

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

DISSERTAÇÃO

**Morfologia e Biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806)
(Acari: Ixodidae) Submetido ao Regulador de Crescimento de Artrópodes
Fluazuron**

Raquel Moreira Pires dos Santos Melo

2007



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

**MORFOLOGIA E BIOLOGIA DE *Rhipicephalus sanguineus*
(LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) SUBMETIDO AO
REGULADOR DE CRESCIMENTO DE ARTRÓPODES FLUAZURON**

RAQUEL MOREIRA PIRES DOS SANTOS MELO

Sob a orientação do Professor
Kátia Maria Famadas
e Co-orientação do Professor
Fabio Barbour Scott

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 2007

636.9322696

M528m

T

Melo, Raquel Moreira Pires dos Santos, 1981-
Morfologia e biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) submetido ao regulador de crescimento de artrópodes fluazuron / Raquel Moreira Pires dos Santos Melo. - 2007.

43 f. : il.

Orientadora: Kátia Maria Famadas.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 33-40.

1. Coelho - Parasito - Teses. 2. Coelho - Parasito - Controle - Teses. 3. Coelho - Parasito - Morfologia - Teses. 4. Artrópode - Crescimento - Teses. I. Famadas, Kátia Maria, 1961- II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

Bibliotecário: _____ **Data:** ___/___/___

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


RAQUEL MOREIRA PIRES DOS SANTOS MELO

Dissertação submetida ao Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, em 27 de fevereiro de 2007.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 27/02/2007


Prof. Dr.^a Kátia Maria Famadas, UFRRJ
(Orientador)


Prof. Dr. Valdomiro Bellato, UDESC


Prof. Dr. Antônio Pereira de Souza, UDESC

Aos meus pais

Georges e Janete

Ao meu irmão Gabriel e ao Michel

*Pelo apoio, incentivo, carinho e
compreensão em todas as situações e*

Aos meus amigos

Pelo companheirismo que tiveram comigo

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Professora KÁTIA MARIA FAMADAS pela amizade e orientação neste estudo.

Ao Professor FABIO BARBOUR SCOTT, pela oportunidade, amizade e orientação desde o início das minhas atividades acadêmicas ainda no primeiro período da graduação e pela co-orientação e auxílio durante mais essa etapa.

Ao curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, bem como o corpo docente pelo aprendizado e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao Professor do Colégio Técnico da UFRRJ e Amigo ALENCAR VICENTE BARBINOTO pelo incentivo e confiança que sempre me foram dispensados.

A minha mãe, figura sempre presente em todos os momentos de minha vida, familiares pais, e à MICHEL ALVES DA SILVA por todo apoio e carinho.

Aos amigos de laboratório e pesquisa, JULIO ISRAEL FERNANDES, GUILHERME GOMES VEROCAI, FRANCISCO DE ASSIS RIBEIRO, LUIZ EDUARDO ROLAND TAVARES, FELIPE DELORME AZEVEDO e às amigas THAÍS RIBEIRO CORREIA, CLARISSA PIMENTEL DE SOUZA, ISABELLA VILHENA FREIRE MARTINS, KATHERINA COUMENDOUROS, VANESSA PAULINO DA CRUZ, THALITA TRIVISOL LEAL E RAFHAELA LOPES CONCEIÇÃO pelo apoio, incentivo e amizade.

Aos amigos do Curso de Pós-graduação, aos técnicos do Laboratório, JOSÉ CLAUDIO ANDRADE e ADEMIR MUNIZ DE ARAÚJO.

Às amigas do Alojamento F4-204, pelos momentos, felizes e tristes pelos quais passamos juntas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro na modalidade de bolsista de mestrado e iniciação científica.

Aos animais que participaram da parte experimental, pois sem eles todo o trabalho não teria sido realizado e a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Raquel Moreira Pires dos Santos Melo, filha de Georges Freitas Machado de Melo e Janete Moreira Pires dos Santos Melo, nascida em 11 de março de 1981, no município de São Paulo, Estado de São Paulo.

Cursou o primário no Jardim Escola Morada do Campo, o ensino fundamental nas Escolas Municipais Narcisa Amália e Rosária Trotta, todos localizados no município do Rio de Janeiro, o ensino médio no Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizado no município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro.

No ano de 1999 ingressou no Curso de Licenciatura em Ciências Agrícolas da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, prestou novo vestibular e no ano de 2001 ingressou no curso de Zootecnia da mesma Instituição, diplomando-se em março de 2005.

Foi estagiária do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas, Instituto de Veterinária desta mesma instituição no período de outubro de 1999 a agosto de 2001. Foi bolsista de iniciação científica do PIBIC/CNPq, no período de agosto de 2001 a fevereiro de 2005, ambas atividades sob orientação do professor Fábio Barbour Scott.

Foi aprovada no processo de seleção para o curso de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração Parasitologia Veterinária, do Instituto de Veterinária desta instituição em 2005, sob a orientação da professora Dr. Kátia Maria Famadas e co-orientação do professor Dr. Fabio Barbour Scott. Foi bolsista de Pós-graduação do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) no período de março de 2005 a fevereiro de 2006 e bolsista nota 10 da Fundação de Amparo á Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ) no período de março de 2006 a fevereiro de 2007.

RESUMO

MELO, Raquel Moreira Pires dos Santos. **Morfologia e biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodidae) submetido ao regulador de crescimento de artrópodes fluazuron**. Seropédica: UFRRJ, 2007. 43 p. (Dissertação, Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária).

A realização deste estudo teve como objetivo acompanhar a morfologia e biologia de *Rhipicephalus sanguineus* submetidos ao regulador de crescimento de artrópodes (AGR's), fluazuron, (FZN) em coelhos. O trabalho foi realizado nas dependências dos Laboratórios de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas (LDPP) e de Morfofisiologia de Ácaros (LMA), ambos pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica (latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste). Os reguladores de crescimento representam uma nova categoria que vem sendo empregada amplamente no controle de ectoparasitos de pequenos animais. Este grupo químico não apresenta efeito "knockdown", atua de forma lenta e gradual interferindo no seu crescimento e desenvolvimento. Os AGR's foram divididos de acordo com o seu mecanismo de ação, em análogos do hormônio juvenil, benzoilfenil uréias - atuando na inibição da síntese de quitina e inibidores da deposição de quitina, derivados da triazina e da pirimidina. O FZN foi o primeiro regulador de crescimento a ser registrado para o controle de carrapatos ixodídeos. O experimento foi dividido em 4 etapas, sendo que em cada uma delas utilizados 10 coelhos, divididos em grupos controle e tratado. Na etapa I (fase de larva) os coelhos foram infestados com larvas de *R. sanguineus* na razão de 2500 larvas/coelho. Na etapa II (fase de ninfa), na razão de 200 ninfas/coelho. Na etapa III (adultos), os coelhos foram infestados com 25 machos e 25 fêmeas/coelho. Na etapa IV, os coelhos foram infestados com 2500 larvas oriundas das teleóginas recuperadas na etapa III. A dose de FZN aplicada sob a forma "pour-on" em todas as etapas foi de 10mg/kg. As experimentações durante a fase parasitária foram realizadas em condições ambientais, no período de agosto a novembro de 2006, e da fase não parasitária em condições controladas de laboratório (27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR, em escotofase). Foram analisados parâmetros de fase parasitária e não parasitária, para larvas, ninfas e adultos. O FZN causou alterações na biologia de *R. sanguineus* tais como: aumento no período de pré-postura, diminuição no peso da massa de ovos, aumento no período de incubação dos ovos, diminuição do índice de eficiência reprodutiva, inibição do processo de ecdise entre os estágios de larva para ninfa e de ninfa para adulto, eficácia na inibição da reprodução das fêmeas e todos os estágios recuperados do grupo tratado tinham tegumento sensível, corpo elíptico e comportamento letárgico. Conclui-se que o fluazuron empregado na dose de 10mg/kg de peso corporal em coelhos promoveu alterações morfológicas, biológicas e comportamentais em *R. sanguineus* que indicam a possibilidade de emprego deste AGR no controle desse carrapato, com a particularidade na redução da taxa de reinfestação. Entretanto novos estudos necessitam ser realizados visando a eficácia do fluazuron no controle de *R. sanguineus* quando empregado em cães. O uso de coelhos foi um teste preliminar para indicar ou não a atividade do fluazuron sobre o carrapato *R. sanguineus*.

Palavras chave: *Rhipicephalus sanguineus*, benzoilfeniluréia, controle

ABSTRACT

MELO, Raquel Moreira Pires dos Santos. **Morphology and biology of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodidae) submitted the arthropods growth regulator fluazuron** Seropédica: UFRRJ, 2007. 43 p. (Dissertation, Master Science in Veterinary Science, Veterinary Parasitology).

The purpose of this study is to follow up the morphology and biology of *Rhipicephalus sanguineus* after being submitted to the arthropods growth regulator fluazuron on rabbits. This study took place in the dependence of the Laboratories of Development of Parasiticides Products (LDPP) and Acari Morfophysiology (LAM), both part of the Department of Animal Parasitology of Veterinary Institute of Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), in Seropédica, (22°44'38"S, 43°42'27"W). The growth regulators represents a new category that has been employed as ectoparasiticide on pets. This chemical group do not presents a knockdown effect, but does act slowly and gradually interfering on parasite's growth and development. The AGRs are classified as per their mechanism of action. The first group is a juvenile hormone analogue, benzoilphenil-urea – inhibiting the chitin synthesis. The second are the inhibitors of deposition of chitin, triazin's and pyrimidin's derived. The FZN was the first growth regulator registered for ixodides tick's control. Four phases were analyzed; each one using ten rabbits divided in control and treated. At phase I (larvae stage), the animals were infested with *R. sanguineus* larvae on the ratio of 2500 larvae/rabbit. At phase II (nymph stage), with the ratio of 200 nymphs/rabbit. At phase III (adults), the animals were infested with 25 males and 25 females/rabbit. At phase IV, the infestation was done with 2500 larvae from engorged female ticks recovered on phase III. Fluazuron was applied as a pour on formulation on each phase using 10mg/kg. The experimentations during the parasitic phase had been carried through in ambient conditions, the period of August the November of 2006, and of the not parasitic phase in controlled conditions of laboratory (27 ± 1 °C and $80 \pm 10\%$ UR, in escotofase). Parasitic and not parasitic stages of larvae, nymphs and adults were evaluated in different parameters. The FZN changed the biology of *R. sanguineus*, such as: increasing the pre-posture period; reducing the weight of eggs mass; increasing the incubation period of eggs; reducing the rate of reproductive efficiency, inhibiting the ecdyse process from larvae to nymph and from nymph to adult, efficacy in the inhibition of female reproduction and all recovered specimen from all the stages in the treated group showed sensible tegument, elliptical body and lethargic behavior. It is concluded that fluazuron employed in the dose of 10mg/kg of corporal weight in rabbits promoted alterations morphologies, biological and manning in *R. sanguineus* that they indicate the possibility of job of this AGR in the control of this carrapato, with the particularity in the reduction of the reinfestação tax. However new studies need to be carried through aiming at the effectiveness of fluazuron in the control of *R. sanguineus* when used in dogs. The use of rabbits was a preliminary test to indicate or not it activity of fluazuron on sanguineus carrapato *R. sanguineus*.

Key words : *Rhipicephalus sanguineus*, bezoilphenil-urea, control.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Fluxograma das etapas experimentais para avaliação da morfologia, biologia e eficácia do regulador de crescimento de artrópodes, fluazuron, sobre *Rhipicephalus sanguineus* utilizando-se coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) como hospedeiro experimental. 15
- Figura 2.** Cronograma das etapas de preparo dos coelhos, e infestação dos coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) com *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle. 15
- Figura 3.** Cronograma das etapas de tratamento com o regulador de crescimento de artrópodes, fluazuron (FZN), preparo e infestação dos coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) com *Rhipicephalus sanguineus* do grupo tratado. 16
- Figura 4.** Protótipo em madeira composto por assoalho e três paredes medindo 50 cm de altura, ângulo de 90° e com marcação a cada 5 cm, para avaliar comportamento das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* quanto ao geotropismo negativo. 17
- Figura 5.** Círculos concêntricos com raios de 25, 50, 75 e 100 cm em piso de cerâmica, para acompanhamento da dispersão horizontal, das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. 18
- Figura 6.** Microscopia óptica (100x) de ovo de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle com 11 dias de incubação em umidade relativa de 80% e temperatura $27 \pm 1^\circ\text{C}$, demonstrando a presença de saco retal (Sr) e túbulos de malpighi (Tm). 24
- Figura 7.** Aspecto dorsal de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron e controle. 25
- Figura 8.** Dispersão horizontal das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle. 27
- Figura 9.** Dispersão horizontal das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo fluazuron. 27
- Figura 10.** Dispersão vertical das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron e controle. 28
- Figura 11.** Ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron (F) e Controle (C), após alimentação em coelhos. 29

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Período parasitário e porcentagem de recuperação de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* coletadas de coelhos infestados artificialmente com 25 casais, nos grupos controle e tratado com fluazuron (FZN). 19
- Tabela 2.** Peso das fêmeas ingurgitadas, períodos de pré-postura e postura, peso da massa de ovos, índice de eficiência reprodutiva (IER), eficiência reprodutiva (ER) e eficácia do fluazuron (FZN) na inibição da reprodução de *Rhipicephalus sanguineus* coletados de coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase. 21
- Tabela 3.** Percentual de ovos de *Rhipicephalus sanguineus* com saco retal nos grupos controle e fluazuron de acordo com os dias de incubação. 22
- Tabela 4.** Período de embriogênese e percentual de eclosão de larvas de *Rhipicephalus sanguineus* nos grupos controle e fluazuron (FZN). 22
- Tabela 6.** Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron. 25
- Tabela 7.** Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos controle e fluazuron que atingiram o raio de 100 centímetros em piso de cerâmica em diferentes tomadas de tempo e seus respectivos qui-quadrado com correção de Yates e valor de “p”. 26
- Tabela 8.** Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que atingiram a altura de 50 cm no tempo de 60 minutos. 28
- Tabela 9.** Período e percentual de ecdise e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de larvas de *Ranguineus sanguineus* coletadas de coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase, no grupos controle, tratados com fluazuron e ainda larvas oriundas de teleóginas tratadas (LOTT). 29
- Tabela 10.** Número de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* com alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron. 30
- Tabela 11.** Período parasitário e percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, coletadas de coelhos infestados artificialmente com 200 ninfas cada. 31

Tabela 12. Período, percentual de ecdise e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de ninfas *Rhipicephalus sanguineus* coletadas em coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase. 31

Tabela 13. Número de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos controle e tratado com fluazuron que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação em coelhos, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p”. 32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1 Parâmetros Biológicos de Fase Parasitária e Não Parasitária de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	2
2.1.1 No Brasil	2
2.1.2 Em outros países	3
2.2 Avaliação de Carrapaticidas	6
2.3 Embriogênese	7
2.4 Metabolismo de Quitina	10
2.5 Novas Moléculas para o Controle de Artrópodes	11
2.5.1 Análogos do hormônio juvenil	12
2.5.2 Inibidores da Síntese de Quitina	13
3 MATERIAL E MÉTODOS	14
3.1 Localização e Condições da Experimentação	14
3.2 Origem e Manutenção Ixodídeos	14
3.3 Hospedeiros	14
3.4 Delineamento Experimental	14
3.5 Procedimentos	15
3.6 Parâmetros Analisados	17
3.7 Análise Estatística	18
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
4.1 Etapa Experimental I - Adultos de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> Alimentados em Coelhos Tratados com Fluazuron	19
4.1.1 Fase parasitária das fêmeas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	19
4.1.2 Fase não parasitária de fêmeas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	19
4.1.3 Embriogênese e eclosão de larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	21
4.1.4 Alterações morfológicas e de comportamento das fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	24
4.1.5 Alterações no deslocamento horizontal das fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	26

4.1.6 Alterações do geotropismo negativo das fêmeas ingurgitadas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	28
4.2. Etapas Experimentais II e III - Larvas de <i>R. sanguineus</i> Alimentadas em Coelhos Tratados com Fluazuron e Larvas Oriundas de Teleóginas Alimentadas em Coelhos Tratados com Fluazuron (LOTT)	29
4.2.1. Parâmetros biológicos da fase parasitária e não parasitária de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	29
4.2.2 Alterações morfológicas em larvas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	30
4.3. Etapa Experimental IV - Ninfas de <i>Rhipicephalus. sanguineus</i> Alimentados em Coelhos Tratados com Fluazuron	30
4.3.1 Fase parasitária de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	30
4.3.2 Fase não parasitária de ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	31
4.3.3 Alterações morfológicas em ninfas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	32
5 CONCLUSÕES	33
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
ANEXOS	41
A- Dados da literatura sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> alimentados em coelhos. Valores dos períodos expressos em dias.	41
B- Dados da literatura sobre os parâmetros biológicos da fase parasitária de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> alimentados em coelhos. Valores dos períodos expressos em dias.	42
C- Definição e fórmulas dos parâmetros biológicos analisados de larvas, de ninfas e de adultos sob a temperatura de $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e U.R. de $80 \pm 10\%$ e do ciclo parasitário desenvolvido em coelhos, realizados para os grupos controle e tratado.	43

1 INTRODUÇÃO

O carrapato ixodídeo *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806, comumente conhecido como “carrapato dos cães” ou “carrapato marrom dos cães”, é cosmopolita e provavelmente a mais prevalente das espécies de ixodídeos em cães. É um ixodídeo amplamente distribuído nas Américas, Europa, África, Ásia e Austrália. O cão é considerado o hospedeiro natural de *R. sanguineus*, mas essa espécie já foi relatada parasitando gatos, coelhos, camelos, bovinos, cabras, cavalos, ovelhas, morcegos, répteis, pássaros e humanos. A presença das formas imaturas de *R. sanguineus* alimentando-se no homem é mais freqüente do que previamente se supunha.

