedro e o científico no Colégio Cearense Sagrado Coração, em Fortaleza.

Ingressou no curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Ceará, graduando-se em 1980.

Estagiou em 1980 no Núcleo de Medicina Tropical da Universidade Federal do Ceará, onde em 1984 entrou para o quadro de Médico Veterinário Pesquisador.

Em 1986, submeteu-se ao concurso público para Professor Auxiliar de Ensino da Faculdade de Veterinária, da Universidade Estadual do Ceará, onde é professor de Parasitologia Veterinária e de Zoologia Geral do Curso de Medicina Veterinária. No ano de 1995, concluiu o curso de Mestrado e neste mesmo ano entrou para o curso de Doutorado, em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, ambos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

RESUMO

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Aspectos da biologia de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae), em condições experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

O primeiro experimento foi montado para avaliar o ritmo de queda de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* alimentadas em coelhos. Infestações foram feitas com larvas e ninfas em jejum com idades de 15 e 45 dias após eclosão e ecdise larval respectivamente. Três coelhos foram infestados com aproximadamente 825 larvas (50 mg de ovos) e 100 ninfas para cada idade totalizando 12 coelhos. Cada hospedeiro foi examinado nos horários de 8, 12, 16 e 24 horas e as larvas e ninfas desprendidas foram coletadas. Independente da idade e do instar, o maior número se despreendeu entre 8 e 16 horas: 73,6% e 72,8% para larvas com 15 e 45 dias após eclosão e 69,6% e 57,5% para ninfa. Com 15 e 45 dias após ecdise larval, respectivamente. O segundo experimento teve como objetivo avaliar o efeito da idade sobre a fixação de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense*, usando o coelho como hospedeiro. Infestações foram feitas com larvas com períodos de jejum de zero a 4 até 150 dias após eclosão e ninfas em jejum variando de zero a 2 até 165 dias após ecdise larval. Um total de 11 e 12 infestações para larvas e ninfas respectivamente, com intervalos de 15 dias foram acompanhados. Três coelhos foram infestados com 825 larvas e 100 ninfas por coelhos e para cada tratamento. Larvas e ninfas com zero a 4 dias após eclosão e zero a 2 dias após ecdise larval se fixaram e se alimentaram, com taxas de recuperação de 45 e 77% respectivamente. Taxas de recuperação alta para larvas (> 70%) foi observado para 15 até 60 dias após eclosão. Entretanto a partir daí começou a decrescer para 25% até 150 dias pós-eclosão. As taxas de recuperação foram altas para ninfas com 15 até 90 dias pós-ecldise (> 80%). Então, começou a decrescer para 36% até 165 dias. Os períodos de pré-ecldise, de ecdise e as percentagens de ecdise foram estáveis para todas as idades estudadas. Quando o período de pré-ecldise é analisado nota-se um encurtamento conforme as ninfas se tornam mais velhas; ao contrário este período foi similar para larvas de todas as idades. Esse terceiro experimento foi conduzido para se observar a correlação entre o peso, o período de pré-ecldise e o período de queda de ninfas ingurgitadas com a previsão do sexo dos adultos de *Rhipicephalus sanguineus*. A média do peso de ninfas que originaram machos (n = 96) foi de $1,97 \pm 0,97$ e $2,52 \pm 0,90$ para fêmeas (n = 103) ($P > 0,05$). O peso das ninfas não pode ser usado para a previsão dos sexos devido à superposição dos pesos. O período de pré-ecldise foi de $15,13 \pm 0,94$ e $14,60 \pm 0,77$ dias par ninfas que originaram machos (n = 96) e fêmeas (n = 103) ($P > 0,05$), respectivamente. Ninfas (n = 50), dos períodos de queda, inicial (3° dia) e modal (4° dia), desprenderam-se 29 fêmeas e 21 machos, em ambos períodos. No período final (5° dia) (n = 50) desprenderam-se 30 fêmeas e 20 machos ($x^2 > 0,05$). Embora exista diferenças numéricas em todos os parâmetros avaliados, tais parâmetros não podem ser utilizados para a previsão dos sexos em *R. sanguineus* devido a amplitude da superposição.

Palavras-chave: *Amblyomma cajennense*, *Rhipicephalus sanguineus*, Acari, Ixodidae, Ciclo biológico, experimental.

ABSTRACT

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Aspects of the biology of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) and *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae), em condições experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

The first experiment was set up to measure the drop-off rhythm of larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* feeding on the rabbits as experimental hosts. Infestations were carried out with unfed larvae and nymphs aging 15 and 45 days post eclosion and host larval moulting, respectively. Three rabbits were infested with approximately 825 larvae (50 mg of eggs) and 100 nymphs for each age totaling 12 rabbits. Each host were examined at 8, 12, 16 and 24 hours and the dropped larvae and nymphs collected. Regardless of age and instar higher drop-off rhythm were observed from 8 to 16 hours: 73,6 and 72,8% larvae with 15 and 45 days post eclosion and 69,6 and 57,5 nymphs with 15 and 45 days post larval moulting, respectively. The second experiment was set up to evaluate the effect of age on the attachment of larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* using the rabbit as experimental host. Infestations were carried out with unfed larvae aging from 0-4 to 150 days post-eclosion and unfed nymphs aging from 0-2 to 165 days post-larval moulting. A total of 11 and 12 infestations respectively for larvae and nymphs with 15 days interval were monitored. Three rabbits were infested with 825 larvae and 100 nymphs per rabbit at each interval. Larvae and nymphs with 0-2 day post-eclosion and post larval moulting were able to attach and feed at rates of 45 and 77%. Higher attachment rates for larva (> 70%) were observed from days 15 to 60 post eclosion. Then, start to decrease until 25% at 150 days post-eclosion. Higher attachment rates for nymphs were observed from days 15 to 90 post moulting (> 80%). Then, start to decrease until 36% at 165 days. The periods of attachment and ecdysis, and the percentage of ecdysis were similar for both stages regardless the age prior attachment. When the period of pre-ecdisis is analyzed one might note a shortening as the nymphs because older whereas it was similar for larvae in ali evaluated ages. This third experiment was conduct as an attempt to correlate the weight pre-ecdisis period and timing of drop-off of nymphs with the forecast of the sexes in adults of *Rhipicephalus sanguineus*. The mean weight of nymphs that moulted to males (n = 96) was $1,97 \pm 0,97$ and $2,52 \pm 0,90$ to females (n = 103) ($P > 0,05$) between the weight of nymphs can not be used to forecast the sexes due to overlapping of to weight ranges. The pre-ecdisis periods were $15,13 \pm 0,94$ and $14,60 \pm 0,77$ days for nymphs that moulted to males (n = 96) and females (n = 103) ($P > 0,05$) respectively. Nymphs (n = 50) that dropped-off on both third and fourth day (mode) post-infestation moulted to 29 females and 21 males whereas those (n = 50) that dropped-off on the fifth day post-infestation moulted to 30 females and 20 males ($\chi^2 > 0,05$). Although there are numerical differences in ali evaluated parameters none can be used to forecast the sexes in *R. sanguineus* due to an extensive overlapping.

Keywords: *Amblyomma cajennense*, *Rhipicephalus sanguineus*, Acari, Ixodidae, Life cycle, Experimental.

ABREVIACOES E SMBOLOS

ANOVA -	Análise de Variância
EPPWON -	Estaco Experimental para Pesquisa Parasitolgica W.O. Neitz
UECE -	Universidade Estadual do Ceará
UFC -	Universidade Federal do Ceará
UFRRJ -	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
CAPÍTULO I Ritmo de queda de larvas e ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em condições experimentais	11
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	16
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Local de Execução.....	19
2.2 Hospedeiros.....	19
2.3 Ixodídeos.....	20
2.4 Ritmo de Queda de Larvas.....	21
2.5 Ritmo de Queda de Ninfas.....	21
2.6 Análise Estatística.....	21
3 RESULTADOS	22
4 DISCUSSÃO	32
CAPÍTULO II Poder infestante de larvas e ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) utilizando coelhos como hospedeiros experimentais	33
RESUMO	35
ABSTRACT	36
1 INTRODUÇÃO	37
2 MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1 Local de Execução.....	39
2.2 Hospedeiros.....	39
2.3 Obtenção de <i>Amblyomma cajennense</i>	39
2.4 Procedimento Laboratorial.....	39
2.5 Experimento I – Lavas.....	40
2.6 Experimento II – Ninfas.....	40
2.7 Parâmetros Analisados.....	41
3 RESULTADOS	42
4 DISCUSSÃO	44
CAPÍTULO III Diferenças biológicas em ninfas DE <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) e suas possíveis implicações na previsão dos sexos	46
RESUMO	49
ABSTRACT	50
1 INTRODUÇÃO	51
2 MATERIAL E MÉTODOS	53
3 RESULTADOS	54
3.1 Primeira Etapa.....	54
3.2 Segunda Etapa.....	55
4 DISCUSSÃO	57
CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

INTRODUÇÃO GERAL

Amblyomma cajennense, espécie distribuída nas Américas, é encontrada freqüentemente parasitando eqüinos e outros animais domésticos e silvestres, sendo considerado de pouca especificidade parasitária (ROBINSON, 1926; FLECHTMANN 1973). Sua importância está relacionada à transmissão de agentes patogênicos, como *Cowdria ruminantium* (UILENBERG, 1983), à irritação e expoliação sangüínea que provocam em seus hospedeiros. Apesar de existirem estudos que enfocam sua biologia e ecologia (ROHR, 1909; TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1944; SMITH, 1975) não existem dados precisos referentes a horários preferenciais de desprendimento do hospedeiro e a longevidade de larvas e ninfas, bem como o seu poder infestante. Assim, um dos objetivos do presente trabalho foi o de preencher estas lacunas nos estudo; referentes à biologia deste ixodídeo, nos capítulos I e II, respectivamente.

De modo similar, *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido como “carrapato vermelho do cão”, vem sendo objeto de intensos estudos acerca de sua bioecologia em nível mundial (WALKER, 1961; HEATH, 1979, 1981; KOCK; TUCK, 1986; MAHADEV, 1987). No Brasil, merecem destaque os trabalhos de Bechara et al. (1904), Carneiro e Daemon (1996), Sartor et al. (1996) e Bellato e Daemon (1997a, b). Entretanto, nenhum dos estudos, quer brasileiro ou de outros países, procurou verificar a relação entre o peso da ninfa ingurgitada e do período de pré-ecdise com o sexo do adulto. Portanto, o outro objetivo da presente tese foi verificar a eventual existência desta relação, descrito no capítulo III.

CAPÍTULO I

RITMO DE QUEDA DE LARVAS E NINFAS DE *Amblyomma* *cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Gaiola para manutenção dos coelhos.....	10
FIGURA 2. Local de permanência dos hospedeiros durante o experimento.....	11
FIGURA 3. Análise da % das ninfas recuperadas.....	16
FIGURA 4. Análise da % de larvas recuperadas.....	17
FIGURA 5. Análise da % de larvas que emergiram – ecdise das larvas.....	18
FIGURA 6. Análise da % de ninfa que emergiram – ecdise das ninfas.....	19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Período parasitária, percentual de recuperação, período de pré-ecdise, percentual de ecdise e período de ecdise das larvas, de <i>Amblyomma cajennense</i>	13
TABELA 2. Período parasitário, percentual de recuperação, período de pré-ecdise, percentual de ecdise e período de ecdise das ninfas, de <i>Amblyomma cajennense</i>	14
TABELA 3. Percentual de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> recuperadas, de acordo com a idade das larvas no primeiro e segundo dia de queda.....	20
TABELA 4. Percentual de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> recuepradas, de acordo com a idade das larvas no período diurno e noturno.....	21
TABELA 5. Percentual de ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> recuperadas, de acordo com a idade das larvas no primeiro e segundo dia de queda.	22
TABELA 6. Percentual de ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> recuperadas, de acordo com a idade das larvas no período diurno e noturno.....	22

RESUMO

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Ritmo de queda de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (Acari:Ixodidae) em condições experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

O experimento foi montado para avaliar o ritmo de queda de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* alimentadas em coelhos. Infestações foram feitas com larvas e ninfas em jejum com idades de 15 e 45 dias após eclosão e ecdise larval respectivamente. Três coelhos foram infestados com aproximadamente 825 larvas (50 mg de ovos) e 100 ninfas para cada idade totalizando 12 coelhos. Cada hospedeiro foi examinado nos horários de 8, 12, 16 e 24 horas e as larvas e ninfas desprendidas foram coletadas. Independente da idade e do instar, o maior número se desprendeu entre 8 e 16 horas: 73,6% e 72,8% para larvas com 15 e 45 dias após eclosão e 69,6% e 57,5% para ninfa. Com 15 e 45 dias após ecdise larval, respectivamente.

Palavras-chave: *Amblyomma cajennense*, Larvas, Ninfas, Ritmo de queda.

ABSTRACT

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Ritmo de queda de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (Acari:Ixodidae) em condições experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

The experiment was set up to measure the drop-off rhythm of larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* feeding on the rabbits as experimental hosts. Infestations were carried out with unfed larvae and nymphs aging 15 and 45 days post eclosion and host larval moulting, respectively. Three rabbits were infested with approximately 825 larvae (50 mg of eggs) and 100 nymphs for each age totaling 12 rabbits. Each host were examined at 8, 12, 16 and 24 hours and the dropped larvae and nymphs collected. Regardless of age and instar higher drop-off rhythm were observed from 8 to 16 hours: 73,6 and 72,8% larvae with 15 and 45 days post eclosion and 69,6 and 57,5 nymphs with 15 and 45 days post larval moulting, respectively.

