

DEA

1 636.03
L 127a
1996

Marcelo Bahia Labruna



Aspectos da biologia de *Haemaphysalis leporis-palustris*
(Packard, 1869).

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Minas
Gerais, como requisito parcial a
obtenção do grau de Mestre em
Medicina Veterinária.
Área de concentração: Medicina
Veterinária Preventiva
Orientador: Romário Cerqueira
Leite

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



104119608

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

OK/04

OK/02

OK 03/06

Belo Horizonte
UFMG - Escola de Veterinária
1996

MV-00007925-7



BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

20/09/96

1041196-08

L127a Labruna, Marcelo Bahia, 1971 -

Aspectos da biologia de *Haemaphysalis leporis-palustris*
(Packard, 1869) / Marcelo Bahia Labruna. - Belo Horizonte:
UFMG - Escola de Veterinária, 1996.

132p: il.

Dissertação (Mestrado)

1- Carrapato - Biologia - Teses. 2- Carrapato - Evolução
- Teses. 3- *Haemaphysalis* - Teses. I. Título.

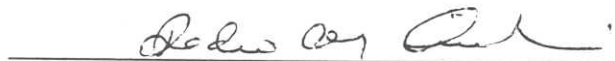
CDD - 614.433

Dissertação defendida e aprovada em 06/08/96, pela Comissão Examinadora constituída por:


Prof. Romário Cerqueira Leite
Orientador


Prof. José Osvaldo Costa


Prof. Múcio Flávio Ribeiro


Prof. Pedro Marcos Linardi

Aos meus Pais, irmãs e irmão, Renata, Daiana (in memorian)
e a Deus, por colocá-los em meu destino.

Dedico



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Romário Cerqueira Leite, por ter depositado em minhas mãos as chaves das portas para a escada infinita da busca do conhecimento através da pesquisa, na qual eu pretendo continuar subindo degraus, até os últimos dias de minha vida.

Ao Prof. José Oswaldo Costa e ao Prof. João L. H. Faccini, pelas inúmeras contribuições, sugestões e boa vontade demonstrada ao longo do curso.

Aos funcionários da Fundação Nacional de Saúde do município de Caratinga, MG, em especial ao Ércio, Romagnó, Jorge, Chiquinho, Elvío e Ronaldo, pela grande ajuda na captura de coelhos silvestres.

Aos colegas e amigos do corpo editorial Dr. Zenon Rodrigues Batista, Prof. Paulo Roberto de Oliveira e André Almeida Fernandes.

Ao amigo Dr. Jorge Caetano Jr. e a Prof. Lígia Borges pela grande ajuda prestada ao longo do curso.

Aos colegas do curso, Cróvis Braz, Patrícia Macedo, Paula Aryane, Denise, Ce-Célia, Marília, Magda, Edísio, Cláudio, João Paulo, Francesca, Christiane (Kite), Cristina, Jenner, Raimundão e J.M.Ferreira.

Ao Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, em nome de Prof. Israel José da Silva, pela grande ajuda na aquisição de armadilhas para coelhos.

À Nádia, por ter me aguentado por dois anos na sala de computador e a todos que por lá estiveram.

Ao pessoal do Laboratório de Doenças Parasitárias, Ricardo e Dona Sônia, e a Soninha que sempre esteve por lá.

A todos os funcionários do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e da Escola de Veterinária, que no dia a dia, sempre me ajudaram e apoiaram.

À todo pessoal do xerox, em especial ao Élder, Silene, os dabronhas e todo o pessoal de biblioteca, em especial a Rosilene e Marília.

Ao pessoal da secretaria do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Jorge, Beth e Luciana.

À Capes, pela bolsa de estudos concedida durante o curso de mestrado.

À minha família, Renata, amigos e todas aquelas pessoas que, oportunamente me apoiaram.



“Sonho que se sonha só,
é sonho que se sonha só...
Sonho que se sonha junto,
é realidade...”
Raul Seixas

“O meu egoísmo é tão egoísta,
que o auge do meu egoísmo,
é querer ajudar”
Raul Seixas

“A intimidade do homem é traçada pelas mãos”
Thomas Bronhall



SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS	15
	LISTA DE FIGURAS	19
	RESUMO	21
1	INTRODUÇÃO	23
2	LITERATURA CONSULTADA	26
2.1	História taxonômica de <i>Haemaphysalis leporis-palustris</i>	26
2.2	Fase não parasitária de ixodídeos	26
2.2.1	Efeito das condições ambientais na duração do ciclo de vida	26
2.2.2	Período de postura	27
2.2.3	Eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas	27
2.2.4	Número de ovos em um grama de postura	28
2.2.5	Eclosão de ovos em relação ao período de postura	28
2.2.6	Ecdise de ninfas para adultos machos e fêmeas	28
2.2.7	Período pós ecdise	29
2.3	Cópula entre adultos de ixodídeos metastriatas	29
2.4	Ausência de adultos machos na infestação	29
2.5	Resistência adquirida do hospedeiro aos carrapatos	31
2.6	Amostra de ixodídeos geograficamente distintas	31
2.7	Efeito do hospedeiro na biologia do ixodídeo	31

2.8	Estudos de biologia de <i>H. leporis-palustris</i>	32
2.8.1	Ritmo de desprendimento dos carrapatos	33
3	MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1	Fase de vida livre e obtenção da primeira geração de larvas	35
3.2	Estudo da fase parasitária da primeira geração de larvas	36
3.2.1	Amostra CC	36
3.2.1.1	Infestação L1	36
3.2.1.2	Infestação L2	37
3.2.2	Amostra CA	37
3.2.2.1	Infestação L3	38
3.2.2.2	Infestação L4	38
3.2.2.3	Infestação L5	39
3.2.2.4	Infestação L6	39
3.2.2.5	Infestação L7	39
3.2.2.6	Infestação L8	39
3.2.3	Amostra UFMG	40
3.2.3.1	Infestação L9	40
3.2.3.2	Infestação L10	40
3.3	Primeira geração de ninfas	40
3.4	Fase parasitária da primeira geração de ninfas	41
3.4.1	Amostra CC	41
3.4.1.1	Infestação N1	41
3.4.1.2	Infestação N2	41
3.4.1.3	Infestação N3	41
3.4.1.4	Infestação N4	42
3.4.1.5	Infestação N5	42
3.4.2	Amostra CA	42
3.4.2.1	Infestação N6	42
3.4.2.2	Infestação N7	42
3.4.3	Amostra UFMG	43
3.4.3.1	Infestação N8	43
3.4.3.2	Infestação N9	43

3.5	Primeira geração de adultos	43
3.6	Fase parasitária da primeira geração de adultos	44
3.6.1	Amostra CC	44
3.6.1.1	Infestação A1	44
3.6.1.2	Infestação A2	44
3.6.1.3	Infestação A3	45
3.6.2	Amostra CA	45
3.6.2.1	Infestação A4	45
3.6.2.2	Infestação A5	45
3.6.2.3	Infestação A6	45
3.6.3	Amostra UFMG	46
3.6.3.1	Infestação A7	46
3.6.3.2	Infestação A8	46
3.6.3.3	Infestação A9	46
3.6.3.4	Infestação A10	47
3.7	Primeira geração de fêmeas ingurgitadas	47
3.8	Métodos estatísticos	48
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1	Fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas (amostra CA)	49
4.2	Primeira geração de larvas	49
4.2.1	Sobrevivência de larvas não alimentadas	49
4.2.2	Fase parasitária da primeira geração de larvas	50
4.3	Ecdise de larvas para ninfas	54
4.3.1	Período pós ecdise	56
4.4	Primeira geração de ninfas	57
4.4.1	Sobrevivência de ninfas não alimentadas	57
4.4.2	Fase parasitária da primeira geração de ninfas	57
4.5	Ecdise de ninfas para adultos	62
4.6	Primeira geração de adultos	65
4.6.1	Sobrevivência dos adultos não alimentados	65
4.6.2	Fase parasitária e não parasitária de adultos	65
4.7	Considerações finais	79

5	CONCLUSÕES	117
	SUMMARY	119
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	121



LISTA DE TABELAS

	PAG
TABELA 1	Dados reprodutivos da fase não parasitária de três fêmeas ingurgitadas de <i>H. leporis-palustris</i> desprendidas naturalmente de <i>S. brasiliensis</i> . 96
TABELA 2	Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>O. cuniculus</i> (infestações L1 e L2, Amostra CC). 96
TABELA 3	Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>S. brasiliensis</i> (infestações L3 e L4) e em <i>O. cuniculus</i> (infestação L5). Amostra CA. 97
TABELA 4	Infestação L6. Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> e ritmo de desprendimento do hospedeiro <i>S. brasiliensis</i> (amostra CA). 97
TABELA 5	Infestação L7. Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> e ritmo de desprendimento do hospedeiro <i>O. cuniculus</i> (amostra CA). 98
TABELA 6	Infestação L8. Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> e ritmo de desprendimento do hospedeiro <i>S. brasiliensis</i> (amostra CA). 98
TABELA 7	Infestação L9. Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> e ritmo de desprendimento do hospedeiro <i>S. brasiliensis</i> (amostra UFMG). 99

TABELA 8	Infestação L10. Fase parasitária de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> e ritmo de desprendimento do hospedeiro <i>O. cuniculus</i> (amostra UFMG).	99
TABELA 9	Ecdise de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> ingurgitadas no hospedeiro <i>O. cuniculus</i> (larvas provenientes das infestações LI e L2. Amostra CC).	100
TABELA 10	Ecdise de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> ingurgitadas no hospedeiro <i>S. brasiliensis</i> (larvas provenientes das infestações L3, L4 e L6. Amostra CA).	101
TABELA 11	Ecdise de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> ingurgitadas no hospedeiro <i>O. cuniculus</i> (larvas provenientes das infestações L5 e L7. Amostra CA).	102
TABELA 12	Ecdise de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> ingurgitadas em <i>S. brasiliensis</i> (infestação L9) e em <i>O. cuniculus</i> (infestação L10). Amostra UFMG.	103
TABELA 13	Porcentagem de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> que completaram ecdise para ninfas em relação ao total de larvas ingurgitadas recuperadas, conforme a infestação.	104
TABELA 14	Fase parasitária de ninfas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>O. cuniculus</i> (infestações N1 e N2, amostra CC)	104
TABELA 15	Fase parasitária de ninfas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>O. cuniculus</i> (infestações N3, N4 e N5, amostra CC)	105
TABELA 16	Fase parasitária de ninfas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>S. brasiliensis</i> e o intervalo de hora do dia em que desprenderam-se do hospedeiro, nas infestações N6 e N7 (amostra CA)	106

TABELA 17	Fase parasitária de ninfas de <i>H. leporis-palustris</i> em <i>S. brasiliensis</i> (infestação N8) e em <i>O. cuniculus</i> (infestação N9) e o intervalo de hora do dia em que foram recuperadas (amostra UFMG)	107
TABELA 18	Ecdise de ninfas para adultos de <i>H. leporis-palustris</i> (ninfas provenientes das infestações N1, N2, N3, N4 e N5. Amostra CC).	108
TABELA 19	Ecdise de ninfas para adultos de <i>H. leporis-palustris</i> (ninfas provenientes da infestação N7. Amostra CA).	108
TABELA 20	Ecdise de ninfas para adultos de <i>H. leporis-palustris</i> . (ninfas provenientes das infestações N8 em <i>S. brasiliensis</i> e infestação N9 em <i>O. cuniculus</i> . Amostra UFMG).	109
TABELA 21	Porcentagem de ninfas de <i>H. leporis-palustris</i> que completaram ecdise para adultos em relação ao total de ninfas ingurgitadas recuperadas, conforme a infestação.	110
TABELA 22	Fases parasitária e não parasitária de fêmeas adultas de <i>H. leporis-palustris</i> desprendidas naturalmente de <i>O. cuniculus</i> (amostra CC, infestações A1, A2 e A3).	111
TABELA 23	Fases parasitária e não parasitária de fêmeas adultas de <i>H. leporis-palustris</i> desprendidas naturalmente de <i>S. brasiliensis</i> (infestações A4 e A5) e <i>O. cuniculus</i> (infestação A6). Amostra CA.	112
TABELA 24	Fases parasitária e não parasitária de fêmeas adultas de <i>H. leporis-palustris</i> desprendidas naturalmente de <i>O. cuniculus</i> (infestações A7, A8, A9 e A10). Amostra UFMG.	113

TABELA 25 Relações do peso conforme o período de vida de quenóginas de *H. leporis-palustris* provenientes das infestações A4, A5 e A6 (amostra CA) e infestações A7, A8, A9 e A10 (amostra UFMG). As infestações A4 e A5 foram realizadas em *S. brasiliensis*. As demais foram realizadas em *O. cuniculus*. 115

LISTA DE FIGURAS

	PAG
FIGURA 1 Distribuição mundial do carrapato <i>Haemaphysalis leporis-palustris</i>	81
FIGURA 2 Fluxograma das infestações realizadas com <i>H. leporis-palustris</i> (amostra CC)	82
FIGURA 3 Fluxograma das infestações realizadas com <i>H. leporis-palustris</i> (amostra CA)	83
FIGURA 4 Fluxograma das infestações realizadas com <i>H. leporis-palustris</i> (amostra UFMG)	84
FIGURA 5 Número de larvas ingurgitadas de <i>H. leporis-palustris</i> recuperadas conforme o dia de parasitismo em <i>S. brasiliensis</i> (infestações L3, L4, L6 e L8) e em <i>O. cuniculus</i> (infestações L5 e L7). Amostra CA.	85
FIGURA 6 Relação entre o total de larvas ingurgitadas de <i>H. leporis-palustris</i> que desprenderam-se do hospedeiro durante o dia (8:00-18:00h) e durante à noite (18:00-8:00). Dados provenientes das infestações L6 e L7.	86
FIGURA 7 Amostra UFMG. Comparação do horário de desprendimento de larvas ingurgitadas de <i>H. leporis-palustris</i> nas infestações L10 (1) em <i>O. cuniculus</i> e L9 (2) em <i>S. brasiliensis</i> .	87
FIGURA 8 Amostra CA. Período de ecdise de larvas de <i>H. leporis-palustris</i> ingurgitadas em <i>S. brasiliensis</i> (infestações L3, L4 e L6) e em <i>O. cuniculus</i> (infestações L5 e L7).	88

- FIGURA 9 Período de ecdise de ninfas para adultos machos e fêmeas de *H. leporis-palustris*. Amostra CC 89
- FIGURA 10 Período de ecdise de ninfas para adultos machos e fêmeas de *H. leporis-palustris*. Amostra CA. 90
- FIGURA 11 Período de ecdise de ninfas para adultos machos e fêmeas de *H. leporis-palustris*. Amostra UFMG. 91
- FIGURA 12 Fêmeas de *H. leporis-palustris* parasitando *O. cuniculi*, apresentando fezes eliminadas enquanto se alimentavam 92
- FIGURA 13 Curvas de postura de oito fêmeas de *H. leporis-palustris* da amostra CA. 93
- FIGURA 14 Eclosão média de ovos dos 1º, 2º e 3º terços das posturas de oito fêmeas de *H. leporis-palustris* da amostra CA. 94
- FIGURA 15 Período de incubação dos ovos segundo o dia de postura de oito fêmeas *H. leporis-palustris*. A reta está representada pela equação de regressão: $B = 32,6 + 0,0101 A$, cuja inclinação não foi estatisticamente significativa ($P > 0,05$). 95

RESUMO

Foi estudada a biologia de *H. leporis-palustris* em condições de laboratório através de amostras de fêmeas ingurgitadas provenientes de três populações geograficamente distintas. Para uma amostra proveniente de Carlos Chagas, Minas Gerais (MG), utilizou-se o *Oryctolagus cuniculus* como hospedeiro para os estágios de larva, ninfa e adulto. Para amostras provenientes de Caratinga, MG e Belo Horizonte, MG, utilizou-se tanto o *O. cuniculus* como o *Sylvilagus brasiliensis* como hospedeiros. As amostras se comportaram diferentemente em alguns parâmetros biológicos tanto na fase não parasitária, realizada em estufa B.O.D. a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa superior a 85%, como na fase parasitária. Também foram constatados comportamentos diferentes do carrapato em função da espécie de hospedeiro utilizada. Foram observados maiores índices reprodutivos pelo carrapato quando este alimentou-se em *S. brasiliensis*, demonstrando a existência de uma interação parasito-hospedeiro superior a de *H. leporis-palustris* com o *O. cuniculus*. Foi constatada reprodução por partenogênese para uma fêmea da amostra de Belo Horizonte, sendo este o primeiro relato de partenogênese para esta espécie de carrapato.

