

**Biologia do carapato *Amblyomma cajennense*
(Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) sob
tratamentos térmicos diferenciados**

MÁRCIA CRISTINA DE AZEVEDO PRATA

2002

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

**Biologia do carapato *Amblyomma cajennense*
(Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) sob
tratamentos térmicos diferenciados**

MÁRCIA CRISTINA DE AZEVEDO PRATA

SOB A ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:

Dr. ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO

Tese submetida como requisito parcial
para a obtenção do grau de *Philosophiae
Doctor* em Ciências Veterinárias - Área de
Concentração em Parasitologia Veterinária.

SEROPÉDICA, RIO DE JANEIRO

MAIO, 2002

TÍTULO DA TESE:

Biologia do carapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) sob tratamentos térmicos diferenciados

AUTORA:

MÁRCIA CRISTINA DE AZEVEDO PRATA

APROVADA EM: 03 / 05 / 2002

Dr. ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO _____

Dr. ADIVALDO HENRIQUE DA FONSECA _____

Dr. CARLOS LUIZ MASSARD _____

Dra. CLÁUDIA LÚCIA GUIMARÃES DA SILVA _____

Dra. DARCI MORAIS BARROS BATTESTI _____

Aos meus pais
José Prata ("in
memorian")

e Maria da Glória
Prata.

Aos meus irmãos
Maria das Graças e
José Luiz.

À Yasha.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO, que mesmo à distância, se fez presente em todas as etapas deste experimento, pela disposição na orientação, amizade e confiança.

Aos Professores JOÃO LUIZ HORACIO FACCINI e VÂNIA RITA ELIAS PINHEIRO BITTENCOURT, membros da comissão de orientação e, respectivamente, ex e atual coordenadores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pelas valiosas sugestões e por não medirem esforços em manter a elevada qualidade do curso e a amizade e solidariedade entre seus membros.

Às Professoras ELIANE MARIA VIEIRA MILWARD DE AZEVEDO e RITA DE CÁSSIA ALVES ALCÂNTARA DE MENEZES, pelo estímulo constante e por terem me demonstrado o verdadeiro significado da palavra amizade.

À Professora MARIA APARECIDA DA GLÓRIA FAUSTINO, pelos primeiros ensinamentos sobre biologia de ixodídeos.

Aos Professores CARLOS LUIZ MASSARD, DAISY WILWERTH DA CUNHA, LAERTE GRISI e MARIA DE LURDES DE AZEVEDO RODRIGUES, pela amizade, apoio e pelos constantes incentivos.

Ao Professor CARLOS WILSON GOMES LOPES, pela cessão de estufas incubadoras.

À Professora MARIA PAZ ABRAILA LOPES DE CRESPI, pela cessão de coelhos.

Aos colegas e aos verdadeiros amigos que fiz durante todas as etapas dos cursos de Mestrado e Doutorado, sem citar nomes, para não correr o risco de cometer injustiça ao esquecer alguém.

Ao funcionário WILSON MENDES (*in memorian*), cujas presteza e amizade estão fazendo muita falta a todos os membros do curso. Deve estar chefiando algum setor administrativo lá no céu ...

Aos funcionários da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, Sr. ARCHANJO GONÇALVES DA SILVA, LEO, Sr. ANTÔNIO, Sr. OSWALDO, Sr. JOÃO BENTO, JORGINHO, e do Curral de Apreensão, chefiados por FERNANDO CARVALHO e SILVINO PEREIRA DE SOUZA FILHO, pelo prestimoso apoio na execução deste trabalho.

À secretaria do curso, ELCY RODRIGUES DE MORAES CARVALHO, pela competência, amizade, presteza e pela paciência durante todos esses anos.

Aos demais funcionários do Departamento de Parasitologia, LEY LOPES DA SILVA, SEVERINO GONÇALVES DA SILVA (Sr. RAMINHO), IVANA,

IVAN, MAURÍCIO, GILMAR SACRAMENTO, GILMAR MONTEIRO,
WALTINHO e WALTÃO, pela colaboração e amizade.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo suporte financeiro e de infra-estrutura.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela acolhida durante todos esses anos.

A todos os animais de experimento, a minha mais profunda gratidão.

BIOGRAFIA

MÁRCIA CRISTINA DE AZEVEDO PRATA, filha de José Prata e Maria da Glória de Azevedo Prata, nascida na cidade de Nova Iguaçu, estado do Rio de Janeiro, cursou até a quarta série do primeiro grau no Instituto de Educação Rangel Pestana. No Instituto Iguacuano de Ensino, finalizou o primeiro grau e cursou os dois primeiros anos do segundo grau, que foi concluído no Colégio Renovação, todos localizados na cidade de Nova Iguaçu, RJ.

Ingressou no Curso de Engenharia Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) em março de 1988, desligando-se deste em novembro de 1991 para ingresso no Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Durante 36 meses foi bolsista de Iniciação Científica do CNPq/PIBIC, desenvolvendo atividades de pesquisa na área de Parasitologia Veterinária. Em agosto de 1996, concluiu o curso de graduação em Medicina Veterinária.

De setembro de 1996 a fevereiro de 1997, foi bolsista de Aperfeiçoamento/Atividade de Pesquisa do CNPq, também na área de Parasitologia Veterinária, na mesma Universidade, sob orientação dos professores responsáveis pelas pesquisas nos Laboratórios de Ixodologia e de Controle Biológico de Artrópodes.

Em março de 1997, ingressou como bolsista do CNPq, no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária da UFRRJ, nível de Mestrado, obtendo grau de *Magister Scientiae* em março de 1998.

Em março de 1998 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária - Parasitologia Veterinária, hoje Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, a nível de Doutorado, como bolsista do CNPq.

Durante o ano de 2001 realizou Concurso Público para o cargo de Pesquisador II da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), sendo aprovada em primeiro lugar na região Sudeste para a linha de pesquisa “Patologia, incluindo Imunologia e Parasitologia”.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. CAPÍTULO 1: EFEITOS DE TRATAMENTOS TÉRMICOS DIFERENCIADOS SOBRE OS PROCESSOS DE POSTURA E ECLOSÃO LARVAL DE <i>Amblyomma cajennense</i>	5
2.1. Revisão da literatura	5
2.1.1. A temperatura padrão para os processos de postura e eclosão larval de <i>Amblyomma cajennense</i>	5
2.1.2. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios aos processos de postura e eclosão larval de <i>Amblyomma cajennense</i>	6
2.1.3. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios à postura e à eclosão larval de outras espécies do gênero <i>Amblyomma</i>	10

Pág.

2.1.4. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios à postura e à eclosão larval de outros gêneros de carapatos	13
2.2. Experimento I: Efeito deletério da temperatura de 32°C sobre os processos de postura e eclosão larval de <i>Amblyomma cajennense</i>	23
2.2.1. Introdução	23
2.2.2. Material e métodos	24
a. Local de execução	24
b. Obtenção de ixodídeos	24
c. Delineamento experimental	26
d. Parâmetros analisados	28
e. Análise estatística	29
2.2.3. Resultados e discussão	30
a. Percentual de recuperação e peso das fêmeas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i>	30
b. Parâmetros relativos à postura	34
c. Parâmetros relativos à eclosão larval	48
d. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas	67
2.3. Experimento II: Efeito deletério de diferentes períodos de exposição de ovos a 32°C sobre a eclosão larval de <i>Amblyomma cajennense</i>	72

2.3.1. Introdução	72
2.3.2. Material e métodos	73
a. Local de execução	73
b. Obtenção de ixodídeos	73
c. Delineamento experimental	74
d. Parâmetros analisados	76
e. Análise estatística	77
2.3.3. Resultados e discussão	78
a. Parâmetros relativos à eclosão larval	78
b. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas	88
2.4. Considerações	92
2.5. Conclusões	94
3. CAPÍTULO II: RELAÇÃO ENTRE PESO E NÚMERO DE LARVAS E NINFAS INGURGITADAS EM COELHOS E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DOS PROCESSOS DE MUDA LARVAL E NINFAL DE <i>Amblyomma</i> <i>cajennense</i>	96
3.1. Revisão da literatura	96
3.1.1. Estudos relativos aos processos de muda e à dinâmica populacional de <i>Amblyomma cajennense</i>	96

