

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

TESE

DINÂMICA DO PARASITISMO E CICLO BIOLÓGICO DE *Amblyomma rotundatum* KOCH 1844 (ACARI: IXODIDAE) PARASITANDO *Rhinella schneideri* (WERNER, 1894) (BUFONIDAE: ANURA) NO BRASIL

Hermes Ribeiro Luz

2014



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

DINÂMICA DO PARASITISMO E CICLO BIOLÓGICO DE *Amblyomma rotundatum* KOCH 1844 (ACARI: IXODIDAE) PARASITANDO *Rhinella schneideri* (WERNER, 1894) (BUFONIDAE: ANURA) NO BRASIL

Hermes Ribeiro Luz

Sob a Orientação do Professor
Dr. João Luiz Horacio Faccini

Co - orientação
Dr. Hélio Ricardo da Silva

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

Seropédica, RJ
Maio de 2014

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

HERMES RIBEIRO LUZ

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

TESE APROVADA EM 31/03/2014

João Luiz Horacio Faccini. PhD. UFRRJ
(Orientador)

Kátia Maria Famadas. PhD. UFRRJ

Erik Daemon de Souza Pinto. PhD. UFJF

Carlos Wilson Gomes Lopes. PhD. LD UFRRJ

Márcia Cristina de Azevedo Prata. Dra. Embrapa, Juiz de Fora, MG.

DEDICATÓRIA

Dedico esta obra

Aos meus pais José Otonilio Luz e Aldeci Luz, irmãos Robson Luz e Rogério Luz, Irmã Isabel Luz.

Às cunhada(o)s Vera Luz e Ludmila Luz, Glaucimar Oliveira pelas maravilhosas descontrações.

Em especial ao meu pai que me fez acreditar, durante seus 20 anos de político, na existência de governantes de bom caráter. Tenho orgulho extremo por ti, além de te amar incondicionalmente. À minha mãe que, com gestos simples, me ensinou a escutar e respeitar o próximo.

Aos meus avós queridos, Marcelo Antunes, Enedilia Antunes, Arlindo Dias e Maria Dias.

Ao amigo Arthur Santiago Junior (Secretário Administrativo do DPA) por ter sido preciso e sempre solícito para o sucesso da presente tese. À dedicação, agradeço!

A Neuza de Fátima Conradi pelo amor, carinho e confiança. Amo você minha querida! Também agradeço ao Diego Conradi e Aline Conradi pelo apoio e boas risadas.

A Deus!!!

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. João Luiz Horacio Faccini pela orientação, amizade incontestável e, pelos ensinamentos e paciência. Acima de tudo, um segundo pai.

Ao Professor Dr. Marcelo Bahia Labruna pelos incentivos e ensinamentos.

Ao Dr. Hélio Ricardo da Silva pela co-orientação e ensinamentos.

Aos professores Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes, Dr. Ildemar Ferreira, Dr. Carlos Luiz Massard, Dra. Darci Moraes Barros Battesti, Dra. Katia Maria Famadas, Dr. Hércio Resende Borba, Dra. Valéria Castilho Onófrio, Dra. Ana Claudia Brasil, Dr. Roberto de Xerez, Dr. Valter Flausino, Dr. Bruno Pereira Berto, pelos valiosos incentivos e ensinamentos.

Aos amigos do Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias Gabriel Alves Landulfo, Marcos Sandes Pires, Isis Daniele Alves Costa, Janio Santos Sampaio, Wendel Marcelo de Souza Perinotto, Caio Márcio de Oliveira Monteiro, Gideão da Silva Galvão por estarem ao meu lado tornando as coletas super divertidas.

A todos os funcionários da Estação Ecológica de Pirapitinga (ESEC), Minas Gerais.

Aos funcionários do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Votorantim, Instituto Brasileiro do Meio Ambiente (IBAMA) pelo apoio logístico.

À todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

Meu muito obrigado!

RESUMO

LUZ, Hermes Ribeiro. **Dinâmica do parasitismo e ciclo biológico de *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 parasitando *Rhinella schneideri* (Werner 1894) no Brasil.** 2014. 64p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

Com o objetivo de acrescentar dados sobre a dinâmica do parasitismo por *Amblyomma rotundatum* em anuros no Brasil, três estudos foram conduzidos. O primeiro abordou o parasitismo por carrapatos em sapos *Rhinella schneideri* coletados em duas áreas de caráter insular (Estação Ecológica de Pirapitinga e Ilha do Boi) situadas no reservatório de Três Marias, Minas Gerais. Esse estudo teve como objetivos identificar a fauna de carrapatos e as relações abióticas envolvidas no parasitismo por esses ectoparasitas em *R. schneideri*. No segundo experimento, dois espécimes de *R. schneideri* parasitados por quatro fêmeas ingurgitadas, identificadas posteriormente como *A. rotundatum*, foram trazidos para o laboratório de ixodologia da UFRRJ e a partir desses procurou-se avaliar os parâmetros biológicos do ixodídeo *A. rotundatum*, bem como, uma distribuição dos registros desse ectoparasita no Brasil. No terceiro, foi feito um modelo preditivo de distribuição de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. No primeiro estudo todos os carrapatos foram identificados como pertencentes à espécie *A. rotundatum*. Foram examinados 120 espécimes de *R. schneideri*, onde destes, 63 indivíduos (52,5%) estavam parasitados por *A. rotundatum* nos estágios de larva (n=96), ninfa (n=163) e adulto (n=134). As fêmeas ingurgitadas, 62 de 134 (46,3%), foram coletadas no período de dezembro a abril que corresponde a estação chuvosa. A ESEC apresentou os maiores índices de sapos parasitados (n=48) e de prevalência (60%), diferenciando dos mesmos índices registrados para ilha do boi (37,5%) (p<0,0001). Observamos uma possível sincronização dos estágios de larva, ninfa e adultos com as estações de seca e chuva. Larvas e ninfas foram frequentes entre os meses de junho e agosto (estação seca) e adultos nos meses de dezembro a abril (estação chuvosa). Durante os estudos na Estação Ecológica de Pirapitinga foram coletados dois espécimes de *R. schneideri* parasitados por duas teleóginas cada espécime. Esses hospedeiros foram trazidos para laboratório de ixodologia da UFRRJ onde se iniciou o estudo dos parâmetros biológicos e comportamentais de *A. rotundatum*. Períodos de desenvolvimento de estágios de vida livre foram avaliados em uma incubadora a 27 ± 1 °C, [80% UR e escotofase]. O ciclo de vida total durou 126-228 dias. Carrapatos adultos apresentaram períodos mais longos de pré-fixação, alimentação e muda. Oviposição durou cerca de 20 dias, com picos ocorrendo no quarto e quinto dia. Lesões causadas pela alimentação do carrapato são discutidas e uma lista de hospedeiros, incluindo novos registros de hospedeiros para *A. rotundatum*, é oferecido. Foram utilizadas ferramentas de modelagem preditiva para estimar áreas com maior adequabilidade ambiental para a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. O modelo foi considerado válido, de acordo com as métricas de avaliação de desempenho: AUC = 0,97; TSS = 0,7; especificidade = 0,9; acurácia = 0,9. Apesar de o modelo apresentar TSS<0,75, o modelo foi considerado satisfatório devido aos excelentes resultados das demais métricas de validação. A sazonalidade de temperatura (45,7% de contribuição), a altitude (22,4%) e a sazonalidade de precipitação (15,9%) foram as variáveis mais importantes na determinação da distribuição potencial de *A. rotundatum*.

Palavras-chave: carrapatos, anuros, *Amblyomma rotundatum*, modelagem, temperatura.

ABSTRACT

LUZ, Hermes Ribeiro. **Dynamics of parasitism and biological cycle of *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 parasitizing *Rhinella schneideri* (Werner 1894) in the Brazil.** 2014. 64p. Thesis (Doctor in Veterinary Science, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

With the aim to add data on the dynamics of parasitism by *Amblyomma rotundatum* in anurans in the Brazil, three studies were conducted. The first approached the parasitism by ticks in *Rhinella schneideri* toads collected in two areas of insular character (Ecological Station Pirapitinga and Island Boi) located in the Três Marias Reservoir, Minas Gerais. That study aimed to identify the fauna of ticks and abiotic relations involved in the parasitism by these ectoparasites in *R. schneideri*. In the second experiment, two specimens of *R. schneideri* parasitized by four engorged females, identified as *A. rotundatum*, were brought to the laboratory ixodologia UFRRJ and from these it was sought to evaluate the biological parameters of ticks *A. rotundatum* as well, a distribution of records that ectoparasites in the Brazil. In the third, he was made a predictive model for the distribution of *A. rotundatum* in the state of Rio de Janeiro. In the first study, all ticks were identified as belonging to the species *A. rotundatum*. Were examined 120 specimens of *R. schneideri* where of these, 63 individuals (52.5%) were parasitized by *A. rotundatum* in the stages of larvae (n = 96), nymph (n = 163) and adult (n = 134). The engorged females, 62 of 134 (46.3%) were collected in the period from December to April which corresponds to the rainy season. The ESEC presented the highest indices of parasitized toads (n = 48) and prevalence (60%), differentiating of the same indices recorded for the Boi Island (37.5%) (p <0.0001). A possible synchronization of stages of larva, nymph and adults with dry and rainy seasons was observed. Larvae and nymphs were common between the months of June and August (dry season) and adults in the months from December to April (rainy season). During studies in the Ecological Station Pirapitinga two specimens of *R. schneideri* parasitized by two engorged females each specimen were collected. These hosts were brought into the laboratory ixodologia UFRRJ where was initiated the study of biological and behavioral parameters *A. rotundatum*. Periods of development of free-living stages were evaluated in an incubator at $27 \pm 1^\circ \text{C}$, [80% RH and scotophase]. The total life cycle it lasted 126-228 days. Adult ticks exhibited longest periods of pre-fixation, feeding and moulting. Oviposition it lasted about 20 days, with peaks occurring in the fourth and fifth day. Lesions caused by feeding of the tick are discussed and a list of hosts, including new host records for *A. rotundatum*. Were used predictive modeling tools for estimating areas with greater environmental suitability for the occurrence of *A. rotundatum* in the state of Rio de Janeiro. Were used Predictive modeling tools for estimating areas with greater environmental suitability for the occurrence of *A. rotundatum* in the state of Rio de Janeiro. O model was considered valid, according to the evaluation metrics of performance: AUC = 0.97; TSS = 0.7; specificity = 0.9; accuracy = 0.9. Although the present model TSS <0.75, the model was considered satisfactory due to the excellent results of the other metrics validation. The seasonality of temperature (45.7% contribution), elevation (22.4%) and seasonality of precipitation (15.9%) were the variables most important in determining the potential distribution of *A. rotundatum*.

Key words: ticks, anurans, *Amblyomma rotundatum*, modeling, temperature.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Mapa de localização mostrando as duas áreas de estudo no Rio São Francisco, município de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. 1) Estação Meteorológica CEMIG; 2) município de Três Marias; 3) Barragem da Represa; 4) Ilha do Boi; 5) ESEC, MG, Brasil. .12
- Figura 2:** Alguns fatores abióticos avaliados no período de Janeiro a Dezembro de 2009, na região de Três Marias, MG..... 14
- Figura 3:** Variação de estádios capturados em *Rhinella schneideri* no cerrado, na região de Três Marias Minas Gerais. 15
- Figura 4:** Lesões causadas por uma fêmea de *Amblyomma rotundatum* após desprendimento. (A)= lesão após desprendimento da fêmea em fase final de ingurgitamento; (B)= detalhe da lesão e sangramento após desprendimento; (C)= fêmea de *Amblyomma rotundatum*, não ingurgitada, durante repasto sanguíneo; (D)= lesão após desprendimento do carrapato e (E)= processo de cicatrização da lesão. 17
- Figura 5:** Infestação por *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri*: fêmeas alimentando na região ventral (A) em infestação natural e lesão causada após alimentação de uma fêmea na região lateral do corpo (B) em infestação experimental. 18
- Figura 6:** Ninfa ingurgitada de *Amblyomma rotundatum* encontrada no mesmo sítio após examinarmos indivíduos de *Rhinella schneideri* no mesmo micro ambiente. (A) = seta indicando uma ninfa ingurgitada no solo e (B) = seta indicando espécimes de *Rhinella schneideri* em repouso diurno sob as madeiras retiradas. 18
- Figura 7:** Esquema do método utilizado para contenção de *Rhinella schneideri* durante o estudo de ciclo biológico de *Amblyomma rotundatum*.....28
- Figura 8:** Oviposição de fêmeas de *A. rotundatum* mantidas a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{RH} > 80\%$ e escotofase.....31
- Figura 9:** Peso de fêmeas ingurgitadas X massa de ovos de *A. rotundatum* mantido a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{RH} > 80\%$ e escotofase. ($r = 0,9004$ e $p = 0,0038$). 31
- Figura 10:** Longevidade de larva, ninfa e fêmea de *A. rotundatum* mantidos a $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, $\text{RH} > 80\%$ e escotofase. 32
- Figura 11:** Acompanhamento fotográfico do desprendimento de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella cucifer*. 33
- Figura 12:** Pontos de *Amblyomma rotundatum* parasitando os sapos *Rhinella crucifer*, *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* no estado do RJ, utilizados na modelagem preditiva.....39
- Figura 13:** Pontos de *Amblyomma rotundatum* parasitando Anfíbios e Répteis, utilizados na modelagem preditiva.40

Figura 14: Mapa preditivo da distribuição de *Amblyomma rotundatum* no estado do Rio de Janeiro, Brasil.42

Figura 15: Mapa de temperatura mínima e distribuição preditiva de *Amblyomma rotundatum* para o estado do Rio de Janeiro, Brasil.43

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Número de sapos examinados, número de sapos parasitados, prevalência de infestação (PI%), Intensidade Média do Parasitismo (IMP), número de carrapatos (LL=larva, NN=ninfa e AA=adulto) em *Rhinella schneideri*, na região de Três Marias Minas Gerais. ... 16
- Tabela 2:** Carrapatos capturados, pelo método de arrasto, na ESEC, Minas Gerais, Brasil. .. 19
- Tabela 3:** Relação entre os valores totais do parasitismo por *A. rotundatum* em *R. schneideri* e as estações de seca e de chuvosa, Três Marias, Minas Gerais, Brasil, observados no período de maio a abril: LL=larva, NN=ninfa, AA=adulto, NCAP= número de carrapatos, PAR= número de sapos parasitados, EXA= número de sapos examinados, FemING= fêmeas ingurgitadas. Números na linha meses referem-se aos meses de maio (05) a abril (04). 20
- Tabela 4:** Parâmetros do ciclo de vida de *A. rotundatum* mantidas a 27 ± 1 °C e RH > 80 % em escotofase após infestação experimental em *R. schneideri*. 30
- Tabela 5:** Registros de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella* spp (Bufonidae) no Brasil; estágio dos carrapatos: L = larva, N = ninfa, A = adulto, X = estágio desconhecido; estado: GO = Goiás; MG = Minas Gerais; PR = Paraná; PA = Pará; PE = Pernambuco; RJ = Rio de Janeiro; RO=Rondônia; SC=Santa Catarina; SP=São Paulo. 32
- Tabela 6.** Pontos reais da presença de *Amblyomma rotundatum* parasitando anfíbios e répteis em diferentes localidades do Brasil utilizados na elaboração do mapa preditivo do presente estudo..... 44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 A Ordem Anura	3
2.2 Hospedeiros	3
2.3 Parasitismo por carrapatos em sapos. Ocorrência e distribuição.....	4
3. CAPÍTULO I	8
DINÂMICA DO PARASITISMO POR <i>Amblyomma rotundatum</i> Koch, 1844 (ACARI:IXODIDAE) EM SAPOS <i>Rhinella schneideri</i> (Werner, 1894) (ANURA: BUFONIDAE) EM UMA ÁREA DE CERRADO, MG, BRASIL.....	8
3.1 RESUMO.....	9
3.2 ABSTRACT	10
3.3 REVISÃO DA LITERATURA	11
3.2 MATERIAL E MÉTODOS	12
3.2.1 Área de estudo	12
3.2.2 Coleta e identificação dos carrapatos	13
3.2.3 Captura dos hospedeiros.....	13
3.2.4 Dados climatológicos	13
3.2.5 Estatística.....	14
4.1 Parasitismo	15
4.3 Possíveis influências de fatores climáticos.....	19
5 DISCUSSÃO	21
5.1 Parasitismo	21
5.2 Possíveis influências de fatores climáticos.....	22
6 CAPITULO II.....	23
CICLO BIOLÓGICO E COMPORTAMENTO DE <i>Amblyomma rotundatum</i> Koch, 1844 (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO	23
6.1 RESUMO.....	24
6.2 ABSTRACT	25
6.3 REVISÃO DA LITERATURA	26
6.4 MATERIAL E MÉTODOS	27
6.4.1 Área de estudo	27

6.4.2 Análises estatística.....	28
6.5 RESULTADOS	29
6.6 DISCUSSÃO	34
7 CAPITULO III	35
7.1 RESUMO.....	36
7.2 ABSTRACT	37
7.3 REVISÃO DE LITERATURA.....	38
7.4 MATERIAIS E MÉTODOS	39
7.5 RESULTADOS	42
7.6 DISCUSSÃO	45
8 CONCLUSÕES.....	47
9. ANEXOS	48
9.1 ANEXO 1	49
9.2 ANEXO 3	50
9.3 ANEXO 5	51
9.4 ANEXO 6	52
10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é privilegiado por sua biodiversidade, sendo a maior em todo mundo, englobando grandes grupos de plantas e animais. Os diversos ecossistemas, variedade de espécies e espécies endêmicas são componentes importantes desta biodiversidade. Com uma extensão territorial de cerca de 8,5 milhões de quilômetros quadrados, o Brasil apresenta enorme variação geomorfológica e climática, abrigando sete biomas, 49 ecorregiões e um número significativo de ecossistemas (IBAMA 2007). A flora e a fauna brasileira é a mais rica do mundo, com 56.000 espécies de plantas superiores, mais de 3.000 espécies de peixes de água doce, 946 espécies de anfíbios (SBH, 2012), 1.800 espécies de aves (CBRO, 2011) e 701 espécies de mamíferos (PAGLIA et al., 2012). Contudo, tanto a fauna quanto a flora, desempenham papéis importantes dentro de um ecossistema, sendo primordial para o equilíbrio entre milhares de espécies existentes e o meio abiótico. É seguro mencionar que cada um dos componentes existentes em um ecossistema possui um papel importante para mantê-lo estruturado e em harmonia. Desta forma, é sensato presumir que todas as espécies são indispensáveis nesse complexo sistema, onde a extinção de qualquer uma delas pode alterar toda a dinâmica, levando a perdas irreparáveis.

Nos últimos anos, essa rica biodiversidade vem sofrendo perdas crescentes em sua fauna e flora por causa das atividades antrópicas. A produção agropecuária e ocupação imobiliária são os principais responsáveis pela destruição de habitats, principalmente na Mata Atlântica e Cerrado. Estes dois biomas brasileiros estão, hoje, na lista dos “Hotspots” de biodiversidade, que são conjuntos de ecorregiões prioritárias para conservação em nível mundial (MYERS et al., 2000).

Os processos degradatórios resultantes da ação antrópica à natureza, pode resultar em consequências desastrosas à vida humana e silvestre em todo mundo. É sabido, que as mudanças citadas, principalmente na agropecuária, foram responsáveis na proximidade de populações humanas às áreas naturais, aumentando o contato entre trabalhadores e seus animais domésticos com diversas espécies de animais silvestres. Este contato tornou-se o principal fator na difusão de agentes infecciosos e parasitários para hospedeiros e ambientes silvestres, expandindo novas relações ecológicas na complexa cadeia de transmissão das doenças (CORRÊA & PASSOS, 2001). Alterações no ambiente, resultante de eventos naturais ou gerado pela ação antrópica, podem alterar a estabilidade ecológica e, consequentemente, a ocorrência de agentes patogênicos em seus hospedeiros silvestres e vetores.

Nos últimos anos, tem-se intensificado inúmeros estudos sobre as relações do parasitismo em animais silvestres. Estes animais podem albergar inúmeras populações de ectoparasitas e endoparasitas que são responsáveis, muitas vezes, por causar paralisia através de suas toxinas, lesões no tecido, anemia através da ingestão de grandes quantidades de sangue e transmissão de diversos agentes patogênicos, principalmente protozoários, bactérias e vírus, acarretando infecções tanto para vida silvestre quanto para o homem. Pesquisas para o entendimento das relações ecológicas entre os parasitas e seus hospedeiros são de suma importância para conservação destes animais, já que, inúmeros estudos consignam que os parasitos podem atuar no controle populacional dos hospedeiros e estruturando as comunidades de vertebrados e invertebrados (WINDSOR, 1995). A transmissão de agentes patogênicos para animais silvestres e seus vetores, pode ser uma ameaça para os programas de manejo e recuperação de espécies ameaçadas, com a ocorrência de inúmeros casos de óbitos (HOLMES, 1996). Inúmeros estudos destacam os efeitos do parasitismo na fisiologia e comportamento dos seus hospedeiros, bem como, efeitos diretos no processo reprodutivo e na

sobrevivência dos mesmos. Esses processos podem afetar a biodiversidade, interferindo nos diferentes processos da intrincada rede ecológica. Cabe salientar que, para um parasito causar morbidade ou mortalidade, vários fatores ambientais operam em conjunto com o estado nutricional, a imunocompetência e as condições fisiológicas do hospedeiro (BUSH et al., 2001).

Os parasitos são classificados em endoparasitas e ectoparasitas, em função de sua localização no interior ou na superfície do corpo dos hospedeiros, tendo como representantes os vírus, bactérias, protozoários, fungos, helmintos e artrópodes (GUIMARÃES et al., 2001). Dentre os grupos citados, os artrópodes possuem grande apelo para saúde pública por sua capacidade transmitir agentes infecciosos para o homem e para os animais. Os mosquitos e os carrapatos são os principais vetores de agentes patogênicos dentro dos artrópodes, sendo os carrapatos o grupo mais importante na transmissão para animais domésticos, porém, secundários para humanos.

Os carrapatos são ectoparasitas classificados na sub-classe Acari que vivem em ambientes variados, parasitando anfíbios, répteis, aves e mamíferos. No Brasil, existe uma ampla gama de estudos envolvendo a relação parasito-hospedeiro em aves e mamíferos, no entanto, em animais de sangue frio (anfíbios e répteis) os estudos ainda são muito escassos com relatos esporádicos, não mencionando fatores que possam estar atuando no parasitismo. Em répteis o parasitismo é mais comum na ordem Squamata com destaque para as famílias Boidae Gray, 1825 e Iguanidae Gray, 1827 (LABRUNA, 2002; BRUM et al., 2003; FREITAS et al., 2004; DANTAS-TORRES et al., 2005; LABRUNA, 2005a; PONTES, 2009; GUGLIELMONE; NAVA, 2010; LOPES et al., 2010; RODRIGUES et al., 2010; VIANA et al., 2012). Já em anfíbios, os registros são ainda mais limitados, sendo as famílias Leptodactylidae Werner, 1896 e Bufonidae Gray, 1825 as únicas com relatos em associação com carrapatos no Brasil. Os sapos (Bufonidae) são corriqueiramente parasitados por carrapatos em todos seus estágios (larva, ninfa e adulto), porém, pouco se sabe sobre as relações ecológicas e fisiológicas atuantes nesta associação. A maioria dos estudos existentes, relatando o parasitismo por carrapatos em sapos no Brasil, não relaciona os diferentes parâmetros parasitários (número de hospedeiros examinados, número de hospedeiros parasitados, total de carrapatos, prevalência, intensidade média do parasitismo etc.) e variáveis ecológicas (comportamento do hospedeiro, época do parasitismo, espaço temporal do parasitismo, tipo de habitat onde ocorreu o parasitismo).

Os poucos registros do parasitismo por carrapatos em sapos no Brasil se concentram na região sul, sudeste e nordeste do país, principalmente em áreas de Mata Atlântica (SANTOS et al., 2002; WOHEL, 2002; ANTONUCCI et al., 2011; LUZ & FACINNI, 2010). No bioma cerrado, esta modalidade ainda é mais rara, destacando-se apenas o registro de Szabó et al. (2007) durante levantamento de carrapatos em fase não parasitária.