Palavras - chave: *Haemaphysalis leporis-palustris*, carrapato, biologia, *Sylvilagus brasiliensis*, *Oryctolagus cuniculus*, partenogênese.



1 INTRODUÇÃO

Haemaphysalis leporis-palustris (Packard, 1869) é uma espécie de carrapato da família ixodidae, a qual está incluída dentro da ordem Parasitiformes que, por sua vez, está incluída na subclasse Acari (Kettle, 1984). Acredita-se que o gênero *Haemaphysalis* seja originário do sudeste asiático, surgindo no Período Paleoceno (Balashov, 1994). Das aproximadamente 155 espécies de *Haemaphysalis* descritas no mundo, o continente asiático comporta o maior número de espécies e apenas quatro coevoluiram com seus hospedeiros naturais nas Américas (Hoogstraal, 1956; Kohls, 1960; Aragão & Fonseca, 1961; Hoogstraal & Kim, 1985). Apesar deste pequeno número de espécies, *H. leporis-palustris* é provavelmente o carrapato de maior distribuição no continente americano (Fig. 1). Sua ocorrência é citada em localidades desde o Alasca (Philip et al., 1954), Canadá (Campbell & Glines, 1979), em todos os estados dos Estados Unidos (Bishopp & Trembley, 1945), México (Vogelsang & Dias, 1953; Hoogstraal, 1967), na América Central (Vogelsang & Dias, 1953; Fuentes et al., 1985) e na América do Sul, particularmente na Venezuela, Argentina, Paraguai e em quase todo o Brasil (Aragão, 1936; Vogelsang & Dias, 1953; Cupp, 1991). É bem provável que ele esteja distribuído em praticamente todos os países das Américas do Sul e Central, onde exista a ocorrência dos hospedeiros naturais.

Nos Estados Unidos, espécies de coelhos silvestres *Sylvilagus* spp e lebres *Lepus* spp são considerados hospedeiros relevantes para essa espécie de carrapato (Bishopp & Trembley, 1945). No Brasil, só é encontrada uma espécie de coelho silvestre, *Sylvilagus brasiliensis* (Linnaeus, 1778) (Hoffman, 1993), que é o principal hospedeiro

deste carrapato. Assim como constatado nos Estados Unidos (Bishopp & Trembley, 1945; Lundgreen et al, 1966; Soneshine & Stout, 1970; Soneshine & Clifford, 1973), pássaros silvestres que frequentam o solo também devem ser hospedeiros e disseminadores importantes dos estágios imaturos de *H. leporis-palustris* no Brasil. É possível que no sul do Brasil, lebres *Lepus europaeus* Pallas, 1778, que vêm invadindo aquela região através da Argentina (Hoffmann, 1993), também sejam hospedeiros importantes deste carrapato.

H. leporis-palustris vem merecendo pesquisas nos últimos anos, a partir do ressurgimento de focos de Febre Maculosa no Estado de Minas Gerais. Suspeita-se que, assim como nos Estados Unidos, há possibilidades deste carrapato ser um dos prováveis vetores enzoóticos da *Rickettsia rickettsii* entre os reservatórios silvestres, como coelhos ou até pássaros. Isolamentos desta riquetsia já foram realizados em *Sylvilagus* spp nos Estados Unidos (Shirai et al, 1961) e no Brasil (Moreira & Magalhães, 1937, citados por Dias & Martins, 1939), e em amostras de *H. leporis-palustris* nos Estados Unidos (Parker et al., 1951; Parker et al., 1952) e Costa Rica (Fuentes et al., 1985). Isolamento de *Francisella tularensis* de *H. leporis-palustris* e transmissão de papilomatose por este carrapato entre *Sylvilagus* sp foram também realizados nos Estados Unidos (Larson et al., 1936; Parker et al., 1952).

Pouco se sabe sobre a biologia deste carrapato no Brasil. O único estudo data de 1909 por Rhor, com amostra proveniente do Rio de Janeiro. Entretanto, deve-se considerar que nas espécies de ampla distribuição geográfica, uma variação de forma e função é esperada ao longo de sua área de distribuição, com conseqüente dificuldades na extrapolação de dados entre regiões ecologicamente distintas. Na literatura internacional sobre a biologia de *H. leporis-palustris*, a espécie de hospedeiro usada para a fase parasitária do carrapato não é citada entretanto, é sabido para algumas espécies de ixodídeos,

que a espécie de hospedeiro exerce uma influência direta nas fases parasitária e não parasitária.

A biologia da fauna ixodológica brasileira é pouco conhecida pelos pesquisadores. A partir dos últimos estudos de Aragão & Fonseca (1961), onde citam que esta fauna está constituída por 54 espécies, muito pouco foi estudado, com excessão dos carrapatos que afetam animais de produção e estimação. Desta forma, este trabalho teve os seguintes objetivos:

1. Estudar a biologia de três amostras geograficamente distintas de *H. leporis-palustris*.
2. Comparar o comportamento de duas das três amostras utilizando coelhos domésticos *Oryctolagus cuniculus* e coelhos silvestres *Sylvilagus brasiliensis* como hospedeiros.

2. LITERATURA CONSULTADA

2.1 História taxonômica de *Haemaphysalis leporis-palustris*

Haemaphysalis leporis-palustris foi descrito pela primeira vez por Packard em 1869. Naquela ocasião, ele foi chamado de *Ixodes leporis-palustris*. Em 1897, Newmann denominou este carrapato de *Haemaphysalis leporis* (Packard, 1869). Em 1907, Hunter & Hooker o denominaram de *Haemaphysalis leporis-palustris* (Packard, 1869) (Cooley, 1946).

No Brasil, Rhor (1909) estudou a biologia de *H. proxima* Aragão, que posteriormente, em Aragão (1911), foi denominado de *H. leporis* var. *proxima* Aragão. Cooley (1946), em uma revisão do gênero *Haemaphysalis* no Novo Mundo, considerou as denominações acima como sinônimas de *Haemaphysalis leporis-palustris* (Packard, 1869).

2.2 Fase não parasitária de ixodídeos

2.2.1 Efeito das condições ambientais na duração do ciclo de vida

Hitchcock (1955), Sweatman (1967), Londt & Van der Bijl (1977), Norval (1977), Ouhelli et al (1982), Ouhelli & Pandey (1984), Bastos et al. (1995), Yonow (1995), estudando outras espécies de carrapatos são unânimes em concluir que a temperatura tem influência direta nos períodos não parasitários de ixodídeos, sendo que temperaturas superiores não letais encurtam as fases não parasitárias e temperaturas inferiores não letais prolongam estas fases. Balashov (1972), Camin & Drenner (1978) relatam que em

umidade relativa superior a 85%, o balanço hídrico dos carrapatos está estável e as perdas de peso estão associadas principalmente com perdas metabólicas. Cerny & De La Cruz (1971), Ivancovick (1978), Cardoso et al. (1984), Magalhães (1989) foram unânimes em afirmar que em épocas de temperaturas médias mais baixas, larvas de *Boophilus microplus* sobrevivem por mais tempo a que em épocas de temperaturas médias mais quentes, já que nestas últimas elas ficam mais ativas, gastando mais energia. Ouhelli & Pandey (1984) citam que em uma umidade relativa constante, o aumento da temperatura diminui o período de sobrevivência de ninfas não alimentadas de *Hyalomma lusitanicum*.

2.2.2 Período de postura

A dinâmica do período de postura dos ixodídeos tende a seguir um padrão quando realizados em temperaturas semelhantes dentro da faixa de 20 a 30°C. A curva se inicia com uma rápida ascensão nos primeiros dias de postura, seguida por um declínio gradativo até os últimos dias (Hitchcock, 1955; Snow & Arthur; 1966, Sweatman, 1967; Drummond et al., 1969; Drummond et al. 1971; Bennett, 1974; Ouhelli et al., 1982; Ouhelli & Pandey, 1984).

2.2.3 Eficiência reprodutiva de fêmeas ingurgitadas

Segundo Sweatman (1967), Balashov (1972), Bennett (1974), Londt & Van der Bijl (1977), Rechav et al. (1977), Norval et al. (1980), Ouhelli et al. (1982), Deamon & Freire (1984), Oliver (1989), as eficiências reprodutivas de fêmeas ingurgitadas de ixodídeos apresentam variações interespecíficas, mas para uma mesma espécie, fêmeas com pesos diferentes tendem a apresentar eficiências reprodutivas semelhantes. Entretanto, conforme constatado por Bennett (1974) para *B. microplus*, as fêmeas que atingem pesos dentro dos dois extremos, ou seja, as mais pesadas e as mais leves, tendem a apresentar eficiências reprodutivas menores. Alvarado & Gonzales (1979) verificaram para fêmeas de *B.*

microplus alimentadas em bovinos, um peso médio das quenóginas de 25,68% do peso da fêmea ingurgitada. Ntiamo-Baidu (1987) cita que fêmeas de *Rhipicephalus simpsoni* perderam até 80% do peso anterior à postura, durante o período de postura.

2.2.4 Número de ovos em um grama de postura

A literatura sobre número de ovos em um grama de postura apresenta variações numéricas entre amostras de uma mesma espécie de ixodídeo, assim como constatado para o *B. microplus* (Alvarado & Gonzales, 1979; Quevedo, 1966 citado por Alvarado & Gonzales, 1979), *Dermacentor nitens* (Dunn, 1915; Prata et al., 1995a)

2.2.5 Eclosão de ovos em relação ao período de postura

Hitchcock (1955), Alvarado & Gonzales (1979), trabalhando com *B. microplus*, constataram que ovos de final de postura apresentaram menor taxa de eclosão quando comparados com ovos de início de postura. Londt (1977), Faustino (1993) alegam que isso ocorra nessa espécie pelo fato de uma parte destes últimos ovos não ter sido fecundada ou possuir menor quantidade de água e nutrientes ou receber menor quantidade de secreção do órgão de Genê. Entretanto, Bennett (1974), Londt & Van der Bijl (1977), Ouhelli & Pandey (1984), reportam uma maior eclosão de ovos postos no meio da postura, comparados com os ovos de início e final de postura.

2.2.6 Ecdise de ninfas para adultos machos e fêmeas

Diamant & Strickland (1965) citaram que ninfas de *H. leporispalustris* apresentam períodos de ecdise semelhantes para adultos machos e fêmeas. Gonzales et al. (1974), Londt & Van der Bijl, (1977), Guglielmone & Moorhouse (1986), estudando a biologia de outros ixodídeos, constataram que a maioria das ninfas que

originaram machos completaram a ecdise anteriormente à maioria das ninfas que originaram fêmeas. Ao contrário, Ntiamoa-Baidu (1987), Pound & George (1991) reportam que a maioria das fêmeas de *Rhipicephalus simpsoni* e *Amblyomma americanum*, respectivamente, completaram a ecdise anteriormente aos machos. Por sua vez, Norval et al. (1980) não encontrou diferenças dos períodos de ecdise para os dois sexos para *Amblyomma tholloni*.

2.2.7 Período pós ecdise

Beament (1959) estudou a permeabilidade da cutícula de artrópodes em função da idade de um determinado estágio de vida, o que está diretamente ligado ao período pós ecdise dos estágios de um carrapato. Durante este período, ocorrem mudanças na cutícula que, segundo Balashov (1972), é inicialmente macia e semi-transparente, passando posteriormente por um processo de endurecimento e esclerotização.

2.3 Cópula entre adultos de ixodídeos metastriatas

Balashov (1972), Oliver et al. (1974), Kettle (1984), Oliver (1989) afirmam que ixodídeos metastriatas adultos realizam a cópula sobre o hospedeiro e após o macho ter se alimentado. Excepcionalmente, Guglielmone & Moorhouse (1983) verificaram que machos não alimentados de *Amblyomma triguttatum* produziram espermátides e foram capazes de transferi-las para fêmeas não alimentadas. Oliver & Stone (1983) também verificaram que duas espécies de *Aponomma* (*A. hydrosauri* e *A. concolor*) foram capazes de produzir espermátides ainda em jejum, mas não foram capazes de transferi-las para fêmeas.

2.4 Ausência de adultos machos na infestação

Fêmeas de ixodídeos metastriatas alimentadas na ausência de machos prolongaram o período de parasitismo e se ingurgitaram

menos, quando comparadas com as alimentadas juntamente com machos (Balashov, 1972; Norval et al., 1980; Ribeiro & Gonzales, 1980; Ntiama-Baidu, 1987; Oliver, 1989). Estes autores citam que muitas dessas fêmeas fizeram postura, mas colocaram apenas ovos inférteis. Norval et al. (1980) citam que fêmeas não fecundadas de *Amblyomma tholloni* não realizaram postura após desprendimento natural do hospedeiro. Apesar de ocorrer dentro da família Ixodidae a espécie *Amblyomma rotundatum*, que se reproduz exclusivamente por partenogênese, Oliver (1989) cita que processos de partenogênese esporádica parecem ocorrer em frequências similares em espécies normalmente bissexuais de argasídeos e ixodídeos. Balashov (1972) cita partenogênese excepcional em *Ornithodoros verrucosus*, *O. papillipes* e *O. moubata*. Oliver (1982) citado por Oliver (1989) cita partenogênese excepcional em *Dermacentor variabilis*, *Boophilus microplus*, *Hyalomma anatolicum*, *Rhipicephalus bursa* e *Amblyomma dissimile*. No Brasil, Ribeiro & Gonzales (1980) relatam partenogênese em uma amostra do *Boophilus microplus* no Rio Grande do Sul. Oliver (1989) cita que se uma fêmea metastriata não é fecundada durante a alimentação no hospedeiro, ela prolonga a fase de ingurgitamento lento e se mesmo assim a cópula não ocorrer, muitas desprenderão do hospedeiro parcialmente ingurgitadas e apenas algumas eventualmente realizarão o rápido ingurgitamento antes de se desprenderem. Balashov (1972) cita que a ausência de machos na infestação de fêmeas metastriatas leva a um prolongamento marcante do período de parasitismo destas, que apresentam estados de ingurgitamento bem menor que as alimentadas juntamente com machos. Este mesmo autor relata que quando fêmeas de *Haemaphysalis punctata* e *Dermacentor pictus* alimentaram-se na ausência de machos, não há um período de rápido ingurgitamento definido como ocorre em fêmeas alimentadas juntamente com machos.

2.5 Resistência adquirida do hospedeiro aos carrapatos

Trager (1939), Allen (1973), Boese (1974), Wikel & Allen (1976a), Wikel & Allen (1976b), Ntiamoa-Baidu (1987), Moraes et al. (1989) constataram a resistência de hospedeiros previamente infestados à novas infestações de carrapato. McGowan et al. (1979) correlaciona esta resistência com níveis de anticorpos em *Sylvilagus floridanus*, citando a correlação entre menores níveis de anticorpos e maior carga parasitária.