3.1.2. Efeitos da temperatura sobre os processos de muda em outras espécies do gênero <i>Amblyomma</i>	101
3.1.3. Efeitos da temperatura sobre os processos de muda em outros gêneros de carapatos	104
3.1.4. Estudos sobre exigências térmicas em artrópodes	107
3.2. Experimento I: Relação entre peso e número de larvas e ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em infestações experimentais em coelhos	109
3.2.1. Introdução	109
3.2.2. Material e métodos	110
3.2.3. Resultados e discussão	112
a. Relação peso x número de larvas ingurgitadas	112
b. Relação peso x número de ninfas ingurgitadas	116
3.3. Experimento II: Exigências térmicas do processo de muda larval de <i>Amblyomma cajennense</i>	122
3.3.1. Introdução	122
3.3.2. Material e métodos	123
a. Local de execução	123
b. Obtenção de ixodídeos	123

c. Delineamento experimental	124
d. Parâmetros analisados	125
e. Análise estatística	126
3.3.3. Resultados e discussão	127
a. Percentual de recuperação e parâmetros relativos ao processo de muda de larvas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i>	127
b. Parâmetros relativos à sobrevivência de ninfas	140
3.4. Experimento III: Exigências térmicas do processo de muda ninfal de <i>Amblyomma cajennense</i>	144
3.3.1. Introdução	144
3.4.2. Material e métodos	145
a. Local de execução	145
b. Obtenção de ixodídeos	145
c. Delineamento experimental	146
d. Parâmetros analisados	147
e. Análise estatística	149
3.4.3. Resultados e discussão	150
a. Percentual de recuperação e parâmetros relativos ao processo de muda de ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i>	150

b. Parâmetros relativos à sobrevivência de adultos	175
3.5. Conclusões	186
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	188
5. CONCLUSÕES	191
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	194
7. APÊNDICES	218

ÍNDICE DAS TABELAS

	Pág.
Tabela 1. Peso das fêmeas ingurgitadas e peso corrigido das fêmeas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase	32
Tabela 2. Períodos relativos à fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase	35
Tabela 3. Parâmetros relativos à postura de fêmeas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase	40

Pág.

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre o peso da fêmea ingurgitadas e o peso da postura e entre a perda de peso da fêmea e o peso da postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase 42

Tabela 5. Períodos de incubação relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase 49

Tabela 6. Percentuais de eclosão relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase 50

Tabela 7. Períodos de eclosão relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase 59

Tabela 8. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase 68

Tabela 9. Parâmetros relativos à eclosão larval de <i>Amblyomma cajennense</i> sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C	81
Tabela 10. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C	89
Tabela 11. Pesos médios de 20 grupos de 50 larvas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> a partir de infestações experimentais em coelhos	114
Tabela 12. Pesos médios de 13 grupos de 50 ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> a partir de infestações experimentais em coelhos	118
Tabela 13. Parâmetros relativos ao processo de muda larval de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	132

Tabela 14. Parâmetros relativos às exigências térmicas do processo de muda larval de <i>Amblyomma cajennense</i> em laboratório sob umidade relativa superior a 80% e escotofase, calculados por dois métodos distintos	138
--	-----

Tabela 15. Parâmetros relativos à sobrevivência de ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	141
---	-----

Tabela 16. Períodos de sobrevivência de ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> que não foram capazes de realizar muda sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	152
--	-----

Tabela 17. Períodos de pré-ecdise, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	156
--	-----

Tabela 18. Períodos de ecdise, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	157
--	-----

Pág.

Tabela 19. Períodos de muda, em dias, de adultos e de machos e fêmeas,	
---	--

isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase 158

Tabela 20. Percentuais de ecdise de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase 159

Tabela 21. Parâmetros relativos às exigências térmicas dos processos de muda para adultos e para machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* em laboratório sob umidade relativa superior a 80% e escotofase, calculados pelo método de IKEMOTO & TAKAI (2000) 173

Tabela 22. Período prévio à mortalidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase 176

Tabela 23. Longevidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase 177

Pág.

Tabela 24. Período de mortalidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas,

isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas,
umidade relativa superior a 80% e escotofase 178

ÍNDICE DAS FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ritmos de postura diária de fêmeas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase	46
Figura 2. Percentuais finais de eclosão larval em relação aos ovos postos a cada dia após o dia modal de início de postura de <i>Amblyomma cajennense</i> sob temperatura constante de 27°C (grupo 1), umidade relativa superior a 80% e escotofase	52
Figura 3. Ritmos de eclosão acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamento térmico I, umidade relativa superior a 80% e escotofase	61

Pág.

Figura 4. Ritmos de eclosão acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamento térmico III, umidade relativa superior a 80% e escotofase	62
Figura 5. Ritmos de eclosão acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamento térmico IV, umidade relativa superior a 80% e escotofase	63
Figura 6. Ritmos de eclosão acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamento térmico V, umidade relativa superior a 80% e escotofase	64
Figura 7. Ritmos de mortalidade acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase	70
Figura 8. Ritmos de eclosão acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C	87
Figura 9. Ritmos de mortalidade acumulada de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C	91

Figura 10. Pesos médios de grupos de 50 larvas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> a partir de infestações experimentais em coelhos, de acordo com o dia de coleta	115
Figura 11. Pesos médios de grupos de 50 ninfas ingurgitadas de <i>Amblyomma cajennense</i> a partir de infestações experimentais em coelhos, de acordo com o dia de coleta	119
Figura 12. Ritmos de ecdise acumulada de ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	135
Figura 13. Ritmos de mortalidade acumulada de ninfas de <i>Amblyomma cajennense</i> sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase	142
Figura 14. Ritmos de ecdise acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de <i>Amblyomma cajennense</i> sob temperatura de 15°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase	163

Figura 15. Ritmos de ecdise acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase 164

Figura 16. Ritmos de ecdise acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 35°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase 165

Figura 17. Ritmos de ecdise acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 38°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase 166

Figura 18. Ritmos de ecdise acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 41°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase 167

Figura 19. Ritmos de mortalidade acumulada de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 15°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase 180

Pág.

Figura 20. Ritmos de mortalidade acumulada de adultos e de machos e fêmeas,

isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 27°C,
umidade relativa superior a 80% e escotofase 181

Figura 21. Ritmos de mortalidade acumulada de adultos e de machos e fêmeas,
isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 35°C,
umidade relativa superior a 80% e escotofase 182

Figura 22. Ritmos de mortalidade acumulada de adultos e de machos e fêmeas,
isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 38°C,
umidade relativa superior a 80% e escotofase 183

Figura 23. Ritmos de mortalidade acumulada de adultos e de machos e fêmeas,
isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob temperatura de 41°C,
umidade relativa superior a 80% e escotofase 184

RESUMO

Visando complementar estudos anteriores e obter informações adicionais sobre o ciclo biológico de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) em diferentes temperaturas, cinco experimentos foram delineados em laboratório. Nos dois primeiros, fundamentados na exposição de fêmeas ingurgitadas e ovos a permutas de temperaturas de 27 e 32°C, foi constatado que a temperatura de 32°C sobre fêmeas ingurgitadas, alterou o padrão de oviposição, limitou a conversão do sangue ingerido em ovos, prolongou o período de incubação e reduziu o percentual de eclosão e a longevidade larval. No entanto, a ação deletéria da temperatura foi mais intensa quando da exposição direta dos ovos, sendo necessárias 48 h para reduzir em 82,62% a eclosão larval e cinco dias para impedir a ocorrência do processo. Em uma segunda etapa, composta de três experimentos direcionados ao estudo de larvas e ninfas ingurgitadas em coelhos, foi determinado que os pesos médios de 50 larvas e 50 ninfas ingurgitadas corresponderam a, respectivamente, 38,2 e 677,2 mg, índices que poderão ser utilizados para facilitar estudos laboratoriais. A partir da manutenção de larvas e ninfas ingurgitadas a

temperaturas constantes entre nove e 44°C, foi estabelecido que os processos de muda larval e ninfal ocorreram somente entre temperaturas acima de 12 até 41°C, sendo acelerados com a elevação da temperatura. Ninfas que deram origem a machos tiveram períodos de ingurgitamento e de muda mais curtos e peso menor que as ninfas que originaram fêmeas. As temperaturas de 35 e 38°C foram consideradas adequadas para os processos de muda larval e ninfal, porém não são recomendadas para a manutenção dos carapatos após a muda. Já a temperatura de 27°C foi confirmada como ideal para a manutenção de todo o ciclo biológico da espécie. Os períodos de duração dos processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense*, em qualquer temperatura, podem ser determinados, respectivamente, pelas equações $DT = 188,064296 + 12,046769D$ e $DT = 222,359452 + 12,978550D$, onde ‘T’ é a temperatura a ser investigada, em graus Celsius e ‘D’ é a duração do processo em dias, na temperatura ‘T’.

