

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

DISSERTAÇÃO

**Ciclo biológico de *Ornithodoros rostratus*
Aragão, 1911 (Acari: Argasidae) utilizando coelhos
domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) como
hospedeiros experimentais**

Carla Carolina Dias Uzedo Ribeiro

2011



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

**CICLO BIOLÓGICO DE *Ornithodoros rostratus* ARAGÃO, 1911
(ACARI: ARGASIDAE) UTILIZANDO COELHOS DOMÉSTICOS
(*Oryctolagus cuniculus*) COMO HOSPEDEIROS EXPERIMENTAIS**

CARLA CAROLINA DIAS UZEDO RIBEIRO

Sob a Orientação do Professor
João Luiz Horácio Faccini

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

636.932089

6

R484c

T

Ribeiro, Carla Carolina Dias Uzedo, 1984-.

Ciclo biológico de *Ornithodoros rostratus* Aragão, 1911 (Acari: Argasidae) utilizando coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) como hospedeiros experimentais / Carla Carolina Dias Uzedo Ribeiro - 2011.

31 f.: il.

Orientador: João Luiz Horário Faccini.

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

Bibliografia: f. 28-31.


1. Coelho - Parasito - Teses. 2. Carrapato - Biologia - Teses. 3. Relação hospedeiro - Parasito - Teses. I. Faccini, João Luiz Horário. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

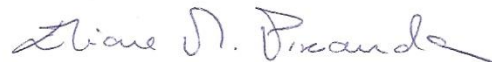
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

CARLA CAROLINA DIAS UZEDO RIBEIRO

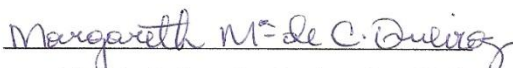
Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/02/2011.


João Luiz Horácio Faccini, Ph.D. UFRRJ.


Eliane Matos Piranda, Dra. UFU.


Aivaldo Henrique da Fonseca, Dr. UFRRJ.


Margareth Maria de Carvalho Queiroz, Dra. IOC- Fiocruz.

Dedico este trabalho a Deus, aos meus pais, Kátia e Antônio Carlos, pelo apoio incondicional durante minha vida, às minhas avós Clotilde e Altina, tia Sandra e ao meu namorado Ewerton, que sempre me entenderam e amaram em todos os momentos.

*"A mente que se abre a uma nova idéia jamais
voltará ao seu tamanho original".*

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a DEUS, por ter me dado condições de alcançar todo o desejado e por sempre estar me guardando debaixo de suas asas.

Ao Professor JOÃO LUIZ HORACIO FACCINI, meu orientador, por sua ajuda, confiança e por seus conhecimentos que me foram tão importantes, desde a iniciação científica, para chegar até aqui.

À Dra. DARCI DE BARROS- BATTESTI, pela confirmação da identificação dos carrapatos.

Aos meus pais ANTÔNIO CARLOS RIBEIRO e KÁTIA DIAS UZEDO, que sempre estiveram comigo, me apoiando, que sempre entenderam minha ausência, por tudo que me ensinaram na vida e que me fizeram ser hoje quem sou.

Aos amigos PAULO HENRIQUE DUARTE CANÇADO e ELIANE MATOS PIRANDA, pela coleta dos carrapatos utilizados neste trabalho, e que mesmo hoje estando longe, sempre me apoiaram e me ajudaram em tudo o que lhes foi possível, sendo seus ensinamentos fundamentais para alcançar o meu objetivo.

Às minhas companheiras de laboratório, VANESSA DE ALMEIDA RAIÁ, MICHELE DA COSTA PINHEIRO, IWINE JOICE DE SÁ, por sempre estarem por perto ajudando e pela agradável convivência.

Aos professores do curso de pós-graduação, pelos conhecimentos acadêmicos, em especial à professora KÁTIA MARIA FAMADAS e professor CARLOS LUIZ MASSARD, pela colaboração adicional em minha pesquisa.

Aos meus amigos LEANDRO DE CARVALHO e MIRIAN SILVA SANTOS, por todo carinho e alegria, que mesmo com a distância, sempre estarão no meu coração e pensamento.

À TATIANE DE ALMEIDA KAWAMURA pelo tempo de convivência no laboratório, companheirismo e alegria dentro e fora da pesquisa.

Às minhas amigas inseparáveis na faculdade CLARICE MATTOS, DÉBORA COSTA BARROSO, por toda alegria, amizade e conselhos durante esse feliz período.

Aos funcionários da Estação de Parasitologia Veterinária, em especial MAURO (ZECA), pelo auxílio na manutenção dos animais.

Ao amigo FELIPE MARCELINO, pela ajuda fundamental em minha pesquisa e pelas risadas inigualáveis.

Ao Instituto de Zootecnia, pelo empréstimo de coelhos, em especial o Senhor Pedro Timóteo e à Dra. Pacita.

Ao meu namorado EWERTON ANTÔNIO ALVARES, pelo carinho que tem comigo e compreensão nos momentos difíceis.

À tia VERA LUCIA ALVARES, pelo cuidado e carinho, estando sempre presente.

Às minhas avós CLODILTE DIAS e ALTINA MOREIRA RIBEIRO, e tia SANDRA RIBEIRO, por estarem sempre irradiando alegria e confiança, mesmo de longe.

À UFRRJ pela oportunidade e por todos os ensinamentos que nela obtive, tanto para minha vida acadêmica como para minha vida pessoal.

A TODOS OS ANIMAIS que passaram por esse experimento, que sem eles tal estudo não seria possível.

Ao Conselho Nacional para o Desenvolvimento Científico e Tecnologia (CNPq) e CAPES pelo suporte financeiro.

BIOGRAFIA

Carla Carolina Dias Uzedo Ribeiro, filha de Antônio Carlos Ribeiro e Kátia Dias Uzedo, nasceu em 19 de Julho de 1984, no município do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro. Coursou o ensino fundamental e médio no Colégio Santa Mônica, concluindo o terceiro ano no Colégio Miguel Couto, ambos no município do Rio de Janeiro

No ano de 2004, ingressou no curso de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), colando grau e obtendo o título de bacharel em Zootecnia em 18 de Abril de 2009.

Durante o período acadêmico realizou estágios na Bovinocultura de leite, Fazendinha Agrobiológica- EMBRAPA e ingressou no Laboratório de Ixodologia em Agosto de 2006, tornando-se Bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, convênio UFRRJ/CNPq-PIBIC, que perdurou até a conclusão de sua graduação.

Em março de 2009 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Parasitologia Veterinária, ao nível de Mestrado, da UFRRJ, a qual foi Bolsista CAPES.

Participou de projetos como “Ixodofauna de animais silvestres e domésticos no Pantanal Sul-matogrossense” e “Estudo ecológico de carrapatos em área de regeneração de floresta ombrófila densa no entorno da reserva biológica do Tinguá - Rio de Janeiro, Brasil. Seu papel como bioindicadores e/ou agentes de risco para saúde silvestre e coletiva”.

Nesta data, apresenta e defende esta dissertação como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

RESUMO

RIBEIRO, C.C.D.U. **Ciclo biológico de *Ornithodoros rostratus* Aragão, 1911 (Acari: Argasidae) utilizando coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) como hospedeiros experimentais.** 2011. 31p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Ornithodoros rostratus é uma espécie de carrapato argasídeo, que se destaca por usar diversos animais como hospedeiros. Há relatos na literatura sobre o seu parasitismo em cães, suínos, bovinos, caprinos, além de relatos em humanos. No Brasil a espécie já foi descrita nos estados de São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás e Minas Gerais. O trabalho em tela teve como finalidade avaliar parâmetros do ciclo biológico de *O. rostratus* utilizando coelhos domésticos como hospedeiros experimentais de uma população de carrapatos coletada no Pantanal sul Mato-grossense – Brasil. O experimento aferiu parâmetros de todas as fases do ciclo de *O. rostratus* alimentados individualmente em dorso de coelhos, com contenção de frasco de vidro até a fixação do carrapato. Para o estágio larval o período de pré-fixação foi de $5,2 \pm 2,9$ minutos, com um período alimentar de $33,5 \pm 13$ minutos, o percentual de ecdise dessas larvas foi de 81,74%. O instares ninfais variaram de 3-6. As médias dos períodos de pré-fixação e alimentar de ninfas de primeiro instar a ninfas de quinto instar variaram de 4,4-6,4 minutos e 17,3-39,2 minutos, respectivamente. O grau de ingurgitamento de ninfas alimentadas variou de 1,2 mg em ninfas de primeiro instar até 58,1 mg no quinto instar. Dentre os instares ninfais, a ninfa de terceiro instar apresentou período pré-muda mais longo, com uma média de 16,1 dias. Os percentuais de ecdise variaram de 71,8% (Ninfa 1) a 80,8% (Ninfa 5). A maioria das fêmeas emergiram de ninfas de quinto instar enquanto os machos emergiram de ninfas de quarto instar. No estágio de adultos somente as fêmeas foram alimentadas, e obtiveram uma média de período pré-fixação de 6,4 minutos e de período alimentar de 45,4 minutos. A média de ganho de peso foi de 150,1 mg. A postura iniciou com média de 6,2 dias, durando entre 6-14 dias. A média do peso total da postura foi de 58,8 mg com uma média total de 555,5 ovos. O período médio de pré-eclosão foi de 12,7 dias, enquanto o período de eclosão durou de 6-15 dias e o percentual médio de eclosão foi 75,9%. A espécie *Ornithodoros rostratus* pode ser alimentada em coelhos para manutenção de colônias em laboratório.

Palavras-chave: *Ornithodoros rostratus*, ciclo biológico, experimental.

ABSTRACT

RIBEIRO, C.C.D.U. **Cycle of *Ornithodoros rostratus* Aragão, 1911 (Acari: Argasidae) using domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as experimental hosts.** 2011. 31p. Thesis (Master of Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2011.

Ornithodoros rostratus is an argasid tick, which parasitizes various animals such as dogs, pigs, cattle, goats, and also humans. In Brazil the species has been described from São Paulo, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Goiás and Minas Gerais. The aim of this work was to evaluate parameters of its life cycle using the domestic rabbits as experimental host and a population of tick collected in the Pantanal of Mato Grosso - Brazil. The experiment has measured the parameters of all phases of life cycle of *O. rostratus* fed individually onto the back of rabbits restrained a glass jar until attachment. For the larval stage the pre-attachment period was 5.2 ± 2.9 minutes, feeding period of 33.5 ± 13 minutes and the percentage of molt 81.74%. The nymphal instars ranged from 3-6. The mean duration of pre-attachment and feeding periods of first to the fifth instar nymphs ranged from 4.4 to 6.4 minutes and 17.3 to 39.2 minutes, respectively. The engorgement weight of nymphs increased from 1.2 mg in first instars to 58.1 mg in fifth instar. Among the nymphal instars, the third instar nymph showed longest pre-molt period with an average of 16.1 days. The percentage of ecdyses, ranging from 71.8% (Nymph 1) to 80.8% (Nymph 5). Most females emerged from fifth instar nymphs while males emerged from fourth instar nymphs. In the adult stage only the females were fed and had an average of pre-attachment period of 6.4 minutes and feeding period of 45.4 minutes. The average weight gain was 150.1 mg. The oviposition starts with an average of 6.2 days lasting between 6-14 days. The average total weight of eggs was 58.8 mg with a total average of 555.5 eggs. The pre-hatching period averaged 12.7 days, the hatching period 6-15 days and the percentage of eclosion 75.9%. The species *Ornithodoros rostratus* can be fed on rabbits for maintenance of colonies in the laboratory.