Keywords: *Amblyomma cajennense*, Larval, Nymphs, Drop-of rhythm.

1 INTRODUÇÃO

O interesse pelo fenômeno fotoperiodismo data de longo tempo. Do artigo de Reinberg e Smolensky (1983) destacamos passagens anteriores ao século XX.

O astrônomo Francês, J.J. de Mairan, em 1729, foi o primeiro pensador a propor uma possível existência de um relógio biológico. Ele observou que uma planta provavelmente *Mimosa pudica*, continuava a abrir e fechar suas folhas num ciclo de 24 horas, mesmo quando colocada em escuridão total. Du Monceau, em 1759, demonstrou que o movimento das folhas de *M. pudica* não dependia de variações da temperatura ambiente.

A. de Camdolle em 1832 repetiu as observações na espécie *M. pudica* e constatou a persistência do ciclo de movimento das folhas e também demonstrou que na condição de escuridão constante a duração dos ciclos era de 22 a 23 horas, diferente do ciclo ambiental de 24 horas. Em 1880, Darwin escreveu que o movimento diário das folhas era uma propriedade inerente das plantas. Nessa mesma época Pfeffer, supôs que os movimentos observados em escuridão constante eram devido a vazamentos de luz; levando essa suposição para o laboratório, não conseguiu comprovar sua hipótese. O movimento tinha origem provavelmente em algum mecanismo endógeno (REINBERG; SMOLENSKY, 1983).

O assunto continuou merecendo atenção no século atual. As passagens que se seguem foram extraídas de Menna-Barreto e Fortunato (1988).

Bünning, em 1935, demonstrou a transmissão hereditária do ritmo do movimento do caule e das folhas do feijão, revelando a existência de duas linhagens distintas quanto ao período endógeno desse ritmo, uma com período de 23 horas e outro com período de 27 horas; a hibridização entre essas duas linhagens produziu uma terceira com ciclo de movimentos de 25 horas. Esses achados foram confirmados por Konopka e Benzer (1971) na mosca da fruta, *Drosophila melanogaster*, as quais produziram mutantes com ritmo circadiano de 19 e 28 horas.

Em 1963, Bünning demonstrou a capacidade dos organismos de medir o tempo, revelando que as plantas possuem reatividade variável em relação à luz, dependendo do

momento de exposição. Este fato deu origem ao reconhecimento do fenômeno do fotoperiodismo, que consiste na capacidade de avaliação da duração da fase de luz do ciclo claro/escuro (MENNA-BARRETO; FORTUNATO, 1988).

O reconhecimento do fenômeno do fotoperiodismo levou a formação de duas correntes de pensamento. A primeira defendia a tese de que embora não controlados diretamente por ciclos de luz, os ritmos circadianos deveriam ser exógenos e controlados por algum ritmo ambiental sutil que os organismos detectam; a segunda argumentava que os ritmos circadianos eram endógenos e regulados por um marcador biológico interno capaz de detectar a passagem do tempo (VILLEE et al., 1984).

As variações na intensidade de luz ambiental - dia, anoitecer, noite e amanhecer - podem exercer influência no desprendimento dos carrapatos (HOOKER, 1908). Pomerantzev e Alfeev (1935) estudaram a queda de fêmeas ingurgitadas de *Ixodes ricinus* em bovinos à campo e notaram que das 179 fêmeas, 172 desprenderam durante o dia. Smith (1945) observou que a maioria das ninfas de *I. dentatus* desprende-se durante o dia enquanto as larvas, à noite. Todos os estádios de *Hyalomma anatolicum anatolicum* desprenderam-se à noite, precisamente entre 21 e 23 horas (SERDYUKOCA, 1946). Balashov (1954) estudando o ritmo de queda de fêmeas de *I. persulcatus*, ingurgitadas em bovinos à campo, constatou que a quantidade maior de fêmeas desprende-se durante o dia. Esse autor sugeriu que o processo de queda é influenciado pelo estado fisiológico do hospedeiro. Hitchcock (1955) reportou que 64% das fêmeas de *Boophilus microplus* se desprenderam durante o dia.

Keisin e Lavrenenko (1956) confirmaram o trabalho de Pomerantzev e Alfeev (1935) e observaram que as fêmeas de *I. ricinus* mantinham-se ingurgitadas nos hospedeiros estabulados até estes serem colocados no pasto, independentes de terem sido colocados durante o dia ou à noite. Kitaoka (1962), trabalhando com *Haemaphysalis bispinosa*, especulou que o ciclo da luz é o primeiro fator que controla a alimentação e o ritmo de queda desse carrapato. George (1963) estudando o ritmo circadiano do desprendimento de fêmeas ingurgitadas de *H. leporispalustris* em coelhos apontou uma correlação de queda com a atividade do hospedeiro. Wharton e Utech (1969) constataram que toda a queda de fêmea de *B. microplus* ocorreu durante o dia. Hadani e Rechav (1969) trabalhando em condições de laboratório com *H. excavatum* e *Rhipicephalus sanguineus* na espécie *Meriones tristrami* ("Gerbil"), constataram que as larvas de ambas as espécies tiveram o pico de desprendimento as 14 e 16 horas respectivamente, enquanto que ninfas e fêmeas o pico ocorreu as 22 e 2 horas respectivamente, com ciclo de claro/escuro 14:10 horas.

Amin (1970), Hadani e Rechav (1970) e George (1971), trabalhando com *Dermacentor variabilis*, *H. excavatum* e *H. leporispalustris*, respectivamente, observaram que existe um sincronismo no ritmo de queda desses carrapatos, envolvendo o ciclo do fotoperíodo e o ciclo hormonal do hospedeiro.

Hadani e Ziv (1974) apontaram fatores endógenos, ligados ao hospedeiro, como o principal regulador do desprendimento dos estádios pré-imaginais de *H. excavatum*. Fatores exógenos, tais como a luz e o pré-condicionamento fotoperiódico do hospedeiro, levaram a alterações no ritmo de queda, porém de pouca magnitude.

Rechav (1978) utilizando vários regimes de luz e escuro para os hospedeiros (coelhos) e para as formas imaturas de *A. hebraeum*, constatou que larvas e ninfas desse carrapato se desprenderam de seus hospedeiros, principalmente no final do fotoperíodo e início do escuro. Este autor concluiu que o ritmo de queda das formas imaturas era regulado pelo ritmo circadiano do carrapato e a luz era o fator que mais afetou este ritmo.

Minshull (1982) afirmou que, para larvas, ninfas e adultos de *R. appendiculatus*, o ritmo de queda foi regulado pela luminosidade e/ou elevação da temperatura, os quais, por sua vez, agiriam tanto sobre o carrapato quanto sobre o hospedeiro. Admitiu ainda que o pré-condicionamento do carrapato ao fotoperíodo na fase não parasitária poderia ter influência sobre o ritmo de queda.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de Execução

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal, na Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica W.O. Neitz (EEPPWON) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no período de abril a julho de 1996. O estudo da fase parasitária foi realizado em condições ambientais e o da fase não parasitária em condições controladas no Laboratório de Ixodologia da EEPPWON.

2.2 Hospedeiros

Oryctolagus cuniculus (L., 1758), coelhos mestiços Califórnia x Nova Zelândia, com idade entre 60 e 90 dias, de ambos os sexos, com peso inicial entre 1,5 a 2,1 kg, provenientes do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, sem contato prévio com carrapatos foram utilizados. Os animais foram mantidos durante o experimento em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial para coelhos e água à vontade (Figuras 1 e 2).

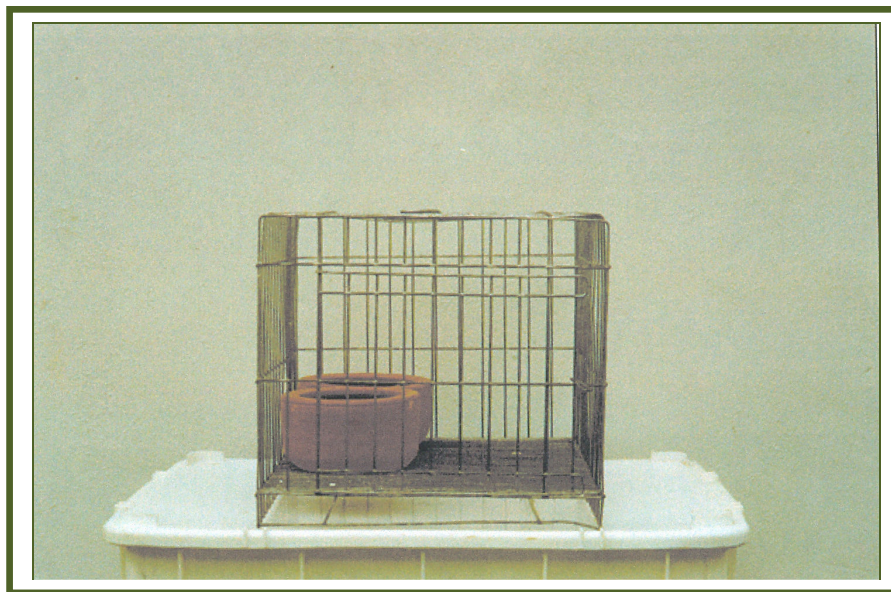


Figura 1 – Gaiola para manutenção dos coelhos.



Figura 2 – Local de permanência dos hospedeiros durante o experimento.

2.3 Ixodídeos

Foram utilizadas as posturas de 20 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense*, coletadas de cavalos (*Equus caballus*), mantidos no Campus da UFRRJ, naturalmente infestados e sem contato recente com carrapaticida. Após a coleta, as fêmeas foram limpas, identificadas, pesadas e fixadas no fundo das placas de Petri com esparadrapo e mantidas em câmara climatizada regulada à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 10\%$ e em escotofase. As condições da câmara climatizada foram conferidas diariamente através de termohigrômetro. Os ovos de cada fêmea foram coletados diariamente após o início da postura. Estes foram reunidos em uma placa de Petri, homogeneizados e agrupados em alíquotas de 50 mg, aproximadamente 825 larvas segundo Prata e Daemon (1997); em seguida, foram acondicionados em seringas plásticas descartáveis, cortadas próximo ao canhão, fechadas com o próprio embolo e com tampa de algodão, identificadas e mantidas nas mesmas condições controladas descritas para as fêmeas ingurgitadas.

2.4 Ritmo de Queda de Larvas

Larvas com 15 dias após o término do processo de eclosão e proveniente de seringas com estimativa de 100% de eclosão foram utilizadas para infestar três coelhos pela técnica do saco de pano aderido a base das orelhas, segundo Neitz et al., (1971). Cada animal recebeu 825 larvas, perfazendo um total de 2.475 larvas. Esta mesma metodologia foi repetida para larvas com 45 dias de jejum. As larvas ingurgitadas foram coletadas nos horários de 8, 12, 16 e 24 horas, colocadas em número de 100 larvas por frasco de vidro e em seguida, acondicionadas em câmara climatizada (BOD) a 27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ de umidade relativa. Essas larvas foram observadas diariamente até a ecdise.

2.5 Ritmo de Queda de Ninfas

Um grupo de três coelhos foi infestado de ninfas com 15 e 45 dias pós-ecdise, pela mesma técnica descrita acima. Cada coelho recebeu 100 ninfas, perfazendo um total de 300 ninfas. O horário das coletas e o tratamento das ninfas ingurgitadas foi o mesmo descrito para o experimento com larvas.

2.6 Análise Estatística

Os percentuais de larvas e ninfas de 15 e 45 dias de idade recuperadas, nos períodos de observação diurno e noturno, foram analisados como dispersão de frequência, através do teste de Qui-quadrado. O nível de significância adotado foi de 5% e os resultados foram expressos como porcentagem do total de larvas e ninfas avaliadas.

A análise de variância foi executada com delineamento em blocos ao caso, no qual os coelhos representaram o fator controle e os períodos parasitários médios, percentuais de recuperação, períodos de pré-ecdise e ecdise de larvas e ninfas foram avaliados em função das idades (dias) dos indivíduos analisados. Em virtude do teste de Levene ter mostrado heterogeneidade nas variâncias residuais, o teste de Tamhane foi aplicado para comparar os períodos médios de pré-ecdise e ecdise entre as diferentes idades de larvas e ninfas. O nível de significância adotado foi de 5% e os períodos de pré-ecdise e ecdise foram expressos como média \pm desvio padrão.

3 RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta os resultados referentes ao período parasitário, percentual de recuperação, período de pré-ecdise, percentual de ecdise e período de ecdise das larvas.

Tabela 1. Período parasitário, percentual de recuperação, período de pré-ecdise, percentual de ecdise e período de ecdise das larvas de *Amblyomma cajennense*.

Idade das Larvas	Período Parasitário (dias)		Larvas Recuperadas (%)	Período de Pré-ecdise (dias)	Ecdise (%)	Período de Ecdise (dias)
	Min.	Máx.				
0 – 4 dias	4	9	45,2	9,8 ± 0,4 ⁽¹⁾	99,5	6,3 ± 1,0
15 dias	4	6	91,1	10,2 ± 0,4	99,6	3,5 ± 1,2
30 dias	4	6	94,9	9,8 ± 0,4	98,6	3,9 ± 0,9
45 dias	4	6	70,8	9,5 ± 0,8	99,0	4,4 ± 1,1 ⁽²⁾
60 dias	4	6	83,3	10,3 ± 0,5	98,6	4,6 ± 0,9 ⁽³⁾
75 dias	4	7	67,4	9,9 ± 0,5 ⁽¹⁾	98,3	2,8 ± 0,4
90 dias	3	5	43,6	9,2 ± 0,4	88,9	4,3 ± 0,6 ⁽²⁾
105 dias	3	5	32,9	9,4 ± 0,8	95,2	3,7 ± 0,6 ⁽¹⁾
120 dias	3	5	20,8	9,1 ± 0,2 ⁽²⁾	94,4	4,1 ± 1,4
135 dias	3	6	8,7	10,4 ± 0,6	86,1	4,7 ± 0,8 ⁽³⁾
150 dias	3	5	10,0	9,0 ± 0,6 ⁽²⁾	83,5	3,7 ± 0,5 ⁽¹⁾

Valores seguidos pelos mesmos números entre parênteses não diferem significativamente ($p > 0,05$).