ABSTRACT

With the purpose to complement earlier studies and obtain additional information about the biological cycle of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) at different temperatures, five experiments were carried out in laboratory. The first and second ones were based on the exposition of females and eggs to permutation of 27 and 32°C. It was verified that the temperature of 32°C on engorged females changed the pattern of oviposition, limited the conversion of the swallowed blood on eggs, prolonged the incubation period, and reduced the eclosion percentage and the larval longevity. The harmful effect of 32°C, however, was more evident when the eggs were directly exposed. The exposition of the eggs to 32°C during 48 h reduced 82.62% of the larval eclosion and five days of exposition were sufficient to hinder the process. The second section was composed by three experiments based on the study of engorged larvae and nymphs on rabbits. It was determined that the average weights of 50 engorged larvae and nymphs were, respectively, 38.2 and 677.2 mg, values that will can be employed to facilitate laboratory studies. By the maintenance of engorged larvae and nymphs to

constant temperatures between nine and 44°C, was established that the larval and nymphal moulting processes only happened above 12 until 41°C and were accelerated by high temperatures. Nymphs that developed to males had shorter engorgement and moulting periods and lighter weight than the nymphs that develop to females. The temperatures of 35 and 38°C were appropriate to the larval and nymphal moulting processes, however are not recommended to the maintenance of the ticks after moulting. The best temperature to development of the biological cycle of *A. cajennense* is 27°C. The larval and nymphal moulting periods, in any temperature, will can be determined, respectively, by the equations $DT = 188.064296 + 12.046769D$ and $DT = 222.359452 + 12.978550D$, where 'T' is the temperature, in Celsius degree and 'D' is the duration of the moulting process, in days, at the temperature 'T'.

1. INTRODUÇÃO

Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787), o “carapato estrela”, distribui-se no continente americano desde o sul dos Estados Unidos, passando pelo México, América Central incluindo as Antilhas, até a América do Sul, concentrando-se principalmente em áreas ao longo da costa do Oceano Atlântico (ROBINSON, 1926). Seu nome específico é derivado de Cayenne, Guiana Francesa, local onde foi pela primeira vez encontrado (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 1976). Apesar da incontestável preferência dos adultos por eqüinos, diversas espécies animais podem servir como hospedeiros para os diferentes estágios, como o homem, boi, carneiro, cabra, cão, gato, porco, coelho, alguns mamíferos silvestres, aves e até répteis (ARAGÃO, 1936). Mais recentemente foram acrescentados a esta lista o búfalo, o camelo (SANTOS *et al.*, 1985) e algumas espécies de roedores (LINARDI *et al.*, 1987) que, juntamente com os pássaros silvestres (ROJAS *et al.*, 1999), exercem importante papel na dispersão geográfica do ixodídeo.

Além dos danos diretos acarretados pelo parasitismo, a espécie é responsável pela transmissão de patógenos causadores de ehrlichiose bovina (MASSARD, 1984) e febre maculosa, dentre outras doenças, sendo esta última, determinante de casos fatais em humanos (MONTEIRO, 1935/36; LEMOS *et al.*, 1997; CAMPOS PEREIRA & LABRUNA, 1998), o que torna fundamental o conhecimento da biologia do carapato, visando auxiliar o estabelecimento de estratégias racionais e eficazes para o controle.

A determinação de faixas térmicas de desenvolvimento das diversas etapas do ciclo biológico de insetos (BEAN, 1961; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1995; QUEIROZ, 1996) tem auxiliado na formulação de estratégias de combate. Em tais estudos, os diferentes estágios são mantidos em câmaras climatizadas sob temperaturas constantes ou permutas de temperaturas, objetivando-se avaliar os parâmetros biológicos em cada tratamento térmico e, consequentemente, as exigências térmicas de cada etapa de desenvolvimento. De posse dos dados registrados nestas pesquisas, é possível determinar o momento adequado para administração dos diversos métodos de controle, otimizando-se os resultados através de uma maior eficiência em menor número de aplicações, aliada à redução de gastos com produtos e mão-de-obra e ainda à diminuição dos riscos de poluição ambiental. Entretanto, são escassos estudos desta natureza com carapatos, concentrando-se nas espécies *Boophilus microplus* (De La VEGA & DÍAZ, 1985a,b,c, 1986, 1987, 1992; De La VEGA *et al.*, 1988, 1993), *Boophilus annulatus* (DAVEY, 1988) e *Anocentor nitens* (De La VEGA & DÍAZ, 2000).

No Brasil, as primeiras informações relativas ao desenvolvimento do ciclo biológico de *A. cajennense* sob diferentes temperaturas foram estabelecidas por ROHR (1909), apesar da escassez de recursos à época. Estudos desta ordem foram retomados, mais recentemente, por DAEMON & ISHIZUKA (1992, 1995) que, avaliando os processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense* sob temperaturas controladas em laboratório, verificaram períodos mais longos e percentuais de ecdise mais baixos a 18°C, em contraste com as temperaturas de 27 e 32°C, em que foram obtidos parâmetros estatisticamente iguais. Entretanto, os limites térmicos para a ocorrência de tais processos ainda não foram determinados. Em contrapartida, PRATA (1998) estabeleceu os limites térmicos para os processos de postura e eclosão de larvas de *A. cajennense*, constatando a não ocorrência de eclosão sob 32°C, fato não observado em ixodídeos que habitam a mesma região geográfica (GLÓRIA *et al.*, 1993; BASTOS *et al.*, 1996; BELLATO & DAEMON, 1997). No entanto, não foi determinado em que etapa de desenvolvimento os ovos sofrem o efeito deletério da temperatura, se quando ainda no interior da fêmea, sendo a ação exercida indiretamente ou ao longo do desenvolvimento embrionário, quando os ovos já se encontram expostos ao ambiente, recebendo, portanto, o efeito térmico diretamente. Também são incógnitas para os pesquisadores o tempo mínimo de exposição a 32°C que leva à não ocorrência de eclosão e o mecanismo de atuação desta temperatura, impedindo a continuidade do ciclo biológico de *A. cajennense*.

Visando elucidar tais questionamentos, foram delineados cinco experimentos, que serão apresentados em dois capítulos. O primeiro capítulo, referente

aos processos de postura e eclosão larval, é constituído por um experimento que aborda o efeito de permutas de temperaturas de 27 e 32°C sobre fêmeas ingurgitadas e ovos, para a determinação da fase de desenvolvimento em que a ação deletéria se faz presente. O segundo experimento deste capítulo é fundamentado na exposição direta dos ovos recém postos à temperatura de 32°C por períodos diferenciados, determinando-se, dessa forma, o tempo mínimo de exposição necessário para impedir a eclosão larval. O segundo capítulo é composto por três experimentos, sendo que o primeiro aborda a relação entre peso e número de larvas e ninfas ingurgitadas em coelhos, visando criar índices de conversão e facilitar estudos laboratoriais. Finalmente, os dois experimentos restantes se referem ao cálculo das exigências térmicas dos processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense*, que podem auxiliar a compreensão da dinâmica populacional da espécie.