Keywords: *Ornithodoros rostratus*, life cycle, experimental.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Média e desvio padrão de parâmetros biológicos de larvas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos. 14
- Tabela 2** - Parâmetros biológicos da fase parasitária período de pré-fixação (min.) e período alimentar (min.) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos. 15
- Tabela 3** - Média e desvio padrão do peso antes (mg) da alimentação, peso após ingurgitamento (mg) e ganho de peso médio (mg) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos. 16
- Tabela 4** - Parâmetros biológicos da fase não parasitária: período médio pré- ecdise (dias) e percentual de ecdise (%) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos, mantidos em estufas tipo B.O.D. ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $80 \pm 10\%$). 18
- Tabela 5** – Peso médio e parâmetros parasitários de ninfas ingurgitadas dos diferentes instares de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos, com prognóstico para sexo dos adultos. 20
- Tabela 6** - Parâmetros biológicos da fase parasitária: período de pré-fixação (min.) e período alimentar (min.) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos 22
- Tabela 7** - Média e desvio padrão do peso antes da alimentação (mg), peso após ingurgitamento (mg) e ganho de peso (mg) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos. 22
- Tabela 8** - Parâmetros biológicos da fase não parasitária: período médio pré- postura (dias), período médio de postura (dias), número médio de ovos por postura, peso médio da postura (mg) e índice de produção de ovos (%) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos e período de pré-eclosão (dias), período de eclosão (dias) e percentual de eclosão (%) de larvas. 25

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Lesões equimóticas causadas por picadas de *Ornithodoros rostratus* em perna de humanos (CANÇADO, 2008). 3
- Figura 2.** Espécimes de *Ornithodoros rostratus* armazenados em estufas tipo B.O.D., mantidos individualmente em seringas com buchas de algodão. 7
- Figura 3.** Larvas de *Ornithodoros rostratus* sendo contidas por um frasco de vidro no dorso de coelho. 9
- Figura 4.** Ninfas de *Ornithodoros rostratus* em processo de alimentação no dorso de coelho. 11
- Figura 5.** Método de alimentação de fêmea de *Ornithodoros rostratus* em dorso de coelhos, contida por frasco. 11
- Figura 6.** Gráfico em coluna de média e desvio padrão de ganho de peso dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos. 17
- Figura 7.** Lesão causada pela alimentação de ninfas *Ornithodoros rostratus* em coelhos. 17
- Figura 8.** Alimentação de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* em coelhos, no momento da liberação do líquido coxal. 21
- Figura 9.** Alimentação de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* em coelhos, com a formação de lesões na pele tipo equimoses. 21
- Figura 10.** Acasalamento de *Ornithodoros rostartus* em placas de Petri em dois momentos, sendo A o momento inicial com liberação de secreção escura e B o momento da união. 23
- Figura 11.** Gráfico de ritmo de oviposição de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos, mantidas em estufas tipo B.O.D. ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $80 \pm 10\%$). 24
- Figura 12.** Esquema do ciclo biológico médio de *Ornithodoros rostratus* utilizando coelhos como hospedeiros experimentais. 26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Histórico	2
2.2 Distribuição geográfica	2
2.3 Especificidade parasitária	3
2.4 Importância para saúde pública	4
2.5 Particularidades do ciclo biológico de <i>Ornithodoros rostratus</i>	4
2.6 Particularidades do ciclo biológico de outras espécies do gênero	6
3 MATERIAL E MÉTODOS	8
3.1 Local	8
3.2 Obtenção dos espécimes	8
3.3 Hospedeiro utilizado	8
3.4 Procedimento experimental	8
3.4.1 Etapa de larvas	9
3.4.2 Etapa de ninfas	10
3.4.3 Etapa de adultos	11
3.5 Análise estatística	12
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	13
4.2 Parâmetros biológicos de larvas de <i>Ornithodoros rostratus</i> alimentadas em coelhos	13
4.3 Parâmetros biológicos de ninfas de <i>Ornithodoros rostratus</i> alimentadas em coelhos	14
4.4 Parâmetros biológicos de adultos de <i>Ornithodoros rostratus</i> alimentados em coelhos	20
5 CONCLUSÕES	27
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos são invertebrados, classificados na subclasse Acari e parasitas obrigatórios.

A literatura atual registra um total de aproximadamente 896 espécies de carrapatos classificados em três famílias Nutalliellidae, Ixodidae e Argasidae, sendo a primeira de menor importância com apenas uma espécie e as duas últimas mais importantes, incluindo a maioria das espécies descritas até os dias de hoje.

Estes artrópodes utilizam como hospedeiros mamíferos, aves, répteis e anfíbios e sua distribuição é mais concentrada nas regiões tropicais e subtropicais. Apresenta grande importância, tanto para saúde pública, como vetores de zoonoses em sua totalidade causadas vírus, bactérias, protozoários e riquetsias (ESTRADA-PENÃ; JORGEJAN, 1999), como para animais e para economia, com prejuízos econômicos de milhões de dólares (GRISI et al., 2002).

No Brasil estão descritas 61 espécies, pertencentes a nove gêneros, consideradas endêmicas ou estabelecidas, entre eles *Argas*, *Antricola*, *Carios*, *Ornithodoros*, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemaphysalis*, *Ixodes* e *Rhipicephalus* (DANTAS-TORRES et al., 2009).

Algumas dessas espécies ainda carecem de informações sobre biologia e ecologia, principalmente em um momento em que é visível a degradação ambiental e que cada vez mais o habitat desses espécimes vem sendo alterado, resultando em um desequilíbrio das relações parasito-hospedeiro, e com isso uma modificação em seus hábitos de parasitismo, o que coloca diversas regiões em alerta como foco para o surgimento de doenças parasitárias, emergentes e re-emergentes transmitidas por carrapatos (BECHARA et al., 2000; DASZAK et al., 2000).

Esta dissertação faz parte de um projeto de pesquisa sobre a fauna ixodológica de animais silvestres e domésticos no Pantanal sul Mato-grossense (Sub-região da Nhecolândia), cujo objetivo principal é ampliar o conhecimento sobre a biologia e ecologia de carrapatos, imprescindível para a elaboração de projetos de vigilância epidemiológica, manejo adequado da fauna silvestre e programas de controle de doenças de importância médico-veterinária.

A espécie de argasídeo *Ornithodoros rostratus* (ARAGÃO, 1911) é um carrapato recentemente diagnosticado parasitando porco monteiro, cães e humanos (J.L.H.Faccini, comunicação pessoal) nesta região. Dados sobre a biologia e ecologia da espécie em tela são escassos na literatura.

Em algumas espécies de argasídeos, assim como a temperatura e umidade, a biologia é fortemente influenciada pela interação com seus hospedeiros (SONENSHINE, 1991), por isso a necessidade de se conhecer a evolução do ciclo e também um modelo animal específico para cada ação estudada, esperando sempre o melhor resultado.

O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros relacionados ao ciclo biológico de *O. rostratus* utilizando coelhos domésticos, testando também a eficiência do parasitismo no modelo animal dessa espécie, agregando informações adicionais ainda inéditas sobre o ciclo biológico de uma população de carrapatos coletada no Pantanal sul Mato-grossense – Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

A família Argasidae está composta por 193 espécies. Esta família ainda apresenta muitas divergências quanto aos gêneros, sendo a classificação dos mesmos muito menos resolvida do que os gêneros da família Ixodidae. Exemplos de classificação dos gêneros incluem Clifford et al. (1964), Filippova (1966), Pospelova-Shtrom (1969), Camicas e Morel (1977), Hoogstraal (1985), Klompen e Oliver (1993), Camicas et al. (1998), Keirans (2009) e Guglielme et al. (2010).

Ornithodoros rostratus, a espécie do estudo, foi descrita por Aragão, em 1911, por meio de espécimes recolhidos nas margens do Rio Guaporé, no estado do Mato Grosso. No entanto, não foi citado em que hospedeiro foi encontrado nem a quantidade de espécimes, somente constando que a descrição foi feita com numerosos machos e fêmeas.

Uma segunda coleção foi estudada (ARAGÃO, 1916) contendo uma fêmea e três ninfas conservadas, oriundas de Indiyá no estado de Goiás. O autor referencia a espécie como chamada pelos populares de “carrapato de chão”, por viver enterrado no chão das taperas, saindo periodicamente para se alimentar de sangue humano ou qualquer animal que visite a esses lugares. Os habitantes da localidade informam sobre formação de úlceras e picada muito dolorosa. Não foi possível verificar a presença de algum tipo de patógeno, comprovada por pesquisas microscópicas e por experimentos feitos em cobaias, coelhos e saguis, além de não ter se observado a evolução e transmissão do *Treponema gallinarum* e *Tripanosoma cruzi*, como observado anteriormente com *Ornithodoros moubata*.

Brumpt (1915) foi o primeiro a publicar dados sobre o ciclo biológico de *O. rostratus*, pois até então somente constavam trabalhos quanto à morfologia e outros sobre transmissão de vetores.

Em Aragão (1931), encontra-se uma descrição morfológica detalhada de *O. rostratus*, *Ornithodoros turicata* e *Ornithodoros brasilienses*, principalmente para evidenciar as diferenças, pelo fato das três espécies apresentarem uma grande similaridade e serem frequentemente confundidas. Este trabalho tornou a identificação dessas espécies muito mais fácil, evitando dúvidas que pairavam naquela época.

Até os dias atuais não são encontrados na literatura trabalhos sobre a biologia de *O. rostratus*, apenas o artigo de Guglielme e Hadani (1980) que relata de forma um pouco mais abrangente que os dados encontrados por Brumpt (1915), em estudos sobre o ciclo biológico da espécie em questão.

2.2 Distribuição geográfica

O gênero *Ornithodoros* no mundo envolve aproximadamente 100 espécies, sendo que 47 ocorrem nos neotrópicos e 37 delas são endêmicas (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

Ainda, segundo Barros-Battesti et al. (2006), no Brasil já foram descritas cinco espécies de *Ornithodoros*, sendo *Ornithodoros jul*, *Ornithodoros talage*, *Ornithodoros brasilienses*, *Ornithodoros hasei* e *O. rostratus*.

A espécie possui uma ampla distribuição geográfica e se estende por diversos países da América do sul. É assinalado no Brasil, Bolívia, Argentina e Paraguai. No Brasil inicialmente era encontrado em larga extensão na região central como: Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Goiás, depois foi verificada sua presença também na região sudeste, nos estados de São Paulo e Minas Gerais (ARAGÃO, 1931, 1936; BARROS-BATTESTI et al., 2006). Na Bolívia, é encontrada na região de divisa com o Brasil e no Chaco boliviano (ARAGÃO, 1936), uma região de planície arborizada que muito se assemelha com a paisagem pantaneira.

2.3 Especificidade parasitária

A espécie apresenta baixa especificidade quanto ao seu parasitismo, se alimentando bem tanto em animais silvestres quanto em animais que estejam fora desse ambiente.

Seus hospedeiros são frequentemente coelhos, ratos, cobaias, macacos, camundongos, saguis, mamíferos e aves, além de relatos do parasitismo em humanos, principalmente na região das pernas (ARAGÃO,1931;1936; GUIMARÃES et al., 2001).



Figura 1. Lesões equimóticas causadas por picadas de *Ornithodoros rostratus* em perna de humanos.(CANÇADO, 2008).

Relatos do parasitismo por *O. rostratus* em outras espécies de mamíferos também já foram reportados. Em um levantamento feito por Nava et al., (2007), *O. rostratus* foi coletado em *Panthera onca*, na cidade de Mariscal Estigarribia, localizada no Paraguai.

O experimento conduzido por Aragão (1936) demonstrou que exemplares de *O. rostratus*, os quais não foram mencionados os estágios, se alimentam muito bem em animais de sangue quente, tanto em mamíferos quanto em aves, mas quando essa alimentação acontece em animais de sangue frio, como observada, em quelônios e ofídios, os carrapatos não se opõem à alimentação, entretanto após a alimentação, era verificada a morte dos carrapatos, sendo esse fato comparado com o ocorrido em *O. moubata*. Já Venzal e Estrada-Peña (2006), pesquisando sobre alimentação de larvas de diferentes espécies de *Ornithodoros* em répteis da espécie *Tarentola mauritanica* e em mamíferos, puderam constatar que larvas de *O. rostratus* eram aptas a se alimentar em répteis, apresentando somente dados biológicos diferentes dos dados obtidos em mamíferos, como uma maior duração de alimentação larval.

Seu parasitismo é registrado também em animais de produção, principalmente por sua adequação a locais próximos a moradia humana. Há relatos na literatura de leitões que chegaram a óbito e de constante agitação em suínos, principalmente quando estão deitados, momento em que os carrapatos preferencialmente se alimentam, vindo a se desprender e voltar aos seus esconderijos por pequenas movimentações do hospedeiro. Manchas hemorrágicas deixadas pela picada do carrapato em suínos atrapalham sua comercialização (FLECHTMANN, 1973).

Na Argentina, Mancebo et al. (2002), observaram a dispersão de *O. rostratus* na província de Formosa, uma grande área de produção caprina, e constataram que o parasitismo feito por esse carrapato é considerado um limitante para economia da região.

2.4 Importância para saúde pública

Segundo Estrada-Peña e Jongejan (1999), o gênero *Ornithodoros* possui uma distribuição representativa de espécies que parasitam humanos, 22 espécies foram citadas parasitando humanos e destas 12 são encontradas frequentemente, contendo aproximadamente nove espécies no mundo com uma maior importância para transmissão de agentes patogênicos para humanos, como: *Ornithodoros asperus* (*Borrelia caucasica*), *Ornithodoros capensis* (Soldado vírus), *Ornithodoros coreaceus* (*Borrelia coraciae*), *Ornithodoros erraticus* (*Borrelia crocidurae*, *Borrelia hispanica*), *Ornithodoros hermsi* (*Borrelia hermesi*), *Ornithodoros maritimus* (Soldado vírus), *Ornithodoros moubata* (*Borrelia duttoni*), *Ornithodoros tartakovsky* (*Borrelia latyschevi*) e *Ornithodoros turicata* (*Borrelia turicatae*).

Ornithodoros rostratus em trabalhos mais antigos foi considerado bem pouco apto a transmitir qualquer tipo de patógenos para seus hospedeiros, comprovado por meio de experimentos feitos em laboratório, em que outras espécies do gênero se mostraram capazes de transmitir (ARAGÃO, 1931). Ainda na literatura de Aragão (1931), foi verificado que em tentativas de inoculação experimental do vírus da Febre Amarela em *O. rostratus* o vírus se conservou menos tempo do que em outros carrapatos como visto em *Amblyomma cajennense*.

Segundo Hoogstraal (1985), a espécie em questão foi considerada como possível vetor de *Rickettsia rickettsii*, agente causador da febre maculosa em humanos.

