

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

**DISSERTAÇÃO**

**Estudo do Ciclo Biológico de *Ornithodoros mimon***  
**(Acari: Argasidae) em condições de laboratório**

**Gabriel Alves Landulfo**

**2012**



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

**Estudo do Ciclo Biológico de *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) em  
condições de laboratório**

**GABRIEL ALVES LANDULFO**

*Sob a Orientação da Professora Dra.*  
**Darci Moraes Barros-Battesti**

*Co-orientação do Professor Dr.*  
**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 2012

595.42

Landulfo, Gabriel Alves, 1987-

L264e

T

Estudo do ciclo biológico de *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) em condições de laboratório / Gabriel Alves Landulfo - 2012.

32 f.: il.

Orientador: Darci Moraes Barros-Battesti.

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

Bibliografia: f. 28-32.

1. Carrapato - Larva - Teses. 2. Carrapato - Reprodução - Teses. 3. Parasitologia - Pesquisa - Teses. I. Battesti, Darci Moraes Barros, 1959-. 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**

**GABRIEL ALVES LANDULFO**

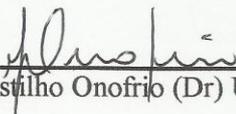
Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias, no curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária, área de Concentração Parasitologia Veterinária.

Dissertação Aprovada em 09/02/2012



---

Darci Moraes Barros-Battesti (Dr) Instituto Butantan  
(Orientadora)



---

Valéria Castilho Onofrio (Dr) UFMT



---

Kátia Maria Famadas (Dr) UFRRJ

*Dedico este trabalho à minha família, principalmente aos meus pais, Vera Vilma Santos Alves Landulfo e Argemiro Gomes Landulfo Filho, pela dedicação, amor, carinho, lição de vida, atenção e apoio que sempre tiveram comigo em todos os momentos da minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por mais uma conquista em minha vida.

À professora Darci Moraes Barros-Battesti, pelas orientações, ensinamentos, incentivos e confiança depositada durante os quatro anos de convívio.

Ao professor João Luiz Horácio Faccini pelos conselhos e orientações durante o mestrado.

Aos amigos do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, como Roberto Henrique Pinto Moraes, Solange Gomes de Lima Netto, Angelina Cirelli, Valeria Castilho Onofrio, Ronaldo Zucatelli, Leonor, Cristiane, Fernando, Diego Ramirez, Luisa Pevidor e outros por ajudarem na elaboração da minha dissertação de Mestrado.

Agradeço Andréia Kubo, Camila Scatena e Mariana Alvim pelo apoio e auxílio durante a realização dos experimentos.

Aos amigos do Laboratório de Ixodologia, Iwine Joyce, Ísis Santolin, Carla Carolina, Vanessa Raia e Michele Costa, assim como a professora Kátia Famadas pelo acolhimento e auxílio durante o mestrado na UFRRJ.

Aos professores e funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ.

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ pelos momentos de estudo e entretenimento compartilhados.

Agradeço aos companheiros de alojamento, Gideão Galvão, Marcus Sandes Pires, Caio Monteiro, Eduardo Aragão, Antônio Tembue, Marcus Sá, Leandro Barbosa, Fábio Edir e Juliano Tiago por todos os momentos de descontração e alegria na nossa moradia.

À UFRRJ, pela acolhida e por todos os momentos especiais que aqui passei.

Um agradecimento especial aos amigos Hermes Ribeiro Luz e Janio dos Santos Sampaio pela companhia e amizade durante o mestrado.

Aos meus familiares, principalmente aos meus Pais, ao meu Irmão Tadeu Augusto Alves Landulto e à minha tia, Valdete Santos Alves que sempre me apoiaram e ajudaram incondicionalmente.

Agradeço à minha namorada, Tatiane de Souza Barros pelo apoio, carinho, amor, compreensão e paciência que teve comigo durante todos esses anos. Muito obrigado minha linda.

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

E por fim agradeço a todos os meus amigos que diretamente ou indiretamente me ajudaram nessa etapa da minha vida.

## **BIOGRAFIA**

Gabriel Alves Landulfo, filho de Argemiro Gomes Landulfo Filho e Vera Vilma Santos Alves Landulfo, natural de São Paulo, SP, nascido em 6 de setembro de 1987. Realizou o primeiro e segundo grau completo na Escola Estadual Professora Carmosina Monteiro Vianna, E.E.Prof<sup>a</sup>. C.M.V.

No ano de 2006 ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Presbiteriana Mackenzie (UPM), concluindo em 2008 a primeira etapa do curso, Licenciatura Plena em Ciências Biológicas. Em 2010 colou grau novamente e tornou-se Bacharel em Ciências Biológicas. Durante a graduação, foi bolsista de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Ciência e Tecnologia (PIBIC/CNPq) e atuou na linha de pesquisa de Taxonomia e Biologia de carrapatos do laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, sob a orientação da Dra. Darci Moraes Barros-Battesti.

Em março de 2010, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias em nível de Mestrado pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), o qual foi bolsista CNPq. Durante o mestrado participou de projetos, fóruns, workshops e congressos relacionados à Parasitologia e Acarologia, e obteve um desenvolvimento bastante satisfatório nos 26 créditos cursados.

No presente momento, apresenta e defende a dissertação de Mestrado como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

## RESUMO

LANDULFO, Gabriel Alves. **Estudo do Ciclo Biológico de *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) em condições de laboratório**. 2012. 32p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

*Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969 é um carrapato argasídeo parasito de Chiroptera, originalmente descrito de larvas coletadas sobre morcegos da Bolívia e Uruguai. No Brasil a espécie é bastante agressiva aos humanos e aos animais. Ninfas e adultos de *O. mimon* foram coletados do teto de uma residência em Araraquara, São Paulo, Brasil, cujos moradores estavam sendo picados pelos carrapatos. Uma vez em laboratório, os exemplares foram alimentados em coelhos da raça Nova Zelândia e mantidos em estufas de B.O.D. à  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e 90% de umidade. As fêmeas, após o acasalamento, realizaram posturas que resultaram em larvas que foram identificadas através da descrição original (Kohls et al., 1969) e também pela comparação com os parátipos (RML 50271-50274) depositados na Universidade da Georgia, USA. O ciclo biológico desta espécie foi obtido através da aquisição de duas gerações de carrapatos (F1 e F2) em laboratório, utilizando roedores e coelhos como hospedeiro. Os parâmetros biológicos de larva, ninfa e adulto de ambas as gerações foram observados e registrados a partir de infestações nos hospedeiros de laboratório. As larvas apresentaram um perfil de alimentação por dias no hospedeiro, enquanto que as ninfas e adultos por cerca de minutos. Registrou-se mudança de ninfas de primeiro ínstar (N1) para ninfas de segundo ínstar (N2) sem repasto sanguíneo. A espécie foi colonizada com sucesso e o seu ciclo biológico foi elucidado pela primeira vez. Assim, os achados obtidos no presente estudo contribuirão com informações para um melhor conhecimento da espécie, além de fornecer subsídios para manutenção de colônia em laboratório.

**Palavras - chaves:** *Ornithodoros mimon*, Argasidae, ciclo biológico.

## ABSTRACT

LANDULFO, Gabriel Alves. **Estudo do Ciclo Biológico de *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae) em condições de laboratório**. 2012. 32p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2012.

*Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969 is an argasid tick, originally described from larvae collected on bats from Bolivia and Uruguay. In Brazil the species is aggressive to humans and animals. Nymphs and adults of *O. mimon* were collected from the roof of a residence in Araraquara, São Paulo, Brazil, whose residents were bitten by ticks. Once in the laboratory, they were fed rabbits and maintained in biological oxygen demand incubator at  $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $90\% \pm 10\%$  relative humidity. The females, after mating, laid eggs that resulted in larvae that were identified by the original description and also by the paratypes examination (RML 50271-50274) deposited at the United State National Tick Collection, Georgia, GA, USA. The life cycle of this species was obtained through the acquisition of two generations of ticks (F1 and F2) in the laboratory using rodents and rabbits as hosts. The biological parameters of larva, nymph and adult stages of both generations were observed and recorded from infestations in the laboratory hosts. Larvae showed a profile of feeding for days on the host, while the nymphs and adults for few minutes. It was observed molt from first nymphal instar (N1) to second nymphal instar (N2) without blood meal. The species was successfully colonized and its life cycle was elucidated for the first time. Thus, the findings obtained in this study have contributed with information for better knowledge of the species, and provides subsidies for maintenance of the colony in the laboratory.

**Key words:** *Ornithodoros mimon*, Argasidae, life cycle.

## LISTA DE ABREVIACOES E SMBOLOS

<b>B.O.D.</b>	estufa Biológica com Demanda de Oxignio
<b>COMEP</b>	comissão de tica na Pesquisa
<b>EEPPWON</b>	estaco Experimental para Pesquisas Parasitológicas W.O. NEITZ
<b>F1</b>	primeira Gerao
<b>F2</b>	segunda Gerao
<b>IPO</b>	ndice de eficiência na produo de ovos
<b>IEN</b>	ndice de nutricional
<b>LPIB</b>	laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan
<b>MO</b>	microscopia óptica
<b>MEV</b>	microscopia eletrônica de varredura
<b>USNTC</b>	United States National Tick Collection

## LISTAS DE TABELAS

**Tabela 1.** Parâmetros biológicos do estágio larval de *Ornithodoros mimon* das gerações F1 e F2 alimentadas nos hospedeiros de laboratório..... 13

**Tabela 2.** Parâmetros biológicos dos estágios ninfas (N1, N2 e N3) de *Ornithodoros mimon* das gerações F1 e F2..... 16

**Tabela 3.** Parâmetros biológicos da fase parasitária do estágio adulto de *Ornithodoros mimon* de ambas gerações. .... 21

**Tabela 4.** Parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas de *Ornithodoros mimon* de ambas gerações. .... 22

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Microscopia eletrônica de varredura da larva de *Ornithodoros mimon*: Idiossoma dorsal; **Figura 2.** Idiossoma ventral; 2a. Opistosoma ventral, seta indicando a cerda suplementar; **Figura 3.** Gnatossoma ou capítulo, vista dorsal; **Figura 4.** Gnatossoma ou capítulo, vista ventral, seta indicando o ápice do hipostômio; **Figura 5.** Tarso I, Órgão de Haller, abertura lateralmente (seta). Escalas das barras: 1—190 µm; 2—180 µm; 2a—90 µm; 3—30 µm; 4—60 µm; 5—40 µm..... 8
- Figura 6.** Infestação de larvas de *Ornithodoros mimon* no hospedeiro roedor. **6a.** Roedor da espécie *Meriones unguiculatus*; **6b.** Roedor sendo anestesiado para a infestação das larvas; **6c.** Inserção do roedor no tudo de PVC; **6d.** Tubos de PVC contendo roedores no período de 18 horas; **6e.** Liberação do roedor do tubo e acondicionamento do mesmo na caixa de polipropileno previamente preparada. .... 10
- Figura 7.** Infestação de larvas e ninfas de *Ornithodoros mimon* nos coelhos da raça Nova Zelândia. **7a.** Coelho preparado para a infestação do estágio larval, em destaque o círculo preto para mostrar a câmara de contenção. **7b.** Alojamento do coelho em gaiola; **7c.** Coelho tricomotizado para infestação; **7d.** Infestação de ninfas de *O. mimon* no dorso do coelho. .... 11
- Figura 8.** Período de alimentação das larvas de *Ornithodoros mimon* da 1ª geração alimentadas nos hospedeiros, roedor e coelho..... 14
- Figura 9.** Período de muda das larvas de *Ornithodoros mimon* da 1º geração alimentadas no roedor e coelho. .... 14
- Figura 10.** Período de alimentação das larvas de *Ornithodoros mimon* da 2º geração alimentadas nos roedores..... 15
- Figura 11.** Período de muda das larvas de *Ornithodoros mimon* da 2º geração alimentadas nos roedores. .... 15
- Figura 12.** Período de muda das ninfas de primeiro ínstar (N1) de *Ornithodoros mimon* da 1º geração alimentadas no coelho e roedor..... 18
- Figura 13.** Período de muda das ninfas de segundo (N2) e terceiro (N1) ínstar de *Ornithodoros mimon* da 1º geração alimentadas no coelho. .... 18
- Figura 14.** Período de muda dos ínstares ninfaís (N1, N2 e N3) de *Ornithodoros mimon* da 2º geração alimentadas no coelho. .... 19
- Figura 15.** Estágio adulto de *Ornithodoros mimon*, fertilização e oviposição. **15a.** Macho à esquerda e fêmea à direita; **15b.** Fêmea, após cópula, com o espermatóforo sobre a abertura genital; **15c.** Fêmea colocando os ovos. .... 20
- Figura 16.** Número médio de ovos das fêmeas de ambas as gerações (F1 e F2) por ciclo gonotrófico. .... 23
- Figura 17.** Ciclo biológico de *Ornithodoros mimon* em condições de laboratório, utilizando roedores e coelhos como hospedeiros. .... 23

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 OBJETIVOS .....	3
2 REVISÃO LITERÁRIA.....	4
2.1 Descrição e distribuição de <i>Ornithodoros mimon</i> .....	4
2.2 Ciclo Biológico da família Argasidae.....	4
2.3 Hospedeiros e estilo de vida nidícola .....	5
2.4 Importância médica e veterinária da família Argasidae .....	6
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	7
3.1 Local da realização do experimento .....	7
3.2 Origem dos Carrapatos .....	7
3.3 Infestação dos carrapatos .....	7
3.4 Hospedeiro - roedor .....	7
3.5 Hospedeiro - Coelho .....	9
3.6 Análise Estatística.....	12
4 RESULTADOS .....	12
4.1 Larva .....	12
4.2 Nífa (N1, N2 e N3) .....	12
4.3 Adultos.....	19
5 DISCUSSÃO.....	24
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	26
7 CONCLUSÃO.....	27
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28

# 1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos são artrópodes compreendidos na classe Arachnida, subclasse Acari e pertencentes à subordem Ixodida, superfamília Ixodoidea, que é composta por três famílias: Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae. As duas primeiras estão amplamente distribuídas enquanto que a última está restrita à África e Tanzânia (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Membros dessas famílias são hematófagos cujos hospedeiros englobam uma vasta diversidade de animais vertebrados (anfíbios, répteis, aves e mamíferos), incluindo o homem (HOOGSTRAAL, 1985). Os carrapatos são importantes para a saúde pública e animal, pois podem transmitir agentes patogênicos, sendo apontados como o segundo grupo em importância zoonótica (SONENSHINE, 1991). Além disso, estes acarinos causam injúrias aos hospedeiros durante a hematofagia (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Atualmente, são conhecidas aproximadamente 900 espécies para o mundo (GUGLIELMONE et al., 2010).