2. CAPÍTULO I

EFEITOS DE TRATAMENTOS TÉRMICOS DIFERENCIADOS SOBRE OS PROCESSOS DE POSTURA E ECLOSÃO LARVAL

DE *Amblyomma cajennense*

2.1. REVISÃO DA LITERATURA

2.1.1. A temperatura padrão para os processos de postura e eclosão larval de

Amblyomma cajennense

A partir de inúmeros registros disponíveis na literatura científica, baseados em experimentos relativos à biologia de carrapatos sob condições controladas e de dados climáticos das regiões geográficas em que habitam, foi determinado que 27°C é a temperatura ideal para o desenvolvimento do ciclo biológico de ixodídeos tropicais, sendo obtidos, nesta, os mais elevados índices de eficiência reprodutiva e nutricional e

percentuais de eclosão larval e de mudas larval e ninfal próximos de 100%, além de períodos relativos à fase não parasitária considerados padrão para cada espécie. Neste sentido, para *A. cajennense* podem ser citadas as pesquisas de DRUMMOND & WHETSTONE (1975), SERRA FREIRE & OLIVIERI (1992), SANAVRIA & PRATA (1996), SANAVRIA *et al.* (1996), PRATA *et al.* (1997), PRATA & DAEMON (1997), PRATA (1998) e LOPES *et al.* (2000), entre outras, realizadas total ou parcialmente em laboratório sob temperatura constante de 27°C, fornecendo parâmetros de referência para as fases parasitária e não parasitária. Quando mantidos sob outros tratamentos térmicos, os parâmetros biológicos das diferentes espécies de carapatos, via de regra, destoam deste padrão, seja com aumento da taxa de mortalidade, redução nos índices de postura, eclosão e mudas ou ainda com prolongamento de períodos da fase não parasitária, fato que, na natureza, pode representar risco à continuidade do ciclo biológico do carapato, comprometendo as gerações subseqüentes em uma determinada região. Portanto, os resultados obtidos em experimentos realizados com outras temperaturas, muitas das vezes necessitam ser comparados com os registros retrocitados, para uma adequada avaliação do efeito do tratamento térmico utilizado.

2.1.2. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios aos processos de postura e eclosão larval de *Amblyomma cajennense*

No Brasil, os primeiros registros relativos à ação deletéria de temperaturas extremas sobre o desenvolvimento do ciclo biológico de carapatos foram estabelecidos

por ROHR (1909). Mesmo com os escassos recursos disponíveis à época, o autor expôs grupos de ovos de *A. cajennense* às temperaturas de zero, 15, 30 e 35°C por períodos entre 10 e 122 dias, obtendo larvas apenas em dois de 10 grupos submetidos a 30°C. Os ovos mantidos a zero e 15°C, embora aparentassem estar perfeitos, não deram origem a larvas, mesmo quando transferidos para temperatura ambiente. Já aqueles submetidos a 30 e 35°C tornaram-se escuros e encarquilhados, evidenciando a impossibilidade de eclosão larval. Trabalhando com fêmeas de *A. cajennense* de origem bovina, HOOKER *et al.* (1912), nos Estados Unidos, também constataram a influência da temperatura sobre a oviposição deste ixodídeo. Enquanto sob temperatura constante de 29°C foi observado período de pré-postura de nove dias, a 17°C este parâmetro foi prolongado para 18 dias em média. Situação semelhante ocorreu com o período de incubação dos ovos, que passou de 37 a 45 dias sob temperatura de 27°C para 51 a 56 dias, a 24°C .

O retardamento do ciclo biológico de *A. cajennense* sob temperaturas baixas foi benéfico para as pesquisas de TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE (1944), que necessitavam de grandes quantidades do ixodídeo para o preparo da vacina contra a febre maculosa, responsável, na época, por centenas de casos fatais, principalmente na Região Sudeste do Brasil. Como a colheita de grandes quantidades de fêmeas ingurgitadas era realizada em curto período, estas eram mantidas sob diferentes temperaturas constantes, no intuito de apressar ou retardar o desenvolvimento do ciclo. Dessa forma, eliminava-se a exigência de maior quantidade de pessoal capacitado para a manipulação do material e de coelhos, para a alimentação dos estágios imaturos.

Foram registrados períodos médios de pré-postura de 6,3 dias à temperatura ambiente variando entre 26,9 e 28,9°C e 7,6 dias, sob temperatura constante de 26°C. A postura foi realizada a 26°C em 13,7 dias, prolongando-se para uma média de 23,3 dias, sob temperatura ambiente em torno de 21,8°C. A incubação dos ovos também sofreu retardamento em temperaturas mais baixas, passando de 21,7 dias a 26°C para 25,5 dias a temperaturas próximas de 22°C. Os autores alertaram, ainda, que a temperatura no interior da câmara de incubação não deve ir além de 26°C pois, embora algumas fases do ciclo biológico possam ser aceleradas, o “rendimento da criação” diminui significativamente, uma vez que muitos carrapatos morrem quando são expostos a temperaturas elevadas. No entanto, não são fornecidas informações precisas quanto ao tempo de exposição nem ao percentual de mortalidade dos ixodídeos.

Os períodos de pré-postura (14,1 dias, sob temperatura média de 24,9°C), de postura (20,8 dias, sob 24°C) e de incubação (59,4 dias, a 21,3°C) obtidos por RODRÍGUEZ DIEGO & VILLALBA (1984, 1985) em Cuba, sob condições controladas, foram, segundo os autores, prolongados devido à ação da temperatura, considerada “o ativador dinâmico da organogênese nos ixodídeos”. Para corroborar tal afirmação, os autores citaram CERNY (1969) que, trabalhando com temperaturas de 21, 25, 26 a 30 e 30,4 a 34,6°C, encontrou períodos de pré-postura prolongados em temperaturas mais baixas (médias de 13,5, 9,4, 7,3 e sete a 13 dias, respectivamente).

Em contraste com os valores obtidos em outras pesquisas, DOHM & LINTHICUM (1993) verificaram que a exposição a temperaturas de 19, 26 e 33°C não afetou a produção nem a viabilidade de ovos de exemplares de *A. cajennense*

inoculados com o vírus da encefalomielite venezuelana eqüina ou com diluente. No entanto, diferentemente dos demais experimentos, os carapatos foram expostos aos diversos tratamentos térmicos antes do processo de ingurgitamento, fato responsável pelos resultados aparentemente conflitantes. Ainda segundo os autores, a sobrevivência dos ixodídeos diminui em temperaturas elevadas provavelmente devido ao aumento da taxa metabólica, levando à excessiva perda de água.

Submetendo grupos de fêmeas ingurgitadas a temperaturas constantes de 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30 e 32°C, PRATA (1998) e DAEMON *et al.* (1999) constataram que o período de sobrevivência de fêmeas e os parâmetros relativos à postura foram mais afetados pelas baixas temperaturas, permanecendo praticamente inalterados entre 27 e 32°C. Já os processos de incubação, eclosão e mortalidade de larvas foram significativamente influenciados por todos os tratamentos térmicos, sendo obtida eclosão larval somente entre 15 e 30°C, com baixos percentuais nos extremos deste intervalo (0,74 e 6,71%, respectivamente). A temperatura de 27°C foi considerada ideal para ovos e larvas de *A. cajennense*, podendo ser utilizada ainda a temperatura de 18°C quando se deseja retardar os processos de postura e eclosão e prolongar a sobrevivência de larvas, sem prejuízos à oviposição do carapato. Segundo os autores, na natureza, sendo submetidos, além da temperatura, a variações de umidade, precipitação pluvial, intensidade luminosa, vegetação e disponibilidade de hospedeiros, o comportamento manifestado pelos carapatos não é o mesmo observado em laboratório, sob temperatura e umidade constantes; no entanto, a resposta dos ixodídeos a diversos tratamentos térmicos em laboratório reflete, de certo modo, as condições climáticas prevalentes em

seus habitats, podendo fornecer informações valiosas quanto à flutuação estacional e ao potencial de dispersão geográfica da espécie.