Mais recentemente, Almeida et al. (2009), averiguaram a ocorrência de *Rickettsia* spp., *Borrelia* spp. e agentes da família Anaplasmataceae em *O. rostratus*, pela técnica da PCR e verificaram que em um total de 32 carrapatos analisados, colhidos no Pantanal Sul Mato-grossense, todos foram negativos para *Rickettsia* spp., quatro foram positivos para Anaplasmataceae e cinco ninfas positivos para *Borrelia* spp., sendo que em adultos nenhuma positividade foi verificada.

Através desses novos relatos que surgem sobre a possível vetorização de doenças e os numerosos relatos de picada desde carrapato em humanos e seus animais domésticos (ARAGÃO, 1931, 1936; FLECHTMANN, 1973; CANÇADO, 2008), que é imprescindível um estudo detalhado sobre o vetor. Apoiando o estudo de Woolhouse (2002), que afirma que as constantes mudanças ecológicas são responsáveis para supor que doenças emergentes e re-emergentes continuarão e os fatores de risco específicos estão relacionados com o tipo de patógeno, via de transmissão e diversidade de hospedeiros.

2.5 Particularidades do ciclo biológico de *Ornithodoros rostratus*

Em contraste com ciclos de ixodídeos, os argasídeos apresentam muitos instares ninfais entre os estágios de larva e adultos. Com exceção de algumas espécies como: *Ornithodoros talage*, *Ornithodoros kelleyi*, *Ornithodoros concanensis*, *Ornithodoros coniceps*, *Ornithodoros portoricensis* e *Ornithodoros dugesi* (SONENSHINE; ANASTOS, 1960), todos os estágios necessitam de alimentação para realizarem suas mudas. Os adultos apresentam uma grande longevidade, com relatos de sobreviverem até 25 anos (SONENSHINE, 1993), as fêmeas produzem poucos ovos e fazem mais de uma postura em seu ciclo de vida, podendo ser esse um mecanismo de adaptação à escassez de hospedeiros ou variabilidade climática (VIAL, 2009).

Muito pouco é encontrado na literatura sobre a biologia de *O. rostratus*, se limitando apenas ao artigo de Brumpt (1915) e Guglielmone e Hadani (1980), que relatam superficialmente dados sobre o ciclo biológico da espécie em tela.

Este carrapato é considerado uma espécie silvestre de tamanho considerável, medindo uma fêmea aproximadamente 13,4 mm de comprimento por 9 mm de largura, e quando ingurgitada pesando até 450 mg (ARAGÃO, 1936; GUIMARÃES et al., 2005).

Segundo Flechtmann (1973), esta espécie necessita de certa umidade para sobreviver, sendo mais abundante na época das chuvas, concordando com as observações de populares que relatam sua maior presença na época de chuvas. Aragão (1936) assinala tal observação na criação de laboratório desses carrapatos, quando a umidade não era o bastante a colônia tinha prosseguimento, no entanto não ocorriam posturas e aos poucos a colônia era eliminada, quando em uma segunda colônia a condição de umidade foi maior, sendo umedecida de 8 em 8 horas houve postura e a continuidade da colônia.

Sua alimentação é bastante rápida comparando com ixodídeos, por isso há certa dificuldade de encontrar esses carrapatos sobre o hospedeiro.

Em Guglielmonne e Hadani (1980), o experimento foi conduzido com uma umidade relativamente alta, de aproximadamente 90%, satisfazendo as observações supracitadas por Aragão (1936), temperatura de 29° C e o modelo animal utilizado foi o cobaio (*Cavia porcellus*). Brumpt (1915) trabalhou com uma temperatura de 20 - 25°C e o ingurgitamento ocorreu em cães (*canis familiaris*) e galinhas (*Gallus gallus*).

A espécie em questão faz várias mudas durante seu ciclo de vida, ambos os trabalhos supracitados encontraram um estágio de larva, 3-5 estágios ninfais, em que alguns exemplares mudaram para adulto no estágio de ninfa 3, outros no estágio 4 e outros no estágio 5 (GUGLIELMONE; HADANI, 1980)

O período de incubação observado foi de 11 dias, o percentual de eclosão não pode ser observado, pois os carrapatos se encontravam em frascos contendo areia, o que dificultava a observação. Na alimentação de larvas foi verificado que 33% das larvas colocadas se desprenderam em até 24 horas, e continuou recuperando larvas até as 72 horas, após esse período. Aproximadamente 20% das larvas colocadas não completaram o processo de ingurgitamento e foram retiradas (GUGLIELMONE ;HADANI, 1980). Segundo Brumpt (1915), as larvas só começaram a se desprender a partir do segundo dia de alimentação, sendo o último dia de recuperação o oitavo.

Venzal e Estrada-Peña (2006), em um estudo examinando o desempenho de larvas de *Ornithodoros puertoricensis* e *O. rostratus* na alimentação em répteis, em comparação com mamíferos, observaram que a média do período alimentar de *O. rostratus* em coelhos foi de 2,9 dias e quando alimentadas as larvas em répteis essa média subiu para 4,9 dias .

A necessidade de alimentação das ninfas de primeiro instar é observada, o que difere de outras espécies do gênero como *O. talage*, *O. kelleyi*, *O. concanensis*, *O. coniceps*, *O. portoricenses*, *O. dugesi* (SONENSHINE; ANASTOS, 1960), que não necessitam de uma alimentação nesta fase e a muda ocorre após um pequeno período.

Quanto ao tempo de ecdise de cada instar, houve diferenças entre os trabalhos de Guglielmonne e Hadani (1980) e Brumpt (1915). O primeiro trabalho registrou quatro dias para a muda de ninfas de primeiro instar, sete a oito dias para as ninfas de segundo instar, nove a 11 para as ninfas de terceiro instar, 10 dias para as ninfas de quarto instar, 12-13 para as ninfas de quinto instar e 13-14 para muda para adultos. Já o segundo autor, informou um tempo maior para a ocorrência das mudas, sendo seis dias para muda para ninfas de primeiro instar, 10-20 para ninfas segundo instar, 10-20 para ninfas de terceiro instar e para os outros estágios de ninfas o período para evento da muda não foi mencionado.

A emergência de adultos ocorre a partir de ninfas de terceiro instar, nos dados apresentados por Guglielmonne e Hadani (1980), surgindo deste instar somente machos. A aparição de fêmeas acontece somente a partir de quarto instar ninfal, em que também mudam muitas ninfas para machos. Nas mudas feitas a partir de ninfas de quinto instar, há uma sobreposição de fêmeas em relação a machos. Observou-se que 338 larvas deram origem a 28

machos e 25 fêmeas. Na observação feita por Brumpt (1915), a emergência de adultos acontece somente a partir de ninfas de quarto instar, não mencionado quantos exemplares deram início a sua colônia, apenas reportando o emergência de seis espécimes adultas totais.

Nos trabalhos citados, não há registros sobre dados de período alimentar, período pré-fixação dos instares ninfais e dados relativos à fase de adultos.

2.6 Ciclo biológico de outras espécies do gênero

Em argasídeos, dentro do gênero *Ornithodoros* spp., os ciclos biológicos são similares, havendo apenas pequenas variações em alguns parâmetros, como número de estágios ninfais, tempo de alimentação, que geralmente é curto, necessidade ou não de repasto sanguíneo para muda ninfal, entre outros.

Sonenshine e Anastos (1960) fizeram observações sobre o ciclo de vida de *O. kelleyi*, conhecido como carrapato de morcegos ou de refúgios de morcegos. A colônia foi estabelecida por 154 carrapatos colhidos de fendas e rachaduras de paredes, que eram mantidos a 30°C, com umidade relativa de 77%.

El Shoura (1987) verificou a biologia de *O. (Pavlovskyella) erraticus*, mantidos em uma temperatura de 28-29°C e umidade relativa de 75%. A fase de larva foi alimentada em roedores enquanto as fases de ninfas e adultos foram alimentadas em pombos.

Khalil et al. (1986), também trabalhando com *O. (Pavlovskyella) erraticus*, avaliaram o efeito alimentar em fêmeas, com o objetivo de estudar a fecundidade e oviposição em diferentes alimentações. As fêmeas alimentadas pela primeira vez apresentaram uma postura menor em número de ovos que nas demais, sugerindo os autores que para as fêmeas de primeira postura necessitam ter uma reserva ainda para desenvolver seu aparelho reprodutor.

Características do ciclo de *Ornithodoros muesebecki* foram estudadas por Hoogstraal et al. (1970) e foi verificado o término do ciclo em 43-85 dias, período muito pequeno comparado a outras espécies de *Ornithodoros* spp. Talvez individualizada por não apresentar alimentação em estágio de ninfas 1, mudando para ninfas de segundo estágio com apenas 4-7 dias após sua muda de larva para ninfa.

Peculiaridades do ciclo de *O. turicata* também são destacadas em Beck et al. (1986), com uma colônia originada de carrapatos coletados em toca de tortoises na Flórida. Em laboratório esses carrapatos foram mantidos sob temperatura de 27°C e umidade de 95%. O ciclo apresentou de até seis instares de ninfas que foram alimentados em camundongos. Nesta espécie os autores ressaltam que muitos carrapatos, especialmente ninfas seis e cinco, não fazem alimentação e morreram, ou necessitam de uma segunda alimentação para mudarem.

A adequação de diversos hospedeiros de *O. moubata* foi avaliada por Mango e Galun (1977). Foram utilizados quatro diferentes hospedeiros sendo eles aves, cobaias, ratos e coelhos, e ainda outra comparação foi feita com dados obtidos de carrapatos silvestres coletados de tocas de uma espécie silvestre da família de suínos, corroborando os achados de Galun et al. (1978), que assegurou aves e coelhos como melhores hospedeiros experimentais de *O. moubata*, mas ainda obtendo melhores rendimentos em carrapatos da toca de porcos selvagens.

Observações sobre a fecundidade e cópula no ciclo biológico de *O. moubata* (AESCHLIMANN e GRANDJEANS, 1973) foram estudadas com diferentes tratamentos, sendo dividido um grupo de fêmeas que foram induzidas a uma cópula após a primeira alimentação, outro grupo diversas cópula após a primeira alimentação e outro com uma cópula após todas as alimentações. Os resultados obtidos em laboratório apontaram um máximo de oito oviposições por ciclo em todos os três grupos, não influenciando o número de vezes de cópula para sua fecundidade, assegurando a fertilidade, com várias oviposições viáveis. As fêmeas que acasalaram após cada alimentação obtiveram uma maior viabilidade da prole, mas em contrapartida diminuíram em longevidade.

Em um estudo *O. tholozani* , mantido em uma temperatura de 28° C, foi testado diferentes possíveis hospedeiros experimentais, os animais utilizados foram de seis espécies entre, coelhos, aves, cobaias, ratos, camundongos e hamsters (GALUN et al., 1978) . Todos os hospedeiros tiveram um comportamento semelhante, no volume de sangue ingerido, na alta conversão de sangue em ovos e na baixa mortalidade, levando a acreditar que para esta espécie o hospedeiro não influencia em nenhum estágio do seu ciclo biológico, diferindo de algumas espécies do gênero.

Com a finalidade de determinar se existe relação entre peso de ninfas com produção de machos e fêmeas de *Ornithodoros parkeri*, Pound et al. (1986) separaram ninfas em diferentes classes de pesos, para avaliar qual classes originavam mais machos e mais fêmeas. Neste experimento, os autores concluíram que de ninfas de classes mais leves emergiam um maior número de machos, já classes intermediarias machos e fêmeas e de classes mais altas de peso emergiam fêmeas.

Estudos desse perfil se assemelham com os feito por Hefnawy et al.,(1979), que utilizaram *O. (O.) savignyi* oriundos de camelos, equinos e bovinos encontrados em um deserto. Os carrapatos eram mantidos em laboratório sob uma temperatura de 32^oC e umidade relativa de 84%. Os autores averiguaram a influencia do peso do sangue ingerido no desenvolvimento de *O. (O.) savignyi*. A dinâmica do trabalho revelou que o ciclo apresentava até sete instares ninfais antes de emergirem adultos. Só machos emergiram a partir do quarto instar ninfal e fêmeas em sua maioria (90%), apareceram a partir do quinto instar ninfal.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. NEITZ (E.E.P.P.W.O.N.) do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizado no município de Seropédica, RJ.

3.2 Obtenção dos espécimes

Os carrapatos utilizados neste experimento foram coletados na fazenda da EMBRAPA PANTANAL, região da Nhecolândia (latitude 19° 03' S, longitude 56° 47' O), no Pantanal Matogrossense. A espécie do atual trabalho foi identificada como *O. rostratus* Aragão, 1911. A identificação específica foi confirmada pela Dra. Darci Barros-Battesti, curadora da Coleção Acarológica do Instituto Butantan, SP, por meio de características morfológicas.

A colônia de *O. rostratus* originou-se de um casal de carrapatos coletado no ambiente, em um curral rústico de bovinos. Estes foram alimentados em coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) para a obtenção dos dados sobre a fase parasitária. E para a obtenção dos dados sobre a fase de vida livre, os carrapatos foram mantidos em estufas tipo B.O.D. (Biological Oxygen Demand) em condições controladas de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa superior a 80%.