O período parasitário máximo foi de nove dias (larvas com idade de zero a quatro dias) e o mínimo de três dias (larvas com idade igual ou maior do que 90 dias).

O período parasitário de maior amplitude, de quatro a nove dias, foi verificado para as larvas mais jovens, com idade aproximada de zero a quatro dias.

Do total de 27.225 larvas implantadas, 51,7% foram recuperadas. O maior percentual de emergência (94,9%) ocorreu naquelas com idade de 30 dias.

De um total de 14.073 larvas recuperadas, 97,1% emergiram, sendo o maior percentual de emergência (99,6%) observado nas larvas com idade de 15 dias.

O período médio de pré-ecdise das larvas foi significativamente mais elevado naquelas com 15, 60 e 135 dias de idade. Contudo, não foi observada tendência de elevação ou redução associável à idade das larvas s casos.

O período médio de ecdise das larvas com idade variando entre zero e quatro dias foi significativamente superior ao observado nas demais idades ($p < 0,05$). Por outro lado, os períodos médios de ecdise das larvas idades de 15 até 150 dias variaram amplamente, fenômeno semelhante ao ocorrido com o período de pré-ecdise. Também nesse caso não foi possível estabeleceu relação com a idade das larvas.

A Tabela 2 apresenta os resultados referentes ao período parasitário (dias), percentual de recuperação, do de pré-ecdise, percentual de ecdise e período de ecdise das ninfas.

Tabela 2 - Período parasitário, percentual de recuperação, período de pré-ecdise, percentual de ecdise e do de ecdise das ninfas, de *Amblyomma cajennense*.

Idade das Ninfas	Período Parasitário (dias)		Larvas Recuperadas (%)	Período de Pré-ecdise (dias)	Ecdise (%)	Período de Ecdise (dias)
	Min.	Máx.				
	0 – 2 dias	4	7	76,7	$16,4 \pm 0,6^{(5)}$	99,6
15 dias	3	5	93,3	$16,4 \pm 1,1^{(5)}$	100,0	$4,0 \pm 1,0^{(1)}$
30 dias	3	6	92,0	$15,8 \pm 0,6^{(4)}$	99,6	$4,5 \pm 1,2^{(2)}$
45 dias	3	6	85,3	$17,3 \pm 0,9$	94,9	$3,9 \pm 1,3^{(1)}$
60 dias	3	5	89,7	$16,1 \pm 2,3^{(4)(5)}$	97,4	$6,2 \pm 2,0^{(3)}$
75 dias	3	5	87,0	$14,0 \pm 0,1^{(3)}$	95,0	$5,9 \pm 0,8^{(3)}$
90 dias	4	5	69,7	$14,4 \pm 0,5$	100,0	$5,1 \pm 0,7^{(2)}$
105 dias	3	5	64,0	$13,8 \pm 0,4^{(2)(3)}$	97,4	$3,4 \pm 0,5$
120 dias	3	5	61,0	$13,1 \pm 0,3^{(1)}$	99,4	$5,0 \pm 1,3^{(2)}$
135 dias	4	6	26,7	$13,7 \pm 1,1^{(2)(3)}$	97,5	$4,3 \pm 1,8^{(1)(2)}$
150 dias	4	5	9,0	$14,1 \pm 0,4^{(3)}$	100,0	$2,7 \pm 0,6$
165 dias	4	5	5,3	$13,4 \pm 0,5^{(1)(2)}$	100,0	$1,4 \pm 0,5$

Valores seguidos pelos mesmos números entre parênteses não diferem significativamente ($p > 0,050$).

O período parasitário máximo foi de sete dias (ninfas com idade de zero a quatro dias) e o mínimo de três dias (ninfas com idade variando de 15 a 120 dias). O período parasitário de maior amplitude, de quatro a sete dias, foi verificado para as ninfas mais jovens, com idade aproximada de zero a quatro dias.

Do total de 3.600 ninfas implantadas, 76,7% foram recuperadas. O maior percentual de ninfas recuperadas (93,3%) ocorreu naquelas com idade de 15 dias.

De um total de 2.279 ninfas recuperadas, 98,1% emergiram. Percentuais de emergência de 100,00% foram observados naquelas com idade de 15, 90, 150 e 165 dias.

O período médio de pré-ecdise das ninfas foi significativamente maior para aquelas com 45 dias de idade, quando comparadas com as demais faixas etárias ($p < 0,05$). Entretanto, esse período também se mostrou elevado nas ninfas com idade variando de zero até 60 dias de idade. De um modo geral, foi verificada tendência de redução do período médio de pré-ecdise de ninfas naquelas com idade igual ou superior a 75 dias.

O período médio de ecdise das ninfas foi significativamente maior para aquelas com 60 e 75 dias de idade, quando comparadas com as demais faixas etárias ($p < 0,05$). Observou-se que o período médio de ecdise de ninfas foi menor nas ninfas mais jovens, de até 45 dias, e também naquelas com idade igual ou superior a 135 dias.

Análises de regressão do percentual de larvas recuperadas em função da idade das larvas permitiram a construção de uma curva de tendência polinomial de terceiro grau, descrita como $Y = 0,0001X^3 - 0,0391X^2 + 2,2173X + 52,8490$ ($R^2 = 0,937$), na qual Y representa o percentual de larvas recuperadas e X a idade das larvas em dias (Figura 3).

As análises de regressão do percentual de ninfas lecupeizadas em função da idade das ninfas demonstraram que o fenômeno pode ser representado pela equação $Y = -0,01X^2 + 0,44X + 81,95$ ($R^2 = 0,959$), onde Y é o percentual de ninfas recuperadas e X a idade (dias) das ninfas (Figura 4).

O mesmo procedimento foi ainda realizado para dimensionar o efeito da idade das larvas sobre o percentual de larvas emergentes. Nesse caso, foi demonstrado que a curva com maior capacidade de explicar a variação observada pode ser descrita como $Y = -0,0008X^2 + 0,0287X + 99,0592$ ($R^2 = 0,804$), onde Y corresponde ao percentual de larvas emergentes e X a idade das larvas em dias (Figura 5).

Foram avaliadas várias linhas de tendência com o objetivo de descrever a variação apresentada no percentual de ninfas emergentes em função da idade das ninfas. Contudo, nenhum dos modelos estudados apresentou ajuste satisfatório (Figura 6).

Na relação entre a % de Ninfas Recuperadas e idade das Ninfas, nota-se:

Para uma dada idade (dias) da Ninfa (X) o valor esperado da % de Ninfas Recuperadas (Y) é estimada por:

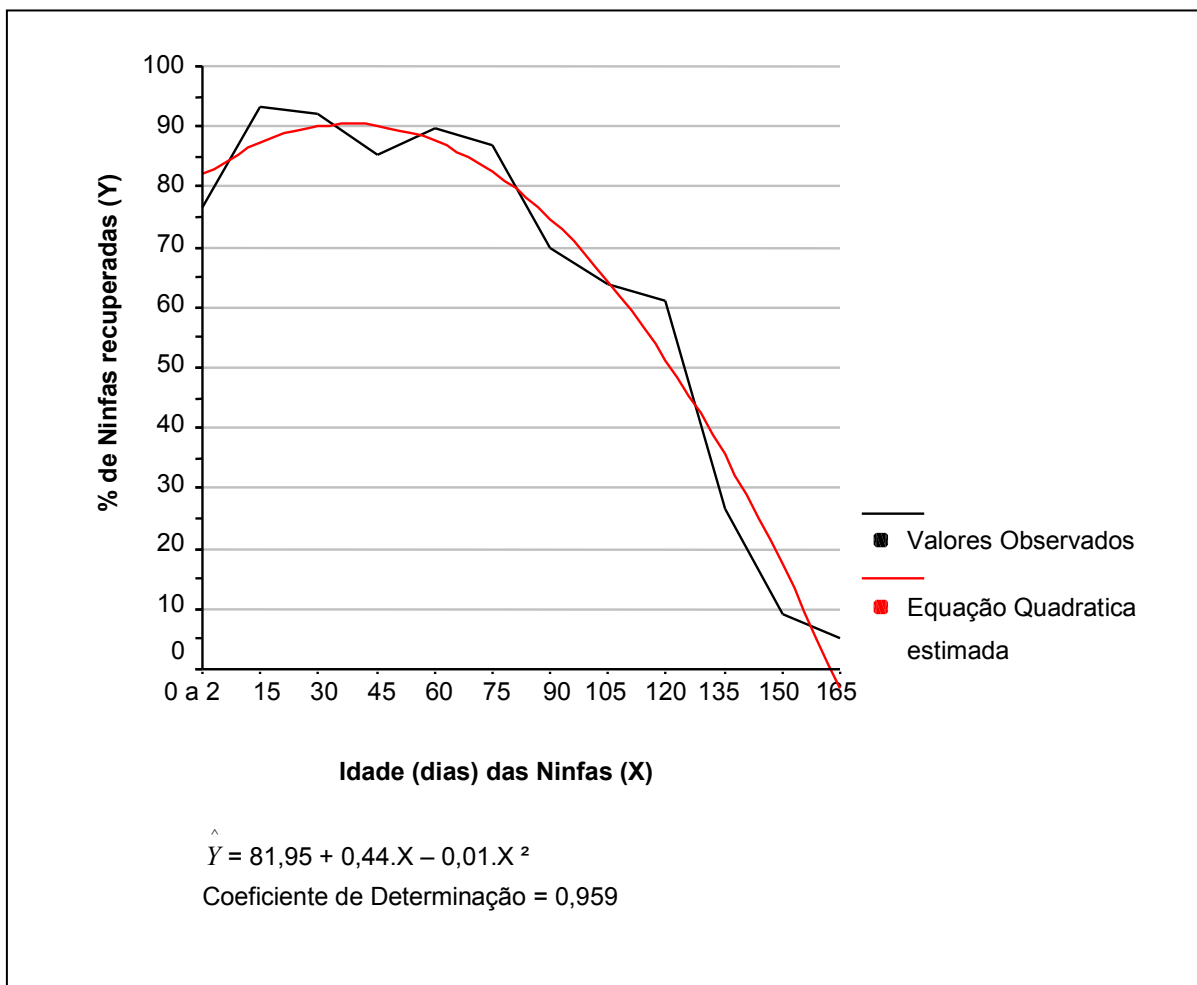


Figura 3 – Análise da % das ninfas recuperadas.

$$\hat{Y} = 81,9459 + 0,4430.X - 0,0058.X^2$$

com um coeficiente de determinação igual a 0,959.

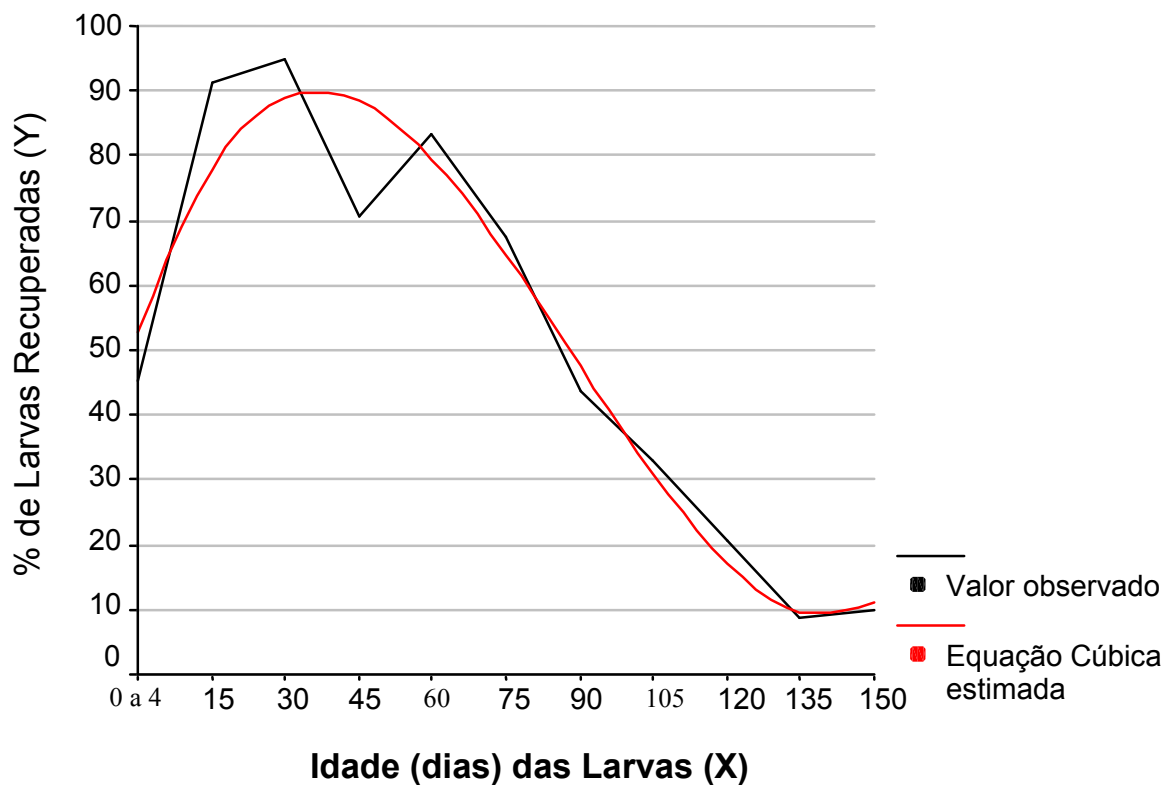
Isto é, para uma dada idade da ninfa estima-se que a % de ninfas recuperadas seja:

$$\hat{y} = 81,9459 + 0,4430.X - 0,0058.X^2$$

Coefficiente de determinação igual a 0,959, ou seja, a variação da idade das Ninfas explica em 0,959 a variação da % de ninfas recuperadas.