As pesquisas de PRATA (1998) e DAEMON *et al.* (1999) foram corroboradas por OLIVEIRA *et al.* (2000) que, em estudos sobre a dinâmica populacional dos estágios não parasitários de *A. cajennense* no Estado de Minas Gerais, detectaram a ocorrência de picos de larvas e ninfas nos meses de mais baixa temperatura (maio e julho, respectivamente) e ausência destes estágios nos meses mais quentes. Segundo os autores, a ocorrência de picos de um determinado estágio durante meses específicos, aliada a drásticas reduções e até mesmo ausência total de outros estágios sugere a ocorrência de diapausa durante uma fase do ciclo biológico do carapato, precedendo o início de condições ambientais desfavoráveis. Essa adaptação fisiológica garantiria a otimização das atividades reprodutivas no período de máxima disponibilidade de hospedeiros e abundância de larvas e ninfas nas épocas de condições meteorológicas mais adequadas a cada um dos estágios.

2.1.3. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios à postura e à eclosão larval de outras espécies do gênero *Amblyomma*

SAUER & HAIR (1971) verificaram que as alterações no peso dos adultos não ingurgitados de *Amblyomma americanum* expostos a altas umidades relativas foram diretamente dependentes da temperatura, com máximo ganho de peso a 25°C e pouca ou nenhuma absorção de água a cinco e 45°C. Por outro lado, as diferentes temperaturas

e umidades relativas utilizadas no experimento não exerceram influência sobre o peso das fêmeas ingurgitadas, evidenciando um mecanismo mais eficiente de retenção de água corporal, fundamental para o desenvolvimento e a deposição dos ovos.

Submetendo fêmeas ingurgitadas de *A. americanum* a quatro diferentes habitats, nos Estados Unidos, PATRICK & HAIR (1979) constataram que as fases de pré-postura e incubação são dependentes da temperatura, ao identificar a estratégia das fêmeas em se destacar do hospedeiro preferencialmente em épocas que garantam períodos mínimos para tais eventos. Dessa forma é reduzido o tempo em que a próxima geração fica exposta ao ambiente, onde os riscos à sobrevivência são maiores.

Em estudos com *Amblyomma variegatum*, responsável por prejuízos à pecuária bovina na República do Congo, VOUTOULOU (1987) observou que a temperatura de 12°C, aliada à baixa umidade relativa (40%), impediu a realização de posturas e acarretou a morte das fêmeas em poucos dias, devido à desidratação. Sob temperatura de 30°C e umidade relativa superior a 80% foram obtidos períodos de pré-postura e incubação mais curtos que a 27°C. Larvas mantidas à temperatura ambiente variando entre 19 e 34°C sobreviveram por 162 dias, enquanto sob temperaturas constantes de 27 e 30°C os períodos foram mais elevados (187 e 202 dias, respectivamente).

DIPEOLU (1991) e DIPEOLU *et al.* (1991) verificaram que o número de ovos postos por, respectivamente, *Amblyomma maculatum* e *A. variegatum* sob condições naturais, é menor que o obtido em laboratório, com temperatura e umidade

relativa favoráveis. Ao relacionar o processo de eclosão larval com o dia de postura, foi detectado um menor período de incubação (referido pelos autores como período de eclosão) em ovos provenientes dos últimos dias de postura, sendo atribuído tal fato à ocorrência de desenvolvimento intra-uterino ou a uma elevação na taxa metabólica destes ovos, em comparação aos demais (DIPEOLU *et al.*, 1991).

Investigando o efeito de temperaturas entre 15 e 40°C, variando a intervalos de 5°C, sobre desenvolvimento e longevidade de *Amblyomma triguttatum triguttatum*, GUGLIELMONE (1992) constatou que nenhum estágio se desenvolveu a 40°C, enquanto somente larvas ingurgitadas conseguiram realizar muda a 15°C. Ovos postos a 30°C não foram capazes de originar larvas quando submetidos à incubação sob 15, 20 ou 40°C. Os períodos de desenvolvimento foram inversamente proporcionais à temperatura, com exceção do período de pré-postura, que foi mais longo a 35 que a 30°C.

A sobrevivência de larvas de *Amblyomma limbatum* e *Aponomma hydrosauri* eclodidas a 25°C e transferidas para temperaturas entre quatro e 37°C diminuiu sensivelmente com o aumento da temperatura, sugerindo que, durante os meses de primavera e verão, as larvas têm menos tempo para encontrar e se fixar ao hospedeiro, evitando a morte por desidratação (CHILTON & BULL, 1993). Trabalhando com as mesmas espécies, parasitas de répteis da Austrália, e sob as mesmas temperaturas, CHILTON & BULL (1994) registraram períodos relativos à oviposição e à eclosão mais curtos em temperaturas mais elevadas. Temperaturas abaixo de 21°C foram deletérias à eclosão de larvas de ambas as espécies; sob 34 e

36°C não houve eclosão em *A. hydrosauri* e *A. limbatum*, respectivamente. Segundo CHILTON (1994), as diferenças nos parâmetros reprodutivos das duas espécies em relação aos tratamentos térmicos indicam a pressão de seleção que o clima exerce sobre elas.

Em estudos sobre desenvolvimento e capacidade reprodutiva de *A. variegatum* sob condições de campo na Etiópia, SOLOMON & KAAYA (1998) observaram que, enquanto os períodos de ingurgitamento permaneceram praticamente inalterados durante os doze meses do experimento, os processos de eclosão e de muda foram fortemente influenciados pelas estações do ano. O tempo necessário para completar o ciclo biológico passou de 108 dias durante a estação seca para 141 dias, na época das chuvas. Segundo os autores, o número de gerações por ano e o tamanho das populações de carapatos, em especial os de três hospedeiros, são limitados pelos fatores meteorológicos, uma vez que os processos de postura, eclosão e mudas larval e ninfal, que representam a fase mais duradoura do ciclo, dependem de faixas adequadas de temperatura e umidade relativa.

2.1.4. Efeitos de tratamentos térmicos deletérios à postura e à eclosão larval de outros gêneros de carapatos

Dentre os diversos gêneros de carapatos, o gênero *Boophilus* é o que mais recebe a atenção de pesquisadores, seja em experimentos relativos a bioecologia, seja na busca de métodos eficazes para o controle, com destaque para a espécie *B.*

microplus, devido aos consideráveis prejuízos que acarreta à pecuária bovina em todo o mundo. Em estudo clássico sobre a fase de vida livre de *B. microplus*, HITCHCOCK (1955) constatou que cada um dos três estágios não parasitários (fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas) se comporta de modo peculiar frente às variações de temperatura. O período de pré-postura obtido a 36°C (dois a três dias) se prolongou consideravelmente em fêmeas mantidas a 15°C (19 a 39 dias). Situação semelhante ocorreu com o período de postura, que passou de quatro dias sob 39°C para 44 dias, a 15°C e com o período de incubação (14 dias a 36°C e 146 dias a 17°C). O período de incubação a 26°C (25 dias) foi praticamente o mesmo para ovos postos no início e no fim da postura, mas o percentual de eclosão dos últimos ovos postos foi significativamente menor, o que levou o autor a recomendar que se utilizem somente ovos provenientes do início da postura, garantindo maior uniformidade e abundância de material para estudos experimentais.