3.3 Hospedeiro utilizado

Foram utilizados 17 exemplares da espécie *Oryctolagus cuniculus*, mestiços Califórnia x Nova Zelândia, com idade entre 60 e 90 dias, de ambos os sexos, provenientes do Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ, sem contato prévio com carrapatos e produtos acaricidas. Os coelhos eram substituídos a cada ciclo de infestações.

Durante a etapa experimental, os animais foram mantidos no coelhário em condições ambientais e alojados em gaiolas individuais, onde receberam ração comercial para coelhos e água *ad libitum*. O experimento foi conduzido de acordo com o protocolo de princípios éticos em pesquisa animal adotado pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

3.4 Procedimento experimental

O experimento analisou separadamente as fases de ovo, larva, diversos instares ninfais e adultos. Todas as alimentações foram feitas sob luz, sem o uso de câmaras escuras em um ambiente de aproximadamente 25°C . Para a obtenção dos dados foram utilizados integrantes da primeira geração de laboratório e parte dos exemplares da segunda geração de laboratório para complementação dos dados contidos neste trabalho. Todas as alimentações foram feitas respeitando um intervalo de aproximadamente 45 dias para todos os estágios do ciclo, com exceção do estágio de larvas, que foram efetuadas com 35 dias de jejum, por apresentarem uma maior sensibilidade.

Todos os carrapatos foram mantidos e alimentados individualmente para um melhor controle da colônia e observação dos processos biológicos.



Figura 2. Espécimes de *Ornithodoros rostratus* armazenados em estufas tipo B.O.D., mantidos individualmente em seringas com buchas de algodão (Figura 2).

3.4.1 Etapa de larvas

As infestações foram realizadas na região dorsal de coelhos após tricotomia local. Cada carrapato foi alimentado um a um, sendo contido por um frasco de vidro até ser observada a sua fixação (Figura 3).



Figura 3. Larvas de *Ornithodoros rostratus* sendo contidas por um frasco de vidro no dorso de coelho.

As larvas após o desprendimento da alimentação, eram limpas e acondicionadas em seringas de 3mL, individualmente vedadas, contendo duas buchas de algodão em seu interior, técnica fundamental para sobrevivência das mesmas. No dia posterior às alimentações, se retirava as buchas de algodão para uma melhor visualização das ecdises. Este material foi mantido em estufa tipo

B.O.D. em condições controladas de $27 \pm 1^\circ \text{C}$, umidade relativa superior a $80 \pm 10\%$ para acompanhamento dos parâmetros analisados e listados a seguir:

1. Período médio de pré-fixação - definido do momento em que o carrapato foi exposto ao hospedeiro até o momento de sua fixação.
2. Período médio de alimentação - definido do momento em que o carrapato se fixou ao hospedeiro até o momento de seu desprendimento.
3. Período médio de pré-ecdise - definido do momento em que o espécime ingurgitado se desprende do hospedeiro até o momento em que ocorreu a ecdise.
4. Percentual de ecdise - definido como o número de carrapatos que completaram a muda em relação ao número total de indivíduos que não completaram.

3.4.2 Etapa de ninfas

Para os parâmetros peso anterior a alimentação, peso após a alimentação e o grau de ingurgitamento, aplicado como o peso posterior à alimentação subtraído do peso aferido antes da alimentação, os carrapatos foram pesados antes da alimentação, individualmente, em balança analítica (Sartorius BL210s) e mantidos em contato com a pele do respectivo hospedeiro, por meio de contenção individual por frasco de vidro até o momento da fixação. Após o período alimentar, foi aferido o peso novamente, para avaliar a diferença de pesos antes e depois da alimentação, o que conferiu o grau de ingurgitamento sanguíneo no hospedeiro.

Posteriormente as ninfas ingurgitadas foram limpas e acondicionadas em seringas de 3mL individualmente vedadas. Durante todo o período não parasitário, todos os exemplares foram mantidos em estufa tipo B.O.D. com temperatura de $27 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 10\%$ para acompanhamento do processo de muda.

Para o delineamento experimental relacionado com o estágio de ninfas, foram formados grupos de espécimes de cada instar ninfal de acordo com a disponibilidade das colônias. Os mesmos indivíduos que participaram da aferição do grau de ingurgitamento foram os mesmos utilizados nos parâmetros relativos aos outros dados biológicos, observando que os números de indivíduos são diferentes por serem apenas levados em consideração aqueles que efetuaram apenas uma alimentação para completarem sua muda.

Os parâmetros observados foram os seguintes:

1. Período médio de pré-fixação - definido do momento em que o carrapato foi exposto ao hospedeiro até o momento de sua fixação.
2. Período médio de alimentação - definido do momento em que o carrapato se fixou ao hospedeiro até o momento de seu desprendimento.
3. Grau de ingurgitamento sanguíneo - aferimento do peso posterior à alimentação subtraído do peso antes da alimentação.
4. Período médio de pré- ecdise - definido do momento em que o espécime ingurgitado se desprende do hospedeiro até o momento em que iniciou a ecdise.
5. Percentual de ecdise - definido como o número de carrapatos que completaram a muda em relação ao número total de indivíduos alimentados previamente.

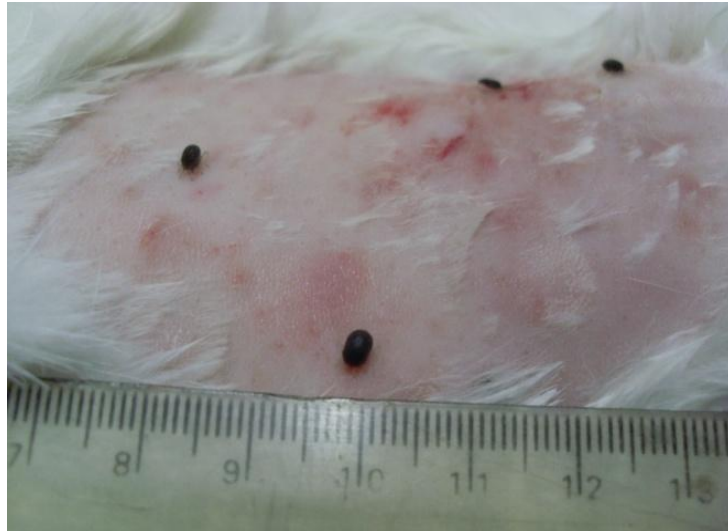


Figura 4. Ninfas de *Ornithodoros rostratus* em processo de alimentação no dorso de coelho.

3.4.3 Etapa de adultos

Na etapa de adultos, os procedimentos quanto à criação foram semelhantes aos relacionados com as ninfas, sendo que somente as fêmeas foram alimentadas.

Os exemplares foram pesados e alimentados de forma idêntica aos procedimentos supracitados no tópico referente às ninfas. As fêmeas já ingurgitadas após o desprendimento foram colocadas em placas de Petri juntamente com um exemplar macho para que ocorresse a cópula, que foi atentamente acompanhada. Após a cópula os machos eram retirados e as fêmeas lavadas com detergente neutro e secas em papel absorvente. Em uma nova placa de Petri eram acondicionadas para o início de suas respectivas posturas. Após o período de pré-oviposição das fêmeas, os ovos eram coletados diariamente, contados, pesados e separados por dia de postura em frascos de vidro de 3 mL de capacidade.

Os frascos eram observados diariamente para melhor identificação do processo de eclosão larval.



Figura 5. Método de alimentação de fêmea de *Ornithodoros rostratus* em dorso de coelhos, contida por frasco.

Os parâmetros selecionados para análise desta fase do ciclo foram:

1. Período médio de pré-fixação - definido do momento em que o carrapato foi exposto ao hospedeiro até o momento de sua fixação.
2. Período médio de alimentação - definido do momento em que o carrapato se fixou ao hospedeiro até o momento de seu desprendimento.
3. Grau de ingurgitamento sanguíneo de fêmeas - aferimento do peso posterior à alimentação das fêmeas subtraído do peso anterior a alimentação.
4. Período médio de pré-postura (pré-oviposição) - tempo decorrido desde a coleta da fêmea ingurgitada até o início da oviposição.
5. Período médio de postura - intervalo de tempo compreendido entre o início da postura e a postura dos últimos ovos.
6. Peso médio da postura - peso, em miligrama, do total de postura colocado pela fêmea ingurgitada.
7. Ritmo de oviposição - São os ovos contados desde o dia inicial até o final da postura, sendo assim possível, por meio de médias, estabelecer um gráfico correspondente ao ritmo de sua oviposição.
8. Índice médio de produção de ovos - relação da postura total da fêmea com o seu peso inicial, ou seja o quanto de sangue ingerido foi transformado em ovos.

$$\text{I.P.O} = \frac{\text{Peso da massa de ovos (mg)}}{\text{Peso inicial da fêmea ingurgitada (mg)}} \times 100$$

9. Período médio de pré-eclosão - período transcorrido entre o dia inicial da postura até a emergência da primeira larva.
10. Período médio de eclosão - compreendido entre o aparecimento da primeira e da última larva.
11. Percentual de eclosão - percentual estimado de larvas que eclodiram em relação ao total de ovos colocados.

3.5 Análise Estatística:

Os dados do presente estudos foram previamente submetidos à verificação da normalidade por meio do programa INSTAT e então analisados pela análise de variância (ANOVA) com significância de 5%, com objetivo de verificar a existência de possíveis diferenças significativas relacionadas com os diferentes instares ninfais. O Teste de Tukey foi utilizado para comparações múltiplas, dois a dois, para localizar entre quais grupos existem essa diferença, mediante a diferença significativa da ANOVA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Parâmetros biológicos de larvas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos

Um total de 115 larvas foram alimentadas conforme os procedimentos experimentais citados anteriormente. Os parâmetros relativos a larvas de *O. rostratus* foram analisados e expostos na Tabela 1, sendo encontrado um período de pré-fixação de $5,2 \pm 2,9$ minutos e período alimentar de $33,5 \pm 13$ minutos. Algumas larvas continuaram fixadas por um longo período, sem manifestar nenhum ingurgitamento e prosseguiram nesta situação até o momento em que a maioria das larvas já haviam se desprendido. Estas foram retiradas e descartadas, representando um percentual pequeno do total de larvas.

Segundo Guglielmone e Hadani (1980), a maioria das larvas de *O. rostratus* se fixaram prontamente sobre o hospedeiro, notando-se que parte delas se alimentaram rapidamente, seguindo sua recuperação por até 72 horas após o início da alimentação e sobrando ainda algumas larvas que não completaram seu ciclo de alimentação. Brumpt (1915) observou na alimentação da espécie em tela em cães que a recuperação das larvas se deu entre 2-8 dias.

De acordo com Venzal e Estrada-Peña (2006), a alimentação de larvas de *O. rostratus* foi comparada com a alimentação de *O. puertoricensis* em diferentes hospedeiros mamíferos e em répteis. Quando alimentação ocorreu em répteis o desprendimento da primeira larva de *O. rostratus* se deu em 1,5 horas e da última em 10 dias, com uma média de 4,5 dias. Já em *O. puertoricensis* a primeira larva despendeu-se com 16,3 dias e a última com 27,6 dias, com uma média de 21,1 dias. Quando *O. rostratus* foram alimentados em mamíferos o período alimentar foi de 2,9 dias, bem mais alto dos que os obtidos no presente estudo, certamente uma média estabelecida por levar em consideração os carrapatos que não se alimentam prontamente. Segundo Venzal e Estrada-Peña (2006), a alimentação de larvas de *O. rostratus* em répteis apresenta um período bem maior que em mamíferos.

Dados de *O. turicata americanus* (BECK et al., 1986) apontam um período pré-alimentar de larva de 3,42 dias, para *O. (Pavlovskyella) erraticus* (EL SHOURA, 1987) 7,8 dias e *O. muesecki* (HOOGSTRAAL et al., 1970) um período de 4,1 dias, provavelmente desviando dos da espécie do estudo pelo método de alimentação não ser coletiva e sim individual e precisa.

Na observação feita por Sonenshine e Anastos (1960) em *O. kelleyi*, o período alimentar foi bastante alto com uma amplitude de 9-20 dias, comparado com a amplitude 13-66 minutos de *O. rostratus* nesse estudo, que é semelhante ao período alimentar de *O. turicata americanus* (BECK et al., 1986) com uma média de 19,60 minutos e *O. (Pavlovskyella) erraticus* (EL SHOURA, 1987) com uma média de 7,8 minutos, sendo este parâmetro bem diferenciado entre as espécies, algumas apresentando dias enquanto outras completando sua alimentação em minutos.

O período pré- ecdise encontrado foi de $6,8 \pm 1$ dias, sendo um pouco mais alto do que o observado por Guglielmone e Hadani (1980), que encontraram uma média de 4 dias, e próximo de Brumpt (1915), que encontrou uma média de 6 dias. As outras espécies de *Ornithodoros* spp. não diferiram significativamente quanto ao período pré-ecdise de larvas de *O. rostratus* encontrado.

Em trabalhos relativos com a espécie estudada, o percentual de ecdise não foi analisado, enquanto neste trabalho esse percentual médio foi de 81,74%, sendo um percentual relativamente alto, mudando então para ninfas de primeiro instar. Algumas dessas larvas necessitaram de um segundo repasto sanguíneo para a ecdise, mas estas não foram contabilizadas no trabalho, levando somente em consideração as que precisaram de um

repasto apenas. As larvas quando alimentadas em coelhos produzem uma pequena irritação cutânea que desaparecem em poucas horas.