Espécie de importância médico veterinária, *R. sanguineus* pode transmitir patógenos, tais como *Babesia canis* e *Ehrlichia canis* para os cães e *Richettsia conori* para humanos. Além dos danos causados pela espoliação sanguínea e lesões cutâneas, assim como o desconforto causado pelo parasitismo, este carrapato quando em infestações maciças pode causar anemia e anorexia, predispondo seus hospedeiros ao aparecimento de outras doenças devido a toxinas imunossupressoras presentes em sua saliva, irritação gerando alterações metabólicas e comportamentais, predispondo o cão à formação de miíases e de abscessos.

Por mais de um século, o controle químico, pelo uso de acaricidas, tem sido a principal forma de controle dos carrapatos. No entanto, o uso indiscriminado dessas substâncias tem determinado um grave quadro de resistência, de ordem genética, dos carrapatos em relação às drogas. Vale destacar que a resistência tem se desenvolvido cada vez mais rápido, de tal forma que a vida útil dos produtos para determinadas espécies de carrapatos foi reduzida, em média, para quatro a cinco anos.

Dentre as substâncias químicas até então empregadas, destacam-se os organofosforados, as amidinas, piretróides, fenilpirazoles e as lactonas macrocíclicas. No entanto, no mercado, novas substâncias conhecidas como reguladores de crescimento de artrópodes (AGRs) já estão sendo empregadas no controle de insetos, como *Ctenocephalides felis felis* com a vantagem de serem consideradas de baixo impacto ambiental. Têm sido utilizadas associadas à uma substância adulticida. No entanto, pouco se conhece sobre a utilização dos AGRs associados ou não com substâncias adulticidas no controle dos carrapatos, como *R. sanguineus* e ainda qual impacto determina sobre o ciclo desse ixodídeo.

O mercado conhecido atualmente por “pet” é muito exigente, e dá preferência a produtos que controlem o carrapato no animal e no ambiente sem conseqüências para os animais, seu dono, e ainda, de baixa contaminação ambiental. Tais exigências serviram de motivação para testar o fluazuron, um inibidor da síntese de quitina que é seguro para mamíferos, visto que essas espécies não possuem receptores para síntese de quitina e ainda atende a questão do baixo impacto ambiental.

Assim, através da infestação experimental em coelhos tratados com o inibidor do crescimento de artrópodes fluazuron avaliou-se a biologia das fases parasitária e de vida livre de *R. sanguineus*, para verificar se esse AGR pode causar alterações morfológicas, biológicas e de comportamento em *R. sanguineus* de maneira a possibilitar seu emprego para fins de controle.

2 REVISÃO DE LITERATURA

São escassos os trabalhos existentes na literatura a respeito das possíveis alterações que os produtos empregados no controle de carrapatos possam causar na sua morfologia e biologia, tal como na embriogênese. A maioria dos trabalhos publicados sobre *R. sanguineus* se referem a sua distribuição geográfica (HOOGSTRAAL, 1956; RODRIGUES et al., 2001), hospedeiros (BECHARA et al., 1995; LABRUNA; PEREIRA, 2001), transmissão de agentes patogênicos (MASSARD; FONSECA, 2004), controle, na sua grande maioria químico (BICALHO et al., 2001; SANT'ANNA et al., 2002) e resistência (INOKUMA et al., 1997; MILLER et al., 2001). A biologia de *R. sanguineus* tem sido objeto de estudos por vários autores de diferentes países (SARTOR et al., 1996; BELLATO; DAEMON, 1997; SANTOS - SILVA; FILIPE, 1998), a maior parte dos estudos envolve o desenvolvimento desse ixodídeo em diferentes condições térmicas.

2.1 Parâmetros Biológicos de Fase Parasitária e Não Parasitária de *Rhipicephalus sanguineus*

2.1.1 No Brasil

Cunha (1978), desenvolveu no estado do Rio de Janeiro, estudos sobre a toxicidade de *Boophilus microplus*, *Haemophysalis leporis-palustris*, *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus*, carrapatos comumente encontrados no Brasil e alguns parâmetros biológicos foram analisados. Coelho foram infestados sucessivamente com larvas, ninfas e adultos de *R. sanguineus* e mantidos à temperatura ambiente. O período de jejum variou de 23 a 92 dias para larvas, de sete a 56 dias para ninfas e de 42 a 165 dias para adultos, e o período de alimentação para larvas, ninfas e adultos variou de dois a sete dias, de quatro a oito e de seis a 19 dias respectivamente. Observou ainda, que as infestações sucessivas com larvas, ou uma primeira exposição com adultos seguida de exposição com larvas, demonstrou que os hospedeiros tinham adquirido imunidade, como foi revelado pela baixa produção de larvas. Contudo, esta imunidade não interferiu no ingurgitamento das ninfas, mas parece ter aumentado o grau de resistência como foi observado pela morte de todas as ninfas.

Coelho (1993) estudou no estado do Rio de Janeiro três gerações de *R. sanguineus* obtidas a partir de infestações em coelhos sem infestação prévia por ixodídeos e observou que a média geral do índice de eficiência reprodutiva da primeira geração foi 64,50%, da segunda 62,83% e da terceira 65,24%. A média geral do índice de eficiência nutricional na primeira geração foi de 79,22%, na segunda 79,00% e na terceira 77,32. Observou ainda, que nos primeiros sete dias foram ovipostos 89,54% do total de ovos na primeira geração, 81,33% na segunda e 89,13% na terceira. O autor verificou que a duração do período de pré-postura foi maior e o percentual de eclosão foi menor para *R. sanguineus* obtidos de hospedeiros reinfestados. Constatou, ainda, que o desempenho biológico das fêmeas provenientes de coelhos foi superior ao das provenientes de cães.

Sartor (1994) desenvolveu uma pesquisa no Rio de Janeiro com o objetivo de estudar aspectos do ciclo parasitário e não parasitário de larvas e ninfas e do ciclo parasitário de fêmeas de *R. sanguineus* em coelhos sem infestação prévia e em coelhos e cães infestados sucessivamente. Concluiu que em coelhos sem infestação prévia, o ciclo parasitário foi de 17 dias e o não parasitário de 27 dias e em coelhos com sucessivas infestações, o ciclo foi de aproximadamente 21 dias e o não parasitário de 28 dias. Afirmou ainda que a população

estudada adaptou-se com sucesso a coelhos, os quais podem ser utilizados como hospedeiros alternativos, ao contrário do observado para cães e que para manutenção de colônia de *R. sanguineus*, o coelho pode ser utilizado por até uma infestação seqüencial por larvas, ninfas e adultos.

Bellato (1995) estudou no estado do Rio de Janeiro o efeito de três temperaturas de manutenção da fase não parasitária sobre a duração do período parasitário e percentual de recuperação de larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. O autor reportou que à temperatura de 27° C, ± 1 e umidade relativa de $80 \pm 10\%$ verificaram período de muda para larvas e ninfas de sete a 10 dias e 11 a 13 dias, respectivamente; já os percentuais de ecdise foram de 80 a 100 para ambas. Os períodos parasitários e percentuais de recuperação de larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas foram de três a oito dias, 44,8 a 88,4%; quatro a oito dias, 83,0 a 96,5% e sete a 18 dias, 66,7 a 93,3% respectivamente. Os parâmetros de fase não parasitária das fêmeas foram os seguintes: peso inicial de 128,5 a 236,0; o período de pré-postura de dois a quatro dias; período de postura de nove a 18 dias; peso da massa de ovos de 67,4 a 156,0 mg e índice de eficiência reprodutiva 50,9 a 67,6. Os parâmetros biológicos referentes à incubação dos ovos, período de eclosão e percentual de eclosão foram de 18 a 20 dias; sete a 12 dias e 99,0% respectivamente.

Sartor et al. (1996), realizou estudos com larvas, ninfas e adultos a partir de uma segunda geração de *R. sanguineus* mantida em coelhos sob condições controladas em estufa incubadora tipo B.O.D. regulada a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa superior a 80% e escotofase. O autor observou período parasitário médio para larvas, ninfas e fêmeas de 3,70; 5,20 e 8,80 dias, respectivamente, enquanto, os percentuais de recuperação dos instares ingurgitados foram de 48,06; 46,40 e 65%. O peso médio de fêmeas foi de 166,02 mg. Os períodos médios de pré-ecdise e ecdise foram de 8,40 e 2,40 dias para larvas e 13,80 e 2,40 para ninfas, com percentuais de ecdise de 92,07 e 97,04%, respectivamente.

Santos - Silva e Filipe (1998) determinaram os períodos decorrentes de cada fase do ciclo evolutivo de algumas espécies de ixodídeos da fauna nacional entre elas *R. sanguineus*. Durante o período não parasitário os ixodídeos foram mantidos a uma temperatura média de 24 °C, fotoperíodo de 16:00 e 8:00 horas (luz-escuro) e umidade relativa de 80 a 85%. Eles reportaram para larvas, ninfas e adultos períodos de pré-alimentação de 24, cinco e 12 dias; período de alimentação de quatro a cinco dias, seis a oito dias e oito dias, respectivamente. O período de ecdise para larvas foi de 10 a 11 dias e para ninfas foi de 12 dias. O período de pré-oviposição foi de quatro dias e de oviposição variou entre oito e 10 dias. Os períodos de pré-eclosão e eclosão das larvas foram de oito e três respectivamente.

2.1.2 Em outros países

Christophers, 1907 (apud NUTTALL, 1915) analisou na Índia os períodos parasitários e não parasitários de *R. sanguineus*, alimentados em coelho e cobaias. Observou que o período de alimentação, para larvas, ninfas e adultos, foi de três a quatro dias, de cinco dias e de uma semana ou mais, respectivamente. O período de ecdise variou de oito a nove dias para larvas provenientes de coelhos e nove a dez dias para larvas provenientes de cobaias, enquanto, para ninfas, este período variou em torno de 15 dias.

Um estudo desenvolvido por Nuttall (1915), em Cambridge nos EUA sobre a biologia de *R. sanguineus* em condições de laboratório, utilizou como hospedeiro para larvas cão e coelho; para ninfas, cão, chacal e ouriço e para adultos, cão e chacal. Os hospedeiros foram mantidos em diferentes temperaturas. Assim, com larvas, a temperatura variou de 6,5 a 20° C e com ninfas, de 8 a 18° C. As observações com fêmeas foram insuficientes, segundo o autor, para se chegar a alguma conclusão, porém à temperatura de 1,5 a 5,0° C, a maioria

desprende-se do hospedeiro no oitavo dia, fato esse também observado em regiões mais quentes da Índia. Observou que o período de alimentação para larvas em cães variou de três a oito dias (moda no dia quatro), para ninfas, de três a 11 dias (moda no dia quatro), e para fêmeas, de sete a 21 dias, enquanto no ouriço, as ninfas permaneceram se alimentando por 10 a 17 dias. O autor concluiu que o período parasitário está mais na dependência do hospedeiro do que na temperatura de 30 °C foi de cinco a oito dias as provenientes de cães, de sete dias as de chacal e de nove dias as de coelho (porém não citou a temperatura) enquanto a ecdise das ninfas variou de 11 a 12 dias (cão e chacal) também a 30° C. Quanto à sobrevivência em jejum, observou, para larvas, um período de 53 dias, para ninfas, até, 97 dias e, para adultos, até 596 dias. O ciclo biológico completou-se em 63 dias.

Feldman-Muhsam (1964) ao realizar um estudo em Jerusalém, Israel, citou que a susceptibilidade dos hospedeiros de laboratório ao *R. sanguineus* pode ser medida pelos seguintes critérios: percentagem de carrapatos que se alimentam ativamente e o local preferido sobre o hospedeiro; duração da alimentação; percentagem dos que se alimentam e mudam e a duração do período de pré-ecdise. Ele pesquisou em Jerusalém a capacidade de *R. sanguineus* parasitar coelhos, roedores do gênero *Meriones* e ratos brancos e constatou que a duração do período de alimentação variou conforme o hospedeiro. Para larvas, este período foi de cinco a seis dias em coelhos, um a três dias em *Meriones* e de quatro a cinco dias em ratos brancos, enquanto que para ninfas o período variou de cinco a seis dias em coelhos, quatro a oito dias em *Meriones* e de quatro a seis dias em ratos brancos. O período de pré-ecdise larval foi em média de 8,8 dias em coelhos 7,9 dias em *Meriones* e média de 9,9 dias em ratos brancos, enquanto o período de ecdise ninfal variou de 16,3 a 17,3 dias em ratos brancos e de 17,8 a 18,3 dias em *Meriones*. Este período não foi citado para coelhos, mas, segundo o autor foi menor que dos outros hospedeiros. Ressaltou também que 12 a 98% de larvas que se alimentaram em ratos brancos ingurgitaram e um percentual de 87,2% e 68% das larvas alimentadas em coelhos e ratos brancos, respectivamente realizaram a ecdise, enquanto que um percentual de 91, 37% e de 86, 9% de ninfas alimentadas em ratos brancos e *Meriones* realizaram a ecdise. O autor sugeriu que os menores períodos parasitários larval e ninfal observados em roedores do gênero *Meriones* estariam relacionados com o pequeno número de infestações (no máximo duas vezes), enquanto, em coelhos e ratos brancos, por terem sido infestados várias vezes, os períodos prolongaram-se, relacionando este fato à possível resposta imunológica do hospedeiro.

Srivastava e Varma (1964), utilizando *R. sanguineus* oriundos de cães, verificaram a biologia deste ixodídeo por quatro gerações, em Madras. Utilizaram ratos, cobaias e coelhos como hospedeiro para larvas, de quatro a sete dias de idade e para ninfas, com uma semana de idade. Os adultos se alimentaram somente em coelhos. Todos os estágios, na fase não parasitária, ficaram em temperaturas de 25 °C e 29 °C e umidade relativa de 80%. O período de alimentação das larvas variou de dois a seis dias. Ninfas alimentadas em cobaias tiveram um período de alimentação de quatro a oito dias, enquanto que em coelhos este período foi de quatro a 10 dias. Fêmeas alimentadas em coelhos tiveram um período parasitário de sete a 15 dias. Os períodos de ecdise variaram conforme a temperatura. Assim, para larvas mantidas a 25 °C, o período médio de muda foi de 12,9 dias enquanto a 29° C foi em média 7,8 dias. Para as ninfas, a 25° C, foi em média 17,7 dias e, a 29° C em média 11,7 dias. Concluíram então, para larvas, que a variação do período de ingurgitamento estava relacionado com a idade, e que as larvas com menos de sete dias não se fixaram no rato. Com respeito às ninfas, relataram que elas tiveram um melhor desempenho quando alimentadas em coelhos, pois 70% ou mais ingurgitaram e realizaram muda para adulto, do que quando alimentadas em cobaias, onde 50% ingurgitaram, e destes, só 46 a 54% mudaram para adulto. Os autores afirmaram que a fase não parasitária parece sofrer influência dos hospedeiros, pois 46 a 54% das ninfas alimentadas em cobaias mudaram para adultos, já em coelhos nem todas.