Diante dessas considerações, a presente tese teve como objetivos acrescentar dados novos sobre a relação *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 e algumas espécies de bufonídeos no Brasil.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A Ordem Anura

A ordem Anura (sapos, rãs e pererecas) é a única, dentre os anfíbios, com registros da associação com carrapatos, sendo a família Bufonidae Gray, 1825, representada no continente sul americano pelo gênero *Rhinella* Fitzinger, 1826 (= *Bufo* Laurenti, 1768, *Chaunus* Wagler, 1828), a que possui maior número de registros de associação com carrapatos. Informações sobre a relação parasito-hospedeiro em anuros no Brasil são escassas, sendo a grande maioria das publicações restritas a notificações isoladas de ocorrência com um número reduzido de hospedeiros e carrapatos. Muitos destes relatos se concentram nas regiões sul e sudeste, com raros registros para as demais regiões.

2.2 Hospedeiros

Os anfíbios se definem como animais que, durante a fase larvária, tem vida aquática (com brânquias e nadadeiras) e uma vez adulto, passam a viver em terra, perdendo por metamorfose as brânquias e nadadeiras, e desenvolvendo pulmões e pernas. Possuem respiração cutânea para compensar a respiração pulmonar precária. Reproduzem-se na água por fecundação externa, sendo ovíparos. A classe Amphibia é composta pelas ordens Anura (sapos, pererecas e rãs), Caudata (salamandras) e Gymnophiona (cobras-cegas) (GOMES, 2006; AMPHIBIAWEB, 2012). Quase todas as espécies dependem de ambientes úmidos e habitats de água doce para sobreviver e reproduzir. A maior diversidade de anfíbios se encontra nas florestas tropicais, enquanto nas regiões temperadas e áridas as populações desses animais são reduzidas. Não existe anfíbios em ambientes marinhos (AMPHIBIAWEB, 2012; SBH, 2012).

Os anfíbios são sensíveis a perturbações do ambiente e, portanto, indicadores da qualidade de um determinado habitat. Mais de 6.000 espécies são conhecidas pela ciência, das quais 168 são consideradas extintas e pelo menos 2.469 (41%) espécies estão em declínio da população (AMPHIBIAWEB, 2012; SBH, 2012). Quase um terço das espécies de anfíbios do mundo estão ameaçadas, representando 1.896 (32%) espécies. Em comparação, apenas 12% de todas as espécies de aves e 23% de todas as espécies de mamíferos estão ameaçadas. (AMPHIBIAWEB, 2012; SBH, 2012).

Várias pesquisas foram iniciadas para explicar porque as populações mundiais de anfíbios estão desaparecendo e constatou-se que flutuações naturais das populações, mudanças climáticas, aumento da incidência de raios ultravioletas, poluição das águas, contaminação por pesticidas, espécies invasoras, comércio ilegal de animais silvestres e infecções por fungos quitrídeos são algumas das causas que podem estar levando à extermínio da anurofauna (SILVANO, 2005). Embora a perda de habitat claramente represente a maior ameaça para os anfíbios, uma das causas mais ameaçadoras é o fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* (Longcore, Pessier, Nichols 1999), descrito em 1998 por pesquisadores australianos como um fungo letal para anuros (SILVANO, 2005; FONSECA, 2008; GOMES, 2006).

Dentre os anfíbios registrados em todo mundo, a família Bufonidae Gray, 1825 se destaca em sua representatividade sendo constituída por 46 gêneros e 528 espécies (AMPHIBIAWEB, 2012; SBH, 2012). Este grupo distribui-se pelas regiões tropicais e

temperadas com exceção de Madagascar e Oceania (AMPHIBIAWEB, 2012; SBH, 2012). No Brasil, segundo a Sociedade Brasileira de Herpetologia (2012) foram registradas 946 espécies de anfíbios com 913 pertencentes a ordem Anura, um a ordem Caudata e 32 a ordem Gymnophiona. No Brasil, família Bufonidae é composta por 69 espécies, sendo 35 pertencentes ao gênero *Rhinella* (SBH, 2012).

Nos últimos anos houve uma intensa discussão entre os estudiosos para compreender a imensa diversidade, bem como os aspectos filogenéticos dos anfíbios. No caso específico do gênero *Bufo*, utilizado até recentemente, para maioria das espécies da família Bufonidae em todo mundo, Frost et al. (2006), Pramuk (2006) e Chaparro et al. (2007) levantaram hipóteses da existência de um monofiletismo dentro da família Bufonidae da América do Sul. Assim, para as espécies do gênero *Bufo* sul-americanos, estavam disponíveis os gêneros *Chaunus* Wagler, 1828 e *Rhinella* Fitzinger, 1826. Frost et al. (2006) propuseram o gênero *Chaunus*, porém com algumas ressalvas no entendimento das relações entre as espécies sul-americanas. Posteriormente, Chaparro et al. (2007) propuseram o gênero *Rhinella*, proposta aceita atualmente para as espécies dos sapos sul-americanos.

2.3 Parasitismo por carrapatos em sapos. Ocorrência e distribuição

Os artrópodes representam uma grande ameaça à saúde pública e dos animais, pois além de causarem diversos efeitos deletérios no organismo do hospedeiro, que vão desde a lesão cutânea, à anemia ocasionada por uma infestação maciça, espoliação em seus hospedeiros, transmitem inúmeros patógenos de caráter enzoótico e zoonótico (BARROS-BATTESTI et al., 2006). Dentre os variados grupos dos artrópodes estão os carrapatos, que se alimentam de sangue, linfa e restos teciduais e representam um grupo de grande importância como vetores de doenças infecciosas por utilizarem diversos hospedeiros e possuírem ampla distribuição geográfica (LABRUNA et al., 2011).

Os carrapatos possuem especificidade variável pelos hospedeiros. Algumas espécies só se alimentam em determinados grupos de hospedeiros, enquanto outros são menos seletivos. Em geral, os estágios imaturos das espécies que realizam ciclos em dois ou mais hospedeiros, alimentam-se em animais de pequeno porte, enquanto adultos tem preferência por animais de médio e grande porte (FACCINI & BARROS-BATTESTI, 2006).

Em anuros já foram registrados inúmeros agentes patogênicos: bactérias, fungos, protozoários, helmintos e artrópodes. Neste último grupo, encontram-se os carrapatos pertencentes aos gêneros *Amblyomma* e *Ornithodoros*, sendo o primeiro mais comum em associação com estes vertebrados (SCHUMAKER & BARROS, 1994; BARROS-BATTESTI, 2006; LUZ & FACCINI, 2010).

No Brasil existe apenas um relato do parasitismo por argasídeos, *Ornithodoros* sp., em anuros da espécie *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) (Leptodactylidae), que vivem próximo a cachoeiras, ou seja, áreas muito úmidas e com água corrente, no Estado do Rio de Janeiro (BARROS-BATTESTI, 2011), sendo este o primeiro registro em toda região neotropical. O segundo relato de uma espécie de *Ornithodoros* em anuros, foi publicado por Rivas et al. (2012) em *Rhinella arenarum* (Hensel, 1867) da Argentina.

O gênero *Amblyomma* é representado no Brasil por 30 espécies válidas parasitando mamíferos, aves, répteis e anfíbios (DANTAS-TORRES, 2009). Contudo, apesar do grande número de espécies de carrapatos descritos, apenas seis foram registradas parasitando anuros do gênero *Rhinella*: *Amblyomma dissimile* Koch 1844 e *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 ,

as espécies mais comuns, e *Amblyomma fuscum* Neumann 1907, *Amblyomma goeldii* Neumann 1899, *Amblyomma humerale* Koch 1844 e *Amblyomma cajennense* Fabricius 1787 (WELLS et al., 1981; PETIT et al., 1990; BARROS-BATTESTI et al., 2006; SZABÓ et al., 2007; DANTAS-TORRES et al., 2009; GUGLIELMONE & NAVA, 2010). O registro de *A. cajennense* pode ser considerado como totalmente acidental, já que a espécie nunca mais foi assinalada em sapos após a citação de Robinson (1926). *A. cajennense*, apesar de sua baixa especificidade, é um carrapato exclusivo de animais de sangue quente como mamíferos e aves, incluindo o homem. Estudos mais amplos e detalhados são necessários para se conhecer com exatidão a importância de anuros como hospedeiros de *A. fuscum*, *A. goeldii* e *A. humerale*.

O carrapato *Amblyomma dissimile* é uma espécie muito próxima a *A. rotundatum*, tanto morfológica quanto na distribuição geográfica. Segundo Jones et al. (1972) e Barros-Battesti et al. (2006), *A. dissimile* possui registros parasitando uma gama de hospedeiros heterotérmicos e homeotérmicos, no entanto, a maioria dos registros se concentra em animais de sangue frio, principalmente répteis (LEVINE et al., 1980; BRUM & RICKES, 2003; FREITAS et al., 2004; BARROS-BATTESTI et al., 2006; DANTAS-TORRES et al., 2008; CARRASCAL et al., 2009; GUGLIELMONE & NAVA, 2010). Segundo Guimarães et al. (2001), a espécie é comum em répteis do Panamá, parasitando mais de 84% dos lagartos e iguanas, 60% dos ofídios e 72% dos sapos. Em anuros esta espécie de carrapato possui 64 registros naquele país, porém poucos são os registros no Brasil: em *Rhinella* sp. (ARAGÃO, 1912) e *Rhinella marina* (Linnaeus 1758) (ROBINSON, 1926; SCHUMAKER & BARROS, 1994). Este carrapato possui ampla distribuição sendo encontrada em diversos países das Américas do Norte, Central e do Sul. No Brasil foi encontrado em inúmeros estados como no Acre, Amazonas, Pará, Roraima, Pernambuco, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e São Paulo (SCHUMAKER & BARROS, 1994; BARROS-BATTESTI et al., 2006; ONOFRIO, 2007).

O carrapato *Amblyomma rotundatum*, como já mencionado, é muito semelhante à espécie anterior. Parasitam especificamente animais de exotérmico frio e foi descrito pela primeira vez, por Koch em 1844, a partir de uma única fêmea coletada no estado do Pará, Brasil (ROBINSON, 1926). Este carrapato é comum em sapos do gênero *Rhinella* sp. e em inúmeras espécies de répteis em condições naturais (GUGLIELMONE & NAVA, 2010), com alguns relatos em mamíferos (LABRUNA et al., 2005a; GUGLIELMONE & NAVA, 2010). Porém, Aragão (1912) considerou estes eventos como ocasionais, sendo que nenhuma tentativa em alimentar esta espécie de carrapato em laboratório, utilizando animais homeotérmicos como hospedeiros teve sucesso. Reproduz-se por partenogênese, embora haja três relatos de adultos machos (KEIRANS & OLIVER, 1993; LABRUNA et al., 2005b; MARTINS et al. 2014). Há um registro de hiperparasitismo, onde uma fêmea não ingurgitada foi registrada fixa no ventre de uma fêmea ingurgitada (LABRUNA et al., 2007).

A ocorrência de *A. rotundatum* é bastante conhecida para várias espécies de bufonídeos (FACCINI et al., 1999; ONOFRIO et al., 2002; GUGLIELMONE & NAVA, 2010; LUZ & FACCINI, 2010). Guglielmon & Nava (2010) citam os seguintes hospedeiros: *Anaxyrus terrestris* (Bonnaterre, 1789), *Peltophryne peltoccephala* Tschudi, 1838, *Rhinella* sp., *R. arenarum*, *Rhinella granulosa* (Wied-Neuwied, 1821), *Rhinella icterica* (Spix, 1824), *R. marina*, *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) e *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821). O registro de *A. rotundatum* em *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821), citado por Guglielmon & Nava (2010), não será discutido neste estudo por ser um registro duvidoso. Em relação as espécies do gênero *Rhinella*, as ocorrências registradas para o Brasil são as seguintes: *Rhinella* sp. (JONES et al., 1972; LABRUNA et al., 1997; BARBIERI et al., 2000; ONOFRIO et al., 2002; LABRUNA et al., 2004; LABRUNA et al., 2005); *R. granulosa* (ONOFRIO et al., 2002; SANTOS et al., 2002); *R. schneideri* (SANTOS et al., 2002; SZABÓ

et al., 2007; LUZ & FACCINI 2010, ANTONUCCI et al., 2012); *R. icterica* (ONOFRIO et al., 2002; WOEHL, 2002; LUQUE et al., 2005); *R. marina* (ARAGÃO, 1936; OBA & SCHUMAKER, 1983; PETIT et al., 1990; FIGUEIREDO, 1999; LAMPO et al., 1997; ONOFRIO et al., 2002; AHID et al., 2009) e *R. jimi* (DANTAS-TORRES et al., 2010). Essas citações resumem-se a simples registros de ocorrência com alguns autores incluindo dados sobre prevalência e intensidade de infestação, porém em amostras reduzidas de hospedeiros.

O carrapato *A. rotundatum* distribui-se dos Estados Unidos à Argentina (KEIRANS & OLIVER, 1993; BARBIERI et al., 2000; EVANS et al., 2000; GUIMARÃES et al., 2001; ONOFRIO et al., 2002; ARZUA et al., 2005; LABRUNA et al., 2005a; PAREDES-LEÓN et al., 2008; AHID et al., 2009;). Nos EUA esta espécie foi introduzida acidentalmente no sul da Flórida parasitando *R. marina* que foi transportada para esta região no combate às populações de moscas que se formavam nas plantações de cana de açúcar (OLIVER et al., 1993). No Brasil, sua distribuição é bastante ampla indo do estado do Amazonas até o Rio Grande do Sul (ARAGÃO, 1912; ARAGÃO, 1936; WELLS et al., 1981; PETIT et al., 1990; LABRUNA et al., 1997; EVANS et al., 2000; GUERRA et al., 2000; GUIMARÃES et al., 2001; ARZUA et al., 2005; BARROS-BATTESTI et al., 2006).

2.4 Ciclo Biológico

As espécies *A. rotundatum* e *A. dissimile* apresentam três estágios no desenvolvimento de seu ciclo biológico, larva, ninfa e adulto, sendo que todos são ativos e dependem do repasto sanguíneo para desempenho pleno de suas funções biológicas. Nas espécies em questão, conhecidos como carrapatos de três hospedeiros, cada estágio tem uma fase de vida livre e uma parasitária (FACCINI & BARROS-BATTESTI, 2006). Entre os carrapatos, citados na presente revisão, apenas *Ornithodoros* sp. (BARROS-BATTESTI et al., 2011) e *A. fuscum* (MARTINS et al., 2010) não possuem, até o momento, a descrição de seu ciclo biológico. Para *A. dissimile*, o único artigo que apresenta maiores detalhes sobre o ciclo biológico é o de Schumaker & Barros (1994), embora partes do ciclo tenham sido publicado por Dunn (1918) em *Boa imperator* Daudin, 1803, *Oxybelis fulgidus* Daudin, 1803, e *Epicrates cenchria* Linnaeus, 1758, Brodtkin (1918) em *Iguana iguana* Linnaeus, 1758 e Freitas et al. (2004) em *Tropidurus torquatus* (Wied, 1820).

No entanto, estudos sobre o ciclo biológico de *A. rotundatum* são escassos, quando existentes, são incompletos.

2.5 Agentes Infeciosos

2.5.1 Agentes infecciosos em anuros

Nas últimas décadas, vários artigos foram publicados sobre agentes infecciosos com o intuito de aprimorar o conhecimento das doenças e das causas de mortalidade em animais silvestres e sua importância para a conservação da fauna, transmissão de agentes patogênicos para os animais de produção e de companhia e as zoonoses.

Os anuros vivem em habitats terrestres e aquáticos, sendo estes expostos a diversos vetores hematófagos. Este comportamento leva esses anfíbios a ocuparem uma posição ideal para serem infectados/parasitados por vírus, bactérias, protozoários, leveduras e nematóides (DESSER, 2001). Entre os hemoparasitas descritos em anuros, já foram relatados protozoários do gênero *Trypanosoma*, e do grupo das hemogregarinas *Hepatozoon*

(Hepatozoidae) e *Haemogregarina* (Haemogregarinidae) (SOUZA, 1974). Inúmeros estudos registram que o parasitismo por *Hepatozoon* é comum em rãs (Ranidae) e sapos (Bufonidae) no mundo todo (SMITH, 1996).

Existem diversos grupos de ectoparasitas de anfíbios atuando como vetores de agentes infecciosos: sanguessugas (*Batrachobdella picta* Verrill) transmitindo tripanossomas, formas observadas em *Rana clamitans* Latreille, 1801, *Rana catesbeiana* Shaw, 1802 e *Rana setentrionalis* (Baird, 1854), *Hyla crucifer* Wied-Neuwied, 1838, *R. americanus* LeConte, 1825, *R. sylvatica* LeConte, 1825 e *Plethodon cinereus* Green, 1818 (BARTA & DESSER, 1984). Mosquitos do gênero *Phlebotomus* na transmissão de tripanossomas em rãs na China (FENG & CHAO, 1943) e o carrapato *A. rotundatum* transmitindo *Hemolivia* e *Hepatozoon* (PETIT et al., 1990, LAINSON et al., 2007).

2.5.2 Agentes infecciosos em carrapatos associados a anuros

Dentre as espécies de carrapatos, citadas anteriormente parasitando anuros brasileiros, quatro tem registros na literatura como vetor de pelo menos um tipo de agente infeccioso, a espécie *A. rotundatum* é comumente registrada sendo infectada por hemogregarinas. As hemogregarinas são parasitas sanguíneos pertencentes às subordens Adeleina e Eimeriina do filo Apicomplexa, sendo os principais gêneros deste grupo, *Hepatozoon* (Hepatozoidae) e *Haemogregarina* (Haemogregarinidae) (LEVINE et al., 1980). Já a espécie *A. dissimile* é provavelmente o vetor de *Hepatozoon fusifex* (BALL et al., 1969) para *Boa constrictor* Linnaeus, 1758. Além dos protozoários, há relatos também da infecção por *Rickettsia belli* em ambos vetores *A. rotundatum* e *A. humerale* (LABRUNA et al., 2011).

2.6 Patologia

O aparelho bucal do carrapato penetra profundamente na pele do hospedeiro, permanecendo fixado através do hipostômio e pela solidificação da secreção salivar. Ao provocar a laceração dos tecidos e vasos sanguíneos, o carrapato ingere sangue e outros líquidos tissulares dos hospedeiros. No processo de alimentação, os carrapatos causam: ação traumática, ação mecânica, espoliação direta e ação tóxica.

Os carrapatos parasitas de répteis e anuros são conhecidos por produzir lesões na pele (ARAGÃO, 1936) e por afetar o sistema retículo-endotelial de seus hospedeiros e inocular toxinas (JAKOWSKA, 1972). Lesões causadas por carrapatos em sapos são citadas em raros trabalhos na literatura. No trabalho de Zug & Zug (1979), com *R. marina*, o autor menciona lesões no corpo dos sapos após os carrapatos se desprenderem.

As lesões observadas em sapos naturalmente infestados podem levar diretamente para o estabelecimento de doenças infecciosas através dos hospedeiros debilitados ou permitindo o crescimento de patógenos na área dos ferimentos, podendo interferir na regulação das populações de sapos (SMITH, 1996). Altas infestações por carrapatos em anuros podem diminuir a resistência imune desses animais acometidos, podendo levá-los a óbito (ARAGÃO, 1936; OBA & SCHUMAKER, 1983; ANTONUCCI et al., 2012). Contudo, estudos envolvendo a transmissão de agentes patogênicos e os tipos de danos físicos causados pelos carrapatos em sapos são raros no Brasil e precisam ser aprofundados para um melhor conhecimento dessa etapa da relação parasito-hospedeiro.

3. CAPÍTULO I

**DINÂMICA DO PARASITISMO POR *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844
(ACARI:IXODIDAE) EM SAPOS *Rhinella schneideri* (Werner, 1894)
(ANURA: BUFONIDAE) EM UMA ÁREA DE CERRADO, MG, BRASIL.**

3.1 RESUMO

Foram amostradas populações de *Rhinella schneideri* de duas áreas diferentes situadas no Rio São Francisco: Estação Ecológica de Pirapitinga and Ilha do Boi município de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. Foram capturados 120 sapos, dos quais, 63 indivíduos (52,5%) estavam parasitados por carrapatos identificados como *Amblyomma rotundatum* (n= 393) em todos os estágios: larva (n=96), ninfa (n=163) e adulto (n=134). O maior número de sapos parasitados (n=48) e a maior prevalência (60%) foi na Estação Ecológica de Pirapitinga, diferenciando dos valores registrados para Ilha do Boi (37,5%) ($p<0,0001$), no entanto, o maior valor de Intensidade Média do Parasitismo foi para Ilha do Boi (12,1). Os estágios de larva e ninfa apresentaram picos entre os meses de junho e agosto (estação seca). Infestações por carrapatos adultos ocorreram principalmente nos meses de dezembro a abril (estação chuvosa), apresentando uma possível sincronização com precipitação pluvial. Foram também de dezembro a abril os maiores índices de número de sapos examinados, número de sapos parasitados e prevalência. Adicionalmente, foram coletados 369 carrapatos nos estágios de larva (n=68), ninfa (n=46) e adulto (n=255) através da metodologia de arrasto de flanela. As espécies capturadas foram *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma parvum*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma coelebs*. Duas ninfas ingurgitadas de *A. rotundatum* foram observadas no mesmo micro ambiente onde dois sapos mantinham repouso no período diurno. Esses dados sugerem um comportamento semelhante ao observado para espécies nidícolas de argasídeos.

3.2 ABSTRACT

We sampled populations *Rhinella schneideri* in two different areas located in the São Francisco River: Ecological Station and Pirapitinga (ESEC) and Boi Island municipality of Três Marias, Minas Gerais, Brazil. We caught 120 toads, of which 63 subjects (52.5%) were parasitized by ticks identified as *Amblyomma rotundatum* (n = 393) in all stages: larva (n = 96), nymph (n = 163) and adult (n = 134). The largest number of infested toads (n = 48) and the highest prevalence rate (60%) was in the Pirapitinga Ecological Station, differing from the values recorded for Cattle Island (37.5%) ($p < 0.0001$), however, the greatest value of mean intensity of infestation was recorded in the Cattle Island (12.1). The larval and nymphal stages showed peaks between June and August (dry season). Adult ticks infestations occurred primarily in the months from December to April (rainy season), showing a possible synchronization with rainfall. The highest number of toads examined, number of parasitized toads and prevalence was also from december to april. Additionally, we collected 369 free ticks as larvae (n = 68), nymphs (n = 46) and adults (n = 255) by drag sampling . The collected species were *Amblyomma cajennense*, *Ablyomma parvum*, *Amblyomma dubitatum*, *Amblyomma ovale* and *Amblyomma coelebs*. Two engorged nymphs of *A. rotundatum* were observed in the same microenvironment of two toads resting places. These data suggest a behavior similar to that observed for nidicoles argasids.

3.3 REVISÃO DA LITERATURA

Nos últimos anos o Cerrado vem sofrendo perdas crescentes em sua fauna e flora, devido, principalmente, às atividades antrópicas (MYERS et al., 2000). Alterações no ambiente, resultante de eventos naturais ou gerado pela ação antrópica, são responsáveis por alterar a estabilidade ecológica e, conseqüentemente, a ocorrência de parasitas e agentes patogênicos em animais silvestres e domésticos (CORRÊA & PASSOS, 2001). Em sapos, os carrapatos são ectoparasitas responsáveis por causar lesões, hemorragias e, por transmitir patógenos para estes hospedeiros (ARAGÃO, 1936; JAKOWSKA, 1972; ZUG & ZUG, 1977; OBA, 1983-1984; SMITH, 1996).

O carrapato comumente registrado parasitando sapos brasileiros é *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844. No entanto, a grande maioria das publicações refere-se a citações de ocorrência com alguns autores incluindo dados sobre prevalência (PI) e intensidade de infestação (IMP), porém em amostras reduzidas de hospedeiros (LUQUE et al., 2005; SZABÓ et al., 2007; DANTAS-TORRES, 2008; ANTONUCCI et al., 2012). Excetuam-se desse contexto, os trabalhos de Woehl (2002) que registrou PI de 19,2% e IMP de 7,4 ao examinar 125 exemplares de *Rhinella icterica* (Spix, 1824) infestados por *A. rotundatum* em Corupá, Santa Catarina e Ahid et al. (2009) que registraram PI de 4,95 % e IMP de 2,8 em 101 sapos da espécie *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758), também parasitados por *A. rotundatum*, no Rio Grande do Norte.