Tabela 1 - Média e desvio padrão de parâmetros biológicos de larvas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos.

Parâmetros biológicos de larvas alimentadas em coelhos				
N	Período pré-fixação (min.)	Período alimentar (min.)	Período pré-ecdise(dias)	Percentual de ecdise (%)
115	5,2 ± 2,9 (2 - 10)	33,5 ± 13 (13 - 66)	6,8 ± 1 (5 - 9)	81,74

Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude. N = número de espécimes.

O peso de larvas não foi aferido como nos demais estágios devido a balança utilizada (Sartorius BL210s) aferir apenas pesos iguais ou superiores a 0,1 mg, sendo o peso de larvas menor, tanto não alimentada quanto após a alimentação.

Em todas as larvas alimentadas a liberação do líquido coxal não ocorreu corroborando com as outras espécies do gênero, que não apresentaram a liberação nesta fase do ciclo.

4.2 Parâmetros biológicos de ninfas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos

No estágio ninfal de *O. rostratus*, foi observado seis instares ninfais, diferindo dos achados por Guglielmone e Hadani (1980) e Brumpt (1915), os quais os instares ninfais variaram de 3-5, apresentando então um relato inédito para esta espécie. Algumas dessas ninfas necessitaram de um segundo repasto sanguíneo para a ecdise, concordando com Sonenshine e Anastos (1960) em *O. kelleyi* e Hoogstraal et al. (1970) em *O. muesebecki*, sendo estas não contabilizadas no estudo, por uma provável interferência nos dados relativos a pesos, considerando apenas as que precisaram de um repasto sanguíneo.

Os dados relativos ao estágio ninfal e seus respectivos instares estão dispostos nas Tabelas 2, 3, 4 e 5.

Quando observado os dados relativos à fase parasitária do estágio ninfal, o período pré-fixação apresentou períodos menores nas instares extremos, ninfa 1 e ninfa 5, com $4,4 \pm 7,5$ e $6,4 \pm 5,9$ minutos, respectivamente. Os instares intermediários, ninfa 2, ninfa 3 e ninfa 4 não variaram estatisticamente ($p > 0,05$) entre si apresentando um maior período o instar de ninfa 4, com uma média de $15,7 \pm 16,2$ minutos. Os dados referentes ao instar ninfal 6 não foram computados devido ao número reduzido de exemplares. Na análise do período alimentar, os três primeiros instares ninfais não tiveram diferença significativa ($p > 0,05$), sendo diferentes os períodos de ninfas 4 e ninfa 5, apresentando uma maior média no tempo alimentar de ninfas de quinto instar com uma média de $39,2 \pm 11,4$ minutos (Tabela 2). Nos trabalhos de Guglielmone e Hadani (1980) e Brumpt (1915), estes parâmetros para ninfas não foram aferidos.

Quando comparado com outras espécies de *Ornithodoros* spp. as maiores variações encontradas estão relacionadas com o período pré-alimentar. Em *O. turicata americanus* (BECK et al., 1986) o período pré-alimentar em ninfas foi de 3,42 dias em ninfas de primeiro instar a 12,98 dias para ninfas de sexto instar, assim como em *O. (Pavlovskyella) erraticus* (El SHOURA, 1987) que o período pré-alimentar encontrado variou de 3,1 dias a uma média de 5,7 dias para ninfas de quarto instar. Em *O. muesebecki* (HOOGSTRAAL et al., 1970) esse período apresentado variou de 3,3 dias para ninfas de segundo instar a 5,6 dias para ninfas de quarto instar. As diferenças encontradas provavelmente se explicam pelo método de

alimentação no presente estudo não ser coletiva e sim individual, o que leva a uma exatidão quanto aos momentos precisos.

Tabela 2 - Parâmetros biológicos da fase parasitária, período de pré-fixação (min.) e período alimentar (min.) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos.

Instares ninfais	Parâmetros biológicos		
	N	Período pré-fixação	Período alimentar (min.)
Ninfa 1	71	4,4 ^a ± 7,5 (1 - 35)	17,3 ^a ± 7,0 (3 - 45)
Ninfa 2	60	10,6 ^{b,c} ± 10,9 (1 - 45)	19,8 ^a ± 8,3 (3 - 43)
Ninfa 3	52	10,2 ^{b,c} ± 8,8 (1 - 37)	22,0 ^a ± 11,1 (7 - 48)
Ninfa 4	44	15,7 ^c ± 16,2 (1 - 59)	31,5 ^b ± 13,0 (6 - 61)
Ninfa 5	26	6,4 ^{a,b} ± 5,9 (1 - 28)	39,2 ^c ± 11,4 (21 - 65)

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5%. Na seqüência vertical: média e desvio padrão, amplitude. N = número de espécimes. Ninfa1 = ninfas de 1º instar, Ninfa 2 = ninfas de 2º instar, Ninfa 3 = ninfas de 3º instar, Ninfa 4 = ninfas de 4º instar e Ninfa 5 = ninfas de 5º instar.

O período alimentar de *O. rostratus* e outras espécies do gênero mencionadas acima se mantiveram bem equivalentes.

O grau de ingurgitamento dos instares ninfais de *O. rostratus* em coelhos e sua relação com a emergência de machos e fêmeas não são encontrados na literatura, sendo esse parâmetro inédito e importante para a manutenção de colônias, assim como para todo o ciclo biológico e para todo processo que decorrerá até a existência de adultos.

As observações referentes à média do grau de ingurgitamento, assim como médias de peso antes e após o ingurgitamento, estão dispostas na Tabela 3 e Figura 6.

As ninfas de primeiro instar de *O. rostratus* precisam ser alimentada para ocorrer a sua muda, o que diverge de outras espécies como *O. talage*, *O. kelleyi*, *O. concanensis*, *O. coniceps*, *O. portoricenses*, *O. dugesi* (SONENSHINE; ANASTOS, 1960), assim após a ecdise de ninfas de primeiro instar, os espécimes foram alimentados e pesados em balança analítica (Sartorius BL210s). O instrumento não foi capaz de aferir o peso anterior a alimentação de ninfas de primeiro instar, por aferir apenas pesos iguais ou superiores a 0,1 mg, sendo os pesos desse instar não ingurgitado menor que esse valor, por isso o valor adotado na tabela é de 0.

Tabela 3 - Média e desvio padrão do peso antes da alimentação (mg), peso após ingurgitamento (mg) e ganho de peso médio (mg) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos .

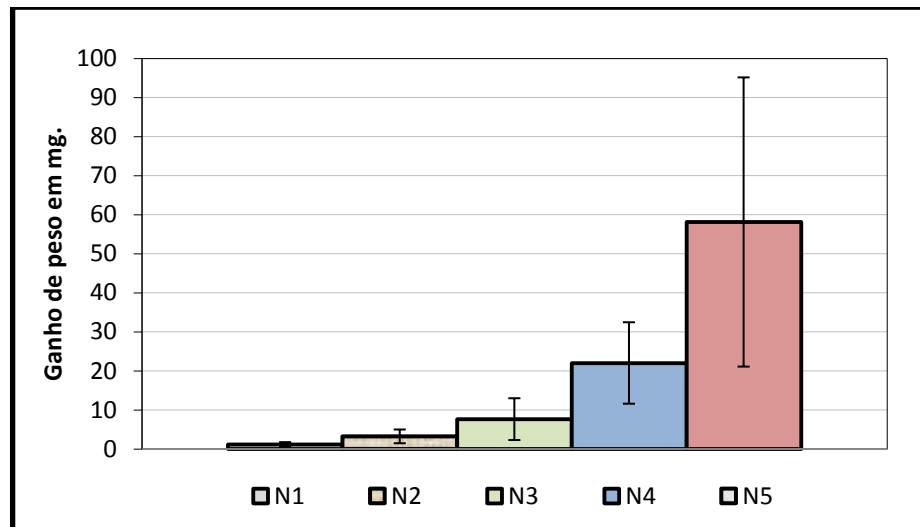
Instares ninfais	Ninfas alimentadas em coelhos			
	N	Peso antes(mg)	Peso após(mg)	Ganho de peso(mg)
Ninfa 1	93	0 ^a	1,2 ^a ± 0,6 (0,1 - 2,7)	1,2 ^a ± 0,6 (0,1 - 2,7)
Ninfa 2	49	0,9 ^a ± 0,5 (0,3 - 3,5)	4,1 ^{a,b} ± 2,1 (0,7- 11)	3,2 ^{a,b} ± 1,8 (0,2 - 7,5)
Ninfa 3	67	3,0 ^b ± 1,3 (0,4 - 6,4)	10,7 ^b ± 5,9 (2 - 35)	7,6 ^b ± 5,4 (0,5 - 31,9)
Ninfa 4	56	7,4 ^c ± 2,9 (1,7 - 15,4)	29,4 ^c ± 12,7 (6,8 - 59,7)	22,0 ^c ± 10,4 (2,1 - 44,9)
Ninfa 5	32	18,1 ^d ± 7,0 (1,3 - 30,4)	76,2 ^d ± 42,2 (17,5 - 167,1)	58,1 ^d ± 37,0 (4,9 - 136,7)

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5%. N = número de espécimes . Ninfa1 = ninfas de 1º instar, Ninfa 2 = ninfas de 2º instar, Ninfa 3 = ninfas de 3º instar, Ninfa 4 = ninfas de 4º instar e Ninfa 5 = ninfas de 5º instar.

O primeiro e segundo instar ninfal não diferiram estaticamente ($p > 0,05$) quanto ao seu peso antes da alimentação, posterior a alimentação e também quanto ao ganho de peso, apresentando as menores médias. A partir das ninfas de segundo instar começa a ocorrer um crescimento, diferindo estatisticamente ($P < 0,01$) quanto aos parâmetros relativos ninfas de segundo instar, ninfas de terceiro instar, ninfas de quarto instar e ninfas de quinto instar, apresentando uma maior média em todos os dados analisados as ninfas de quinto instar com um ganho médio de $58,1 \pm 37,0$ mg no ingurgitamento.

É notório um crescimento gradativo dos valores dos parâmetros analisados, verificando um ganho de peso acentuado nos últimos dois instares, na qual a necessidade de sangue a ser ingerido tenha que ser alta para promover uma mudança morfofisiológica, caracterizada pela emergencia de adultos machos e fêmeas. Essa diferença é percebida no gráfico em barras das médias do ganho de peso dos diferentes instares ninfais (Figura 6).

Figura 6. Gráfico em colunas de média e desvio padrão de ganho de peso dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos.



Ninfa1 = ninfas de 1º instar, Ninfa 2 = ninfas de 2º instar, Ninfa 3 = ninfas de 3º instar, Ninfa 4 = ninfas de 4º instar e Ninfa 5 = ninfas de 5º instar.

Hefnawy et al. (1979) avaliaram o peso do ingurgitamento no desenvolvimento de *O. savignyi* como o aferido no trabalho em questão, e os dados encontrados são bem similares com a espécie de estudo, variando o peso anterior de 1,93 mg em ninfas de primeiro instar a 18,8 mg em ninfas de quinto instar. Quando analisados os pesos posteriores a alimentação, essa variação se deu de 1,93 mg em ninfas de primeiro instar a 52,55 mg em ninfas de quinto instar.

Depois de concluídas as alimentações, foram também observadas lesões tipo equimoses pequenas que aumentavam até certo tamanho, com o decorrer do tempo após as ninfas se desprenderem.



Figura 7. Lesão causada pela alimentação de ninfas *Ornithodoros rostratus* em coelhos.

O período de pré-ecdise foi diferente estatisticamente entre todos os instares ninfais, somente sendo semelhantes entre si os instares 3 e 4 ($p > 0,05$), seu maior tempo pré-ecdise foi observado no instar de ninfa 3.

Guglielmone e Hadani (1980), trabalhando com a mesma espécie, observaram o período de pré-ecdise dos diferentes instar ninfais semelhantes ao do estudo atual, somente apresentando uma maior diferença no instar de ninfa 3, no qual os autores encontraram um período pré-ecdise de 10 dias, enquanto neste andamento este período foi de 16,1 dias, sendo o maior período do estágio ninfal, apoiando os dados publicados por Brumpt (1915), que encontrou neste mesmo instar um período de 23 dias, sendo o maior de todos os instares ninfais estudados.

Em outras espécies de *Ornithodoros* spp. o período de pré-ecdise geralmente apresenta um tempo maior nas ninfas de instares mais avançados, que efetuavam a muda para adulto (HEFNAWY et al., 1979; HOOGSTRAAL et al., 1970; El SHOURA, 1987; BECK et al., 1986).

O percentual médio de ecdise variou apresentando um percentual de 71,8% quando observado em ninfas de primeiro instar e uma porcentagem mais alta quando observada em ninfas de quinto instar, com um percentual de 80,8 % (Tabela 4).

Tabela 4 - Parâmetros biológicos da fase não parasitária: período médio pré-ecdise (dias) e percentual de ecdise (%) dos diferentes instares ninfais de *Ornithodoros rostratus* alimentados em coelhos, mantidos em estufas tipo B.O.D. ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $80 \pm 10\%$).