2.6 Amostras de ixodídeos geograficamente distintas

Através de estudos controlados com outras espécies de ixodídeos (Ouhelli et al., 1982; Davey et al, 1984; Deamon & Freire, 1984; Yonow, 1995), amostras de populações geograficamente distintas de uma mesma espécie de carrapato têm demonstrado variações biológicas, quando submetidas à condições semelhantes de temperatura, umidade relativa e hospedeiro

2.7 Efeito do hospedeiro na biologia do ixodídeo

Dipeolu & Adeyefa (1984) e Dipeolu et al. (1991), ambos citados po Yonow (1995), reportam diferenças no período de postura para fêmeas de *Amblyomma variegatum* alimentadas em espécies de hospedeiros diferentes. Yonow (1995) cita que diferenças verificadas no número de ovos produzidos por fêmeas de pesos semelhantes podem ser devido à qualidade da ingesta, a qual está relacionada à espécie de hospedeiro ou nível de resistência deste, ou à eficiência reprodutiva individual das fêmeas. Drummond et al. (1969), Colborne (1985) relatam que a espécie de hospedeiro não influenciou os períodos de pré postura e de incubação de ovos de ixodídeos. Drummond et al. (1969), Balashov, (1972), Norval et al. (1980), Ntiamoa-Baidu (1987). Dipeolu & Ogunji (1977) citam que a espécie de hospedeiro influenciou na duração do período parasitário de alguns estágios de ixodídeos e o peso destes quando

ingurgitados. Soneshine & Atwood (1967), Ho & Ismail (1984). Ntiamoa-Baidu (1987) relacionaram a performance de alimentação de ixodídeos com o tipo de hospedeiro. Entretanto, Ouhelli & Pandey (1984) citam que os períodos de ecdise de *Hyalomma lusitanicum* não foram influenciados pela espécie de hospedeiro

2.8 Estudos de biologia de *H. leporis-palustris*

H. leporis-palustris é uma espécie de carrapato de três hospedeiros ou trioxeno (Hooker, 1908, Rhor, 1909, Diamant & Strickland, 1965, Hoogstraal & Kim, 1985).

O estudo de Rhor (1909) foi conduzido em temperaturas ambientes para a fase não parasitária. Na fase parasitária, este autor não especificou a espécie de hospedeiro utilizada para alimentar os estágios de larva, ninfa e adulto do carrapato. Ele verificou que as larvas se alimentaram no hospedeiro por 6 a 11 dias e levaram de 7 a 22 dias para completarem a ecdise para ninfas. Estas se alimentaram por 6 a 11 dias e levaram 10 a 26 dias para completarem a ecdise para adultos. Estes se alimentaram por 19 a 25 dias. As fêmeas ingurgitadas apresentaram 2 a 15 dias de período de pré-postura e 14 a 57 dias de período de postura ou oviposição. O número médio de ovos postos por fêmeas foi de 1.822, sendo o período de incubação destes variável de 22 a 61 dias.

Amostras de *H. leporis-palustris* da América do Norte foram estudadas, quanto aos aspectos biológicos, por Hunter & Hooker (1907) citado por Vogelsang & Dias (1953) e Hooker (1908), entretanto estes autores também não especificaram a espécie de hospedeiro utilizada para a fase parasitária e a temperatura na qual foi conduzida a fase não parasitária.

Campbell & Glines (1979) estudaram a fase não parasitária de uma amostra de *H. leporis-palustris* adquirida em lebres em Nova Scotia, Canadá. Este estudo foi conduzido em cinco temperaturas

diferentes e à umidade relativa maior que 85%. Assim como Rhor (1909), estes autores constataram que a biologia da fase não parasitária de *H. leporis-palustris* é altamente influenciada pela temperatura.

2.8.1 Ritmo de desprendimento dos carrapatos

George (1971) estudou o padrão circadiano de desprendimento do hospedeiro para os três estágios de uma amostra Norte-americana de *H. leporis-palustris*. Não foi citada a espécie de hospedeiro utilizada, mas foi constatado que 90% das larvas, ninfas e adultos desprenderam-se do hospedeiro durante o período de luz no decorrer das seis horas prévias às duas horas anteriores ao estabelecimento da fase escura (noite artificial). Harker (1961) citado por Hadani & Rechav (1969) cita que o ritmo circadiano que esses carrapatos exercem está provavelmente associado a um "relógio endógeno" que é influenciado principalmente pelo fotoperíodo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de carrapatos provenientes de três populações de *H. leporis-palustris* denominadas amostras CC, CA e UFMG. Os carrapatos foram identificados como *Haemaphysalis leporis-palustris* de acordo com as chaves taxonômicas de Cooley (1946), Aragão (1961), Diamant & Strickland (1965) e Price (1969).

A amostra CC foi constituída por uma fêmea ingurgitada e quatro partenóginas colhidas diretamente em um coelho silvestre *Sylvilagus brasiliensis*, capturado no município de Carlos Chagas, MG.

A amostra CA foi constituída por três fêmeas ingurgitadas que se desprenderam naturalmente de dois *S. brasiliensis* capturados no município de Caratinga, MG. As fêmeas ingurgitadas foram designadas como T1, T2 e T3. Estes dois *S. brasiliensis* foram designados como SB1 e SB2 e foram trazidos para o laboratório de doenças parasitárias da Escola de Veterinária da UFMG, onde foram utilizados como hospedeiros para o estudo da fase parasitária de *H. leporis-palustris*.

A amostra UFMG teve origem numa ninfa ingurgitada e um adulto macho que foram colhidos diretamente de um *S. brasiliensis* capturados no campus da UFMG em Belo Horizonte, MG. Dessa ninfa ingurgitada obteve-se uma fêmea após a ecdise, que foi posteriormente levada a infestar, juntamente com o adulto macho, um coelho doméstico *Oryctolagus cuniculus* obtendo-se uma fêmea ingurgitada, após desprendimento natural do hospedeiro. Este *S.*

brasiliensis foi designado como SB3 e foi trazido ao laboratório de doenças parasitárias da Escola de Veterinária da UFMG, onde também foi utilizado como hospedeiro para o estudo da fase parasitária de *Haemaphysalis leporis-palustris*.

3.1 Fase de vida livre e obtenção da primeira geração de larvas

As fêmeas ingurgitadas das três amostras estudadas foram levadas, no máximo até 24 horas após a colheita, ao laboratório da Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG, onde todo o estudo foi realizado. Em relação a amostra CA, cada fêmea foi pesada separadamente em balança eletrônica com precisão de 0,001g, e posteriormente levadas em uma placa de petri a uma estufa B.O.D. a $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e com o mínimo de 85% de umidade relativa (esta estufa foi usada nestas condições durante toda a fase não parasitária do estudo). Nessa estufa foram observados os períodos de pré-postura e postura de cada fêmea ingurgitada. Foi anotado o peso total de cada postura e calculada a eficiência reprodutiva (ER) de cada fêmea através da seguinte fórmula:

$$ER = \frac{\text{peso da postura total}}{\text{peso da fêmea ingurgitada}} \times 100$$

Assim que a postura terminou e foi pesada em balança eletrônica, os ovos foram transferidos para uma seringa de plástico com sua extremidade anterior cortada, mas vedada com algodão, a qual foi imediatamente colocada na estufa B.O.D. para observação do período de eclosão. O período de eclosão correspondeu ao intervalo de tempo entre as eclosões do primeiro e último ovo da postura. Foi observado o período de incubação dos ovos, que correspondeu ao tempo decorrido do primeiro dia de postura à eclosão do primeiro ovo da postura. A porcentagem de eclosão dos ovos foi determinada segundo técnica de Leite (1988), que consistiu na

verificação visual do total de ovos eclodidos, a olho nu ou em lupa, com intervalos de 5 em 5%. Nos caso das amostras CC e UFMG, estes dados não foram computados.

Algumas das larvas provenientes da amostra CC foram deixadas permanentemente na estufa e observadas de dois em dois dias para determinar o tempo máximo de sobrevivência em jejum nas condições da estufa B.O.D. já citada. Este período correspondeu à morte da última larva do total de larvas observadas, a contar do primeiro dia de eclosão.

3.2 Estudo da fase parasitária da primeira geração de larvas

As larvas obtidas das fêmeas ingurgitadas foram estudadas separadamente segundo a amostra. Em nenhuma infestação foi definido o número de larvas que foram levadas a infestar o hospedeiro.

As Figuras 2, 3 e 4 demonstram fluxogramas com a sequência de infestações para as amostras CC, CA e UFMG, repectivamente.

3.2.1 Amostra CC

Para os carrapatos desta amostra foram utilizados coelhos domésticos *O. cuniculus* como hospedeiros. Os *O. cuniculus* utilizados não havia sido previamente infestados por nenhuma espécie de carrapato e cada um foi utilizado em apenas uma infestação.

3.2.1.1 Infestação L1

Foi realizada uma infestação em coelho *O. cuniculus*, sem infestação prévia por carrapatos, com larvas entre 69 e 94 dias de idade. A infestação foi realizada com a colocação das larvas na região da cabeça, linha do dorso e na orelha direita, a qual foi

recoberta com tecido de filó vedado na sua base com esparadrapo, segundo modificação da técnica de Neitz et al. (1971) e de Ntiamoa-Baidu (1987). Foi colocado no coelho um colar de plástico rígido de circunferência interna semelhante ao do pescoço e de circunferência externa com aproximadamente o dobro da interna (Watts et al., 1972). Este colar teve a função de impedir que os coelhos coçassem a região da cabeça, o que ocasionaria o desprendimento de muitos carrapatos antes de se ingurgitarem totalmente. O animal foi mantido em gaiola individual com água e ração comercial para coelhos *ad libitum* e condições de luz natural numa sala onde as janelas permaneceram abertas. A gaiola foi colocada sobre uma chapa de alumínio lisa, a qual teve em suas bordas uma faixa contínua de vaselina sólida para evitar a fuga dos carrapatos que se desprendessem espontaneamente do hospedeiro. A gaiola foi observada diariamente das 8:00h às 18:00h para que todas as larvas ingurgitadas que caíssem sobre a placa de alumínio fossem colhidas em uma placa de petri. No final do dia, essa placa foi levada para a estufa B.O.D. para que as larvas fizessem a ecdise para ninfas. Este procedimento foi mantido até que todas as larvas tivessem desprendido do hospedeiro.

3.2.1.2 Infestação L2

Idem infestação L1.

3.2.2 Amostra CA

A geração de larvas de cada uma das três fêmeas ingurgitadas (T1, T2 e T3) foi estudada em infestações separadas (FIG. 3). Foram utilizados como hospedeiros coelhos domésticos *O. cuniculus* e coelhos silvestres *S. brasiliensis*. Como nas infestações com a amostra CC, os *O. cuniculus* utilizados não havia sido previamente infestados por nenhuma espécie de carrapato e cada um foi utilizado em apenas uma infestação. Como o número de coelhos silvestres *S. brasiliensis* disponíveis para o estudo era limitado (três: SB1, SB2 e

SB3), cada um foi utilizado mais de uma vez em infestações diferentes, entretanto cada infestação foi realizada individualmente em momentos diferentes.

3.2.2.1 Infestação L3

Larvas da primeira fêmea ingurgitada (T1) com idade entre 3 e 15 dias foram levadas a infestar o coelho silvestre *S. brasiliensis* (SB1) capturado no município de Caratinga e que já fora previamente infestado por carrapatos da espécie *H. leporis-palustris*, já que no momento de sua captura, ele se apresentou parasitado por estágios adultos deste carrapato. A infestação foi feita com a colocação das larvas sobre o dorso e cabeça do coelho SB1 por volta do meio-dia, período em que os *S. brasiliensis* estão mais quietos. O coelho foi mantido em gaiola individual sobre uma chapa de alumínio que tinha os bordos encobertos por vaselina sólida. As larvas foram capturadas diariamente no período entre 8:00 e 18:00h, colocadas numa placa de petri e levadas à estufa B.O.D. O coelho silvestre foi alimentado diariamente com hortaliças, leguminosas e ração comercial às 18:00h. A água foi fornecida *ad libitum* e a sala onde o coelho estava foi mantida com as janelas abertas e condições de luz natural.

3.2.2.2 Infestação L4

Outra amostra da geração de larvas provenientes de T1 foi levada a infestar outro *S. brasiliensis* designado (SB2) capturado no município de Caratinga e que fora também previamente infestado naturalmente por esta espécie de carrapato. Neste caso, as larvas tinham entre 6 e 29 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L3.

3.2.2.3 Infestação L5

Outra amostra da geração de larvas provenientes de T1 foi levada a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. As larvas tinham entre 6 e 29 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L1.

3.2.2.4 Infestação L6

Larvas da fêmea ingurgitada (T2) com idade entre 60 e 78 dias foram levadas a infestar o *S. brasiliensis* SB1. A infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L3, só que neste caso o número de larvas capturadas foi computado segundo o intervalo de hora do dia em que desprenderam-se do hospedeiro, dentro do período de 7:00 às 18:00h.

3.2.2.5. Infestação L7

Larvas da fêmea ingurgitada (T2) com idade entre 60 e 78 dias foram levadas a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L1, só que neste caso a colheita das larvas foi feita dentro dos períodos conforme feito na infestação L6.

3.2.2.6 Infestação L8

Larvas da fêmea ingurgitada T3 com idade não definida foram levadas a infestar o *S. brasiliensis* SB3, com infestação natural prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L6.

3.2.3 Amostra UFMG

3.2.3.1 Infestação L9

Larvas com idade entre 43 e 66 dias foram levadas a infestar o *S. brasiliensis* SB3, com infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L6, só que neste caso, na chapa de alumínio sobre a qual ficou a gaiola, não foi colocada vaselina sólida nas bordas. Foi usada uma fita adesiva de dupla face que também impediu a fuga de carrapatos que se desprenderam do hospedeiro, pois assim que os carrapatos tentaram passar pela fita, ficaram aderidos a face adesiva superior da fita.

3.2.3.2 Infestação L10

Larvas com idade entre 43 e 66 dias foram levadas a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L7, sendo neste caso, usada a fita de dupla face no lugar da vaselina sólida, como na infestação L9.

3.3. Primeira geração de ninfas

As larvas ingurgitadas colhidas em placas de petri e levadas à estufa B.O.D. foram observadas diariamente. Foi computada a porcentagem de larvas que fizeram ecdise para ninfas em relação ao total recuperado e o tempo em dias que cada uma tomou para completar a ecdise. Assim que fizessem a ecdise, as ninfas eram colocadas em um tubo de seringa plástica com extremidade anterior cortada e vedada com algodão, e retornadas imediatamente à estufa B.O.D.

Para oito ninfas foi observado o tempo que elas levaram para que suas cutículas adquirissem a coloração da de uma ninfa infestante.

Essa observação foi feita comparando diariamente a ninfa desde logo a sua ecdise até os dias subsequentes com ninfas de pelo menos dez dias de vida, até que as ninfas recém emergidas apresentassem cutículas com as mesmas tonalidades de coloração das ninfas de mais de dez dias.

Da amostra CC, 193 ninfas foram deixadas permanentemente na estufa B.O.D. e observadas de dois em dois dias para determinar o tempo máximo de sobrevivência em jejum.

3.4 Fase parasitária da primeira geração de ninfas

3.4.1 Amostra CC

3.4.1.1 Infestação N1.

Um total de 80 ninfas provenientes das infestações L1 e L2 foi levada a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 54 e 76 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L1.

3.4.1.2 Infestação N2

Idem infestação N1.