No caso específico de *Rhinella schneideri* (Werner, 1894), Santos et al. (2002) encontraram PI de 61,64% ao estudar o parasitismo por *A. rotundatum* em 73 exemplares de *R. schneideri* em São Lourenço da Mata, PE. Além desse artigo, a literatura registra as seguintes citações de ocorrência sem informações adicionais sobre a dinâmica do parasitismo: Argentina (IVANCOVICH, 1973; SMITH et al., 2008) e Brasil (ANTONUCCI, 2011).

Ambas as espécies, *R. schneideri* e *A. rotundatum*, possuem ampla distribuição pelo Brasil. A primeira possui uma distribuição desde o sul do Espírito Santo, São Paulo e norte do Estado do Paraná (BALDISSERA Jr. et al., 2004) e a segunda distribui-se do Amazonas até o Rio Grande do Sul (ONOFRIO et al., 2002; WOEHL, 2002; LUQUE et al., 2005; BARROS-BATTESTI et al., 2006; LABRUNA et al., 2005a; GUGLIELMONE & NAVA, 2010; LUZ & FACCINI, 2010; ANTONUCCI et al., 2012).

Embora, a literatura pertinente registre alguns agentes patogênicos transmitidos por *A. rotundatum*, para sapos (LEVINE et al., 1980; PETIT, et al., 1990, LAINSON et al., 2007), não encontramos nenhum registro sobre esse tópico, envolvendo *R. schneideri*.

Este é o primeiro estudo detalhado sobre a dinâmica do parasitismo e possível influência de fatores abióticos na relação parasito-hospedeiro entre estas duas espécies.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado em duas áreas localizadas no Rio São Francisco, dentro do Reservatório da Usina Hidrelétrica do município de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. Área 1 – conhecida como ESEC (Estação Ecológica de Pirapitinga) possui as seguintes coordenadas geográficas: $18^{\circ} 20' 15''$ S e $45^{\circ} 17' 34''$ W. Sua superfície é de aproximadamente de 4 a 5 km, dominada pela vegetação de Cerrado e Cerradão. Área 2 – conhecida como Ilha do Boi, possui as seguintes coordenadas geográficas: $18^{\circ} 18'$ S e $45^{\circ} 16'$ W. Sua superfície é de aproximadamente de 1 a 2 km, também coberta pela vegetação de cerrado, porém, com intensa ação antrópica (Figura 1). As duas áreas são totalmente isoladas pelo rio São Francisco, que na região possui largura de aproximadamente 2,5Km.

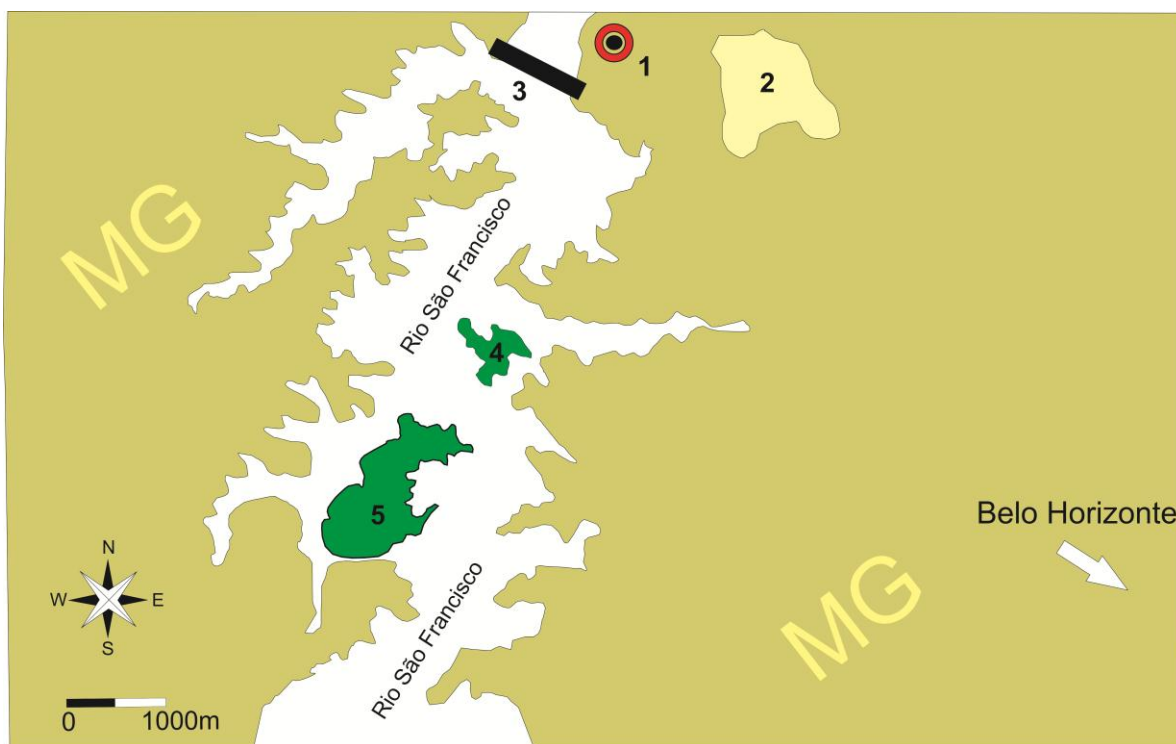


Figura 1: Mapa de localização mostrando as duas áreas de estudo no Rio São Francisco, município de Três Marias, Minas Gerais, Brasil. 1) Estação Meteorológica CEMIG; 2) município de Três Marias; 3) Barragem da Represa; 4) Ilha do Boi; 5) ESEC, MG, Brasil.

3.2.2 Coleta e identificação dos carrapatos

Todos os carrapatos encontrados em seus diferentes estágios (larvas, ninfas e fêmeas) foram removidos dos sapos. Em adição, utilizou-se a metodologia de arrasto de flanela na tentativa de coletar as fases de vida livre dos três estágios mencionado acima. Todos os carrapatos coletados foram armazenados em frascos de vidro contendo álcool 70% para posterior identificação. Os sapos capturados eram sempre devolvidos a natureza no intuito de impedir qualquer tipo de impacto na população de anuros. O hospedeiro foi identificado de acordo com Lema; Martins (2011). Para a identificação dos carrapatos adultos, utilizamos os critérios morfológicos da chave dicotômica em Barros-Battesti et al. (2006). Os estágios imaturos (larvas e ninfas) foram identificados de acordo com Keirans & Durden (1998), Amorim & Serra-Freire (1999) e Martins et al. (2010).

3.2.3 Captura dos hospedeiros

Para captura dos anuros foram utilizados dois métodos de amostragem listados a seguir. 1- amostragem com armadilhas de queda com cerca guia (pitfall traps), utilizando-se baldes de plástico de 40 litros enterrados no solo, para captura. O “pitfall” foi disposto linearmente no interior das ilhas, conectados a cada 10m por uma cerca-guia de lona plástica preta (30cm de altura), com a extremidade inferior enterrada no solo. Os pitfalls foram vistoriados das 09:00 e 12:00h, totalizando 48 visitas ao campo. 2- busca ativa e captura manual. A procura dos anuros consistiu em caminhadas pela borda das ilhas e em todos os microhabitats acessíveis. A captura manual e observações visuais dos anuros ocorreram entre 18:00 e 23:00 horas. As expedições ocorreram mensalmente, com quatro dias de coleta para cada expedição, no período de janeiro a dezembro de 2009. O hospedeiro foi identificado de acordo com Lema & Martins (2011). Para os deslocamentos entre as ilhas foram utilizados barcos do IBAMA/ICMBio. Projeto desenvolvido com a autorização do IBAMA, processo no. 21304-1/2010.

3.2.4 Dados climatológicos

Os dados climáticos utilizados, tais como densidade de água no solo (DAS) e precipitação são referentes ao posto Meteorológico da Companhia Energética de Minas Gerais (CEMIG) localizada no Município de Três Marias, Minas Gerais (Figura 2), distando 15Km do local das coletas. A classificação das estações estação seca (maio a setembro) e chuvosa (outubro a abril), foram baseadas na publicação da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (publicação: junho,2012. <http://www.cpac.embrapa.br/unidade/ocerrado/>).

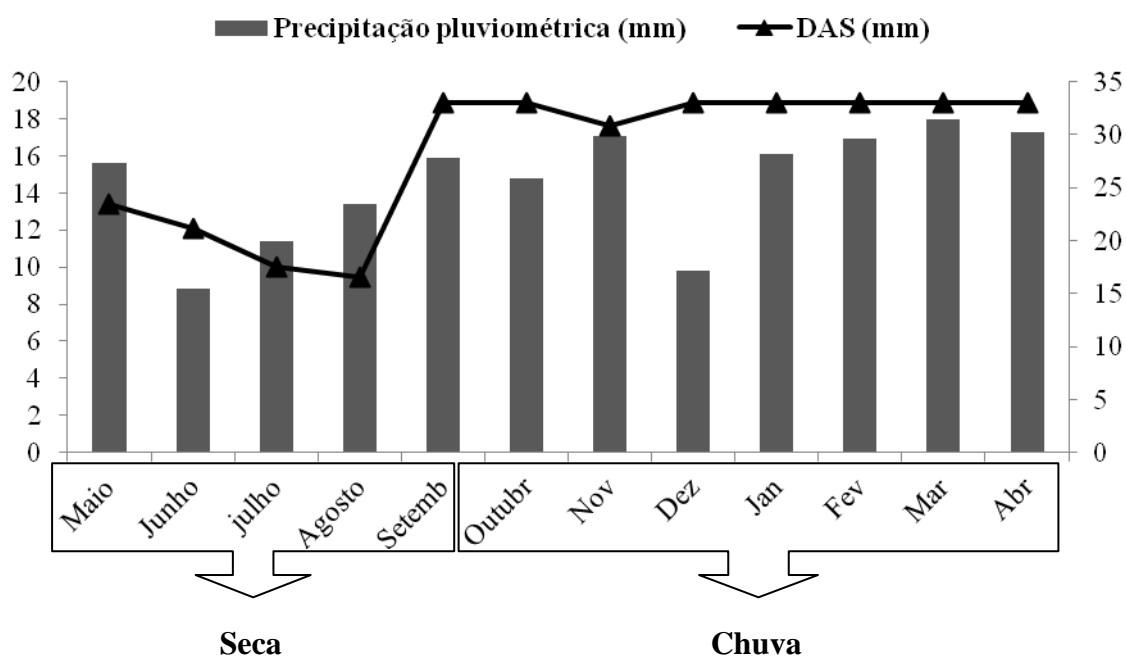


Figura 2: Alguns fatores abióticos avaliados no período de Janeiro a Dezembro de 2009, na região de Três Marias, MG.

3.2.5 Estatística

Para analisar as possíveis diferenças nos valores da prevalência de infestação (PI), intensidade média no parasitismo (IMP) e abundância (AB) entre os dois locais estudados, utilizamos, respectivamente, o teste do Qui quadrado e o teste de Mann-Whitney. O teste de Qui quadrado também foi utilizado para avaliar as diferenças entre as estações seca e chuvosa. Para as análises foi utilizado o programa Biostat 5.0, desenvolvido por Ayres et al. (2003). Todas as análises estatísticas foram realizadas em um nível de significância de 5%. Projeto desenvolvido com a autorização do IBAMA, processo no. 21304-1/2010.

A dispersão dos carrapatos entre os hospedeiros foi avaliada pelo quociente variância/abundância média do parasitismo, através do programa Quantitative Parasitology 3.0 (Rózsa et al., 2000).

4 RESULTADOS

4.1 Parasitismo

No total, foram capturados e examinados 120 sapos, dos quais 63 (52,5%) estavam parasitados por *A. rotundatum*. Foram coletados 393 carrapatos nos estágios de larva (n= 96 / 24,4%), ninfa (n=163 / 41,5%) e fêmeas (n= 134 / 34,1%) nas duas estações. A abundância variou de um a 52 carrapatos por sapo parasitado (Figura 3).

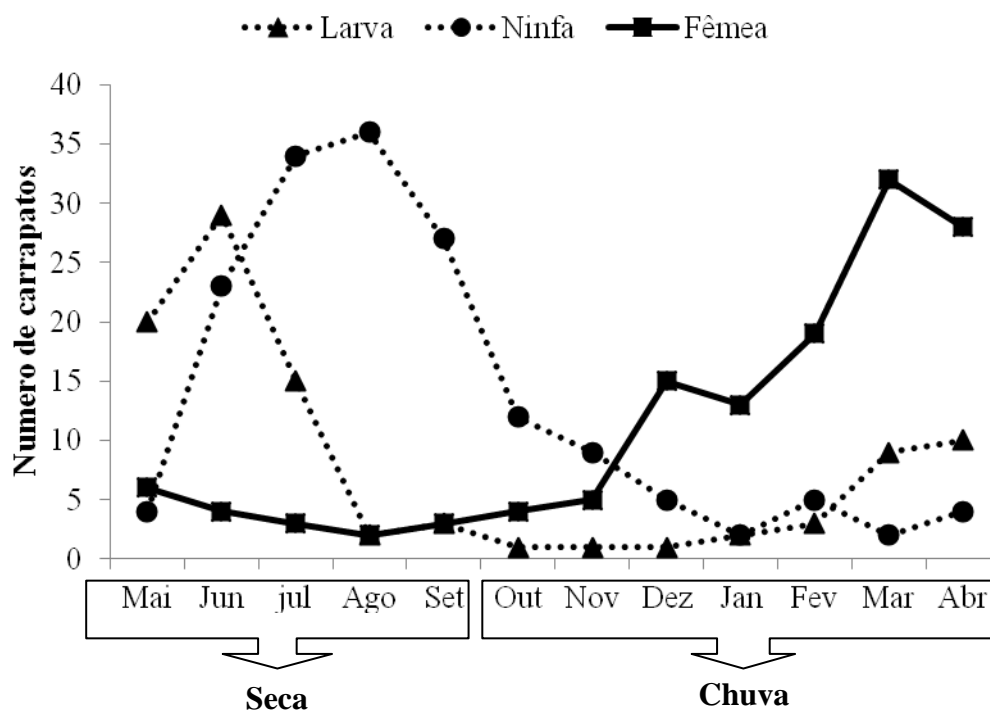


Figura 3: Variação de estádios capturados em *Rhinella schneideri* no cerrado, na região de Três Marias Minas Gerais.

Tabela 1. Número de sapos examinados, número de sapos parasitados, prevalência de infestação (PI%), Intensidade Média do Parasitismo (IMP), número de carrapatos (LL=larva, NN=ninfa e AA=adulto) em *Rhinella schneideri*, na região de Três Marias Minas Gerais.

Área	Nº Sapos examinados	Nº Sapos Parasitados	PI%	IMP	Carrapatos			
					Nº de carrapatos	LL	NN	AA
ESEC	80	48	60 ^a	4,4 ^a	212	37	101	85
I. Boi	40	15	37,5 ^b	12,1 ^b	181	59	62	49
Totais	120	63	52,5	6,2	393	96	163	134

Valores seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Qui-quadrado a 5% de significância. Comparação entre IMP (Teste de Mann-Whitney), 5% de significância.

Lesões no local das picadas dos carrapatos foram observadas na maioria dos hospedeiros infestados (n= 84/120, 70%) durante o parasitismo por todos estágios (larva, ninfa e fêmeas), porém, as lesões eram mais severas no parasitismo por fêmeas ingurgitadas. Em um dos hospedeiros foi possível registrar um quadro de hemorragia causada após a retirada de uma fêmea totalmente ingurgitada (Figura 4 e 5).

Os carrapatos foram coletados em diversas regiões do corpo do hospedeiro, ocorrendo em maior frequência nas regiões cabeça [n=60 (larva=23, ninfa=20 e fêmea=17)] e membros posteriores [n= 72 (larva=15, ninfa=9 e fêmea= 48)]. As demais regiões foram: membro anterior [n= 40 (larva=10, ninfa=16 e fêmea= 14)], dorso [n= 48 (larva=9, ninfa=36 e fêmea= 3)], ventre [n= 51 (larva=10, ninfa=13 e fêmea= 28)], região anal [n= 40 (larva=6, ninfa=25 e fêmea= 9)], laterais do corpo [n=35 (larva=10, ninfa=17 e fêmea= 8)], próximos às paratóides [n= 25 (larva=8, ninfa=12 e fêmea=5)] e axilas [n= 22 (larva=5, ninfa=15 e fêmea= 2)].

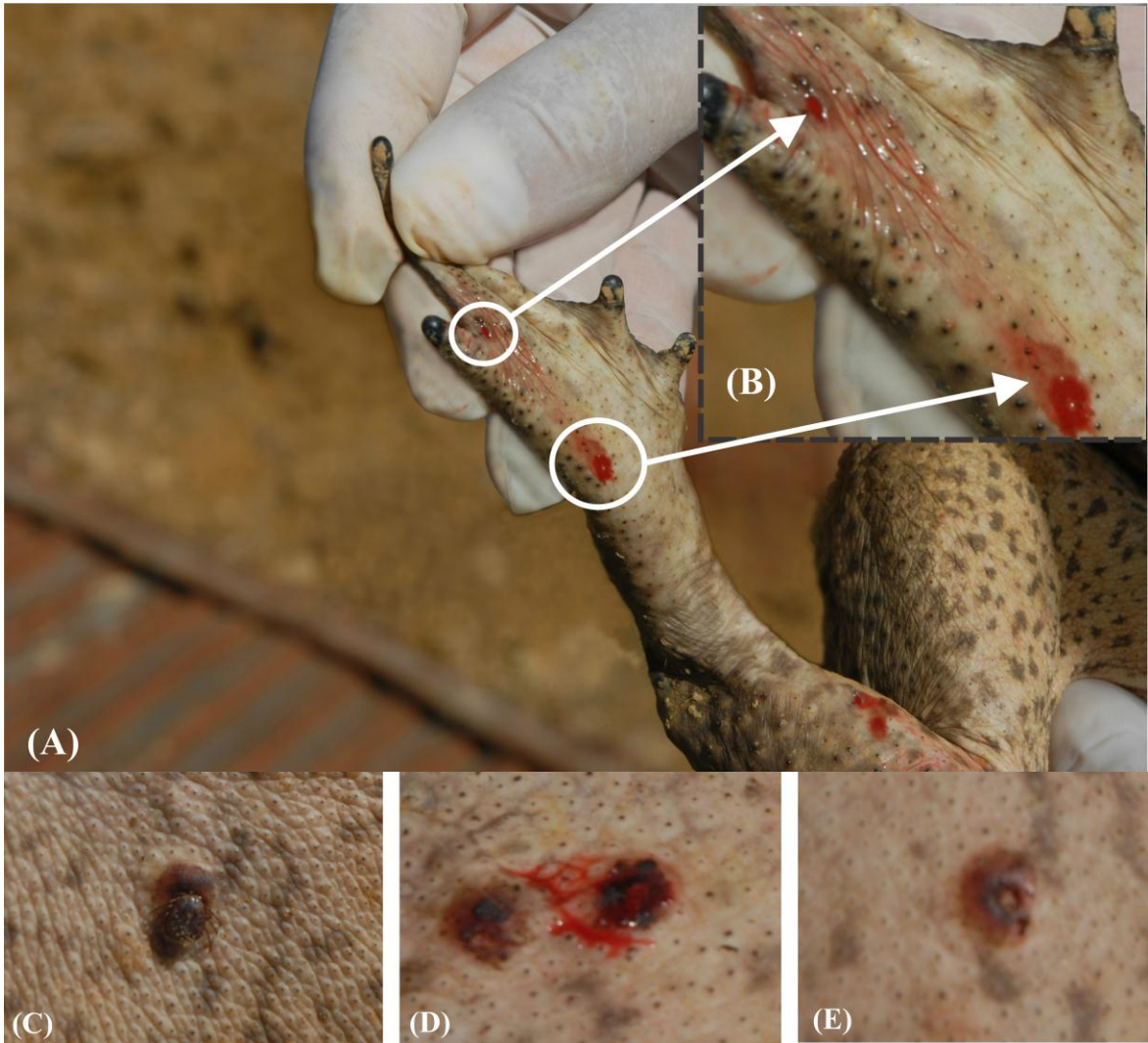


Figura 4: Lesões causadas por uma fêmea de *Amblyomma rotundatum* após desprendimento. (A)= lesão após desprendimento da fêmea em fase final de ingurgitamento; (B)= detalhe da lesão e sangramento após desprendimento; (C)= fêmea de *Amblyomma rotundatum*, não ingurgitada, durante repasto sanguíneo; (D)= lesão após desprendimento do carrapato e (E)= processo de cicatrização da lesão.

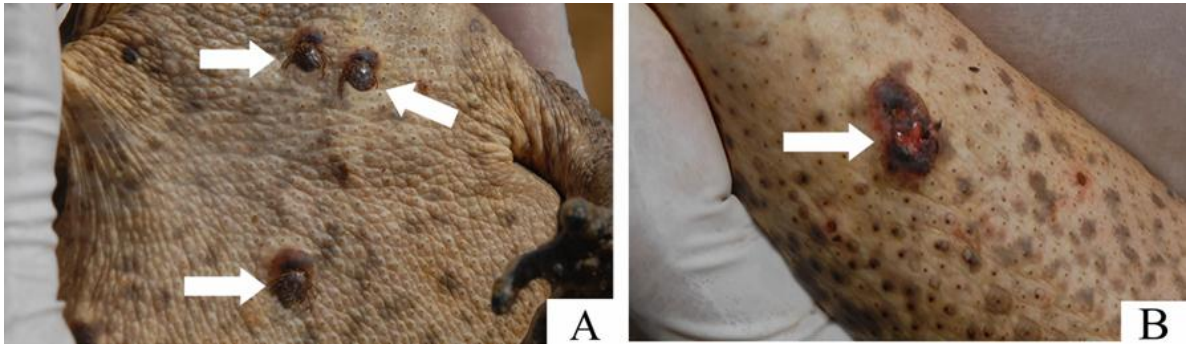


Figura 5: Infestação por *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri*: fêmeas alimentando na região ventral (A) em infestação natural e lesão causada após alimentação de uma fêmea na região lateral do corpo (B) em infestação experimental.

4.2 Carrapatos de vida livre

Foram capturados 369 carrapatos nos estágios de larva (n=68), ninfa (n=46) e adulto (n=255). Dentre o total de adultos capturados, *Amblyomma cajennense* (n=132) foi a espécie mais comum, seguida por *Amblyomma parvum* (n=97), *Amblyomma dubitatum* (n=14), *Amblyomma ovale* (n=7) e *Amblyomma coelebs* (n=5) (Tabela 2). Do total de ninfas, 56 foram identificadas como sendo da espécie *A. cajennense*, 12 *A. parvum*, três *A. dubitatum*, duas *A. ovale* e uma *A. coelebs* (Tabela 2). Todas as larvas foram identificadas como *Amblyomma* spp. Nenhum exemplar de *A. rotundatum* foi capturado no arrasto, no entanto, duas ninfas ingurgitadas (Figura 6) foram observadas no mesmo micro ambiente de repouso, no período diurno, de dois sapos.

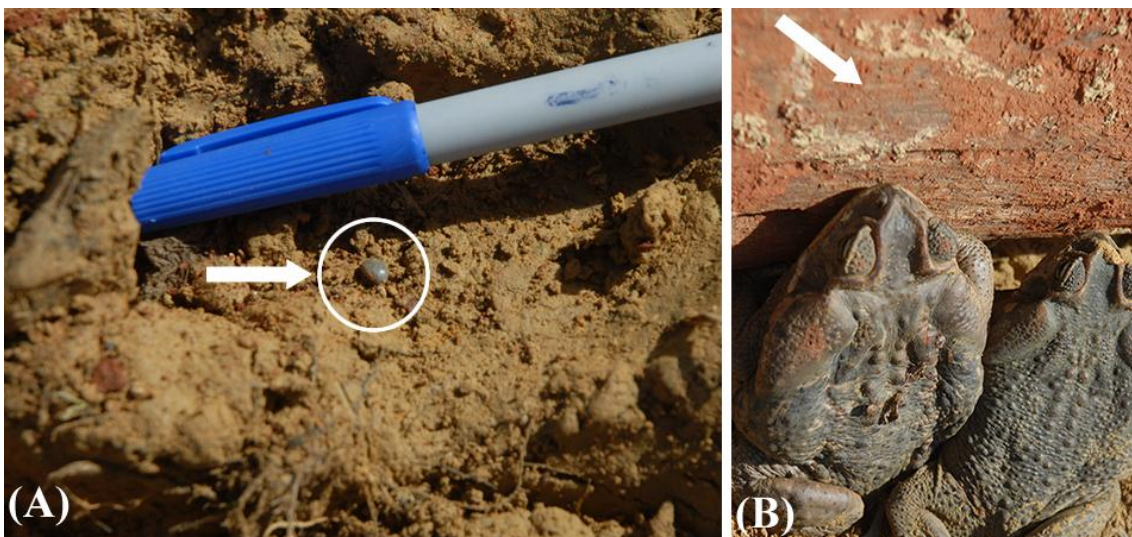


Figura 6: Ninfa ingurgitada de *Amblyomma rotundatum* encontrada no mesmo sítio após examinarmos indivíduos de *Rhinella schneideri* no mesmo micro ambiente. (A) = seta indicando uma ninfa ingurgitada no solo e (B) = seta indicando espécimes de *Rhinella schneideri* em repouso diurno sob as madeiras retiradas.