A família Ixodidae é mais numerosa em espécies e também a mais estudada do ponto de vista taxonômico, enquanto que a família Argasidae, embora com muitos representantes na Região Neotropical, é pouco conhecida. A maioria das espécies de argasídeos foi descrita do estágio larval, cujas descrições são muito antigas, pobres em detalhes e as ilustrações não representam bem os caracteres morfológicos de cada táxon (VENZAL et al., 2006). A família Nuttalliellidae é conhecida somente pela descrição de uma única espécie, *Nuttalliella namaqua* Bedford, 1931, cujos exemplares foram coletados em roedor (Otomyidae), em um pequeno carnívoro (Viverridae) e em ninhos de aves (Hirundinidae) (KEIRANS et al., 1976).

Os ixodídeos possuem uma posição sistemática e filogenética bem estabelecida, diferentemente da família Argasidae que apresenta complicações taxonômicas, pois as escolas ocidental e oriental divergem quanto ao consenso da posição genérica dos argasídeos. Segundo Estrada-Peña et al. (2010), dois importantes fatores contribuem para esta incerteza: primeiro, a determinação de caracteres morfológicos estáveis e confiáveis, e segundo, a alta diversidade de espécies de Argasidae, que tem sido subestimada nas compilações das chaves taxonômicas, principalmente na região Neotropical (NAVA et al., 2010; DANTAS-TORRES et al., 2012). Hoogstraal (1985) reconhece cinco gêneros válidos em Argasidae, *Ornithodoros* Koch, *Antricola* Cooley & Kohls, *Argas* Latreille, *Nothoaspis* Keirans & Clifford e *Otobius* Banks.

Klompen e Oliver (1993) elevaram o subgênero de *Argas*, *Carios* Latreille, em nível de gênero, incluindo neste, os gêneros *Antricola* e *Nothoaspis*, além de alguns representantes (carrapatos associados aos morcegos) de *Argas* e *Ornithodoros*. Esses autores se basearam em análises filogenéticas subsidiadas por caracteres morfológicos e moleculares, resultando em uma drástica modificação e rearranjo na sistemática de Argasidae.

Horak et al. (2002) e Barker e Murrell (2004) adotaram a modificação proposta por Klompen e Oliver (1993), mas Labruna et al. (2008) evidenciaram quatro distintos clados, cada um representado por *Argas*, *Ornithodoros*, *Carios* e *Antricola*, sendo este último revalidado em nível de gênero pela análise filogenética.

Guglielmone et al. (2003, 2010), Venzal et al. (2006, 2008), Nava et al. (2010) e Estrada-Peña et al. (2004, 2010) não concordam com as modificações na sistemática de Argasidae feitas por Klompen e Oliver (1993), alegando que é preciso realizar mais estudos que abranjam a morfologia, ciclo biológico, relação parasito-hospedeiro e taxonomia molecular para consolidar a posição sistemática e filogenética dos argasídeos. Desta maneira, em conhecimento da incerteza da classificação dos membros da família Argasidae, o presente trabalho adotará a sistemática clássica de Hoogstraal (1995), que foi mantida na última revisão elaborada por Guglielmone et al. (2010). Nesta revisão a fauna mundial de argasídeos compreende 195 espécies (GUGLIELMONE et al., 2010; NAVA et al., 2010).

O gênero *Ornithodoros* inclui a maior parte dos argasídeos, possuindo aproximadamente 113 espécies descritas para o mundo, das quais 52 ocorrem na região Neotropical e 15 ocorrem no Brasil, *Ornithodoros rudis* Karsh, 1880, *Ornithodoros talaje* (Guérin-Méneville, 1849), *Ornithodoros capensis* Neumann, 1901, *Ornithodoros rostratus* Aragão, 1911, *Ornithodoros brasiliensis* Aragão, 1923, *Ornithodoros nattereri* Warburton, 1927, *Ornithodoros hasei* (Schulze, 1935), *Ornithodoros jul* Schulze, 1940, *Ornithodoros stageri* Cooley & Kohls, 1941, *Ornithodoros marinkellei* Kohls, Clifford & Jones, 1969, *Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969, *Ornithodoros setosus* Kohls, Clifford & Jones, 1969, *Ornithodoros rondoniensis* (Labruna, Terassini, Camargo, Brandão, Ribeiro & Estrada-Peña, 2008), *Ornithodoros fonsecai* (Labruna & Venzal, 2009) (GUGLIELMONE et al., 2010; DANTAS-TORRES et al., 2009) e *Ornithodoros cavernicolous* Dantas-Torres, Venzal & Labruna (DANTAS-TORRES et al., 2012). Algumas destas espécies, como *O. talaje* e *O. capensis*, já foram incriminadas como vetoras de agentes patogênicos. Outras como *O. brasiliensis* e *O. rostratus*, causam lesões graves e febre em humanos (BRUMPT, 1915; ESTRADA-PEÑA; JONJEGAN, 1999; MARTINS et al., 2011).

Embora possuam importância médica e veterinária, há poucos estudos sobre o ciclo de vida destes carrapatos no Brasil. No entanto, o conhecimento biológico dos argasídeos fornece informações importantes sobre as espécies, que auxiliam o desenvolvimento de medidas de controle nas regiões infestadas. Além disso, contribui com a manutenção e criação de colônias de carrapatos em laboratório (SANTOS et al., 2008; MARTINS et al., 2011), etapa fundamental para diversas atividades de pesquisas envolvendo carrapatos (por exemplo, investigação de transmissão de agentes patogênicos e cultivo celular de células embrionárias de carrapatos).

O papel da espécie *O. mimon* como transmissor de patógenos é ainda desconhecido, porém se trata de uma espécie agressiva a humanos. Ninfas e adultos de *O. mimon* foram obtidos em uma residência em Araraquara, SP, cujos moradores apresentavam intensas lesões inflamatórias no local da picada, semelhantes àquelas relatadas por Labruna e Venzal (2009) para a espécie *O. fonsecai* (BARROS-BATTESTI et al., 2011). Outras espécies próximas a *O. mimon*, tais como *O. talaje* e *Ornithodoros puertoricensis* Fox, 1947, já foram associadas à transmissão de Febre Recorrente e de Febre Suína Africana na América do Sul, respectivamente (HOOGSTRAAL, 1985; BARROS-BATTESTI et al., 2011). Desta maneira, embora *O. mimon* não tenha sido encontrada infectada (BARROS-BATTESTI, comunicação pessoal), esta possibilidade não pode ser totalmente descartada, uma vez que a espécie está presente em ambiente domiciliar.

Assim, o conhecimento do ciclo biológico de *O. mimon* vem contribuir com informações sobre a espécie, partindo do pressuposto que ela pode ser criada e mantida em hospedeiros de laboratórios, como coelhos e roedores, já que ela foi encontrada no forro da residência onde havia fezes de roedores e marsupiais e guano de morcegos.

## 1.1 OBJETIVOS

### **Geral:**

Estudar o ciclo biológico de *O. mimon* por duas gerações, em condições de laboratório utilizando roedores e coelhos como hospedeiros.

### **Específicos:**

- Acompanhar os parâmetros biológicos da fase parasitária de larvas, ninfas e adultos;
- Observar os períodos médios de muda para cada um dos estágios biológicos, bem como o número de ciclos gonotróficos por fêmea.
- Determinar os períodos médios de pré-oviposição e oviposição de fêmeas e eclosão das larvas;
- Determinar os índices de produção de ovos (IPO) e de eficiência nutricional (IEN) em cada ciclo gonotrófico.

## 2 REVISÃO LITERÁRIA

### 2.1 Descrição e distribuição de *Ornithodoros mimon*

A espécie *O. mimon* foi originalmente descrita por Kohls et al. (1969) a partir de larvas coletadas sobre morcegos da espécie *Mimon crenulatum* (E. Geoffroy, 1810) da Bolívia e *Eptesicus brasiliensis* (Desmarest, 1819) do Uruguai. A larva de *O. mimon* distingue-se das demais larvas das espécies do gênero *Ornithodoros* (subgênero *Alectorobius*) pelo tamanho e forma piriforme da placa dorsal, pelo número de pares de cerdas dorsais (14 a 15 pares) e pela fórmula dentária 4/4 do hipóstomio (KOHLS et al., 1969). O estágio larval foi por muito tempo o único estágio conhecido da espécie, pois ninfas e adulto, assim como a sua biologia, eram desconhecidos até recentemente.

Venzal et al. (2003) encontraram *O. mimon* pela segunda vez no Uruguai, na divisa com o Brasil, mas em *Eptesicus furinalis* (d'Orbigny, 1847). Esses autores comentaram que *E. furinalis* pode facilmente ser confundida com *E. brasiliensis*, questionando a área de distribuição da última espécie. Venzal et al. (2004) encontraram 13 larvas de *O. mimon* parasitando morcegos na Argentina e incluíram *Eptesicus diminutus* Osgood, 1915 e *Histiopus macrotus* (Poeppig, 1835) como novos hospedeiros.

A espécie foi relatada pela primeira vez no Brasil, com base na morfologia da larva, em morcegos da espécie *Diphylla ecaudata* Spix, 1823 do Distrito Federal, em *E. brasiliensis* do Paraná e em Chiroptera não identificados do estado de São Paulo (VENZAL et al., 2006; GRACIOLLI et al., 2008; DANTAS-TORRES et al., 2009).

Barros-Battesti et al. (2011), redescreveram a larva e descreveram o estágio adulto. Nesse trabalho foi relatado um par de cerdas acessórias na superfície ventral do idiossoma da larva, as quais foram denominadas de “suplementares”. As principais características morfológicas nos adultos (presença de bochechas, pernas com cutículas micromamilonadas e tarsos sem protuberâncias dorsais), bem como o sequenciamento gênico confirmaram a proximidade desta espécie com aquelas do subgênero *Alectorobius* (associadas a morcegos).

### 2.2 Ciclo Biológico da família Argasidae

O ciclo biológico de um carrapato argasídeo compreende: ovo, larva, vários ínstares ninfais e adulto. Poucas espécies podem se reproduzir por partenogênese esporádica (OLIVER, 1989).

Em geral, os argasídeos alimentam-se rapidamente nos estágios ninfal e adultos, enquanto que a larva leva de 7 a 10 dias. Exceções ocorrem para algumas espécies, no estágio larval, que se alimentam por minutos (HOOGSTRAAL, 1985; SONENSHINE, 1991; VIAL, 2009; BARROS-BATTESTI et al., 2012).

Segundo Hoogstraal (1985) o hospedeiro pode influenciar no tempo de alimentação das larvas. O autor sugere que aquelas que parasitam mamíferos terrestres tendem a uma alimentação de alguns minutos, como por exemplo, *Ornithodoros turicata* (Dugès, 1876) (BECK et al., 1986) e *Ornithodoros erraticus* (Lucas, 1849) (SHOURA, 1987). Por outro lado, aquelas que parasitam aves e morcegos (que correspondem à maioria das espécies conhecidas), como *Ornithodoros kelleyi* Cooley & Kohls, 1941 (SONENSHINE; ANASTOS, 1960) e *Ornithodoros amblus* Charmberli, 1920 (KHALIL; HOOGSTRAAL, 1981), requerem vários dias para realizarem o repasto sanguíneo. Algumas espécies do gênero *Ornithodoros*, no estágio larval, não se alimentam, como por exemplo, *Ornithodoros savignyi* (Audouin, 1826) e *O. brasiliensis* (KHAN; SRIVASTAVA, 1988; BARROS-BATTESTI et al., 2012).

Segundo Vial (2009) os ínstares ninfais de um carrapato argasídeo podem variar de 3 a 9, com exceção de uma espécie do gênero *Otobius*, *Otobius lagophilus* Cooley & Kohls,

1940, que possui somente um único ínstar ninfal (BACHA, 1957). Já *Otobius megnini* (Dugès, 1883) pode ter mais de 2 ínstares (NAVA et al., 2009). A espécie *Argas neghmei* Kohls & Hoogstraal, 1961 possui 3 ínstares ninfais, enquanto que *O. talaje*, *O. erraticus* e *O. amblus* possuem 4, 5 e 6 ínstares, respectivamente (KHALIL; HOOGSTRAAL, 1981; SHOURA, 1987; SCHUMAKER; BARROS, 1995; GONZÁLEZ-ACUÑA et al., 2010). Normalmente, os ínstares ninfais necessitam de repastos sanguíneos antes de cada ecdise, mas existem espécies do gênero *Ornithodoros* (por exemplo, *O. amblus*) que realizam a muda para o segundo ínstar ninfal (N2) sem alimentação (KHAN; SRIVASTAVA, 1988; SONENSHINE, 1991).

Machos e fêmeas de argasídeos normalmente se assemelham às ninfas, diferindo destas apenas pela presença da abertura genital (SONENSHINE, 1991). Os carrapatos machos são os primeiros a emergirem, pois as fêmeas requerem mais ínstares ninfais para atingir a maturidade sexual (SCHUMAKER; BARROS, 1995). Os carrapatos adultos alimentam-se múltiplas vezes no hospedeiro, e a fêmea realiza diversas posturas (ciclos gonotróficos), geralmente precedidas de alimentação e novos acasalamentos (HOOGSTRAAL, 1985; VIAL, 2009). As espécies dos gêneros *Otobius* e *Antricola* não se alimentam no estágio adulto (OLIVER, 1989).