3.4.1.3 Infestação N3

Um total de 60 ninfas provenientes das infestações L1 e L2 foi levada a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 76 e 98 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação N1

3.4.1.4 Infestação N4

Idem Infestação N3, só que neste caso o coelho usado foi o mesmo *O. cuniculus* usado na infestação N2, sendo que no momento da infestação havia entre nove e 16 dias que ele havia sido previamente infestado por ninfas de *H. leporis-palustris*.

3.4.1.5 Infestação N5

Idem Infestação N3, só que neste caso foram utilizadas apenas 30 ninfas e o hospedeiro foi o mesmo *O. cuniculus* usado na infestação N1, sendo que no momento da infestação havia entre nove e 16 dias que ele havia sido previamente infestado por ninfas de *H. leporis-palustris*.

3.4.2 Amostra CA

3.4.2.1 Infestação N6

Um total de 80 ninfas provenientes da infestação L4 foi levada a infestar o *S. brasiliensis* SB2 com infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 28 e 35 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L6.

3.4.2.2 Infestação N7

Um total de 530 ninfas provenientes da infestação L6 foi levada a infestar o *S. brasiliensis* SB2 com infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 9 e 20 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação N6.



3.4.3 Amostra UFMG

3.4.3.1 Infestação N8

Um total de 98 ninfas provenientes da infestação L9 foi levada a infestar o *S. brasiliensis* SB2 com infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 15 e 27 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L9.

3.4.3.2 Infestação N9

Um total de 70 ninfas provenientes da infestação L10 foi levada a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. As ninfas tinham entre 15 e 25 dias de idade e a infestação foi realizada e conduzida nas mesmas condições da infestação L10.

3.5 Primeira geração de adultos.

As ninfas ingurgitadas recuperadas em cada infestação foram levadas à estufa B.O.D. e observadas diariamente. Foi computada a porcentagem de ninfas que fizeram ecdise para adultos em relação ao total recuperado e o tempo em dias que cada uma tomou para completar a ecdise. Assim que fizeram a ecdise, os adultos foram identificados conforme o sexo (exceto os de origem das infestações N1 e N2), colocados em tubos de seringa plástica as quais foram vedadas na extremidade anterior com algodão, e retornadas imediatamente à estufa B.O.D.

Para alguns adultos, foi observado o tempo que eles levaram para que suas cutículas adquirissem a coloração da cutícula de um adulto infestante. Essa observação foi feita comparando diariamente o adulto desde logo a sua ecdise com adultos do mesmo sexo de pelo menos dez dias de vida, até que ambos apresentassem cutículas com as mesmas tonalidades de coloração.

No caso das ninfas ingurgitadas recuperadas das infestações N8 e N9 (amostra UFMG), assim que elas fizeram a ecdise, elas foram imediatamente separadas conforme o sexo. Machos e fêmeas foram colocados em seringas diferentes, de forma que indivíduos de sexos diferentes não tivessem nenhum contato após a ecdise.

Após completarem a ecdise, alguns adultos da amostra UFMG foram deixados permanentemente na estufa para verificar o tempo máximo de sobrevivência em jejum.

3.6 Fase parasitária da primeira geração de adultos

3.6.1 Amostra CC

3.6.1.1 Infestação A1

Treze adultos (sete fêmeas e seis machos) de 21 a 32 dias de idade, provenientes das infestações N1 e N2, foram levados a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação L5. Os machos foram observados por quanto tempo permaneciam sobre o corpo do hospedeiro, através de inspeção e palpação diária do coelho.

3.6.1.2 Infestação A2

Vinte e quatro adultos (não foi feita a contagem diferenciada por sexo) de 54 a 65 dias de idade, provenientes das infestações N1 e N2, foram levados a infestar o mesmo *O. cuniculus* utilizado previamente na infestação A1. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1 e foi realizada no dia seguinte à queda da última fêmea ingurgitada da infestação A1.

3.6.1.3 Infestação A3

Quarenta e quatro adultos (não foi feita a contagem diferenciada por sexo) de 33 a 43 dias de idade, provenientes das infestações N3, N4 e N5, foram levados a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1, sendo que 12 adultos foram colocados na orelha direita e 32 na região da cabeça e linha do dorso do coelho.

3.6.2 Amostra CA

3.6.2.1 Infestação A4

Seis fêmeas provenientes da infestação N6, com 47 a 49 dias de idade, e um macho proveniente de infestação não estabelecida, mas certificado de pertencer à amostra CA, foram levados a infestar o *S. brasiliensis* SB2. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação L3. Neste caso, devido ao temperamento selvagem dos coelhos silvestres, não foi possível observar por quanto tempo os machos permaneciam sobre o corpo do hospedeiro.

3.6.2.2 Infestação A5

Um total de 16 adultos (8 fêmeas e 8 machos) provenientes da infestação N7, com 20 a 27 dias de idade, foram levados a infestar o *S. brasiliensis* SB1. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A4.

3.6.2.3 Infestação A6

Um total de 20 adultos (12 fêmeas e 8 machos) provenientes da infestação N7, com 20 a 27 dias de idade, foram levados a infestar um *O. cuniculus*, sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1.

3.6.3 Amostra UFMG

Com os adultos desta amostra, realizou-se quatro infestações diferenciadas. Todos adultos foram provenientes das infestações N8 e N9. Com 8 a 20 dias de idade, quando até então nenhum adulto tinha tido contato com outro adulto do sexo oposto, 12 machos foram colocados dentro de uma outra seringa (designada como seringa XY) juntamente com 14 fêmeas, estabelecendo o primeiro contato entre eles desde a ecdise. Nas outras duas seringas permaneceram 11 machos em uma (seringa Y) e 15 fêmeas na outra (seringa X). Após 10 dias, quando os adultos tinham 18 a 30 dias de idade, as infestações foram executadas.

3.6.3.1 Infestação A7

Sete fêmeas e dez machos da seringa XY foram levados a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1.

3.6.3.2 Infestação A8

Sete fêmeas da seringa XY foram levadas a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1.

3.6.3.3 Infestação A9

Sete fêmeas da seringa X e dez machos da seringa Y foram levados a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1.

3.6.3.4 Infestação A10

Sete fêmeas da seringa X foram levadas a infestar um *O. cuniculus* sem infestação prévia por carrapatos. A infestação foi realizada e conduzida conforme a infestação A1.

3.7 Primeira geração de fêmeas ingurgitadas

No dia em que desprenderam-se dos hospedeiros, as fêmeas ingurgitadas recuperadas nas infestações A1 à A10 foram pesadas separadamente na balança eletrônica e posteriormente levadas individualmente em placa de petri à estufa B.O.D. Foram observados os períodos de pré-postura, postura, incubação dos ovos e determinados o peso da postura, conversão do peso da fêmea ingurgitada em peso de ovos (eficiência reprodutiva - ER) e porcentagem de eclosão dos ovos, conforme realizado no item 3.2. No caso das infestações com carrapatos das amostras CA e UFMG, foram anotados os pesos das fêmeas no dia em que terminaram a postura, observado por quantos dias as quenóginas permaneceram vivas e os seus respectivos pesos no dia em que morreram.

No caso de oito fêmeas ingurgitadas recuperadas em infestações da amostra CA, seus períodos de postura e incubação dos ovos foram estudados mais detalhadamente. Neste caso, a postura de ovos diária de cada fêmea foi pesada, sendo que os períodos de incubação, eclosão e porcentagem de eclosão dos ovos foram observados separadamente por dia de postura.

Das posturas de seis fêmeas da amostra CA, foram contadas dez amostras de 100 ovos, que foram posteriormente pesadas. Dividindo-se 100 pelo valor médio do peso de 100 ovos, obteve-se o número de ovos por grama de postura para a amostra CA.

3.8. Métodos estatísticos

Trabalhou-se basicamente com estatística descritiva, utilizando a moda, média aritmética, desvio padrão e amplitude para comparar os resultados. Para comparar os períodos de incubação dos ovos em função do dia de postura, foi feita análise de regressão das medianas correspondentes aos períodos de incubação de cada dia de postura por fêmea.



4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Fase não parasitária das fêmeas ingurgitadas (amostra CA)

Após desprendimento natural dos coelhos silvestres *S. brasiliensis* SB1 e SB2 capturados no município de Caratinga, as três fêmeas ingurgitadas (T1, T2 e T3) foram levadas à estufa B.O.D. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 1. As altas eficiências reprodutivas apresentadas pelas três fêmeas mostram-se como reflexo da interação de *H. leporis-palustris* com esta espécie de hospedeiro.

4.2 Primeira geração de larvas

4.2.1 Sobrevivência de larvas não alimentadas

Na amostra CC, o tempo máximo de sobrevivência de larvas em jejum foi de 154 dias, nas condições da estufa B.O.D. No 106º dia em jejum, a maioria das larvas já estavam mortas. O tempo máximo de sobrevivência observado neste trabalho foi inferior ao relatado por Diamant & Strickland (1965), de 258 dias. Este período mais curto pode ser devido a temperatura constante a qual as larvas foram submetidas. Em ambientes naturais, principalmente em climas temperados, este período é esperado ser maior, pois nestes casos o carrapato entrará em diapausa comportamental nas épocas mais frias do ano, gastando o mínimo de energia para sobreviver (Cerny & De La Cruz, 1971; Balashov, 1972; Ivancovick, 1978; Cardoso et al., 1984; Ouhelly & Pandey, 1984; Magalhães, 1989; Oliver, 1989). Incubado em uma estufa a 27°C, o carrapato não entra em diapausa e portanto, tendo um ritmo maior de gasto de energia,

consequentemente, sobrevive por menos tempo. Mesmo na ausência de diapausa, como provavelmente acontece nas regiões tropicais, os carrapatos submetidos a temperaturas mais baixas têm sua sobrevivência aumentada como demonstrou Magalhães (1989) para larvas de *B. microplus* mantidas em estufa B.O.D. a 27°C e umidade relativa superior a 80%, que sobreviveram menos tempo que larvas a campo, em temperaturas ambientais durante o inverno em Pedro Leopoldo, MG.

4.2.2 Fase parasitária da primeira geração de larvas

Para a amostra CC, o número de larvas ingurgitadas recuperadas com seus respectivos períodos de parasitismo estão representados na Tabela 2. Nas duas infestações (L1 e L2), o dia modal de parasitismo, ou seja, o dia onde se despreendeu do hospedeiro a maior quantidade de larvas ingurgitadas, ficou entre o 7º e 8º dias. Para a amostra CA, o número de larvas ingurgitadas recuperadas com seus respectivos períodos de parasitismo estão representados nas Tabelas 3 a 6. As Tabelas estão expressas de acordo com a infestação (L3 a L8) e o número de larvas recuperadas por dia é especificado conforme a metodologia usada na infestação. Na Figura 5 estão representadas as curvas de queda de larvas ingurgitadas do hospedeiro, com os dados das infestações L3, L4, L6 e L8 agrupados, que são infestações realizadas no *S. brasiliensis*, e os dados das infestações L5 e L7 agrupados, que são infestações realizadas no *O. cuniculus*. Para a amostra UFMG, o número de larvas ingurgitadas recuperadas com seus respectivos períodos de parasitismo estão representados nas Tabelas 7 e 8. As Tabelas estão expressas de acordo com a infestação (L9 e L10) e o número de larvas recuperadas por dia é especificado conforme o intervalo de hora do dia em que desprenderam-se do hospedeiro.

Nas amostras CC, CA e UFMG, o período mínimo de parasitismo das larvas foi de seis dias quando se utilizou *O. cuniculus* como hospedeiro. Entretanto, quando se utilizou o *S. brasiliensis* como

hospedeiro, o período mínimo de parasitismo das larvas foi de quatro dias na infestação L3 e cinco dias nas infestações L4, L6 e L8. Trabalhando com larvas obtidas da mesma fêmea e portanto, com idades semelhantes, obteve-se o 6º dia de parasitismo como dia modal para as infestações L3 e L4, realizadas em *S. brasiliensis*, e o 8º dia para a infestação L5 realizada em *O. cuniculus*. Houve nessas três últimas infestações, uma tendência a um comportamento bimodal intervalado de um dia, em relação à queda das larvas. Na infestação L3, foram recuperadas 91 larvas no 6º dia, 50 no 7º e 67 no 8º. Na infestação L4 foram recuperadas 187 larvas no 6º, 55 no 7º e 97 no 8º. Já na infestação L5 foram 21 larvas no 8º, 2 no 9º e 21 no 10º. Este comportamento bimodal com intervalo de um dia pode ser uma adaptação ecológica do carrapato, uma vez que foi observado nessas três infestações, que foram as únicas realizadas com a progênie da fêmea ingurgitada T1 obtida do *S. brasiliensis* capturado no município de Caratinga. Na infestação L8, a única realizada com larvas da fêmea ingurgitada T3, também obtida em Caratinga, foi também observado o comportamento bimodal de queda de larvas. O fato deste comportamento também ocorrer na infestação L8 corrobora a hipótese desta associação estar relacionada com o comportamento de larvas da amostra CA, e não uma simples observação aleatória. Nas infestações L6 e L7, realizadas com a progênie de uma mesma fêmea (T2), o dia modal de queda das larvas foi o 7º quando se utilizou o *S. brasiliensis* como hospedeiro, e o 8º quando o *O. cuniculus* foi o hospedeiro.

O atraso no dia modal de queda na infestação L8 quando comparado com as infestações L3 e L4, ambas realizadas em *S. brasiliensis*, pode estar relacionada com a idade das larvas. Nas infestações L4 e L5, as larvas tinham de 3 a 29 dias, dando o 6º dia como dia modal de queda. Na infestação L6, as larvas tinham de 60 a 78 dias de idade, dando o 7º dia como dia modal. Provavelmente, larvas mais velhas demoram mais a se fixarem no hospedeiro, atrasando o dia da queda do hospedeiro.

Quanto a duração máxima do fase parasitária de larvas do hospedeiro, este parece ser independente do dia modal de parasitismo e mais dependente do total de larvas parasitando o animal. Observando as infestações da amostra CA realizadas em *S. brasiliensis*, as quais apresentaram o 6º ou 7º dia como dias modais, pode-se constatar que na infestação L6, quando foram recuperadas 682 larvas ingurgitadas, o período máximo de parasitismo foi de 13 dias (Tab.3). Na infestação L4, quando foram recuperadas 412 larvas, o período máximo de parasitismo foi de 12 dias. Já nas infestações L3 e L8, quando foram recuperadss 253 e 50 larvas, respectivamente, o período máximo de parasitismo foi de 10 dias.

Na Figura 5 pode-se ver diferenças do comportamento parasitário de larvas em função do hospedeiro para a amostra CA, já que em cada espécie de hospedeiro, as larvas apresentaram um período mínimo de parasitismo e um dia modal diferente.

Quanto aos períodos de parasitismo de larvas, os resultados deste trabalho para as infestações realizadas em *O. cuniculus* para as amostra CC e CA assemelham-se aos observados por Rhor (1909), que apesar de não citar a espécie de coelho utilizada como hospedeiro, foram de 6 a 11 dias, sendo o 8º o dia modal. Hooker (1908) apenas cita que as larvas ingurgitadas caem do hospedeiro a partir do 5º dia de parasitismo. Hunter & Hooker (1907) citados por Vogelsang & Dias (1954) e Diamant & Strickland (1965) relatam que este período dura de 4 a 11 dias, mas geralmente de 5 a 8. São dados semelhantes aos obtidos neste trabalho, mas não é possível compará-los com os desse trabalho devido a pobreza de detalhes e a não especificação da espécie de hospedeiro usada.