4.3 Possíveis influências de fatores climáticos

Todos os estágios foram coletados nas duas estações. Os estágios de larva e ninfa apresentaram picos de infestação na estação seca. No entanto, as 62 fêmeas totalmente ingurgitadas somente foram coletadas estação chuvosa (Tabela 3).

Importante destacar que foi durante a estação chuvosa (principalmente entre os meses de dezembro a abril), que registramos o maior número de sapos examinados (81/120, 67,5%), maior número de sapos parasitados (50/63, 79,3%) e prevalência mais alta ($p < 0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 2: Carrapatos capturados, pelo método de arrasto, na ESEC, Minas Gerais, Brasil.

Espécie	LL	NN	AA	Total
<i>A. cajennense</i>	0	56	132 (56M; 76F)	188
<i>A. parvum</i>	0	12	97 (37M; 60F)	109
<i>A. dubitatum</i>	0	3	14 (9M; 5F)	17
<i>A. ovale</i>	0	2	7 (4M; 3F)	9
<i>A. coelebs</i>	0	1	5 (2M; 3F)	6
<i>Amblyomma</i> sp.	40	-	-	40
Total	40	74	255 (108M; 147F)	369

Tabela 3: Relação entre os valores totais do parasitismo por *A. rotundatum* em *R. schneideri* e as estações de seca e de chuvosa, Três Marias, Minas Gerais, Brasil, observados no período de maio a abril: LL=larva, NN=ninfa, AA=adulto, NCAP= número de carrapatos, PAR= número de sapos parasitados, EXA= número de sapos examinados, FemING= fêmeas ingurgitadas. Números na linha meses referem-se aos meses de maio (05) a abril (04).

Estação	Estação seca					Total	Estação chuvosa								Total
	Meses	05	06	07	08		09	10	11	12	01	02	03	04	
LL	20	29	15	2	3	69	1	1	1	2	3	9	10	27	
NN	4	23	34	36	27	124	12	9	5	2	5	2	4	39	
AA	6	4	3	2	3	18	4	5	15	13	19	32	28	116	
NCAP	30	56	52	40	33	211	17	15	21	17	27	43	42	182	
PAR	3	2	1	2	2	10	1	2	7	7	18	15	3	53	
EXA	8	4	6	5	6	29	5	5	8	14	22	23	14	91	
IMP	10	28	52	20	16,5	-	17	7,5	3	2,4	1,5	2,9	14	-	
PI	0,4	0,5	0,2	0,4	0,3	-	0,2	0,4	0,9	0,5	0,8	0,7	0,2	-	
FemING	0	0	0	0	0	0	2	1	10	10	14	18	7	62	

5 DISCUSSÃO

5.1 Parasitismo

O carrapato *A. rotundatum* foi a única espécie identificada parasitando sapos na região estudada, embora a literatura pertinente registre outras espécies parasitando sapos (GUIMARÃES et al., 2001; BARROS-BATTESTI et al., 2006; GUGLIELMONE & NAVA, 2010). Segundo Guimarães et al. (2001), *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 é comum no Panamá, parasitando cerca de 72% dos sapos. Esta espécie de carrapato possui 64 registros naquele país, porém poucos são os registros no Brasil: em *Rhinella* sp. (ARAGÃO, 1912) e em *R. marina* (ROBINSON, 1926; SHUMAKER & BARROS, 1994). Outras espécies do gênero *Amblyomma*, como *Amblyomma fuscum* Neumann, 1907, *Amblyomma goeldii* Neumann, 1899, *Amblyomma humerale* Koch, 1844 e *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (ROBINSON, 1926; WELLS et al., 1981; BARROS-BATTESTI et al., 2006; GUGLIELMONE & NAVA, 2010) também já foram registradas parasitando sapos no Brasil, porém estudos mais amplos e detalhados são necessários para se conhecer com exatidão a importância de anuros como hospedeiros destas espécies. O registro de *A. cajennense* pode ser considerado como totalmente acidental, já que a espécie nunca mais foi assinalada em sapos após a citação de Robinson (1926). *Amblyomma cajennense*, apesar de sua baixa especificidade, é um carrapato exclusivo de animais de sangue quente como mamíferos e aves, incluindo o homem (BARROS-BATTESTI et al., 2006).

Quanto ao parasitismo nas duas áreas estudadas, embora um viés na coleta não possa ser descartado, a maior prevalência de *A. rotundatum* na ESEC pode ser atribuída a extensão desta área que possui o dobro de extensão da Ilha do Boi e a total proteção da mesma, por força da lei, contra qualquer atividade antrópica, resultando em uma maior disponibilidade de micro ambientes específicos para a reprodução de *R. schneideri* e uma maior disponibilidade de hospedeiros para *A. rotundatum*. Essa hipótese é reforçada quando se constata que a IMP foi maior na Ilha do Boi, que além de possuir dimensões menores do que a ESEC, também sofre forte ação antrópica com desmatamentos em toda sua extensão, reduzindo a disponibilidade de micro ambientes favoráveis aos sapos (KNISPEL & BARROS, 2009). Para sobreviver nesses ambientes, os anuros formariam pequenos grupos para adquirir seu alimento (IZECKSOHN & CARVALHO-SILVA, 2001), favorecendo deste modo, a infestação e reinfestação pelos carrapatos. No estudo de Woehl (2002) o autor relata que sapos em áreas mais alteradas tendem a utilizar frequentemente os mesmos abrigos, aumentando as chances de infestação e re-infestação.

Lesões causadas por carrapatos em sapos são citados em raros estudos na literatura (ARAGÃO, 1936; ZUG; ZUG, 1979; SMITH, 1996). O alto número de sapos lesionados e a severidade das lesões observadas em sapos naturalmente infestados podem levar diretamente para o estabelecimento de doenças infecciosas através dos hospedeiros debilitados ou permitindo o crescimento de patógenos na área dos ferimentos, podendo interferir na regulação das populações de sapos, hipótese aventada por Smith (1996). Neste sentido, é de suma importância estudos adicionais que visem esclarecer os danos que estas lesões podem causar nos hospedeiros em condições naturais e sua importância na regulação das populações de sapos, tanto pela ação direta como pelo favorecimento de patógenos oportunistas.

Fato inusitado, até certo ponto curioso, que deve ser considerado com cautela, é

o registro de 130 carrapatos (machos, fêmeas e ninfas) em apenas um indivíduo de *R. schneideri* (ANTONUCCI et al., 2011). É notória a escassez de machos no ciclo biológico de *A. rotundatum*, registrada na totalidade dos artigos publicados (ARAGÃO, 1912; AMORIM et al., 1996; RODRIGUES et al., 2010). Excetuam-se os de Keirans & Oliver (1993), Labruna et al. (2005) e Martins et al. (2014), os quais observaram um único macho em condições experimental e natural. Ainda, segundo Aragão (1912), um sapo não suportaria mais de 10 carrapatos adultos e uma centena desses pode levar a óbito uma jibóia de um metro e meio.

As áreas mais infestadas dos hospedeiros foram cabeça e membro posterior. O mesmo foi relatado por Santos et al. (2002) e Smith et al. (2008). Santos et al. (2002) mencionam que informações sobre a distribuição dos carrapatos no hospedeiro são escassas e que em *Rhinella granulosa* (Wied-Neuwied, 1821) e *R. schneideri* os ectoparasitas foram registrados em áreas bastante vascularizadas como cabeça e membro posteriores. Estes autores mencionam, também, uma possível hierarquia na distribuição dos carrapatos, onde larvas e ninfas se concentraram na cabeça e adultos nos membros posteriores corroborando com nossos registros.

A ausência de *A. rotundatum* nas capturas sobre vegetação neste estudo e na publicação de Szabó et al. (2007), e o encontro de duas ninfas ingurgitadas no mesmo micro ambiente dos hospedeiros, também neste estudo, somado a PI e IMP, permite-nos inferir que, provavelmente, *A. rotundatum* possui um comportamento semelhante as espécies nidícolas de argasídeos.

5.2 Possíveis influências de fatores climáticos

Os dados apresentados na (Tabela 3) permitem-nos inferir que há uma sincronização entre o número de fêmeas totalmente ingurgitadas e o número de hospedeiros examinados, de sapos parasitados e prevalência, no período de dezembro a março.

Estudos relatam que anuros, entre estes meses, são mais ativos e procuram fazer grandes aglomerações reprodutivas (DUELLMAN & TRUEB, 1994; WELLS, 1977; DONNELLY & CRUMP, 1998; HADDAD et al., 2008), comportamento que poderia explicar os altos índices de hospedeiros examinados, número de sapos parasitados e prevalência de carrapatos. Em adição, é na estação chuvosa que ocorre uma maior atividade de forrageamento dos hospedeiros (GIARETTA et al., 1999) que apresentam maior vagilidade, favorecendo, possivelmente o encontro com os carrapatos.

A possível sincronização de fêmeas ingurgitadas com a precipitação pluvial observada, assemelha-se aos registros de Oliveira et al. (2000); Labruna et al. (2002) e Souza et al. (2006) para a espécie *A. cajennense*. Estes autores relatam que picos de fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* também foram observadas entre os meses de dezembro a abril, com altos valores de precipitação pluvial. Apesar de hospedeiros fisiologicamente e ecologicamente diferentes, nossos registros somados aos relatos citados, nos leva a inferir que fêmeas do gênero *Amblyomma*, possivelmente, tende a sincronizar as fases de ingurgitamento e oviposição com altas precipitações pluviais.

6 CAPITULO II

CICLO BIOLÓGICO E COMPORTAMENTO DE *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

6.1 RESUMO

O ciclo biológico e o comportamento de *Amblyomma rotundatum* foram avaliados em condições de laboratório. O experimento iniciou com quatro teleóginas, coletadas em sapos *Rhinella schneideri* naturalmente infestados na Estação Ecológica de Pirapitinga (ESEC), no estado de Minas Gerais, Brasil. Períodos de desenvolvimento de estágios de vida livre foram avaliados em uma incubadora a 27 ± 1 ° C e UR>80% e escotofase. O ciclo de vida completo, incluindo período de pré-fixação para cada estágio parasitário, variou entre 126-228 dias. Os períodos de pré-fixação, alimentação e muda aumentaram com o progresso do ciclo de vida a partir da larva ao estágio de adulto. A oviposição durou cerca de 20 dias, com picos ocorrendo no quarto e quinto dia. A longevidade de ninfas e fêmeas foi bastante semelhante (cerca de 250 e 240 dias, respectivamente) e um pouco mais longa do que a de larvas. Lesões causadas pelo carrapato durante o repasto são discutidas e uma lista de hospedeiros conhecidos, incluindo novos registros de hospedeiros e localidades para *A. rotundatum*, foi incluída. Foi registrado pela primeira vez o parasitismo por *A. rotundatum* nas espécies *Rhinella ornata* e *Rhinella crucifer* no Brasil.

6.2 ABSTRACT

The life cycle and behavior of *Amblyomma rotundatum* were evaluated under laboratory conditions. The experiment began with four engorged females collected from toads *Rhinella schneideri* in naturally infested Pirapitinga Ecological Station (ESEC) in the state of Minas Gerais, Brazil. Periods of development of free-living stages were evaluated in an incubator at 27 ± 1 ° C and RH > 80% and scotophase. The complete life cycle, including pre-fixation for each parasitic stage, ranged between 126-228 days. The pre-setting, nutrition and changes increased with the progress of the life cycle from larva to adult stage. Oviposition lasted about 20 days, with peaks occurring in the fourth and fifth day. The longevity of nymphs and adult females was similar (about 250 and 240 days, respectively) and somewhat longer than larvae. Injuries caused by the tick during the meal are discussed and a list of known hosts, including new host records and localities for *A. rotundatum*, was included. It was first recorded parasitism by *A. rotundatum* in the *Rhinella ornata* and *Rhinella crucifer* species in the Brazil.

6.3 REVISÃO DA LITERATURA

O carrapato *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 é um ectoparasita amplamente distribuído de anfíbios e répteis no Brasil (LIMA, 2003; SZABÓ et al., 2007; DANTAS-TORRES et al., 2008), com alguns registros parasitando mamíferos (LABRUNA et al., 2005a; DANTAS-TORRES et al., 2010). Esta espécie se reproduz por partenogênese, embora haja relatos de dois machos adultos (KEIRANS & OLIVER 1993; LABRUNA et al., 2005b).

O envolvimento na transmissão de agentes patogênicos, tais como *Hemolivia stellata* Petit, Landau, Baccam, Lainson, 1990 (PETIT et al., 1990; BOULARD et al., 2001) e *Hepatozoon* spp. (SMITH, 1996), tem sido relatada.

O ciclo de vida de *A. rotundatum* foi parcialmente estudado em sapos (ARAGÃO 1912; OBA & SHUMAKER, 1983; PETIT et al., 1990; LABRUNA et al., 1997; LIMA, 2003). O ciclo de vida utilizando dois e três hospedeiros têm sido descritos em sapos, serpentes e tartarugas por Aragão (1912) e em cobras por Rodrigues et al. (2010), enquanto que Oba & Shumaker (1983) e LIMA (2003) descrevem o ciclo de vida de três hospedeiros em *Rhinella marina* Linnaeus, 1758 (= *Bufo marinus*) e *Rhinella icterica* (Spix, 1824) (= *Bufo ictericus*). O objetivo do presente estudo foi acrescentar conhecimentos sobre o ciclo de vida, comportamento, relação parasito hospedeiro e manutenção de colônias de *A. rotundatum* em condições laboratório.

6.4 MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1 Área de estudo

Durante estudos sobre a dinâmica do parasitismo de *A. rotundatum* na Estação Ecológica de Pirapitinga (ESEC) no estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil (180 23' 15" S e 450 17' 35" W), dois sapos infestados por quatro fêmeas ingurgitadas foram transportados para o Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As três fêmeas mais ingurgitadas foram coletadas, identificadas como *A. rotundatum*, limpas, pesadas e mantidas a 27 ± 1 ° C e umidade relativa (UR) superior a 80% e escotofase para oviposição.

As massas de ovos foram pesadas e acondicionadas em seringas plásticas descartáveis de 5ml, cortadas próximo ao canhão, fechadas com algodão, identificadas e mantidas nas mesmas condições descritas para as fêmeas. Foram utilizados no experimento, os mesmos dois sapos parasitados pelas fêmeas de *A. rotundatum* na natureza. Cada sapo foi primeiro infestado com 150 larvas, logo após a queda das larvas, os sapos foram infestados com 50 ninfas, após a queda das ninfas, os sapos foram infestados com três fêmeas. O número reduzido de fêmeas deveu-se ao tamanho dos hospedeiros (6 e 8 cm de comprimento) e o conhecimento do efeito deletério que fêmeas de *A. rotundatum* podem causar nos sapos sob condições experimentais (ARAGÃO, 1912; OBA & SCHUMAKER, 1983). Todos os estágios imaturos tinham 10 dias de idade e fêmeas tinham 15 dias de idade no momento da infestação.

Carrapatos após repasto sanguíneo foram observados diariamente no intuito de avaliar os seguintes parâmetros: período de pré-ecdise (= número de dias decorridos desde o desprendimento dos carrapatos sobre o hospedeiro até o início da primeira ecdise), período de ecdise (dias decorridos desde a primeira muda até o aparecimento do estágio seguinte), percentagem de ecdise, período de pré-oviposição (intervalo do desprendimento até o início da oviposição), e o período de oviposição (intervalo entre o início e o final da oviposição), peso da fêmea ingurgitada e peso da massa de ovos. O percentual médio de eclosão das larvas foi determinado por estimativa visual. O índice de produção de ovos (Bennett, 1974) foi determinado utilizando a seguinte fórmula: peso dos ovos / peso inicial da fêmea ingurgitada x 100.

Os sapos foram contidos em aquários separados, forrados por uma tela de borracha perfurada para que os carrapatos ingurgitados caíssem em locais sem acesso para os hospedeiros em estudo, evitando assim a predação (Figura 7).

A coleta e manuseio dos sapos foram realizados de acordo com permissão do IBAMA, processo no. 10689-1/2009. Utilizou-se apenas dois indivíduos com o intuito de reduzir o sacrifício de sapos, pois após o término do experimento um dos sapos foi eutanasiado por se encontrar bastante fraco, provavelmente em decorrência das infestações e manuseio no laboratório. Esse indivíduo foi tombado na Coleção de Herpetologia do Instituto de Biologia da UFRRJ (no. de acesso: RU 7830), enquanto que o outro foi solto em seu ambiente natural, após comprovação do seu estado de hígidez.

Nesse estudo também foi feito um levantamento dos registros de *A. rotundatum* parasitando sapos do gênero *Rhinella* no Brasil. Assim, para este estudo, foram considerados somente registros publicados em periódicos. Adicionalmente, foram analisados sapos

Rhinella ornata (Spix, 1824) (n=20) e *Rhinella crucifer* (Wied-Neuwied, 1821) (n=20), da Coleção Herpetológica do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no intuito de registrar alguma associação com carrapatos, uma vez que, o parasitismo por carrapatos nessas duas espécies contaria como um registro novo para este país.

6.4.2 Análises estatística

Os períodos de pré-fixação, pré-ecdise e de muda foram comparados pelo teste de Mann-Whitney. Períodos de alimentação foram comparados usando o teste de Kruskal- Wallis. O nível de significância foi de 5%. As análises estatísticas foram realizadas utilizando a versão BioEstat 5.0 (<http://www.mamiraua.org.br/download/> - acessado em dezembro de 2011).

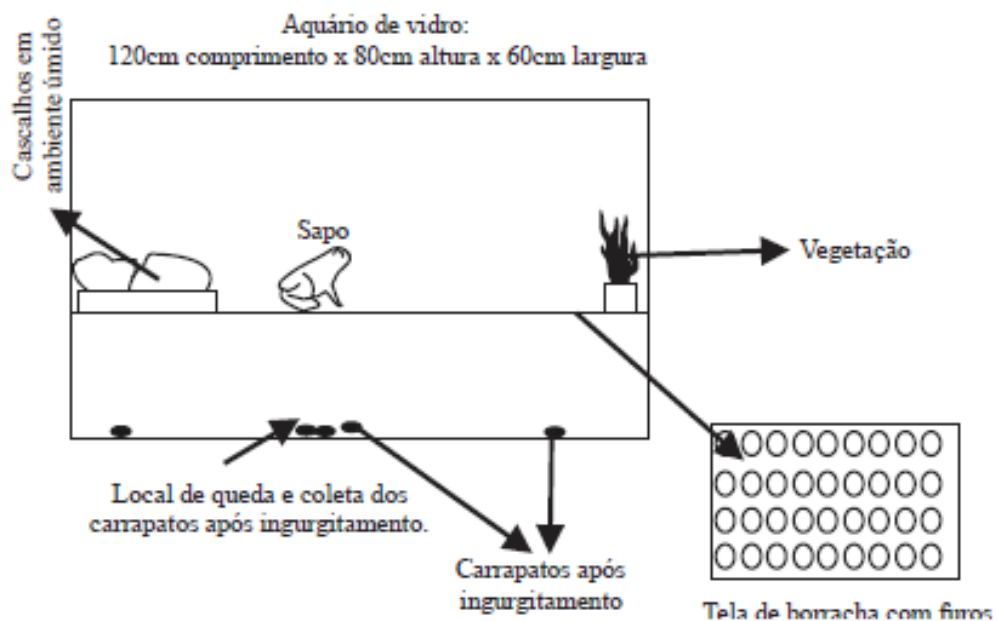


Figura 7: Esquema do método utilizado para contenção de *Rhinella schneideri* durante o estudo de ciclo biológico de *Amblyomma rotundatum*.

6.5 RESULTADOS

Os parâmetros do ciclo de vida *A. rotundatum* são mostrados na Tabela 4 e nas Figuras 7, 8 e 9. Os períodos de pré-fixação, alimentação e muda aumentaram significativamente ($p < 0,05$) com a evolução do ciclo de vida a partir de larva para fêmea adulta. Oviposição durou cerca de 20 dias, com picos ocorrendo nos dias 4 e 5 (Figura 8). Houve uma correlação linear altamente significativa ($r = 0,90$, $p = 0,0038$) entre o peso da fêmea ingurgitada e o peso dos ovos produzidos pelas mesmas (Figura 9). No entanto, a porcentagem da eficiência de produção de ovos foi bastante baixa. A longevidade de ninfas e fêmeas foi bastante similar (aproximadamente 250 e 240 dias, respectivamente) e ligeiramente mais longa do que a de larvas (Figura 10). Tal como esperado, todas as ninfas mudaram para fêmeas. O ciclo biológico total, incluindo a pré-fixação prazos para cada fase parasitária, durou entre 126-228 dias.

Após 5-10 min. de procura para uma área adequada para se fixarem, larvas e ninfas preferiram as regiões da cabeça e em torno das glândulas paratíides, ao passo que as fêmeas tiveram preferência pela região dorsal, perto da área pélvica depois de procurar por 15-20 min. Desprendimento e re-fixação de algumas ninfas e fêmeas foi também observado em ambos os sapos. Durante os movimentos de carrapatos, a predação de aproximadamente 20 ninfas por um sapo sobre o outro foi observado.

O repasto sanguíneo dos carrapatos causou intensa irritação em ambos os sapos, como demonstrado por tentativas de remover os carrapatos com os dedos das patas dianteiras e traseiras. A alimentação de todos os estágios resultou no aparecimento de lesões ulcerativas e hemorragias, especialmente durante a alimentação das fêmeas.

Foi observado o desprendimento, principalmente em carrapatos adultos. Estes, ao se sentirem incomodados, forçam o corpo para trás com a ajuda do primeiro e segundo par de patas. Ao de desprender, o carrapato rapidamente procura um novo sítio para fixação. Um acompanhamento fotográfico foi realizado durante um estudo paralelo com *A. rotundatum* em *R. curcifer* (Figura 11).

Um total de 14 sapos, *Rhinella ornata* $n= 9$ e *Rhinella crucifer* $n=5$, apresentaram parasitismo por 23 ninfas de carrapatos. Todas as ninfas foram identificadas como *A. rotundatum*, caracterizando o primeiro registro dessas espécies de carrapatos nesses dois hospedeiros no Brasil (Tabela 5).

Tabela 4: Parâmetros do ciclo de vida de *A. rotundatum* mantidas a 27 ± 1 °C e RH > 80 % em escotofase após infestação experimental em *R. schneideri*.

Parâmetros	Larva	Ninfa	Fêmeas
Nº de carrapatos infestados	300	100	6
Nº de carrapatos recuperados (%)	271 (90.3)	87 (87)	6 (100)
Pré-fixação (dias)	2.6 ± 0.7 ^a (2-4)	3.4 ± 0.6 ^b (3-5)	1
Ingurgitamento (dias)	17.7 ± 5.4 ^a (11-28)	21.4 ± 3.9 ^b (13-30)	31.2 ± 4.8 ^c (25-36)
Pré-muda (dias)	13.8 ± 2.4 ^a (10-19)	14.1 ± 2.1 ^a (11-18)	---
Muda (dias)	2.8 ± 1.8 ^a (1-6)	6.8 ± 1.9 ^b (5-10)	---
Muda (%)	191(70.5)	65 (74.7)	
Peso de fêmeas ingurgitadas (mg)			639.5 ± 91.8 (530-768)
Pré-oviposição(dias)			4.7 ± 2.2 (3-9)
Oviposição (dias)			17.6 ± 1.8 (15-20)
Incubação dos ovos (dias)			25.2 ± 4.2 (18-29)
Peso dos ovos (mg)			309.7 ± 58.6 (231.7-383.7)
Eclosão (days)			11.7 ± 1.8 (9-14)
Eclosão do ovos (%)			66.8 ± 2.3 (65-71)
Eficiência de eclosão dos ovos (%)			48

Valores seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Kruskal-Wallis (período de ingurgitamento) e Mann-Whitney (pré-fixação, pré-muda e muda) nível de significância de 5%.