Exemplo, se uma larva possui $x = 15$ dias então, espera-se pela relação ajustada (relação polinomial de 2º grau) que a percentagem de ninfas recuperadas (y) seja 87,3%.

Na relação entre a % de larvas recuperadas e idade das larvas, nota-se:



$$\hat{Y} = 52,8490 + 2,2173.X - 0,0391.X^2 + 0,0001.X^3$$

Coefficiente de Determinação = 0,937

Figura 4 – Análise da % de larvas recuperadas.

Para uma dada idade (dias) da larva (X) o valor esperado da % de Larvas Recuperadas (Y) é estimada por:

$$\hat{Y} = 52,8490 + 2,2173.X - 0,0391.X^2 + 0,0001.X^3$$

Com um coeficiente de determinação igual a 0,937.

Isto é para uma dada idade da larva estima-se que a % de larvas recuperadas seja:

$$\hat{Y} = 52,8490 + 2,2173.X - 0,0391.X^2 + 0,0001.X^3$$

Coeficiente de determinação igual a 0,937, ou seja, a variação da idade das larvas explica em 0,937 a variação da % de larvas recuperadas.

Exemplo: se uma larva possui $x = 15$ dias, então, espera-se pela relação ajustada (relação polinomial de 3º grau) que a percentagem de larvas recuperadas (y), seja 78,2%.

Na relação da % de larvas que emergiram em função da idade das larvas, nota-se:

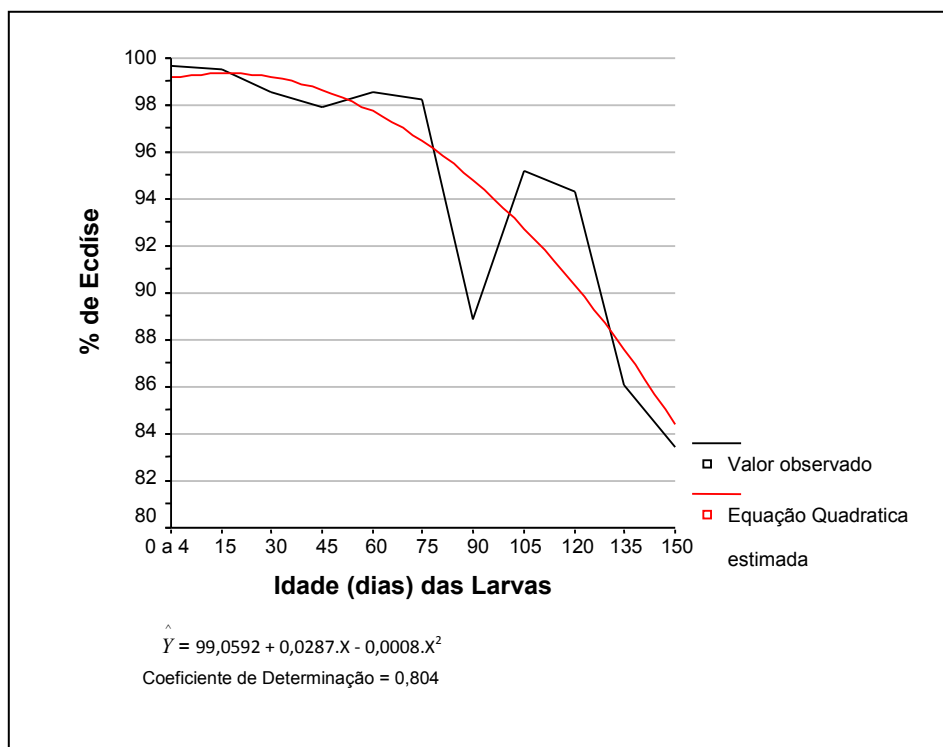


Figura 5 – Análise da % de larvas que emergiram – ecdise das larvas.

Isto é, para uma dada idade da larva estima-se que, das larvas recuperadas, a % de larvas que emergem seja:

$$\hat{Y} = 99,0592 + 0,0287.X - 0,0008.X^2$$

Coefficiente de determinação igual a 0,804, ou seja, a variação da idade das larvas explica em 0,804 a variação da % de larvas que emergem.

Exemplo: se uma larva possui $x = 15$ dias, então, espera-se pela relação ajustada (relação polinomial de 2º grau) que, das larvas recuperadas, a percentagem de larvas que emergem (y) seja 99,3%.

Nota: Para as larvas de 15 dias se estima que 99,3% das larvas = 77,7% das larvas irão emergir.

Na relação da % de ninfa que emergiram em função da idade das ninfas nota-se:

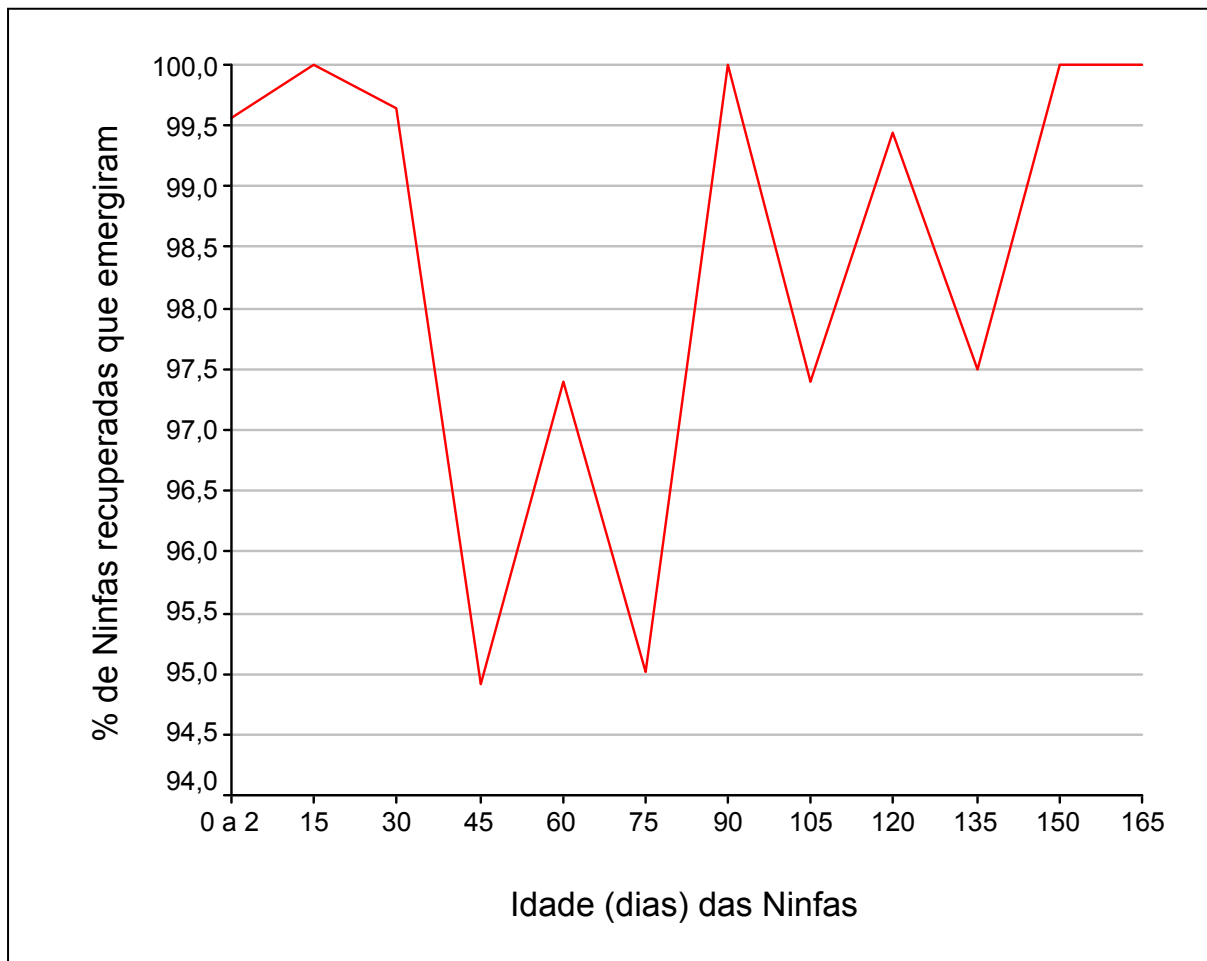


Figura 6 – Análise da % de ninfa que emergiram – ecdise das ninfas.

Várias foram as curvas que foram ajustadas, e em nenhuma delas verificou um bom ajuste.

Observando o gráfico na página anterior, parece existir em função da idade das ninfas uma relação sazonal no período de 30 dias com tendência crescente.

Como se encontra demonstrado na Tabela 3, o percentual de larvas recuperadas variou com os dias de observação, sendo ainda influenciado pela idade das larvas.

Nas larvas de 15 dias, o percentual de recuperação foi significativamente mais elevado no segundo dia de observação, quando comparado ao primeiro e ao terceiro. O menor percentual de recuperação foi observado no terceiro dia.

Também nas larvas de 45 dias, o percentual de recuperação foi significativamente mais elevado no segundo dia de observação. No entanto, nesse caso não houve diferença significativa entre os dias um e três em relação ao percentual de larvas recuperadas.

As comparações entre faixas etárias revelaram que o percentual de larvas não recuperadas foi significativamente mais elevado naquelas de 45 dias de idade, quando comparadas àquelas com 15 dias. Os percentuais de recuperação nos dias 1 e 2 foram mais elevados nas larvas de 15 dias. Já o percentual de recuperação no terceiro dia foi significativamente mais elevado nas larvas de 45 dias.

Verifica-se, portanto, que o percentual de larvas recuperadas foi significativamente mais elevado no segundo dia de observação, independentemente da idade das larvas.

Tabela 3 – Percentual de larvas de *Amblyomma cajennense* recuperadas, de acordo com a idade das larvas no primeiro e segundo dia de queda.

	DIAS / (%)	
	Larvas de 15 dias	Larvas de 45 dias
Não fixadas	8.89 (220/2.475) Bc	29.17 (722/2.475) Ab
Recuperadas no dia 1	13.94 (345/2.475) Ab	7.96 (197/2.475) Bc
Recuperadas no dia 2	73.05 (1.808/2.475)Aa	54.59 (1.351/2.475)Ba

Observações:

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas entre colunas (idade das larvas).

Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas entre linhas (dias de observação).

A tabela 4 mostra a distribuição dos percentuais de larvas recuperadas em função do período de observação. Verifica-se que, para ambas as faixas de idade, o percentual de recuperação foi mais elevado no período diurno, quando comparado ao noturno. O percentual de recuperação foi mais elevado em larvas de 15 dias, independentemente do período de observação. Em oposição, houve maior percentual de larvas não fixadas no grupo com 45 dias de idade.

Tabela 4 – Percentual de larvas de *Amblyomma cajennense* recuperadas, de acordo com a idade das larvas no período diurno e noturno.

	DIAS / (%)	
	Larvas de 15 dias	Larvas de 45 dias
Não fixadas	8.89 (220/2.475) Bc	29.17 (722/2.475) Ab
Recuperação diurna	67.07 (1.660/2.475) Aa	51.56 (1.276/2.475) Ba
Recuperação noturna	24.04 (595/2.475)Ab	19.27 (477/2.475)Bc

Observações:

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas entre colunas (idade das larvas).

Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas entre linhas (dias de observação).

Como se encontra demonstrado na Tabela 5, da mesma forma como ocorreu com as larvas, o percentual de ninfas recuperadas variou com os dias de observação e foi influenciado pela idade das ninfas.

Nas ninfas de 15 dias, o percentual de recuperação foi significativamente mais elevado no primeiro dia de observação, quando comparado ao segundo e ao terceiro. O percentual de recuperação apresentou redução com o avanço dos dias de observação, com o menor percentual sendo observado no terceiro dia.

Nas ninfas de 45 dias, o percentual de recuperação fio significativamente mais elevado no segundo dia de observação. De modo semelhante ao que ocorreu com as ninfas de 15 dias, o menor percentual de recuperação foi observado no terceiro dia.

As comparações entre faixas etárias revelaram que o percentual de ninfas não recuperadas foi significativamente mais elevado naquelas de 45 dias de idade, quando comparadas àquelas com 15 dias. O percentual de recuperação no dia 1 foi mais elevado nas

ninfas de 15 dias. Já os percentuais de recuperação no segundo e terceiro dias foram significativamente mais elevados nas ninfas de 45 dias.

Tabela 5 – Percentual de ninfas de *Amblyomma cajennense* recuperadas, de acordo com a idade das larvas no primeiro e segundo dia de queda.