Na Figura 6 está representada uma comparação do número de larvas que desprenderam-se do hospedeiro conforme o intervalo do dia (8:00 às 18:00 ou 18:00 às 8:00h), para as infestações L6 e L7 agrupados. A maioria das larvas (88,22%) desprenderam-se dos hospedeiros durante o dia entre 8:00 e 18:00h. Na Figura 7 está

representada a proporção de larvas desprendidas do hospedeiro conforme o intervalo do dia, para a infestação L9 (realizada em *S. brasiliensis*) e infestação L10 (realizada em *O. cuniculus*). A constatação de que a maioria das larvas ingurgitadas nas infestações L6, L7 e L9 desprenderam-se do hospedeiro durante o dia é compatível com a literatura que relata este comportamento como uma adaptação do ciclo biológico do carrapato aos hábitos do hospedeiro, como estratégia de sobrevivência (Hooker, 1908; Diamant & Strickland, 1965; George, 1971). Como os *Sylvilagus* sp têm hábitos de repousarem durante o dia em locais geralmente fixos, os carrapatos que se desprendem durante o dia terão pouco trabalho de encontrar um hospedeiro após a fase não parasitária no ambiente. Se desprendessem na sua maioria durante à noite, teriam mais dificuldades de encontrar um hospedeiro, pois neste período, os coelhos são ativos e estão fora do abrigo. George (1971) constatou que num sistema de 16 horas de luz artificial e 8 horas de escuro por dia, 89% das larvas desprenderam-se do hospedeiro no período de seis horas antes das duas últimas horas de luz artificial. Se considerarmos no presente trabalho, que foi conduzido em condições de luz natural, que essas seis horas vão das 10:00 às 16:00h, veremos que na infestação L6 apenas 68% das larvas caíram neste período, 56,6% na infestação L7, e 78,1 na infestação L9. Apesar de não ser um percentual tão alto como o apresentado por George (1971), pelo menos representa a maioria das larvas, ou seja, mais de 50% das larvas caíram neste período. A diferença de padrão de queda de larvas do hospedeiro entre as infestações L9 e L10 é grosseira. Como as duas infestações foram conduzidas com larvas oriundas de uma mesma fêmea e em condições naturais de luz, esta diferença está provavelmente em função do hospedeiro. Observando os hábitos do *S. brasiliensis*, pode-se ver que durante o dia eles são muito quietos, permanecendo em uma mesma posição por horas. Dificilmente andam pela gaiola ou bebem água. Já os *O. cuniculus*, talvez pelo fato de terem sido domesticados, perderam um pouco deste padrão circadiano, sendo bastante ativos em vários momentos do dia., alterando, portanto, o padrão de queda dos

carrapatos ingurgitados Segundo George (1971), tanto o fotoperíodo como a hora de alimentação do hospedeiro influenciam diretamente no ritmo de queda de *H. leporis-palustris* de seus hospedeiros. No caso da infestação L7, embora tenha sido realizada em *O. cuniculus*, o padrão de queda das larvas foi semelhante ao da Infestação L6. Essa pouca variação pode estar em função de características próprias da amostra e/ou dos hábitos do coelho usado que pode ter sido um animal com menor atividade diurna, quando comparado com o coelho da infestação L10. Quanto à alimentação, os *O. cuniculus* foram alimentados *ad libitum* enquanto que os *S. brasiliensis* só foram alimentados a partir das 18:00h, horário semelhante ao natural, quando os coelhos silvestres começam a se tornar mais ativos. Este fator provavelmente teve grande influência na queda das larvas ingurgitadas, demonstrada pelas diferenças dos padrões de queda das larvas das duas espécies de hospedeiros.

4.3 Ecdise de larvas para ninfas

O número de ninfas recuperadas a partir das larvas ingurgitadas das amostras CC, CA e UFMG, com seus respectivos períodos em dias que levaram para completar a ecdise, estão representados nas Tabelas 9 a 12. Na Figura 8 estão representadas as curvas de ecdise da amostra CA para os dados das infestações L3, L4 e L6 agrupados (infestações realizadas em *S. brasiliensis*) e infestações L5 e L7 (infestações realizadas em *O. cuniculus*). As primeiras ninfas surgiram a partir do 8º dia após queda do hospedeiro, apresentando o 10º e 11º como dias modais. Para a amostra CC, as ecdises se completaram a partir do 9º dia após queda do hospedeiro, apresentando o 11º e 12º como dias modais, ou seja, dias em que houve um maior número de emergências de ninfas das exúvias das larvas ingurgitadas. Já na amostra UFMG, as primeiras ninfas surgiram somente a partir do 11º dia após queda do hospedeiro, apresentando o 13º e 14º dias como dias modais. Considerando que todas as larvas ingurgitadas foram mantidas dentro das mesmas

condições ambientais ($27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $\text{UR} \geq 85\%$), pode-se constatar comportamentos diferentes entre as amostras para os períodos de ecdise dessas larvas para ninfas.

Nas amostras CA e UFMG, nas quais foram estudadas separadamente as larvas alimentadas em *S. brasiliensis* e *O. cuniculus*, não foram observadas diferenças quando se comparam os padrões de curvas de ecdise das larvas alimentadas nestes dois tipos de hospedeiro (Figura 8 e Tabelas 11 e 12). A amplitude do período de ecdise para as larvas oriundas de cada infestação parece estar diretamente proporcional ao número total de larvas que completaram a ecdise, quando se analisa cada amostra separadamente. Estes períodos, ao contrário dos dias modais, não parecem variar entre as três amostras estudadas. Desta forma, pode-se constatar que 90% das larvas ingurgitadas da amostra CC completaram a ecdise até o 19º dia após queda do hospedeiro. Na amostra CA, 90% completaram a ecdise até o 14º dia após queda do hospedeiro e na amostra UFMG, 90% completaram a ecdise até o 16º dia após queda do hospedeiro.

Rohr (1909) estudando a ecdise de larvas para ninfas em temperaturas ambientais médias variando entre $20,2^\circ\text{C}$ e $21,4^\circ\text{C}$ observaram que este período foi do 15º ao 22º dia após queda do hospedeiro. A 30°C este período foi do 7º ao 9º dia. Em temperaturas médias de $25,8^\circ$ a $26,8^\circ\text{C}$ este período foi do 8º ao 12º dia, estando dentro da faixa de ecdise obtida no presente trabalho realizado a $27 \pm 1^\circ\text{C}$. Diamant & Strickland (1965) reporta o período de ecdise variando de 18 a 134 dias, porém não especificou as condições ambientais do estudo. Campbell & Glines (1979) estudando o período de ecdise com larvas ingurgitadas submetidas a temperaturas constantes diferentes e $\text{UR} \geq 85\%$, relatam que a $25,2^\circ\text{C}$, o período médio de ecdise foi de 16,4 dias com desvio padrão 0,28. A 29°C , este período médio foi de 13,5 dias e desvio padrão 0,2. A $19,9^\circ\text{C}$, este período médio foi de 32,8 e desvio

padrão 0,4. Comparando o comportamento das larvas ingurgitadas da amostra originada de lebres da Nova Scotia no nordeste canadense, pode-se ver que existe uma diferença com as amostras deste estudo, já que a média calculada para a amostra CC foi 13,7, e para amostra CA foi de 11,5, sugerindo que o dia modal de ecdise de larvas para ninfas varia conforme a amostra de carrapato.

A porcentagem de larvas que completaram ecdise para ninfas em relação ao total de larvas ingurgitadas recuperadas, conforme a infestação, estão representados na Tabela 13. Campbell & Glines (1979) relata que a 25,2°C, 96,7% das larvas ingurgitadas completaram a ecdise para ninfas. No presente trabalho este índice médio foi de 73,1%. Os dois índices não são comparáveis já que as metodologias usadas para obtenção das larvas ingurgitadas foram diferentes, o que teria um reflexo direto na sobrevivência dos estágios ingurgitados, e conseqüentemente, no índice de ecdise para cada estudo.

4.3.1 Período pós ecdise

Comparando um grupo de oito ninfas que havia recém completado a ecdise com outro grupo composto por ninfas de mais de 10 dias de idade, observou-se que o primeiro grupo levou de 48 a 72 h para que suas cutículas atingissem a mesma coloração da cutícula das ninfas do segundo grupo. Entretanto, enquanto as ninfas infestantes de mais de dez dias apresentavam a face ventral do idiossoma subcôncava, as ninfas de 48 a 72 h o apresentavam com formato convexo. O fato das ninfas recém emergidas das exúvias atingirem a coloração de ninfas mais velhas em 48 a 72h, está provavelmente associada à uma intensa esclerotização da mesocutícula e exocutícula (Balashov, 1972), tornando-as mais rígidas, e talvez, como foi constatado para *Ixodes* sp, a uma deposição de mais uma camada de exocutícula, a qual elevaria a temperatura crítica do novo estágio, tornando-o menos vulnerável à perdas de água para o meio (Beament, 1959). Ninfas mais velhas apresentam a face ventral

do abdome mais côncavo porque já esvaziaram os túbulos de Malpighi com excreções de guanina através do ânus (fezes esbranquiçadas comum em todos estágios imediatamente pós eclosão ou ecdise, originada do metabolismo final de nitrogênio) e os intestinos e o saco retal. Também ocorre no epitélio intestinal uma reposição de células hipertrofiadas oriundas do estágio anterior por um epitélio mais chato e indiferenciado (Balashov, 1972). Considerou-se que na fase não parasitária deste experimento não ocorreram mudanças físicas nos carrapatos em função de perda de água, já que ele foi conduzido à umidade relativa superior a 95%. Belozarov, (1966) citado por Balashov (1972) relata que fêmeas de *Dermacentor marginatus* mantidas a 25°C no período pós ecdise, apresentaram uma diminuição de 31,5% do peso nos primeiros 20 dias pós ecdise em função principalmente do esvaziamento dos intestinos e saco retal. Nos 20 dias subsequentes, esta diminuição foi de apenas 4,7% e posteriormente foi menor ainda. Este mesmo autor relata uma perda similar, mas menor, para *Ixodes ricinus*.

4.4 Primeira geração de ninfas

4.4.1 Sobrevivência de ninfas não alimentadas

O tempo máximo de sobrevivência das ninfas não alimentadas, mantidas em estufa B.O.D., foi de 268 dias. No 160º dia, a maioria já estava morta. Este período máximo de sobrevivência é menor que os 342 dias relatado por Diamant & Strickland (1965). Este período mais curto pode também ser devido a temperatura constante em que as ninfas foram submetidas à estufa B.O.D.. Entretanto, Hunter & Hooker, (1907) citado por Vogelsang & Dias (1953), citam que a grande maioria sobrevive entre 78 e 246 dias.

4.4.2 Fase parasitária da primeira geração de ninfas

Para as três amostras, o número de ninfas ingurgitadas recuperadas com seus respectivos períodos de parasitismo estão representados

nas Tabelas 14 a 17, expressas de acordo com a infestação e o número de ninfas recuperadas por dia está especificado conforme a metodologia usada.

Na amostra UFMG, o início de queda das ninfas foi no 8º dia de parasitismo enquanto que nas amostras CC e CA, este início foi no 6º dia de parasitismo. Embora os resultados da amostra CC sejam de infestações em *O. cuniculus* e os da amostra CA em *S. brasiliensis*, os resultados foram, a primeira vista, semelhantes. Neste trabalho, as infestações com todos os estágios de carrapatos da amostra CA em *O. cuniculus* foi a que obteve menos sucesso quando comparamos as três amostras. No caso das ninfas, não se conseguiu sucesso em nenhuma infestação, ou seja, nenhuma ninfa foi recuperada. Portanto, não se pode dizer que as amostras CC e CA apresentaram resultados semelhantes quanto ao período parasitário das ninfas, já que os resultados da amostra CA são de infestações realizadas em *S. brasiliensis*. Os dias modais de desprendimento de ninfas nas infestações das amostras CC e infestação N9 da UFMG (ambas realizadas em *O. cuniculus*) foram 8 e 10, respectivamente, corroborando a existência de comportamentos parasitários diferentes entre as duas amostras. Diferença dentro de uma mesma amostra (UFMG) pode ser evidenciado também quando comparamos os resultados quando foram utilizados hospedeiros diferentes (infestações N8 em *S. brasiliensis* e N9 em *O. cuniculus*).

Rhor (1909) encontrou o período de parasitismo de ninfas de *H. leporis-palustris* de seis a 6 dias para 81 ninfas ingurgitadas recuperadas, sendo que o dia modal de queda foi o 8º, quando 48 ninfas foram recuperadas. Diamant & Strickland (1965) cita este período variando de 4 a 8 dias e Hunter & Hooker (1907) citados por Vogelsang & Dias (1953) citam 4 a 10 dias. É difícil comparar estes dados já que nenhum destes autores especificou a espécie de hospedeiro utilizada no respectivo estudo.

A maioria das ninfas ingurgitadas desprenderam-se do hospedeiro durante o dia (Tabelas 16 e 17), concordando com a literatura a respeito dos hábitos deste carrapato no que se refere ao ritmo circadiano (Hooker, 1908; Diamant & Strickland, 1965; George, 1971). George (1971) relata que 90% das 192 ninfas ingurgitadas recuperadas no período de três dias desprenderam-se do hospedeiro durante as seis horas anteriores às duas horas antes do período escuro no ciclo de 14 horas de luz artificial e 10 horas de escuro. Considerando no presente trabalho que essas seis horas foram das 10:00h às 16:00h, nas infestações N6, N7, N8, e N9, os valores percentuais para este período foram 58, 29, 34 e 58%. Isto mostra que apesar da maioria das ninfas terem desprendido durante as horas de luz, elas mostraram um padrão de queda menos concentrado durante o dia, quando comparadas com as ninfas da amostra de George (1971). Este fato pode estar relacionado com características da amostra, hospedeiro ou/e pelo fato do presente trabalho ter sido realizado em condições de luz natural.

Comparando os resultados das infestações N3 com N4 e N5, pode-se constatar algumas diferenças entre a primeira e as duas últimas. Nas três infestações, as ninfas eram de idades semelhantes, entretanto, os coelhos utilizados nas infestações N4 e N5 já havia sido previamente infestados por pelo menos 11 dias, quando desprenderam-se as últimas ninfas ingurgitadas. Este fato provavelmente ocasionou uma menor proporção de ninfas recuperadas nestas infestações, e ainda, retardou em um dia o pico de queda de ninfas na infestação N4. Na infestação N5 não pode ser comparado este pico de queda pois o número de ninfas recuperadas foi muito reduzido. Esta constatação também foi feita por Ntiamoa-Baidu (1987) que recuperou menos ninfas ingurgitadas e com períodos parasitários mais prolongados em infestações por *Rhipicephalus simpsoni* em coelhos previamente infestados, comparados com coelhos sem infestação prévia. Boese (1974) constatou que *O. cuniculus* com infestação prévia por ninfas de *H. leporis-palustris* até 20 dias demonstraram um grau de imunidade

anti-carrapato quando foram desafiados com ninfas do mesmo carrapato, quando comparados com os coelhos do grupo controle, sem infestação prévia. O autor ainda relata que esta imunidade nestes hospedeiros surge a partir do 6º e 7º dia de parasitismo, mas que só influencia aquelas ninfas que ainda não se fixaram ou que estão a menos de dois dias de fixação. As que estão por mais tempo, seguramente completarão o ingurgitamento. Quanto aos níveis de anticorpos anti-carrapato, estes só aparecem quando todas ou quase todas ninfas já se desprenderam do hospedeiro. A menor proporção de ninfas recuperadas nas infestações N4 e N5 está possivelmente associada à resposta imunológica dos coelhos previamente infestados. Trager (1939), Allen (1973) Wikel & Allen (1976a), Wikel & Allen (1976b) trabalhando com larvas de *Dermacentor* sp em cobaias, demonstraram uma menor recuperação de larvas ingurgitadas em cobaias previamente infestados, e que estes animais reagem, do ponto de vista histopatológico, com uma maior infiltração leucocitária e edema local, aumentando a distância entre as peças bucais do carrapato e a micro hemorragia local, levando a expulsão do carrapato do sítio de alimentação, potencializada pela maior atividade de auto-limpeza exercida por estes hospedeiros. Trager (1939) relatou que esta expulsão do carrapato do seu sítio de alimentação por reação imunológica só ocorreu em infestações com larvas. Nas infestações com ninfas e adultos, a proporção de ingurgitados recuperados não foi alterada, mas o peso dos alimentados em hospedeiros previamente infestados foi significativamente menor que os alimentados em não infestados previamente. Esta diferença com o presente trabalho está provavelmente associada às diferenças de hospedeiro e espécie de carrapato, mostrando que estes resultados não podem ser generalizados. As infestações da amostra CA, nas quais apenas as ninfas alimentadas em *S. brasiliensis* completaram a ecdise, demonstram a extrema interação deste carrapato com seu hospedeiro natural, já que os *S. brasiliensis* utilizados já haviam sido previamente infestados.