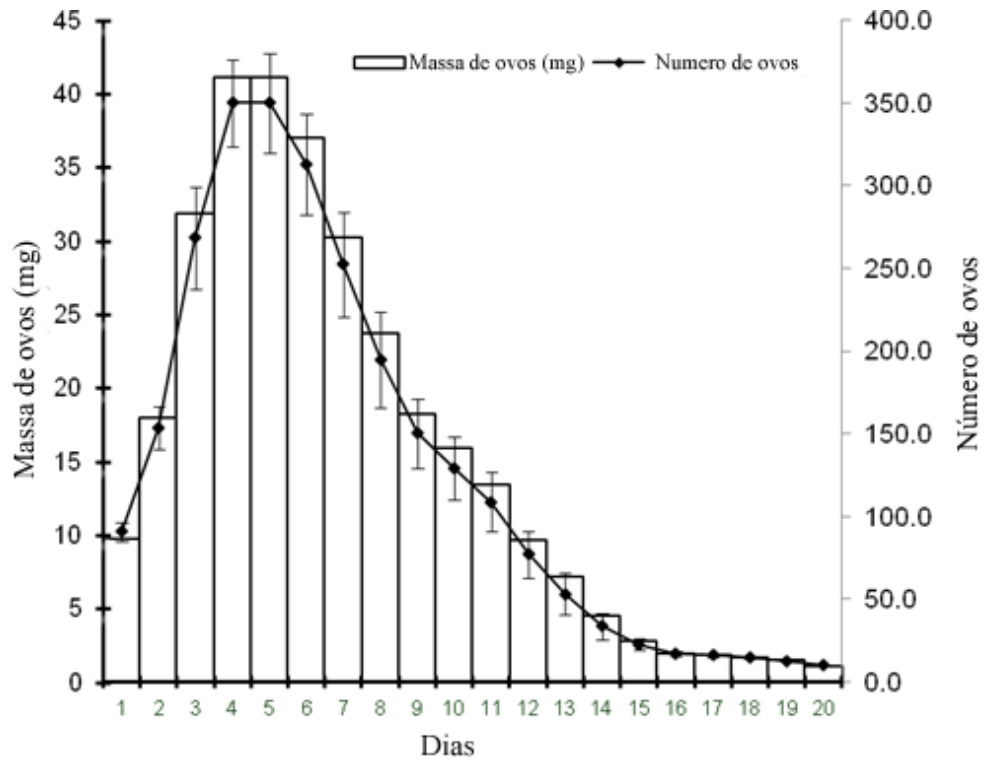


Figura 8: Oviposição de fêmeas de *A. rotundatum* mantidas a $27\pm 1^\circ\text{C}$, $\text{RH} > 80\%$ e escotofase.

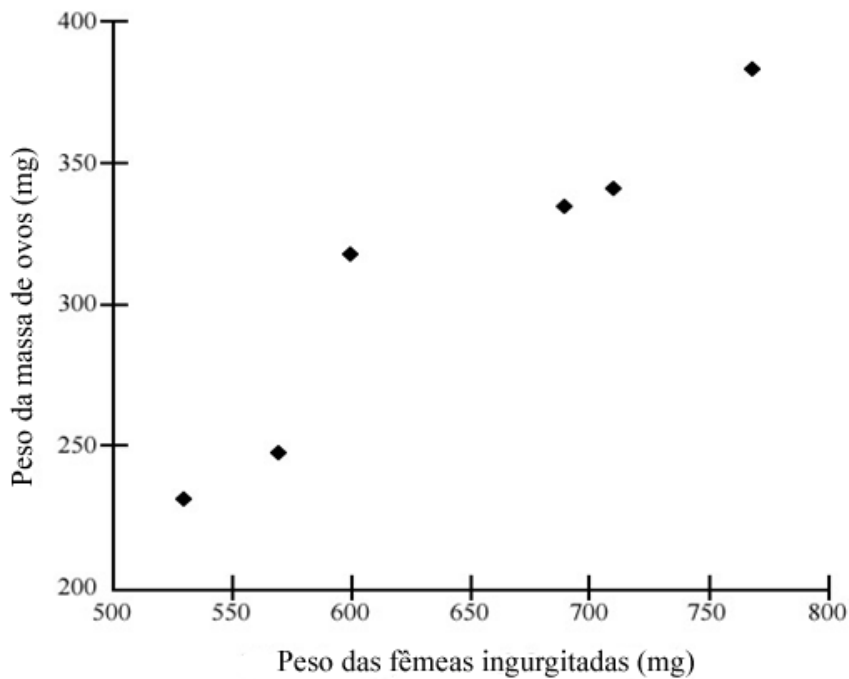


Figura 9: Peso de fêmeas ingurgitadas X massa de ovos de *A. rotundatum* mantido a $27\pm 1^\circ\text{C}$, $\text{RH} > 80\%$ e escotofase. ($r = 0,9004$ e $p = 0,0038$).

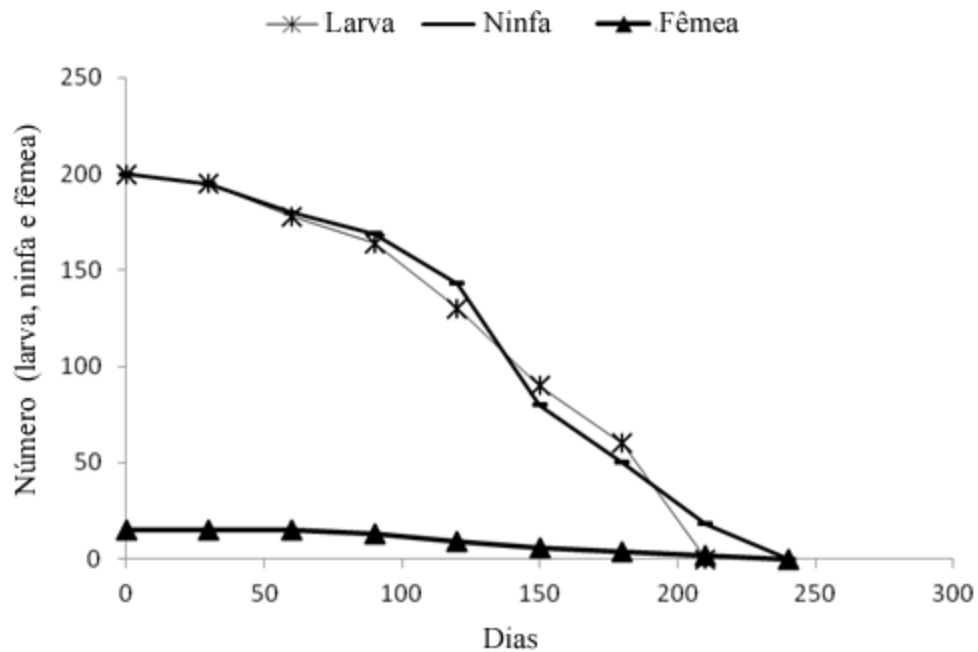


Figura 10: Longevidade de larva, ninfa e fêmea de *A. rotundatum* mantidos a $27\pm 1^\circ\text{C}$, RH > 80% e escotofase.

Tabela 5: Registros de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella* spp (Bufonidae) no Brasil; estágio dos carrapatos: L = larva, N = ninfa, A = adulto, X = estágio desconhecido; estado: GO = Goiás; MG = Minas Gerais; PR = Paraná; PA = Pará; PE = Pernambuco; RJ = Rio de Janeiro; RO=Rondônia; SC=Santa Catarina; SP=São Paulo.

Hospedeiro	Estado	Estágio	Referências
<i>Rhinella crucifer</i>	PE ¹ , RJ ² , ES ² , BA ²	N/A	Santos et al. 2002 ¹ , new locality record ² .
<i>Rhinella ornata</i>	RJ	N/A	new host record
<i>Rhinella granulosa</i>	PE	A	Santos et al. 2002
<i>Rhinella schneideri</i>	PE ¹ , GO ² , PR ² , MG ³	L/N/A	Santos et al. 2002 ¹ , Szabó et al. 2007 ² , new locality record ³
<i>Rhinella icterica</i>	SC ¹ , RJ ² e SP ³	X	Woehl 2002 ¹ , Luque et al. 2005 ² Antonucci et al. 2012 ³
<i>Rhinella marina</i>	RJ ¹ , SP ² , PA ³ , RN ⁴	L/N/A	Aragão 1912 ¹ , Oba & Schumaker 1983 ² , Petit et al. 1990 ³ , Boulard et al. 2001 ² , Ahid et al. 2009 ⁴
<i>Rhinella jimi</i>	PE	N/A	Dantas-Torres et al. 2010b

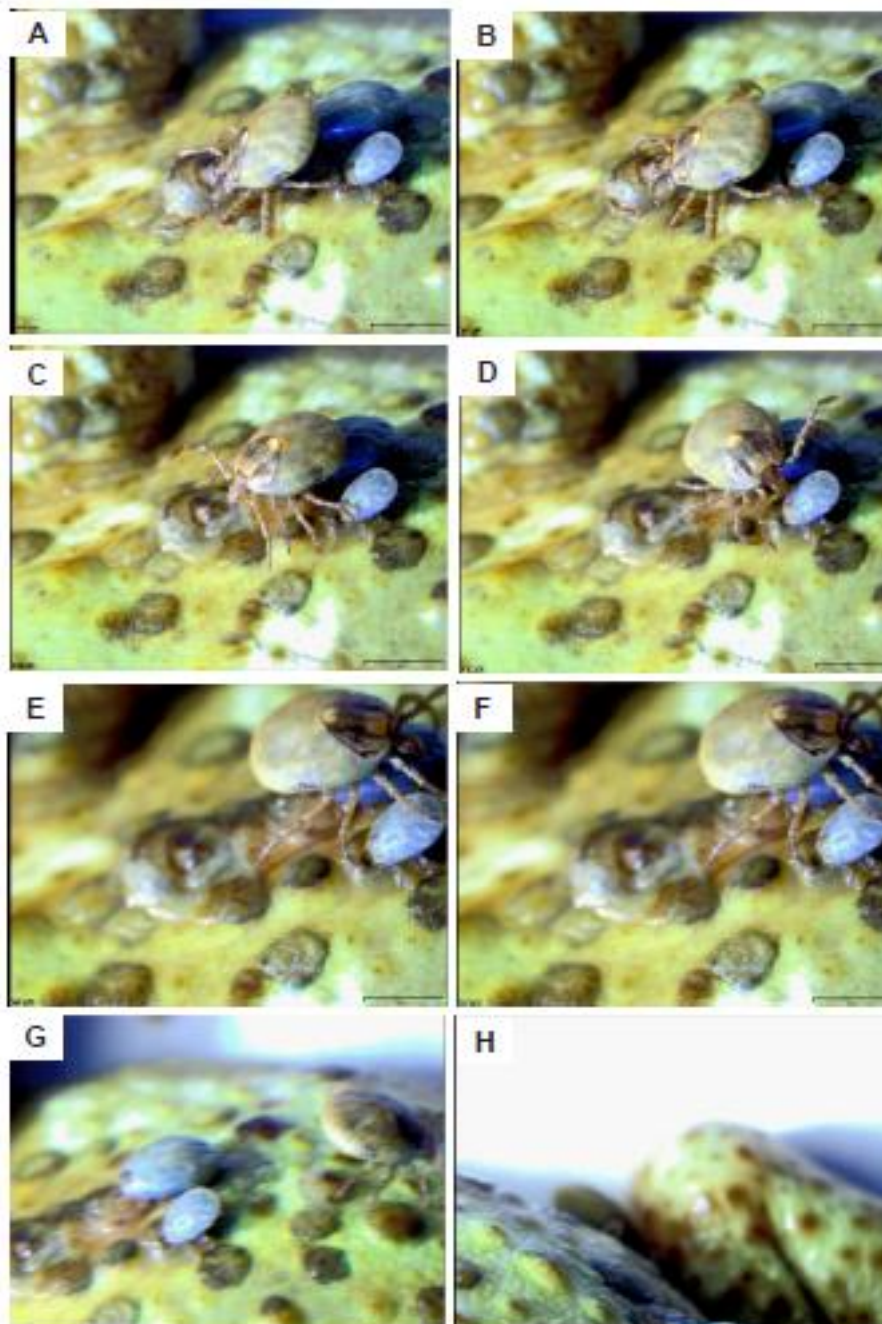


Figura 11: Acompanhamento fotográfico do desprendimento de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella cucifer*.

6.6 DISCUSSÃO

O presente estudo descreve o percentual de muda, período de incubação, percentual de eclosão e os parâmetros apresentados na figura 7-9 pela primeira vez para espécimes de *A. rotundatum* em anuros, deste modo, são informações adicionais aquelas já publicadas para *R. marina* por Oba & Shumaker (1983) e Petit et al. (1990), *Rhinella icterica* por Lima (2003), bem como uma espécie não identificada de *Rhinella* sp. por Aragão (1912) e Labruna et al. (1997).

Os parâmetros restantes diferem um pouco dos obtidos por outros autores, os quais podem ser principalmente relacionados com as diferentes espécies de hospedeiros ou diferentes metodologias utilizadas no experimento. O ciclo trioxeno foi observado ao longo deste experimento, com as fases de larva, ninfa e adulto bem definidas assemelha-se com os resultados descritos por Oba & Shumaker (1983) e Lima (2003) utilizando sapos do gênero *Rhinella*, apoiando a hipótese de um ciclo de três hospedeiros quando sapos são os hospedeiros. Por outro lado, o ciclo de vida de dois hospedeiros, descrito por Aragão (1912), provavelmente se deve ao fato de que o autor alternava sapos, serpentes e tartarugas marinhas como hospedeiros experimentais ou quando somente serpentes são os hospedeiros (RODRIGUES et al., 2010).

Os movimentos de pré-fixação e locais de fixação sobre os corpos dos sapos neste experimento foram relatados por Aragão (1912) para uma espécie não identificada de *Rhinella*, Chilton et al. (1992) para *Amblyomma limbatum* Neumann, 1899 em *Bothriocroton hydrosauri* (Deny, 1843) e Lima (2003) em *Rhinella icterica*. Segundo Chilton et al. (1992), a movimentação pelo corpo do hospedeiro durante a fase de ingurgitamento seria resultado de competição interespecífica para favorecer o acasalamento com machos da mesma espécie. Certamente, esta hipótese não se aplica no caso do presente estudo, cuja reprodução se processa por partenogênese.

Percebemos, em alguns casos, a predação de algumas ninfas ingurgitadas pelos hospedeiros, principalmente durante esse hábito migratório passando por áreas de fácil visualização e alcance de seu próprio hospedeiro ou de um hospedeiro que esteja próximo deste, observações também relatadas por Lima (2003). A ingestão dos carrapatos pelos hospedeiros, pode aumentar a chance de infecção por hemogregarinas como *H. stellata* (BOULARD et al., 2001) e hematozoários como nas espécies do gênero *Hepatozoon* (SMITH, 1996).

As lesões observadas em sapos naturalmente infestados e descritas no capítulo I são semelhantes àsquelas observadas em infestações experimentais feitas por Lima (2003). Segundo Lima (2003) o parasitismo por *A. rotundatum* em, *R. icterica*, causou uma intensa espoliação que evoluiu para inúmeras lesões ulcerativas nos locais de fixação. Essa lesões podem levar diretamente ao estabelecimento de doenças infecciosas por debilitar os hospedeiros ou permitindo o crescimento de patógenos na área lesionada, assim regulando as populações de sapo naturais como apresentadas por Smith et al. (2008). No entanto, essa hipótese deve ser apoiada por futuros estudos.

Até o presente estudo não existia qualquer registro do parasitismo por *A. rotundatum* em *R. ornata* e *R. crucifer*. No estudo de Guglielmone & Nava (2010), os autores relatam o parasitismo por *A. rotundatum* em *R. crucifer*, citando com referência o estudo de Santos et al. (2002). No entanto, esses autores mencionam apenas o registro do parasitismo por *A. rotundatum* em *Rhinella granulosa* (Spix, 1824) e *R. schneideri*.

7 CAPITULO III

UM MACROPARASITA EM MACROESCALA: ESTIMATIVAS DE ADEQUABILIDADE AMBIENTAL PARA *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (ACARI: IXODIDAE).

7.1 RESUMO

A espécie *Amblyomma rotundatum* é comumente encontrada parasitando anuros do gênero *Rhinella*, no entanto pouco se sabe sobre a real distribuição geográfica desse carrapato no estado do Rio de Janeiro. Diante disso, foram utilizadas ferramentas de modelagem preditiva para estimar áreas com maior adequabilidade ambiental para a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. A partir dos mapas resultantes será possível identificar que variáveis ambientais são potenciais descritores do nicho fundamental da espécie de carrapato em escala regional, bem como sugerir áreas prioritárias para futuras amostragens. Os pontos de ocorrência foram compilados de registros de campo, da coleção Herpetológica do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e de literatura especializada. Foram utilizados 11 diferentes pontos de ocorrência de *A. rotundatum* parasitando os sapos *Rhinella crucifer* e *Rhinella icterica* no estado do Rio de Janeiro. Para que o modelo fosse o mais próximo do real possível, utilizamos também os registros de literatura de *A. rotundatum* parasitando répteis e anfíbios em diferentes regiões do Brasil, após excluídos dados de ocorrências e identificações duvidosas. No total, foram consideradas 21 variáveis: 19 inseridas no pacote Bioclim (Worldclim), e duas topográficas, elevação e inclinação do terreno (Hydro 1k). Para seleção das variáveis, utilizamos os valores de cada variável em cada localidade de registro, e testamos possíveis correlações entre variáveis por análise de componentes principais. O desempenho preditivo do modelo foi avaliado através dos valores de AUC (“area under the curve”), sensibilidade, especificidade, acurácia e TSS. Os valores de AUC variam entre 0 e 1, sendo um valor próximo de zero um modelo totalmente aleatório (ao acaso). O modelo foi considerado válido, de acordo com as métricas de avaliação de desempenho: AUC = 0,97; TSS = 0,7; especificidade = 0,9; acurácia = 0,9. Apesar de o modelo apresentar TSS < 0,75, o modelo foi considerado satisfatório devido aos excelentes resultados das demais métricas de validação. A sazonalidade de temperatura (45,7% de contribuição), a altitude (22,4%) e a sazonalidade de precipitação (15,9%) foram as variáveis mais importantes na determinação da distribuição potencial de *A. rotundatum*. A primeira foi identificada como a variável que contribuiu com maior informação para o modelo quando utilizada em separado das demais, enquanto a altitude foi indicada como a variável que detém a maior parte da informação que não está presente nas outras variáveis. Dessa forma, tais variáveis foram as mais importantes na geração do modelo. Houve uma relação negativa dentre a altitude e a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. O modelo resultante apontou valores altos de adequabilidade em regiões de baixas e médias altitudes, com elevações variando entre dois e 800m. Há uma influência da temperatura no modelo de distribuição preditiva. A presença de *A. rotundatum* foi prevista em ecorregiões com temperaturas mínimas entre 13°C e 17,7°C.

7.2 ABSTRACT

A espécie *Amblyomma rotundatum* é comumente encontrada parasitando anuros do gênero *Rhinella*, no entanto pouco se sabe sobre a real distribuição geográfica desse carrapato no estado do Rio de Janeiro. Diante disso, foram utilizadas ferramentas de modelagem preditiva para estimar áreas com maior adequabilidade ambiental para a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. A partir dos mapas resultantes será possível identificar que variáveis ambientais são potenciais descritores do nicho fundamental da espécie de carrapato em escala regional, bem como sugerir áreas prioritárias para futuras amostragens. Os pontos de ocorrência foram compilados de registros de campo, da coleção Herpetológica do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e de literatura especializada. Foram utilizados 11 diferentes pontos de ocorrência de *A. rotundatum* parasitando os sapos *Rhinella crucifer* e *Rhinella icterica* no estado do Rio de Janeiro. Para que o modelo fosse o mais próximo do real possível, utilizamos também os registros de literatura de *A. rotundatum* parasitando répteis e anfíbios em diferentes regiões do Brasil, após excluídos dados de ocorrências e identificações duvidosas. No total, foram consideradas 21 variáveis: 19 inseridas no pacote Bioclim (Worldclim), e duas topográficas, elevação e inclinação do terreno (Hydro 1k). Para seleção das variáveis, utilizamos os valores de cada variável em cada localidade de registro, e testamos possíveis correlações entre variáveis por análise de componentes principais. O desempenho preditivo do modelo foi avaliado através dos valores de AUC (“area under the curve”), sensibilidade, especificidade, acurácia e TSS. Os valores de AUC variam entre 0 e 1, sendo um valor próximo de zero um modelo totalmente aleatório (ao acaso). O modelo foi considerado válido, de acordo com as métricas de avaliação de desempenho: AUC = 0,97; TSS = 0,7; especificidade = 0,9; acurácia = 0,9. Apesar de o modelo apresentar TSS < 0,75, o modelo foi considerado satisfatório devido aos excelentes resultados das demais métricas de validação. A sazonalidade de temperatura (45,7% de contribuição), a altitude (22,4%) e a sazonalidade de precipitação (15,9%) foram as variáveis mais importantes na determinação da distribuição potencial de *A. rotundatum*. A primeira foi identificada como a variável que contribuiu com maior informação para o modelo quando utilizada em separado das demais, enquanto a altitude foi indicada como a variável que detém a maior parte da informação que não está presente nas outras variáveis. Dessa forma, tais variáveis foram as mais importantes na geração do modelo. Houve uma relação negativa dentre a altitude e a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. O modelo resultante apontou valores altos de adequabilidade em regiões de baixas e médias altitudes, com elevações variando entre dois e 800m. Há uma influência da temperatura no modelo de distribuição preditiva. A presença de *A. rotundatum* foi prevista em ecorregiões com temperaturas mínimas entre 13°C e 17,7°C.

7.3 REVISÃO DE LITERATURA

Os avanços na agricultura e urbanização têm contribuído fortemente para as alterações ambientais, interferindo diretamente no funcionamento dos ecossistemas e, numa menor escala, nas relações entre as espécies que compõem as comunidades locais (PIMM et al., 1995; PIMM & RAVEN, 2000). Devido essas interferências, com resultantes tão negativas, a ponto de causar extinções em diversas escalas (PIMM & RAVEN, 2000), tornou-se evidente a necessidade do uso de modelos preditivos com intuito de estimar possíveis modificações na organização e estruturação dos inúmeros ecossistemas.

Os modelos preditivos de distribuição de espécies são importantes para inúmeras aplicações da ecologia e conservação, como em estudos para definir áreas adequadas para reintrodução de espécies, na previsão dos ambientes com maior probabilidade de invasão por espécies exóticas em habitats naturais, na estimativa do impacto de mudanças climáticas sobre a distribuição das espécies, e na avaliação dos riscos de exposição a doenças de uma determinada população (BOURG et al., 2005; GUIBAN et al., 2005; PETERSON et al., 2006; ARAÚJO & NEW, 2007; NELSON & BOOTS, 2008). Através dessa metodologia, são reconhecidos locais que potencialmente preenchem os requisitos de nicho ecológico das espécies nos limites das variáveis utilizadas, com base em atributos do ambiente (PETERSON, 2001; GUIBAN & THULLER, 2005; GIOVANELLI et al., 2010). Diversos estudos utilizando esses tipos de modelos foram realizados com parasitas e seus hospedeiros, na tentativa de identificar os possíveis fatores que limitam essas interações (PETERSON et al., 2002; PETERSON & SHAW, 2003; DONALISIO & PETERSON, 2011)

Dentre os parasitos que interagem com anuros, os carrapatos podem ser considerados como excelentes modelos para estudos de biogeografia, uma vez que seus hospedeiros apresentam menores taxas de dispersão quando comparados a outros vertebrados, e são sensíveis a alterações ambientais, o que torna conveniente a modelagem preditiva de distribuição para esses táxons. O carrapato *Amblyomma rotundatum* é específico de animais ectotérmicos terrestres (VIANA et al., 2012). É uma espécie considerada partenogênica, embora a literatura registre três relatos de machos (KEIRANS & OLIVER, 1993; LABRUNA et al., 2005; MARTINS et al., 2013). É um macroparasita hematófago podendo passar dias se alimentando em seu hospedeiro causando lesões, anemia e até a morte do mesmo (ARAGÃO 1936). Essa espécie também é reconhecida por transmitir patógenos para anuros dos gêneros *Hemolivia* e *Hepatozoon* (PETIT et al., 1990; LAINSON et al., 2007) e recentemente foi registrado a associação com bactéria do gênero *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2011).