Segundo Oliver (1989) e Faccini e Barros-Battesti (2006) o acasalamento dos argasídeos ocorrem fora do hospedeiro e a quantidade de ovos colocados em cada ciclo é inferior ao número de ovos relatos para os ixodídeos. Guimarães et al. (2001) e Vial (2009) citaram que uma fêmea de argasídeo ovipõe entre 400 a 500 ovos em cada postura. Porém, nos estudos de ciclo biológico de espécies do gênero *Ornithodoros* em condições de laboratório, a quantidade obtida de ovos em cada ciclo gonotrófico é inferior a 300 ovos (HOOGSTRAAL et al., 1970; BECK et al., 1986; SHOURA, 1987; KHALIL; HOOGSTRAAL, 1981; SCHUMAKER; BARROS, 1995).

As fêmeas fertilizadas levam um determinado período, denominado de período de pré-oviposição ou de pré-postura, para colocarem os primeiros ovos. Após iniciar a postura, as fêmeas passam dias colocando ovos e esse período compreendido entre o primeiro até o último ovo é conhecido como período de oviposição ou postura (SCHUMAKER; BARROS, 1995).

O período de pré-postura no primeiro ciclo gonotrófico é geralmente superior aos dos ciclos posteriores, mas a quantidade de ovos é menor. Segundo Khalil e Hoogstraal (1981) uma explicação para o fato é porque a fêmea jovem ainda esta madurecendo e desenvolvendo o aparelho reprodutivo (genitália), consumindo e desviando parte do sangue ingerido no primeiro repasto sanguíneo para isto. Nos ciclos gonotróficos posteriores o repasto sanguíneo é direcionado para a produção dos ovos. Os ovos férteis colocados em cada ciclo gonotrófico passam por um período de incubação que posteriormente originará o primeiro estágio ativo, a larva (HOOGSTRAAL, 1985; FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006; VIAL, 2009).

### **2.3 Hospedeiros e estilo de vida nidícola**

Os carrapatos da família Argasidae possuem uma grande amplitude de hospedeiros vertebrados, podendo infestar anfíbios, répteis, aves e mamíferos (GALUN; STERNBERG, 1978; VENZAL; ESTRADA-PEÑA, 2006; SANTOS et al. 2008).

As espécies que vivem dentro das habitações dos hospedeiros são denominadas de endófilas nidícolas, ou seja, compartilham o mesmo micro-habitat dos abrigos dos hospedeiros, enquanto que outras preferem se refugiar em locais relativamente próximos às habitações dos vertebrados, sendo denominadas de geófilas nidícolas (SONENSHINE, 1993; VIAL, 2009). Portanto, o habitat dos parasitos está intimamente associado com o do hospedeiro, pois os argasídeos habitam e vivem a maior parte ou toda a sua vida perto ou dentro de ninhos, tocas, buracos, cavernas ou qualquer outro abrigo (teto ou frestas de residências de humanos) utilizado pelos vertebrados (SONENSHINE, 1993; FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006).

Segundo Hoogstraal e Aeschlimann (1982) os carrapatos argasídeos têm um padrão de vida que envolve múltiplos hospedeiros, já que cada ínstar ninfal parasita um hospedeiro diferente, geralmente da mesma espécie. Além disso, as fêmeas realizam diversos ciclos gonotróficos geralmente precedidos de alimentação. No entanto, há exceções como o caso de *O. megnini*, que é um carrapato de um único hospedeiro, e *Ornithodoros lahorensis* Neuman, 1908 que possui dois hospedeiros no seu ciclo de vida (HOOGSTRAAL, 1985, OLIVER, 1989, SONENSHINE, 1991, NAVA et al. 2009).

#### **2.4 Importância médica e veterinária da família Argasidae**

Conforme Hoogstraal (1985), os carrapatos transmitem uma variedade maior de organismos patogênicos que qualquer outro artrópode hematófago, possuindo assim uma grande importância médica e veterinária, já que muitos desses organismos causam zoonoses. Além da capacidade vetorial, os carrapatos também podem causar inúmeras condições tóxicas ao hospedeiro, como paralisia, irritação, alergia e injúrias ou lesões decorrentes da picada (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999).

Segundo Jongejan e Uilenberg (2004) os argasídeos de importância médica e veterinária pertencem aos gêneros, *Argas*, *Otobius* e *Ornithodoros*. Em *Argas*, *Argas reflexus* (Fabricius, 1794), *Argas vespertilionis* (Latreille, 1796), *Argas monolakensis* Schwan, Corwin & Brown, 1992 e *Argas miniatus* Koch, 1844 são bastante agressivas aos humanos e aos animais de criação, sendo a última, transmissora da *Borrelia anserina* (ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; LISBÔA et al., 2009). No gênero *Otobius*, *O. megnini* é a espécie de maior importância, pois a larva e as ninfas parasitam uma grande variedade de mamíferos domésticos, como gado, ovelha, caprino, cão e cavalo, além de humanos (EADS; CAMPOS, 1984; ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999; NAVA et al., 2009).

O gênero *Ornithodoros* possui diversas espécies envolvidas na transmissão de microrganismos patogênicos (principalmente organismos bacterianos do gênero *Borrelia* Swellengrebel, 1907) e no parasitismo em humanos, pois segundo Estrada-Peña e Jongejan (1999), 22 espécies já foram citadas parasitando humanos, e destas 12 são frequentemente encontradas, como *Ornithodoros moubata* (Murray, 1877), *Ornithodoros parkeri* Cooley, 1936, *O. hermsi*, *O. capensis*, *O. kelleyi* e *O. erraticus* (HOOGSTRAAL et al., 1976; VARGAS, 1984; ESTRADA-PEÑA; JONGEJAN, 1999).

Recentemente, Martins et al. (2011) e Barros-Battesti et al. (2011) relataram o parasitismo de *O. brasiliensis* e *O. mimon*, respectivamente, em humanos, aumentando assim o número de espécies de argasídeos que parasitam o homem.

## 3 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 Local da realização do experimento

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan (LPIB), São Paulo, SP, Brasil, e no Laboratório de Ixodologia da Estação Experimental para Pesquisas Parasitológicas W.O. NEITZ (EPPWON) 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 Origem dos Carrapatos

Os carrapatos utilizados no experimento são provenientes da colônia de argasídeos do laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan. A colônia de *O. mimon* teve início com a coleta de exemplares (ninfas e adultos) em 2008 do teto de uma residência no município de Araraquara, SP (21°47'S, 48°10'W). Uma vez no Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, estes carrapatos foram alimentados em coelhos da raça Nova Zelândia. Após alimentação, os espécimes foram mantidos em estufa tipo B.O.D. (estufa Biológica com Demanda de Oxigênio), à 27°C ± 1°C e 90% ± 10% umidade.

Após acasalamento, as fêmeas fizeram posturas que resultaram em larvas, as quais foram identificadas como *O. mimon*, com base na descrição original de Kohls et al. (1969). Posteriormente, parte das larvas foi preparada para microscopia óptica (MO, Zeiss, MC80DX, Butantan) e eletrônica de varredura (MEV, Zeiss, LEO 440, Museu de Zoologia da USP) (Figuras 1-5) e comparada aos parátipos depositados na coleção de carrapatos da Universidade da Georgia, Estados Unidos (USNTC, United States National Tick Collection), cujos números são RML 50271-50274.

O sequenciamento gênico de *O. mimon* foi realizado e a sequência depositada no GenBank sob o número de acesso GU198362 (BARROS-BATTESTI et al., 2011).

O ciclo biológico de *O. mimon* em condições de laboratório foi acompanhado por duas gerações (larva a larva), utilizando como hospedeiros roedores e coelhos.

### 3.3 Infestação dos carrapatos

Foram utilizados no total, seis roedores da espécie *Meriones unguiculatus* Milne-Edwards, 1867 e dez coelhos da raça Nova Zelândia como hospedeiros experimentais. Os animais foram cedidos pelo Biotério Central do Instituto Butantan e pelo Instituto de Zootecnia da UFRRJ.

O uso dos animais de laboratório como hospedeiros foi autorizado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Butantan e pela Comissão de Ética na Pesquisa da UFRRJ / COMEP-UFRRJ, protocolo 739/10 e 140/2011, respectivamente.

### 3.4 Hospedeiro - roedor

Roedores de ambos os sexos com idade entre 30 a 120 dias serviram de hospedeiros para alimentar o estágio larval (Figura 1-5) e o primeiro instar ninfal de *O. mimon*. Os hospedeiros não tiveram contato prévio com carrapatos e produtos carrapaticidas, antes das infestações. Para minimizar o número de hospedeiros na infestação do estágio larval, três roedores foram utilizados, um animal para a geração F1 e dois para a geração F2.

Os roedores foram acondicionados em caixas de polipropileno com separadores para bebedouro e compartimento para alimento, e mantidos em condições ambientais. Espécimes de segundo e terceiro instar ninfal foram alimentados em coelhos.



**Figura 1.** Microscopia eletrônica de varredura da larva de *Ornithodoros mimon*: Idiossoma dorsal; **Figura 2.** Idiossoma ventral; **2a.** Opistosoma ventral, seta indicando a cerda suplementar; **Figura 3.** Gnatossoma ou capitulo, vista dorsal; **Figura 4.** Gnatossoma ou capitulo, vista ventral, seta indicando o ápice do hipostômio; **Figura 5.** Tarso I, Órgão de Haller, abertura lateralmente (seta). Escalas das barras: 1—190  $\mu\text{m}$ ; 2—180  $\mu\text{m}$ ; 2a—90  $\mu\text{m}$ ; 3—30  $\mu\text{m}$ ; 4—60  $\mu\text{m}$ ; 5—40  $\mu\text{m}$ .

Na alimentação das larvas tanto da primeira como da segunda geração, os roedores foram anestesiados com um anestésico injetável intramuscular, cloridrato de Ketamina - Vetanarcol®, na dosagem de 0,07 mL para cada roedor (Figura 6). Depois de anestesiados os roedores foram infestados com larvas colocadas diretamente no pelo e introduzidos em tubo de PVC (diâmetro 4 cm e comprimento 11 cm) fechado nas extremidades com tela de arame. Os tubos foram necessários para limitar os movimentos dos roedores nas primeiras 18 horas de infestação, a fim de possibilitar melhor fixação das larvas (Figura 6). Após um período de 18 horas os animais foram retirados dos tubos e colocados em caixas de polipropileno (Figura 6). Fita dupla face foi colocada na borda das caixas para evitar a fuga dos carrapatos. Estas foram, também, forradas com maravalha para a colheita das larvas ingurgitadas após o desprendimento. Aquelas que não se fixaram ao hospedeiro, no período de 18 horas, foram descartadas. Um roedor recebeu 100 larvas da geração F1 e os outros dois receberam cada um 170 larvas da geração F2. As larvas selecionadas para a infestação tinham entre 30-40 dias de

idade. Diariamente as caixas foram vistoriadas à procura de larvas ingurgitadas. As larvas recuperadas foram individualizadas em frascos identificados por letras do alfabeto e números, sendo mantidas na estufa B.O.D. à  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $90\% \pm 10\%$  umidade. Os carrapatos foram observados individualmente e diariamente para a obtenção do período de muda (intervalo de tempo desde a recuperação do espécime ingurgitado até a muda para o estágio ou ínstar seguinte).