	DIAS / (%)	
	Ninfas de 15 dias	Ninfas de 45 dias
Não fixadas	6.67 (20/300) Bc	14.67 (44/300) Ac
Recuperadas no dia 1	53.67 (161/300) Aa	33.33 (100/300) Bb
Recuperadas no dia 2	39.00 (117/300) Bb	48.33 (145/300) Aa
Recuperadas no dia 3	0.67 (2/300) Bb	3.67 (11/300) Ad

Observações:

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas entre colunas (idade das larvas).

Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas entre linhas (dias de observação).

A tabela 6 mostra a distribuição dos percentuais de ninfas recuperadas em função do período de observação. Verifica-se que, para ambas as faixas de idade, o percentual de recuperação foi mais elevado no período diurno, quando comparado ao noturno.

O percentual de recuperação diurna de ninfas foi mais elevado nas de 15 dias quando comparadas com as de 45 dias, ao passo que as de 45 dias apresentaram maior percentual de recuperação no período noturno, quando comparadas às de 15 dias. Houve maior percentual de ninfas não fixadas no grupo com 45 dias de idade.

Tabela 6 – Percentual de ninfas de *Amblyomma cajennense* recuperadas, de acordo com a idade das larvas no período diurno e noturno.

	DIAS / (%)	
	Ninfas de 15 dias	Ninfas de 45 dias
Não fixadas	6.67 (20/300) Bc	14.67 (44/300) Ac
Recuperação diurna	65.00 (195/300) Aa	49.00 (147/300) Ba
Recuperação noturna	28.33 (85/300) Bb	36.33 (109/300) Ab

Observações:

Letras maiúsculas distintas representam diferenças significativas entre colunas (idade das larvas).

Letras minúsculas distintas representam diferenças significativas entre linhas (dias de observação).

4 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste experimento indicaram que larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* se desprenderam dos hospedeiros, principalmente durante o dia, independentemente da idade das mesmas. Esse padrão de queda é semelhante ao observado por Rechav (1978) para larvas e ninfas de *Amblyomma hebraeum*, parasitas de bovinos.

Embora esse autor seja adepto de que o fotoperíodo é o fator mais importante que age no carrapato, controlando o ritmo de queda do mesmo, o desprendimento durante o período de luz, não comprova que só o fotoperíodo tenha influenciado na queda, também poderia estar relacionado com os hábitos dos hospedeiros dessa espécie de carrapato, bovinos. *Amblyomma cajennense* em todos os seus estádios é principalmente parasito de cavalo, o qual tem atividade diurna, coincidindo assim, a queda desses estádios, com a atividade do hospedeiro. Correlação similar foi encontrada para os picos de queda de *Ixodes ricinus* parasitos de bovinos (POMERANTEZEV; ALFEEV, 1935; KEISIN; LAVRENENKO, 1956).

O desprendimento de larvas e ninfas, principalmente no final da tarde e começo da noite, impede a dessecação, aumenta a densidade da população no pasto e possibilita o próximo estádio encontrar o hospedeiro (DOUBE, 1975). Esta justificativa não se adequa ao comportamento de *Amblyomma cajennense*, pois a maioria das larvas e ninfas se desprenderam dos coelhos, no período mais quente do dia.

A revisão da literatura pertinente deixou claro que não existe uma unanimidade quanto a importância do fotoperíodo como único fator abiótico regulador do ritmo de queda dos carrapatos; outros fatores exógenos e endógenos poderiam estar envolvidos. Deste modo, o desprendimento dos carrapatos de seus hospedeiros precisa ser mais e melhor investigado, a fim de que se possa determinar com acuidade a importância relativa de cada um.

CAPÍTULO II

PODER INFESTANTE DE LARVAS E NINFAS DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) UTILIZANDO COELHOS COMO HOSPEDEIROS EXPERIMENTAIS

LISTA DE TABELAS

- TABELA 7. Mortalidade, período parasitário, recuperação, período de pré-ecdise, período de ecdise e percentagem de ecdise de larvas de *Amblyomma cajennense* em diferentes idades, obtidas de tubos com 100% de eclosão e alimentadas em coelhos..... 33
- TABELA 8. Mortalidade, período parasitário, recuperação, período de pré-ecdise, período de ecdise e percentagem de ecdise de ninfas de *Amblyomma cajennense* em diferentes idades, obtidas de tubos com 100% de eclosão e alimentadas em coelhos..... 34

RESUMO

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Poder infestante de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (Acari:Ixodidae) utilizando coelhos como hospedeiros experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

O experimento teve como objetivo avaliar o efeito da idade sobre a fixação de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense*, usando o coelho como hospedeiro. Infestações foram feitas com larvas com períodos de jejum de zero a 4 até 150 dias após eclosão e ninfas em jejum variando de zero a 2 até 165 dias após ecdise larval. Um total de 11 e 12 infestações para larvas e ninfas respectivamente, com intervalos de 15 dias foram acompanhados. Três coelhos foram infestados com 825 larvas e 100 ninfas por coelhos e para cada tratamento. Larvas e ninfas com zero a 4 dias após eclosão e zero a 2 dias após ecdise larval se fixaram e se alimentaram, com taxas de recuperação de 45 e 77% respectivamente. Taxas de recuperação alta para larvas (> 70%) foi observado para 15 até 60 dias após eclosão. Entretanto a partir daí começou a decrescer para 25% até 150 dias pós-eclosão. As taxas de recuperação foram altas para ninfas com 15 até 90 dias pós-ecdisc (> 80%). Então, começou a decrescer para 36% até 165 dias. Os períodos de pré-ecdisc, de ecdise e as percentagens de ecdise foram estáveis para todas as idades estudadas. Quando o período de pré-ecdisc é analisado nota-se um encurtamento conforme as ninfas se tornam mais velhas; ao contrário este período foi similar para larvas de todas as idades.

Palavras-chave: *Amblyomma cajennense*, Larva, Ninfa, Infestações, Coelhos.

ABSTRACT

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Poder infestante de larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (Acari:Ixodidae) utilizando coelhos como hospedeiros experimentais.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

The experiment was set up to evaluate the effect of age on the attachment of larvae and nymphs of *Amblyomma cajennense* using the rabbit as experimental host. Infestations were carried out with unfed larvae aging from 0-4 to 150 days post-eclosion and unfed nymphs aging from 0-2 to 165 days post-larval moulting. A total of 11 and 12 infestations respectively for larvae and nymphs with 15 days interval were monitored. Three rabbits were infested with 825 larvae and 100 nymphs per rabbit at each interval. Larvae and nymphs with 0-2 day post-eclosion and post larval moulting were able to attach and feed at rates of 45 and 77%. Higher attachment rates for larva (> 70%) were observed from days 15 to 60 post eclosion. Then, start to decrease until 25% at 150 days post-eclosion. Higher attachment rates for nymphs were observed from days 15 to 90 post moulting (> 80%). Then, start to decrease until 36% at 165 days. The periods of attachment and ecdysis, and the percentage of ecdysis were similar for both stages regardless the age prior attachment. When the period of pre-ecdisis is analyzed one might note a shortening as the nymphs because older whereas it was similar for larvae in ali evaluated ages.

Keywords: *Amblyomma cajennense*, Larval, Nymphs, Infestations, Rabbit.

1 INTRODUÇÃO

Os únicos estudos sobre o poder infestante e longevidade de *Amblyomma cajennense* parecem ser os de Olivieri e Serra Freire (1984a, b). No primeiro trabalho (1984a), utilizando coelhos como hospedeiros, os autores observaram que as larvas foram capazes de “resistir a um jejum de até cinco meses”, sem, entretanto quantificar os percentuais de sobrevivência ao longo deste período; do mesmo modo, referiram-se à capacidade infestante de larvas daquela idade, sem caracterizar os percentuais de recuperação de larvas ingurgitadas. Constataram, entretanto, pequenas oscilações nos percentuais de ecdise de larvas ingurgitadas. No estudo seguinte (1984b) verificaram que a idade das ninfas tem influência sobre os períodos de pré-ecdise e ecdise, não fazendo referências ao período parasitário. A idade máxima das ninfas utilizadas pelos autores foi de 106 dias.

Artigos sobre outras espécies de carrapatos que não *Amblyomma cajennense* são escassos.

Fonseca (1935), estudando a biologia da espécie *A. striatum* observou que as larvas nos primeiros dias de vida não se alimentaram, somente se fixaram a partir do 6º dia de jejum e as ninfas, três dias após sua ecdise.

Srisvastava e Varma (1964), estudando a biologia de *Rhipicephalus sanguineus*, verificaram que larvas com menos de sete dias de vida foram incapazes de se fixarem ao hospedeiro (ratos), enquanto as ninfas fixaram-se com quatro dias após a ecdise. Para adultos, a idade mínima para a fixação, tanto de machos quanto de fêmeas, foi de sete dias. Os autores verificaram ainda um aumento no período parasitário e redução no percentual de recuperação de larvas ingurgitadas conforme estas se tornavam mais velhas. Não foram relatadas observações sobre estes aspectos em ninfas e adultos.

Gladney et al. (1970), reportaram que a percentagem de fixação de larvas de *Amblyomma americanum* com um dia de jejum foi de 2%, sendo que cerca de 70% das larvas com idade igual ou maior que quatro dias se fixaram e se alimentaram. Para ninfas, observaram cerca de 20% de fixação 24 horas após a ecdise; este percentual foi sendo maior a

cada intervalo de 24 horas, atingindo 88% sete dias após a ecdise.

Davey (1987), utilizando bovinos, constatou que mais de 70% de larvas de *Boophilus microplus*, só se fixaram após terem idade mínima de quatro dias.

Laranja (1979), estudando o poder infestante de larvas de *Boophilus microplus* com diferentes idades, constatou um decréscimo na produção de fêmeas ingurgitadas conforme avançava a idade das larvas; entretanto, o autor não constatou perda do potencial reprodutivo das fêmeas oriundas de larvas mais velhas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Local de Execução

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal, na Estação Experimental para Pesquisa Parasitológica W.O. Neitz (EPPWON) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) no período de abril a dezembro de 1996.

2.2 Hospedeiros

Foram utilizados coelhos da espécie *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758), mestiços de Califórnia x Nova Zelândia, com idade entre 60 e 90 dias, de ambos os sexos, com peso inicial entre 1,5 a 2,1 kg, provenientes do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, sem contato prévio com carrapatos ou produtos carrapaticidas. Os animais foram mantidos durante o experimento em gaiolas individuais, em condições ambientais. Todos os animais receberam ração comercial para coelhos e água à vontade.

2.3 Obtenção de *Amblyomma cajennense*

Foram utilizadas as posturas de 20 fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*, coletadas de cavalos (*Equus caballus*), naturalmente infestados no Campus da UFRRJ.

2.4 Procedimento Laboratorial

Após a coleta, as fêmeas foram limpas, pesadas, identificadas, fixadas no fundo da placa de Petri com esparadrapo e acondicionadas em câmara climatizada BOD, regulada à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $80 \pm 10\%$ e escotofase.

Uma vez detectado o início da postura, as massas de ovos foram coletadas diariamente, homogeneizadas, pesadas em alíquotas de 50 mg (aproximadamente 825, segundo Prata e Daemon, 1997) em balança analítica e transferidas para seringas descartáveis, cortadas próximo ao canhão, fechadas com o próprio embolo e com tampa de algodão, identificadas e mantidas nas mesmas condições controladas descritas para fêmeas ingurgitadas. Observou-se o início da eclosão e foram feitas estimativas de eclodibilidade.

2.5 Experimento I - Larvas

Somente larvas obtidas de tubos com 100% de eclosão foram utilizadas. Larvas com 0-4, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias de jejum pós-eclosão foram inoculadas no pavilhão auricular de coelhos, de acordo com a técnica de Neitz et al. (1971). O limite de 150 dias foi o último intervalo de 15 dias ainda com larvas vivas. Utilizou-se grupos de três coelhos para cada idade. Cada coelho recebeu 825 larvas, perfazendo um total de 2.475 larvas para cada idade dos carrapatos. Diariamente abria-se o saco de pano para observar a fixação das larvas, acompanhamento da alimentação e recuperação daquelas ingurgitadas. As larvas ingurgitadas recuperadas foram contadas e colocadas em número de 100 por frasco de vidro. Estes vidros foram acondicionados nas condições já mencionadas para fêmeas. Diariamente, as larvas foram observadas em microscópio estereoscópico para o acompanhamento dos processos biológicos da fase não parasitária.

2.6 Experimento II - Ninfas

Somente ninfas obtidas de tubos com 100% de ecdise foram utilizadas. Ninfas com 0-2, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135, 150 e 165 dias pós-ecdise, foram inoculadas no pavilhão auricular de coelhos, de acordo com a técnica descrita para larvas. O limite de 165 dias foi o último intervalo de 15 dias ainda com ninfas vivas.

Grupos de três coelhos foram utilizados para cada idade. Cada coelho recebeu 100 ninfas, perfazendo um total de 300 ninfas para cada idade de carrapatos. O tratamento e a metodologia usada foi a mesma para o experimento com larvas.

2.7 Parâmetros Analisados

Foram avaliados o período parasitário, o número de larvas recuperadas, períodos de pré-ecdise e de ecdise e os percentuais de ecdise para cada idade das larvas e ninfas. Quando necessário, os dados foram analisados estatisticamente através da Análise de Variância (ANOVA) seguida de teste de Tukey a nível de 5%.