Instares ninfais	Parâmetros biológicos		
	N	Período pré-ecdise	Percentual de ecdise (%)
Ninfa 1	71	$5,7^a \pm 1,2$ (3 - 10)	71,8
Ninfa 2	60	$7,31^b \pm 0,5$ (6 - 12)	78,3
Ninfa 3	52	$16,1^c \pm 3,3$ (6 - 20)	75
Ninfa 4	44	$10,4^c \pm 2,2$ (7 - 16)	77,3
Ninfa 5	26	$13,3^d \pm 2,7$ (8 - 17)	80,8

Médias seguidas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si ao nível de significância de 5%. Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude. N = número de espécimes. Ninfa1 = ninfas de 1º instar, Ninfa 2 = ninfas de 2º instar, Ninfa 3 = ninfas de 3º instar, Ninfa 4 = ninfas de 4º instar e Ninfa 5 = ninfas de 5º instar. B.O.D.- Biochemical Oxygen Demand.

No presente trabalho foram enfocados os parâmetros das ninfas que deram origem a adultos machos e fêmeas. Os primeiros machos (2/18) da colônia surgiram a partir de ninfas de terceiro instar, com um período alimentar de $39 \pm 9,9$ minutos e uma média de peso de $22,2 \pm 18,5$ mg. A maioria dos machos (13/18) emergiram a partir de ninfas de quarto instar, os quais apresentaram um período alimentar de $33,4 \pm 11,2$ minutos e quando a emergência ocorreu em ninfas de quinto instar foi observada uma média de peso de $31,7 \pm 13,6$ mg. A partir deste instar poucos carrapatos mudaram para machos, sendo apenas 3/18 carrapatos, que apresentaram um período alimentar de $35,3 \pm 12,7$ minutos e média de peso de $53,2 \pm 11,5$ mg. Nenhum macho surgiu de ninfas de sexto instar.

Em fêmeas esta observação se inverte, quando a primeira emergência de fêmeas acontece somente em ninfas de quinto instar com um período médio alimentar de $42,8 \pm 13,5$ minutos e peso médio de $100,1 \pm 36,2$ mg, com quase toda sua totalidade, sendo 16 de um total de 18 fêmeas, as outras duas emergiram a partir de ninfas de sexto instar. O período alimentar foi de $50,5 \pm 2,12$ minutos e média de peso das fêmeas que emergiram de sexto instar foi de $105,6 \pm 9,4$ mg. Os carrapatos adultos machos emergiram de ninfas com um período alimentar e peso médio menor que as ninfas que emergiram fêmeas.

O período de pré- ecdise de ninfas com prognóstico para adultos apresentou um maior tempo quando a ecdise ocorreu para fêmeas a partir de ninfas de quinto instar, com uma média de $15,6 \pm 4,3$ dias e o menor período ocorreu na muda de ninfa 5 para machos, com uma média de $9,7 \pm 7,6$ dias.. A razão sexual se deu 1: 1.

Todas as ninfas de quarto instar alimentadas em coelhos transformaram-se machos, com um número de 13/18, sendo a grande parte de adultos machos emergidos nesta fase, corroborando com Guglielmone e Hadani (1980), que afirmou que a maioria de machos desta espécie surgiram nesta fase. Este fato se deve provavelmente pelo domínio espacial do macho para cópula, na reprodução ou talvez pela exigência de um maior tempo de maturação para os órgãos reprodutivos das fêmeas. A análise estatística de tais parâmetros relacionados ao sexo no presente estudo não foi possível devido aos baixos números das amostras.

Sonenshine e Anastos (1960), em observações sobre o ciclo biológico de *O. kelleyi*, averiguaram que ninfas de segundo instar mudaram para adultos machos e ninfas de terceiro instar já apresentavam muda para adultos fêmeas, assim como Hefnawy et al. (1979) em estudos sobre alimentação de *O.savignyi*, que apresentaram em seu trabalho dados semelhantes.

Trabalhando com *O. muesebecki*, Hoogstraal et al. (1970) relataram o aparecimento de adultos somente a partir de ninfas de terceiro instar, em que todas as ninfas que mudaram para adulto tornaram-se machos e a observação de fêmeas só foi possível a partir de ninfas de quarto instar, diferindo dos dados encontrados neste trabalho, em que nenhuma fêmea mudou para adulto a partir de ninfas de quarto instar.

Pound et al.(1986), afirmam que ninfas em uma classe de peso mais baixa tem uma maior probabilidade a mudarem para machos, e ninfas com uma classe de peso maior tendem a mudar para fêmeas e que pesos intermediários podem ter chances iguais de muda, emergindo mais machos de ninfas de terceiro instar e mais fêmeas de quarto e quinto instar.

O aparecimento de ninfas de sexto instar nesta espécie não foi antes relatado na literatura de Guglielmone e Hadani (1980), e no presente estudo foi constatado a muda para duas fêmeas a partir desse instar. Segundo Balashov (1972), o hospedeiro pode influenciar no aparecimento de mais instares ninfais em argasídeos, levado por um ingurgitamento incompleto de sangue pelo carrapato e sabendo que diferentes hospedeiros podem ou não influenciar no prolongamento do ciclo do gênero (EL SHOURA, 1987). Santos et al. (2000) afirmam que umidade e temperatura assim como a quantidade de alimento e período de jejum podem influenciar no aparecimento de mais instares em *Argas (P.) miniatus*.

Tabela 5 – Peso médio e parâmetros parasitários de ninfas ingurgitadas de diferentes instares de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos, com prognóstico para sexo dos adultos.

Ninfas alimentadas em coelhos								
Parâmetros	Ninfas (fêmeas)				Ninfas (machos)			
	N3	N4	N5	N6	N3	N4	N5	N6
Peso médio (mg)	*	*	100,1±36,2 (44-167,1) 16	105,6±9,4 (99-112) 2	22,2±18,5 (9,1-35,2) 2	31,7±13,6 (1,9-52,7) 13	53,2±11,5 (40-62,7) 3	*
Período médio alimentar (minutos)	*	*	42,8±13,5 (29-76) 16	50,5±2,12 (49-62) 2	39±9,9 (32-46) 2	33,4±11,2 (9-50) 13	35,3±12,7 (24-49) 3	*
Período médio pré ecdise (dias)	*	*	15,6±4,3 (21-10) 16	10,5±0,7 (10-11) 2	12,5±6,4 (8-17) 2	12,8±2,9 (8-18) 13	9,7±7,6 (1-15) 3	*

*Não ocorreu muda para fase adulta. Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude e N = número de espécimes. Ninfa 3 = ninfas de 3º instar, Ninfa 4 = ninfas de 4º instar e Ninfa 5 = ninfas de 5º instar. B.O.D.- Biochemical Oxygen Demand.

Mango e Galun (1977) observando a criação de *O. moubata* em laboratório alimentados em diferentes hospedeiros, analisaram que em alguns hospedeiros o ciclo era prolongado, sendo as aves consideradas os melhores hospedeiros para espécie, em que todos os adultos emergiram até ninfa de quarto instar, enquanto os alimentados em outros hospedeiros foram necessitados outros estágio ninfais, afirmando que quando uma alimentação é deficiente em alguns constituintes, os carrapatos compensam com uma muda adicional.

4.3 Parâmetros biológicos de adultos de *Ornithodoros rostratus*

Os parâmetros relativos a adultos foram aferidos somente de fêmeas, já que os machos não foram alimentados, os quais por meio de uma observação prévia se deduziu que machos ingurgitados tinham uma dificuldade no momento da cópula. Este fato também foi observado em El Shoura (1987), no qual o autor sustenta o fato da genitália masculina estar completamente desenvolvida desde o momento da muda e não precisar de alimentação para fertilizar as fêmeas.

Com o desenvolver da colônia 18 fêmeas surgiram, pouco comparado com o número inicial de 115 larvas, mas semelhante com outros relatos de formação de colônia dessa espécie, como referido em Guglielmone e Hadani (1980) que obteve um número inicial da colônia com 338 larvas e ao final restaram 25 fêmeas.

Durante a alimentação das fêmeas o seu período pré-fixação foi de $6,4 \pm 4,8$ minutos e o alimentar foi de $45,4 \pm 14,6$ minutos, ocorrendo durante esse período alimentar uma grande liberação de líquido coxal que continuava ainda após o fim da alimentação. Khalil et al. (1986) estimaram que a relação do líquido coxal e de 20% do sangue ingerido por argasídeos.



Figura 8. Alimentação de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* em coelhos, no momento da liberação do líquido coxal.

No momento em que ocorriam as alimentações eram formados visivelmente lesões tipo equimose na pele dos coelhos, o que acontecia também quando outros estágios de *O. rostratus* se alimentavam em coelhos. Neste estágio as lesões ocorriam em uma dimensão maior, que aumentavam em extensão após a saída das fêmeas. Essas lesões vinham a desaparecer cerca de 24 horas após o final das alimentações (Figura 9).

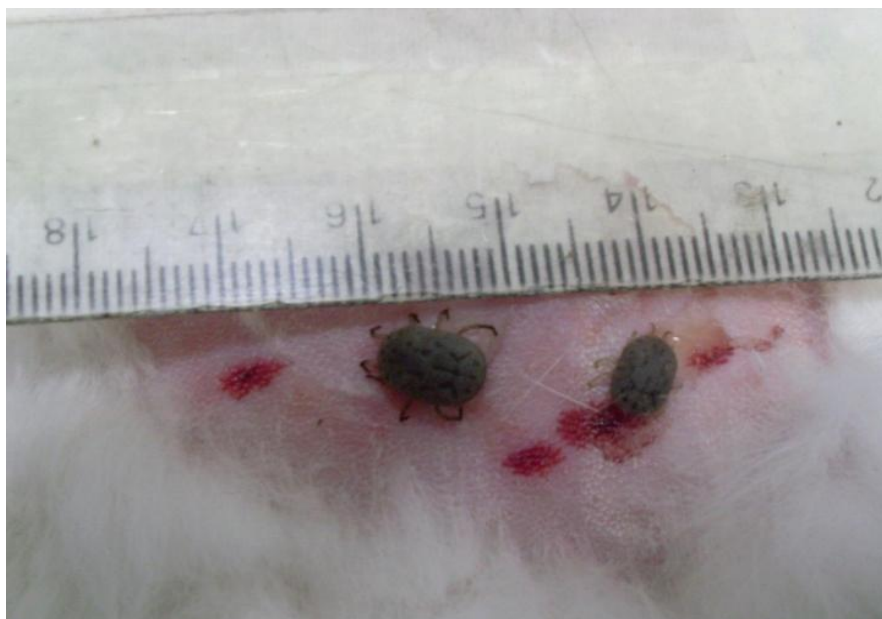


Figura 9. Alimentação de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* em coelhos, com a formação de lesões na pele tipo equimoses.

Os parâmetros relativos aos períodos de pré-fixação e de alimentação não são citados na literatura de Guglielmone e Hadani (1980).

Quando comparados com os dados característicos de outras espécies, podemos observar o período alimentar de fêmeas bastante parecido, com uma média de 28,82 minutos em *O. erraticus* (EL SHOURA, 1987) e 34,91 minutos em *O. turicata* (BECK et al., 1986).

Tabela 6 - Parâmetros biológicos da fase parasitária: período de pré-fixação (min.), período alimentar (min.) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos.

Fêmeas alimentadas em coelhos		
N	Período pré- fixação (min.)	Período alimentar (min.)
17	6,4 ± 4,8 (1 - 20)	45,4 ± 14,6 (22 - 73)

Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude e N = número de espécimes.

Os pesos antes da alimentação, após alimentação e ganho de peso médio foram aferidos, apresentando uma média de 58,5 ± 17,1, 210,4 ± 69,7 e 150,1 ± 55 miligramas, respectivamente (Tabela 7).

Tabela 7 - Média e desvio padrão do peso antes (mg) da alimentação, peso após ingurgitamento (mg) e ganho de peso (mg) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos .

Fêmeas alimentadas em coelhos			
N	Peso antes (mg)	Peso após (mg)	Ganho de peso (mg)
17	58,5 ± 17,1 (29 - 97,2)	210,4 ± 69,7 (43,3 - 359,4)	150,1 ± 55 (14,3 - 262,2)

Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude e N = número de espécimes.

Seguindo o proposto por El Shoura (1987) que sustenta o acasalamento somente em fêmeas ingurgitadas, as fêmeas após a alimentação foram alocadas em placa de Petri, sob luz natural, juntamente com machos não alimentados. Cada placa continha uma fêmea e um macho, na qual a fêmea se movimentava por todo o tempo enquanto o macho andava em sua direção, até ir de encontro à fêmea.

Todas as fêmeas que foram colocadas nas placas tinham anteriormente feito a liberação do líquido coxal, concordando com os achados de Sonenshine (1991), no qual descreve a secreção de uma substância pelo líquido coxal pelas fêmeas do gênero *Ornithodoros* spp., e somente após tal acontecimento o macho começa sua atividade de procura. O autor afirma ainda que fêmeas mais velhas podem atrair mais os machos do que as fêmeas mais novas, sugerindo um acúmulo de feromônios nas mesmas. Segundo Oliver Jr.(1974), nenhum feromônio em argasídeos foi ainda identificado.