Nagar (1968), a partir de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* em coelhos e mantidas em temperatura de 25 ± 5 °C e umidade relativa de 80%, constatou que a percentagem média de perda de peso durante o período de pré-oviposição foi de $8 \pm 3,5\%$. As fêmeas perderam $74,55 \pm 3,9\%$ do peso inicial durante o curso de oviposição. O autor enfatizou que o potencial de postura dos carrapatos está diretamente relacionado com sua capacidade de ingestão de sangue, também, afirmou que os nutrientes ingeridos são utilizados para produção do material dos ovos e a taxa a que isto ocorre pode depender do metabolismo de cada espécie de carrapato, além das variações individuais dentro da mesma espécie.

Hadani et al. (1969), realizaram um ensaio com larvas e ninfas de *R. sanguineus* alimentadas em roedores do gênero *Meriones* e com adultos em coelhos, porém não citaram a origem dos ixodídeos. Os diferentes instares foram mantidos em estufas incubadoras a temperatura de 28° C e 80% de umidade relativa. Consideraram que o período de alimentação variou de dois a oito, três a sete e de sete a 18 dias para larvas, ninfas e adultos respectivamente, enquanto o período de ecdise variou de seis a 11 dias para larvas e de 14 a 18 dias para ninfas.

Paul et al. (1970) conduziram em Kanpur na Índia análises sobre a biologia de *R. sanguineus* em uma sala com temperatura e umidade relativa de 27 ± 1 ° C e $70 \pm 5\%$ respectivamente, utilizando, como hospedeiros coelhos infestados com todos os instares deste ixodídeo. Verificaram que o período de alimentação para larvas variou de dois a seis dias (3,8 dias), para ninfas cinco a oito dias (5,3 dias) e de quatro a nove dias para adultos (7,4 dias), e os períodos de pré-ecdise e ecdise larval variam de um a cinco dias (2,3 dias) e de três a nove dias (5,2 dias) respectivamente, enquanto que os ninfais variaram de seis a oito dias (4,1 dias) e de sete a vinte dias (12,5 dias). Averiguaram que o peso médio das fêmeas ingurgitadas variou de 132 a 245 mg.

Nassar et al. (1971) utilizando *R. sanguineus* provenientes de cães, estudaram por quatro sucessivas gerações a biologia deste ixodídeo em Alexandria no Egito, em diferentes combinações de temperatura e de umidade relativa, empregando coelhos como hospedeiro. Observaram que o período de alimentação para larvas foi precariamente afetado pela temperatura. À temperatura de 28,3° C e 68,2% de U.R., o período foi de $4,3 \pm 0,11$ dias e à temperatura de 24,5° C e 68,2% de U.R., foi de $4,66 \pm 0,06$ dias, enquanto que os períodos de pré-ecdise e de ecdise foram amplamente afetados pela temperatura ($5,87 \pm 0,07$ dias a 28,3° C e 68,2% de U.R. $21,3 \pm 0,22$ dias a 23,3° C e 60,3% de U.R.). Para ninfas, o efeito da temperatura na duração do período de alimentação foi semelhante ao que ocorreu com larvas ($4,70 \pm 0,13$ dias a 28,3° C e $5,90 \pm 0,12$ dias a 21,7° C e 60,5% de U.R.). A duração dos períodos de pré-ecdise e de ecdise, contudo, foi comprometida pelas diferentes condições de laboratório ($14,5 \pm 0,45$ dias a 28,3° C e 68,2% de U.R. e $24,3 \pm 0,50$ dias a 21,7° C e 60,5% de U.R.). Para fêmeas, a duração do período de alimentação variou de 11 a 14 dias com média de $13,3 \pm 0,49$ dias a 27° C e 72,9% de U.R., ressaltando que estes dados foram obtidos na quarta geração. Verificaram que o peso médio das fêmeas ingurgitadas foi de 256,9 mg.

Sarvey e Rao (1973) realizaram avaliações em Bombay na Índia sobre o período de ingurgitamento de *R. sanguineus*, utilizando filhotes de cães, cobaias e coelhos mantidos a temperatura de 28 a 32° C e 78 a 82% de U.R., temperatura ambiente. Identificaram que o período de ingurgitamento das larvas foi de quatro a seis dias, três a quatro dias e dois a sete dias quando alimentadas em filhotes de cães, cobaias e coelhos respectivamente, este período para ninfas, variou de quatro a cinco dias, três a cinco dias e de quatro a nove dias para os mesmos hospedeiros, enquanto para adultos alimentados em filhotes de cão e em coelhos, este período foi de cinco a nove dias e de sete a 13 dias respectivamente. Concluíram que, quando a temperatura foi baixa e a umidade alta, o período de sobrevivência aumentou.

Fujisaki et al. (1976) em testes realizados no Japão com *R. sanguineus* alimentados em coelhos, à temperatura de 25° C e de umidade relativa elevada, conferiram que a duração do período de alimentação das larvas, ninfas e adultos variou de quatro a seis dias, cinco a seis dias e de sete a 14 dias respectivamente e do período de ecdise variou de 13 a 20 dias, com média de 14 dias para larvas e de 11 a 14 dias para ninfas. Também verificaram que o peso médio de fêmeas ingurgitadas foi de 162 mg ± 0,87 mg.

Fahmy et al. (1977) ao realizarem um estudo do Egito bafirmaram que os períodos de alimentação de todos os estágios de desenvolvimento, quando mantidos em temperatura ambiente, foram menores no verão em relação ao inverno.

Mahadev (1977) realizou estudos sobre biologia de uma cepa de *R. sanguineus* na Índia. Para o estudo da fase parasitária, empregou como hospedeiros, coelhos, camundongos e ratos domésticos para larvas e ninfas enquanto que, para adultos, somente coelhos. Para a fase não parasitária, utilizou temperatura ambiente de 25 a 30° C e umidade relativa de 90 a 100%. Observou que a duração dos períodos de alimentação e de ecdise para larvas foi de três a sete dias e de 10 a 13 dias respectivamente. Para ninfas, estes períodos foram de quatro a cinco dias e de 10 a 17 dias respectivamente, e para fêmeas, o período de alimentação foi de nove a 16 dias.

Saleh et al. (1978) pesquisaram em Alexandria, no Egito o efeito de diferentes temperaturas nas fases parasitárias e não parasitárias de *R. sanguineus*, tendo somente coelhos como hospedeiro. Consideraram que para larvas, o período médio de ingurgitamento foi de 2,0 dias a 29° C e o de ecdise 6,6 dias a 34° C. Para ninfas, o período de ingurgitamento foi em média de 3,0 dias a 29° C e o período de ecdise a 29° C foi em média de 18,6 dias. Com relação aos adultos, o período de ingurgitamento foi em média de 8,2 dias a 34 ± 1° C.

Hafez e Bassal (1980) pesquisaram no Egito a oviposição de *R. sanguineus* alimentados em coelhos, com as fêmeas sendo mantidas a 30° C e 75% de U.R. Constataram que o pico da oviposição ocorreu 1,5 dias após o começo da mesma. Diferentes fêmeas mostraram um mesmo comportamento na percentagem diária de postura em diferentes temperaturas, indicando, segundo os autores, que o peso e a quantidade de ovos não afetaram o ritmo de oviposição.

Koch e Tuck (1986) concluíram, ao trabalhar com várias temperaturas constantes e combinações destas com umidades constantes, que somente as larvas mantidas em altas temperaturas, 35° C, e baixa umidade, 35%, retardaram o período de muda e, dentro da mesma temperatura, altas umidades relativas favoreceram a sobrevivência de ninfas e adultos. Contudo, os autores sustentaram que a umidade relativa pouco interferiu na duração do ciclo e a tolerância às condições de alta temperatura e baixa umidade pode ser a razão da distribuição cosmopolita desse parasita.

Um resumo com os resultados reportados pelos autores supracitados referentes as fases não parasitária e parasitárias de *R. sanguineus* alimentados em coelhos encontram-se nos Anexos A e B respectivamente.

2.2 Avaliação de Carrapaticidas

Fernandes et al. (2006) avaliou a eficácia do Triatox® (Shering) no controle de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus*. Os carrapatos foram coletados de cães da raça Beagle mantidos nas dependências do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas, Departamento de Parasitologia Animal/Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Foram selecionadas 80 fêmeas livres de alterações morfológicas, lavadas, pesadas e distribuídas de maneira uniforme, em virtude de seu peso, em quatro grupos: o primeiro grupo foi imerso em

solução fisiológica por 5 minutos – grupo controle. O segundo grupo foi imerso em solução preparada contendo a metade da concentração comercial por igual período. O terceiro grupo foi tratado na dose comercial (250ppm) e o último grupo com o dobro da dose comercial. O peso médio das teleóginas foi de 2,120; 2,277; 2,050 e 2,034 respectivamente. Ao final do período de observação, as fêmeas do grupo controle realizaram uma postura média de 1,4 g, enquanto nos grupos tratados, independente da concentração, não realizaram postura. Concluiu-se que o Amitraz® nas diferentes dosagens foi eficaz no controle de *R. sanguineus*, inibindo a postura das fêmeas tratadas.

Melo et al., (2006) determinaram a eficácia do etoxazole em uma formulação “strip-on” 17% no controle de *R. sanguineus* em coelhos nas dependências da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O etoxazole é um inseticida e acaricida empregado na agricultura membro da classe dos difenil oxazolinas, atua interferindo na biosíntese de quitina. Foram utilizados dez coelhos, cinco pertencentes ao grupo tratado, que receberam 17mg de etoxazole por quilo de peso vivo e os demais como grupo controle, sem tratamento. Quarenta e oito horas após o tratamento cada coelho foi infestado com 25 casais de *R. sanguineus*. O percentual de controle obtido foi de 100%.

2.3 Embriogênese

Não foram encontrados relatos na literatura a respeito da embriogênese relacionada ao uso de quimioterápicos no controle de carrapatos. A embriogênese já foi estudada sob diferentes umidades relativas sob condições controladas de laboratório. A grande maioria das pesquisas foi realizada, tendo a temperatura e as demais fases evolutivas da vida dos carrapatos como pontos-chave (SANTOS, 1999).

Travassos e Vallejo-Freire (1944) ao estudarem a criação artificial de *Amblyomma cajennense*, observaram a presença de uma mancha branca, que anos mais tarde foram citadas por Dipeolu (1984) e por Sonenshine (1991) como sendo possivelmente, o depósito de guanina no saco retal das larvas em formação, sendo caracterizado como ponto de embrionamento. Travassos e Vallejo-Freire (1944) verificaram que de 30 e 50% UR os ovos tornavam-se ressecados entre o nono e o décimo dias de incubação, começando a murchar e a perder as características de ovos viáveis. A partir de então, a estrutura esbranquiçada não mais era observada. Em 70% UR, embora a mancha esbranquiçada tenha continuado, o que indicou o desenvolvimento embrionário, a eclosão foi prejudicada, pois somente 9,1% das larvas eclodiram. A mancha branca mencionada por tais autores são os produtos do processo metabólico dos embriões, depositados no saco retal juntamente com produtos nitrogenados, originando o composto nitrogenado chamado guanina ($C_5H_5ON_5$). A guanina é o produto final do metabolismo do nitrogênio nos ovos e demais fases evolutivas dos carrapatos. Assim como em outros aracnídeos, a guanina tem uma solubilidade muito baixa, precipitando ainda quando em baixas concentrações. Assim, a guanina presente no saco retal e nos túbulos de Malpighi, é uma suspensão ou uma massa cristalina esbranquiçada, que requer pouca água. Durante a embriogênese ou qualquer outra fase em que o carrapato não receba água suficiente do ambiente para suprir sua demanda, a baixa solubilidade da guanina assegura a sua acumulação progressiva no saco retal e nos túbulos de Malpighi, prevenindo a sua concentração na hemolinfa, o que é tóxico para o organismo do carrapato. Os cristais de guanina são brancos e intensamente refringentes sob a luz polarizada (BALASHOV, 1968).

A partir da hidrólise da fração protéica da casca dos ovos de *R. sanguineus*, Jaskoski e Butler (1971) determinaram a composição bioquímica da casca. Identificando os aminoácidos lisina, arginina, ácido aspártico, serina, glicina, ácido glutâmico, alanina, treonina, valina, tirosina, isoleucina e leucina.

Dipeolu (1984) avaliou o desenvolvimento embrionário de *R. sanguineus* e de *Haemaphysalis leachi leachi*, a partir de ovos do terceiro dia de postura de fêmeas ingurgitadas. Utilizou o terceiro dia de postura, pois segundo o autor, o pico de oviposição estaria entre o terceiro e o quarto dias de postura.

Aeschlimann e Hess (1984) realizaram estudos sobre os ovos de *Ornithodoros moubata*, classificando todas as etapas do desenvolvimento embrionário deste argasídeo, e afirmaram, que as observações sobre a embriogênese realizada para esta espécie de carrapato, pode ser representativa para a maioria dos acarinos. O processo de embriogênese em carrapatos é semelhante àqueles encontrados em outros aracnídeos, especialmente em Araneae (SONENSHINE, 1991). Seguindo a fertilização, que diferentemente de outros artrópodes é externa ao corpo da fêmea ingurgitada, inicia-se a fase da clivagem, segmentação e divisão do futuro embrião. A estrutura da maioria dos ovos dos acarinos é centrolécita, ou seja, o núcleo central ou zigoto, está rodeado por uma pequena ilha de citoplasma não vitelínico no meio de uma grande massa de vitelo (AESCHLIMANN, 1958).

A clivagem é caracterizada por inúmeras divisões do núcleo central, resultando em vários núcleos menores, que através de seus filiópodos, migram em direção ao periplasma. Estes pequenos núcleos com seus halos citoplasmáticos formam uma camada mononuclear ao redor do periplasma, denominada periblástula. Acredita-se que a membrana vitelínica assuma papel na formação da membrana das células da periblástula, porém o seu destino ainda é desconhecido. Alguns nucléolos remanescentes da clivagem do núcleo central ainda permanecem na blastocele, assumindo provavelmente o papel de vitelófagos. No decorrer do desenvolvimento, estas estruturas fariam parte da formação do epitélio digestivo durante a organogênese. Posteriormente a clivagem, inicia-se a gastrulação e a metamerização. A parte ventral do futuro embrião é caracterizada pelo aparecimento de um disco germinativo, o qual caracteriza a fase de gastrulação e que dará origem ao telson (porção caudal). Este disco forma-se a partir de uma agregação de células da periblástula que proliferam na gema como um corpo em formato de tubo. Este disco, denominado *cumulus primitivo*, migra para trás, estabelecendo o eixo de simetria bilateral e é o centro primitivo da produção de células endomesodermiais. Inicia-se então, a formação das camadas endo e mesoderma a partir da agregação destas células em formato de tubo, e também da camada ectoderma, a partir de células da periblástula, rodeando a superfície do embrião (AESCHLIMANN; HESS, 1984).

Logo após a formação da gástrula, os metâmeros embrionários aparecem, sendo uma característica geral do plano dos aracnídeos (SONENSHINE, 1991). A metamerização inicia-se após o aparecimento dos três primeiros metâmeros (AESCHLIMANN; HESS, 1984). Na porção anterior, os metâmeros dão origem ao *acron*, aos pedipalpos, as quelíceras e as patas. Na porção posterior, a banda germinativa divide-se em cinco segmentos opistosomais, além de um *telson* terminal. O telson é meramente um disco, cuja função é agir como zona de crescimento para segmentos opistosomais.