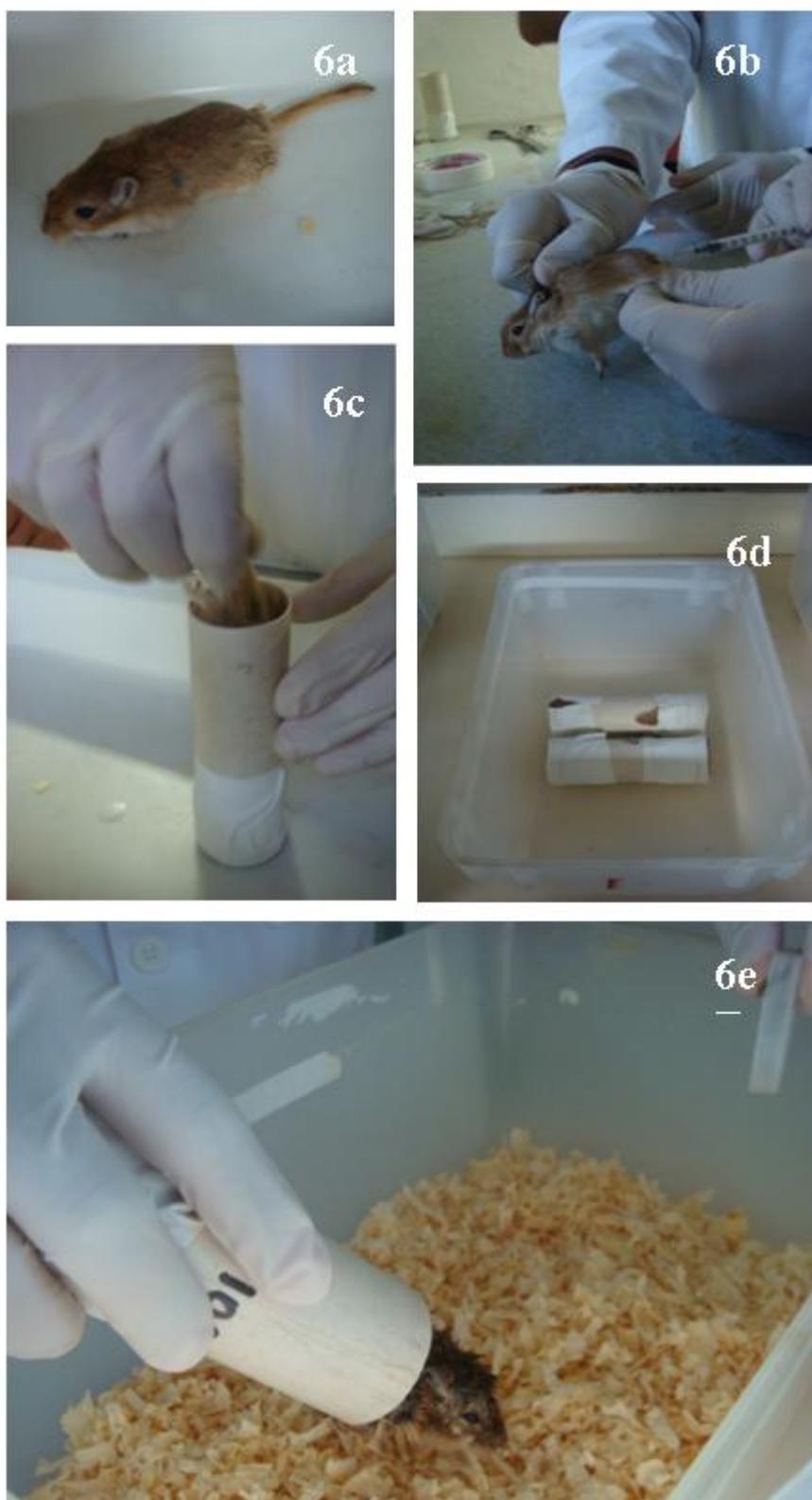
Três novos roedores foram utilizados como hospedeiros para ninfas de primeiro ínstar (N1) da primeira geração. Para tanto, os animais foram também anestesiados com Vetarnacol<sup>®</sup>, na mesma dosagem descrita para alimentação das larvas, e em seguida tiveram a pelagem do dorso parcialmente removida. Posteriormente os hospedeiros foram infestados com grupos de 8 a 9 ninfas por animal, totalizando no final 26 N1. Os parâmetros biológicos da fase parasitária, bem como os tempos de pré-alimentação (tempo que o carrapato leva para fixar-se ao hospedeiro) e alimentação (tempo entre a fixação e o desprendimento natural do hospedeiro) das ninfas foram observados e registrados. Após a alimentação, as N1 também foram acondicionadas em estufa B.O.D. nas mesmas condições já citadas acima para observação dos parâmetros da fase não parasitária.

### **3.5 Hospedeiro - Coelho**

Dez coelhos da raça Nova Zelândia com idade entre 60 a 120 dias e peso entre 1,5 a 2,5 kg, de ambos os sexos, serviram de hospedeiros para todos os estágios biológicos (larva, ninfas e adulto) de *O. mimon*. Durante os experimentos, os coelhos foram mantidos em gaiolas individuais, em condições ambientais, recebendo ração e água a vontade (Figura 7). Os animais foram usados para alimentar 270 larvas da geração F1, 201 ninfas de todos ínstares e 28 adultos de ambas as gerações.

Para alimentar as larvas, uma câmara de contenção foi fixada com cola não-tóxica no dorso do coelho, que foi previamente tricotomizado (Figura 7). A finalidade dessa câmara é impedir a fuga dos carrapatos durante a alimentação, além de facilitar as observações para a obtenção dos parâmetros biológicos. Adicionalmente, um colar de plástico foi colocado no pescoço do animal para limitar o seu movimento e para evitar a remoção da câmara de contenção pelo mesmo. Após a montagem da câmara, um hospedeiro foi infestado com 270 larvas pertencentes à geração F1 de *O. mimon*. Em seguida, a câmara foi lacrada com fita adesiva e o coelho alojado em gaiola como acima descrito. Observações diárias foram realizadas para recolher larvas ingurgitadas que se desprenderam naturalmente do hospedeiro. O período de alimentação (desde o início da infestação até o desprendimento da larva) foi anotado. As larvas recuperadas foram individualizadas em frascos de vidros identificados e fechados com algodão hidrófilo, e acondicionados em estufa B.O.D. nas mesmas condições já descritas.

Os ínstares ninfais foram alimentados em novos coelhos 20 a 40 dias após a muda. Para tanto, os coelhos foram tricotomizados, contidos manualmente e infestados com grupos de 5 a 15 ninfas (Figura 7). Neste caso os espécimes foram alimentados sem o auxílio da câmara de contenção, porque os ínstares ninfais alimentam-se em questão de minutos. Igualmente os tempos de pré-alimentação e alimentação das ninfas foram observados. Na alimentação das ninfas foi estipulado um período de 60 minutos para o tempo de pré-alimentação. Os espécimes que não fixaram nesse tempo foram removidos dos hospedeiros e acondicionados na B.O.D. nas mesmas condições previamente citadas. Algumas ninfas de primeiro e segundo ínstares não foram alimentadas para a obtenção de registros de muda sem repasto sanguíneo. Após o ingurgitamento, as ninfas de todos ínstares foram acondicionadas em estufa B.O.D. e diariamente vistoriadas a fim de se obter os parâmetros biológicos da fase não parasitária (período de muda).



**Figura 6.** Infestação de larvas de *Ornithodoros mimon* no hospedeiro roedor. 6a. Roedor da espécie *Meriones unguiculatus*; 6b. Roedor sendo anestesiado para a infestação das larvas; 6c. Inserção do roedor no tubo de PVC; 6d. Tubos de PVC contendo roedores no período de 18 horas; 6e. Liberação do roedor do tubo e acondicionamento do mesmo na caixa de polipropileno previamente preparada.

Os carrapatos adultos obtidos foram alimentados nos mesmos procedimentos e condições utilizados na alimentação das ninfas.



**Figura 7.** Infestação de larvas e ninfas de *Ornithodoros mimon* nos coelhos da raça Nova Zelândia. 7a. Coelho preparado para a infestação do estágio larval, em destaque o círculo preto para mostrar a câmara de contenção. 7b. Alojamento do coelho em gaiola; 7c. Coelho tricomotizado para infestação; 7d. Infestação de ninfas de *O. mimon* no dorso do coelho.

Os adultos alimentados foram separados em casais e acondicionados em placas de Petri para registro de acasalamento. Cada uma das fêmeas, após a cópula, foi isolada para a visualização e registro de posturas férteis, em cada ciclo gonotrófico. O segundo repasto sanguíneo para a obtenção de um novo ciclo gonotrófico foi oferecido após um período de 30 dias depois da finalização do primeiro ciclo. Os parâmetros biológicos das fêmeas fertilizadas como período de pré-postura e postura, número de ovos por postura e o período de incubação dos ovos foram obtidos a partir de observações diárias sobre as mesmas.

Os pesos das fêmeas antes e depois do repasto sanguíneo, das quenóginas, assim como as massas de ovos, foram obtidos utilizando-se uma balança eletrônica com precisão de 0,0001g. Os índices de eficiência na produção de ovos e eficiência nutricional, IPO e IEN, respectivamente, foram calculados de acordo com Bennett (1974):

$$\text{IPO} = (\text{peso dos ovos} / \text{peso da fêmea ingurgitada}) \times 100$$

$$\text{IEN} = (\text{peso dos ovos} / \text{peso da fêmea ingurgitada} - \text{peso residual da fêmea}) \times 100$$

### 3.6 Análise Estatística

Os parâmetros biológicos possíveis de comparação foram analisados estatisticamente conforme a normalidade dos dados, ou seja, para os dados que seguem uma distribuição normal, foram empregados testes paramétricos, como *test-t*. Testes não-paramétricos, como *Mann-Whitney*, foram implicados na análise para aqueles dados que possuem distribuição não normal ou livre.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Larva

Das 100 larvas da geração F1 que infestaram o roedor e das 270 que infestaram o coelho, foram recuperadas 60 (60%) e 102 (37,77%) larvas ingurgitadas, respectivamente. No hospedeiro roedor, o período de alimentação das larvas foi de 5 a 8 dias (média =  $5,4 \pm 0,7$  dias), conforme mostrado na Tabela 1. No 5º dia pós-infestação foi registrado o maior número de larvas ingurgitadas que se desprenderam do roedor, equivalendo a 73,3% dos carrapatos ingurgitados (Figura 8). As larvas alimentadas no coelho desprenderam-se entre 5 a 9 dias (média =  $5,2 \pm 0,7$  dias) (Tabela 1). Igualmente, cerca de 80% das larvas ingurgitadas caíram no 5º dia (Figura 8). O período médio de muda das larvas ingurgitadas no roedor foi de  $6,7 \pm 0,6$  dias, enquanto que as larvas alimentadas no coelho tiveram um período médio de muda de  $6,8 \pm 0,5$  dias (Tabela 1). A maioria das larvas (acima de 90%), alimentadas em ambos hospedeiros, mudou para o primeiro estágio ninfal (N1). No sétimo dia de muda registrou-se o maior número de ecdises (Figura 9). Não houve diferenças significativas entre os parâmetros biológicos das larvas da geração F1 alimentadas em ambos hospedeiros (Tabela 1).

As larvas da geração F2 foram infestadas somente em roedor, e tiveram um período de alimentação que variou entre 4 a 8 dias (média =  $4,8 \pm 0,9$  dias), com um percentual de recuperação de 45,6% (155/340) (Tabela 1). O 4º dia de alimentação foi o que contemplou o maior número de larvas ingurgitadas, N=72 (Figura 10). O período de muda das larvas ingurgitadas foi de 4 a 7 dias (média =  $6,25 \pm 0,8$  dias), ocorrendo o maior número de ecdises no 7º dia (Figura 11). Das 155 larvas ingurgitadas, 148 (95,5%) realizaram ecdise e tornaram-se ninfas de primeiro ínstar (N1), enquanto que 7 larvas iniciaram, mas não terminaram a muda. Comparando as duas gerações, os parâmetros biológicos das larvas da geração F1 alimentadas no hospedeiro roedor foram numericamente maiores aos parâmetros das larvas da F2 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 1).

### 4.2 Ninfa (N1, N2 e N3)

As ninfas de primeiro ínstar (N1) da geração F1 foram alimentadas em ambos os hospedeiros. Das 56 ninfas provenientes de larvas alimentadas no roedor, 26 N1 alimentaram-se em um novo roedor e tiveram os períodos de pré-alimentação e alimentação variando entre 4 a 25 minutos (tempo médio =  $11,2 \pm 6,6$  minutos) e 20 a 42 minutos (tempo médio =  $27,1 \pm 5,6$  minutos), respectivamente (Tabela 2).

Cinquenta das 95 N1 geração F1, que emergiram de larvas alimentadas no coelho, foram selecionadas aleatoriamente para infestarem um novo coelho. Estas tiveram um tempo de pré-alimentação de 2 a 23 minutos (média =  $10,84 \pm 5,3$  minutos) e um tempo de alimentação variando entre 10 a 60 minutos (média =  $27,38 \pm 10,4$  minutos) (Tabela 2). Todas as N1 alimentadas em ambos hospedeiros realizaram ecdise e tornaram-se ninfas de segundo ínstar (N2).

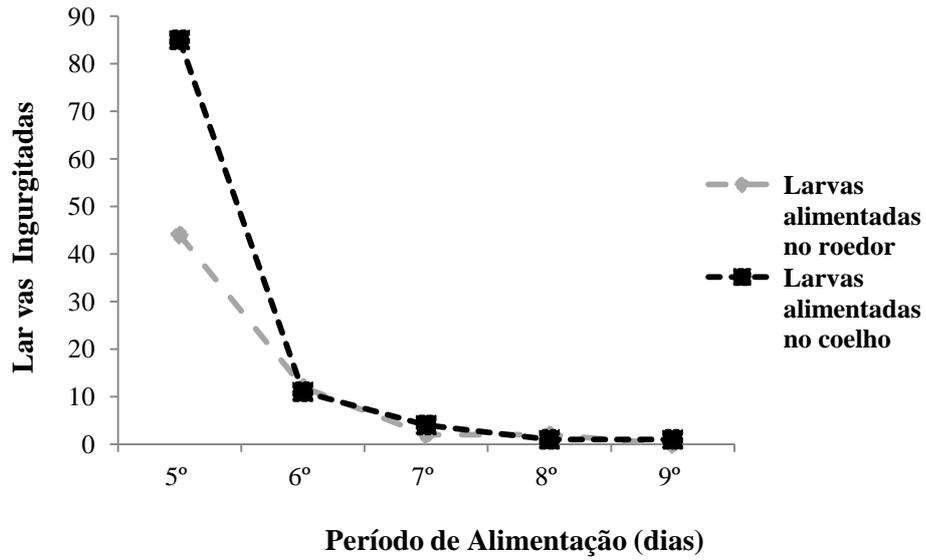
**Tabela 1.** Parâmetros biológicos do estágio larval de *Ornithodoros mimon* das gerações F1 e F2 alimentadas nos hospedeiros de laboratório.