Os machos seguiram caminhos diferentes, para alcançar o dorso das parceiras, podendo ser lateralmente, ou frontalmente ou posteriormente. A maioria das fêmeas se esquivavam por algumas vezes até a aceitação definitiva. Assim que montavam, a partir de

um dos lados, o macho se colocava sob a fêmea, voltado para cima, e se fixava. Movimentos friccionais, quase imperceptíveis, foram observados, por parte do macho, podendo estar ligado com transferência dos espermatozoides para fêmea, enquanto ela permanecia imóvel até o final do acasalamento. Em *O. moubata* (OLIVER Jr., 1974) a injeção de produtos sexuais do macho é um estímulo mecânico para o trato genital feminino.

O período pré- acasalamento foi medido, durando $17,7 \pm 9,96$ com amplitude de 11-43 minutos. Durante este período foi observado a liberação de uma substância escura pelas fêmeas, provavelmente derivado da ferronina, formada pela digestão do sangue (EFREMOVA, 1967). Já a duração média do acasalamento foi de $14 \pm 7,9$ com amplitude de 9-43 minutos (Figura 6). O período de acasalamento foi medido em *O. kellyi* (SONENSHINE e ANASTOS, 1960), relatando a imobilidade do casal de 20-55 minutos e em *O. turicata* (BECK et al., 1986) apresentando 28,16 minutos.

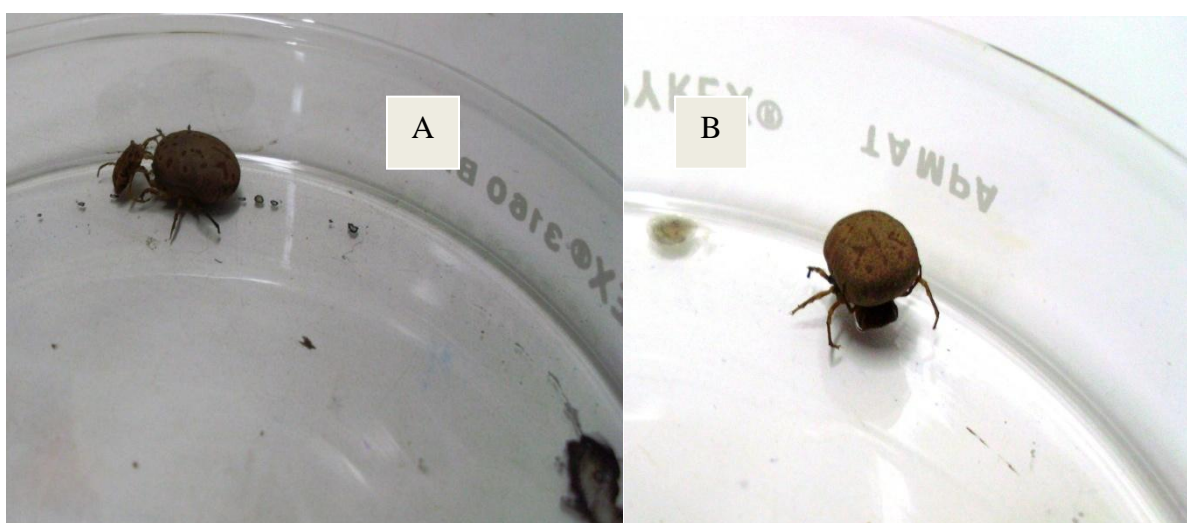


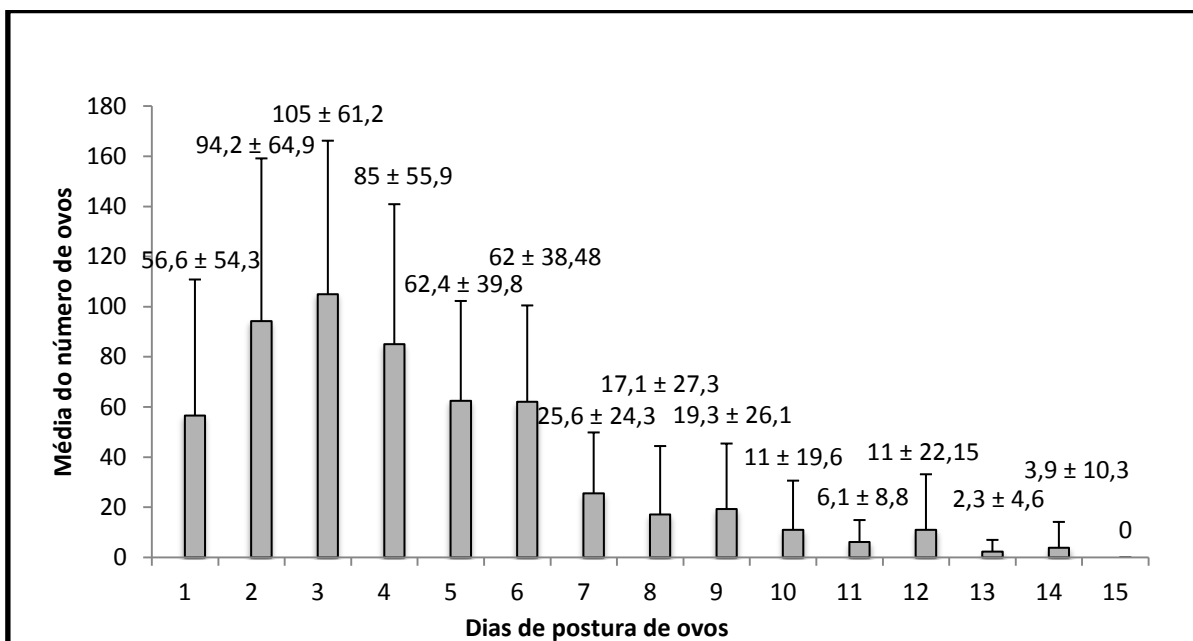
Figura 10. Acasalamento de *Ornithodoros rostartus* em placas de Petri em dois momentos, sendo A o momento inicial com liberação de secreção escura e B o momento da união.

Após o acasalamento, quando as fêmeas foram alocadas em placas de Petri, sem os machos, seus parâmetros biológicos da fase não parasitária foram aferidos diariamente. Apenas os dados não parasitários de nove fêmeas foram contabilizados, pois somente essas apresentarem posturas viáveis.

Aeschlimann e Grandjean (1973), avaliando a relação entre o acasalamento e oviposição de *O. moubata* asseguraram que o número de acasalamentos não influenciou na fecundidade das fêmeas, sendo no presente trabalho ocorrida um único acasalamento para cada fêmea.

O início de sua postura foi de $6,2 \pm 3$ dias, com uma duração média de 10 ± 3 dias, chegando até a 14 dias. Os ovos das diferentes fêmeas foram contados desde o dia inicial até o final da postura, sendo assim possível por meio de médias estabelecer um gráfico correspondente ao ritmo de sua oviposição. No terceiro dia da postura foi observada a oviposição média mais alta, com $105 \pm 61,2$ ovos. A oviposição começa a decrescer, e no nono dia apresenta uma média de $19,3 \pm 26,1$ ovos, finalizando sua postura no décimo quarto dia com uma média de $3,9 \pm 10,3$ ovos. Pôde ser observado que ocorreram médias baixas e no dia posterior essas médias apresentaram um leve aumento novamente. A partir do oitavo dia, os desvios-padrões foram maiores que as médias, o que mostra a existência de grande variabilidade da postura entre as fêmeas da colônia (Figura 11).

Figura 11. Gráfico de ritmo de oviposição de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos, mantidas em estufas tipo B.O.D. ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e UR de $80 \pm 10\%$).



O peso médio das posturas das fêmeas foi de $58,8 \pm 18$ mg, com uma média de $555,5 \pm 148,2$ ovos por postura.

O índice de produção de ovos, que é referenciada como a relação da postura total da fêmea com o seu peso inicial, ou seja, o quanto de sangue a fêmea foi capaz de transformar em ovos, foi calculado por meio da fórmula usada por Bennett (1974), e esse índice encontrado para *O. rostartus* foi de $27,76 \pm 4,9\%$.

Tais parâmetros relacionados aos adultos de *O. rostratus* não puderam ser observados por Guglielmone e Hadani (1980), pelos carrapatos terem sido mantidos em um ambiente natural, dificultando a visualização dos parâmetros.

Dentre as espécies de *Ornitodoros* encontradas na literatura, o período de pré-oviposição de *O. rostratus* encontrado neste estudo foram semelhantes, como ressaltado em *O. turicata americanus* (BECK et al., 1986), com uma média de 11,53 dias, *O. (Pavlovskyella) erraticus* (El SHOURA, 1987) com 10,5 dias, *O. moubata* (MANGO; GALUN, 1977) com 10,3 dias e até 14 dias em *O. muasebecki* (HOOGSTRAAL et al., 1970).

O período de postura não obteve muita variação entre as outras espécies. *O. kelleyi* (SONENSHINE e ANASTOS, 1960) obteve um período de postura de 10-210 dias, o qual não é comumente observado entre as espécies do gênero.

Tabela 8 - Parâmetros biológicos da fase não parasitária: período médio pré- postura (dias), período médio de postura (dias), número médio de ovos por postura, peso médio da postura (mg) e índice de produção de ovos (%) de fêmeas de *Ornithodoros rostratus* alimentadas em coelhos e período de pré-eclosão (dias), período de eclosão (dias) e percentual de eclosão (%) de larvas.

Parâmetros	Fêmeas alimentadas em coelhos
Período pré- postura (dias)	6,2 ± 3 (1-9) 9
Período de postura (dias)	10 ± 3 (6-14) 9
Peso de postura (mg)	58,8 ± 18 (30,9-80,8) 9
Número de ovos por postura	555,5 ± 148,2 (277-717) 9
Índice de produção de ovos (%)	27,76 ± 4,9 (19,5-33,1) 9
Período de pré-eclosão (dias)	12,7 ± 0,5 (12 - 13) 71
Período de eclosão (dias)	7,7 ± 2,9 (6 - 15) 71
Percentual de eclosão (%)	75,9 ± 19,3 (44 - 99,11) 71

Na sequência vertical: média e desvio padrão, amplitude e número de espécimes ou número de frascos analisados, quando analisados parâmetros relacionados a ovos.

As posturas das nove fêmeas foram divididas em frascos de vidro por dia, e totalizaram 71 frascos, nos quais a observação dos parâmetros relacionados aos ovos foram efetuadas. O período médio de desde o início da postura até a eclosão da primeira larva foi de 12,7 ± 0,5 dias, com uma duração média de 7,7 ± 2,9 dias. O percentual médio de eclosão atingido por esta espécie foi de 75,9 ± 19,3%.

Durante este trabalho, foi observado que as fêmeas de *O. rostratus* podem apresentar mais de um ciclo gonotrófico por vida, ou seja, o ciclo completo de desenvolvimento ovárico, com até três posturas viáveis.

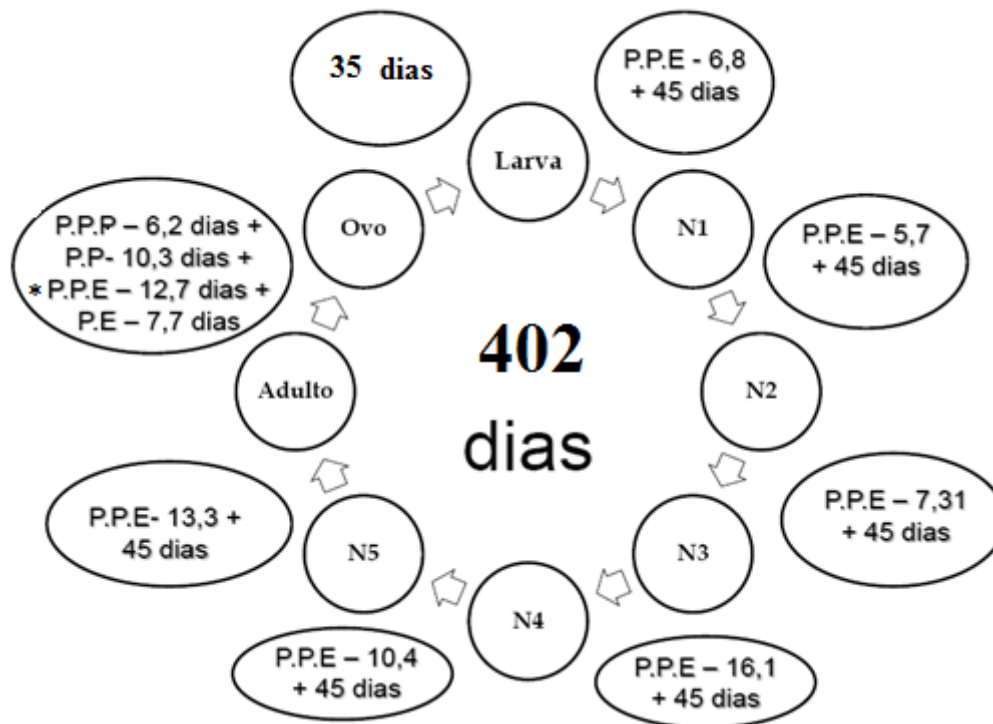
Khallil et al.(1986) sustentam que a primeira oviposição da fêmea em *O. erraticus* é menor, pois provavelmente a fêmea retém uma parte para o amadurecimento do aparelho reprodutor. Em *O. moubata* a oviposição pode ocorrer com ou sem a presença do macho em todas as alimentações, e que quanto maior o número de cópulas após as alimentações, maior a viabilidade da prole, mas em contrapartida menor é a longevidade do carrapato

(AESCHLIMANN; GRANDJEANS, 1973).