BENNETT (1974a) também encontrou diferenças na viabilidade dos ovos de acordo com o dia em que foram postos mas, diferentemente do obtido por HITCHCOCK (1955), o período de incubação (referido pelo autor como período de pré-eclosão) dos ovos de *B. microplus* provenientes dos últimos dias de postura foi mais longo que os demais. As observações de HITCHCOCK (1955) quanto à diversidade de resposta de cada estágio às variações de temperatura foram corroboradas por BENNETT (1974b), que se surpreendeu ao constatar que, enquanto fêmeas de *B. microplus* suportam temperaturas corporais do hospedeiro acima de 38°C durante o ingurgitamento, em laboratório, sob temperatura constante de 39°C, foram obtidas

baixas taxas de oviposição e eclosão larval; acrescenta-se ainda o fato de que a temperatura de 40°C inibiu completamente a oviposição, mas não foi letal aos adultos. Sob temperaturas baixas (11°C) ocorreu situação semelhante: fêmeas ingurgitadas permaneceram vivas por períodos superiores a 90 dias, mas a oviposição foi limitada e os ovos não deram origem a larvas. A faixa de temperatura de 27 a 30°C foi considerada ótima para a realização de posturas. Os autores afirmaram que os resultados obtidos podem explicar, em parte, a dispersão geográfica da espécie, com boa distribuição em áreas de temperatura amena e provável fracasso na oviposição em microhabitats caracterizados por temperaturas elevadas e escassez de árvores e arbustos, que poderiam proporcionar abrigo para as fêmeas em processo de postura.

Submetendo fêmeas e ovos de *Boophilus decoloratus* a temperaturas constantes de 10, 15, 20, 26, 32 e 38°C, LOND T (1977) verificou que a temperatura de 10°C impediu a realização de posturas, enquanto as temperaturas de 15 e 38°C foram deletérias à eclosão. Ao analisar os resultados obtidos, o autor constatou que todos os parâmetros relativos à fase não parasitária são termo-dependentes, sendo encurtados em temperaturas elevadas devido à aceleração da taxa metabólica. No entanto, altas temperaturas também acarretam aumento no déficit de saturação, resultando em perda de água principalmente pelos ovos dos carrapatos, o que interfere na eclosão. Por outro lado, a ausência de eclosão a 15°C foi provavelmente devida ao prolongamento do processo de incubação, fazendo com que a perda natural de água dos ovos por evaporação ocorresse em um período mais extenso.

A temperatura também exerceu marcante influência nos períodos de pré-postura e postura e no ritmo de postura de *Boophilus annulatus*, embora a quantidade de ovos postos tenha sido similar em todas as temperaturas testadas por OUHELLI *et al.* (1982). Segundo os autores, os satisfatórios índices de oviposição obtidos em temperaturas entre 16 e 35°C podem ser os responsáveis pela sobrevivência e propagação da espécie em diferentes regiões bioclimáticas.

Voltando à espécie *B. microplus*, em numerosos experimentos em seqüência realizados por uma equipe de pesquisadores em Cuba durante as décadas de 1980 e 90, foi comprovado o efeito da temperatura sobre os processos de postura, eclosão e sobrevivência de larvas em condições de campo e em laboratório, tendo sido possíveis ainda a determinação das exigências térmicas para a ocorrência de tais processos e a elaboração de estratégias de combate, baseadas nos conhecimentos adquiridos em tais pesquisas (De La VEGA & DÍAZ, 1985a,b,c, 1986, 1987, 1992; De La VEGA *et al.* 1988, 1993). No Brasil, MORAES *et al.* (1987) observaram que a embriogênese e a eclosão larval foram significativamente reduzidas em ovos de *B. microplus* submetidos à temperatura de 8°C por cinco dias e posteriormente transferidos para 28°C, em comparação àqueles mantidos permanentemente sob 28°C. Segundo os autores, houve indícios de que o frio reduziu a capacidade dos ovos em reter a umidade, aumentando a taxa de encarquilhamento e inviabilizando a eclosão.

A diversidade de resposta de cada estágio do ciclo biológico de *B. annulatus* frente às variações de temperatura foi constatada por DAVEY (1988). Fêmeas ingurgitadas submetidas a temperaturas constantes de 12 e 45°C morreram sem realizar

postura, enquanto fêmeas mantidas a 15 e 40°C puseram ovos que não chegaram a externar larvas. Os períodos de pré-postura e postura foram prolongados e o peso da postura e os percentuais de eclosão, reduzidos em temperaturas mais baixas. Em contrapartida, permutas de temperaturas altas e baixas por períodos de 12 h não alteraram significativamente os parâmetros relativos à fase não parasitária, indicando que a temperatura variável não é tão deletéria quanto a constante, o que pode explicar a presença da espécie em regiões com condições aparentemente inadequadas. A última etapa do experimento, fundamentada na exposição de fêmeas ingurgitadas a temperaturas deletérias por períodos progressivos de zero a 105 dias, veio corroborar esta assertiva, ao se evidenciar que quanto maior o período de exposição, mais adversos foram os efeitos sobre a postura e a eclosão larval.

Em experimento com metodologia idêntica foi observado comportamento semelhante para a espécie *B. microplus* (DAVEY & COOKSEY, 1989). O percentual de fêmeas em processo de oviposição permaneceu alto para fêmeas expostas à temperatura de 12°C por até 30 dias, mas foi reduzido sensivelmente conforme elevou-se o tempo de exposição, chegando a zero em 90 dias de tratamento. A eclosão de larvas mostrou comportamento similar, evidenciando uma forte relação negativa entre o tempo de exposição e a viabilidade dos ovos postos em temperatura ótima e submetidos a temperatura restritiva do desenvolvimento por períodos de zero a 105 dias.

A sobrevivência de larvas de *B. annulatus*, *B. microplus* e híbridos das duas espécies foi reduzida com o aumento da temperatura de 20 para 35°C (DAVEY

et al., 1991). Os autores determinaram ainda que, sob umidade relativa igual ou superior a 75%, quando os riscos de desidratação das larvas são mínimos, a temperatura é o fator limitante da sobrevivência larval. As espécies responderam de forma semelhante às variações de temperatura, o que levou os autores a sugerir que estas seriam capazes de se desenvolver nas mesmas regiões bioclimáticas.

Ao avaliar o desenvolvimento embrionário e a eclosão larval de *B. annulatus* a temperaturas entre três e 42°C, STREY *et al.* (1991), nos Estados Unidos, encontraram acúmulo de guanina somente entre nove e 42°C, evidenciando a não ocorrência de desenvolvimento embrionário sob temperaturas abaixo de 9°C. As concentrações de guanina aumentaram regularmente no decorrer do período de incubação em todas as temperaturas, atingindo níveis mais elevados entre 27 e 36°C (acima de 230 µg/5 ml). A eclosão ocorreu somente no intervalo de 17 a 36°C, com períodos de incubação sendo reduzidos de 54 para 12 dias, nas temperaturas extremas. O acúmulo de guanina encontrado em ovos mantidos a 39 e 42°C (200,6 e 142,0 µg/5 ml, respectivamente) indicou a ocorrência de desenvolvimento embrionário, contudo não foram obtidas larvas nestas temperaturas provavelmente devido à excessiva perda de água, evidenciada pelo aspecto encarquilhado e escurecido dos ovos ao serem examinados ao microscópio ótico.

GLÓRIA *et al.* (1993) constataram o efeito deletério da temperatura de 17°C ao processo de eclosão larval de *B. microplus* ao verificar percentual de eclosão mais baixo que os obtidos sob 27 e 32°C, além de significativa quantidade de ovos

ressecados e escurecidos. Os autores afirmaram que houve evidente influência da temperatura, com alterações em todos os parâmetros referentes à fase não parasitária, sendo recomendada a utilização da temperatura de 32°C em experimentos laboratoriais, devido à diminuição do período de incubação e obtenção de níveis satisfatórios de eclosão larval.

Em estudos mais recentes, SUTHERST *et al.* (1999), avaliando a produção e a sobrevivência de ovos de *B. microplus* em regiões de altas e baixas umidades na Austrália, determinaram que os principais fatores que levaram à redução da produção de ovos foram, além dos níveis de umidade, temperaturas do solo abaixo de 17,6 e acima de 33,6°C. Já a viabilidade dos ovos postos foi limitada por temperaturas do solo inferiores a 16,9 e superiores a 25,4°C. ESTRADA-PENA (2001) constatou que o aquecimento global gera modificações nos ecossistemas, acarretando alterações na adequação dos habitats ao desenvolvimento de *B. microplus*, com gradual redução na adequação de áreas onde a espécie já estava estabelecida e a transformação de zonas extremamente frias e inadequadas ao desenvolvimento do carapato em habitats em potencial, com consequências desastrosas para uma população de hospedeiros vulneráveis ao parasitismo.