Geração	F1		F2
Hospedeiro (n)	Roedor (1)	Coelho (1)	Roedor (2)
Larvas infestadas	100	270	340
Taxa de recuperação (n)	60 % (60)	37,7% (102)	45,6% (155)
Período médio de alimentação (dias)	5,4 <sup>aB</sup> ± 0,7 (5-8)	5,2 <sup>a</sup> ± 0,7 (5-9)	4,8 <sup>A</sup> ± 0,9 (4-8)
Período médio de muda (dias)	6,7 <sup>aB</sup> ± 0,6 (5-7)	6,8 <sup>a</sup> ± 0,5 (5-8)	6,25 <sup>A</sup> ± 0,8 (4-7)
Porcentagem de muda (n)	93,33% (56)	93,13% (95)	95,5% (148)

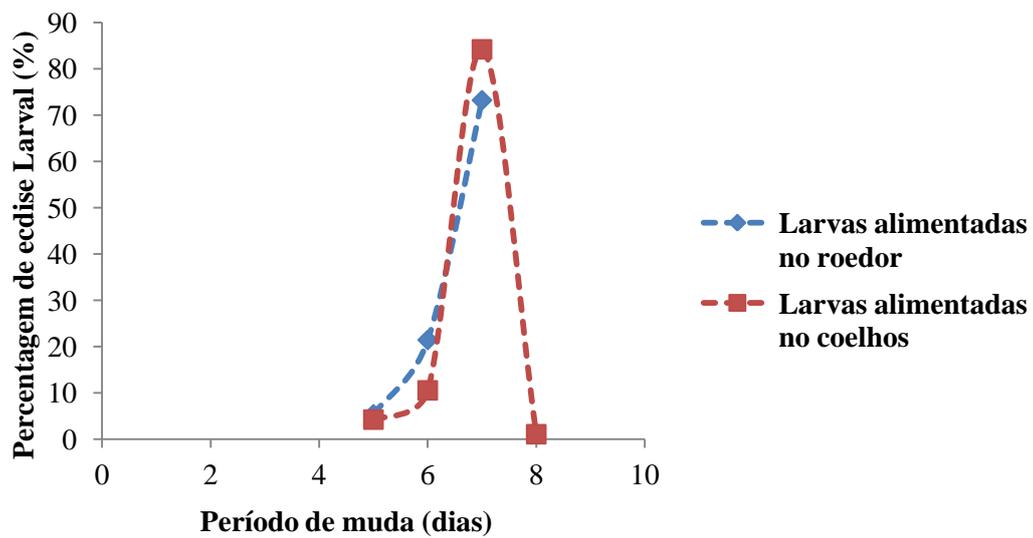
Os Valores presentes na tabela são: média ± desvio padrão (amplitude e/ou número de espécimes)

a: Valores nas linhas, seguidos de letras minúsculas (comparação entre roedor e coelho) iguais não diferem entre si pelo teste *Mann-Whitney*:  $p > 0,05$

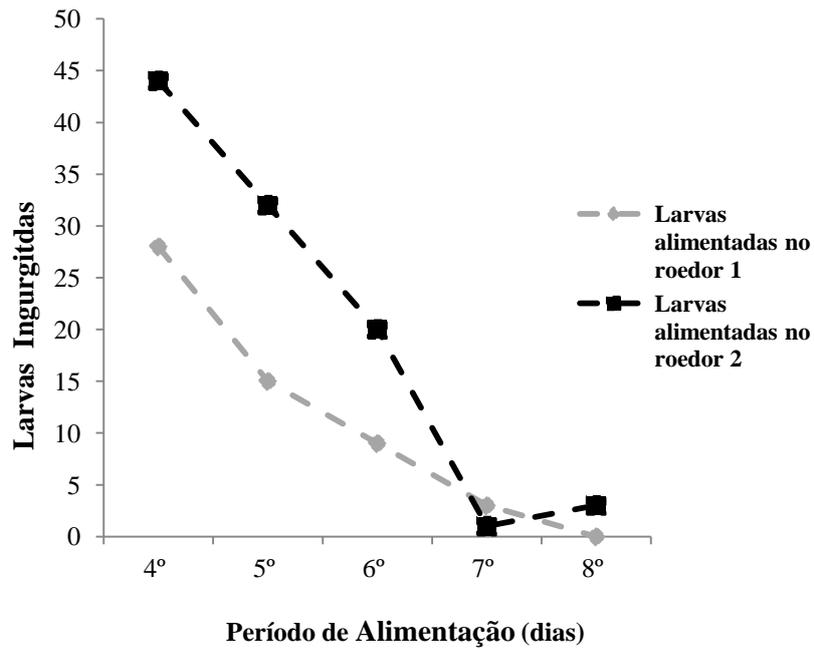
A: valores nas linhas, seguidos de letras maiúsculas (comparação entre F1 e F2 em roedores) iguais não diferem entre si pelo teste *Mann-Whitney*:  $p > 0,05$



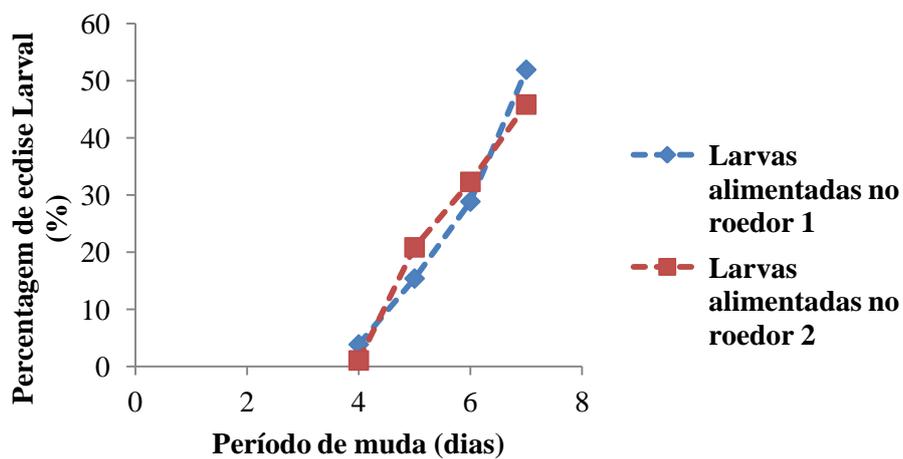
**Figura 8.** Período de alimentação das larvas de *Ornithodoros mimon* da 1ª geração alimentadas nos hospedeiros, roedor e coelho.



**Figura 9.** Período de muda das larvas de *Ornithodoros mimon* da 1ª geração alimentadas no roedor e coelho.



**Figura 10.** Período de alimentação das larvas de *Ornithodoros mimon* da 2ª geração alimentadas nos roedores.



**Figura 11.** Período de muda das larvas de *Ornithodoros mimon* da 2ª geração alimentadas nos roedores.

**Tabela 2.** Parâmetros biológicos dos estágios ninfas (N1, N2 e N3) de *Ornithodoros mimon* das gerações F1 e F2.

Parâmetros Biológicos	Geração							
	F1		F2		F1		F2	
Hospedeiro	Roedor		Coelho		Coelho		Coelho	
Estágio Ninfal	N1		N2		N3			
Ninfas infestadas	26	50	54	17	34	12	8	
Percentual de ninfas ingurgitadas (n)	100% (26)	100% (50)	100% (54)	100% (17)	100% (34)	100% (12)	100% (8)	
Tempo médio de pré-alimentação (min.)	11,2 <sup>a*</sup> ±6,6 (4-26,8)	10,84 <sup>a*</sup> A±5,3 (2-23)	28,4 <sup>B</sup> ±18,1 (4-60)	15,05 <sup>A</sup> ±7,4 (5-27)	25,6 <sup>B</sup> ±17,8 (2-60)	25,1 <sup>A*</sup> ± 11,6 (10-45)	17,25 <sup>A*</sup> ±17,8 (5-57)	
Tempo médio de alimentação (min.)	27,1 <sup>a</sup> ±5,6 (20-42)	27,38 <sup>aa</sup> ± 10,4 (10-60)	33,8 <sup>B</sup> ±8,05 (15-55)	26,1 <sup>A</sup> ±8,3 (13-42)	31,4 <sup>B</sup> ± 9,6 (15-50)	37,6 <sup>A</sup> ± 7 (27-48)	31,6 <sup>A</sup> ±8,7 (23-44)	
Período médio de muda (dias)	13,4 <sup>b*</sup> ±3,1 (9-19)	11,5 <sup>a*</sup> A±1,6 (9-14)	12,3 <sup>B</sup> ±1,4 (10-14)	11,7 <sup>A</sup> ±2,1 (10-19)	15,5 <sup>B</sup> ±2,3 (12-18)	15,25 <sup>A*</sup> ± 2,6 (11-20)	19,5 <sup>A*</sup> ±5 (16-30)	
Percentagem de ecdise (n)	100% (26)	100% (50)	100% (54)	100% (17)	100% (34)	100% (12)	87,5% (7)	
Maturidade Sexual	-	-	-	3♂ e 2 ♀	14♂ e 12♀	3♂ e 9♀	7♀	

Os Valores presentes na tabela são: média ± desvio padrão (amplitude e/ou número de espécimes)

a\*: valores nas linhas, seguidos de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste *Mann-Whitney*:  $p>0,05$

a: valores nas linhas, seguidos de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste *Test-t*:  $p>0,05$

A: valores nas linhas, seguidos de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste *Test-t*:  $p>0,05$

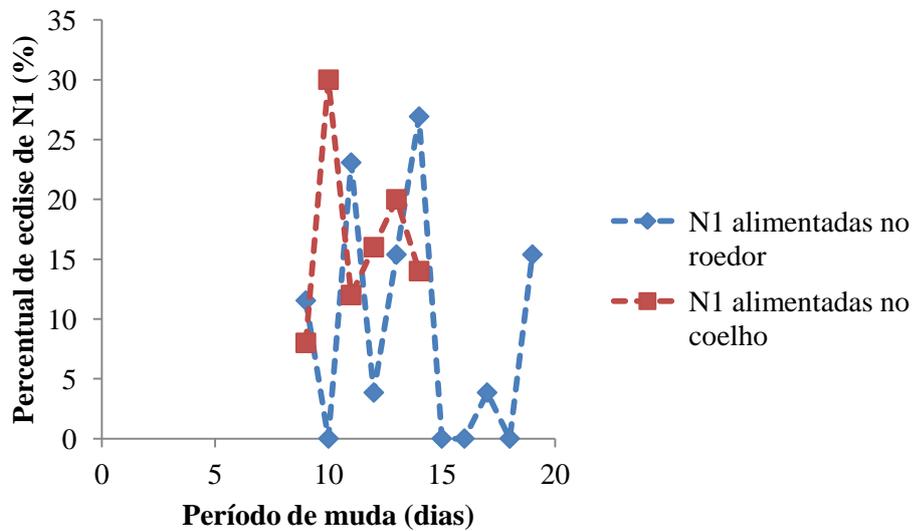
A\*: valores nas linhas, seguidos de letras maiúsculas iguais não diferem entre si pelo teste *Mann-Whitney*:  $p>0,05$

Observou-se que 4 N1, pertencentes ao grupo de ninfas sem alimentação, realizaram muda sem repasto sanguíneo. Estas levaram de 14 a 28 dias para mudarem de instar ninfal.

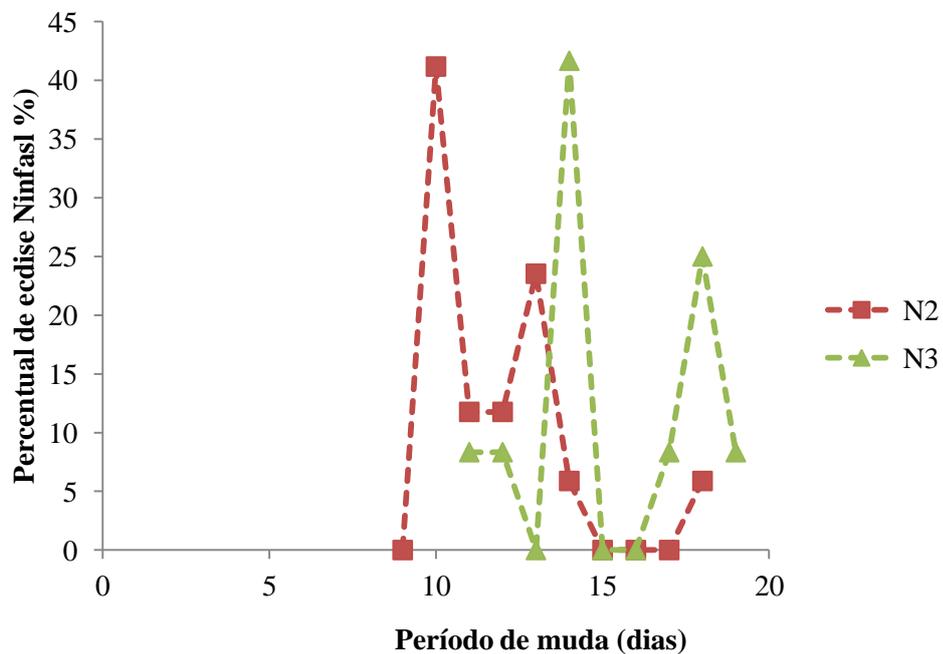
Embora os tempos médios de pré-alimentação e alimentação das N1 da geração F1 alimentadas no roedor tenham sido menores que os tempos médios daquelas alimentadas no coelho, estatisticamente ( $p>0,05$ ) não houve diferença significativa. Porém, o parâmetro período de muda teve diferença significativa, sendo este maior nas ninfas que tiveram o roedor como hospedeiro. A maioria das N1 alimentadas no roedor realizou ecdise no décimo quarto dia de muda, enquanto que aquelas alimentadas no coelho no décimo dia de muda (Figura 12).

Considerando que o coelho foi melhor hospedeiro para ninfas que o roedor, as ninfas de segundo e terceiro (N3) ínstar da geração F1, assim como as ninfas da geração F2, foram alimentadas somente no coelho. Das 50 N2 que emergiram de N1 alimentadas no coelho, 17 ingurgitaram e os tempos de pré-alimentação e alimentação variaram entre 5 a 27 minutos (média =  $15,05 \pm 7,4$  minutos) e 13 a 42 minutos (média =  $26,1 \pm 8,3$ ), respectivamente (Tabela 2). As N2 ingurgitadas levaram em média  $11,7 \pm 2,1$  dias para realizarem muda, que resultou em 3 machos, 2 fêmeas e 12 ninfas de terceiro instar (N3). A maioria das N2 ingurgitadas (41%) realizou muda no 10º dia (Figura 13). A proporção sexual de adultos emergindo de N2 foi de  $1,5\♂:1\♀$ . As 12 N3 foram alimentadas e tiveram um tempo de pré-alimentação de 10 a 45 minutos (tempo médio =  $25,1 \pm 11,6$  minutos) e um tempo de alimentação de 27 a 48 minutos (tempo médio =  $37,6 \pm 7$  minutos). Todas as N3 realizaram ecdise em um intervalo de 11 a 19 dias (período médio =  $15,25 \pm 2,6$  dias). No décimo quarto dia ocorreu o maior número de mudas (Figura 13). Destas ecdises foram obtidos 12 adultos, 9 fêmeas (75%) e 3 machos (25%). A proporção sexual de adultos que emergiram de N3 foi de  $3\♀:1\♂$  (Tabela 2).