Um macho pode ser capaz de fertilizar uma fêmea por até quatro anos sem alimentação, como foi observado em *O. tholozani* e *O. lahorensis*. Trata-se de estratégia de sobrevivência, especialmente para as espécies nidícolas. A duração do ciclo gonotrófico é de fundamental importância porque revela a frequência de contato do vetor com o hospedeiro e, assim, fornece estimativa da oportunidade para aquisição e transmissão do parasita (KAKITANI; FORATTINI, 2000).

Com os dados obtidos ao longo do trabalho foi possível estabelecer um esquema relativo ao ciclo biológico de *O. rostratus*, sendo elaborado com os valores médios encontrados, com períodos de jejum médios de 35 dias para larvas e 45 para demais estágios, ressaltando que o ciclo biológico executado em laboratório é uma pequena amostra representativa do que ocorre na natureza. O valor médio total de duração do ciclo biológico foi de 402 dias (Figura 12).

Figura 12. Esquema do ciclo biológico médio de *Ornithodoros rostratus* utilizando coelhos como hospedeiros experimentais.



P.P.P = Período pré-postura, P.P = Período de postura, * P.P.E = Período pré-eclose, P.E = Período de eclosão, P.P.E = Período de pré-eclose. N 1 = ninfas de 1º instar, N 2 = ninfas de 2º instar, N 3 = ninfas de 3º instar, N 4 = ninfas de 4º instar e N 5 = ninfas de 5º instar.

5 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados aqui apresentados, por meio da alimentação de larvas ninfas e adultos de *O. rostratus*, pode-se concluir que:

A espécie *Ornithodoros rostratus* apresenta um ciclo biológico com uma média de 402 dias.

Ninfas mais pesadas dão origem a fêmeas, enquanto ninfas mais leves originam machos.

O aparecimento de um sexto instar ninfal, não citado anteriormente na literatura, pode estar ligado à espécie hospedeira, levando a um prolongamento do ciclo.

O coelho doméstico é uma espécie hospedeira viável para manutenção de *O. rostratus* em laboratório, a partir do pressuposto que todos os estágios se alimentaram sem ocasionar efeitos deletérios para sua biologia.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AESCHLIMANN, A.; GRANDJEAN, O.; Observations on fecundity in *Ornithodoros Moubata*, Murray (IXODOIDEA: ARGASIDAE). Relationships between mating and oviposition. *Acarologia*, t. XV, fasc. 2, 1973.

ALMEIDA, A.P.; LEITE R.C.; LABRUNA, M.B. Pesquisa de *Rickettsia* spp, *Borrelia* spp. e agentes da família Anaplasmataceae em *Ornithodoros rostratus* (ACARI: ARGASIDAE) pela técnica da PCR, na região do Pantanal – Brasil. *Suplemento Boletim Epidemiológico Paulista*, v. 6, n. 8, 2009.

ARAGAO, H.B. Notas sobre ixódidas brasileiros. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, vol.3, n.2, p. 145-195, 1911.

ARAGÃO, H.B. Comissão de Linhas Telegráficas Estratégicas de Matto-Grosso ao Amazonas. Publicação:36, *Zoologia Ixodidas*, anexo n.5, p.19, 1916.

ARAGAO, H.B. Notas sobre os *Ornithodoros rostratus*, *brasiliensis* e *turicata*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.25, n.3, p.227-236, 1931.

ARAGAO, H.B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.31, p.759-844, 1936.

BALASHOV, Yu.S. Blood-sucking ticks (Ixodoidea) vectors of diseases of man and animals. Akad. Nauka SSSR, Zoological Institute, Leningrad. 319 p. 1968. (In Russian). (English transl.: *Entomological Society of America*, v.8, p.161-376, 1972).

BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. *Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies*. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, 223p.

BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; DUARTE, J.M.B.; MATUSHIMA, E.R.; PEREIRA, M.C.; REHAV, Y.; KEIRANS, J.E.; FIELDEN, L.J. Ticks Associated with Wild Animals in the Nhecolândia Pantanal, Brazil. *Annals New York Academy of Sciences*. p.289-297, 2000

BECK, A.F.; HOLSCHER, K.H.; BUTLER, J.F. Life cycle of *Ornithodoros turicata americanus* (ACARI: ARGASIDAE) in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, v.23, n.3, p.313-319, 1986.

BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (ACARIDA: IXODIDAE): (Influence of tick size on egg production). *Acarology*, v. 16, n. 1, p. 52-61, 1974.

BRUMPT, E. Biologia de alguns Ixodídeos Brasileiros, I- *Ornithodoros rostratus* de Beurepaire- Aragão. *Annaes Paulista de medicina e cirurgia*, v.4, n.2, 1915.

- CANÇADO, P. H. D. *Carrapatos de Animais Silvestres e Domésticos no Pantanal Sul Mato-grossense (Sub-região da Nhecolândia): Espécies, Hospedeiros e Infestações em Áreas com Manejos Diferentes*. 2008, 65f. Tese (doutorado). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2008.
- CAMICAS, J.L. & MOREL, P.C. Position systématique et classification des tiques (Acarida: Ixodida). *Acarologia*, 18, p. 410–420, 1977.
- CAMICAS, J.L., HERVY, J.P., ADAM, F. & MOREL, P.C. Les tiques du monde. *Nomenclature, stades décrits, hôtes, répartition (Acarida, Ixodida)*. Orstom, Paris, 1998.
- CLIFFORD, C.M., KOHLS, G.M. & SONENSHINE, D.E. The systematics of the subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). I. The genera and subgenera. *Annals of the Entomological Society of America*, 57, 429–437, 1964.
- DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V.C; BARROS-BATTESTI, D.M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. *Systematic & Applied Acarology*, V.14, P.30-46, 2009.
- DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. *Science*, v. 288, p. 2319-2320, 2000.
- EFREMOVA, L.K. Functioning of Malpighian tubules in the tick *Alveonassus lahorensis* (Ixodoidea, Argasidae). *Zoolicheskii Zhurnal*, v.46 (1), p.48-54.1967.
- EL SHOURA, M.S. The life cycle of *Ornithodoros (Pavlovskyella) erraticus* (ACARI: IXODOIDEA: ARGASIDAE) in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, v.24, n.2, p.229-234, 1987.
- ESTRADA- PEÑA.A. & JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, v.23, p. 685-715, 1999.
- FLECHTMANN, C.H.W. *Ácaros de importância médico-veterinária*. São Paulo: Nobel, 192p., 1973.
- FILIPPOVA, N.A. Argasid ticks (Argasidae). Fauna SSSR 4 (3), Nauka, Moscow, Zoological Institute, Leningrad, 255 p., 1966. In Russian.
- GALUN, R.; STERNBERG, S., MANGO, C.; Effects of host spectra on feeding behaviour and reproduction of soft ticks (ACARI: ARGASIDAE). *Bulletin of Entomological Research*, v. 68, p. 153-157, 1978.
- GUIMARÃES, J.H. TUCCI, E.C. & BARROS-BATTESTI, D.M. *Ectoparasitos de Importância em Medicina Veterinária*. Editora Plêiade –FAPESP. 204 p., 2001.
- GUGLIELMONE, A.A.; HADANI, A. Ciclo biológico de *Ornithodoros rostratus* (Aragão, 1911) bajo condiciones de laboratorio. *Revista Medicina Veterinária (Bs. Aires)*, v.61, p.254-257, 1980.

GUGLIELMONE, A.A; ROBBINS,R.G; APANASKEVICH, D.A; PETNEY,T.N.; ESTRADA-PEÑA,A. HORAK;I.G; SHAO,R.; BARKER,S.C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa* 2528: 1–28, 2010.

GRISI , L.; MASSARD, C.L.; MOYA BORJA, G.E. & PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, Porto Alegre, 21(125): 8-10, 2002.

HEFNAWY, T.; KHALIL, G.M.; SIDRAK, W. Blood meal weight and heme content during development of *Ornithodoros (O.) Savignyi* (IXODOIDEA: ARGASIDAE). *Journal of Medical Entomology*, v.15, n.5-6, p.445-451, 1979.

HOOGSTRAAL, H.; OLIVER, R.M.; GUIRGIS, S.S. Larva, nymph, and cycle of *Ornithodoros (Alectorobius) muesebecki* (Ixodoidea: Argasidae), a vírus- infected parasite of birds and petroleum industry employees in the Arabian Gulf. *Annals of entomological society of América*, v.63, n.6, p.1762-1768, 1970.

HOOGSTRAAL.H. Argasid and Nutalliellid ticks as parasites and vectors. *Advance of Parasitology.*, v.24, p.135-238, 1985.

KHALIL, G.M.; HELMY, N.; HOOGSTRAAL, H.; EL-SAID, A. Female *Ornithodoros (Pavlovskyella) erraticus* (ACARI: IXODOIDEA: ARGASIDAE): effect of feeding. *Journal of Medical Entomology*,v.23, n.4, p.380-383, 1986.

KAKITANI, I.; FORATTINI, O.P. Paridade e desenvolvimento ovariano de *Anopheles albitarsis* l.s. em área de agroecossistema irrigado. *Revista de Saúde Pública* [online], vol.34, n.1, pp. 33-38, 2000.

KEIRANS, J.E. *A manual of acarology* 3rd ed, Texas Tech Univ. Press, 807pp, 2009.

KLOMPEN, J.S.H. & OLIVER, J.H. Systematic relationships in the soft ticks (Acari: Ixodida: Argasidae). *Systematic Entomology*, 18, 313–331,1993.

MANCIBO, O.A.; MONZON C.M.; GUGLIELMONE, A.A.; LAMBERTI, J.C. *Ornithodoros rostratus* (Aragão, 1911) (Ixodoidea: Argasidae): Nuevo hallazgo em Argentina. *Veterinaria Argentina.*, v.19, n.188, p.591- 595, 2002.

MANGO,C.K.A.;GALUN,R. Suitability of laboratory hosts for rearing of *Ornithodoros moubata* ticks (ACARI: ARGASIDAE). *Journal of Medical Entomology*, v.14, n.3, p.305-308, 1977.

NAVA, S.; LARESCHI, M.; REBOLLO, C.; USHER,C.B.; BEATI,L.; ROBBINS, R.G.; DURDEN, L. A.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE A. A. The ticks (ACARI: IXODIDA: ARGASIDAE, IXODIDAE) of Paraguay. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, v. 101, n. 3, p. 255-270, 2007.

OLIVER JR., J.H. Symposium on reproduction of arthropods of medical and veterinary importance IV reproduction in ticks (IXODOIDEA). *Journal of Medical Entomology*, V. 11, n.1, p.26-34, 1974.

- POSPELOVA-SHTROM, M.V. On the Argasidae system (with description of two new subfamilies, three new tribes and one new genus). *Meditinskaya Parasitologiya i Parazitarnye Bolezni*, 15, 47–58, 1969.
- POUND, J.M.; CAMPBELL, J.D.; ANDREWS, R.H.; OLIVER, J.H. The relationship between weights of nymphal stages and subsequent development of *Ornithodoros parkeri* (ACARI: ARGASIDAE). *Journal of Medical Entomology*, v.23, n.3, p. 320-325, 1977.
- SANTOS, H.A.; ANGELO, I.C.; FRANQUE, M.P.; VASHIST, U.; DUARTE, A.F.; BALDANI, C.D.; THOMÉ, S.M.G.; FACCINI, J.L.H.; MASSARD, C.L. The influence of the fasting period on the number of nymphal instars and on the sex ratio of *Argas (Persicargas) miniatus* (ACARI: ARGASIDAE). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.19, n.3, p.164-168, 2010.
- SONENSHINE, D.E.; ANASTOS, G. Observations on the life history of the bat tick *Ornithodoros kelleyi* (ACARINA : ARGASIDAE). *The Journal of Parasitology*, v.46, p.449-454, 1960.
- SONENSHINE, D.E. *Biology of Ticks*. Oxford University Press, New York, 447pp, 1991.
- SONENSHINE, D.E. *Biology of Ticks*. Oxford University Press, New York, 465pp, 1993.
- VENZAL, J. M.; ESTRADA-PEÑA, A. Larval feeding performance of two Neotropical *Ornithodoros* ticks (ACARI: ARGASIDAE) on reptiles. *Experimental and Applied Acarology*, v.39, p. 315-320, 2006.
- VIAL, L. Biological and ecological characteristics of soft ticks (IXODIDA: ARGASIDAE) and their impact for predicting tick and associated disease distribution. *Parasite*, v. 16, p. 191-202, 2009.
- WOOLHOUSE, M.E.J. Population biology of emerging and re-emerging pathogens. *Trends in Microbiology*, v.10, n.10, p. S3-S7, 2002.