Embora em menor escala, algumas espécies dos gêneros *Dermacentor* e *Anocentor* também têm sido investigadas quanto ao comportamento da fase não parasitária frente às variações na temperatura. CAMPBELL & HARRIS (1979) verificaram que os pesos da postura e da fêmea ingurgitada de *Dermacentor variabilis* foram positivamente correlacionados em temperaturas de 20, 25 e 29,7°C, enquanto a

15 e 35,6°C as correlações, apesar de positivas, não foram estatisticamente significativas. As temperaturas de 10 e 35,6°C, respectivamente, inibiram completamente os processos de postura e eclosão larval. A viabilidade dos ovos provenientes do final da postura foi reduzida, provavelmente devido aos altos níveis de depleção de nutrientes e/ou estoque de esperma da fêmea nesta fase do processo de oviposição. Baseados nos resultados obtidos, os autores afirmaram que a temperatura pode ser um importante determinante da regulação das populações de ixodídeos no campo. DÍAZ *et al.* (1991), referindo-se a *A. nitens* e DESPINS (1992), a *D. (A.) nitens*, também constataram o marcante efeito da temperatura sobre a fase não parasitária, tendo este último concluído que a espécie requer áreas com altas temperaturas e umidades relativas, além de invernos não rigorosos, para se estabelecer. Estas observações foram corroboradas por BASTOS *et al.* (1996) que, ao comprovar o forte efeito negativo da temperatura de 18°C sobre o desempenho biológico de *D. (A.) nitens*, sugeriram que, em regiões onde predominem temperaturas próximas de 18°C, o ixodídeo tenha sua implantação impedida ou, ao menos, dificultada.

Espécies do gênero *Rhipicephalus* também foram empregadas em estudos biológicos correlacionados com a temperatura. SRIVASTAVA & VARMA (1964) observaram que a 29°C o ciclo biológico de *Rhipicephalus sanguineus* foi completado em 65 a 90 dias, enquanto a 25°C o período se elevou para 86 a 123 dias. SWEATMAN (1967) verificou que o processo de postura de *R. sanguineus* é prejudicado em temperaturas abaixo de 20 e acima de 35°C. A temperatura para máxima sobrevivência de fêmeas ingurgitadas (10°C) foi abaixo do limite térmico mínimo para ocorrência de

oviposição (15°C), comprovando os efeitos diferenciados dos tratamentos térmicos sobre cada estágio do ciclo biológico do ixodídeo. BRANAGAN (1973) afirmou que o desenvolvimento de todos os estágios de *Rhipicephalus appendiculatus* foi retardado em temperaturas baixas, observações corroboradas por TUKAHIRWA (1976) que, em experimento com a mesma espécie, concluiu que, conforme as temperaturas vão se distanciando da temperatura ótima, os parâmetros relativos à fase não parasitária vão sendo alterados até alcançar um limite, superior ou inferior, quando o metabolismo cessa. HEATH (1979), investigando a biologia de *Haemaphysalis longicornis*, *Ixodes holocyclus* e *R. sanguineus*, constatou que as três espécies se distribuem em regiões geográficas diferentes, onde predominam climas distintos, o que foi refletido nas respostas dos ovos quando submetidos a diversos tratamentos térmicos em laboratório, observando-se eclosões de larvas nos intervalos de 18 a 35, 18 a 28 e 18 a 38°C para as três espécies, respectivamente. Segundo o autor, a camada lipídica que recobre a casca dos ovos é responsável por conferir-lhes determinado grau de impermeabilidade, reduzindo a excessiva perda de água quando estes são expostos a temperaturas desfavoráveis. Portanto, espécies possuidoras de camada lipídica mais eficiente são capazes de se adaptar a ambientes diversificados. Trabalhando com *Haemaphysalis spinulosa* e *Rhipicephalus simus* sob temperaturas entre 15 e 38°C , HUSSEIN & MUSTAFA (1987) observaram que os períodos de desenvolvimento foram inversamente proporcionais à temperatura e destacaram o efeito deletério de temperaturas elevadas sobre a eclosão larval. Assim como HEATH (1979), os autores verificaram que as espécies se comportaram de modo distinto frente às variações

térmicas, o que pode ser refletido em sua dispersão geográfica. Em experimento sobre a ocorrência sazonal de *R. sanguineus* no Japão, INOKUMA *et al.*(1996) observaram que os períodos relativos à oviposição foram mais curtos à temperatura ambiente de 37°C, em comparação à de 23°C e constataram o efeito negativo de temperaturas baixas ao verificar que não havia cães infestados no mês de novembro, quando as temperaturas são abaixo de 15°C. No Brasil, BELLATO & DAEMON (1997) avaliando o desempenho biológico de *R. sanguineus* sob três temperaturas constantes, também evidenciaram o efeito deletério de temperaturas baixas sobre a biologia do carapato ao encontrar eclosão de apenas três larvas sob 18°C, concluindo que esta é a temperatura limite para a ocorrência deste processo, nesta espécie.

Estudos similares foram realizados, ainda, tendo como foco principal espécies de ixodídeos dos gêneros *Haemaphysalis*, *Ixodes* e *Hyalomma* e até de argasídeos do gênero *Argas*, sempre com evidente correlação entre temperaturas elevadas e períodos curtos de desenvolvimento, havendo, em alguns artigos, referências aos efeitos de temperaturas extremas sobre as diversas fases do ciclo biológico dos carapatos e suas implicações na dispersão geográfica das espécies (SNOW, 1969; DAVIS, 1974a,b; CAMPBELL & GLINES, 1979; HAGRAS & KHALIL, 1988; BUCZEK, 1992; OUHELLI, 1994; DANIELS *et al.*, 1996; DAUTEL & KNÜLLE, 1998; BARROS-BATTESTI *et al.*, 2000).

**2.2. EXPERIMENTO I: EFEITO DELETÉRIO DA TEMPERATURA DE 32°C
SOBRE OS PROCESSOS DE POSTURA E ECLOSÃO LARVAL DE
*Amblyomma cajennense***

2.2.1. Introdução

A partir dos resultados de pesquisas desenvolvidas por ROHR (1909), em que foi constatado que temperaturas elevadas são deletérias ao processo de eclosão larval de *A. cajennense* e, mais recentemente, por PRATA (1998) e DAEMON *et al.* (1999), que determinaram que o efeito nocivo é exercido pela temperatura de 32°C, surgiram explicações para alguns fatos, como a presença de larvas nas pastagens somente nos meses mais frios (SOUZA & SERRA FREIRE, 1994a,b; OLIVEIRA *et al.*, 2000). Por outro lado, muitos questionamentos ficaram sem resposta, como por exemplo: em que fase de desenvolvimento os ovos sofrem a influência deletéria da temperatura? Durante os processos de vitelogênese, ovulação e fecundação, quando ainda se encontram no interior da fêmea, sendo a ação da temperatura exercida indiretamente ou ao longo das diferentes fases de desenvolvimento embrionário, quando os ovos já se encontram expostos ao ambiente e, portanto, recebendo a ação

direta da temperatura? E a fêmea, também é prejudicada pela exposição a este tratamento térmico?

Visando elucidar tais questionamentos foi delineado o presente experimento, fundamentado na exposição das diferentes fases da biologia de fêmeas ingurgitadas e ovos de *A. cajennense* à temperatura de 32°C.