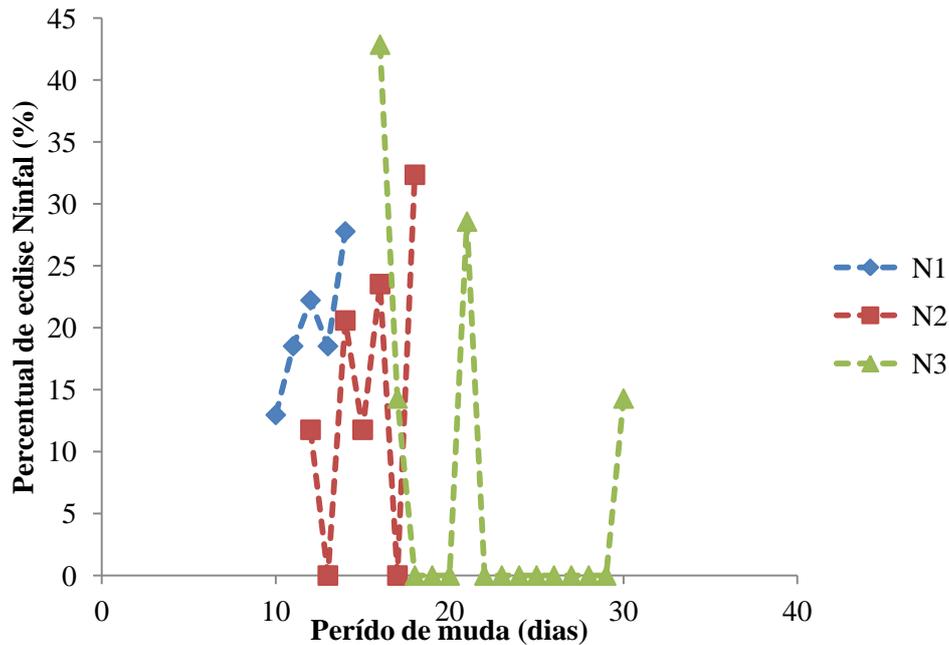
Das 148 N1 obtidas da geração F2, 54 foram selecionadas e ingurgitaram no hospedeiro coelho. Estas tiveram os tempos de pré-alimentação e alimentação variando entre 4 a 60 minutos (tempo médio =  $28,4 \pm 18,14$  minutos) e 15 a 55 minutos (tempo médio =  $33,8 \pm 8,05$  minutos), respectivamente (Tabela 2). Após o repasto sanguíneo, as N1 levaram entre 10 a 14 dias (média =  $12,3 \pm 1,4$  dias) para realizarem muda e tornarem-se ninfas de segundo instar (N2). No décimo quarto dia de muda, 27% das N1 ingurgitadas que realizaram ecdise (Figura 14). Não houve registro de ecdise N1 para N2, sem repasto sanguíneo. Das 54 N2 obtidas, 34 ninfas foram alimentadas. O tempo de pré-alimentação destas variou entre 2 a 60 minutos (média =  $25,6 \pm 17,8$  minutos) e o tempo de alimentação entre 15 a 50 minutos (média =  $31,4 \pm 9,6$  minutos) (Tabela 2). O período de muda das N2 alimentadas variou entre 12 a 18 dias (período médio =  $15,6 \pm 2$  dias), ocorrendo o maior número de mudas no décimo oitavo dia (Figura 14). Destas ecdises foram obtidos 14 machos, 12 fêmeas e 8 ninfas de terceiro instar (N3) (Tabela 2). A proporção sexual dos adultos que emergiram a partir N2 foi de  $1,16:1$  ( $14\♂:12\♀$ ). As 8 N3 da geração F2 foram alimentadas e os tempos médios de pré-alimentação e alimentação foram  $17,25 \pm 17,8$  minutos e  $31,6 \pm 8,7$  minutos, respectivamente (Tabela 2). O período médio de muda foi  $19,6 \pm 5$  dias, mas das 8 N3 alimentadas, 7 realizaram ecdise, enquanto que 1 não terminou o processo de muda (Figura 14). Todas as N3 que realizaram ecdise tornaram-se fêmeas (Tabela 2). Observou-se a liberação de líquido coxal durante o processo de alimentação de todos os ínstaes ninfais de *O. mimon* de ambas gerações.



**Figura 12.** Período de muda das ninfas de primeiro ínstar (N1) de *Ornithodoros mimon* da 1ª geração alimentadas no coelho e roedor.



**Figura 13.** Período de muda das ninfas de segundo (N2) e terceiro (N3) ínstar de *Ornithodoros mimon* da 1ª geração alimentadas no coelho.



**Figura 14.** Período de muda dos ínstares ninfais (N1, N2 e N3) de *Ornithodoros mimon* da 2ª geração alimentadas no coelho.

Comparando os parâmetros biológicos das N1 da geração F1 e F2, observaram-se diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre eles, sendo os parâmetros numericamente menores nas N1 da primeira geração. As ninfas de segundo ínstar da geração F2 apresentaram parâmetros biológicos numericamente maiores que os das N2 da geração F1 ( $p < 0,05$ ), conforme mostrado na Tabela 2. As N3 de ambas as gerações se assemelharam nos aspectos biológicos ( $p > 0,05$ ).

### 4.3 Adultos

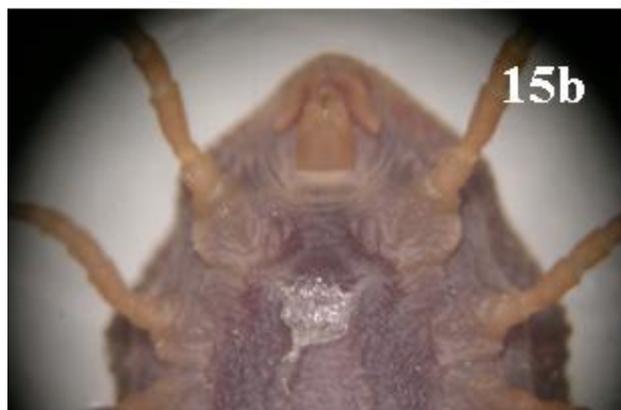
Os parâmetros biológicos do estágio adulto de *O. mimon* (Figura 15) foram obtidos a partir da infestação de 8 fêmeas e 6 machos da geração F1 e 14 casais da geração F2. As fêmeas da primeira geração tiveram um tempo de pré-alimentação que variou entre 5 a 20 minutos (média =  $11,9 \pm 4,9$  minutos) e um tempo de alimentação entre 17 a 40 minutos (tempo médio =  $28,4 \pm 8,4$  minutos). Enquanto que os machos levaram em média  $16,7 \pm 13,8$  minutos para se fixarem no hospedeiro e permaneceram no mesmo por um tempo médio  $26,2 \pm 9$  minutos (Tabela 3).

Os parâmetros da fase parasitária dos adultos da primeira geração não se diferenciaram estatisticamente ( $p > 0,05$ ), conforme pode ser observado na Tabela 3.

Os tempos de pré-alimentação e alimentação das fêmeas da geração F2 variaram entre 5 a 60 minutos (tempo médio =  $20,1 \pm 16,8$  minutos) e 21 a 38 minutos (tempo médio =  $27,6 \pm 5,3$  minutos) respectivamente (Tabela 3). Os machos tiveram um tempo médio de pré-alimentação de  $23,5 \pm 14,8$  minutos e um tempo médio de alimentação de  $16,9 \pm 4,1$  minutos.

Na segunda geração já foi possível obter diferença significativa ( $p < 0,05$ ) quanto ao tempo de alimentação, sendo este parâmetro maior nas fêmeas, ou seja, as fêmeas permanecem no hospedeiro por um tempo maior que os machos.

Assim como nas ninfas, registrou-se a liberação de líquido coxal durante o processo de ingurgitamento.



**Figura 15.** Estágio adulto de *Ornithodoros mimon*, fertilização e oviposição. **15a.** Macho à esquerda e fêmea à direita; **15b.** Fêmea, após cópula, com o espermatóforo sobre a abertura genital; **15c.** Fêmea colocando os ovos.

**Tabela 3.** Parâmetros biológicos da fase parasitária do estágio adulto de *Ornithodoros mimon* de ambas gerações.

Parâmetros Biológicos	Geração			
	F1		F2	
Sexo	♂	♀	♂	♀
Tempo médio de pré-alimentação (min.)	16,7 <sup>a</sup> ±13,8 (3-36)	11,9 <sup>a</sup> ±4,9 (5-20)	23,5 <sup>a</sup> ±14,8 (5-50)	20,1 <sup>a</sup> ±16,8 (5-60)
Tempo médio de alimentação (min.)	26,2 <sup>a</sup> ±9 (15-40)	28,4 <sup>a</sup> ±8,4 (17-40)	16,9 <sup>a</sup> ±4,1 (10-23)	27,6 <sup>b</sup> ±5,3 (21-38)

Os Valores presentes na tabela são: média ± desvio padrão (amplitude)

a: valores nas linhas, seguidos de letras minúsculas iguais não diferem entre si pelo teste *Test-t: p*>0,05

O peso das fêmeas ingurgitadas de ambas as gerações foi cerca de 3 a 4 vezes maior que o peso inicial antes do repasto sanguíneo (Tabela 4).

Após a alimentação, os carrapatos adultos foram postos para copularem em placas de Petri. Alguns machos da 1ª geração copularam com mais de uma fêmea, pois o número de machos era inferior ao de fêmeas. O acasalamento ocorreu em um curto tempo e procedeu-se por meio da movimentação do macho sobre a fêmea, até o alcance da face ventral. Ao atingir o ventre da fêmea, o macho deposita o espermatóforo na sua abertura genital, e esta absorve o conteúdo tornando-se fertilizada (Figura 15). Registrou-se também cópula sobre hospedeiro, quando dois machos livres ao localizar as fêmeas em processo de ingurgitamento projetaram-se até a região ventral das mesmas e acasalaram. Além disso, observou-se acasalamento entre fêmeas ingurgitadas e machos não ingurgitados em placas de Petri.

As oito fêmeas fertilizadas da geração F1 levaram em média  $12,2 \pm 2,4$  dias para iniciarem a postura dos primeiros ovos (período de pré-oviposição) e  $17,2 \pm 5$  dias para colocarem todos os ovos (período de oviposição). Estes dados são referentes ao 1º ciclo gonotrófico das fêmeas (Tabela 4). A oviposição de algumas fêmeas não foi contínua, pois frequentemente a postura de ovos foi interrompida por 1 a 3 dias, e depois retornavam a oviposição. No segundo ciclo gonotrófico, somente seis fêmeas foram analisadas, pois duas fêmeas morreram após o segundo repasto sanguíneo.

O período médio de pré-oviposição no 2º ciclo gonotrófico foi de  $10,3 \pm 6,4$  dias e o período médio de oviposição foi de  $16,8 \pm 7,3$  dias (Tabela 4). A quantidade de ovos entre os dois ciclos variou, sendo maior no segundo ciclo gonotrófico, mas não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ). Os índices médios de produção de ovos (IPO) e eficiência nutricional (IEN) do 1º ciclo gonotrófico foram numericamente menores que os índices do 2º ciclo, mas não se registrou diferenças significativas ( $p > 0,05$ ). Os ovos férteis tiveram um período médio de incubação de  $13,4 \pm 2,6$  dias no 1º ciclo e um período médio de  $12 \pm 1,4$  dias no 2º ciclo. A percentagem média de eclosão nos dois ciclos foi acima de 70%.

Na segunda geração, as 14 fêmeas fertilizadas tiveram no 1º ciclo gonotrófico um período médio de pré-postura de  $19,6 \pm 8,4$  dias e um período médio de postura de  $13,3 \pm 6,2$  dias.

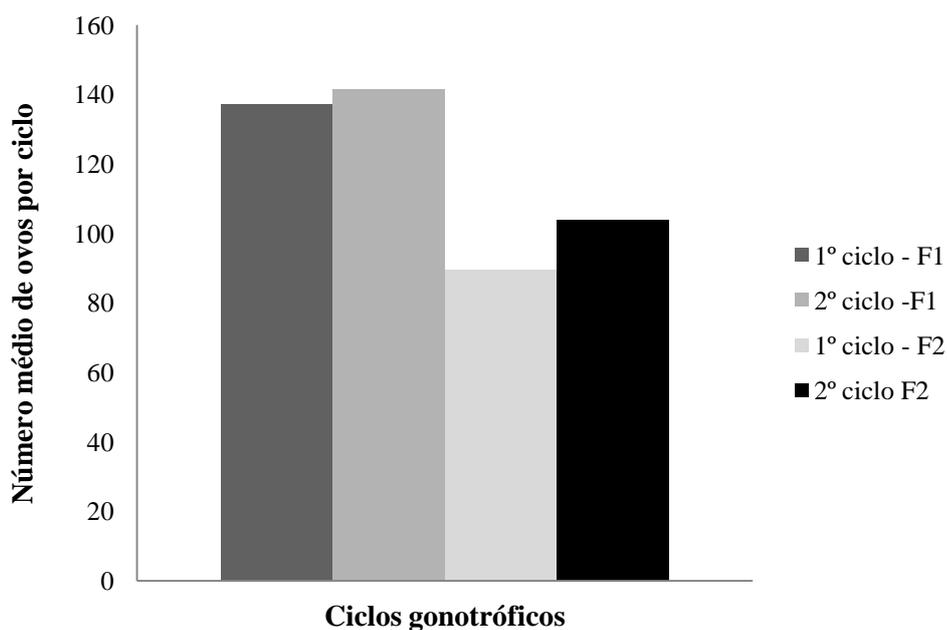
No 2º ciclo gonotrófico, o período médio de pré-postura ( $12,5 \pm 4,8$  dias) foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que o do 1º ciclo, enquanto que o período médio de postura foi semelhante, conforme mostrado na Tabela 4. As fêmeas colocaram em média  $89,4 \pm 42,6$  ovos no primeiro ciclo e  $103,6 \pm 35,13$  ovos no segundo ciclo gonotrófico (Figura 16). Os períodos médios de incubação dos ovos do 1º e 2º ciclo foram de  $11,9 \pm 1,6$  dias e  $13,09 \pm 1,4$  dias, respectivamente.