Segundo Aeschlimann e Hess (1984), há a separação da banda germinativa em *Ornithodoros moubata* em duas partes bilaterais, bem delimitadas através de um sulco neural. Os gânglios nervosos também se formam neste momento, ganhando um arranjo ao longo do eixo Antero-posterior, dentro do sulco neural. Os gânglios são: cerebral, queliceral, pedipalpo, patas e abdominais. De acordo com Woolley (1988), ocorre também a formação de uma área ventricular a partir da banda germinativa, no qual será a região de formação do coração. O passo seguinte da embriogênese segundo, seria a blastoquinense, que semelhante a outros animais, ocorre a partir da contração da banda germinativa ao longo de seu próprio eixo, eliminando assim, o sulco ventral. Isso faz com que o gânglio ventral, já formado previamente, contraia-se e forme um único singânglio que será o sistema nervoso central do artrópode, localizado antero-ventralmente. Ocorre, concomitantemente, uma forte contração do embrião, acompanhada por fortes pulsações. A blastoquinense gradualmente elimina a

metamerização elementar expressa anteriormente. Logo, à medida que o desenvolvimento é completado, as quelíceras, os pedipalpos e os três primeiros pares de patas surgem e crescem em direção a linha média ventral. O quarto par de patas também aparece, entretanto, como simples botões que envolvem a medida que se aproxima o momento da eclosão. O gnatosoma diferencia-se a partir do *acron* e do estomódeo, através de projeções e rotações das quelíceras e dos palpos. Acredita-se que o hipostômio surja a partir da combinação e fusão dos dois lábios do estomódeo. Posteriormente, o proctódeo invagina em direção ao telson, diferenciando-se em uma estrutura denominada saco retal que servirá para o acúmulo dos metabólitos excretados pelo embrião (SONENSHINE, 1991). Segue-se a evaginação do saco retal, dando origem aos túbulos de Malpighi. Estas duas estruturas são funcionais no embrião, já que gradualmente se completam com cristais de guanina, caracterizando o ponto de embrionamento, o qual pode ser visto a microscopia óptica ou até mesmo a olho desarmado, como uma massa esbranquiçada (DIPEOLU, 1984; SONENSHINE, 1991).

Ao estudarem as camadas da casca dos ovos dos carrapatos, Lees e Beament (1948), verificaram que os ovócitos secundários dos ixodídeos recebem uma primeira camada lipídica incompleta, durante a sua passagem através do vestíbulo da vagina ou através das secreções das glândulas do lobo acessório. De acordo com estes autores e Dipeolu (1984), existem ainda três camadas distintas nos ovos recém depositados: a membrana interna da casca, uma camada incompleta de grânulos com propriedades redutoras e a camada mais externa com uma cobertura de cera que é aplicada através do órgão de Gené. Existiria ainda, segundo os autores, a formação de uma quarta camada mais interna (membrana interna) que é secretada pelo embrião após o ovo ter sido incubado por um período de 2 a 3 dias.

Lees e Beament (1948) demonstraram que a eficiência da camada de cera protetora, conferida pelo órgão de Gené, e que reveste os ovos dos carrapatos, é espécie-específica. Essa capa lipídica tem real importância sobre a embriogênese e conseqüentemente, sobre a eclodibilidade larval, pois oferece uma proteção contra a perda de água. Os ovos recém ovipostos sem o contato subsequente com o órgão de Gené, são altamente permeáveis à água e dessecam rapidamente em meio árido. Ao extrair essa capa de cera, utilizando-se solventes e detergentes, os autores verificaram que os ovos tendem a perder a agregação, tendendo a rolar, diminuindo a viabilidade e impedindo o desenvolvimento do embrião. Existem diferenças entre as espécies com relação à permeabilidade, principalmente devido à espessura da camada de cera. Logo, algumas espécies são mais susceptíveis à dessecação do que outras. Ainda, os autores mencionam que os ovos dos argasídeos são, em geral, mais resistentes a dessecação do que os ovos dos ixodídeos.

Lancaster e McMillan (1955) avaliaram os efeitos da umidade relativa sobre *Amblyomma americanum*. Em estudos conduzidos em laboratório, verificaram a ocorrência normal de postura e de eclosão das larvas nas umidades de 73 e 91%, ao passo que as umidades de 7, 25 e 47% impossibilitam a oviposição. Estes baixos percentuais de umidade foram considerados deletérios, já que não houve oviposição. Já em 69% UR, a oviposição foi observada, no entanto não houve eclosão neste percentual. Sonenshine e Tigner (1969) conduziram estudos sobre a oviposição e a eclodibilidade larval de *Dermacentor variabilis* e de *Amblyomma americanum* em relação ao déficit de umidade, avaliando o grau de dessecação dos ovos quando estes eram submetidos a diferentes teores de umidade. Além disso, os autores correlacionaram a viabilidade dos ovos com a exposição a diferentes percentuais de UR (45, 56, 65, 76, 86 e 95%) e temperatura constante de 27 °C. A produção média dos ovos de *D. variabilis* nas dadas umidades relativas e em temperatura de 27 °C variou de 4097 a 6713 (5379 ± 31) ovos, enquanto para *A. americanum*, a produção de ovos variou entre 4056 e 8188 ($6436 \pm 30,3$). O pico de oviposição teve seu início no 3º dia para *D. variabilis* e no 4º dia para *A. americanum*, independentemente do percentual de umidade relativa. Verificaram ainda, que o percentual de eclodibilidade das larvas de *D. variabilis* foi

de 94,5% em 95% UR, 82% em 85% UR, 59,2% em 65% UR, 1,1% em 55% UR e em 45% UR não houve eclosão, apontando então, o efeito de um baixo percentual de umidade relativa sobre a embriogênese. Para *A. americanum*, o percentual de eclosão larval em 95% UR foi 84,9%; em 85% UR, 77,5%; em 65% UR, 15,4% e em 55 e 45% UR não foi verificada a eclosão de larvas. Os autores concluíram que a oviposição não foi influenciada, porém, a perda de água dos ovos foi proporcional à diminuição da umidade, e que os ovos de *D. variabilis* desidratam mais do que os ovos de *A. americanum* quando submetidos aos mesmos percentuais de UR.

Buczek (2000) estudou os efeitos de umidade relativa elevada (90%UR) sobre o desenvolvimento embrionário de *Hyalomma marginatum marginatum* a uma temperatura de 25 °C. Sob essas condições, graves distúrbios ocorreram durante a embriogênese. Segundo o autor, o estresse relacionado à umidade desfavorável atuando durante o processo embrionário trouxe como conseqüências patogênicas um índice de 18% de mortalidade embrionária, 0,2% de eclosão de larvas mal-formadas e o desenvolvimento de larvas com anormalidades morfológicas em 6,9% das larvas. Dentre as alterações decorridas da exposição a umidades desfavoráveis, temos a dessecação e a quebra dos ovos; o atraso no período de eclosão; larvas inertes cujas patas não são liberadas das cascas; redução, atrofia ou não formação das quelíceras e do hipostômio; desenvolvimento de dentes adicionais no hipostômio; deformações na base do gnatossoma; fusão de coxas e trocânteres; alterações na forma e tamanho de segmentos das pernas; posição anormal do ânus, dentre outras. Os tipos de anomalias ocorridos em *H. marginatum marginatum* mostraram que os embriões durante a formação do blastoderma, metamerização da banda germinativa e a contração da banda são os períodos mais susceptíveis a serem afetados pela umidade, já que a alteração cronológica na banda germinativa causa as mudanças no material embrionário. Logo, as anomalias acompanharam alterações na estrutura dos apêndices de locomoção e as alterações no gnatossoma também apresentaram real importância, já que a fixação no hospedeiro durante a alimentação pode ficar comprometida.

Carvalho (2005) ao acompanhar o desenvolvimento embrionário de *R. sanguineus* em diferentes umidades relativas através do uso de dessecadores mantidos a temperatura ambiente, observou que a 70% UR, o saco retal esteve presente em 3,91% dos ovos com 10 dias de incubação. Neste tratamento, o saco retal e as pernas formadas, puderam ser observados em 100% dos ovos a partir dos 20° e 21° dias de incubação, e a eclosão larval a partir do 22° dia.

2.4 Metabolismo de Quitina

A quitina é um hidrocarboneto importante na composição do exoesqueleto dos artrópodes e da casca dos ovos dos nematódeos, mas não está presente nos vertebrados. A quitina está sempre associada a proteínas, formando um complexo, a proporção entre elas bem como a natureza de interação entre esses dois componentes é de importância para as propriedades mecânicas da cutícula e da membrana peritrófica (SPINDLER et al., 1990).

A síntese de quitina ocorre durante a embriogênese, ecdise e ingurgitamento de todos os instares. Ao empregar um regulador de crescimento de artrópodes a potência dos ductos salivares é comprometida, causando um desequilíbrio na hemolinfa (KEMP et al., 1990). O efeito é tal que as fêmeas de *B. microplus* que se alimentam em bovinos tratados apresentam diminuição na postura, que resulta em ovos não viáveis, os carrapatos imaturos morrem, visto que eles são incapazes de realizar a muda para o próximo instar (BULL et al., 1996).

A degradação da quitina tem uma importante atuação na ecdise periódica dos artrópodes. Um considerável número de enzimas que degradam quitina, em uma variedade de

artrópodes, especialmente insetos têm sido caracterizadas e classificadas, de acordo com a sua atividade enzimática em exo e endoquitinases (SPLINDLER, 1983; KRAMER et al., 1985; CHEN, 1987;).

As quitinases são alvos no desenvolvimento de um novo agente quimioterápico contra parasitos ao qual os vertebrados não sejam susceptíveis. São desejáveis que tais compostos sejam altamente seletivos, eficazes e de baixa toxicidade para os vertebrados e para o meio ambiente (SPINDLER et al., 1990).

Considerando a ocorrência de quitina e síntese de quitina no reino animal, a pesquisa “bio-racional” por reguladores de crescimento que interfiram no desenvolvimento dos parasitos que possuem quitina é praticada.

A degradação e a síntese da quitina são controladas através de hormônios, os ecdesteróides. Após aplicação de ecdesteróides, a degradação de quitina aumenta, visto que a síntese de quitina pode aumentar ou diminuir, dependendo da espécie, do tecido e o modo de aplicação. Ecdesteróides utilizados em altas concentrações podem causar alterações na formação da cutícula que podem ocasionar efeitos letais durante a próxima muda (SPLINDLER, 1983 apud SPINDLER et al., 1990; KRAMER et al., 1985; CHEN, 1987). Mesmo sendo pouco tóxico para vertebrados os ecdesteróides não são comercialmente usados como inseticidas ou nematocida por causa do alto custo, da necessidade de altas concentrações e devido a sua alta solubilidade e rápida degradação, excreção e taxa metabólica nos animais.

Progressos consideráveis foram conseguidos no controle de vários parasitos artrópodes com outros compostos inseticidas convencionais (a maioria neurotóxicos), incluindo inibidores da síntese e degradação de quitina, análogos do hormônio juvenil Retnankaran (apud SPINDLER et al., 1990) e hormônios da muda Spindler-Barth (apud SPINDLER et al., 1990); Spindler (apud SPINDLER et al., 1990), assim como os feromônios Baker (apud SPINDLER et al., 1990); (HANSELL, 1985).

2.5 Novas Moléculas para o Controle de Artrópodes

Para o tratamento e controle de *R. sanguineus*, existem diversos produtos químicos que apresentam eficácia comprovada, como é o caso dos organofosforados, as amidinas, piretróides e os fenilpirazoles (SANT’ANNA et al. 2002). Scott et al. (2002) acrescentam a esta relação as lactonas macrocíclicas. A maioria das drogas empregadas no controle de insetos, atuam no sistema nervoso, podendo causar resistência cruzada com outros produtos. Como conseqüência, chegou-se a drogas mais específicas empregadas principalmente no controle de artrópodes, que são os reguladores de crescimento dos artrópodes (COOP et al, 2002).

Os reguladores de crescimento representam uma nova categoria que vem sendo empregada amplamente no controle de ectoparasitos de pequenos animais. Este grupo químico não apresenta efeito “knockdown”, atua de forma lenta e gradual interferindo no seu crescimento e desenvolvimento (TAYLOR, 2001). Os AGR’s foram divididos de acordo com o seu mecanismo de ação em: análogos do hormônio juvenil dos insetos, benzoilfenil uréias - atuando na inibição da síntese de quitina e inibidores da deposição de quitina, derivados da triazina e da pirimidina (GRAF, 1993).

As drogas provenientes deste grupo são muito seguras para os mamíferos, pois os mesmos não apresentam hormônios juvenis e estruturas quitinosas ou ainda, receptores para estas moléculas (BOWMAN, 2003). Estas moléculas vêm sendo amplamente empregadas no controle de pulgas em cães e gatos, sendo que sua eficiência em carrapatos permanece muito discutida (ZENNER et al. 2004).

Da Glória (1988), realizou um ensaio onde empregou AGR's no controle de *B. microplus* em infestações artificiais em bovinos. Dois compostos codificados mostraram elevados níveis de atividade. Foram observadas alterações morfológicas em teleóginas despendidas após o sétimo dia do tratamento, consistindo em redução no tamanho e abaulamento do corpo dos espécimes. Os compostos causaram redução na eclodibilidade das larvas, com redução de até 60% três dias pós-tratamento, até o 13º dia o percentual de eclosão foi zero.

2.5.1 Análogos do hormônio juvenil

Os análogos do hormônio juvenil são absorvidos pela cutícula do inseto e previnem a ativação de seqüências genéticas que determinam o desenvolvimento de órgãos e tecidos dos insetos imaturos (SCOTT et al., 2002).

As principais substâncias deste grupamento destinadas ao controle de insetos são: hidroprene, metoprene, piriproxifen e fenoxycarb (CORREIA, 2003). Estas drogas vêm sendo empregadas no controle de diversos artrópodes, contudo existem poucos trabalhos na literatura destacando o emprego destas substâncias no controle de carrapatos, especialmente a espécie *R. sanguineus*.

O Piriproxifen é um inibidor de crescimento de insetos que está sendo utilizado para o combate às pulgas, e que tem diferentes apresentações comerciais (PALMA et al., 1993; JACOBS et al, 1996; KAWADA; HIRANO, 1996; MEOLA et al., 1996; MAYNARD et al, 2001; BOWMAN, 2003; STANENECK et al, 2003).

O piriproxifen atua nas pulgas, inibindo o desenvolvimento de ovos, larvas e pupas oriundas de animais medicados (JACOBS et al., 1996). Segundo o mesmo autor, as pulgas podem absorver o produto tanto por contato direto, bem como através do repasto, quando ingerem o sangue de animal tratado.

Tell et al. (1996) utilizaram em fêmeas ingurgitadas e em ovos de *A. americanum* diferentes doses e períodos de exposições do inibidor de desenvolvimento piriproxifen. O produto não afetou o número de fêmeas que realizaram a postura e sim, o número de ovos colocados, que decresceu com o aumento da dose e o tempo de exposição. Verificaram também que os ovos das fêmeas tratadas apresentavam coloração e aspecto diferentes, evento este não observado quando o produto foi empregado diretamente nos ovos.

Donahue et al. (1997) empregaram o piriproxifen nas concentrações 4,0; 8,0; 16,0 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ em testes *in vitro* no tratamento de larvas e ninfas ingurgitadas de *A. americanum*. Nas larvas ingurgitadas tratadas foi observada uma diminuição da ecdise de 35,9 a 68,4% e alteração da defecação pós-ecdise. As ninfas que realizaram muda apresentavam-se com comportamento letárgico. O efeito do produto foi mínimo ou nenhum na ecdise quando empregado em ninfas ingurgitadas, entretanto os adultos apresentaram-se letárgicos e com alteração nos metabólitos. Os autores acreditam que os adultos oriundos de ninfas ingurgitadas tratadas demonstrariam diminuição na capacidade de fixação, alimentação e reprodução.

Fernandes (2005) para controle de *R. sanguineus* empregou um tratamento em cães com d-fenotrina associado ao piriproxifen, na formulação spray, observando uma eficácia média de 80,7 % ao longo de 17 dias.

2.5.2 Inibidores da Síntese de Quitina

Os inibidores da síntese de quitina também são conhecidos como inibidores do desenvolvimento de insetos, atuando no desenvolvimento normal da cutícula e outras estruturas quitinosas (SCOTT et al., 2002).

Dentre as drogas pertencentes a este grupamento químico, encontram-se o diflubenzuron, lufenuron, flufenoxuron, triflumuron e fluazuron que vem sendo bastante empregado no controle de pulgas nos animais domésticos (CORREIA, 2003).

MacDonald (1995) destacou o uso do lufenuron no controle de diversos artrópodes de importância médico-veterinária, como baratas, moscas, pulgas e carrapatos. A droga deve ser administrada por via oral, logo após a alimentação, podendo ser mais bem absorvida no trato digestório, atingindo a corrente sanguínea em poucas horas.