A resistência do hospedeiro ao carrapato está mais associada à infestações repetidas a que o número de carrapatos por infestação (McGowan, 1979). Se os períodos de parasitismo de larvas e ninfas de ixodídeos em geral tem duração máxima de seis a oito dias na sua maioria, é provavelmente uma adaptação coevolutiva dessas espécies com seus hospedeiros. Se esses estágios imaturos requeressem um tempo maior para completarem o ingurgitamento, provavelmente não teriam sucesso pois seriam severamente prejudicados pelas reações imunológicas do hospedeiro. Da mesma forma, essa resistência imunológica do hospedeiro foi condicionada ao longo da evolução de não ser muito prolongada pois poderia prejudicar severamente as populações de carrapatos. Entretanto, se por algum motivo, como o aumento da densidade animal de hospedeiros, a população de carrapato aumentar muito, as infestações serão cada vez mais intensas e a população de hospedeiros será prejudicada, inclusive com morte dos hospedeiros mais susceptíveis. Posteriormente, a população de hospedeiros responderá com respostas imunológicas mais duradouras e efetivas, já que o estímulo antigênico será mais prolongado, e com isso, levando muitos carrapatos a não terem sucesso na alimentação, podendo ser esta, portanto, uma forma de controle das populações de carrapato e hospedeiro. No caso de estágios adultos, o tempo de parasitismo é geralmente maior que imaturos entre os ixodídeos. Os adultos têm aparelho bucal bem maior que imaturos e portanto, são mais difíceis de serem expulsos do sítio de fixação na pele por reações locais do hospedeiro. Entretanto essas reações ocorrem, mas geralmente levam somente à um menor ingurgitamento do adulto, e conseqüentemente uma menor postura de ovos, assim como foi constatado por Trager (1939) trabalhando com *D. variabilis* em cobaios e Moraes et al. (1989) trabalhando com *Boophilus microplus* em bovinos.

4.5 Ecdise de ninfas para adultos

O número de adultos recuperados a partir das ninfas ingurgitadas com seus respectivos períodos em dias que levaram para completar a ecdise estão representados nas Tabelas 18 a 20. As Tabelas estão expressas de acordo com a amostra (CC, CA e UFMG) e a infestação de ninfas que originaram os adultos. Enquanto para as amostras CC e CA, o dia modal de ecdise foi entre o 14° e 16°, na amostra UFMG este dia para as ninfas originadas da infestação N9 (em *O. cuniculus*) foi em torno do 18° ao 20°. Na amostra UFMG, pode-se ver claramente diferenças quanto ao padrão de ecdise das ninfas originadas da infestação N8 (em *S. brasiliensis*) com as originadas da infestação N9 (em *O. cuniculus*), entretanto não se pode dizer que essas diferenças foram em função do hospedeiro já que o número de ninfas da infestação N9 foi muito pequeno, podendo ser esta diferença simplesmente aleatória. Com exceção das ninfas originadas da infestação N9, o dia modal de ecdise para ambas amostras ficou entre o 14° e 16° dia após queda do hospedeiro. Nas amostras CC, CA e UFMG, 90% das ninfas completaram a ecdise até o 19°, 16° e 20° dia após queda do hospedeiro, respectivamente.

Rhor (1909) verificou que o período de ecdise das ninfas ingurgitadas, desprendidas naturalmente do hospedeiro, e submetidas às temperaturas ambientais entre 26,8° e 27,3°C, foi de 10 a 17 dias, diferindo portanto das amostras estudadas no presente trabalho que só completaram a ecdise a partir do 12° dia. Campbell & Glines (1979) apresentaram que a média de período de ecdise para adulto de ninfas ingurgitadas mantidas à 25,2°C e UR > 85% foi de 30,83 dias. À 29,7°C este período médio foi de 28,29 dias. Em ambas as temperaturas, os períodos diferiram do presente trabalho, que teve médias de período de ecdise de 16,11, 14,66 e 17,38 para as amostras CC, CA e UFMG, respectivamente. Hunter & Hooker (1907) citados por Vogelsang & Dias (1953) relataram períodos mais curtos de 8 e 9 dias para que as ninfas completassem

a ecdise e períodos tão longos de até 124 dias, entretanto para nenhum desses períodos foi relatada a temperatura em que os carrapatos foram submetidos, impossibilitando a comparação destes dados

Na Figura 9 está representada a curva de ecdise para cada sexo do estágio adulto, em relação às ninfas ingurgitadas provenientes das infestações N3, N4 e N5. As curvas de ecdise por sexo para as infestações N7 (amostra CA) e infestações N8 e N9 (amostra UFMG) estão representadas nas Figuras 10 e 11, respectivamente. Para a amostra CC pode-se constatar que a maioria dos machos foram originados de ninfas que completaram a ecdise anteriormente às que originaram as fêmeas. Enquanto o dia modal de ecdise de ninfas para adulto machos foi 14, o de ecdise para fêmeas foi 16. Nas outras duas amostras este dia modal é semelhante para ambos os sexos. Entretanto, em todas as três amostras as primeiras ecdises deram origem à machos, surgindo as primeiras fêmeas somente nos dias subsequentes. Pode-se considerar que das três amostras, a que menos evidencia diferenças de ecdise entre machos e fêmeas é a amostra CA, na qual as curvas para os dois sexos são bem semelhantes e o intervalo entre a primeira ecdise para macho e a primeira ecdise para fêmea é de apenas um dia. Por outro lado, as ecdises da amostra CC mostram claramente uma diferença nos padrões de ecdise entre os dois sexos, discordando de Diamant & Strickland (1965) que reportam que os dois sexos de *H. leporis-palustris* têm aproximadamente os mesmos períodos de ecdise, mas concordando com Gonzales et al., 1974, Londt & Van der Bijl (1977), Guglielmone & Moorhouse (1986) para outras espécies de ixodídeos. Por sua vez, os resultados para as ninfas da amostra CA e UFMG concordam com Norval et al. (1980).

A porcentagem de ninfas que completaram ecdise para adultos em relação ao total de ninfas ingurgitadas recuperadas, conforme a infestação, está representado na Tabela 21. A porcentagem média de ninfas que completaram a ecdise neste estudo foi de 49,3%. Este

baixo valor está em função da alta taxa de mortalidade para as 237 ninfas ingurgitadas recuperadas na infestação N7. Esta mortalidade foi ocasionada principalmente pelo método como o estudo foi conduzido. Como a gaiola de infestação era cercada com uma camada de vaselina sólida, muitas ninfas, no momento em que foram recuperadas, estavam presas à essa camada de vaselina. Acredita-se que a vaselina ocasionou algum efeito tóxico sobre as ninfas e/ou obstruiu os peritremas destas, levando-as à morte. Nas infestações N1 a N5, o número de ninfas ingurgitadas recuperadas foi bem menor, favorecendo para que a maioria fosse coletada antes de entrar em contato com a vaselina. Portanto, o uso da vaselina tornou-se contra indicado nas infestações subsequentes, sendo substituída pela fita de dupla face.

As razões sexuais macho/fêmea para as amostras CC, CA e UFMG foram 1,21 , 1,71 e 0,92 , respectivamente. No caso da amostra CA, estes dados se referem a infestação N7, onde apenas 24,05% das ninfas ingurgitadas recuperadas completaram a ecdise (a maioria morreu em função da vaselina) e talvez, este valor de 1,71 não seja representativo para esta amostra. Embora a quantidade de ecdises observadas nas amostras sejam pequenas, considerando as infestações N3, N4, N5 (amostra CC) e N8 e N9 (amostra UFMG), nas quais uma média de 88,7% das ninfas completaram a ecdise, a razão sexual entre machos e fêmeas parece oscilar em torno de 1. Entretanto, apesar de não ser possível constatar neste trabalho, em função do tamanho das amostras, diferenças entre amostras poderiam ocorrer.

A partir do momento em que completaram a ecdise, alguns adultos da amostra CC observados juntamente com adultos de mais de dez dias de idade, levaram, em sua maioria, 24 h para que suas cutículas atingissem a mesma coloração dos outros adultos. Entretanto, uma minoria levava de 48 a 96 h para que suas cutículas atingissem essa coloração.

4.6 Primeira geração de adultos

4.6.1 Sobrevivência dos adultos não alimentados

O tempo máximo de sobrevivência em jejum dos adultos de *H. leporis-palustris* da amostra UFMG foi de 127 dias. Este valor é bem inferior ao citado por Diamant & Strickland (1965) de 588 dias e está relacionado provavelmente ao tamanho da amostra observada, que foi menos de dez adultos, e também à influência das condições constantes da estufa nesta fase, já mencionada.

4.6.2 Fase parasitária e não parasitária de adultos

Das três infestações realizadas com adultos da amostra CC, seis fêmeas ingurgitadas foram recuperadas na infestação A1, cinco na infestação A2 e sete na infestação A3. Para a amostra CA, foram recuperadas quatro fêmeas ingurgitadas na infestação A4, duas na infestação A5 e 10 na infestação A6. Para a amostra UFMG, foram recuperadas 6, 6, 5 e 2 fêmeas ingurgitadas nas infestações A7, A8, A9 e A10, respectivamente. Os períodos de parasitismo das fêmeas ingurgitadas recuperadas, dados relativos à fase não parasitária (incluindo a fase de quenógina) e incubação de seus ovos estão representados nas Tabelas 22, 23, 24 e 25. Não foi possível estabelecer um dia modal de queda de fêmeas ingurgitadas dos hospedeiros em função do pequeno número de fêmeas recuperadas. Entretanto, as faixas de parasitismo encontradas de 15 a 33 dias para amostra CC e 15 a 25 dias para amostra concordam com os estudos de Rhor (1909) que relata esta faixa de 19 a 25 dias e Hunter & Hooker (1907) citados por Vogelsang & Dias (1953) de 17 a 25 dias e Diamant & Strickland (1965) de 17 a 35 dias. Para a amostra CA, as médias de período de parasitismo para infestações realizadas em *S. brasiliensis* e *O. cuniculus* foram idênticas, entretanto as médias dos pesos das fêmeas ingurgitadas foram bem diferentes, mostrando que as fêmeas alimentadas em seus hospedeiros naturais ingurgitaram mais que as alimentadas em *O.*

cuniculus. Este fato reflete a interação parasito-hospedeiro ao longo da coevolução já que mesmo com infestações prévias por *H. leporis-palustris*, os *S. brasiliensis* serviram melhor como hospedeiros a que os *O. cuniculus* sem infestações prévias. Como o tempo de parasitismo de fêmeas adultas de *H. leporis-palustris* é relativamente maior que 14 dias, durante este período, o *O. cuniculus* sem infestação prévia responderia com uma resposta imunológica, a qual teria grande influência na alimentação da fêmea, diminuindo o seu ingurgitamento. Essa diferença de ingurgitamento de fêmeas em espécies de hospedeiros diferentes concorda com Drummond et al. (1969), Norval et al. (1980), Ntiamoa-Baidu (1987), Yonow (1995).

Rhor (1909) cita como peso médio de 20 fêmeas ingurgitadas recuperadas em seu estudo de 273,9 mg. Este valor está inferior a 357 mg, que foi o obtido em infestações em *S. brasiliensis* para seis fêmeas neste trabalho, podendo esta diferença estar relacionada à amostra ou sugerindo que em seu trabalho Rhor utilizou *O. cuniculus* como hospedeiros, já que este detalhe não foi especificado.

Nas infestações A7 e A9 (amostra UFMG), realizadas com machos, os períodos de parasitismo das fêmeas foi de 14 a 18, com média de 14,8, mostrando, inclusive, ser diferente dos resultados das outras amostras deste e dos outros trabalhos. A média do peso das fêmeas (332 mg) nestas infestações demonstra que para as três amostras existe uma variação grosseira do padrão de parasitismo e ingurgitamento quando alimentadas em *O. cuniculus*.

Os machos aparentemente não aumentaram de tamanho e foram observados fixos e, com frequência, caminhando pelo corpo do coelho principalmente na região da cabeça. O último dia após a realização da infestação em que foi observado algum macho sobre o corpo dos hospedeiros nas infestações A1, A2 e A3 foram 14, 22 e 17, respectivamente. Na infestação A6, machos foram observados

sobre o corpo do hospedeiro, fixos ou caminhando, no máximo até 22 dias após a realização da infestação. No caso das infestações A7 e A9, os machos foram observados sobre os hospedeiros até o 19º e 22º dia de infestação, respectivamente. Estes períodos em que os machos foram observados sobre o hospedeiro *O. cuniculus* foram inferiores ao relatado por Rhor (1909) de 32 dias. Nas infestações realizadas em *S. brasiliensis*, esta observação não foi realizada. O menor período em que machos foram observados sobre o hospedeiro foi de 14 dias para infestação A1. Segundo Oliver et al (1974), machos não alimentados de *H. leporis-palustris* necessitam de cinco dias de parasitismo para se tornarem capazes de fertilizar fêmeas, entretanto alimentações posteriores são necessárias para que possam produzir mais espermátides e fertilizarem mais fêmeas. No presente trabalho foi observado que os machos intercalavam períodos em que ficavam fixos à pele do hospedeiro e períodos em que caminhavam pelo hospedeiro, sugerindo que eles se alimentavam, procuravam fêmeas para copularem e depois se alimentavam mais para copularem mais fêmeas e assim sucessivamente.

Foi observado que, enquanto parasitando o hospedeiro, a fêmea de *H. leporis-palustris* se apresentava constantemente com quantidades razoáveis de fezes secas e escuras eliminadas enquanto se alimentava (Fig. 12). Balashov (1972) cita que ninfas e fêmeas da maioria dos ixodídeos defecam durante a alimentação uma quantidade correspondente a 50% do peso ingurgitado. Esta constatação é importante no sentido de esclarecer que, além de concentrar o alimento ingerido através da reintrodução no hospedeiro de fluidos via glândula salivar (Balashov, 1972, Kaufman, 1989), o carrapato ainda excreta parte do sangue ingerido via fezes. Estes dois mecanismos potencializam a espoliação sanguínea que os ixodídeos causam no hospedeiro.

Na infestação A4, foram recuperadas quatro fêmeas que demonstraram as maiores performances reprodutivas (Tab. 23).

Como esta infestação foi realizada com apenas um macho, foi ele quem fertilizou as quatro fêmeas. Oliver (1989) cita que um macho de ixodídeo poderia fecundar várias fêmeas durante a sua vida parasitária, podendo chegar a 40 cópulas, sendo que 20 a 30 cópulas não é raro.