Apesar de serem comumente encontrados parasitando anuros do gênero *Rhinella*, pouco se sabe sobre a real distribuição geográfica de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro, pois existe somente um relato simples de ocorrência para este estado por Luke et al. (2005). Nesse contexto, utilizamos ferramentas de modelagem preditiva para estimar áreas com maior adequabilidade ambiental para a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. A partir dos mapas resultantes será possível identificar que variáveis ambientais são potenciais descritores do nicho fundamental da espécie de carrapato em escala regional, bem como sugerir áreas prioritárias para futuras amostragens.

7.4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os pontos de ocorrência foram compilados de registros de campo, da coleção Herpetológica do Instituto de Biologia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, e de literatura especializada. Foram utilizados 11 diferentes pontos de ocorrência de *A. rotundatum* parasitando os sapos *Rhinella crucifer* e *Rhinella icterica* no estado do Rio de Janeiro (Figura 12). Para que o modelo fosse o mais próximo do real possível, utilizamos também os registros de literatura de *A. rotundatum* parasitando répteis e anfíbios em diferentes regiões do Brasil, após excluídos dados de ocorrências e identificações duvidosas (Figura 13 e Tabela 6). Assim, o modelo foi realizado englobando a distribuição total conhecida para *A. rotundatum*, para incluir todas as variações climáticas toleradas pela espécie.

As variáveis utilizadas são de acesso livre nos bancos de dados Worldclim (www.worldclim.org) e Hydro 1k Elevation Derivative Database (eros.usgs.gov). No total, foram consideradas 21 variáveis: 19 inseridas no pacote Bioclim (Worldclim), e duas topográficas, elevação e inclinação do terreno (Hydro 1k). Para seleção das variáveis, utilizamos os valores de cada variável em cada localidade de registro, e testamos possíveis correlações entre variáveis por análise de componentes principais. Posteriormente, testamos se havia correlação espacial entre as variáveis previamente selecionadas através do teste de Mantel, utilizando uma matriz com as distâncias geográficas entre os pontos de ocorrência. Para a criação do modelo, foram gerados 10 réplicas, com 30% das amostras retidas para avaliação final, e método de Bootstrap para replicação dos dados na geração dos modelos. Como limiar de corte (“threshold”), utilizamos o valor correspondente à sensibilidade e especificidade equivalentes, fornecidos com os resultados do programa de geração do modelo (PHILLIPS et al., 2006). Consideramos como modelo final o modelo médio gerado a partir das réplicas, e aplicado o limiar de corte.

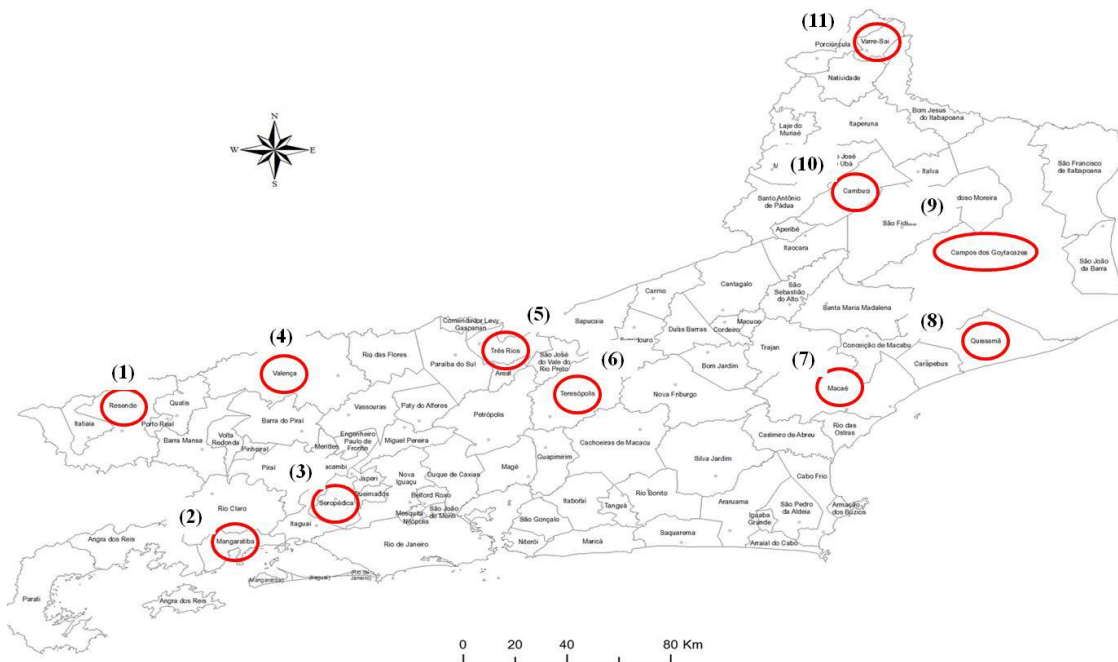


Figura 12: Pontos de *Amblyomma rotundatum* parasitando os sapos *Rhinella crucifer*, *Rhinella icterica* e *Rhinella ornata* no estado do RJ, utilizados na modelagem preditiva.

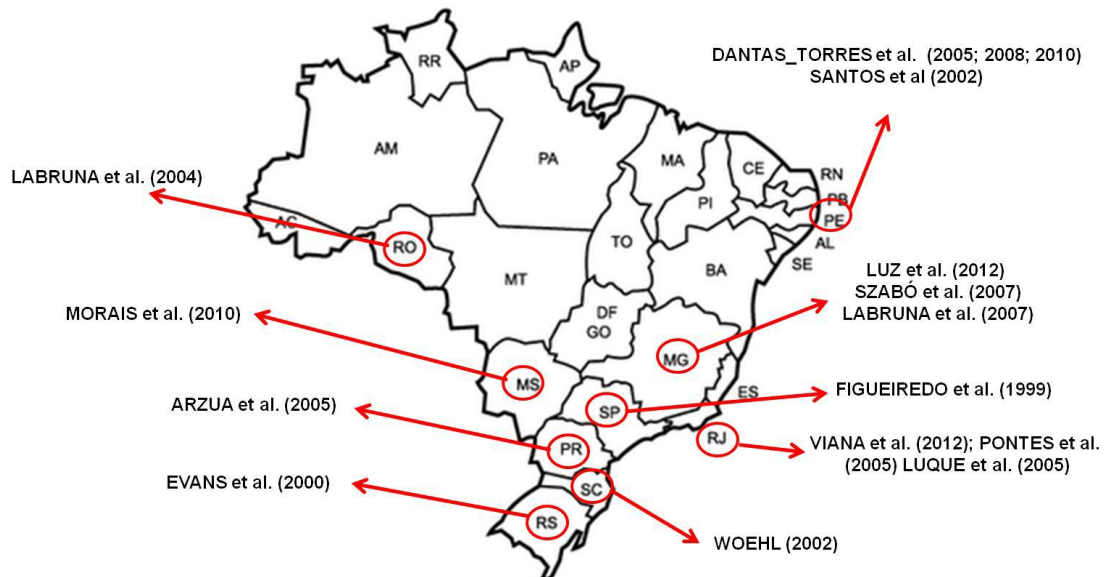


Figura 13: Pontos de *Amblyomma rotundatum* parasitando Anfíbios e Répteis, utilizados na modelagem preditiva.

O desempenho preditivo do modelo foi avaliado através dos valores de AUC (“area under the curve”), sensibilidade, especificidade, acurácia e TSS (“true skill statistics”; ALLOUCHE et al., 2006), referentes às 10 réplicas geradas. Os valores de AUC variam entre 0 e 1, sendo um valor próximo de zero um modelo totalmente aleatório (ao acaso). O modelo médio foi considerado válido com o valor médio de AUC igual ou maior a 0,70 (PEARSON et al., 2003), e valor médio de TSS maior ou igual a 0,75 (ALLOUCHE et al., 2006). Para tanto, calculamos a matriz de confusão para todas as réplicas, e gerando ao final os valores médios para o modelo médio. A matriz de confusão é bidimensional, e contém o número de exemplos classificados corretamente e o número de classificações preditivas para cada classe. Desse modo, é possível calcular os erros e acertos do modelo (ALLOUCHE et al., 2006): a sensibilidade, que corresponde à proporção de verdadeiros positivos ($A/A+C$); a especificidade, que refere-se à proporção de verdadeiros negativos (ou ausências) ($D/B+D$); e a acurácia, que corresponde ao grau de acerto do modelo, gerando uma medida de verossimilhança ($A+D/A+B+C+D$).

O mapa resultante da análise sugere a distribuição potencial de *A. rotundatum* sob as condições climáticas atuais, identificando as regiões com maior adequabilidade ambiental para a ocorrência da espécie. Assim, estas áreas apresentam características climáticas ambientais que se assemelham às das localidades com registros reais utilizados neste estudo, de acordo com as variáveis selecionadas para a geração do modelo (GIANNINI et al., 2012).

Todas as estatísticas multivariadas tiveram suas respectivas probabilidades estimadas através de modelos nulos (10.000 iterações dos dados), sendo considerados significativos quando $p \leq 0,05$. Todos os testes foram realizados no programa R 3.0.2 (disponível em: www.r-project.org). Para geração do modelo de distribuição preditiva, utilizamos o algoritmo de entropia máxima, através do programa MaxEnt 3.3.0 (PHILLIPS et al., 2006). Apesar de diferentes algoritmos estarem disponíveis para a realização desse tipo de modelo, diversos estudos apontam o algoritmo de entropia máxima como um de melhor desempenho, dentre aqueles que utilizam apenas dados de presença (GIOVANELLI et al., 2010).

Para uma melhor visualização dos resultados obtidos, foram gerados mapas confrontando as áreas de maior adequabilidade ambiental e as principais variáveis ambientais do modelo. Para visualização do modelo resultante, bem como a confecção de mapas, utilizamos o programa ArcGIS 10.2.

7.5 RESULTADOS

Para geração do modelo foram utilizados 29 registros de ocorrência. O modelo final (Figura 14) baseou-se em oito variáveis bioclimáticas e uma topográfica: amplitude média diurna de temperatura (BIO2), sazonalidade de temperatura (BIO4), temperatura máxima do mês mais quente (BIO5), amplitude anual de temperatura (BIO7), temperatura média dos meses mais frios (BIO11), precipitação anual (BIO12), sazonalidade de precipitação (BIO15), e elevação do terreno (h-dem). O modelo foi considerado válido, de acordo com as métricas de avaliação de desempenho: AUC = 0,97; TSS = 0,7; especificidade = 0,9; acurácia = 0,9. Apesar de o modelo apresentar TSS < 0,75, o modelo foi considerado satisfatório devido aos excelentes resultados das demais métricas de validação. A sazonalidade de temperatura (45,7% de contribuição), a altitude (22,4%) e a sazonalidade de precipitação (15,9%) foram as variáveis mais importantes na determinação da distribuição potencial de *A. rotundatum*. A primeira foi identificada como a variável que contribuiu com maior informação para o modelo quando utilizada em separado das demais (Figura 14), enquanto a altitude foi indicada como a variável que detém a maior parte da informação que não está presente nas outras variáveis. Dessa forma, tais variáveis foram as mais importantes na geração do modelo.

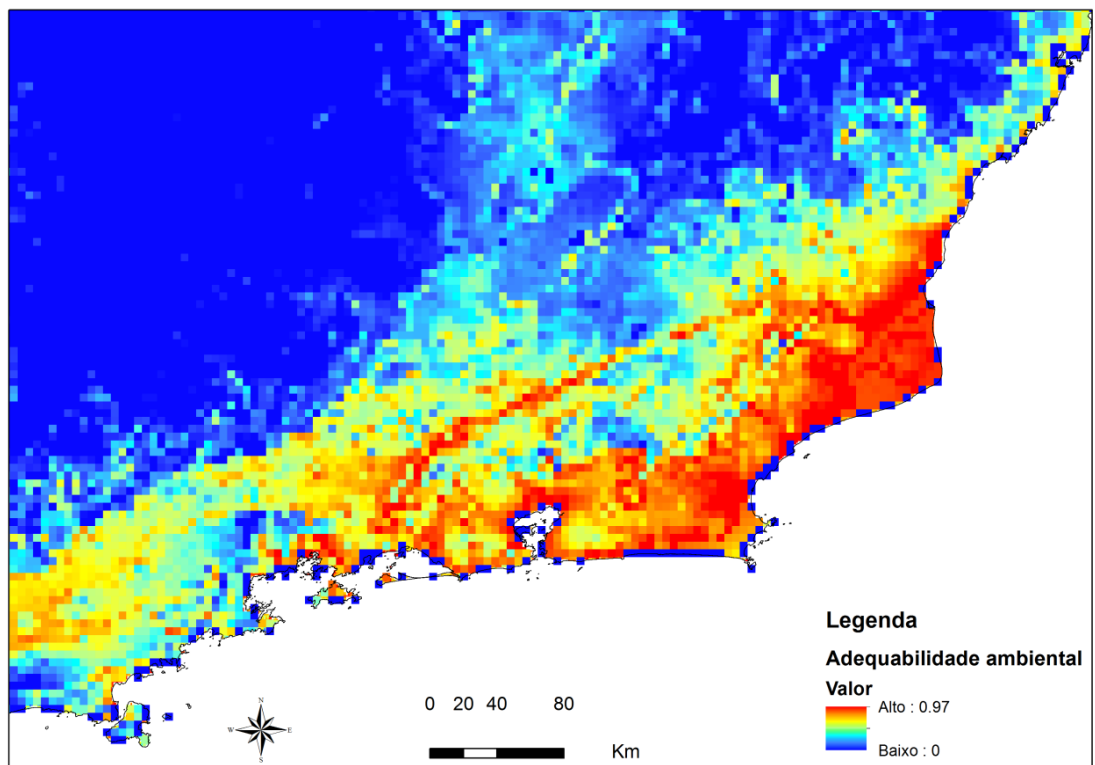


Figura 14: Mapa preditivo da distribuição de *Amblyomma rotundatum* no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

O modelo preditivo de *A. rotundatum* indicou ampla distribuição ecológica e geográfica dessa espécie de carrapato no estado, principalmente nas microrregiões Norte Fluminense, Baixadas Litorâneas, Metropolitana, Médio Paraíba e Costa Verde (Figura 14). Os menores valores de adequabilidade ambiental foram registrados principalmente para a Região Serrana e em áreas isoladas do extremo norte do estado (Figura 14). Também foi observada uma adequabilidade favorável para a presença de *A. rotundatum* em regiões insulares como nas Ilhas de Itacuruçá, Ilha da Marambaia e Ilha Grande, localizadas no sul do estado do Rio de Janeiro (Figura 14).

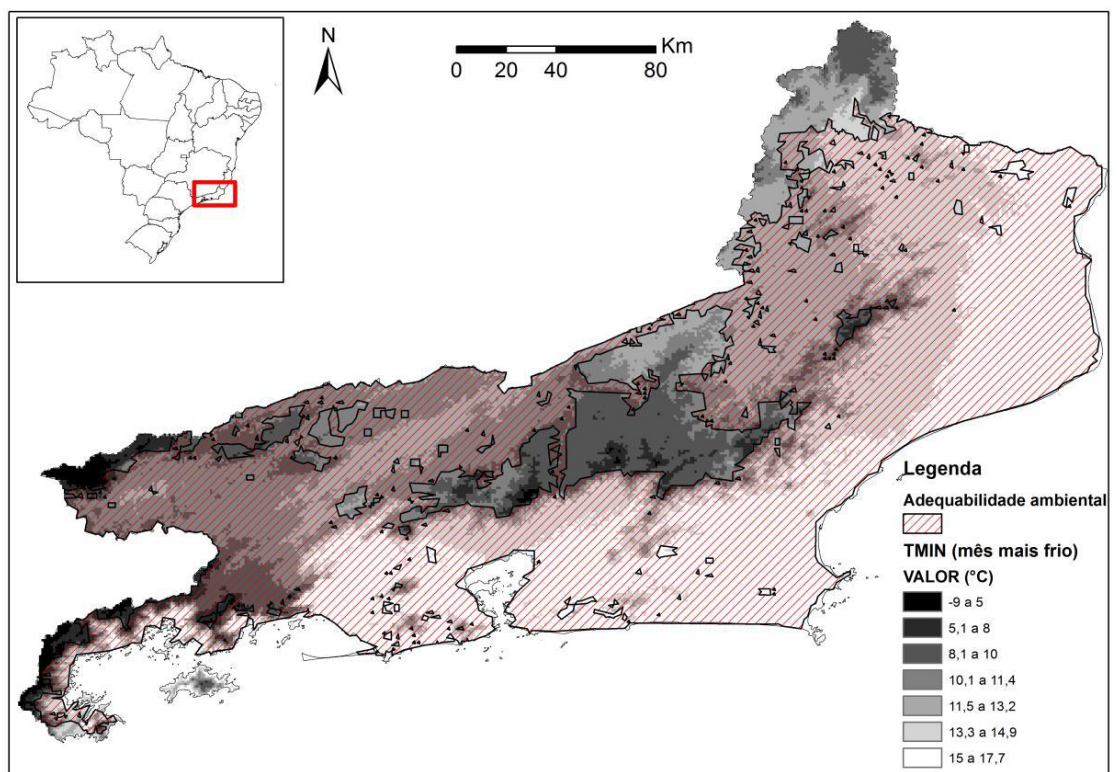


Figura 15: Mapa de temperatura mínima e distribuição preditiva de *Amblyomma rotundatum* para o estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Houve uma relação negativa dentre a altitude e a ocorrência de *A. rotundatum* no estado do Rio de Janeiro. O modelo resultante apontou valores altos de adequabilidade em regiões de baixas e médias altitudes, com elevações variando entre dois e 800m. A figura 4 indica uma influência da temperatura no modelo de distribuição preditiva. A presença de *A. rotundatum* foi prevista em ecorregiões com temperaturas mínimas entre 13°C e 17,7°C.

Tabela 6. Pontos reais da presença de *Amblyomma rotundatum* parasitando anfíbios e répteis em diferentes localidades do Brasil utilizados na elaboração do mapa preditivo do presente estudo.

Referência	Coordenadas	Hospedeiros
Luz et al. 2012	18° 23' S / 45° 17' W	<i>Rhinella schneideri</i>
Woehl 2002	26° 23' S / 49° 13' W	<i>Rhinella icterica</i>
Dantas_Torres et al. 2010	08° 30' S / 34° 52' W	<i>Rhinella jimi</i>
Figueiredo et al. 1999	21° 47' S / 47° 49' W	<i>Rhinella marina</i>
Szabó et al. 2007	13° 42' S / 50° 46' W	<i>Rhinella schneideri</i>
Santos et al. 2002	09° 07' S / 34° 60' W	<i>Rhinella marina</i> e <i>R. granulosa</i>
Luque et al. 2005	22° 27' S / 43° 28' W	<i>Rhinella icterica</i>
Labruna et al. 2004	10° 15' S / 63° 18' W	Não identificado
Dantas_Torres et al. 2008	07° 50' S / 34° 54' W	<i>Boa constrictor</i> , <i>Corallus hortulanus</i>
Dantas_Torres et al. 2008	08° 03' S / 34° 52' W	<i>Epicratus cenchria</i>
Dantas_Torres et al. 2008	08° 00' S / 35° 01' W	<i>Crotalus durissus cascavella</i>
Labruna et al. 2007	05° 11' S / 37° 20' W	<i>Boa constrictor</i>
Viana et al. 2012	21° 44' S / 41° 11' W	<i>Tropidurus torquatus</i> , <i>Ameiva ameiva</i> , <i>Phyllodytes olfersii</i>
Dantas_Torres et al. 2005	07° 49' S / 34° 56' W	<i>Crotalus (durissus) cascavella</i>
Pontes et al. 2009	22° 48' S / 22° 51' W	Não identificado
Morais et al. 2010	17° 51' S / 57° 33' W	<i>Palaosuchus palpebrosus</i>
Evans et al. 2000	30° 32' S / 52° 31' W	<i>Boa constrictor</i>
Arzua et al. 2005	48° 30' S / 39° 10' W	<i>Bothrops leucurus</i>

7.6 DISCUSSÃO

O modelo preditivo de *A. rotundatum* apresentou distribuição esperada da espécie, abrangendo grande parte do estado do Rio de Janeiro e algumas regiões insulares. Essas áreas previstas pelo modelo para ocorrência de *A. rotundatum*, mesmo sem registros conhecidos, apresentam condições ambientais favoráveis para desenvolvimento e manutenção de suas populações, considerando as variáveis utilizadas para a geração do modelo. Outro fator importante seria a presença dos hospedeiros ectotérmicos, principalmente anuros do gênero *Rhinella* nessas regiões (LUKE et al., 2005; SILVA et al., 2008; SILVEIRA et al., 2009; SILVA-SOARES et al., 2010; MONTESINOS et al., 2012; VIANA et al., 2012). Considerando que tanto o grupo dos répteis quanto dos anfíbios apresentam ampla distribuição nos continentes a geração do modelo apenas para o parasita, sem incluir os hospedeiros, parece ser satisfatório para o propósito de identificar outros locais para sua provável ocorrência.

A sazonalidade da temperatura foi o fator mais importante para a distribuição preditiva de *A. rotundatum*, o que indica que esse ixodídeo pode estar amplamente distribuído, principalmente em regiões com amplitude anual térmica menor. É possível que nessas condições esses carrapatos encontrem ambientes adequados para manutenção e desenvolvimento do seu ciclo de vida tanto na fase parasitária quanto na fase não parasitária. Os baixos valores de adequabilidade para a presença de *A. rotundatum* em regiões com temperaturas mínimas muito baixas (-9 a 8°C) nos leva a inferir que este pode ser um fator limitante para a colonização nas regiões montanhosas do estado, onde também se concentram as maiores altitudes (próximo dos 3000m) e as maiores sazonalidades na temperatura. Segundo Carneiro & Daemon (2001) as fases não parasitárias desses Ixodídeos são fortemente influenciadas pelas condições de temperatura, havendo uma associação com as condições fisiológicas e metabólicas dos carrapatos. Temperaturas abaixo de 15°C influenciam negativamente na oviposição das fêmeas e na taxa de eclosão das larvas (FARIAS et al., 1995). A temperatura também foi o principal fator no estudo feito por Estrada-Peña et al. (2012), esses autores desenvolveram um modelo de distribuição para *Hyalomma marginatum* no Western Palearctic e chegaram a conclusão que a temperatura mínima anual foi a principal barreira para distribuição dessa espécie de carrapato. Assim, acreditamos que uma temperatura mínima de 13°C, registradas para áreas de maior adequabilidade de *A. rotundatum*, talvez seja o mínimo de tolerância para uma população estável desse carrapato. Adicionalmente, sabe-se hoje que a temperatura é o principal regulador da fenologia dos carrapatos Estrada-Peña et al. (2013).

Apesar de Estrada-Peña et al. (2013) apontarem que variáveis topológicas e climáticas não devem ser inseridas para a modelagem de nicho ecológico em carrapatos, pois a associação das mesmas pode inflacionar os modelos, os testes de seleção de modelos assinalaram uma não correlação entre as variáveis climáticas e topológicas utilizadas em nosso modelo. Desta forma, não podemos ignorar a participação dessa variável no presente modelo, expressando valores mínimos de adequabilidade a *A. rotundatum*. Pires et al. (2013), durante estudo do parasitismo de *A. cajennense* em equinos no Rio de Janeiro, sugerem que a infestação de carrapatos está intimamente relacionada com as condições abióticas, e que regiões de baixa altitude é mais favorável para o estabelecimento da população do carrapato.. Dessa forma, podemos inferir que 800m seja uma faixa aproximada de tolerância para a presença de *A. rotundatum* em áreas de altitude. Em grandes altitudes, as baixas temperaturas nos topos de montanhas são constantes e a flutuação térmica diária ultrapassa a variação térmica anual, especialmente em regiões tropicais (ARAUJO & RAHBEK, 2006; CASSEMIRO et al., 2012). Essas características podem tornar o ambiente inadequado para uma possível

adaptação populacional de *A. rotundatum*, principalmente durante sua fase não parasitária. Além disso, a possível baixa densidade de seus hospedeiros ectotérmicos também poderia ser um dos fatores limitantes para a presença de *A. rotundatum* em altas elevações, visto que alguns estudos mencionam uma diminuição na abundância/densidade de anuros em altitudes elevadas (FAUTH et al., 1989, LEMCKERT & MAHONY, 2010).