3 RESULTADOS

Os parâmetros biológicos referentes a larvas podem ser vistos na Tabela 7. Constatou-se que até 90 dias após a eclosão todas as larvas estavam vivas. A partir daí teve início a mortalidade das mesmas. A mortalidade larval, em torno de 10% aos 105 dias, manteve-se neste patamar até 135 dias após a eclosão, havendo um acentuado aumento aos 150 dias. Aos 165 dias após a eclosão, não havia larvas vivas. Observou-se larvas com poder infestante em todos os tratamentos. Estes resultados estão de acordo com o encontrado por Olivieri e Serra Freire (1984a), que citaram a ocorrência de larvas de *Amblyomma cajennense* com poder infestante até cinco meses após a eclosão.

Tabela 7 – Mortalidade, período parasitário, recuperação, período de pré-ecdise, período de ecdise e percentagem de ecdise de larvas de *Amblyomma cajennense* em diferentes idades, obtidas de tubos com 100% de eclosão e alimentadas em coelhos.

Idade Aproximada (dias)	Mortalidade (%)	Período Parasitário		Total de Larvas Recuperadas (%)	Período de Pré-ecdise* X (dias)	Período de Ecdise X (dias)	Percentual de Ecdise
		Limites (dias)	Dia Modal				
0-4	0,0	4-9	5°	1.116 (45,1)	9,9 ± 0,3	4,7 ± 18 a	100,0
15	0,0	4-6	5°	2.255 (91,1)	10,6 ± 0,6	3,8 ± 1,1 ab	99,7
30	0,0	4-6	5°	2.332 (94,2)	9,9 ± 0,3	3,3 ± 1,1 bc	98,4
45	0,0	4-6	5°	1.753 (70,8)	9,6 ± 0,6	4,3 ± 1,0 ac	98,9
60	0,0	4-6	5°	2.062 (83,3)	10,3 ± 0,7	4,7 ± 1,1 a	98,7
75	0,0	4-7	5°	1.669 (67,4)	10,0 ± 0,5	2,9 ± 0,6 bd	98,0
90	0,0	3-5	4°	1.078 (43,6)	9,1 ± 0,3	4,2 ± 0,8 acd	88,3
105	10,0	3-5	4°	814 (36,6)	9,3 ± 0,5	3,1 ± 1,0 acd	95,2
120	20,0	3-6	4°	514 (26,0)	9,3 ± 0,5	3,2 ± 1,5 acd	95,4
135	10,0	3-6	4°	527 (23,7)	10,0 ± 0,0	3,2 ± 0,9 acd	95,6
150	60,0	3-5	4°	248 (25,1)	9,0 ± 0,6	3,7 ± 0,5 acd	87,5

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (ANOVA seguida de teste de Tukey).

* Ver Apêndice 1.

Na Tabela 8 estão expostos os dados referentes a ninfas. Constatou-se que até 45 dias de idade todas as ninfas estavam vivas. A mortalidade ninfas iniciou-se a partir daí. Aos 60 dias de jejum, 2% das ninfas estavam mortas, havendo ligeiros aumentos até 135 dias, quando o percentual de mortalidade atingiu 30%, dobrando este valor aos 150 dias. A última ninfa morreu aos 168 dias. Esses dados indicam que as ninfas são mais resistentes ao jejum do que as larvas.

Tabela 8 – Mortalidade, período parasitário, recuperação, período de pré-ecdise, período de ecdise e percentagem de ecdise de ninfas de *Amblyomma cajennense* em diferentes idades, obtidas de tubos com 100% de eclosão e alimentadas em coelhos.

Idade Aproximada (dias)	Mortalidade (%)	Período Parasitário		Total de Ninfas Recuperadas (%)	Período de Pré-ecdise* X (dias)	Período de Ecdise X (dias)	Percentual de Ecdise
		Limites (dias)	Dia Modal				
0-2	0,0	4-7	4°	230 (76,7)	16,6 ± 0,9 ad	4,1 ± 1,4 a	100,0
15	0,0	3-5	4°	280 (93,3)	16,0 ± 0,9 ahi	3,9 ± 0,8 a	100,0
30	0,0	3-6	4°	276 (92,0)	15,9 ± 0,7 a	4,2 ± 1,0 a	100,0
45	0,0	3-6	4°	256 (85,3)	17,3 ± 0,7 d	3,6 ± 1,2 a	100,0
60	2,0	3-5	4°	269 (91,5)	15,8 ± 1,9 aei	4,6 ± 1,8 a	97,4
75	2,0	3-5	4°	261 (88,8)	13,1 ± 0,4 bf	4,3 ± 0,9 a	95,0
90	15,0	4-5	5°	209 (82,0)	14,3 ± 0,5 cefg	5,3 ± 0,8 a	100,0
105	7,0	3-5	5°	192 (68,8)	13,9 ± 0,4 bg	3,3 ± 0,8 a	97,4
120	11,0	3-5	5°	183 (68,5)	13,4 ± 0,7 bg	5,2 ± 1,5 a	100,0
135	30,0	4-6	5°	80 (38,1)	14,0 ± 1,3 bg	4,0 ± 1,7 a	97,5
150	62,0	4-5	5°	27 (23,7)	14,8 ± 0,8 fghi	3,7 ± 0,7 a	100,0
165	85,0	4-5	5°	16 (35,6)	13,6 ± 0,6 bg	3,9 ± 0,7 a	100,0

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (ANOVA seguida de teste de Tukey).

4 DISCUSSÃO

Verificou-se pela primeira vez para *Amblyomma cajennense*, a capacidade infestante de larvas recém-eclodidas, fato este ainda que discrepa do citado na literatura para outras espécies de carrapatos (FONSECA, 1935; SRISVASTAVA; VARMA, 1964; GLADNEY et al., 1970; DAVEY, 1987). Estes autores constataram que, de um modo geral, antes de quatro a seis dias a capacidade de fixação e ingurgitamento larval, quando existe, é extremamente baixa, contrastando com os percentuais de recuperação próximos a 45% encontrados no presente estudo. O poder infestante manteve-se alto para larvas com 15 até 60 dias de idade. A partir daí iniciou-se um processo de perda do poder infestante, que chegou à cerca de 25% nas três últimas idades. Embora os resultados de Gladney *et al.* (1970) e Davey (1987) não sejam tão extensos e precisos como os aqui descritos, o fato dos autores reportarem que 70% das larvas de *Amblyomma americanum* e *Boophilus microplus*, respectivamente, se fixaram com quatro dias pós-jejum sugere uma certa semelhança com as percentagens de fixação reportadas neste experimento.

Os dados coligidos neste experimento também estão de acordo com os de Srisvastava e Varma (1964), que observaram uma relação direta entre o aumento do tempo de jejum e perda de poder infestante para *Rhipicephalus sanguineus*.

A idade das larvas aparentemente não influenciou o período parasitário, quer sobre seus limites, quer sobre o dia modal de desprendimento das larvas ingurgitadas. Houve uma ligeira variação entre os diferentes tratamentos, não obstante ter sido constatado pequeno aumento no limite superior para larvas recém-eclodidas.

Os períodos de pré-ecdise das larvas ingurgitadas de diferentes idades apresentou pequenas variações, porém estatisticamente significativas ($P < 0,05$). Não foi possível, entretanto, estabelecer qualquer relação da causa e efeito entre as duas variáveis, visto não haver tendências de aumento ou decréscimo nos valores do período de pré-ecdise conforme as larvas ficaram mais velhas. Este fato conflita com o citado por Olivieri e Serra Freire (1984a), que encontraram variações acentuadas entre larvas de diferentes idades (variação de 7,39 a 3,46 dias).

Esta discrepância pode ser atribuída ao fato dos autores haverem, em algumas situações, reinfestado os coelhos por eles utilizados como hospedeiros, o que poderia ter ocasionado uma resposta imune que se refletiu nos períodos de ecdise. Já os percentuais de ecdise foram elevados tanto no presente estudo quanto no de Olivieri e Serra Freire (1984a), indicando que a idade das larvas, embora tenha reduzido o poder infestante, não afetou o sucesso de ecdise daquelas larvas que conseguiram se ingurgitar.

Analisando a tabela 8, assim como para larvas, o período parasitário parece não ter sido influenciado pela idade das ninfas. Contrariamente, verificou-se que ninfas recém-mudadas têm maior poder infestante do que as larvas (77% e 45%), respectivamente. Ninfas com idades compreendidas entre 15 e 90 dias apresentaram um poder infestante bastante alto. Poder infestante alto com 7 dias de jejum foi observado também por Gladney et al. (1970) para ninfas de *Amblyomma americanum*, indicando certa semelhança entre as duas espécies de *Amblyomma*. A partir deste ponto, inicia-se um processo inicialmente gradativo de perda de poder infestante até 120 dias de idade, culminando com uma queda abrupta para patamares em torno de 35%, e permanecendo assim até a morte de todas as ninfas. Esse comportamento é semelhante ao observado para larvas.

Ao contrário do constatado para larvas, as diferenças entre os períodos de pré-ecdise permitem estabelecer uma clara tendência de encurtamento à medida que o período de jejum das ninfas aumenta, embora não seja possível apresentar explicações para este fenômeno. No trabalho de Olivieri e Serra Freire (1984b) não foi constatada esta tendência. Assim como no estudo destes autores sobre o poder infestante de larvas (OLIVIERI; SERRA FREIRE, 1984a), a raça, idade e estado fisiológico do hospedeiro pode ser uma das explicações para esta discrepância; do mesmo modo, a idade máxima das ninfas por eles utilizadas (106 dias) pode ter impedido que a tendência encontrada no presente trabalho viesse a se manifestar.

Semelhante ao encontrado para larvas, os períodos de ecdise não foram afetados pela idade das ninfas. Do mesmo modo, os percentuais de ecdise foram elevados para todas as idades. Os valores encontrados por Olivieri e Serra Freire (1984b), embora inferiores aos do presente estudo, mostraram-se similares independente da idade das ninfas.

CAPÍTULO III

DIFERENÇAS BIOLÓGICAS EM NINFAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) E SUAS POSSÍVEIS IMPLICAÇÕES NA PREVISÃO DOS SEXOS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 7. Número de adultos, machos e fêmeas, por classe de peso de ninfas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	46
--	----

LISTA DE TABELAS

TABELA 9.	Peso médio de ninfas ingurgitadas.....	45
TABELA 10.	Número de machos e fêmeas obtidos de ninfas <i>Rhipicephalus sanguineus</i> que desprenderam no início (3º dia), no dia modal (4º dia) e fim (5º dia) pós-infestação em coelhos.....	46
TABELA 11.	Período de pré-ecdise de ninfas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> do início (3º dia), dia modal (4º dia) e do final (5º dia) de queda que deram origem a machos e fêmeas.....	47

RESUMO

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Diferenças biológicas em ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (Acari: Ixodidae) e suas possíveis implicações na previsão dos sexos.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

Esse experimento foi conduzido para se observar a correlação entre o peso, o período de pré-ecdise e o período de queda de ninfas ingurgitadas com a previsão do sexo dos adultos de *Rhipicephalus sanguineus*. A média do peso de ninfas que originaram machos (n = 96) foi de $1,97 \pm 0,97$ e $2,52 \pm 0,90$ para fêmeas (n = 103) ($P > 0,05$). O peso das ninfas não pode ser usado para a previsão dos sexos devido à superposição dos pesos. O período de pré-ecdise foi de $15,13 \pm 0,94$ e $14,60 \pm 0,77$ dias para ninfas que originaram machos (n = 96) e fêmeas (n = 103) ($P > 0,05$), respectivamente. Ninfas (n = 50), dos períodos de queda, inicial (3º dia) e modal (4º dia), desprenderam-se 29 fêmeas e 21 machos, em ambos períodos. No período final (5º dia) (n = 50) desprenderam-se 30 fêmeas e 20 machos ($\chi^2 > 0,05$). Embora exista diferenças numéricas em todos os parâmetros avaliados, tais parâmetros não podem ser utilizados para a previsão dos sexos em *R. sanguineus* devido a amplitude da superposição.

Palavras-chave: *Rhipicephalus sanguineus*, Ninfas, Previsão de sexo.

ABSTRACT

RIBEIRO, Armando de Lemos. **Diferenças biológicas em ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILLE, 1806) (Acari: Ixodidae) e suas possíveis implicações na previsão dos sexos.** 1997. 67p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 1997.

This experiment was conducted as an attempt to correlate the weight pre-ecdysis period and timing of drop-off of nymphs with the forecast of the sexes in adults of *Rhipicephalus sanguineus*. The mean weight of nymphs that moulted to males (n = 96) was $1,97 \pm 0,97$ and $2,52 \pm 0,90$ to females (n = 103) ($P > 0,05$) between the weight of nymphs can not be used to forecast the sexes due to overlapping of to weight ranges. The pre-ecdysis periods were $15,13 \pm 0,94$ and $14,60 \pm 0,77$ days for nymphs that moulted to males (n = 96) and females (n = 103) ($P > 0,05$) respectively. Nymphs (n = 50) that dropped-off on both third and fourth day (mode) post-infestation moulted to 29 females and 21 males whereas those (n = 50) that dropped-off on the fifth day post-infestation moulted to 30 females and 20 males ($\chi^2 > 0,05$). Although there are numerical differences in all evaluated parameters none can be used to forecast the sexes in *R. sanguineus* due to an extensive overlapping.

Keywords: *Rhipicephalus sanguineus*, Nymphs, Forecast the sexes.

1 INTRODUÇÃO

A previsão do sexo em carrapatos, utilizando-se alguns parâmetros biológicos tanto da família Ixodidae como em Argasidae, é motivo de controvérsia. A superposição dos pesos, como foi observado por Arthur e Snow (1966) para *Hyalomma anatolicum anatolicum*, Hajjar (1972) para *Argas arboreus*, Centurer e Klima (1979) para *Amblyomma variegatum* e Olivieri et al. (1986) para *Amblyomma cajennense*, seria o impedimento principal. No entanto, autores como Cooney e Hays (1972), Gladney et al. (1977) e Koch (1981) que trabalharam com *Amblyomma tuberculatum*, *Amblyomma inornatum* e *Amblyomma americanum*, respectivamente, afirmaram que o peso de ninfas ingurgitadas permite prever o sexo desses ixodídeos.