Nas infestações A8 e A10, pode-se ver que a ausência de machos durante a infestação prolongou o período médio de parasitismo para 21,5 dias e apresentaram um peso médio de 185mg que foi 44,2% inferior ao das infestações A7 e A9, concordando com Balashov (1972), Norval et al. (1980), Ribeiro & Gonzales (1980), Ntiamoa-Baidu (1987), Oliver (1989). No presente trabalho pode-se ver que embora a média de ingurgitamento tenha sido baixa, algumas fêmeas atingiram pesos compatíveis com os pesos de fêmeas fecundadas nas infestações A7 e A9.

Pode-se constatar que tanto as amplitudes como as médias dos períodos pré-postura apresentaram alguma variação quando são comparadas as três amostras, entretanto este período não foi influenciado pela espécie de hospedeiro em que as fêmeas se alimentaram, conforme pode ser visto na Tabela 23 para a amostra CA. A ausência de machos durante a infestação também levou a um prolongamento deste período, conforme observado nas infestações A8 e A10 (Tab.24). Rhor (1909) observou que o período de pré-postura variou de 2 a 5 dias com média de 3,5 dias, à temperatura de 21,5°C. Como o estudo de Rhor foi realizado em temperatura inferior à deste estudo, era de se esperar deste período ser mais prolongado, entretanto, foi menor, retratando diferenças com as amostras deste estudo. Campbell & Glines (1979) relata este período médio para a amostra de Nova Scotia, Canadá, de $4,47 \pm 0,2$ dias a 25,2°C e UR maior que 85%, portanto, semelhante à amostra CA deste estudo.

Os períodos de postura também variaram entre as amostras, e para a amostra UFMG, pela presença ou ausência de macho na infestação.

Para a amostra CA, a espécie de hospedeiro em que a fêmea se alimentou também influenciou a duração deste período. Os desvios padrão para os valores de período de pré-postura e postura foram relativamente baixos, mostrando que carrapatos de uma amostra tendem a seguir os padrões característicos da amostra correspondente. Mesmo assim, é possível constatar que para a amostra CA, as fêmeas alimentadas em *S. brasiliensis* apresentaram um desvio padrão inferior às alimentadas em *O. cuniculus*. Rhor (1909) constatou este período de postura variando de 14 a 21 dias, com média de 17,6, à temperatura ambiente média de 21,4°C. Campbell & Glines (1979) citam o período médio de postura de $12,2 \pm 1$ dias a 25,2°C. Diamant & Strickland (1965) relatam que este período pode variar de 3 a 57 dias e Hunter & Hooker (1907) citado por Vogelsang & Dias (1953) relatam a variação de 5 a 20 dias. Estes dados reforçam a evidência de variação entre amostras de carrapatos para aspectos biológicos.

Assim como em outros estudos com *H. leporis-palustris* (Rhor, 1909; Campbell & Glines, 1979) e com outras espécies de ixodídeos (Hitchcock, 1955; Snow & Arthur, 1966; Sweatman, 1967; Drummond et al., 1969; Drummond et al., 1971; Balashov, 1972; Bennett, 1974; Londt & Von der Bijl, 1977; Rechav et al., 1977; Norval et al., 1980; Ouhelli et al., 1982; Deamon & Freire, 1984; Ouhelli & Pandey, 1984; Oliver, 1989), o peso da postura total de fêmeas alimentadas numa mesma espécie de hospedeiro apresentou-se diretamente proporcional ao pesos destas fêmeas ingurgitadas. Não se deve comparar os valores de fêmeas alimentadas em espécies de hospedeiros diferentes (*O. cuniculus* e *S. brasiliensis*) que, embora com pesos semelhantes antes de iniciarem a postura, obtiveram eficiências reprodutivas diferentes e conseqüentemente, a fêmea alimentada em *S. brasiliensis* colocou uma quantidade maior de ovos que a fêmea alimentada em *O. cuniculus*. Segundo Balashov (1972), Oliver (1989), a quantidade de sangue ingerido pela fêmea (retratado principalmente pelo ingurgitamento desta) terá um reflexo direto no número de oócitos que completarão o

desenvolvimento nos ovários da fêmea. No caso destas fêmeas pertencentes a uma mesma amostra, mesma idade e originadas de uma mesma fêmea ingurgitada, o hospedeiro *O. cuniculus* pode ter alterado de alguma forma este padrão de oogênese desta amostra através da ingestão de sangue, fazendo com que estas fêmeas produzissem menos ovos.

No período de postura de oito fêmeas da amostra CA observadas, 50% dos ovos foram postos até o 7º ou 8º dia de postura, correspondendo basicamente ao terço inicial do período de postura. Noventa por cento dos ovos foram postos em média, até entre o 15º e 16º dia de postura e 95% em média, até entre o 20º e 21º dia de postura. Estes dados são semelhantes aos encontrados por Bennett (1974), no que diz respeito que este autor constatou que 50% dos ovos de *B. microplus* foram postos até o 5º dia de postura, correspondendo também ao terço inicial do período de postura.

A média das eficiências reprodutivas das fêmeas oriundas das infestações A4 e A5 (realizada em *S. brasiliensis*) foi a maior e com o menor desvio padrão, quando comparada com as médias e desvio padrão de todas as outras infestações em *O. cuniculus* das três amostras, deixando clara a interação que o *H. leporis-palustris* tem com seu hospedeiro natural no Brasil. Por outro lado, quando comparamos as eficiências reprodutivas das três amostras quando se utilizou o *O. cuniculus*, como hospedeiro, pode-se ver que existe diferenças sendo a amostra UFMG (infestações A7 e A9) com a maior média de eficiência reprodutiva (53,3) e a amostra CC com a menor (35,0). Este último valor está bem abaixo das eficiências reprodutivas de vários ixodídeos quando alimentados em seus hospedeiros naturais (Balashov, 1972). Portanto, embora o *O. cuniculus* seja utilizado em vários estudos para se realizar a fase parasitária de ixodídeos, deve-se analisar muito bem o propósito do estudo, pois os dados de biologia obtidos podem não ser comparáveis com a realidade, prejudicando a geração seguinte, especialmente se as fêmeas tiverem um baixo ingurgitamento médio

e uma baixa eficiência reprodutiva em função do hospedeiro. Semelhantemente, a eclosão (%) dos ovos mostrou-se maior nas infestações realizadas em *S. brasiliensis* sendo mais um reflexo positivo da interação coevolutiva de *H. leporis-palustris* com *S. brasiliensis*.

Os dados reprodutivos das fêmeas das infestações A4 e A5 (Tab. 23) foram semelhantes aos apresentados pelas três fêmeas (T1, T2 e T3) da amostra CA (Tab. 1), as quais foram encontradas parasitando naturalmente dois *S. brasiliensis* capturados no município de Caratinga. Sendo as fêmeas das infestações A4 e A5 provenientes da geração de carrapatos produzida pelas fêmeas T1 e T2 (Fig. 3), pode-se constatar que todas estas fêmeas apresentaram comportamentos semelhantes para a fase reprodutiva observada dentro da estufa B.O.D. Esta constatação mostra que o fato de uma infestação ter sido natural e outra artificial, não alterou as performances reprodutivas das fêmeas

Na Figuras 13 estão representadas as curvas de postura apresentada por fêmeas da amostra CA (quatro fêmeas da infestação A4 e quatro fêmeas da infestação A6). Pode-se constatar que estas fêmeas apresentaram curvas de postura semelhantes ao padrão de vários ixodídeos estudados (Hitchcock, 1955; Snow & Arthur, 1966; Sweatman, 1967; Drummond et al. 1971; Bennett, 1974; Ouhelli et al., 1982).

As dez amostras aleatórias de 100 ovos, provenientes de posturas das seis fêmeas da amostra CA, apresentaram o mesmo peso de acordo com a precisão da balança utilizada, sendo este valor de 0,006 g para cada amostra. Através deste valor, o número de ovos calculado para um grama de ovos de *H. leporis-palustris* (amostra CA) foi de 16.667 ovos. Tomando-se o valor de 16.667 ovos em um grama, pode-se calcular que o número médio de ovos postos pelas fêmeas alimentadas em *S. brasiliensis* foi 3.793 ovos (3.117 - 4.585) e o número médio para as fêmeas alimentadas em *O.*

cuniculus foi 2.111 ovos (1.217 - 2.700). O número de ovos em um grama de postura (16.667) encontrado neste estudo é diferente do calculado por Rhor (1909), que cita como peso médio de um ovo de 0,07 mg, ou seja, 14.286 ovos em um grama de postura. Diferenças de número de ovos em um grama de postura para uma espécie de ixodídeo é citada na literatura para amostras de carrapatos diferentes (Dunn, 1915; Alvarado & Gonzales, 1979; Quevedo, 1966 citado por Alvarado & Gonzales, 1979; Prata et al., 1995a). Portanto, pode-se considerar que essas diferenças podem estar relacionadas com as características da amostra estudada e/ou pelo fato que segundo Oliver (1989), Prata et al., (1995b), no total de ovos postos por uma mesma fêmea, há variações do tamanho destes em função do dia de postura. Rhor (1909) obteve um número médio de ovos por fêmea de 1.822 (834 - 2.389). Diamant & Strickland (1965) citam 1.517 ovos em média (59 - 2.240). Campbell & Glines (1979) obtiveram o número médio de 1.158 ovos para fêmeas com média de 143,3 mg alimentadas em lebre americana e desprendidas naturalmente. Embora apenas neste último trabalho foi especificada a espécie de hospedeiro na qual as fêmeas se alimentaram, estes valores para número de ovos por fêmea estão bem abaixo do encontrado neste estudo. Estas diferenças podem ser devido à características das amostras de carrapatos estudadas e/ou à espécie de hospedeiro utilizada, o que teria influência direta no peso das fêmeas ingurgitadas.

H. leporis-palutris é uma espécie estruturalmente avançada do ponto de vista morfológico (Hoogstraal & Kim, 1985). Brumpt citado por Nuttal & Warbuton (1915), que por sua vez foi citado por Hoogstraal & Kim (1985) relatam que algumas espécies de *Haemaphysalis*, classificadas como estruturalmente primitivas (*H. inermis*, *H. kitaokai*), possuem os ovos em dimensões bem maiores e as fêmeas chegam a depositar menos de 25% do total de ovos produzidos pela maioria das espécies de *Haemaphysalis* estruturalmente avançadas, como constatado no presente trabalho e

por Rohr (1909). Essa constatação biológica corrobora a afirmação de Hoogstraal & Kim (1985).

Na Figura 14, verifica-se que as porcentagens médias de eclosão para os ovos postos no início (terço inicial) e meio (terço médio) do período de postura foram semelhantes. Entretanto, ovos postos no final (terço final) do período de postura apresentaram uma menor eclosão. Estes dados estão de acordo com Hitchcock (1955), Alvarado & Gonzales (1979), Faustino (1993), que relatam maior eclosão para ovos da primeira metade da postura, para *B.microplus*.

Na Figura 15 são comparados os períodos de incubação dos ovos por dia de postura em que eles foram postos. Não houve diferença estatística significativa para os períodos de incubação em função do dia de postura, através da análise de regressão ($P > 0,05$). As amostras diárias de ovos tendem a apresentar o mesmo período de incubação, que neste experimento foi em média 32,7 dias para as posturas diárias das oito fêmeas da amostra CA observadas. Esta constatação aproxima o período de eclosão ao período de postura. Isto, de fato, pode ser observado na tabela 23 para a amostra CA. Períodos de eclosão bem menores que os períodos de postura só são possíveis através de duas formas:

- quando pelo menos uma parte dos ovos correspondente a um determinado período da postura apresentarem períodos de incubação significativamente menores que a outra parte da postura,
- quando uma parte significativa de ovos correspondente ao período final da postura apresentar eclosão nula (provavelmente foi isto que aconteceu com algumas fêmeas da amostra CC, fazendo com que apresentassem períodos de postura bem mais longos que períodos de eclosão). No presente trabalho, apesar dos ovos do terço final de postura apresentarem menor eclosão, esta ainda foi relativamente alta (Fig. 10). Portanto, o período de eclosão está diretamente relacionado aos períodos de incubação dos ovos postos ao longo dele, e às porcentagens de eclosão dos ovos postos no final da postura.

Na infestação A8 e A10 (amostra UFMG), as fêmeas ingurgitadas não tiveram contato com machos durante a infestação, demonstrando que o macho não foi necessário durante a fase parasitária de adultos para que a maioria dessas fêmeas, pelo menos, realizassem a oviposição. No entanto, a eficiência reprodutiva média foi menor que a das outras fêmeas que se alimentaram na presença de machos na mesma amostra. Entretanto, os valores de eficiência reprodutiva dessas fêmeas (Tab.24) demonstram um desvio padrão alto, indicando que a ausência do macho durante a infestação alterou o padrão de oviposição das fêmeas. Apenas uma fêmea de cada uma das infestações A8 e A10 colocou ovos que deram origem à larvas, embora esses ovos representaram uma minoria do total da postura. Como as fêmeas da infestação A10 não tiveram nenhum contato com machos em suas vidas adulta, pode-se constatar que as larvas oriundas de ovos de uma dessas fêmeas foi fruto de um comportamento partenogenético, sendo esta, a primeira constatação de partenogênese na espécie *H. leporis-palustris*. O mesmo não se pode dizer para as larvas oriundas de ovos de uma das fêmeas da infestação A8, já que essas fêmeas tiveram contato com machos não alimentados por dez dias antes de infestarem o hospedeiro. Embora a literatura relate algumas espécies de metastriatas cujos machos produziram espermátides antes de se alimentarem (Oliver & Stone, 1983) e que machos de *A. triguttatum* foram capazes de fertilizar fêmeas antes de se alimentarem (Guglielmone & Moorhouse, 1983), nas condições do presente trabalho, não foi possível esclarecer se a fêmea da infestação A8 recebeu espermátides de machos não alimentados no período prévio à infestação, ou se ela realizou um processo partogenético, como constatado para a fêmea da infestação A10. Em várias citações de partenogênese em ixodídeos normalmente bissexuais (Balashov, 1972; Ribeiro & Gonzales, 1980; Oliver, 1982 citado por Oliver, 1989), o processo ocorreu semelhantemente ao observado para *H. leporis-palustris* no presente trabalho, ou seja, apesar da maioria dos ovos da postura total da fêmea não evoluírem, uma minoria se desenvolveu dando origem a larvas que geralmente são mais fracas e vivem por menos

tempo que larvas oriundas de fêmeas fecundadas, morrendo na sua maioria em poucos dias. Oliver (1989) cita que “quando a partenogênese ocorre nestas espécies, é de pouca significância prática. A maioria das pequenas larvas produzidas são fracas, incapazes de se alimentarem e morrem em pouco tempo. Entretanto, a ocorrência de partenogênese nestas espécies é de um potencial evolucionário significativo porque amostras geograficamente diferentes de algumas dessas espécies variam na sua expressão de partenogênese e podem se estabilizar na natureza e servir como um novo material para seleção natural”. Esta pode ser a explicação pela ocorrência de amostras de *Haemaphysalis longicornis* partenogenéticas e triplóides em algumas áreas geograficamente distintas das de ocorrência de amostras bissexuais e diplóides desta mesma espécie na Ásia e Oceania (Oliver, 1989). Balashov (1972) cita que fêmeas não fecundadas durante a fase parasitária apresentam no final desta fase ovários bem menores que o de fêmeas normais fecundadas. Essa pode ser a explicação para a baixa eficiência reprodutiva das fêmeas que não foram fecundadas no presente trabalho.