Davis (1999) na Califórnia, ao administrarem o lufenuron oralmente na alimentação de esquilos, através de ração contendo 15mg de lufenuron, no auxílio do controle de pulgas, após quatro tratamentos consecutivos, obtiveram uma eficácia de até 96%.

O fluazuron (FZN) foi o primeiro regulador de crescimento a ser registrado para o controle de carrapatos ixodídeos (BULL et al; 1996) Um efeito secundário deste benzoilfeniluréia é a ação nas glândulas salivares das fêmeas de carrapato. O desenvolvimento das células excretórias é comprometido, causando um desequilíbrio na hemolinfa. O FZN apresenta alta especificidade, baixas quantidades inibiram a formação de quitina em *B. microplus*, possivelmente através da inibição de enzimas específicas no processo de muda (KEMP et al., 1990). Nos últimos anos o FZN tem sido utilizado na Austrália, África do Sul e América Latina, no controle estratégico do *Boophilus* spp.

Foi constatado em literatura que o FZN a 1,5 mg/kg de PV, proporcionou uma eficácia satisfatória no controle de *B. microplus* por até 12 semanas, apresentando o inconveniente de um período residual longo, que foi verificado pela presença de resíduos deste AGR na carne e no leite dos animais, depois de longo período após o tratamento (BULL et al, 1996).

Citroni et al. (1999) observaram alta eficácia do FZN no controle de *B. microplus* de origem Argentina, quando empregada a dose de 2,5 mg/kg de PV, a persistência foi de aproximadamente 60 dias.

Slowik et al., (2000) utilizaram ração para o roedor *Neotoma fuscipes* na Califórnia contendo 40mg de fluazuron no controle de pulgas e carrapatos, os resultados em dois meses de experimentação sugeriram que a aplicação de um programa mensal de fornecimento dessa ração em um pequeno período foi efetivo na redução de pulgas, mas o mesmo não ocorreu para carrapatos.

O emprego desta molécula, em ensaios recentes, no controle de *Ixodes* e *Dermacentor*, não deram bons resultados (TAYLOR, 2001; ZENNER et al, 2004). Até o presente momento não foi reportado na literatura o emprego desta molécula no controle de *R. sanguineus*.

Kryger et al., (2005) realizaram um estudo para determinar o efeito da associação de fluazuron 3mg/kg de PV, “pour on” com ivermectina 200µg/kg de PV, solução injetável utilizada no controle de *B. microplus* sobre a comunidade de besouros coprófagos na África do Sul. Os autores não observaram efeito das drogas administradas sobre essa comunidade durante todo o ano de observação. Estudos desse tipo sustentam a idéia de que o impacto ecotoxicológico de drogas antiparasitárias dependem de fatores tais como condições climáticas, intervalos entre os tratamentos e proporção de animais tratados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e Condições da Experimentação

O trabalho foi realizado nas dependências do Laboratório de Desenvolvimento de Produtos Parasiticidas (LDPP) e Morfofisiologia de Ácaros (LMA), ambos pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica a latitude 22°44'38" sul, longitude 43°42'27" oeste e altitude de 26 metros.

As experimentações durante a fase parasitária foram realizadas em condições ambientais, no período de agosto a novembro de 2006, e da fase não parasitária em condições controladas de laboratório (27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR, em escotofase).

3.2 Origem e Manutenção Ixodídeos

Os ixodídeos foram provenientes da quinta geração de uma colônia de *R. sanguineus* mantida nas dependências do LDPP utilizando coelhos mestiços *Oryctolagus cuniculus* (L., 1758) como hospedeiros, conforme metodologia proposta por Neitz (1971). Os carrapatos utilizados nas infestações tinham de 15 a 20 dias de jejum.

3.3 Hospedeiros

Foram utilizados 40 coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia), de ambos os sexos, com idade entre 50 a 70 dias com peso entre 1,0 e 1,5 Kg, adquiridos do Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CTUR), sem contato prévio com carrapatos e produtos carrapaticidas. Durante todo o período experimental os animais foram mantidos em gaiolas recebendo água e ração comercial para coelhos *ad libitum*.

3.4 Delineamento Experimental

O experimento foi dividido em quatro etapas (I, II, III e IV), sendo que em cada uma delas utilizados 10 coelhos (4 x 10), divididos em grupos controle e tratado (5 x 5).

Na etapa I (adultos), os coelhos foram infestados com 25 casais/coelho.

Na etapa II (fase de larva) os coelhos foram infestados com larvas de *R. sanguineus* na razão de 2300 larvas/coelho.

Na etapa III, os coelhos foram infestados com 2300 larvas oriundas das fêmeas ingurgitadas recuperadas na etapa I.

Na etapa IV (fase de ninfa), coelhos ninfas na razão de 200 ninfas/coelho.

A dose de fluazuron (FZN) aplicada sob a forma “pour-on” em todas as etapas foi de 10mg/kg de PV.

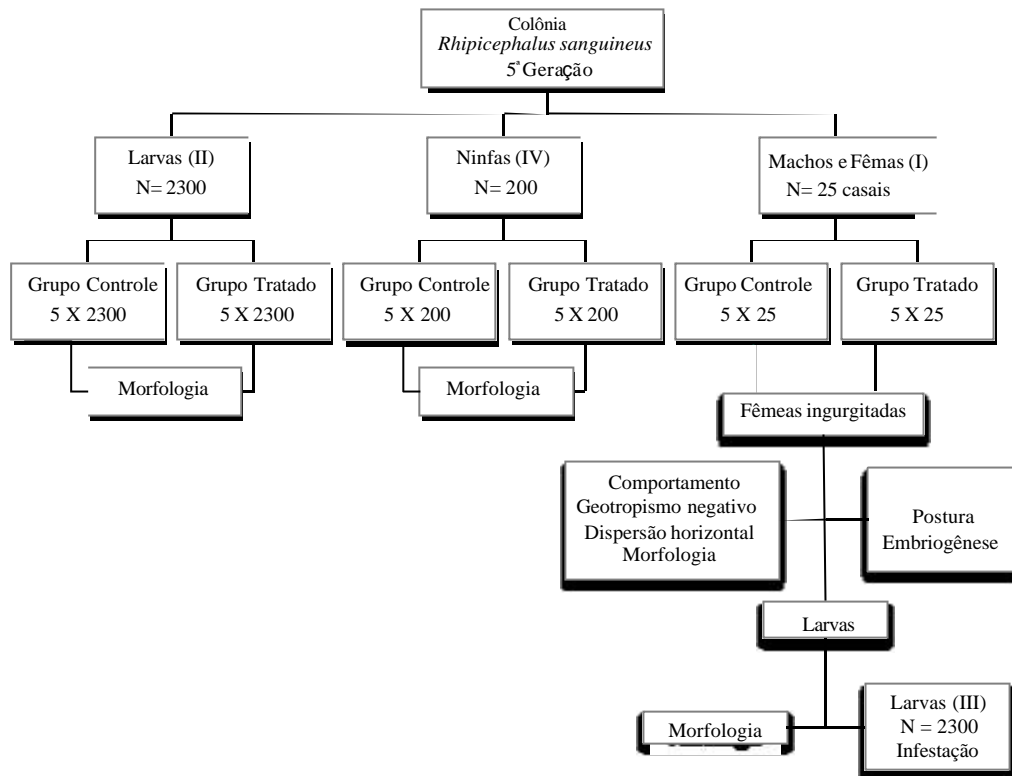


Figura 1. Fluxograma das etapas experimentais para avaliação da morfologia, biologia e eficácia do regulador de crescimento de artrópodes, fluazuron, sobre *Rhipicephalus sanguineus* utilizando-se coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) como hospedeiro experimental.

3.5 Procedimentos

Considerou-se dia zero experimental, quando o tratamento com fluazuron foi realizado, aplicando-se a dose acima descrita sobre a linha dorsal dos coelhos do grupo tratado.

No dia +1 foi realizado o manejo dos animais para corte das unhas, colocação dos capuzes de pano, fixados com cola apropriada, seguindo a metodologia proposta por Neitz, 1971. No dia subsequente os coelhos foram infestados com os exemplares de *R. sanguineus*, conforme descrito para cada etapa (Figuras 2).

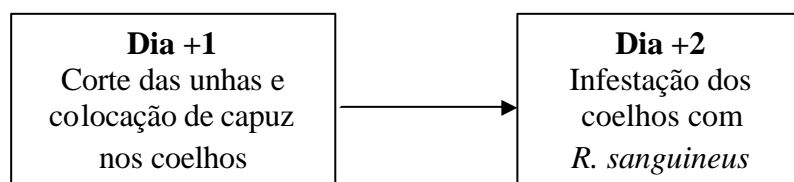


Figura 2 Cronograma das etapas de preparo dos coelhos, e infestação dos coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) com *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle.

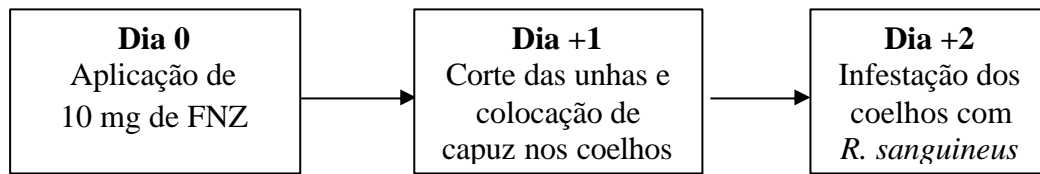


Figura 3. Cronograma das etapas de tratamento com o regulador de crescimento de artrópodes, fluazuron (FZN), preparo e infestação dos coelhos mestiços (Califórnia X Nova Zelândia) com *Rhipicephalus sanguineus* do grupo tratado.

Em todas as etapas foram realizadas observações diárias e os espécimes recuperados foram avaliados quanto a sua integridade morfológica, quantificados, pesados e mantidos posteriormente em câmara climatizada tipo B.O.D, em temperatura de $2 \pm 1^\circ \text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 10\%$ em escotofase.

Para manutenção na câmara, as fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* foram acondicionadas em placas de Petri descartáveis, enquanto os demais estágios foram alocados em seringas descartáveis com a extremidade do canhão cortada, onde se utilizou algodão para vedar as seringas.

As posturas obtidas a partir das fêmeas ingurgitadas recuperadas na etapa I foram pesadas e alocadas e seringas de 10 ml, para posterior análise dos parâmetros relacionados a essa etapa.

Para avaliação da produção e da embriogênese, quanto ao grupo controle a cada dia subsequente, foi coletada uma alíquota de 10 mg de ovos de cada tratamento até a eclosão da primeira larva ou até que fosse constatada a inviabilidade dos ovos, através do seu aspecto escuro e ressecado. Como as posturas do grupo controle foram poucas e espaçadas, as alíquotas de 10 mg foram coletadas de acordo com a disponibilidade de postura, respeitando-se o dia de embriogênese para fixação das amostras. As alíquotas diárias foram alocadas em tubos tipo “Ependorf” e fixadas em álcool 70%. Posteriormente os ovos de *R. Sanguineus* foram previamente fixados, clarificados em lactofenol e novamente retornados para o álcool 70%, para posterior observação em microscópio óptico (CARVALHO, 2005).

Utilizou-se como ponto-chave de observação, a estrutura do saco retal, primeira estrutura resultante do desenvolvimento embrionário visível à microscopia óptica (TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1944; DIPEOLU, 1984). Para o exame do saco retal ao microscópio óptico, os ovos foram montados temporariamente com álcool 70%, em lâmina escavada coberta por lamínula.

Da geração F_1 das fêmeas dos grupos tratado e controle uma amostra de 50 larvas foi fixada em álcool 70° GL para posterior exame da morfologia, e 11500 larvas de *R. sanguineus* foram utilizadas para infestar coelhos (2300 larvas X 5 coelhos) para avaliar a capacidade de fixação e alimentação.

Larvas e ninfas recuperadas nas etapas I e II respectivamente, após ecdise, tiveram o percentual de ecdise determinado e uma amostra com 50 exemplares de cada estágio foi avaliada quanto ao aspecto morfológico.

A capacidade de dispersão horizontal e vertical de teleóginas dos dois grupos foi aferida.

3.6 Parâmetros Analisados

Os parâmetros biológicos analisados de larvas, de ninfas e de adultos sob a temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. de $80 \pm 10\%$ e do ciclo parasitário desenvolvido em coelhos foram realizados para os grupos controle e tratado levando-se em consideração o peso inicial da fêmea ingurgitada, o peso da postura, o índice de eficiência reprodutiva, a eficácia na inibição da ecdise, a eficiência reprodutiva, a eficácia do produto; o período de pré-oviposição, o período de oviposição, o período de incubação dos ovos, o período de eclosão, o período parasitário, o percentual de recuperação, o período de muda, o percentual de ecdise e o percentual de eclosão. As definições dos parâmetros biológicos analisados, assim como as fórmulas utilizadas encontram-se disponíveis no Anexo C.

Para avaliar a morfologia das larvas, das ninfas e adultos utilizou-se 10 indivíduos de cada amostra, totalizando 50 exemplares para cada grupo, o critério adotado foi qualitativo, apresentar ou não algum tipo de alteração na conformação dos apêndices. O aspecto do tegumento, como coloração e consistência e formato do idiossoma foram levados em consideração, assim como a ocorrência ou não de teratogenia.

O comportamento das fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* quanto ao geotropismo negativo foi avaliado através de um protótipo em madeira composto por assoalho e três paredes medindo 50 cm de altura, ângulo de 90° e com marcação a cada 5 cm, (Figura 3). As teleóginas foram liberadas no assoalho e após 60 minutos foi quantificado o número de teleóginas que atingiram a altura máxima de 50 cm.



Figura 4 Protótipo em madeira composto por assoalho e três paredes medindo 50 cm de altura, ângulo de 90° e com marcação a cada 5 cm, para avaliar comportamento das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* quanto ao geotropismo negativo.

Para acompanhamento da dispersão horizontal das fêmeas ingurgitadas, foram feitos círculos concêntricos com raios de 25, 50, 75 e 100 cm em piso de cerâmica (Figura 4), após liberação das unidades experimentais no centro do círculo de menor diâmetro o número de

fêmeas ingurgitadas que atingiram o maior raio foi quantificado nos tempos de 10, 15, 20 e 30 minutos através de um cronômetro digital.

Utilizou-se 30 exemplares para ambos os grupos baseado no número máximo de fêmeas recuperadas no grupo tratado com fluazuron.



Figura 5. Círculos concêntricos com raios de 25, 50, 75 e 100 cm em piso de cerâmica, para acompanhamento da dispersão horizontal, das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*.

3.7 Análise Estatística

Quando se trabalhou com três tratamentos foi realizada a Análise de Variância (ANOVA), seguida pelo teste de Tukey quando necessário. O qui-quadrado com correção de Yates foi empregado para análise morfológica de todos os estágios, deslocamento e geotropismo das fêmeas ingurgitadas. Para análise dos demais parâmetros os valores brutos foram transformados em log natural e posteriormente o Teste t foi aplicado. Padronizou-se $p < 0,05$ para todas as análises. Foi utilizado o programa BioEstat 4.0.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Etapa Experimental I - Adultos de *Rhipicephalus sanguineus* Alimentados em Coelhos Tratados com Fluazuron

4.1.1 Fase parasitária das fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*

Os parâmetros biológicos da fase parasitária de fêmeas de *R. sanguineus* podem ser vistos na Tabela 1.

O período parasitário de fêmeas nos grupos controle e fluazuron não diferiram estatisticamente. As médias encontradas foram similares aos valores reportados por Christophers (1907), de sete dias; Srivastava; Varma (1964), sete a 15 dias; Hadani et al. (1969), sete a 18 dias; Paul et al. (1970), quatro a nove dias; Nassar et al (1971), 11 a 14 dias; Sardey; Rao (1973), sete a 13 dias; Fujisaki et al. (1976), sete a 14 dias; Mahadev (1977), nove a 16 dias; Saleh et al. (1978), seis a 19 dias; Sartor (1996), média de 8,8 dias; Bellato (1995) sete a 18 dias e Santos-Silva; Filipe (1998), que observou 8 dias. Os autores supracitados trabalharam em condições de temperatura e umidade relativa próximas das usadas no presente estudo e utilizaram coelhos sem infestações prévias.