A presença de *A. rotundatum* em áreas insulares é curiosa uma vez que sua locomoção é bastante restrita e seus hospedeiros teriam como barreira geográfica o mar. Isso impediria o trânsito desse macroparasita na direção continente – ilha e/ou ilha-continente. A explicação lógica é que tanto o carrapato quanto seus hospedeiros sempre estiveram presentes nessas áreas, sendo isolados por alterações geológicas. Acredita-se que durante o período-interglacial toda essa região passou por flutuações do nível do mar ficando, em alguns momentos, 100m acima ou 100m abaixo do nível do mar atual (MARTIM, 1997). Essas flutuações foram utilizadas para explicar a presença de *R. ornata* na Ilha da Marambaia (SILVA et al., 2008), um potencial hospedeiro para o carrapato em estudo. O mesmo pode ser explicado para as ilhas próximas ao continente, como Ilha Grande. Essa área era parte do continente até pouco tempo, sendo isolada há apenas 5.100 anos (GAMA et al., 2009).

A precipitação também foi importante para a distribuição preditiva de *A. rotundatum*. Contudo, nas áreas de maior adequabilidade para a presença de *A. rotundatum*, as precipitações apresentaram índices pluviométricos bastante variáveis: de 700 a 1500 mm na região norte, e de 700 a 2500 mm na região sul do estado. Observamos também a existência de sete regiões hidrográficas dentro da área preditiva gerada pelo modelo (INEA, 2013), o que pode ser importante para manutenção da umidade local, favorecendo o surgimento de microambientes para o estabelecimento de *A. rotundatum*. Estudos experimentais demonstram que este ixodídeo se estabelece melhor em umidades maiores ou iguais a 80%, e temperatura entre 26 e 27°C. É notório que carrapatos, durante a fase de vida livre, sofrem ações diretas de fatores abióticos como temperatura e déficit de saturação do vapor de água do ar, sendo esses fatores importantes para a realização da ecdise entre os estágios (larva, ninfa e adulto) e durante a procura por hospedeiros (RANDOLPH, 2004). Ademais, regiões com maiores precipitações e, conseqüentemente a umidade, favorecem a presença dos anfíbios hospedeiros e, logicamente, o aumento da população de *A. rotundatum* Koprivnikar et al. (2012).

De forma geral, o processo de montagem de comunidades prevê três filtros principais para o estabelecimento de uma espécie: histórico (barreiras geográficas), abiótico (condições ambientais para a espécie sobreviver e reproduzir), e biótico (interações com as outras espécies) (CORNWELL et al., 2006). A modelagem auxilia a previsão de locais adequados, levando em consideração as variáveis relacionadas ao segundo filtro. Entretanto, os parasitos ainda dependem do encontro de hospedeiros viáveis para sua manutenção e crescimento da população no local, o que dificultaria a possibilidade de uso de modelos mais simples que tenham uma quantidade de informação suficiente para observações de padrões ou tendências da sua distribuição geográfica. Apesar disso, para espécies mais generalistas em termos de hospedeiros, como *A. rotundatum*, os modelos que consideram apenas variáveis bióticas parecem ser uma boa aproximação da adequabilidade ambiental. Ao final, os estudos realizados em laboratório, apontando uma limitação da ocorrência da espécie dependente da temperatura ambiental, auxiliam na validação do modelo gerado.

8 CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados, pode se concluir que:

- Sapos em áreas mais antropizadas tendem a apresentar uma maior Intensidade Média de Carrapatos.
- O carrapato *Amblyomma rotundatum* pode apresentar um comportamento nidícola.
- Altas infestações de *Amblyomma rotundatum* podem causar impactos negativos nas populações de *Rhinella* em uma determinada área.
- Larva e ninfas de *Amblyomma rotundatum* parasitam sapos nos meses mais frios e secos, enquanto fêmeas nos meses mais quentes e chuvosos.
- O ciclo biológico de *Amblyomma rotundatum* possui um comportamento de três hospedeiros.
- O anuro *Rhinella schneideri* é um ótimo hospedeiro para o carrapato *Amblyomma rotundatum*.
- O ciclo de *Amblyomma rotundatum* em sapos tem uma duração de 126 a 220 dias.
- Ninfas e fêmeas tem maior longevidade do que larvas, quando em jejum.
- Este estudo apresenta o primeiro registro de *A. rotundatum* parasitando espécies *R. ornata* e *R. crucifer* no Brasil.
- A temperatura foi o parâmetro mais determinante na presença de *A. rotundatum*, que apresentou potencial de ocorrência em grande parte do estado do Rio de Janeiro, inclusive em regiões insulares.
- As microrregiões Norte Fluminense, Baixadas Litorâneas, Metropolitana, Médio Paraíba e Costa Verde apresentaram maior adequabilidade para a presença de *A. rotundatum*.

9 ANEXOS

ANEXO 1. Artigo publicado:

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; PIRES, M. S.; SILVA, H. R.; BARROS-BATTESTI, D. M. Life cycle and behavior of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions and remarks on parasitism of toads in Brazil. **Experimental Applied Acarology**, v.60, p. 55–62, 2013.

ANEXO 2. Artigo publicado:

LUZ, H. R. & FACCINI, J. L. H. Parasitismo por carrapatos em Anuros no Brasil. Revisão. **Revista Veterinária e Zootecnia**, v. 20 (Edição Comemorativa), p. 100-111, 2013.

ANEXO 3.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; SILVA, H. R. Patterns of parasitism by *Amblyomma rotundatum* (Ixodidae) on *Rhinella schneideri* (Bufonidae) in natural and human-altered environments. ARTIGO EM TRAMITAÇÃO: **submetido**.

ANEXO 4.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H.; SILVA, H. R. Parasitism of *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari, Ixodidae) in toads *Rhinella ornata* (Spix) (Amphibia, Bufonidae): new host record. ARTIGO EM TRAMITAÇÃO. **Aguardando submissão**.

ANEXO 5.

LUZ, H. R.; Winck, G. R.; FACCINI, J. L. H.; SILVA, H. R. A macroparasite on a macroscale: Estimates of environmental suitability for *Amblyomma rotundatum* (Acari, Ixodidae). ARTIGO EM TRAMITAÇÃO. **Aguardando submissão**.

9.1 ANEXO 1

Exp Appl Acarol (2013) 60:55–62
DOI 10.1007/s10493-012-9628-8

Life cycle and behavior of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions and remarks on parasitism of toads in Brazil

Hermes Ribeiro Luz · João Luiz Horacio Faccini · Marcus Sandes Pires · Hélio Ricardo da Silva · Darcí Moraes Barros-Battesti

Received: 28 July 2012 / Accepted: 10 October 2012 / Published online: 26 October 2012
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2012

Abstract The life cycle and behavior of *Amblyomma rotundatum* were evaluated under laboratory conditions. The experiment started with four engorged females collected from toads (*Rhinella schneideri*) naturally infested at the Pirapitinga Ecological Station in the state of Minas Gerais, Brazil. Developmental periods of free-living stages were assessed in an incubator at 27 ± 1 °C, >80 % RH and darkness. The complete life cycle, including pre-attachment periods for each parasitic stage, ranged from 126 to 228 days. The pre-attachment, feeding and molting periods increased as the life cycle progressed from larva to adult female. Oviposition lasted about 20 days, with the peak occurring on days 4 and 5. Longevity of nymphs and adult females was quite similar (approximately 250 and 240 days, respectively) and slightly longer than that of larvae. Lesions caused by tick feeding are discussed and a list of known hosts, including new host records for *A. rotundatum*, is offered.

Keywords *Amblyomma rotundatum* · *Rhinella schneideri* · Life cycle · Host-parasite relation · Lesions · Brazil

9.2 ANEXO 3

PARASITISMO POR CARRAPATOS EM ANUROS NO BRASIL. REVISÃO

Hermes Ribeiro Luz¹
Jélio Luiz Horácio Faccini¹

RESUMO

Vários endo e ectoparasitas já foram registrados em anuros: bactérias, fungos, protozoários, helmintos e artrópodes. Contudo, apesar do grande número de espécies de carrapatos existentes, apenas seis foram registradas parasitando anuros do gênero *Rhinella* no Brasil, sendo *Amblyomma dixsoni* e *Amblyomma rotundatum* as mais comuns. Ambas espécies apresentam três estágios no desenvolvimento de seu ciclo vital (larva, ninfa e adulto), sendo que todos são ativos e dependem do repasto sanguíneo para desempenho pleno de suas funções biológicas. Existem diversos grupos de ectoparasitas de anfíbios atuando como vetores de agente infecciosos: Sanguessugas (*Batrachobdella picta*) transmitindo tripanossomas para *R. clamitans*, *R. catesbeiana* e *R. selenarionales*, *Hyla crucifer*, *R. americana*, *R. sylvatica* e *Plethodon cinereus*. Mosquitos do gênero *Phlebotomus* transmitindo tripanossomas em rãs na China e o carrapato *A. rotundatum* transmitindo *Hemolivia* e *Hepatozon*. *A. dixsoni* é vetor *Hepatozon fusifex*. Além dos protozoários, há relatos também da infecção por *Rickettsia belli* em ambas espécies *A. rotundatum* e *A. humerale*. Os carrapatos podem causar lesões nos sapos durante o repasto sanguíneo resultando no aparecimento de lesões ulcerativas e hemorragias.

Palavras-chave: anuros, parasitismo, carrapatos.

TICKS PARASITIZING ANURANS IN BRAZIL. REVIEW

ABSTRACT

In the toads there have been recorded several endo and ectoparasites: bacteria, fungi, protozoa, helminths and arthropods. However, despite the hundreds of species of ticks described, only six were recorded from toads of the genus *Rhinella* in Brazil. *Amblyomma dixsoni* and *Amblyomma rotundatum* are the most common. Both species have three stages in their life cycle (larva, nymph and adult), all of which are active and depend on a blood meal to perform its biological functions. There are several groups of ectoparasites in amphibians acting as vectors of infectious agents: *Batrachobdella picta* transmitting trypanosomes to *R. clamitans*, *R. catesbeiana* and *R. selenarionales*, *Hyla crucifer*, *R. americana*, *R. sylvatica* and *Plethodon cinereus*. Mosquitoes of the genus *Phlebotomus* transmitting trypanosomes to frogs in China, *A. rotundatum* transmitting *Hemolivia* and *Hepatozon* and *A. dixsoni* vectoring *Hepatozon fusifex*. Besides the protozoa, there are also reports of infection by *Rickettsia belli* in both *A. rotundatum* and *A. humerale*. Ticks can also cause lesions in toads during the blood meal resulting in the development of ulcerative lesions and bleeding.

Keywords: anurans, parasitism, ticks.

¹ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 23890-000, Brazil. Corresponding author: e-mail: hermes@ufrjr.br

Luz HR, Faccini JLH. Parasitismo por carrapatos em anuros no Brasil. Revisão. Vet. e Zootec 2003; 20 (Edição comemorativa): 106-111.

9.3 ANEXO 5

Patterns of parasitism by *Amblyomma rotundatum* Koch 1844 (Ixodidae) on *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) (Bufonidae) in natural and human-altered environments.

Hermes Ribeiro Luz¹ • João Luiz Horacio Faccini¹ • Hélio Ricardo da Silva²

¹Postgraduate Veterinary Science, Veterinary Institute - IV, Federal Rural University of Rio de Janeiro - UFRRJ

²Department of Animal Parasitology, Veterinary Institute - IV, Federal Rural University of Rio de Janeiro – UFRRJ

³Herpetology Laboratory, Department of Animal Biology, Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil, e-mail: helio@ufrj.br

Abstract

In the present study, ticks were sampled from specimens of the rococo toad, *Rhinella schneideri*, and by flannel dragging on Pirapitinga and Boi Islands, respectively with and without anthropogenic influences. The study sites were located in the São Francisco river near the Três Marias hydroelectric dam on the savanna of southeastern Brazil. A total of 120 toads were examined, 63 (52.5%) of which were only parasitized by specimens of *Amblyomma rotundatum* totaling 96 larvae, 163 nymphs and 134 females. A larger number of infested toads (n = 48/80, 60%) were found in the Pirapitinga Island in comparison to Boi Island (n = 15/40, 37.5%). However, greater mean intensity of infestation was found on Boi Island (12.1 ticks/toad) in comparison to the Pirapitinga Island (n = 4.4 ticks/toad). *A. rotundatum* exhibited highly aggregated distribution at both sites surveyed, but was much more aggregated on Boi Island. The differences in prevalence, mean intensity of infestation and aggregation between the two study sites are possibly related to anthropogenic influences. Overall, peak abundance of larvae and nymphs occurred in the dry season (May to September), whereas peak abundance of females occurred in the wet season (October to April). Additionally, 369 ticks were collected by flannel dragging totaling 68 larvae, 46 nymphs and 255 adults. Among these ticks, *Amblyomma cajennense* was the most common, followed by *A. parvum*, *A. dubitatum*, *A. ovale* and *A. coelebs*. The finding of two engorged *A. rotundatum* nymphs in the same resting places of two toads and the absence of this species in the dragged areas suggest a behavior similar to that observed for the brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus*.

Key words: *Amblyomma rotundatum*, *Rhinella schneideri*, aggregation, parasite-host relations, Brazil

9.4 ANEXO 6

Parasitism of *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari, Ixodidae) in toads *Rhinella ornata* (Spix) (Amphibia, Bufonidae): new host record.

Hermes Ribeiro Luz¹ . João Luiz Horacio Faccini² . Hélio Ricardo da Silva³

¹ Postgraduate Veterinary Science, Veterinary Institute - IV, Federal Rural University of Rio de Janeiro - UFRRJ

² Department of Animal Parasitology, Veterinary Institute - IV, Federal Rural University of Rio de Janeiro - UFRRJ

³ Herpetology Laboratory, Department of Animal Biology, Institute of Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil, e-mail: helio@ufrj.br

Abstract

Amblyomma rotundatum was first sampled individuals *Rhinella ornata* (Anura: Bufonidae) from four populations and three continental island in the state of Rio de Janeiro .. We analyzed 279 frogs and of these, 94 (33.7%) were parasitized by ticks identified as *A. rotundatum* (n = 240) at all stages: larva (n = 24), nymph (n = 104) and adult (n = 112). When comparing the proportion of parasitism between samples, it is similar only between I. Marambaia and I. Large ($p > 0.05$). Among the continental samples, the number of parasitized frogs did not differ statistically ($p > .05$). The average intensity of *A. rotundatum* was higher in Madeira (IMP = 2.29) and I. Itacuruça (IMP = 2.06). Between locations, Seropédica (IMP = 6.36) showed a higher value IMP, followed by Angra dos Reis (IMP = 4.50). ticks were found in different regions of the body of the host. The highest frequency was found to be 1-6 ticks on a single host. We found that specimens of *A. rotundatum* occurred more frequently in ventral regions (n = 26), hind limb (n = 25) and back (n = 21), however, the frequency of parasitism in these areas did not differ significantly ($p \Rightarrow .05$).

Keywords: ectoparasite, degree of infestation, island, continent, frogs, abiotic.

10 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHID, S. M. M.; FONSECA, Z. A. A. S.; FERREIRA, C. G. T.; MARTINS, T. F.; DE OLIVEIRA, M. F. Parasitismo de *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari: Ixodidae) em *Bufo marinus* (Linnaeus) (Anura: Bufonidae), em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 11, n.2, p. 153-156, 2009.

ALLOUCHE, O.; TSOAR, A.; KADMON, R. Assessing the accuracy of species distribution models: prevalence, kappa and the true skill statistic (TSS). **Journal of Applied Ecology**, v. 43, p.1223-1232, 2006.

AMPHIBIAWEB: Information on amphibian biology and conservation. Berkeley, California: AmphibiaWeb. Available: <http://amphibiaweb.org/>. (Accessed: Nov 8, 2012). DEZEMBRO.

ANTONUCCI A. M.; ODA F. H.; SIGNORELLI L, SANTANA N.F.; MENDES M. C. Parasitismo de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) em *Rhinella schneideri* (Werner, 1894) (Anura: Bufonidae) no estado do Paraná, Brasil. **Natureza online**, v.9, p. 103-105, 2011.

ANTONUCCI, A. M.; MARCANTONIO, A. S.; FRANÇA, F. M.; PEREIRA, J. R. Ocorrência de *Amblyomma rotundatum* Koch,1844 (Acari: Ixodidae) em *Bufo ictericus* Spix,1824 (Anura: Bufonidae) no Vale do Paraíba, São Paulo, Brasil. **Natureza Online**, v.10, p. 5-6, 2012.

ARAGÃO, H. B. Contribuição para a sistemática e biologia dos ixódidas. Partenojenez em carrapatos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 4, p.96-119, 1912.

ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrophes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759– 843, 1936.

ARAÚJO, M. B.; RAHBEK, C. How Does Climate Change Affect Biodiversity. **Science**, v. 313, p.1396-1397, 2006.

ARAÚJO, M. B.; NEW, M. Ensemble forecasting of species distributions. Trends in **Ecology & Evolution**, v.22, n.1, p. 42-47, 2007.

ARZUA, M.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. Catalogue of the tick collection (Acari, Ixodida) of the Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 623-632, 2005.

AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. *BioEstat 3.1*: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. **Sociedade Civil Mamirauá**, Belém/CNPq, Brasília, Brasil, 2003. 290pp.

BALDISSERA, J. R. F. A.; CARAMASCHI, U.; HADDAD, C. F. B. Review of the *Bufo crucifer* species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura,

Bufonidae). **Arquivos do Museu Nacional**, v. 62, n. 3, p. 255-282, 2004.

BALL, G. H.; CHAO, J. TELFORD, J. R. S. R. *Hepatozoon fusifex* sp. n., hemogregarine from *Boa constrictor* producing marked morphological changes in infected erythrocytes. **Journal of Parasitology**, v.55, p. 800–813, 1969.

BARBIERI, F.S., CHACÓN, S.C., LABRUNA, M.B., BARROS-BATTESTI, D.M., FACCINI, J.L.H. & FAMADAS, K.M. Topographical and numerical study of the idiosomal integumentary structures of the larva of four Neotropical species of *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v. 68, p. 57–70, 2007.

BARBIERI, F. S.; CHACÓN, S. C.; LABRUNA, M. B.; BARROS-BATTESTI, D. M.; FACCINI, J. L. H.; FAMADAS, K. M. Topographical and numerical study of the idiosomal integumentary structures of the larva of four Neotropical species of *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Systematic Parasitology**, v.68, p. 57–70, 2000.

BARROS-BATTESTI, D. M.; LUZ, H. R.; OUVEMAY, D.; ALBUQUERQUE, G. L. C.; LANDULFO, G. A.; SANTOS, S. J.; VIEGAS, C. A. C.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B.; FACCINI, J. L. H. Description of *Ornithodoros* sp.n. (Acari: Argasidae) found in Brazil on a new host class. **Ticks and Tick-borne pathogens International Conference**. Zaragoza (Spain). 2011. p.57.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. *Carrapatos de importância Médico-Veterinária da região neotropical*. São Paulo: Vox/ICTTD-3/**Butantan**, 2006. 223p.

BARROS, D. M.; BAGGIO, D. Ectoparasites Ixodida Leach, 1817 on wild animals in the state of Paraná, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.87, p.291–296, 1992.

BARTA, J. R.; DESSER, S. S.; Blood parasites of amphibians from Algonquin Park, Ontario. **Journal of Wildlife Diseases**, v.20, p.180-189, 1984.

BENNETT, G. F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae) I. Influence of tick size on egg production. **Acarologia**, v.16, p.1652–1661, 1974.

BOULARD, Y.; BOULARD, Y.; PETIT, G.; LANDAU, I. Ultrastructure of developmental stages of *Hemolivia stellata* (Apicomplexa: Haemogregarinidae) in the cane toad *Bufo marinus* and in its vector tick *Amblyomma rotundatum*. **Parasitology Research**, v.87, p.598–604, 2001.

BOURG, N. A.; McShea, W. J.; Gill, D. E. Putting a CART before the search: Successful habitat prediction for a rare forest herb. **Ecology**, v.86, p.2793-2804, 2005.

BRODKIN, G. E. The biology of *Amblyomma dissimile* Koch, with an account of its power of reproducing parthenogenetically. **Parasitology**, v.11, p.10-17, 1918.

BRUM, J. G. W.; COSTA, P. R. P. Confirmação da ocorrência da *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) no Rio Grande do Sul. **Arquivo do Instituto de Biología**. v.70, p. 105–106. 2003.

BRUM, J. G. W.; RICKES, E. M. *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) em serpente sucuri (*Eunectes murinus*) (Reptilia: Boidae) no Parque Zoológico do Rio Grande do Sul. Arquivos do Instituto de Biología. v.70, p. 215–216, 2003.

BUSH, A. O.; FERNÁNDEZ, J. C.; ESCH, G. W.; SEED, J. R. **Parasitism: the diversity and ecology of animal parasites**. Cambridge University Press, 2001. 566p.

CARNEIRO, M. E.; DAEMON, E. Influência de diferentes temperaturas sobre os tipos celulares presentes na hemolinfa de adultos de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodoidea: Ixodidae). Revista Brasileira Parasitologia Veterinária, v.10, n.1, p. 21-27, 2001.

CARRASCAL, J.; OVIEDO, T.; MONSALVE, S. Torres A. *Amblyomma dissimile* (Acari: Ixodidae) parasito de *Boa constrictor* en Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v. 14, p.1745–1749, 2009.

CASSEMIRO, F.; SIDNEY, A. S.; GOUVEIA, F.; DINIZ-FILHO, J. A. F. Distribuição de *Rhinella granulosa*: integrando envelopes bioclimáticos e respostas ecofisiológicas. **Revista da Biologia**, v.8, p. 38-44, 2012.

CHACÓN, S. C.; BARBIERI, F. S.; CORREIA, P. G.; FACCINI, J. L. H.; DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não-parasitária sobre a fase parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira Parasitologia**, v. 9, n. 3, p.158-163, 2002.

CHAPARRO, J. C.; PRAMUK, J. B.; GLUESENKAMP, A. G. A new species of arboreal *Rhinella* (Anura: Bufonidae) from a cloud forest of southeastern Peru. **Herpetology**, v.63, p. 203–212, 2007.

CHILTON, N. B.; BULL, C. M.; ANDREWS, R. H. Differences in attachment site of the Australian reptile tick *Amblyomma limbatum* (Acari, Ixodidae) on the 2 host species. **International Journal for Parasitology**, v.22, p.783–787, 1992.

COMITÊ BRASILEIRO DE REGISTROS ORNITOLÓGICOS. *Listas das aves do Brasil*. 10ª Edição, 25/1/2011, Disponível em <<http://www.cbro.org.br>>. Acesso em: [05/012013], 2011.

CORRÊA, S. H. R.; PASSOS, E. C. Wild animals and public health. In: FOWLER, M.E.; CUBAS, Z.S. **Biology, medicine, and surgery of South American wild animals**. Ames: Iowa University Press, p. 493-499, 2001.

DANTAS-TORRES, F.; FERREIRA, D. R. A.; MELO, L. M. DE.; LIMA, P. A. C. P.; SIQUEIRA, D. B.; ALBUQUERQUE, L. C. R. DE.; MELO, A. V. & RAMOS, J. A. C. Ticks on captive and free-living wild animals in northeastern Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 50, p. 181–189, 2010.

DANTAS-TORRES, F.; ONOFRIO, V. C. & BARROS-BATTESTI, D. M. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Brazil. **Systematic & Applied Acarology**, v.14, p. 30–46, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; OLIVEIRA-FILHO, E. F.; SOARES, F. A.; SOUZA, B. O. F.;

VALENÇA. R. B. P.; F. B. Ticks infesting Amphibians and Reptiles in Pernambuco, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n. 4, p. 218-221, 2008.

DANTAS-TORRES F.; SIQUEIRA D, B.; ALBUQUERQUE, L. C. R.; SOUZA, D. S.; ZANOTTI, A. P.; FERREIRA, D. R. A.; MARTINS, T. F.; SENNA, M. B.; WAGNER, P. G. C.; SILVA, M. A.; MARVULO, M. F. V.; LABRUNA, M. B. Ticks infesting wildlife species in Northeastern Brazil with new host and locality records. *Journal of Medical Entomology*, v.47, p.1243–1246, (2010).