As fêmeas alimentadas em *S. brasiliensis* apresentaram um peso médio como quenógina de 22,9% do peso da fêmea ingurgitada e com um desvio padrão de 1,32 (Tab. 25). Para as fêmeas alimentadas em *O. cuniculus*, este valor foi mais alto (29,5%) e com desvio padrão de 5,37. Para as fêmeas alimentadas na ausência de machos este valor médio foi mais alto ainda (41,8%). As diferenças entre os valores de peso médio das quenóginas em função do peso anterior como fêmea ingurgitada são um reflexo direto da eficiência reprodutiva das fêmeas. Quanto maior a quantidade de ingesta que a fêmea consegue converter em ovos produzidos, menor vai ser o seu peso no final da postura, como quenógina. Como o *O. cuniculus* se mostrou em vários aspectos não ser um ótimo hospedeiro para as fêmeas de *H. leporis-palustris*, quando comparado com o *S. brasiliensis*, é de se esperar que as quenóginas apresentassem valores maiores e sem um padrão definido, retratado pelos altos

desvios padrões. As fêmeas alimentadas na ausência de machos também apresentam este valor alto, já que apresentaram uma baixa eficiência reprodutiva. Os valores deste trabalho para o *H. leporis-palustris* alimentado em seus hospedeiros naturais são semelhantes aos apresentados por Alvarado & Gonzales (1979), Ntiamoa-Baidu (1987) para outras espécies de ixodídeos alimentados em seus hospedeiros naturais.

Nos trabalhos com *H. leporis-palustris*, Rhor (1909) cita que à 21,4°C, em média, as fêmeas morreram entre um e quatro dias após o final da postura, ou seja, apresentaram de 1 a 4 dias de sobrevida como quenógina e à temperatura de 15°C, elas viveram por 2 a 28 dias. Diamant & Strickland (1965) citam que as fêmeas geralmente morrem um dia após o final da postura. No presente trabalho, as quenóginas da amostra CA viveram em média por 13 dias (infestações A4 e A5) e por 7,6 dias (infestação A6). Na amostra UFMG, as quenóginas viveram em média por 20,75 dias (infestações A7 e A9) e por 14,66 dias (infestações A8 e A10). Houve quenóginas que viveram por até 30 dias (Tab. 25). Houve uma relação inversa entre a eficiência reprodutiva média de um grupo de fêmeas com a perda diária média de peso durante os dias de sobrevida. As fêmeas alimentadas em *S. brasiliensis* (infestações A4 e A5), que apresentaram as maiores eficiências reprodutivas, perderam em média 0,5 mg de peso por dia de sobrevida. Já as fêmeas alimentadas em *O. cuniculus* (infestações A6, A7 e A9) perderam em média 0,8 mg de peso por dia de sobrevida. As fêmeas que apresentaram as menores eficiências reprodutivas (infestações A8 e A10) foram as que perderam mais peso diariamente como quenógina (1,06 mg por dia de sobrevida). Considerando-se as condições do estudo, com umidade relativa acima de 85%, pode-se constatar que teoricamente as perdas de peso na fase de quenógina foram principalmente através de perdas metabólicas, entretanto, através dos dados da tabela 25, não se pode dizer que quanto maior o peso da quenógina maior vai ser o seu tempo de sobrevida.

Apesar deste estudo ter sido realizado em condições de laboratório, foi possível calcular que para as 2.865 larvas produzidas pela fêmea T1 da amostra CA, apenas quatro fêmeas ingurgitadas foram obtidas, dando um índice de 0,14% de sucesso desta geração a partir das larvas. Este valor foi calculado da seguinte forma: A fêmea T1 fez uma postura de 181 mg com 95% de eclosão, resultando em 2.865 larvas (considerando-se que 1g de ovos possui 16.667 ovos). Essas larvas foram inteiramente utilizadas em três infestações (L3, L4 e L5). Dessa três infestações, foram recuperadas 723 larvas ingurgitadas das quais 465 (64,3%) completaram a ecdise para ninfas. Destas, 203 (43,7%) foram colocadas no coelho SB2, mas nenhuma foi recuperada. Das 262 (56,3%) larvas restantes, 97 (37%) morreram, 85 (32,5%) infestaram um *O. cuniculus* sem sucesso e 80 (30,5%) infestaram o SB2 (infestação N6), sendo recuperadas 12 ninfas. Destas, 6 (50%) completaram a ecdise para adultos. Estes infestaram o SB2 sendo que quatro fêmeas ingurgitadas foram conseguidas. Para a fêmea ingurgitada T2 (amostra CA) que fez uma postura de 243mg com 99% de eclosão, 4.009 larvas foram conseguidas. Estas foram inteiramente utilizadas em três infestações sendo que apenas em duas (L6 e L7) houve sucesso, sendo recuperadas 832 larvas ingurgitadas, das quais 674 (81%) completaram ecdise para ninfas. Estas foram utilizadas em duas infestações, sendo que apenas em uma infestação (N7) houve sucesso, sendo recuperadas 237 (35%) ninfas ingurgitadas. Destas, apenas 57 (24%) completaram ecdise para adultos (houve uma alta mortalidade de ninfas ingurgitadas em função da vaselina utilizada na infestação N7). Destes adultos, foram conseguidas 12 (21%) fêmeas ingurgitadas (infestações A5 e A6), dando um índice de 0,30% de sucesso desta geração a partir das 4.009 larvas. No caso da amostra UFMG, este índice pode ser calculado a partir da fêmea ingurgitada conseguida desta amostra. Ela fez uma postura de 53mg com 99% de eclosão, dando 874 larvas. Elas foram inteiramente utilizadas na infestações L9 e L10, sendo recuperadas 241 larvas ingurgitadas, das quais 170 (70,5%) completaram ecdise para ninfas. Destas, 168 foram utilizadas nas

infestações N8 e N9, sendo recuperadas 54 (32,1%) ninfas ingurgitadas, das quais, 54 (100%) completaram ecdise para adultos. Destes, 50 foram utilizados nas infestações A7 a A10, sendo recuperadas 19 (38%) fêmeas ingurgitadas, dando um índice de sucesso de 2,17%. Considerando as gerações das três fêmeas, o índice médio de sucesso de uma geração chegar à fase de fêmea ingurgitada a partir das larvas não alimentadas foi de 0,87%, ou seja, para cada 10.000 larvas criadas nas condições do estudo, apenas 87 chegam à fase de fêmea ingurgitada. A literatura registra dados semelhantes para *B. microplus*, para o qual Kettle (1984) cita um índice de 15% para as larvas alimentadas em gado europeu, 1% para larvas alimentadas em gado indiano e excepcionalmente 2% para larvas alimentadas em gado da raça Jersey. Como o *Boophilus microplus* é um carrapato monoxeno, não há influências marcantes do meio ambiente neste desenvolvimento de larva a fêmea ingurgitada. Entretanto, para carrapatos trioxenos, o meio ambiente exerce influências marcantes nas fases de vida livre. Como os períodos de ecdise neste estudo foram realizados na estufa B.O.D., há de se considerar que estas condições foram ótimas, mas mesmo assim, o índice médio obtido neste estudo foi mais baixo que os do *Boophilus microplus* para as diferentes raças de gado.

Avaliando a produção de larvas pelas fêmeas ingurgitadas produzidas a partir de uma única fêmea ingurgitada, pode-se constatar que para a fêmea T1 da amostra CA, as quatro fêmeas ingurgitadas conseguidas produziram um total de 14.506 larvas. Dividindo este valor pelo número de larvas inicial (2.865), obteve-se o valor de 5, ou seja, de uma geração a outra, a população deste carrapato criada em laboratório aumentou em cinco vezes. No caso da fêmea ingurgitada T2, das 4.009 larvas iniciais foram obtidas 14.900 larvas a partir de 12 fêmeas, dando um potencial de multiplicação de 3,7. Observa-se claramente a vantagem de se criar a forma adulta de *H. leporis-palustris* no *S. brasiliensis*, já que as quatro fêmeas originadas da fêmea T1 produziram praticamente a mesma quantidade de larvas que as 12 fêmeas originadas da fêmea

T2. No caso da fêmea da amostra UFMG, das 874 larvas iniciais foram conseguidas 17.492 larvas produzidas pelas 19 fêmeas. Entretanto, neste caso há de se considerar que muitas fêmeas não produziram larvas já que foram infestadas na ausência de machos. Mesmo assim, o potencial de multiplicação foi de 20. Este potencial foi o maior obtido porque todas as infestações desta geração se estabeleceram, enquanto que algumas das infestações das gerações das fêmeas T1 e T2 não se estabeleceram. Há de se considerar também que durante as infestações com carrapatos da amostra UFMG, não foi utilizada a vaselina em momento algum, sendo utilizada a fita de dupla face, o que pode ter contribuído para as altas taxas de ecdise de ninfas para adultos (Tab. 21).

4.7 Considerações finais

Mesmo em temperaturas e umidades relativas semelhantes, existe variações na fase não parasitária, dependendo da amostra de *H. leporis-palustris* estudada. Esta observação está de acordo com os resultados de estudos controlados com amostras de uma mesma espécie de ixodídeo provenientes de áreas geograficamente distintas. (Ouhelli et al., 1982; Davey et al., 1984; Deamon & Freire, 1987; Yonow, 1995). Diferenças em função da espécie de hospedeiro na qual exemplares de uma mesma amostra se alimentou também concordam com a literatura para outras espécies (Sonshine & Atwood, 1967; Drummond et al., 1969; Balashov, 1972; Dipeolu & Ogunji, 1977; Norval et al., 1980; Dipeolu & Adeyafa, 1984; Ho & Imail, 1984; Ntiamu-Baidu, 1987; Dipeolu et al., 1991; Yonow, 1995). No triângulo "parasito-hospedeiro-ambiente" existe uma extrema interação entre estes três fatores em função da coevolução, resultando na biodiversidade entre localizações geográficas. Esta pode ser retratada por variações ligadas à morfologia, etologia e ecologia entre amostras de carrapatos e espécies de hospedeiros e diversos microclimas para os carrapatos na fase não parasitária, resultando em variações biológicas como estas constatadas neste estudo. Essas diferenças

são reforçadas pela hipótese da especificidade ecológica (Klompen et al., 1996). Considerando que os carrapatos passam a maior parte do seu ciclo de vida no ambiente, este teria um papel primário do ponto de vista de evolução, resultando na biodiversidades em função de ambientes diferentes. Já a interação parasito-hospedeiro, a qual é um resultado do ambiente no qual o carrapato coevoluiu, teria um papel secundário na evolução dos carrapatos.

As diferenças biológicas constatadas entre as amostras estudadas indicam uma impossibilidade de inferir com precisão os aspectos biológicos de uma população para outra população geograficamente distinta, uma vez que cada uma está interagida à um ambiente, no qual possa inclusive, usufruir de espécies diferentes de hospedeiros.

Embora tenham sido obtidos dados de biologia de amostras provenientes de três demes ou populações locais do Estado de Minas Gerais, seria necessário um estudo mais amplo, abrangendo populações contíguas a fim de determinar um cline. Dentro desta premissa, seriam determinados isofenos e, num estudo mais avançado, as possíveis causas do cline.

FIGURA 1: Distribuição mundial do carrapato *Haemaphysalis leporis-palustris*.

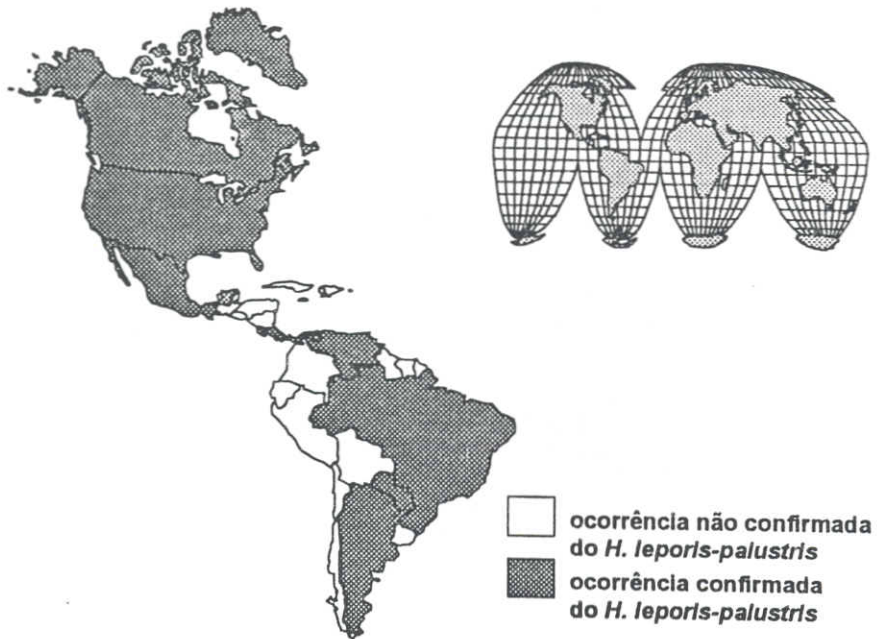
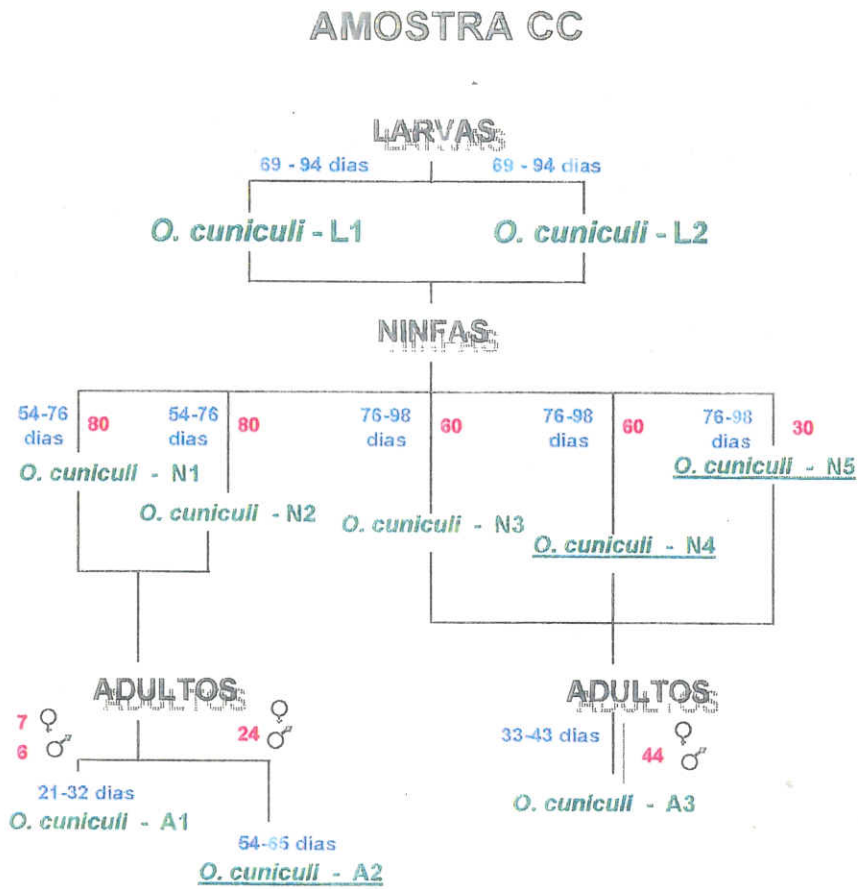


FIGURA 2: Fluxograma das infestações realizadas com *H. leporis-palustris* (amostra CC).



Azul: idade dos carrapatos na infestação
Vermelho: número de carrapatos na infestação
Verde: espécie de hospedeiro e código da infestação