**Tabela 4.** Parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas de *Ornithodoros mimon* de ambas gerações.

Geração	F1		F2	
	1°	2°	1°	2°
Parâmetros Biológicos – Ciclo gonotrófico	1°	2°	1°	2°
N° de fêmeas	8	6	14	11
Peso médio antes do repasto sanguíneo (mg)	8 <sup>a</sup> ±3,5 (3-14)	7,5 <sup>a</sup> ±2 (4,7-10,6)	4,2 <sup>a</sup> ±1,2 (3-6,2)	5,8 <sup>b</sup> ±1,2 (3,8-7,8)
Peso médio depois do repasto sanguíneo (mg)	22,8 <sup>a</sup> ±6,5(17-37)	21,6 <sup>a</sup> ±3,3 (16-25)	19 <sup>a</sup> ±5,8 (9,7-28)	18,1 <sup>a</sup> ±4,5 (12,8-25,8)
Tempo médio de pré-postura (dias)	12,2 <sup>a</sup> ±2,4 (8-15)	10,3 <sup>a</sup> ±6,4 (3-22)	19,6 <sup>b</sup> ±8,4 (11-39)	12,5 <sup>a</sup> ±4,8 (8-25)
Tempo médio de postura (dias)	17,2 <sup>a</sup> ±5 (10-22)	16,8 <sup>a</sup> ±7,3 (11-30)	13,3 <sup>a</sup> ±6,2 (3-30)	13,6 <sup>a</sup> ±3 (9-19)
Quantidade média de ovos	137 <sup>a</sup> ±50 (84-226)	141 <sup>a</sup> ± 22,5 (114-175)	89,4 <sup>a</sup> ±43 (30-185)	103,6 <sup>a</sup> ±35 (59-168)
Peso médio da massa de ovos (mg)	6,5 <sup>a</sup> ±1,7 (4,3-8,7)	7,3 <sup>a</sup> ±1,4 (5,2-9,1)	4,6 <sup>a</sup> ±2 (1,6-8,9)	6,1 <sup>a</sup> ±2 (3,6-8,6)
Porcentagem de eclosão	77 <sup>a</sup> ± 11,4 (60-92)	76 <sup>a</sup> ±14 (60,4-88,6)	83,4 <sup>a</sup> ±10,2 (62,5-100)	81,4 <sup>a</sup> ±10,5 (59,6-100)
IPO (%)	29,6 <sup>a</sup> ±8,4 (21-42)	33,6 <sup>a</sup> ±2 (31,5-36,2)	23,8 <sup>a</sup> ±7,4 (12,8-34)	34,4 <sup>b</sup> ± 9,8 (18,6-50,8)
IEN (%)	47,8 <sup>a</sup> ±12,6(36-74)	53,2 <sup>a</sup> ±2 (50-55)	36,9 <sup>a</sup> ±15,4 (16-76)	53,2 <sup>b</sup> ±15,6 (26,3-85)
Tempo médio de incubação dos ovos (dias)	13,4 <sup>a</sup> ±2,6 (9-18)	12 <sup>a</sup> ±1,4 (10-14)	11,9 <sup>a</sup> ±1,6 (9-14)	13,09 <sup>a</sup> ±1,4 (10-15)

Os Valores presentes nas tabelas são: média ± desvio padrão (amplitude)

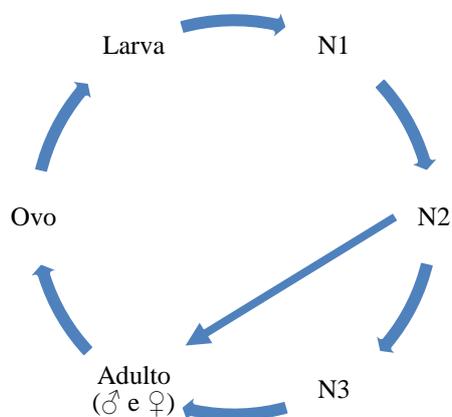
a: valores nas linhas, seguidos de letras iguais não diferem entre si pelo teste *Test-t: p*>0,05



**Figura 16.** Número médio de ovos das fêmeas de ambas as gerações (F1 e F2) por ciclo gonotrófico.

A porcentagem de larvas obtidas da eclosão foi acima de 80%. Os índices IPO e IEN registrados para a geração F2 foram significativamente ( $p < 0,05$ ) maiores no 2º ciclo gonotrófico (Tabela 4). Assim como na primeira geração, três fêmeas também morreram no segundo repasto sanguíneo, resultando na observação de 11 fêmeas no 2º ciclo gonotrófico.

O ciclo biológico (Figura 17) desde larva da geração F1 à eclosão de larva da geração F2 contemplou-se em 167 dias com o estágio adulto emergindo de ninfas de segundo instar e em 175 dias com machos e fêmeas emergindo de N3. O ciclo completo (larva-larva) da geração F2 foi contemplado em aproximadamente 146 dias.



**Figura 17.** Ciclo biológico de *Ornithodoros mimon* em condições de laboratório, utilizando roedores e coelhos como hospedeiros.

## 5 DISCUSSÃO

O ciclo biológico da espécie *O. mimon* foi elucidado em duas gerações (F1 e F2) em condições de laboratório, indicando que a espécie teve sucesso para ser colonizada.

Na primeira geração, as larvas alimentadas nos dois diferentes hospedeiros de laboratório tiveram resultados diversos quanto ao sucesso de ingurgitamento. Aquelas alimentadas em roedor tiveram sucesso de ingurgitamento duas vezes maior que aquelas alimentadas em coelho.

Na segunda geração o sucesso de ingurgitamento obtido de larvas alimentadas em roedor foi menor em comparação à primeira geração. Porém, considerando este hospedeiro, os sucessos de recuperação das larvas ingurgitadas de ambas as gerações foi quatro vezes maior quando comparado aos obtidos por Schumaker e Barros (1995) para a espécie *O. talaje*.

Hoogstraal (1985) e Sonenshine (1991) afirmaram que nas espécies de *Ornithodoros* que parasitam morcegos e aves, a larva permanece fixada por vários dias no hospedeiro, possuindo assim uma alimentação semelhante aos ixodídeos. O perfil de alimentação da larva de *O. mimon*, que é um parasito de Chiroptera, corroborou com os dados da literatura.

Sonenshine e Anastos (1960), Hoogstraal et al. (1970), Khalil e Hoogstraal (1981) e Schumaker e Barros (1995) estudando a biologia de espécies de carrapatos ectoparasitas de morcegos e aves, como *O. kelleyi*, *Ornithodoros muesebecki* Hoogstraal, 1969, *O. amblus* e *O. talaje*, respectivamente, também observaram que o estágio larval destas espécies apresenta uma alimentação lenta (por dias) no hospedeiro. Além disso, o repasto sanguíneo foi imprescindível para a realização da ecdise larval, já que nenhuma larva mudou de estágio sem alimentação.

Em algumas espécies do gênero *Ornithodoros*, como *O. savignyi* e *O. brasiliensis*, a larva não se alimenta antes de realizar a muda para o primeiro instar ninfal (KHAN; SRIVASTAVA, 1988; BARROS-BATTESTI et al., 2012).

O estágio ninfal de *O. mimon* passa por três instares, N1, N2 e N3. Este fato é inédito e difere dos achados conhecidos em outras espécies do gênero *Ornithodoros*, as quais apresentam cerca de 4 a 6 instares ninfais, como *O. kelleyi* (SONENSHINE; ANASTOS, 1960), *O. amblus* (KHALIL; HOOGSTRAAL, 1981), *O. muesebecki* (HOOGSTRAAL et al., 1970), *O. erraticus* (SHOURA, 1987), *O. turricata* (BECK et al., 1986), *O. savignyi* (KHAN; SRIVASTAVA 1988) e *O. talaje* (SCHUMAKER; BARROS, 1995). Redução no número de instar ninfal é somente conhecido para o gênero *Otobius*, mais especificamente *O. lagophilus* (BACHA, 1957).

Conforme Hoogstraal (1985) as ninfas podem alimentar-se mais de uma vez antes do processo de ecdise, pois o primeiro repasto pode ter sido interrompido ou insuficiente para a realização da muda. Este comportamento não foi observado no presente estudo, pois todas as ninfas de ambas as gerações realizaram ecdise com apenas um repasto sanguíneo. Além disso, destaca-se que a maioria (>70%) das ninfas alimentadas em ambos hospedeiros efetuou ecdise, o que indica que tanto o coelho como o roedor são hospedeiros adequados para as ninfas de *O. mimon*.

Embora existam informações na literatura sobre espécies de *Ornithodoros* que sofrem muda de N1 para N2 sem alimentação (FACCINI; BARROS-BATTESTI, 2006), esta é a primeira vez que se observa este fato (mesmo que esporádico) para *O. mimon*, apesar de ser um comportamento que foi verificado somente para alguns espécimes da geração F1. Este fenômeno foi bem elucidado por Hoogstraal et al. (1970)

para *O. musebecki*, pois as N1 realizaram muda (entre 2 a 4 dias) para N2 sem repasto sanguíneo, sendo portanto um comportamento característico dessa espécie.

A maturidade sexual de *O. mimon*, em ambas gerações, foi obtida a partir de N2, demonstrando assim uma diferença “específica” quando comparada a outras espécies de *Ornithodoros* que atingem a maturidade sexual somente a partir do 3º e 4º ínstar ninfal (HOOGSTRAAL et al., 1970; KHALIL; HOOGSTRAAL, 1981; BECK et al, 1986; KHAN; SRIVASTAVA, 1988; SCHUMAKER; BARROS, 1995). Além disso, os machos de *O. mimon* tiveram uma maior prevalência emergindo de N2, enquanto que a maior parte das fêmeas emergiu de N3. Nas espécies de *Ornithodoros*, o estágio adulto macho normalmente é o primeiro a atingir a maturidade sexual (SCHUMAKER; BARROS, 1995).

No presente estudo, os carrapatos adultos tiveram tempos de alimentação diferentes, tendo os machos se alimentado mais rapidamente que as fêmeas. Porém, ambos permaneceram no intervalo de alimentação rápida, entre 30 a 40 minutos, que caracteriza os carrapatos argasídeos no estágio ninfal e adulto (HOOGSTRAAL, 1985; GUIMARÃES et al., 2001; VIAL, 2009).

A cópula observada e registrada para *O. mimon* se assemelhou ao acasalamento descrito por Brumpt (1915) e Beck et al. (1986) para as espécies *O. rostratus* e *O. turicata*, respectivamente. Uma substância viscosa transparente (espermatóforo) foi observada ao redor da abertura genital da fêmea de *O. mimon*, sendo em seguida rapidamente absorvida (entre 4 a 5 minutos).

Diferente do que é encontrado na literatura (HOOGSTRAAL, 1985; OLIVER, 1989; FACCINI; BARROS-BATESTTI, 2006), o presente trabalho registrou cópula ocorrendo sobre o hospedeiro, quando dois machos sem alimentação acasalaram com duas fêmeas que estavam ingurgitando. Porém, o maior número de cópulas foi observado fora do hospedeiro, em placas de Petri, inclusive entre machos não alimentados e com fêmeas ingurgitadas, indicando assim que o repasto sanguíneo não é condição obrigatória para o macho acasalar. Esta observação corrobora com os achados de Shoura (1987) para a espécie *O. erraticus*, que possui o mesmo comportamento.

Independente da fertilização em placa de Petri ou no hospedeiro, as fêmeas colocaram ovos férteis nos dois ciclos gonotróficos. Em ambas as gerações, o período de pré-postura do primeiro ciclo gonotrófico foi superior ao do 2º ciclo, mas a quantidade de ovos foi inferior. Este resultado está de acordo com os achados de Khalil e Hoogstraal (1981) para *O. amblus*, de Shoura (1987) para *O. erraticus* e de Schumaker e Barros (1995) para *O. talaje*, os quais relatam que isto ocorre porque a fêmea no 1º ciclo ainda não amadureceu por completo, consumindo e desviando parte do sangue ingerido no primeiro repasto sanguíneo para o seu desenvolvimento. A observação de interrupção na oviposição de algumas fêmeas de *O. mimon*, corrobora com os relatos de Khalil e Hoogstraal (1981) para a espécie *O. amblus*.

O período de incubação dos ovos de *O. mimon* foi semelhante em comparação ao período obtido por Schumaker e Barros (1995) para *O. talaje*, mas mais curto quando comparado com aos resultados de Hoogstraal et al. (1970) para *O. musebecki*. A alta porcentagem de larvas eclodidas (>70%) demonstra que os hospedeiros utilizados são adequados para a espécie, indicando um sucesso de colonização.

Os índices de IPOs e IENs obtidos no presente estudo são indicadores recentemente empregados para os carrapatos argasídeos (SANTOS et al., 2011), embora no presente estudo se refiram a poucas fêmeas de ambas as gerações. A importância desses índices está no fato de indicar qual é o ciclo gonotrófico mais eficiente e o de maior produção de ovos, que neste caso foi o segundo.