DESSER, S. S. The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. **Journal Parasitology**, v.87, p.152-60, 2001.

DONALISIO M.R.; PETERSON A.T. Environmental factors affecting transmission risk for hantaviruses in forested portions of southern Brazil. **Acta Tropica**, v.119, p.125-130, 2011.

DONNELLY, M. A. & CRUMP, M. L. Potential Effects of Climate Change on Two Neotropical Amphibia Assemblages. **Climatic Change**, v.39, p.541-561, 1998.

DUELLMAN, W. E. & TRUEB, L. 1994. *Biology of Amphibians*. New York, **McGraw-Hill Book Company**, 670p.

DUNN LH. Studies on the iguana tick *Amblyomma dissimile*, in Panama. **Journal Parasitology**. v.5, p. 1-10, 1918.

ESTRADA-PEÑA, A.; SANCHEZ, N.; ESTRADA-SANCHEZ, A. An assessment of the distribution and spread of the tick *Hyalomma marginatum* in the western Palearctic under different climate scenarios. **Vector Borne Zoonotic Disease**. v.12, p. 758–768, 2012.

ESTRADA-PEÑA, A.; GRAY, J. S.; KAHL, O.; LANE, R. S. NIJHOF, A. Research on the ecology of ticks and tick-borne pathogens methodological principles and caveats.. **Front Cell Infect Microbiology**, v.3, p.1– 12, 2013.

EVANS, D.E., J.R. MARTINS & A.A. GUGLIELMONE. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Brazil, their host and geographic distribution -1. The state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.

FACCINI, J. L. H.; MARTHA, Q. L. L. E. D. Biologia da fase não parasitária de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodiade) alimentados em *Bufo ictericus*. In: XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, Salvador. Anais do XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Salvador: Universidade Estadual de Santa Cruz. v.01, p. 91-91. 1999.

FACCINI, J. H. BARROS-BATTESTTI, D. Aspectos gerais da biologia e identificação de carrapatos. In: Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Vox/ICTTD/**Butantan**, 2006; 223p.

FAUTH, J. E.; CROTHER, B. I.; SLOWINSKI, J. B. Elevational patterns of species richness, evenness and abundance of the Costa Rican leaf-litter herpetofauna. **Biotropica**, v. 21, p. 178-185, 1989.

FARIAS, N. A.; STOBBE, N. S.; CHRISTOVÃO, M. L.; PERRI, S. H. V.; COSTA, A. J. Influência das condições climáticas da Região Noroeste do Estado de São Paulo, Brasil, sobre os estágios não-parasitários do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini,1887) (Acari:Ixodidae). *Revista Brasileira Parasitologia*, v. 4, n. 2, p. 67 – 77, 1995.

FENG, L. S.; CHAO, C. S. The development of *Trypanosoma bocagei* in *Phlebotomus squamirostris*. *Chinese Medical Journal*, v.62, p.210-217, 1943.

FIGUEIREDO LTM, BADRA SJ, PEREIRA LE, SZABÓ MPJ. Report on ticks collected in the Southeast and MidWest regions of Brazil: analyzing the potential transmission of tick-borne pathogens to man. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.32, n.6, p.613-619, 1999.

FONSECA CR et.al. Metamorfose: O declínio mundial dos anfíbios é agravado pela desconexão entre o hábitat aquático dos girinos e o hábitat terrestre dos adultos, induzida pelas atividades humanas. *Revista Scientific American Brasil*. 2008. p. 72.

FREITAS, L. H. T.; FACCINI, J. L. H.; DAEMON, E.; PRATA, M. C. A.; BARROS-BATTESTI, D. M. Experimental infestation with the immatures of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) on *Tropidurus torquatus* (Lacertilia: Iguanidae) and *Oryctolagus cuniculus*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.56, n.1, p.126-129, 2004.

FROST DR.et al. The Amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*. p.297, p.1–370, 2006;

GIARETTA, A. A.; FACURE, K. G.; SAWAYA, R. J.; De M. MEYER, J. H.; CHEMIM, N. Diversity and Abundance of Litter Frogs in a Montane Forest of Southeastern Brazil: Seasonal and Altitudinal Changes. *Biotropica*, v.31, n.4, p.669-674, 1999.

GIOVANELLI, J. G. R.; SIQUEIRA, M. F.; HADDAD, C. F. B.; ALEXANDRINO, J. Modeling a spatially restricted distribution in the Neotropics: How the size of calibration area affects the performance of five presence-only methods. *Ecological Modelling*, v. 221, p.215-224, 2010.

GERRA, R. M. S. N. C.; SILVA, A. L. A.; FREIRE, N. M. S. *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) in *Kinosternon scorpioides* L. (Chelonia: Kinosternidae) in Maranhão state, Brazil. *Entomologia y Vectores*. v.7, n. 3, p. 335-338, 2000.

GUISAN, A.; THUILLER, W. Predicting species distributions: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters*, v.8, p. 993-1009, 2005.

GOMES, L. D. H. Avaliação dos fatores causadores do declínio populacional de anfíbios, com ênfase na doença quitridiomicose. Monografia (curso de graduação em Ciências biológicas) Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora; 2006. p.38.

GERRA, R. M. S. N. C.; SILVA, A. L. A.; FREIRE, N. M. S. *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) in *Kinosternon scorpioides* L. (Chelonia: Kinosternidae) in Maranhão state, Brazil. **Entomologia y Vectores**. v.7, n. 3, p. 335-338, 2000.

GUGLIELMONE, A. A.; NAVA, S. Hosts of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 and *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). **Zootaxa**. 2010;2541:27-49.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. São Paulo: Plêide Fapesp, 2001. 218p.

HADDAD, C. F. B.; TOLEDO, L. F.; PRADO, C. P. A. Anfíbios da Mata Atlântica. **Editora Biotrópica**. 1ª Ed. São Paulo. 2008. 234p.

HOLMES, J. C. Parasites as threats to biodiversity in shrinking ecosystems. **Biodiversity and Conservation**, v. 5, p. 1975-1983, 1996.

IBAMA. **Ecosistemas Brasileiros: valorização da biodiversidade**, 2007. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas>>. Acesso em: 23 de novembro de 2013.

ILLOLDI-RANGEL, P.; RIVALDI, C.; SISSEL, B.; FRYXELL, R. T., PÉREZ G. G.; MORENO, A. R.; WILLIAMSON, P.; MONTIEL-PARRA, G.; SÁNCHEZ-CORDERO, V.; SARKAR, S. Species Distribution Models and Ecological Suitability Analysis for Potential Tick Vectors of Lyme Disease in Mexico, **Journal of Tropical Medicine**, ID 959101, 2012. doi:10.1155/2012/959101, 2012.

INEA.< <http://www.inea.rj.gov.br/recursos/arquivos/RegioesHidrograficas.pdf>> [acessado em 14/09/2013].

IVANCOVICH, J.C. 1973. Las garrapatas del Chaco y Formosa. Primera comunicación. **Revista de Investigaciones Agropecuarias, Patología Animal**, v. 10, p. 9–24, 1973.

IZECKSOHN, E.; CARVALHO-E-SILVA, S. P. Anfíbios do município do Rio de Janeiro. Editora UFRJ, Rio de Janeiro, Brasil, 2001. 148pp.

IBAMA. **Ecosistemas Brasileiros: valorização da biodiversidade**. Disponível em: <<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas>>. Acesso em: 23 de novembro de 2013. (2007)

JAKOWSKA, S. Lesions produced by ticks, *Amblyomma dissimile*, in *Bufo marinus* toads from the Dominican Republic. **American Zoologist**. 1972; 12: 731.

JONES, E. K.; CLIFFORD, C. M.; KEIRANS, J. E.; KOHLS, G. M. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. Brigham Young University, Science Bulletin, **Biological Series**. 1972; 17: 1–40.

JUNCÁ, F. A. Declínio mundial das populações de anfíbios. Sitientibus Série Ciências Biológicas vol.1. Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, BA, Brasil. 2001, v.1, p.84-87.

KNISPEL, S. R.; F. B. BARROS. Anfíbios anuros da região urbana de Altamira (Amazônia Oriental), Pará, Brasil. **Biotemas**, v. 22, n. 2, p. 191-194, 2009.

KEIRANS, J. E.; OLIVER Jr. J. H. First description of the male and redescription of the immature stages of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae), a recently discovered tick in the U.S.A. **The Journal of Parasitology**, v. 79, p. 860-865, 1993.

KEIRANS, J. E.; DURDEN, A. L. Illustrated Key to Nymphs of the Tick Genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) Found in the United States. **Journal of Medical Entomology**, v. 35, n. 4, p. 489-495, 1998.

KOPRIVNIKAR, J.; MARCOGLIESE, D. J.; ROHR, J. R.; ORLOFSKE, S. A.; RAFFEL, T. R.; JOHNSON, P. T. J. Macroparasite Infections of Amphibians: What Can They Tell Us?. **EcoHealth**, v.9, p.342–360, 2012.

LABRUNA, M. B.; SALIM, M. V.; NAVA, S.; BERMUDEZ, S.; VENZAL, J. M.; DOLZ, G.; ABARCA, K.; ROMERO, L.; SOUSA, R.; OTEO, J.; ZAVALA-CASTRO J. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. **Revista Medicina Veterinária e Zootecnia**, Córdoba, v. 16, n. 2, p. 2435-2457, 2011.

LABRUNA, M. B.; AHID, S. M. M.; SOARES, H. S.; SUASSUNA, A. C. D. Hyperparasitism in *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae). **Journal Parasitology**. v.93, n. 6, p. 1531–1532, 2007.

LABRUNA, M. B.; JORGE, R. S. P.; SANA, D. A.; JÁCOMO, A. T. A.; KASHIVAKURA, C. K.; FURTADO, M. M.; FERRO, C.; PEREZ, S. A.; SILVEIRA, L.; SANTOS, T. S.; MARQUES, S. R.; MORATO, R. G.; NAVA, A.; ADANIA, C. H.; TEIXEIRA, R. H. F.; GOMES, A. A. B.; CONFORTI, V. A.; AZEVEDO, F. C. C.; PRADA, C. S.; SILVA, J. C. R.; BATISTA, A. F.; MARVULO, M. F. V.; MORATO, R. L. G.; ALHO, C.J.R., PINTER, A., FERREIRA, P.M., FERREIRA, F., BARROS-BATTESTI, D.M. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 149–163, 2005a.

LABRUNA, M. B.; TERRASSINI, F.A.; CAMARGO, L. M. First Report of the Male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a Field-Collected Host. **Journal Medical Entomology**, v. 42, p. 945–947, 2005b.

LABRUNA, M. B. Carrapatos. *A Hora Veterinária*. v.137, p. 63-65, 2004.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; POPOV, V.; WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondonia, western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, p. 1073–1081, 2004.

LABRUNA, M. B.; KASAI, N.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L.H, GENNARI S. M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brasil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.105, p.65-77, 2002.

LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Study of the weight of eggs from six ixodid species from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.92, p.205–207, 1997.

LAINSON, R.; SOUZA, M. C.; FRANCO, C. M. Natural and experimental infection of the lizard *Ameiva ameiva* with *Hemolivia stellata* (Adeleina: Haemogregarinidae) on the toad *Bufo marinus*. **Parasite**, v.14, n.4, p.323-328, 2007.

LAMPO, M.; RANGEL, Y.; MATA, A. Genetic markers for the identification of two tick species, *Amblyomma dissimile* and *Amblyomma rotundatum*. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 382-386, 1997.

LAMPO, M.; BAYLISS, P. The impact of ticks on *Bufo marinus* from native habitats. **Parasitology**, v.113, p.199-206, 1996.

LEMA, T.; MARTINS, LA. Anfíbios do Rio Grande do Sul: Catálogo, Diagnoses, Distribuição, Iconografia. EDIPUCRS, Porto Alegre 235p, 2011.

LEMCKERT, F.; MAHONY, M. J. The relationship among multiple-scale habitat variables and pond use by anurans in northern New South Wales, Australia. **Herpetological Conservation Biology**, v.5, p. 537-547, 2010.

LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH AR, L. O. M. J.; LYNN, D.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANDKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F. G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LIMA, L. M. Q. Biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) alimentados experimentalmente em sapos da espécie *Bufo icetricus* (Spix, 1824) (Anura: Bufonidae). Dissertação. Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 2003. 23p.

LOPES, S. G.; ANDRADE, G. C.; COSTA-JÚNIOR, L. M. A first record of *Amblyomma dissimile* (Acari: Ixodidae) parasitizing the lizard *Ameiva ameiva* (Teiidae) in Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 262-264, 2010.

LUQUE, J. L.; MARTINS, N. A.; TAVARES, L. E. R. Community structure of metazoan parasites of the yellow cururu toad, *Bufo ictericus* (Anura, Bufonidae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Parasitologica**, v.50, p. 215–220, 2005.

LUZ, H. R.; FACCINI, J. L. H. Parasitismo de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri* na Estação Ecológica de Piratininga, Minas Gerais. In: *Anais do 16º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária*; 2010, Campo Grande. **Campo Grande, MS: CBPV**; 2010.

MACIEL, N. M. Sistemática e biogeografia do grupo *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Anura: Bufonidae). **PhD Thesis**, Universidade de Brasília, Brazil. 2008; 128pp.

MARTINS, T. F.; SOARES, J. F.; SAMPAIO J, S.; SOARES, H.S.; KUBO, A. H.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B. Biology of *Amblyomma fuscum* (Acari: Ixodidae) in the laboratory. **XIII International Congress of Acarology**, August 23-27, Recife-PE; Brazil. P.146-147. 2010.

MARTINS, T. F.; VENZAL, J. M.; TERASSINI, F. A.; LABRUNA, M. B. New tick records from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. *Exp Appl Acarol* 62: 121-128 doi10.1007/s10493-013-9724-4. 2014.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, v.403, p. 853-858, 2000.

OBA, M. S. P.; SCHUMAKER, T. T. S. Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), em infestações experimentais de *Bufo marinus* (Linneu, 1758) son condições variadas de umidade relativa e de temperatura do ar. **Memórias do Instituto Butantan**. v.47-48, p. 195-204, 1983-1984.

ONOFRIO, V. C. Revisão do gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) no Brasil. 2007. 174 f. **Tese** (Doutorado em Ciências Veterinárias) **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, Seropédica. 2007.

ONOFRIO, V. C.; DUARTE, M. R.; LABRUNA, M. B.; BARROS-BATTESTI, D. M. Regiões brasileiras de ocorrência de *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *In 12º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 2002, Rio de Janeiro, Brasil, p. 2, 2002.

OLIVER, J. H.; HAYES, M. P.; KEIRANS, J. E.; LAVENDER, D. R. Establishment of the foreign parthenogenetic tick *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) in Florida. *Journal of Parasitology*. v. 79, p. 786–790, 1993.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M.; LOPES, C. M.; LEITE, R. C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.92, p.295- 301, 2000.

PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B. D. A.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.; KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. D. A. C.; MITTERMEIER, R. A. & PATTON J. L. *Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals*. 2ª Edição / 2nd Edition. *Occasional Papers in Conservation Biology*, No. 6. Conservation International, Arlington, VA. 2012, 76pp.

PAREDES-LEÓN, R.; GARCÍA-PRIETO, L.; GUZMÁN-CORNEJO, C.; LEÓN-REGAGNON, V.; PÉREZ, T.M. Metazoan parasites of Mexican amphibians and reptiles. *Zootaxa*, v. 1904, p. 1–166, 2008.

PEARSON, R. G.; DAWSON, T. P. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Global Ecology and Biogeography*, v.12, n.5, p. 361-371, 2003.

PETERSON, A. T. Predicting species' geographic distributions based on ecological niche modeling. *Condor*, v.103, p.599-605, 2001.

PETERSON, A. T.; SÁNCHEZ-CORDERO, V.; BEARD, B.; RAMSEY, J. M. Ecologic niche modeling and potential reservoirs for Chagas Disease, Mexico. **Emerging Infectious Diseases**, v.8, n.7, p. 662-667, 2002.

PETERSON, A. T.; SHAW, J. *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in Southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. **International Journal for Parasitology**, v.33, p.919-931, 2003.

PETERSON, A. T.; LASH, R. R.; CAROLL, D. S.; JOHNSON, K. M. Geographic potential for outbreaks of Marburg hemorrhagic fever. **American Journal of Tropical Medicine & Hygiene** 75: 9-15, 2006.

PETIT, G.; LANDAU, I.; BACCAM, D.; LAINSON, R. Description et cycle biologique d'*Hemolivia stellata*, n.g., n.sp., hemogrégarine de crapauds brésiliens. *Annales de parasitologie humaine et comparée*, v.65 n. 3, p.15, 1990.

PONTES, J. A. L.; GAZETA, G. S.; VRCIBRADIC, D.; ROCHA, C. F. D. Ecology of ticks in a taxocenosis of snakes from the Serra do Mendanha, Rio de Janeiro, Brazil, with new host records. **Zoologia**. v. 26, n. 2, p. 328-333, 2009.

PIMM, S.; RAVEN, P. Extinction by numbers. **Nature**, v.403, p. 843-845, 2000.

PIMM, S. P.; RAVEN, A. P.; SEKERCIOGLU, C. H.; EHRLICH, P. R. Human impacts on the rates of recent, present, and future bird extinctions. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.103, n. 29, p.10941-10946, 2006.

PIRES, M. S.; SANTOS, T. M.; SANTOS, H. A.; REZENDE, J. A. V.; PEIXOTO, M. P.; ROIER, E. C. R.; SILVA, C. B.; BARREIRA, J. D.; LEMOS, E. R. S.; MASSARD, C. L. *Amblyomma cajennense* infestation on horses in two microregions of the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.22, n. 2, p. 235-242, 2013.

PONTES, J. A. L.; GAZETA, G. S.; VRCIBRADIC, D.; ROCHA, C. F. D. Ecology of ticks in a taxocenosis of snakes from the Serra do Mendanha, Rio de Janeiro, Brazil, with new host records. **Zoologia**. v. 26, n. 2, p. 328-333, 2009.

PHILLIPS, S. J.; ANDERSON, R. P.; SCHAPIRE, R. E. Maximum entropy modelling of species geographic distributions. **ECOLOGICAL MODELLING**, v.190, p.231-259, 2006.

PRAMUK, J. B. Phylogeny of south American *Bufo* (Anura: Bufonidae) inferred from combined evidence. **Zoological Journal of the Linnean Society**. v.146, p. 407-452, 2006.

RANDOLPH, S. E. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. **Parasitology**, v.129, p. 37-65, 2004.

REY, L. Conceito ecológico e bioquímico de parasitismo. In: REY, L. *Parasitologia: parasitas e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África*. 2a ed. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 1992. p. 38-52.

RIVAS, C. J. G.; CASTILLO, G. N.; ACOSTA, J. C.; VENZAL, J. M.; GUGLIELMONE, A. A. Primer reporte de parasitismo de una garrapata blanda del género *Ornithodoros* (Ixodida:

Argasidae) sobre *Rhinella arenarum* (Anura: Bufonidae) en el departamento de Valle Fértil, San Juan, Argentina. **Cuadernos de Herpetología**. v.26, p. 95-97, 2012.

ROBINSON, L. E. Ticks. A monograph of the Ixodoidea. Part IV. The genus *Amblyomma*. London: **Cambridge University**. Press. 1926; 302p.

RODRIGUES, D. S.; MACIEL, R.; CUNHA, L. M.; LEITE, C. R.; OLIVEIRA, P. R. *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844) (Acari: Ixodidae) two host life-cycle on Viperidae snakes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, p. 174–178, 2010.

RÓZSA L, REICZIGEL J, MAJOROS G Quantifying parasites in samples of hosts. **Journal Parasitology**, v. 86, p.228–232, 2000.

SANTOS, E. D.; BOTELHO, M. C. N.; OLIVEIRA, J. B. Ectoparasitos de anfíbios anuros (Anura: Bufonidae) capturados na estação ecológica do Tapacura, São Lourenço da Mata, Pernambuco, Brasil. **Entomologia y Vectores**, v. 9, p. 105–113, 2002.

SILVANO, D. L.; SEGALLA, M. V. **Conservação de anfíbios no Brasil. Megadiversidade**. Curitiba, PR, Brasil. 2005. p.1.

SILVEIRA, A. L.; SALLES, R. O. L.; PONTES, R. C. Primeiro registro de *Rhinella pombali* e novos registros de *R. crucifer* e *R. ornata* no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Amphibia, Anura, Bufonidae). **Biotemas**, v.22, n.4, p.231-235, 2009.

SOLÍS, S. **El efecto del Programa de Control de *Boophilus microplus* en la Dinámica de Población de *Amblyomma* spp. En México**. Actas de la Consulta de Expertos Sobre la Erradicación de las Garrapatas con Referencia Especial a las Américas, Food and Agriculture Organization, México, Mexico. 1987, 185pp.

SOUZA, S. S. A. L.; SOUZA, C. E.; NETO, E. J. R.; PRADO, A. P. Dinâmica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endêmica para febre maculosa na região de Campinas, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.3, 2006.

SOUZA, M. A.; BORRIELLO FILHO, A. Uma nova hemogregrina no sangue de *Bufo crucifer* WIED, 1821 do Brasil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v. 72, p. 275-282, 1974.

SBH (Sociedade Brasileira de Herpetologia). 2012. Disponível em www.sbherpetologia.org.br/checklist/anfíbios.htm (acessado em novembro de 2012).

SCHUMAKER, T. T. S.; BARROS, D. M. Notes on the biology of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodida) on *Bufo marinus* (Linnaeus, 1758) from Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 29-31, 1994.

SMITH, T. G. The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). **Journal Parasitology**. v. 82, p. 565-85, 1996.

SMITH, R. L.; SCHNACK, J. A.; SCHAEFER, E. F. & KEHR, A. I. Ticks, *Amblyomma rotundatum* (Acari- Ixodidae), on Toads, *Chaunus schneideri* and *Chaunus granulatus* (Anura: Bufonidae), in Northern Argentina. **Journal Parasitology**, v. 94, n. 2, p. 560-562,

2008.

SMITH KG, L. I. P. S K. R.; CHASE, J. M. Selecting for extinction: non radon disease-associated extinction homogenizes amphibian biotas. **Ecology Letters**. v.12, p. 1069-1078, 2009.

SPEARE, R. A Review of the Diseases of the Cane Toad, *Bufo marinus*, with Comments on Biological Control. **Australian Wildlife Research**. v.17, p. 387-410, 1990.

SZABO´, M. P. J.; MUKAI, L. S.; ROSA, P. C. S.; BECHARA, G. H. Differences in the acquired resistance of dogs, hamsters, and guinea pigs to repeated infestations with adult ticks *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Brazilian journal of veterinary research and animal science**, v.2, p. 43–50, 1995.

SZABÓ, M. P. J.; OLEGÁRIO, M. M. M.; SANTOS, A. L. Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, p. 73–84, 2007.

WELLS, E. A.; D´ALESSANDRO, A.; MORALES, G. A.; ANGEL D. Mammalian wildlife diseases as hazards to man and livestock in an area of the Llanos Orientales of Colombia. **Journal of Wildlife Diseases**. v.17, p. 153–162, 1981.

WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. **Animal Behaviour**, v. 25, p. 666-693, 1977.

WOHEL Jr., G. Infestação de *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari, Ixodidae) em sapos *Bufo ictericus* (Spix) (Amphibia, Bufonidae): novo registro de hospedeiro. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 19, n. 2, p. 329-333, 2002.

WINDSOR, D. A. Equal rights for parasites. **Conservation Biology**, v. 9, n.1, p. 1-2, 1995.

VIANA, L. A.; WINCK, G. R.; ALMEIDA-SANTOS, M.; TELLES, F. B. S.; GAZÊTA, G. S.; ROCHA, C. F. D. New host records for *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from Grussaí restinga, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.3, 2012.

TEIXEIRA, R. H. F.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S.; SERRA-FREIRE, N. M. Ixodofauna de répteis cativos do Zoológico de Sorocaba, São Paulo, Brasil. **Entomolgia y Vectores**, v.10, p. 319-329, 2008.

ZUG, G. R.; ZUG, P. **The marine toad, *Bufo marinus*. A natural history resume of native populations**. Washington: Smithsonian Institution Press; 1979.