No que concerne ao tempo de ingurgitamento das ninfas que originarão os adultos, Gladney et al. (1977), Knight et al. (1978), Osburn (1981) e Rechav e Knight (1981) trabalhando com *Amblyomma inornatum*, *Hyalomma marginatum rufipes*, *Dermacentor albipictus* e *Rhipicephalus glabroscutatum*, respectivamente, notaram que as ninfas que originaram machos completaram o ingurgitamento mais cedo do que as ninfas que originaram fêmeas, enquanto Aubert (1981) constatou que ninfas que originaram as fêmeas e machos de *Ixodes rugicollis* se desprenderam do hospedeiro no mesmo período.

Finalmente, o período de pré-ecdise das ninfas que originaram machos e fêmeas apresentaram variações interespecíficas. Guglielmone e Moorhouse (1985) separaram argasídeos e ixodídeos em três grupos, de acordo com o período de pré-ecdise. No primeiro grupo, os machos mudaram mais cedo que as fêmeas. A maioria dos carrapatos está incluída nesta categoria, como por exemplo, *Boophilus microplus*, estudado por Boero e D'Ângelo (1947), *Boophilus decoloratus* por Arthur e Londt (1973), *Rhipicephalus evertsi evertsi* por Rechav et al. (1977), *A. inornatum* por Gladney et al. (1977), *Aponomma hydrosauri* por Bull et al. (1977) e *Ornithodoros rostratus* por Gluglielmone e Hadari (1980).

No segundo, não foram encontradas diferenças significativas entre o período de pré-ecdise de ninfas ingurgitadas que originaram machos e fêmeas, sendo este fato evidenciado por Norval et al. (1981) para *Amblyomma tholloni*, Aubert (1981) para *I. rugicollis* e por

Rechav e Knight (1981) para *Rhipicephalus glabroscutatum*. No último grupo, as ninfas que originaram fêmeas mudaram mais cedo do que as que originaram machos, como foi constatado por Feldman-Muhsam e Muhsam (1966) para *Hyalomma dromedarii*, Branagan (1973) para *Rhacophorus appendiculatus* e por Walker et al. (1981) para *Rhipicephalus zambeziensis*.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal, na Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, em câmara climatizada regulada à temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ de umidade relativa e escotofase.

O experimento foi desenvolvido em duas etapas. Na primeira, 400 ninfas, com 15-20 dias de jejum foram retiradas da colônia de *Rhipicephalus sanguineus* do Laboratório de Ixodologia e em seguida usadas para infestar dois coelhos (200 ninfas por coelho), de acordo com a técnica de Neitz et al. (1971). Do total de ninfas ingurgitadas recuperadas, 200 foram escolhidas aleatoriamente, pesadas, individualizadas em recipientes de vidro tampados com algodão e transferidas para a câmara climatizada, onde aguardou-se a ecdise dos adultos. Após o término da ecdise foi feita a sexagem dos adultos, verificando-se para cada um deles o peso da respectiva ninfa ingurgitada e o período de pré-ecdise correspondente.

Na segunda etapa, foram infestados cinco coelhos com 200 ninfas por coelho, de acordo com a metodologia já descrita acima. Foram observados três parâmetros: início (terceiro dia), moda (quarto dia) e fim (quinto dia) de queda. Para cada parâmetro foram coletadas 50 ninfas ingurgitadas. O tratamento das ninfas recuperadas foi o mesmo descrito na primeira etapa.

Em ambas as etapas os coelhos, mestiços Nova Zelândia x Califórnia, foram provenientes do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, sem prévia infestação por ixodídeos, com idade variando de 60 a 90 dias e de ambos os sexos.

Foram aplicados para os parâmetros peso e período de pré-ecdise (primeira etapa) o teste “t” e para os períodos de queda e pré-ecdise por período de queda utilizou-se o teste de qui-quadrado e a análise de variância, respectivamente (segunda etapa).

3 RESULTADOS

3.1 Primeira Etapa

Das 200 ninfas ingurgitadas, 96 (48%) mudaram para machos entre 13-18 dias, 103 (51,5%) para fêmeas entre 14-17 dias e uma (0,5%) não realizou ecdise.

O peso médio de ninfas ingurgitadas que desenvolveram para machos foi de $1,97 \pm 0,97$ mg e para fêmeas $2,52 \pm 0,90$ mg. Para o período de pré-ecdise, a média foi de $15,13 \pm 0,94$ dias para ninfas ingurgitadas que originaram machos e $14,60 \pm 0,77$ dias para aquelas que originaram fêmeas. Tanto para o peso como para o período de pré-ecdise de ninfas que originaram, respectivamente, machos e fêmeas, houve diferenças significativas ($P < 0,05$) (Tabela 9). A amplitude de variação tanto para o peso como para o período de pré-ecdise (Tabela 9) é indicativo de superposição, a qual é caracterizada na Figura 7. Do total das 96 ninfas ingurgitadas que originaram machos, 56 (58%) pesaram igual ou abaixo de 2,2 mg enquanto que 74 (72%) das 103 que originaram fêmeas, pesaram igual ou acima de 1,8 mg, caracterizando ampla superposição de peso.

Tabela 9 – Peso médio de ninfas ingurgitadas.

Parâmetros	Sexo		Amplitude	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
Peso / mg	$1,97 \pm 0,97$ a	$2,52 \pm 0,90$ b	0,2 - 4,4	0,2 - 4,2
Pré-ecdise / dias	$15,13 \pm 0,94$ a	$14,60 \pm 0,77$ b	13 - 18	14 - 17

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (ANOVA seguida de teste de Tukey).

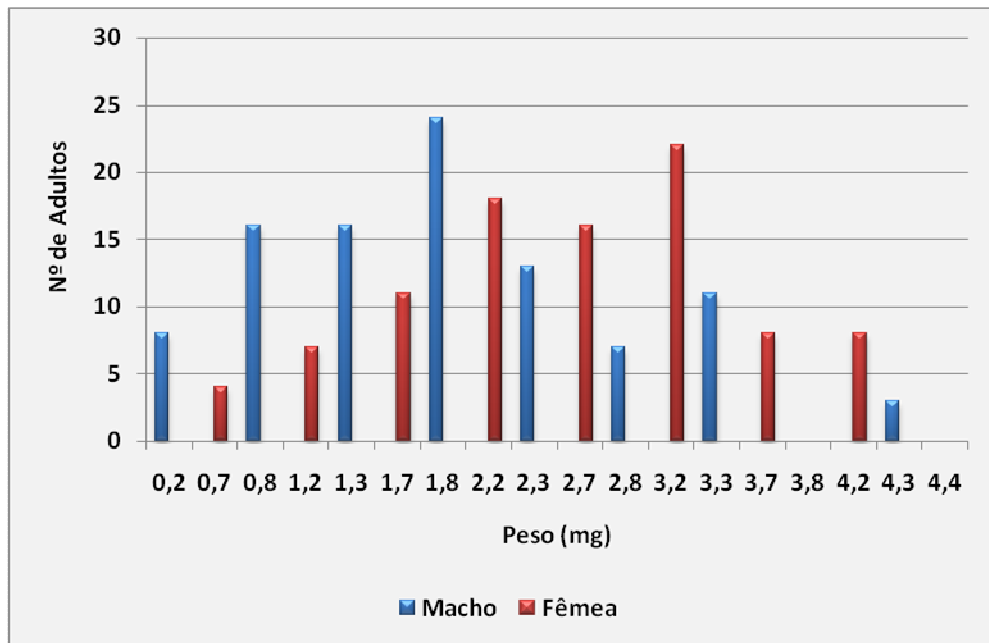


Figura 7 – Número de adultos, machos e fêmeas, por classe de peso de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

3.2 Segunda Etapa

Nos períodos de queda inicial (terceiro dia) e modal (quarto dia) desprenderam do hospedeiro mais ninfas que originaram fêmeas do que machos, sendo que a proporção fêmea : macho em ambos períodos foi de 29 fêmeas : 21 machos, enquanto para o período final (quinto dia) de queda, desprenderam do hospedeiro mais ninfas que originaram machos do que fêmeas (30 machos e 20 fêmeas) (Tabela 6). As médias do período de pré-ecdise das ninfas ingurgitadas que originaram os adultos de *Rhipicephalus sanguineus*, são apresentados na Tabela 11.

Tabela 10 – Número de machos e fêmeas obtidos de ninfas *Rhipicephalus sanguineus* que desprenderam no início (3º dia), no dia modal (4º dia) e fim (5º dia) pós-infestação em coelhos.

Período de Queda	Macho	Fêmea	Total
Início (3º dia)	21 a	29 a	50
Moda (4º dia)	21 a	29 a	50
Fim (5º dia)	30 a	20 a	50

Tabela 11 – Período de pré-ecdise de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* do início (3º dia), dia modal (4º dia) e do final (5º dia) de queda que deram origem a machos e fêmeas.

Período de Queda		Período de Pré-Ecdise	
		Macho	Fêmea
Início (3º dia)	Média	15,00 ± 0,84 a	14,24 ± 0,79 a
	Variação	(14 – 17)	(13 – 16)
Moda (4º dia)	Média	15,19 ± 0,94 a	14,60 ± 0,77 a
	Variação	(13 – 18)	(13 – 17)
Fim (5º dia)	Média	15,27 ± 0,87 a	14,45 ± 0,89 a
	Variação	(13 – 17)	(13 – 16)

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (ANOVA seguida de teste de Tukey).

4 DISCUSSÃO

Em *Rhipicephalus sanguineus*, a superposição dos pesos está presente em todos os intervalos de classe de pesos, com exceção dos intervalos 3,8-4,4 para machos e 4,3-4,4 para fêmeas (Figura 7). Estes dados estão de acordo com Arthur e Snow (1966), Centurer e Klinma (1979) e Olivieri et al. (1986) para *Hyalomma anatolicum anatolicum*, *Amblyomma variegatum* e *Amblyomma cajennense*, respectivamente. Portanto, no tocante a superposição de pesos, torna-se impossível a utilização do peso de ninfas ingurgitadas para a previsão acurada do sexo dos adultos em *Rhipicephalus sanguineus*, conforme propuseram Cooney e Hays (1972), Gladney et al. (1977) e Koch (1981) para *Amblyomma tuberculatum*, *Amblyomma inornatum* e *Amblyomma americanum*, respectivamente.

No que concerne ao período de pré-ecdise as fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* se formaram e abandonaram a exúvia ninfal mais cedo que os machos. Este aspecto do ciclo biológico permitiu incluir *Rhipicephalus sanguineus* dentro do grupo de ixodídeos, no qual as fêmeas surgem mais cedo que os machos (GUGLIELMONE; MOORHOUSE, 1985), como exemplificam os trabalhos de Feldman Muhsam e Muhsam (1966) para *Hyalomma dromedarii*, Branagan (1973) para *Rhacophorus appendiculatus* e Walker et al. (1981) para *Rhipicephalus zambeziensis*. Entretanto, quando se analisa o período total de pré-ecdise (Tabela 8) ou de acordo com os períodos de queda (Tabela 10), verifica-se que não há diferença estatística entre as médias ($P > 0,05$). Este parâmetro do ciclo biológico também não pode ser utilizado para prever os sexos de *Rhipicephalus sanguineus*.

O período de alimentação mais curto regularia, aumentando a emergência de machos de *R. glabroscutatum* (RECHAV; KNIGHT, 1981). Esta hipótese não se aplicaria para *Rhipicephalus sanguineus* já que as ninfas que tiveram um período de alimentação mais longo, ou seja, se desprenderam no último dia, originaram mais machos do que fêmeas. Embora a Tabela 9 aponte diferenças numéricas entre machos e fêmeas obtidos de ninfas que se desprenderam durante todo o período de queda, o teste do qui-quadrado revelou não haver diferenças significativas. Portanto, o período de alimentação não pode ser utilizado para prever o sexo de adultos de *Rhipicephalus sanguineus*.

CONCLUSÃO

Larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* se desprenderam do hospedeiro experimental, o coelho, principalmente durante o dia, independente da idade das mesmas.

O conjunto de resultados ora apresentados indica claramente que, em condições controladas, larvas e ninfas de *Amblyomma cajennense* resistem a longos períodos de jejum, retendo, ainda que em patamares gradativamente mais baixos, poder de infestação. Embora haja a necessidade de estudos à campo, os resultados do presente trabalho sinalizam para o fato de que programas de controle que preconizam a rotação e o descanso de pastagens como método de controle de carrapatos deve ser visto com reservas para *Amblyomma cajennense*.