O ciclo biológico foi completado em um período (146 a 175 dias) que possibilita obter duas a três gerações de carrapatos por ano em condições de laboratório.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conhecimento da biologia da espécie em estudo e o estabelecimento da colônia em laboratório permitiram o planejamento da linha de pesquisa que será desenvolvida durante o doutorado. Sabendo-se que *O. mimon* alimenta-se rapidamente em seus ínstares ninfais e no estágio adulto, e que carrapatos secretam substâncias anticoagulantes e antimicrobianas, pelas glândulas salivares e pelo órgão de Gené, respectivamente, é possível que essas substâncias em argasídeos sejam produzidas em maior quantidade ou com maior potência do que aquelas de carrapatos ixodídeos. Dessa forma, um projeto oriundo do conhecimento da biologia da espécie *O. mimon* foi recentemente financiado pelo CNPq “Construção de biblioteca de cDNA de *Ornithodoros mimon* (Acari: Argasidae)” com a finalidade de se conhecer essas substâncias e se elas são de interesse para a indústria.

## 7 CONCLUSÃO

Conclui-se que:

A espécie *O. mimon* é de fácil manuseio e colonização para criação e manutenção de colônia em laboratório.

O ciclo biológico da espécie, elucidado pela primeira vez, pode ser obtido em 146 dias (20 semanas) no mínimo e em 176 dias (25 semanas) no máximo, utilizando roedores e coelhos como hospedeiros.

A larva apresenta um perfil de alimentação lento no hospedeiro (4 a 8 dias).

Os instares ninfais e o estágio adulto alimentam-se rapidamente (10 a 30 minutos).

O 1º. ínstar ninfal pode eventualmente mudar para o 2º sem alimentação.

O estágio ninfal possui 3 instares (N1, N2 e N3).

Adultos começam a emergir a partir do 2º. ínstar ninfal com predominância de machos.

A partir do 3º. ínstar ninfal há predominância de emergência de fêmeas.

O acasalamento ocorre fora e sobre hospedeiro.

O 2º ciclo gonotrófico é mais eficiente na nutrição e na produção de ovos que o 1º ciclo.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BACHA, W. J. JR. The Life History of *Otobius lagophilus*. **The Journal of Parasitology**, v. 13, n. 5, p. 360-365, 1957.

BARKER, S. C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, v. 129, p. 15-36, 2004.

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. p 5-7.

BARROS-BATTESTI, D. M.; LANDULFO, G. A.; ONOFRIO, V. C.; FACCINI, J. L. H.; MARCILI, A.; NIERI-BASTOS, F. A.; VENZAL, J. M.; LABRUNA, M. B. *Carios mimon* (Acari: Argasidae): description of adults and redescription of larva. **Experimental and Applied Acarology**, v. 54, p.93-104, 2011.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ONOFRIO, V. C.; NIERI-BASTOS, F. A.; SOARES, J. F.; MARCILI, A.; FAMADAS, K. M.; FACCINI, J. L. H.; RAMIREZ, D. G.; DOYLE, R. L.; MARTINS, J. R.; RECK, J.; GUGLIELMONE, A. A.; LABRUNA, M. B. *Ornithodoros brasiliensis* Aragão (Acari: Argasidae) description of the larva, redescription of male and female, and neotype designation. **Zootaxa**, v. 3178, p. 22-32, 2012.

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) (Acari: Ixodidae). I. Influence of tick size on egg production. **Acarologia**, v.16, n 1, p. 52 – 61, 1974.

BRUMPT, E. Biologia de alguns Ixodideos Brasileiros. **Annaes Paulista de Medicina e Cirurgia**, v. 4, n. 2, p. 25-29, 1915.

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.

DANTAS-TORRES, F.; VENZAL, J. M.; BERNARDI, L. F. O.; FERREIRA, R. L.; ONOFRIO, V. C.; MARCILI, A.; BERMÚDEZ, S. E.; RIBEIRO, A. F.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Description of a new species of bat-associated argasid tick (Acari: Argasidae) from Brazil. **The Journal of Parasitology**, 2012, doi: 10.1645/GE-2840.1.

EADS, R. B.; CAMPOS, E. G. Human parasitism by *Otobius meгинi* (Acari: Argasidae) in New Mexico, USA. **Journal of Medical Entomology**, v. 21, p. 244, 1984.

ESTRADA-PEÑA, A.; VENZAL, J. M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; ONOFRIO, V. C.; TRAJANO, E.; FIRMINO, J. V. L. Three new species of *Antricola* (Acari: Argasidae) from Brazil, with a key for the known species in the genus. **The Journal of Parasitology**, v. 90, p. 490–498, 2004.

ESTRADA-PEÑA, A.; JONJEGAN, 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.

ESTRADA-PEÑA, A.; MANGOLD, A. J.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; LABRUNA, M.; GUGLIELMONE, A. A. A Review of the Systematics of the tick family Argasidae (Ixodida). **Acarologia**, v. 50, n. 3, p. 317-333, 2010.

FACCINI, J. L. H.; BARROS-BATTESTI, D. M. Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos. In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. (Orgs.). **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p.5-11.

GALUN, R.; STERNBERG, S.; MANGO, C. Effects of host spectra on feeding behaviour and reproduction of soft ticks (Acari: Argasidae). **Bulletin Entomological Research**, v. 68, p. 153-157, 1978.

GONZÁLEZ-ACUÑA. D.; VARGAS, P.; ARDILES, K.; PARRA, L.; GUGLIELMONE, A. A. Developmental Biology of *Argas neghmei* Kohls & Hoogstraal (Acari: Argasidae) under Laboratory Conditions. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 2, p. 160-162, 2010.

GRACIOLLI, G.; AZEVEDO, A. A.; ARZUA, M.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LINARDI, P. M. Artrópodes ectoparasitos de morcegos no Brasil. In: PACHECO, S. M.; MARQUES, R. V.; ESBÉRARD, C. E. L (eds). **Morcegos no Brasil: biologia sistemática, ecologia e conservação**. Armazém Digital, Porto Alegre, 2008. p. 123–138.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. D.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001. p 218.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PEÑA, A.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G. Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region. **A special publication sponsored by International Consortium on Ticks and Tick-borne Diseases (ICTTD-2)**. Atalanta, Houten, The Netherlands. ISBN 987-43-6828-4, hardbound, p. 173, 2003.

GUGLIOMONE, A. A.; ROBINS, 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**, v.2528, p. 1-28, 2010.

- HOOGSTRAAL, H.; AESCHILIMANN, A. Tick-Host Specificity. **Bulletin Entomological Research**, v. 55, p. 5-32, 1982.
- HOOGSTRAAL, H.; KAISER, M. N.; EASTON, E. R. *Ornithodoros* (Alectorobius) *capensis* Neumann (Ixodoidea: Argasidae) parasiting a human and birds nesting on islands in east African Lakes. **Journal of Medical Entomology**, v.12, n. 6, p.703-704, 1976.
- HOOGSTRAAL, H.; OLIVER, R. M.; GUIRGIS, S. S. Larva, Nymph, and Life cycle of *Ornithodoros* (*Alectorobius*) *muesebecki* (Ixodoidae: Argasidae), a Virus-Infected parasite of birds and petroleum Industry Employees in the Arabian Gulf. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 63, n. 6, p. 1762-1768, 1970.
- HOOGSTRAAL, H. Argasid and Nuttalliellid Ticks as Parasites and Vectors. **Advances in Parasitology**, v. 24, n. 8, p.135-238, 1985.
- HORAK, I. G.; CAMICAS, J. L.; KEIRANS, J. E. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida): a world list of valid tick names. **Experimental and Applied Acarology**, v. 28, p. 27-54, 2002.
- JONGEJAN, F.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3-14, 2004.
- KEIRANS, J. E.; CLIFFORD, C. M.; HOOGSTRAAL, H.; EASTON, E. R. Discovery of *Nuttalliella namaqua* Bedford (Acarina: Ixodoidea: Nuttalliellidae) in Tanzânia and Redrescription of the female based on scanning electron microscopy. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 69, n. 5, p. 926-932, 1976.
- KHALIL, G. M.; HOOGSTRAAL, H. The life cycle of *Ornithodoros* (*Alectorobius*) *amblyus* (Acari: Ixodoidea: Argasidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, v. 18, n. 2, p. 134-139, 1981.
- KHAN, M. H.; SRIVASTAVA, S. C. Life-History of *Ornithodoros savignyi* Audoun. **Indian Veterinary Journal**, v. 65, p. 192-195, 1988.
- KOHL, G. M.; CLIFFORD, C. M.; JONES, E. K. The systematics of the subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). IV. Eight new species of *Ornithodoros* from the Western Hemisphere. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 62, p.1035–1043, 1969.
- KLOMPEN, J. S. H.; OLIVER, Jr. J. H. Systematic relationships in the soft ticks (Acari: Ixodida: Argasidae). **Systematic Entomology**, v. 18, p. 313-331, 1993.
- LABRUNA, M. B.; TERASSINI, F. A.; CAMARGO, L. M. A.; BRANDÃO, P. E.; RIBEIRO, A. F.; ESTRADA-PENÑA, A. New reports of *Antricola guielmonei* and *Antricola delacruzii* in Brazil, and a description of a new argasid species (Acari). **The Journal of Parasitology**, v. 94, p.788–792, 2008.

LABRUNA, M. B.; VENZAL, J. M. *Carios fonsecai* sp. nov. (Acari, Argasidae), a bat tick from the centralwestern region of Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 54, p. 355–363, 2009.

LISBÔA, R. S.; TEIXEIRA, R. C.; RANGEL, C. P.; SANTOS, H. A.; MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Avian spirochetosis in chickens following experimental transmission of *Borrelia anserina* by *Argas (Persicargas) miniatus*. **Avian diseases**, v. 53, n. 2, pp. 166-168, 2009.

MARTINS, J. R.; DOYLE, R. L.; BARROS-BATTESTI, D. M.; ONOFRIO, V.C.; GUGLIELMONE, A.A. Occurrence of *Ornithodoros brasiliensis* Aragão (Acari: Argasidae) in São Francisco de Paula, RS, Southern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 40, n. 1, p. 143-144, 2011.

NAVA, S.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Field and laboratory studies in Neotropical population of the spinose ear tick, *Otobius megnini*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 23, p. 1-5, 2009.

NAVA, S.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; MANGOLD, A. J.; CAMARGO L. M. A.; LABRUNA, M. B. Description of a New Argasid tick (Acari: Ixodida) from bat caves in Brazilian Amazon. **The Journal of Parasitology**, v. 96, p. 1089-1101, 2010.

OLIVER, J. H. JR. Biology and Systematics of ticks (Acari: Ixodida). **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 20, p. 397-430, 1989.

SANTOS, H. A.; ANGELO, I. C.; FRANQUE, M. P.; BALDANI, C. D.; THOMÉ, S. M. G.; FACCINI, J. L. H.; MASSARD, C. L. Ciclo biológico de *Argas miniatus* em laboratório: estágio adulto. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 1, p. 164-170, 2011.

SANTOS, H. A.; EVANGELISTA, F. N. R.; TAJIRI, J. T.; FRANQUE, M. P.; DOS SANTOS, T. M.; MASSARD, C. L. Aspectos biológicos de larvas de *Argas (Persicargas) miniatus* Koch, 1844, (Ixodoidea: Argasidae) em *Gallus gallus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, supl.1, p.45-49, 2008.

SCHUMAKER, T. T. S.; BARROS, D.M. Life cycle of *Ornithodoros (Alectorobius) talaje* (Acari: Argasidae) in Laboratory. **Journal of Medical Entomology**, v. 32, n. 3, p. 249-254, 1995.

SHOURA, S. M. E.; The Life cycle of *Ornithodoros (Pavlovskella) erraticus* (Acari: Ixodoidea: Argasidae) in the laboratory. **Journal of Medical Entomology**, v. 24, n. 2, p. 229-234, 1987.

SONENSHINE, D. E. **Biology of ticks**. New York Oxford, Oxford University Press, 1991, p 446.

SONENSHINE, D. E. Ecology of nidicolous ticks. In: SONENSHINE, D. E. **Biology of Ticks**. Editora Oxford University Press, New York, 1993, v.2, p. 66-90.

SONENSHINE, D. E.; ANASTOS, G. Observations on the Life History of the bat tick *Ornithodoros kelleyi* (Acarina: Argasidae). **The Journal of Parasitology**, v. 46, n. 4, p. 449-454, 1960.

VARGAS, M. V. Occurrence of the bat tick *Ornithodoros (Alectorobius) kelleyi* Cooley & Kohls (Acari: Argasidae) in Costa Rica and its relation to human bites. **Revista de Biologia Tropical**, v. 32, n. 1, p. 103-107, 1984.

VENZAL, J. M.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M. Família Argasidae: características gerais, comentários e chave para gênero e espécies. In: BARROS-BATTESTI DM, ARZUA M, BECHARA GH (eds), **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p.13–27.

VENZAL, J. M.; AUTINO, A. G.; NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A. *Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969 (Acari: Argasidae) on Argentinean bats, and new records from Uruguay. **Systematic & Applied Acarology**, v. 9, p.37-39, 2004.

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.

VENZAL, J. M.; ESTRADA-PEÑA, A; MANGOLD, A. J.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; GUGLIELMONE, A. A. The *Ornithodoros (Alectorobius) talaje* Species Group (Acari: Ixodida: Argasidae): Description of *Ornithodoros (Alectorobius) rioplatensis* n. sp. From South America. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, n. 5, p. 832-840, 2008.

VENZAL, J. M.; GONZÁLEZ, E. M.; CAPELLINO, D.; ESTRADA-PEÑA, A.; GUGLIELMONE, A. A. First record of *Amblyomma triste* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) and new records of *Ornithodoros mimon* Kohls, Clifford & Jones, 1969 (Acari: Argasidae) from Neotropical bats. **Systematic & Applied Acarology**, v. 8, p. 93–96, 2003.

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.