As médias do percentual de recuperação das fêmeas ingurgitadas dos grupos controle e FZN não diferiram estatisticamente entre si. Sartor (1994) relatou um percentual médio de recuperação de 78,66%, Bellato (1995), observou taxa de recuperação de 82,67%, bem semelhante ao valor do grupo controle do presente estudo. Ambos os autores encontraram valores de recuperação superiores ao do grupo tratado.

Tabela 1. Período parasitário e porcentagem de recuperação de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus* coletadas de coelhos infestados artificialmente com 25 casais, nos grupos controle e tratado com fluazuron (FZN).

Parâmetros	Medidas de Tendência Central	Grupos	
		Controle	FZN
Período Parasitário (dias)	Amplitude de Variação	7 – 11	7 – 13
	Média	9 ^a	10 ^a
Recuperação (%)	Amplitude de Variação	64,0 - 100	40,0 – 80,0
	Média	82,40 ^a	63,20 ^a

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

4.1.2 Fase não parasitária de fêmeas de *Rhipicephalus sanguineus*

Os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas de *R. sanguineus* dos grupos controle e tratado com fluazuron podem ser vistos na Tabela 2.

O peso inicial das fêmeas ingurgitadas em ambos os grupos não apresentou diferença estatística significativa entre si. As fêmeas se alimentaram com sucesso nos dois grupos, atingindo médias de peso semelhantes às encontrados por Fujisaki et al. (1976), que observou uma média de peso inicial de fêmeas de 162mg.

Houve diferença significativa entre as médias dos períodos de pré-postura, as fêmeas ingurgitadas do grupo FZN demoram mais para iniciar a postura. Entretanto o período de postura foi bem próximo entre os dois grupos, não diferindo estatisticamente (Tabela 2).

O peso da massa de ovos variou entre os tratamentos, as médias foram diferentes estatisticamente. Bellato (1995) observou que o peso da massa de ovos variou de 64 a 156mg, ao trabalhar com carrapatos de primeira geração, este fato pode justificar a superioridade dessa média de peso de postura quando comparada a do grupo controle do presente estudo que utilizou ixodídeos de quinta geração. O grupo FZN apresentou peso da massa de ovos reduzido, indo ao encontro à Bull et al. (1996) que afirmaram que o efeito do FZN é tal que as fêmeas de *B. microplus* que se alimentam no gado tratado, realizam pouca postura.

O índice de eficiência reprodutiva (IER) apresentou médias significativamente diferentes entre si, a maioria das fêmeas ingurgitadas do grupo FZN não realizaram postura, o que resultou em um IER baixo. O valor do IER encontrado no grupo controle foi semelhante aos encontrados por Coelho (1993) e Bellato (1995), de 64,50 e entre 50,90 e 67,60%, respectivamente. Entretanto o grupo tratado apresentou um IER de 8,2%

A eficácia do fluazuron no controle da reprodução de *R. sanguineus* foi de 86,07%. Outros autores também obtiveram sucesso no controle desse ixodídeo ao empregar moléculas distintas, Fernandes et al. (2006) ao realizar um teste de imersão avaliou a eficácia amitraz no controle reprodutivo de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* em concentrações que variaram de 125 a 500 ppm. O resultado foi de 100% de eficácia do amitraz no controle reprodutivo de fêmeas ingurgitadas de *R. sanguineus* para todas as concentrações. Melo et al., (2006) ao empregar etoxazole em uma formulação “strip-on” 17% em coelhos para determinar a eficácia do mesmo no controle reprodutivo de teleóginas de *R. sanguineus* em coelhos observou uma eficácia de 100%.

Tabela 2. Peso das fêmeas ingurgitadas, períodos de pré-postura e postura, peso da massa de ovos, índice de eficiência reprodutiva (IER), eficiência reprodutiva (ER) e eficácia do fluazuron (FZN) na inibição da reprodução de *Rhipicephalus sanguineus* coletados de coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase.

Parâmetros	Medidas de Tendência	Grupos		
		Central	Controle	FZN
Peso inicial da fêmea (mg)	Amplitude Variação		79 – 244	48 – 244
	Média		148,34 ^a	106,2 ^a
Período de pré-postura (dias)	Amplitude de Variação		1 - 3	2 – 4
	Média		1,8 ^a	3,0 ^b
Período de postura (dias)	Amplitude de Variação		8 – 15	8 - 12
	Média		11,4 ^a	10 ^a
Peso da massa de ovos (mg)	Amplitude de Variação		95 – 114	0 – 17
	Média		105,6 ^a	11 ^b
IER (%)	Amplitude de Variação		59 – 75	4 – 13
	Média		68,40% ^a	8,20% ^b
ER	Média		1338330,86	186440,68
Eficácia do FZN (%)			-	86,07

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

4.1.3 Embriogênese e eclosão de larvas de *Rhipicephalus sanguineus*

Nas tabelas 3 e 4 encontram-se os percentuais de ovos com saco retal nos grupos controle e fluazuron de acordo com os dias de incubação e o percentual de larvas eclodidas, respectivamente.

O desenvolvimento do saco retal foi mais tardio no grupo FZN, mas não interferiu, no desenvolvimento dos ovos. Entretanto é importante ressaltar que embora não tenha sido observado alterações no desenvolvimento embrionário dos ovos, o FZN mostrou-se eficaz na inibição do processo de postura, reduzindo consideravelmente o número de ovos postos por fêmeas ingurgitadas oriundas do grupo tratado. O grupo fluazuron apresentou valores discrepante no dia +24 o percentual de saco retal dos ovos foi de 56,75 e no dia +25 foi de 100%. O esperado era o percentual de ovos com presença de saco retal aumentar discretamente como no grupo controle até chegar a 100%, tal resultado do grupo tratado pode ter sido em função da coleta de ovos para formação das amostras diárias. Como poucas fêmeas ingurgitadas do grupo fluazuron realizaram postura, as amostras não foi separada em um mesmo dia como foi realizado para o grupo controle.

Tabela 3. Percentual de ovos de *Rhipicephalus sanguineus* com saco retal nos grupos controle e fluazuron de acordo com os dias de incubação.

Dias de Incubação	Percentual de ovos com Saco Retal (%)	
	Controle	FZN
+1	0	0
+2	0	0
+3	0	0
+4	0	0
+5	0	0
+6	0	0
+7	3,3	0
+8	86,75	0
+9	74,52	50,95
+10	93,49	67,18
+11	87,91	56,62
+12	94,12	72,00
+13	91,85	65,12
+14	91,91	97,77
+15	89,24	87,59
+16	86,74	66,38
+17	89,71	86,71
+18	78,98	62,50
+19	94,38	62,35
+20	99,44	51,05
+21	95,89	57,84
+22	96,91	51,93
+23	100,00	56,75
+24	Larvas	56,75
+25	Larvas	100,00
+26	Larvas	Larvas

Tabela 4. Período de embriogênese e percentual de eclosão de larvas de *Rhipicephalus sanguineus* nos grupos controle e fluazuron (FZN).

Período de embriogênese (dias)	Percentual de Larvas eclodidas (%)	
	Controle	FZN
+23	66,22	0
+24	100,00	41,73
+25	100,00	89,93
+26	-	100,00

Período de incubação, período e porcentagem de eclosão de larvas de *Rhipicephalus sanguineus* alimentadas em coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase estão presentes na tabela 5.

O período de incubação dos dois grupos não apresentou diferença estatística entre si, mas valores observados estão dentro dos limites encontrados por outros autores. Mahadev (1977) observaram período de incubação para *R. sanguineus* variando entre 18 e 25 dias a 25 - 30°C e 90 - 100% de UR; Coelho (1993) trabalhando com temperatura de 27 ± 1°C e 80 ± 10% de UR, reportou período de incubação entre 15 e 25 dias. O FZN não interferiu no período de incubação dos ovos, embora observou-se um retardamento no período de desenvolvimento embrionário.

O período de eclosão não diferiu entre os grupos, os valores obtidos foram superiores ao encontrado por Paul et al. (1970) e Sartor (1994), reportaram médias inferiores 5,20 e 2,5 dias respectivamente. Bellato (1995) observou variação semelhante a do presente estudo 7 a 10 dias, com média 8,01.

O percentual de eclosão foi elevado, os grupos não apresentaram diferença estatística entre si. Sartor (1994) e Bellato (1995) relataram média de percentual de eclosão de 93,36 e 97%, respectivamente, resultados estes semelhantes ao do presente estudo. O regulador de crescimento de artrópodes fluazuron não interferiu no desenvolvimento embrionário dos ovos de *R. sanguineus* não impedindo o elevado percentual de eclosão de larvas no grupo tratado.

Tabela 5. Período de incubação, período e percentagem de eclosão de larvas de *Rhipicephalus sanguineus* alimentadas em coelhos infestados artificialmente, grupos controle e tratado com fluazuron (FZN), e posteriormente mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase.

Parâmetros	Medidas de Tendência Central	Grupos	
		Controle	FZN
Período de incubação (dias)	Amplitude de Variação	23 - 24	24 - 26
	Média	23,8 ^a	25,2 ^a
Período de eclosão (dias)	Amplitude de Variação	7 - 12	7 - 12
	Média	9,5 ^a	9,5 ^a
Eclosão (%)	Amplitude de Variação	95 - 100	80 - 100
	Média	94 ^a	90 ^a

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.



Figura 6. Microscopia óptica (100x) de ovo de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle com 11 dias de incubação em umidade relativa de 80% e temperatura $27 \pm 1^\circ\text{C}$, demonstrando a presença de saco retal (Sr) e túbulos de malpighi (Tm).

4.1.4 Alterações morfológicas e de comportamento das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

O número de fêmeas ingurgitadas que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron estão dispostos na tabela 6.

Fêmeas de *R. sanguineus* ingurgitadas pertencentes ao grupo tratado com FZN apresentaram tamanho reduzido, formato elíptico, abaulamento do idiossoma, tegumento friável de modo que rompiam-se com facilidade; em contraposição, no grupo controle não foi observado nenhum tipo de anomalia em relação a morfologia, coloração e consistência do tegumento, os sulcos dorsais e ventrais não estavam bem definidos nos espécimes do grupo FZN (figuras 6 e 7). Houve diferença significativa entre os dois grupos. De acordo com (KEMP et al., 1990) quando a síntese de quitina é comprometida a potência dos ductos salivares também é alterada, causando um desequilíbrio na hemolinfa. Tal alteração morfofisiológica pode estar diretamente correlacionada com as alterações morfológicas observadas. Da Glória (1988) observou essas mesmas alterações em *Boophilus microplus* ao empregar um regulador de crescimento.

A ausência de sulcos dorsais e ventrais do grupo fluazuron pode ter sido devido a mal formação das apódemas que são invaginações da cutícula que servem de pilares de sustentação para inserção dos músculos. A presença de uma musculatura sem sustentação pode dificultar todo um processo de movimentos durante a postura das fêmeas ingurgitadas.

Tabela 6. Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron.

Parâmetros	Número de fêmeas ingurgitadas	
	Controle	FZN
Com alterações morfológicas	0	50
Sem alterações morfológicas	50	0
Total de fêmeas observadas	50	50
Qui-quadrado corrigido	96,04	
Valor de p	< 0,05	

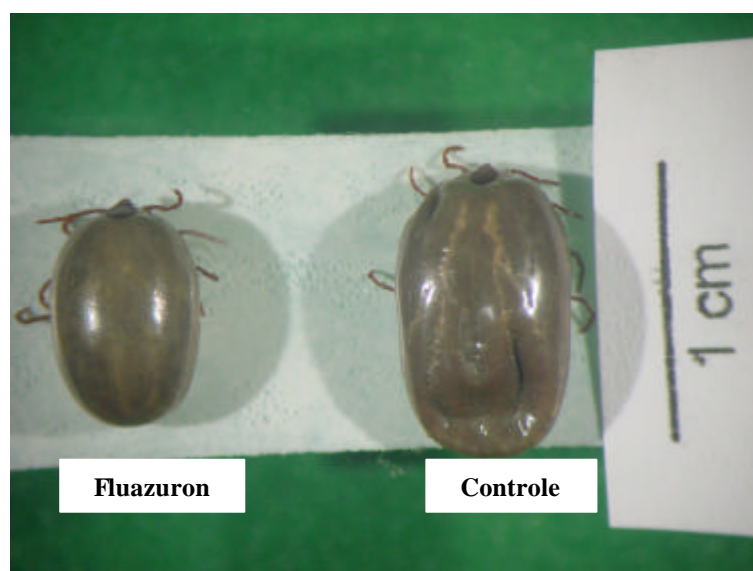


Figura 7. Aspecto dorsal de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron e controle.



Figura 7. Aspecto ventral de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron e controle.

4.1.5 Alterações no deslocamento horizontal das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

O número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos controle e fluazuron que atingiram o raio de 100 centímetros em piso de cerâmica nos tempos de 10, 15, 20 e 30 minutos e seus respectivos qui-quadrado com correção de Yates e valor de “p” podem ser observados na tabela 7.

Nas fêmeas do grupo controle observou-se deslocamento ambulacral normal (figura 8), onde 29 atingiram o raio de 100 cm em 30 minutos, aquelas do grupo tratado com FZN somente uma fêmea obteve o mesmo sucesso, a diferença foi significativa entre os grupos. Tal resultado pode ter sido devido a mal formação das apódemas que não sustentaram a musculatura, dificultando o deslocamento dos espécimes do grupo tratado com fluazuron. O formato elíptico das fêmeas ingurgitadas do grupo tratado, também dificultou o equilíbrio das mesmas, ficando muitas vezes em decúbito dorsal.

Tabela 7. Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos controle e fluazuron que atingiram o raio de 100 centímetros em piso de cerâmica em diferentes tomadas de tempo e seus respectivos qui-quadrado com correção de Yates e valor de “p”.

Tempo (min)	Número de fêmeas que atingiram o raio de 100 cm		Qui-quadrado	p
	Controle	FZN		
10	19	0	24,96	< 0,05
15	27	0	45,52	< 0,05
20	27	1	41,85	< 0,05
30	29	1	48,60	< 0,05



Figura 8. Dispersão horizontal das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo controle.



Figura 9. Dispersão horizontal das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* do grupo fluzuron.

4.1.6 Alterações do geotropismo negativo das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*

O número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que atingiram a altura máxima de 50 cm no tempo de 60 minutos, pode ser observado na tabela 8.

Os exemplares do grupo controle não tiveram dificuldade em escalar a superfície de madeira, em 60 minutos, 25 fêmeas atingiram a altura máxima de 50 cm, já no grupo tratado apenas dois espécimes tiveram o mesmo sucesso (figura 9). Os demais exemplares do grupo FZN ficaram em alturas intermediárias, pois apresentavam dificuldade na escalada, perdiam o equilíbrio e voltavam à base do protótipo. Em ambos os grupos cinco fêmeas permaneceram no assoalho. Este resultado pode estar diretamente correlacionado com as alterações no formato das fêmeas ingurgitadas.

Tabela 8. Número de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que atingiram a altura de 50 cm no tempo de 60 minutos.