Peso, período de pré-ecdise e período de queda de ninfas ingurgitadas não podem ser utilizados para a previsão do sexo em *R. sanguineus*, devido a extensa superposição.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIN, Omar M. The circadian rhythm of dropping of engorged larvae and nymphs of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* say (acarina: ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.7, n.2, p.251-255(5), april, 1970.
- ARTHUR, D.R.; LONDT, J.G.H. The parasitic cycle of *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844) (acarina: ixodidae). **Journal of the Entomological Society S. of Southern Africa**, v.36, p.87-116, 1973.
- ARTHUR, D.R.; SNOW, R. The significance of size in the immature stages of the Ixodidae. **Parasitology**, v.56, n.2, p.391-397, 1966.
- AUBERT, M.F.A. Breeding of the tick *Ixodes (Pholeoixodes) rugicollis* (acari: ixodidae) under laboratory conditions. **Journal of Medical Entomology**, v.18, n.4, p.324-327, 1981.
- BALASHOV, Y.S. Peculiarities of the daily rhythm of engorged female *Ixodes persulcatus* from cattle. In: GEORGE, J.E. 1971. Drop-off rhythms of engorged rabbit tick - *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1896) (acari: ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v.8, n.5, p.461-479, 1954.
- BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; MUKAI, L.S.; ROSA, P.C.S. Immunization of dogs, hamsters and guinea pigs against the tick *Rhipicephalus sanguineus* using crude unfed adult tick extract. **Veterinary Parasitology**, v.52, p.79-90, 1994.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (acari: ixodidae). **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.5, n.1, p.15-19, 1997a.
- _____. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (acari: ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, n.1, p.21-27, 1997b.
- BOERO, J.J.; D'ANGELO, E. Biologia dei *Boophilus microplus*, garrapata comum de los bovinos. **Minist. Agric. Direc. Gral. Ganad. (Bs. As.). Publ. Misc**, v.236, p.21-30, 1947.

BRANAGAN, D. The developmental periods of the Ixodid tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 under laboratory conditions. **Buli. Ent. Res.**, v.63, n.1, p.155-168, 1973.

BULL, M.; SHARRAD, R.D.; SMYTH, M. The pre-molt period of larvae and nymphs of the Australian reptile tick *Aponomma hyckosauri*. **Acarologia**, v.19, n.4, p.593-600, 1977.

CARNEIRO, M.E.; DAEMON, E. Caracterização dos tipos celulares presentes na hemolinfa de larvas e ninfas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodoidea, Ixodidae) em diferentes estados nutricionais. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.75, n.3, p.609-620, 1996.

CENTURIER, VON C.; KLINA, R. Ein beitrage zur kenntnis der biologie von *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1774). **Z. Angew.Ent.**, v.87, n.2, p.131-142, 1979.

COONEY, J.C.; HAYS, K.L. Bionomics of the gopher tortoise tick, *Amblyomma tuberculatum* Marx. **J. Med. Ent.**, v.9, n.3, p.239-245, 1972.

DAVEY, R.B. Effect of age of *Boophihis microplus* larvae (Acari: Ixodidae) on attachment to cattle. **J. Med. Entomol**, v.24, n.1, p. 118-120, 1987.

DOUBE, B.M. Regulation of the circadian rhythm of detachment of engorged larvae and nymphs of the argasid kangaroo tick, *Ornithodoros gurneyi*. **Journal of Medical Entomology**, v.12, n.1, p.15-22(8), 30 april 1975.

FELDMAN-MUHSAM, B.; MUHSAM, H.V. On the duration of larval and nymphal quiescence in male and female ixodid ticks. **Buli. Ent. Res.**, v.57, n.1, p.101-106, 1966.

FLECHTMANN, C.H.W. 1973. **Ácaros de importância médico-veterinária**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1973.

FONSECA, F. Notas de Acarologia. XI. Validade da espécie e ciclo evolutivo de *Amblyomma striatum* Koch, 1844 (Acarina, Ixodidae). **Mem. Inst. Butantã**, v.9, p.43-58, 1935

GEORGE, J.E. Drop-off rhythms of engorged rabbit tick - *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1896) (Acari: Ixodidae). **J. Med. Ent.**, v.8, n.5, p. 461-479, 1971.

_____. The circadian rhythm of "drop off" of engorged *Haemaphysalis leporispalustris* from rabbit. In: **Congr. Int. d'Acarologie**, Fort Collins, Col. USA, p. 343-349, 1963.

GLADNEY, W.J.; DAWKINS, C.C.; PRICE, MA. *Amblyomma inornatum* (Acarina: Ixodidae): natural hosts and laboratory biology. **J. Med. Ent.**, v.14, n.1, p.85-88, 1977.

GLADNEY, W.J.; DRUMMOND, RO.; WHETSTONE, T.M.; ERNST, SE. Effect of age on the attachment rate of the parasitic stages of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Linnaeus) (Acarina: Ixodidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, v.7, n.1, p.92-95(4), jan. 1970.

GUGLIELMONE, A.A.; HADANI, A. Ciclo biológico dei *Ornithodoros rostratus* Aragão, 1991, bajo condiciones de laboratorio. **Rev. Med. Vet.**, Buenos Aires, v.61, n.3, p.254-257, 1980.

GUGLIELMONE, A.A.; MOORHOUSE, D.E. Differences in nymphs of *Amblyomma triguttatum* Koch moulting to males and females. **Acarologia**, v.26, n.1, p. 7-11, 1985.

HADANI, A.; REHAV, Y. Tick-host relationships. 1. The existence of a circadian rhythm of "drop-off" engorged ticks from their hosts. **Acta Trop.**, v.26, n.2, p.173-179, 1969.

_____. Tick-host relationships. II. Factors affecting the circadian rhythm of "Drop off" of engorged preimaginal stages of the tick *Hyalomma excavatum* (Koch, 1844) from the Gerbil - *Meriones tristrami*. **Acta Trop.**, v.27, n.2, p.184-190, 1970.

HADANI, A.; ZIV, M. Tick-host relationships. III. The effect of photoperiodic preconditioning on the circadian rhythm of "Drop-off" of engorged pre-imaginal stages of the tick *Hyalomma excavatum* (Koch, 1844) from the Gerbil - *Meriones tristrami*. **Acta Trop.**, v.XXXI, n.1, p.89-94, 1974.

HAJJAR, N.P. Biochemical and physiological studies of certain ticks (Ixodoidea). Relationship between weight and moulting of *Argas* and *Hyalomma* nymphs. **The Journal of Parasitology**, v.58, n.5, p.1.022-1.024, 1972.

HEATH, A.C.G. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis*, *Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae): studies on engorged larvae. **International Journal for Parasitology**, v.11, p.169-175, 1981.

_____. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis*, *Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae): studies on eggs. **International Journal for Parasitology**, v.9, p.33-39, 1979.

HITCHCOCK, L.F. Studies on the parasitic stages of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). **Austral. J. Zool.**, v.5, n.2, p. 145-155, 1955.

HOOKER, W.A. Life history, habits and methods of study of the Ixodoidea. **J. Econ. Entomol.**, n.1, p. 34-51, 1908.

KEISIN, E.M.; LAVRENENKO, L.E. Duration of blood-sucking and diurnal rhythm of nutrition and dropping of females of *Ixodes ricinus* L. **Zool. Zh.**, v.35, n.3, p.379-383, 1956. (Translation 24, Dept. Med. Zool. U.S. Naval Med. Res. Unit. No. 3).

KITAOKA, S. Physiological and ecological studies on some ticks. VIII. Diurnal and nocturnal changes in feeding activity during the blood-sucking process of *Haemaphysalis bispinosa*. **Natl. Inst. Animal Health Quart.**, v.2, n.2, p.106-111, 1962.

KNIGHT, M.M.; NORVAL, R.A.I.; REHAV, Y. The life cycle of the tick *Hyalomma marginatum rufipes* Koch (Acarina: Ixodidae) under laboratory condition. **J. Parasitol.**, v.64, n.1, p.143-146, 1978.

KOCH, H.G. Suitability of birds and mammals as hosts for immature stages of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). **J. Med. Ent.**, v.18, n.2, p.93-98, 1981.

KOCH, H.G.; TUCK, M.D. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, v.79, n.1, p.11-14, 1986.

KONOPKA, R.J.; BENZER, S. Clock mutants of *Drasophila melanogaster*. In: VILLEE, C.A. *et al.* **Zoologia geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

LARANJA, R.J. **O poder infestante da larva de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) em diferentes condições e períodos de envelhecimento**. 1979, 30p. Dissertação. (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1979.

MAHADEV, P.V.M. Life cycle, feeding behavior and ovipositional ability of *Rhipicephalus sanguineus* and *R. turanicus* (Acari: Ixodidae). **Indian Journal of Acarology**, v.2, p.12-20, 1977.

MENNA-BARRETO, L.S.; FORTUNATO, G. O que é cronobiologia? In: MENNA-BARRETO, L.S. **Introdução ao estudo da cronobiologia**. São Paulo: Ícone, 1988.

MINSHULL, J.I. Drop-off rhythms of engorged *Rhipicephalus appendiculatus* (Acarina: Ixodidae). **J. Parasitol.**, v.68, n.3, p.484-489, 1982.

NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life cycle of the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Newmann, 1904). **Onderstepoort Journal Vet. Res.**, v.38, n.3, p.215-224, 1971.

NORVAL, R.A.L.; COLBORNE, J.; TANNOCK, J.; MACKENZIE, K.I. The life cycle of *Amblyomma tholloni* Neumann, 1899 (Acarina: Ixodidae) under laboratory conditions. **Veterinary Parasitology**, v.7, p.255-263, 1980.

OLIVIERI, J.A.; DAEMON, E.; SERRA FREIRE, N.M. Correspondência entre o peso, o período de pré-muda da metaninfa e o sexo do adulto em duas linhagens de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae). **Atas Soc. Biol. Rio de Janeiro**, n.26, p.5-7, 1986.

OLIVIERI, J.A.; SERRA-FREIRE, N.M. Estádio larval do ciclo biológico de *Amblyomma cajennense*. **Arq. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro**, v.7, n.2, p.139-147, 1984a.

_____. Estágio ninfal do ciclo biológico de *Amblyomma cajennense*. **Arq. Univ. Fed. Rural do Rio de Janeiro**, v.7, n.2, p.149-156, 1984b.

OSBURN, R.L. Timing of ecdysis and spermatogenesis in the winter tick, *Dermacentor albipictus* (Packard). **Annals of the Entomological Society of America**, v.74, n.2, p.177-179, 15 march 1981.

POMERANTZEV, B.I.; ALFEEV, N.I. To the question on the action of arsenical composition on *Ixodes ricinus* L. Coll. "Pests of breeding-farms". In. GEORGE, J.E. Drop-off rhythms of engorged rabbit tick - *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1896) (Acari: Ixodidae). **J. Med. Ent.**, v.8, n.5, p.461-479, 1971.

PRATA, M.C.A.; DAEMON, E. Determinação do número de ovos por grama de postura de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Ciências Veterinária**, v.4, n.2, p.81-82, 1997.

RECHAV, Y. Drop-off rhythm of engorged larvae and nymphs of the bunt tick, *Amblyomma herbarium* (Acari: Ixodidae), and the factors that regulate them. **J. Med. Ent.**, v.14, n.6, p.677-687, 1978.

RECHAV, Y.; KNIGHT, M.M. Life cycle in the laboratory and seasonal activity of the tick *Rhipicephalus glabroscutatum* (Acarina: Ixodidae). **Journal of Parasitology**, v.67, n.1, p.85-89, 1981.

RECHAV, Y.; KNIGHT, M.M.; NORVAL, R.A.I. Life cycle of the tick *Rhipicephalus evertsi evertsi* Neumann, 1897 (Acarina: Ixodidae) under laboratory conditions. **Journal of Parasitology**, v.63, n.3, p.575-579, 1977.

REINBERG, A.; SMOLENSKY, M.H. Introduction to chronobiology. In: REINBERG, A.; SMOLEWSKY, M.H. eds. **Biological rhythms and medicine, cellular, metabolic, physiophologic and pharmacological aspects**. New York: Springer-Verlag, 1983.

ROBINSON, L.F. **The genus amblyomma**. Grã Bretanha: Cambridge Univ. Press, 1926.

ROHR, C.J. **Estudo sobre Ixodidae do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 1909.

SERDYUKOVA, G.V. On the cycle of development of the tick *Hyalomma anatolicum* (Koch). In: GEORGE, J.E. 1971. Drop-off rhythms of engorged rabbit tick - *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1896) (Acari: Ixodidae). **J. Med. Ent.**, v.8, n.5, p.461-479, 1946.

SMITH, C.N. Biology of *Ixodes dentatus* Newmann (Ixodidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.38, n.2, p.223-233, june 1945.

SMITH, N.W. Some aspects of the ecology and life cycle of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) in trinidad and their influence on tick control measures. **Ann. Trop. Med. Parasitol.**, v.69, n.1, p. 121-129, mar. 1975.

SRIVASTAVA, S.C.; VARMA, M.G.R. The culture of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, v.1, n.2, p.154-157, 1 july 1964.

TRAVASSOS, J.; VALLEJO-FREIRE, A. Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo de vacina contra a febre maculosa. **Memórias do Instotitp Butantã**, v.18, p.145-235, 1944-1945.

UILENBERG, G. Acquisitions nouvelles dans la connaissance du role secteur des tiques du genere *Amblyomma* (Ixodidae). **Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.**, v.36, n.1, p.61-66, 1983.

VILLEE, CA.; WALKER, W.F.; BARNES, R.D. **Zoologia geral**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

WALKER, J.B. Some observations on the classification and biology of tick belonging to the genus *Rhipicephalus*, with special reference to the stages imature. **East African Med. J.**, v.38, n.5, p.232-238, 1961.

WALKER, J.B.; NORVAL, R.A.I.; CORWIN, M.D. *Rhipicephalus zambeziensis* sp. nov., a new tick from eastem and southern África, together with a redescription of *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 (Acarina: Ixodidae). **Onderstepoort J. Vet. Res.**, v.48, n.2, p.87-104, 1981.

WHARTON, R.H.; UTECH, K.W.B. The relation between engorgement and dropping of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Ixodidae) to the assessment of tick numbers on cattle. **Journal of Australian Entomology Society**, v.9, n.2, p. 171-182, 1970.