Parâmetros	Número de fêmeas que atingiram 50 cm	
	Controle	FZN
Atingiram em 60 minutos	25	2
Não atingiram 60 minutos	5	28
Total de fêmeas observadas	30	30
Qui-quadrado corrigido	32,59	
Valor de p	< 0,05	

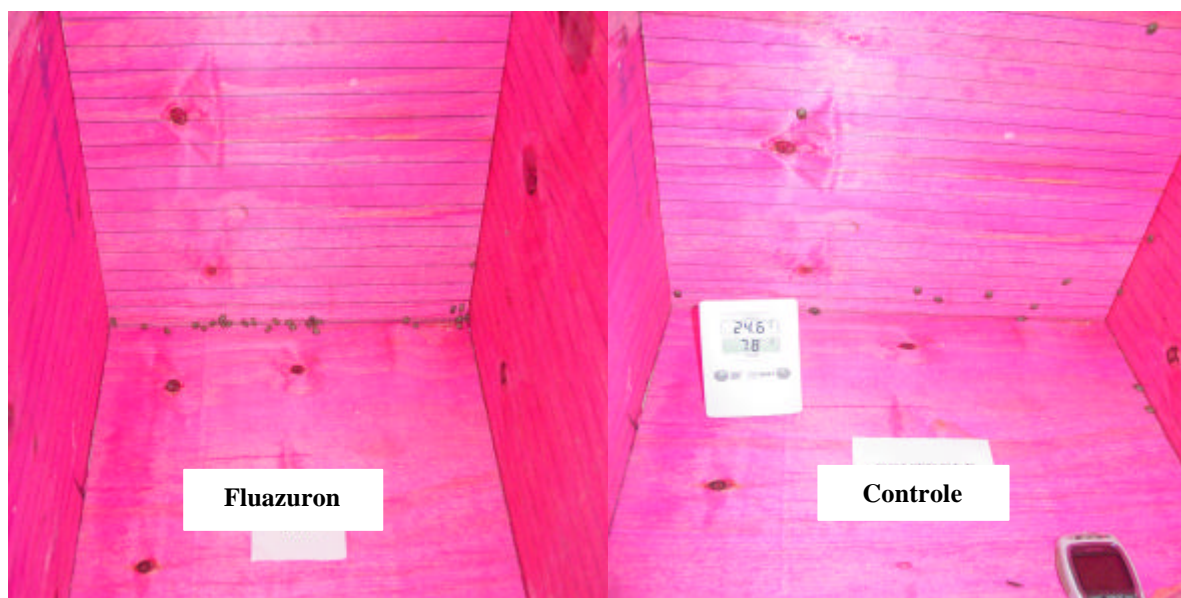


Figura 10. Dispersão vertical das fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron e controle.

4.2. Etapas Experimentais II e III - Larvas de *R. sanguineus* Alimentadas em Coelhos Tratados com Fluazuron e Larvas Oriundas de Teleóginas Alimentadas em Coelhos Tratados com Fluazuron (LOTT)

4.2.1. Parâmetros biológicos da fase parasitária e não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus*

O período e o percentual de ecdise de larvas e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de larvas coletadas de coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase, dos grupos controle, tratado com FNZ e ainda larvas oriundas de teleóginas tratadas (LOTT) podem ser observados na tabela 9.

O período de ecdise foi o mesmo para os grupos controle e LOTT, foram semelhantes ao resultado encontrado por Madhadev (1977), que foi de 10 a 13 dias. Sartor (1994) e Bellato (1995) encontraram médias menores, 2,30 e 8,01 dias, respectivamente.

Os valores das médias para o percentual de ecdise nos grupos controle e LOTT foram iguais e semelhante ao observado por Sartor (1994) e Bellato (1995), que foram de 93,36 e 97%, respectivamente. As larvas do grupo FZN não realizaram ecdise, corroborando com Splindler (1983); Kramer et al. (1985) e Chen (1987) que afirmam que o benzoilfeniluréia, fluazuron atua nos carrapatos inibindo a sua ecdise. Segundo estes autores, a degradação da quitina tem um importante papel na muda periódica dos artrópodes.

Bull et al. (1996) afirmaram que o efeito do FZN sobre fêmeas de *B. microplus* que se alimentam em gado tratado é significativo de modo que há redução da postura, que resulta em ovos não viáveis; os carrapatos imaturos morrem, visto que eles foram incapazes de realizar a muda para o próximo instar.

A eficácia do FZN na inibição da muda de larvas para ninfa foi de 100%, no entanto sua ação sobre larvas oriundas de fêmeas alimentadas em animais tratados com FNZ foi praticamente nula, pois foi observado que 98% das larvas mudaram para ninfa.

Tabela 9. Período e percentual de ecdise e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de larvas de *Ranguineus sanguineus* coletadas de coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase, no grupos controle, tratados com fluazuron e ainda larvas oriundas de teleóginas tratadas (LOTT).

Parâmetros	Medidas de Tendência Central	Grupos		
		Controle	LOTT	FZN
Período de ecdise (dias)	Amplitude de Variação	11 – 13	11 – 13	0
	Média	11,8 ^a	12,2 ^a	0 ^b
Ecdise (%)	Amplitude de Variação	95 – 100	95 – 100	0
	Média	98,0 ^a	98,0 ^a	0 ^b
Eficácia (%)	-	-	0 ^a	100 ^b

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

4.2.2 Alterações morfológicas em larvas de *Rhipicephalus sanguineus*

O número de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron estão presentes na tabela 10.

Todas as larvas após se alimentarem nos coelhos tratados com fluazuron apresentaram tegumento friável, idiossoma abaulado e comportamento letárgico. Em nenhum grupo as larvas de *R. sanguineus* apresentaram teratogenia.

As larvas que eclodiram de todos os três grupos não apresentaram teratogenia.

Tabela 10. Número de larvas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* com alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron.

Parâmetros	Número de larvas ingurgitadas	
	Controle	FZN
Com alterações morfológicas	0	50
Sem alterações morfológicas	50	0
Total de larvas observadas	50	50
Qui-quadrado corrigido		96,04
Valor de p		< 0,05

4.3. Etapa Experimental IV - Ninfas de *Rhipicephalus. sanguineus* Alimentados em Coelhos Tratados com Fluazuron

4.3.1 Fase parasitária de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*

A porcentagem de recuperação e o período parasitário de ninfas de *R. sanguineus*, coletadas de coelhos infestados artificialmente com 200 ninfas cada, estão presentes na tabela 11.

O período parasitário de ambos os grupos não diferiram entre si. Os valores encontrados foram próximos ao encontrado por Bellato (1995), que observou uma média de 4,87 dias.

As médias do percentual de recuperação não apresentaram diferença significativa e foram inferiores à média encontrada por Bellato (1995) de 91,20%.

O benzoilfeniluréia fluazuron não interferiu na fase parasitária de ninfas, as ninfas se fixaram e se alimentaram normalmente nos coelhos.

Tabela 11. Período parasitário e percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, coletadas de coelhos infestados artificialmente com 200 ninfas cada.

Parâmetros	Medidas de Tendência Central	Grupos	
		Controle	FZN
Período Parasitário (dias)	Amplitude de Variação	5	5 – 6
	Média	5,0 ^a	5,6 ^a
Recuperação (%)	Amplitude de Variação	42 – 100	64 – 100
	Média	77,90 ^a	83,40 ^a

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

4.3.2 Fase não parasitária de ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*

Os dados referentes ao período e percentual de ecdise de ninfas e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de ninfas coletadas em coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase, podem ser observados na tabela 12.

O período de ecdise não diferiu estatisticamente entre os grupos tratado e controle. Sartor (1994) sob as mesmas condições de UR e temperatura relatou uma média de 3,27 dias, bem abaixo aos valores encontrados no presente estudo. A média obtida no controle foi similar à encontrada por Bellato (1995), que foi de 11,73 dias.

Os grupos controle e FZN apresentaram diferença estatística quanto ao percentual de ecdise, o FZN não interferiu na ecdise, de apenas 29,20% das ninfas, em média. realizaram ecdise O valor do percentual de ecdise observado no grupo controle, 96,80 foi ao encontro aos reportados por Sartor (1994) e Bellato (1995), que foram de 94,99 e 99,0%, respectivamente.

A eficácia do FZN na inibição do processo de muda de ninfa para adulto de *R. sanguineus* foi de 69,83%, indicando que este AGR impediu a ecdise de quase 70% das ninfas alimentadas em coelhos que receberam o tratamento.

Tabela 12. Período, percentual de ecdise e eficácia do fluazuron na inibição da ecdise de ninfas *Rhipicephalus sanguineus* coletadas em coelhos infestados artificialmente e mantidas a 27 °C e 80 ± 10% de UR e escotofase.

Parâmetros	Medidas de Tendência Central	Grupos	
		Controle	FZN
Período de ecdise (dias)	Amplitude de Variação	11 – 14	13 – 15
	Média	12,4 ^a	14,4 ^a
Ecdise (%)	Amplitude de Variação	91 – 99	21 – 49
	Média	96,80 ^a	29,20 ^b
Eficácia (%)	-	-	69,83

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 95%.

4.3.3 Alterações morfológicas em ninfas de *Rhipicephalus sanguineus*

O número de ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p” dos grupos controle e fluazuron podem ser observados na tabela 13.

As ninfas do grupo controle não apresentaram alterações morfológicas. Porém, pode-se observar que no grupo de ninfas alimentadas em coelhos tratados com FZN todas apresentavam tegumento friável, idiossoma abaulado e comportamento letárgico (figura 10), alguns espécimes que realizaram a ecdise apresentavam uma fina película aderida a nova cutícula, conferindo um aspecto acinzentado aos carrapatos. Fato que pode ser relacionado a ação do regulador de crescimento no processo da troca de cutículas. Em nenhum dos grupos houve teratogenia dos espécimes.

Tabela 13. Número de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos controle e tratado com fluazuron que sofreram alterações na sua morfologia após a alimentação em coelhos, assim como o qui-quadrado com correção de Yates e o valor de “p”.

Parâmetros	Número de ninfas ingurgitadas	
	Controle	FZN
Com alterações morfológicas	0	50
Sem alterações morfológicas	50	0
Total de ninfas observadas	50	50
Qui-quadrado corrigido	96,04	
Valor de p	< 0,05	



Figura 11. Ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* dos grupos tratado com fluazuron (F) e Controle (C), após alimentação em coelhos.

5 CONCLUSÕES

Depreendemos que o fluazuron empregado na dose de 10mg/kg de peso corporal em coelhos promoveu alterações morfológicas, biológicas e comportamentais em *R. sanguineus* que indicam a possibilidade de emprego deste AGR no controle desse carrapato, com a particularidade na redução da taxa de reinfestação.

Entretanto novos estudos necessitam ser realizados visando a eficácia do fluazuron no controle de *R. sanguineus* quando empregado em cães. O uso de coelhos foi um teste preliminar para indicar ou não a atividade do fluazuron sobre o carrapato *R. sanguineus*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AESCHLIMANN, A. Development embryonnaire d'*Ornithodoros moubata* (Murray) et transmission transovarriene de *Borrelia duttoni*. *Acta Tropica*, v.15, p.15-64. 1958.
- AESCHLIMANN, A.; HESS, E. What is our current knoweledge of acarine embryology? *Acarology VI*. Ellis Horwood, Chichester, p. 90-99, 1984.
- BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) – Vectors of diseases of man and animals. Nauka Publishers, Zoological Institute, Leningrad, USSR. p. 376. 1968.
- BAKER, T. C. *Chemical control of behaviour*, 1985. In: SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v. 76, p. 283 – 288, 1990.
- BECHARA, G. H.; SZABÓ, M. P. J.; FERREIRA, B. R.; GARCIA, M. V. *Rhipicephalus sanguineus* Tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.4, n.2, p.61-66, 1995.
- BELLATO, V. *Efeitos de diferentes temperaturas no desenvolvimento de Rhipicephalus sanguineus (LATREILLE, 1806) em condições de laboratório*. 59 p. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Seropédica: UFRRJ, 1995.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (acari: Ixodidae)*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 15 – 19, 1997.
- BICALHO, K.A.; FERREIRA, F.; BORGES, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B. *In vitro* evaluation of the effects of some acaricides on life stages of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 53, n. 5, p. 548 - 552, 2001.
- BOWMAN, D. D. *Georgis' Parasitology for veterinarians*. 8ª Edição. Elsevier Science (USA) – 422p., 2003.
- BUCZEK, A. Experimental teratogeny in the tick *Hyalomma marginatum marginatum* (Acari: Ixodida: Ixodidae): Effect of high humidity on embrionic development. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 37, n. 6, p. 807-814, 2000.
- BULL, M. S.; SWINDALE, S.; DOVEREND, D.; HESS, E. A. Supression of *Boophilus microplus* populations with fluazuron – an acarine growth regulator. *Australian Veterinary Journal*, v. 74, p. 468-470, 1996.
- CARVALHO, F. E. S. Efeito da umidade relativa na embriogênese de *Amblyomma cajennense*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Boophilus microplus* e *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 2005.
- CHEN, A. C.; Chitin metabolism. *Arch Insect Biochemistry Physiol*, v. 6, p. 267 – 277, 1987.

- CHRISTOFERS, S.R. *Piroplasma canis* and its life-cycle in the tick. *Scientific Memoers by the Officers of the Medical and Sanitary Departments of the Governemte of India.*, v. 29, p. 40 - 43. In: Nuttall, G.H.F. 1915. *Biology of Ixodidae. Parasitology*, v. 7, p.448- 456, 1907.
- CITRONI, D.; D'AGOSTINO, B. I.; MARTINS, S.; SCHMID, H. R.; JUNQUEIRA, P. Efficacy of fluazuron against infestations with Argentinean *B. microplus*, *17th International Conference of the WAAVP*, Copenhagen, p. 15 – 19, 1999.
- COELHO, C. F. *Biologia da fase não parasitária de Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) sob condições de laboratório: Aspectos da Oviposição*. 52 p. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 1993.
- COOP, R. L.; TAYLOR, M. A.; JACOBS, D. E. JACKSON, F. Ectoparasites: recent advances in control. *Trends in Parasitology*, v. 18, n.2, p.55-56, 2002.
- CUNHA, D. W. *Estudos da toxicidade de alguns carrapatos comumente encontrados no Brasil (Acariana: Ixodidae)*. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 1978.
- CORREIA, T. R. *Eficácia do Inibidor de Crescimento de Insetos Pyriproxifen Associado ao Piretróide D-phenotrina no Controle de Ctenocephalides felis felis (BOUCHÉ, 1835) (SIPHONAPTERA:Pulicidae) em Cães, Gatos e no Ambiente*. 52 p. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 2003.
- DA GLÓRIA, M.A. *Estudos preliminares para avaliação do uso de compostos reguladores de crescimento no controle de Boophilus microplus*. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 1988.
- DAVIS, R.M. Use of orally administered chitin inhibitor (lufenuron) to control flea vectors of plague on ground squirrels in California. *Journal of medical entomology*, v. 36, n.5, 1999.
- DIPEOLU, O.O. Studies on ticks of veterinary importance in Nigeria: X. Notes on the biology of ticks of dogs *Rhipicephalus sanguineus* and *Haemaphysalis leachi leachi*. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, v. 32, n. 1, 1984.
- DONAHUE, W. A.; TELL, P. D.; STREY, O.F.; MEOLA, R. W. Pyriproxifen Effects on Newly Engorged Larvae and Nymphs of the Lone Star Tick (Acari: Ixodidae) *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n.2, p.206-211, 1997.
- FAHMY, M. A. M., MANDUOUR, A. M. , ARAFA, M. S. Certain biological and ecological observations on *Rhipicephalus s. sanguineus* (Latreille, 1806) in Assiut Area, Upper Egypt. *Journal of Egypt Society of Parasitology*, v. 7, n. 1, p. 25 – 34, 1977.
- FELDMAN-MUHSAM, B. Laboratory colonies of *Rhipicephalus sanguineus*. *Bull World Health Organization*, v.31, p. 587 – 589, 1964..
- FERNANDES, J. I. *Eficácia do piretróide d-fenotrina e do fipronil no controle de Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) em cães*. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária Seropédica: UFRRJ, 2005.

FERNANDES, J. I.; CORREIA, T.R.; MELO, R.M.P.S.; VEROCAI, G. G.; CRUZ, V. P.; SCOTT, F. B.; RIBEIRO, F. A. Avaliação da eficácia *in vitro* do amitraz no controle de fêmeas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (ACARI: IXODIDAE). XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ribeirão Preto, SP. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14 supl. 1, p. 224, 2006.

FUJISAKI, C. K.; KITAOKA, S.; MORII, T. Comparative observations on some bionomics of Japanese ixodid ticks under laboratory cultural conditions. *National Institute of Animal Health Quarterly*, v. 16, p. 122 – 128, 1976.

GRAF, J.F. 1993. The role of insect growth regulators in arthropod control. *Parasitology Today*, v. 9, n. 12, p. 471-474, 1993.

HADANI, A.; CWILICH, R.; REHAV, Y.; DINUR, Y. Some methods for the breeding of ticks in the laboratory. *Hefuah Veterinary*, v.26, n. 3, p. 87 – 100, 1969.

HAFEZ, M.; BASSAL, T. M. The nutrition and ambient temperature effect on the oviposition ability of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Journal of Egypt Society of Parasitology*, v. 10, n. 2, p. 295 – 300, 1980.

HANSELL, M. *Ethology*, 1985. In: SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v. 76, p. 283 – 288, 1990.

HOOGSTALL, H. *African ixodoidea. V.1. Ticks of the Sudan (with special reference to Equatoria Province and with preliminary reviews of the genera Boophilus, Margaropus, and Hyalomma)*. Department of the Navy, Bureau of the Medicine and Surgery, Washington, D.C., 1956. 1101p.

INOKUMA, H.; TAMURA, K., ONISHI, T. Dogs develop resistance to *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology*, v. 68, p. 295 – 297, 1997.

JACOBS, D. E.; HUTCHINSON, M. J.; KRIEGER, K. J.; BARDT, D. A novel approach to flea control on cats, using pyriproxyfen. *The Veterinary Record*, v.139, p. 559-561, 1996.

JASKOSKI, B.J.; BUTLER, V.L. *Rhipicephalus sanguineus*: Amino Acid Composition of egg shell. *Experimental Parasitology*, v. 30, p. 400-406, 1971.

KAWADA, H.; HIRANO, M. Insecticidal Effects of the Insect Growth Regulators Methoprene and Pyriproxyfen on the Cat Flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n.5, p.819-822, 1996.

KEMP, D. H.; DUNSTER, S.; BINNINGTON, K. C. BIRD, P. E.; NOLAN, J. Mode of action of CGA 157419 on the cattle tick *Boophilus microplus*. *Bulletin de la Societe de France Parasitol*, v. 8, p. 1048, 1990.

KOCH, H. G.; TUCK, M. D. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. *Annual Entomology of the Society of America*, v. 79, n. 1, p. 11 – 14, 1986.

KRAMER, K. J.; DZIADIK-TUNER, C.; KOGA, D. *Chitin metabolism sect physiology, biochemistry and pharmacology, vol 3*. Pergamon, New York, 1985. p. 75 – 115.

KRYGER, U.; DESCHODT, C.; SCHOLTZ, C. H. Effects of fluazuron and ivermectin treatment of cattle on the structure of dung beetle communities. *Agriculture, ecosystems and environment*, v. 105, 2005.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapatos em cães no Brasil. *Revista Clínica Veterinária*, ano VI, n. 30, p. 24-32, 2001.

LANCASTER, J.L.; MCMILLAN, H.L. The effects of relative humidity on the lone star tick. *Journal of Economic Entomology*, v. 48, n. 3, p. 338-339, 1955.

LEES, A.D.; BEAMENT, J.W.L. An egg-waxing organ in ticks. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, v. 89, p. 291-333, 1948.

MACDONALD, J.M. 1995. Flea control: an overview of treatment concepts for North America. *Veterinary Dermatology*, v. 6 n. 3, p.121-130, 1995.

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

MAYNARD, L.; HOUFFSCHIMITT, P.; LEBREUX, B. Field efficacy of a 10 per cent pyriproxyfen spot-on for the prevention of flea infestations on cats. *Journal of Small Animal Practice*, v. 42, p.491-494, 2001.

MASSARD, C. L.; FONSECA, A. H. Carrapatos e doenças transmitidas, comuns ao homem e aos animais. *A Hora Veterinária*, v. 23, n. 37, p. 15-23, 2004.

MELO, R.M.P.S.; FERNANDES, J. I.; CORREIA, T.R.; RIBEIRO, F. A.; CRUZ, V. P.; SCOTT, F. B. Eficácia do etoxazole em coelhos no controle de *Rhipicephalus sanguineus*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.14 supl. 1 XIV Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e II Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ribeirão Preto, SP, p. 264, 2006.

MEOLA, R.; PULLEN, S. ; MEOLA, S. Toxicity and histopathology of the growth regulator pyriproxyfen to adults and eggs of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 33 n. 4, p.670-679, 1996.

MILLER, R. J.; GEORGE, J. E.; GUERRERO, F.; CARPENTER, L.; WELCH, J. B. Characterization of acaricide resistance in *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Acari: Ixodidae) collected from the Corozal army veterinary quarantine center Panama. *Journal of Medical Entomology*, v. 38, n. 2, p. 298 – 301, 2001.

NAGAR, S. K. On the significance of the duration of the preoviposition and oviposition periods in ixodid ticks. *Acarology*, v. 10, n. 4, p. 621 – 629, 1968.

NASSAR, M. S.; HAMMAD, S. M.; EL KOUDARY, A. S. the biology of the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*. *Bulletin Societe de la Entomologiqued' Egypte*, p. 55, p. 409 – 418, 1971.

NEITZ, W.O. D.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H. S. laboratory Investigations on the life cycle of Karoo paralysis ticks (*Ixodes rubicundus* Neummam, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215 – 224, 1971.

NUTTALL, G.H.F.. Biology of Ixodidae. *Parasitology*, v.7, p.448- 456, 1915.

PALMA, K. C.; MEOLA, S. M.; MEOLA, R. W. Mode of Action of Pyriproxyfen and Methoprene on Eggs of *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, v.30, n.2, p.421-426, 1993.

PAUL, C. F.; KAPOOR, D.; PERTI, S. L. studies on the life-history and development of ticks. *Labdev Journal of Science.and Technology*, v. 8, n. 2, p. 80 – 83, 1970.

RETNAKARAN, A.; GRANETT, J.; ENNIS, T. J. *Insect growth regulators*, 1985. In: SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v.76, p. 283 – 288, 1990.

RODRIGUES, A. F. S. E.; DAEMON, E.; D'AGOSTINO, M. Investigação sobre alguns ectoparasitos em cães de rua no município de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 1, p. 13 – 19, 2001.

SALEH, R. S.; EL-GAYAR, F.; SHAZLI, A. Biological studies on *Rhipicephalus sanguineus sanguineus* Latr. Alex. *Journal of Agriculture Research*, v. 26, n.3, p. 653 – 657, 1978.

SANT'ANNA, F.B.; TORRES, F. O.; MARTINS, I. V. F.; CORREIA, T. R.; FERNANDES, J. I.; FREITAS, I. F.; SCOTT, F. B.; GRISI, L. Eficácia do piretróide sint tico alfametrina no controle de *Rhipicephalus sanguineus* em cães. *Parasitolog a Latinoamericana*, v.57, p.30-33, 2002.

SANTOS-SILVA, M. M.; FILIPE, A. R. Ciclos biológicos de ixodídeos (Ixodoidea: Ixodidae) em condi es de laboratório. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, v.93, n.527, p.143-148, 1998.

SANTOS, A.C.G. *Efeito dos diferentes teores de Umidade Relativa sob condi es controladas de laboratório na fase de vida livre de Boophilus microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)*. 56p. 1999. Tese (doutorado em Parasitologia Veterinária) – Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1999.

SARDEY, M. R.; RAO, S. R. Observations on the life-history and bionomics os *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) under different temperatures and humidites. *Indian Journal of Animal Science*, v. 43, n. 9, p. 867 – 869, 1973.

SARTOR, A.A. *Aspectos da biologia de Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) (Acarina: Ixodidae) em condições de laboratório*. 80 p. Tese de Doutorado em Medicina Veterinária, Parasitologia Veterinária, Seropédica: UFRRJ, 1994.

SARTOR, A.A.; CUNHA, D. W. A.; DAEMON, E. Aspectos da biologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acarina: Ixodidae) em condições de laboratório: fase parasitária de larvas, ninfas e fêmeas e não parasitária de larvas e ninfas. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v.18, n. 1, p. 14 – 17, 1996.

SCOTT, F. B.; MARTINS, I. V. F.; SOUZA, C. P.; CORREIA, T. R. Aspectos gerais do controle da pulga *Ctenocephalides felis felis* em cães. *A Hora Veterinária*, ano 21, n. 125, p.13-18, 2002.

SLOWIK, T. J.; LANE, R. S.; DAVIS, R. M. Field trial of systemically delivered arthropod development inhibitor (fluazuron) used to control woodrat fleas (Siphonaptera: Ceratophyllidae) and ticks (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v.38, n.1, 2000.

SPINDLER, K.D. Chitin: its synthesis and degradation in arthropods, 1983. In: SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v.76, p. 283 – 288, 1990.

SPINDLER-BARTH, M.; SPINDLER, K.D. Antiecdysteroids and receptors, 1987. In: SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v.76, p. 283 – 288, 1990.

SPINDLER, K.D.; SPINDLER-BARTH, M.; LONDERSHAUSEN, M. Chitin metabolism: a target for drugs against parasites. *Parasitology Research*, v.76, p. 283 – 288, 1990.

SONENSHINE, D.E.; TIGNER, J. Oviposition and hatching in two species of ticks in relation to moisture deficit. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 62, n.3, p. 628-640, 1969.

SONENSHINE, D.E. *Biology of ticks*. Vol. I. Oxford University Press, New York. p. 447, 1991.

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

STANNECK, D.; LARSEN, K. S.; MENCKE, N. Pyriproxyfen concentration in the coat of cats and dogs after topical treatment with a 1.0% w/v spot-on formulation. *Journal of Veterinarian Pharmacology and Therapeutics*, v.26, p.233-235, 2003.

TAYLOR, M. Recent developments in ectoparasiticidas. *The Veterinary Journal* v. 161, p.253-268, 2001.

TEEL, P. D.; DONAHUE, W. A.; STREY, O.F.; MEOLA, R. W. Effects of Pyriproxyfen on Engorged Females and Newly Oviposited Eggs of the Lone Star Tick (Acari: Ixodidae) *Journal of Medical Entomology*, v.33, n.5, p.721-725, 1996.

TRAVASSOS, J.; VALLEJO-FREIRE. A criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo de vacina contra febre maculosa. *Memórias do Instituto Butantan*, v. 18, p. 145 – 245, 1944.

ZENNER, L.; DREVON-GAILLOT, E.; MARCY-L'ÉTOILE. Combate químico e controle dos carrapatos em cães e gatos. *A Hora Veterinária*, Ano 23, n. 137, p. 63-65, 2004.

WOOLLEY ,T.A. *Acarology. Mites and Human Welfare*. John Wiley, New York. p. 484, 1988.

ANEXOS

Anexo A. Dados da literatura sobre os parâmetros biológicos da fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* alimentados em coelhos. Valores dos períodos expressos em dias.

Autor	Ano	Temperatura/U.R.	Larvas		Ninfas		Fêmeas		Ovos / Larvas			
			P.P.E.	P.E.	(%) Ecdise	P.P.E.	P.E.	(%) Ecdise	P.P.P.	P.P.	P.I.	(%) Ecdise
Christophers	1907	-	-	8 - 9	-	15	-	-	-	-	-	-
Nuttall	1915	-	-	9	-	-	-	-	-	-	-	-
Feldmam-Muhsam	1964	-	-	8,80	87,2	-	-	-	-	-	-	-
Srivastava; Varma	1964	25°C/80%	-	12,90	-	17,70	70,00	-	-	-	-	-
Srivastava; Varma	1964	29°C/80%	-	7,80	-	11,70	70,00	-	-	-	-	-
Nagar	1968	25 ± 5°C/80%	-	-	-	-	-	2 - 5	11 - 19	-	-	-
Hadani et al.	1969	28°C/80%	-	11	-	14 - 18	-	-	-	-	-	-
Nassar et al.	1971	28,3°C/68,2%	-	5,87	-	14,50	-	-	-	-	-	-
Paul et al.	1971	27 ± 1°C/70 ± 5%	2,30	5,20	-	4,10 - 12,50	-	-	-	-	-	-
Sardey; Rao	1973	28 - 32°C/78 - 82%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fujisaki et al.	1976	25°C/100%	-	14,0	-	11 - 14	-	-	-	-	-	-
Mahadev	1977	25 - 30°C/90 - 100%	-	10 - 13	-	10 - 17	-	-	-	-	-	-
Sartor	1994	27 ± 1°C/80 ± 10%	8,30	2,30	93,36	13,90	3,27	94,99	-	-	-	-
Bellato	1995	27 ± 1°C/80 ± 10%	-	7 - 10	80 - 100	-	11 - 13	80 - 100	2 - 4	9 - 18	18 - 20	99,00
Sartor	1996	27 ± 1°C/80%	8,40	2,40	92,07	13,80	2,40	97,04	-	-	-	-
Santos - Silva; Felipe	1998	24°C/80 - 85%	-	10 - 11	-	-	12	-	4	8 - 10	-	-

P.P.E. = Período de pré-muda ou pré ecdise; P.E. = Período de muda ou ecdise; P.P.P. = Período de pré-postura; P.P. = Período de postura; P.I. = Período de incubação.

Anexo B. Dados da literatura sobre os parâmetros biológicos da fase parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* alimentados em coelhos. Valores dos períodos expressos em dias.

Autor	Ano	Temperatura/U.R. Manutenção dos Hospedeiros	Larvas			Ninfas			Fêmeas			
			P.P.A.	P.A.	(%) Rec.	P.P.A.	P.A.	(%) Rec.	P.P.A.	P.A.	(%) Rec.	Peso (mg)
Christophers	1907	-	-	3 - 4	-	-	-	-	-	-	-	-
Nuttall	1915	-	-	9	-	-	5	-	-	-	-	-
Feldman-	1964	-	-	5 - 6	-	-	5 - 6	-	-	-	-	-
Muhsam												
Srivastava;	1964	Ambiente	-	2 - 6	-	-	4 - 10	-	-	-	-	-
Varma												
Hadani et al.	1969	28°C/80%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nassar et al.	1971	28,3°C/68,2%	-	4,30	-	-	4,70	-	-	-	-	-
Paul et al.	1971	27 ± 1°C/70 ± 5%	1,10	3,80	-	2,80	5,30	-	-	-	-	119,00
Sardev; Rao	1973	28 - 32°C/78 - 82%	-	2 - 7	-	-	4,90	-	-	-	-	-
Fujisaki et al.	1976	Junho, julho e agosto	-	4 - 6	-	-	5 - 6	-	-	-	-	-
Mahadev	1977	-	1 - 2	3 - 7	-	1 - 2	4 - 5	-	-	-	-	-
Cunha	1978	Ambiente	-	2 - 7	-	-	4,80	-	-	-	-	-
Saleh et al.	1978	29 ± 1°C	-	2	-	-	3	-	-	-	-	-
Sartor	1994	27 ± 1°C/80 ± 10%	-	3,56	-	-	4,67	-	-	-	-	166,02
Bellato	1995	27 ± 1°C/80 ± 10%	-	3 - 8	-	-	4 - 8	-	-	-	-	67,40 -
												156,0
Sartor	1996	27 ± 1°C/80%	-	3,70	-	-	5,20	-	-	-	-	166,02
Santos - Silva;	1998	24°C/80 - 85%	24	4 - 5	-	5	6 - 8	-	-	-	-	-
Felipe												

Anexo C. Definição e fórmulas dos parâmetros biológicos analisados de larvas, de ninfas e de adultos sob a temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e U.R. de $80 \pm 10\%$ e do ciclo parasitário desenvolvido em coelhos, realizados para os grupos controle e tratado.

Eficácia na inibição da ecdise (EIE) = (média de carrapatos que realizaram ecdise no grupo controle - média de carrapatos que realizaram ecdise no grupo tratado) / (média de carrapatos que realizaram ecdise no grupo controle) X 100

Eficiência Reprodutiva (ER) = peso da massa de ovos X % de eclosão / peso das teleóginas X 20.000).

Eficácia do produto = (ER do grupo controle – ER do grupo tratado / ER do grupo controle) X 100.

Índice de Eficiência Reprodutiva = Peso das massas de ovos / Peso das fêmeas ingurgitadas X 100.

Período parasitário – compreendido desde a infestação até o desprendimento e coleta dos instares ingurgitados.

Período de pré-oviposição - compreendido desde a coleta da fêmea ingurgitada até o início da oviposição.

Período de oviposição - compreendido desde a postura do primeiro até o último ovo.

Período de incubação - compreendido desde o início da postura até o início da eclosão.

Período de eclosão - compreendido entre o surgimento da primeira e da última larva.

Período parasitário - desde a infestação até o desprendimento e coleta dos instares ingurgitados.

Percentual de recuperação - total de instares ingurgitados coletados em relação ao total de indivíduos utilizados nas infestações.

Período de muda - da coleta do instar ingurgitado até o surgimento do próximo instar.

Percentual de ecdise - total de instares que sofreram ecdise em relação ao total recuperado da fase parasitária.

Percentual de eclosão – percentual estimado de larvas eclodidas em relação ao total de ovos postos.