2.2.2. Material e métodos

a. Local de execução

O experimento foi realizado no Laboratório de Ixodologia e demais dependências da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Município de Seropédica, RJ.

b. Obtenção de ixodídeos

Larvas de *A. cajennense* com aproximadamente 15 dias de jejum, obtidas a partir de fêmeas ingurgitadas em eqüinos (*Equus cabalus* L., 1758) naturalmente infestados e mantidas em laboratório sob condições controladas (temperatura de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase), foram utilizadas em infestações experimentais em coelhos (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758), segundo a técnica utilizada

por NEITZ *et al.* (1971), recolhendo-se larvas ingurgitadas. Após a muda para ninfas, sob as mesmas condições controladas, procedimento análogo foi realizado, recolhendo-se ninfas ingurgitadas, que foram mantidas em laboratório sob condições idênticas, até a obtenção de adultos.

Casais adultos constituintes da primeira geração de laboratório de *A. cajennense*, com aproximadamente 25 dias de jejum foram empregados em infestações artificiais em quatro eqüinos adultos, mestiços, fêmeas, seguindo-se a técnica utilizada por SANAVRIA *et al.* (1996). Os animais, que receberam 80 casais de ixodídeos em cada lado do pescoço, foram mantidos estabulados individualmente durante todo o período parasitário, sendo alimentados com verde picado e ração comercial duas vezes ao dia e água *ad libitum*.

As fêmeas ingurgitadas naturalmente desprendidas foram coletadas duas vezes ao dia e imediatamente transportadas para laboratório, sendo submetidas a lavagem em água corrente, secagem em papel absorvente, pesagem em balança analítica, identificação e distribuição por faixas de peso, buscando-se a obtenção de grupos experimentais com médias de peso de fêmeas ingurgitadas estatisticamente semelhantes. Uma vez distribuídas por grupos, as fêmeas foram acondicionadas em placas de Petri, por fixação em posição dorsal com auxílio de fita adesiva. A quantidade de fêmeas obtida em cada coleta foi igualmente distribuída entre os grupos experimentais. À medida em que foram sendo formados parcialmente os grupos, estes foram imediatamente submetidos ao tratamento térmico correspondente.

c. Delineamento experimental

Foram formados cinco grupos experimentais, cada um constituído por 30 fêmeas ingurgitadas, os quais foram mantidos em estufas incubadoras para BOD, com umidade relativa superior a 80%, escotofase e sob os seguintes tratamentos térmicos:

Grupo I (controle)

Fêmeas ingurgitadas mantidas a 27°C durante os períodos de pré-postura e postura; massas de ovos submetidas a 27°C.

Grupo II

Fêmeas ingurgitadas mantidas sob 27°C durante os períodos de pré-postura e postura; massas de ovos sob 32°C.

Grupo III

Fêmeas ingurgitadas mantidas a 27°C durante o período de pré-postura e a 32°C durante o período de postura; massas de ovos submetidas a 27°C.

Grupo IV

Fêmeas ingurgitadas mantidas a 32°C durante o período de pré-postura e a 27°C ao longo do período de postura; massas de ovos submetidas a 27°C.

Grupo V

Fêmeas ingurgitadas mantidas sob 32°C durante os períodos de pré-postura e postura; massas de ovos mantidas a 27°C.

Foram realizadas observações duas vezes ao dia para detecção do início do processo de postura de cada fêmea e ainda para determinação do dia modal de início de postura de cada grupo experimental. Uma vez iniciada a postura, cada fêmea foi transferida para a estufa incubadora regulada com o tratamento térmico previsto para o processo de postura no grupo experimental correspondente. As massas de ovos postas por cada fêmea até o dia modal de início de postura do grupo foram pesadas a intervalos de 24 h e descartadas. A cada 24 ± 1 h após o dia modal de início de postura de cada grupo, as massas de ovos de cada fêmea foram pesadas individualmente, sendo posteriormente reunidas em um “pool” contendo as posturas de todas as fêmeas do grupo. O “pool” formado a cada dia foi dividido em quatro partes iguais - quatro repetições por dia de postura - que foram transferidas para frascos de vidro transparente vedados com buchas de algodão hidrófilo, identificados com as letras A, B, C ou D, com o número do grupo experimental e o dia de postura e mantidos em estufa incubadora sob o tratamento térmico previsto para o grupo. Os frascos foram observados diariamente em microscópio estereoscópico para acompanhamento do processo de eclosão larval, findo o qual foram selecionados aleatoriamente 30 frascos de cada grupo, para verificação semanal do processo de mortalidade de larvas.

Três dias após o término da postura, as fêmeas, nesta fase denominadas quenóginas, foram pesadas e mantidas sob o mesmo tratamento térmico previsto para o processo de postura, sendo observadas diariamente em microscópio estereoscópico até a detecção da morte.

d. Parâmetros analisados

A partir da metodologia empregada, foi possível a determinação, para cada grupo experimental, de parâmetros relativos aos processos de postura, eclosão e longevidade de larvas, discriminados a seguir.

Parâmetros relativos à postura: peso das fêmeas ingurgitadas (média dos pesos das 30 fêmeas de cada grupo), peso corrigido das fêmeas ingurgitadas (média calculada sem os pesos das fêmeas que foram descartadas por morte precoce, sem causa definida), período de pré-postura (número de dias decorridos entre o desprendimento de cada fêmea ingurgitada e a postura do primeiro ovo), período de postura (compreendido entre a postura do primeiro e a do último ovo de cada fêmea), peso da postura (somatório dos pesos das posturas diárias de cada fêmea), peso da quenórgina (determinado três dias após o término da postura), perda de peso da fêmea (peso inicial da fêmea ingurgitada subtraído do peso da quenórgina), índices de eficiência reprodutiva e nutricional (calculados segundo BENNETT, 1974a), período de sobrevivência da fêmea (da queda da fêmea ingurgitada até sua morte) e período de sobrevivência da fêmea após o término da postura (número de dias decorridos entre a postura do último ovo e a morte da fêmea). Foi determinado ainda o ritmo de postura diária (percentual de ovos postos a cada 24 h após o início da postura de cada fêmea).

Parâmetros referentes ao processo de eclosão larval (calculados para massas de ovos coletadas a cada dia a partir de 24 h após o dia modal de início de postura de cada grupo experimental, sendo quatro repetições para cada dia de coleta): período de incubação (entre o dia da postura e o início da eclosão), período de eclosão (compreendido entre a eclosão da primeira e a da última larva) e percentual de eclosão (estimativa visual da quantidade de larvas ecloididas em relação à massa de ovos de cada unidade experimental), e ritmo de eclosão acumulada (percentual de eclosão ocorrido até determinado dia). A metodologia empregada possibilitou a avaliação dos parâmetros relativos à eclosão de acordo com o dia em que os ovos foram postos, proporcionando uma análise mais aprofundada dos efeitos dos tratamentos térmicos.

Parâmetros referentes à sobrevivência de larvas (calculados para cada um dos trinta frascos selecionados aleatoriamente em cada grupo experimental): período prévio à mortalidade (número de dias decorridos entre o início da eclosão e a morte da primeira larva), longevidade larval (entre a eclosão da primeira e a morte da última larva de cada frasco), período de mortalidade de larvas (entre a morte da primeira e a da última larva) e ritmo de mortalidade acumulada (estimativa visual do percentual de mortalidade ocorrida até determinado dia).

e. Análise estatística

Foram empregados Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey-Kramer a níveis de significância de 5% (Programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-

1994) para cada parâmetro, com exceção dos ritmos de postura, eclosão e mortalidade, com o objetivo de verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos experimentais e entre períodos dentro de um mesmo grupo (parâmetros relativos à eclosão) determinadas pela ação do tratamento térmico. Valores expressos em percentuais foram transformados para arcoseno previamente à aplicação dos testes estatísticos.

Para a análise de parâmetros em que a diferença entre os desvios padrões foi considerada, pelo teste de Bartlett, extremamente significativa, caracterizando uma amostragem sem distribuição normal, optou-se pela aplicação dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis e Dunn, também a níveis de significância de 5%, substituindo a Análise de Variância e o teste de Tukey-Kramer, respectivamente. Quando apenas dois grupos foram contrastados, foi utilizado o teste “t” de Student ou o teste não paramétrico de Mann Whitney, conforme a característica da população, para verificar a existência de diferenças estatisticamente significativas, determinadas pelo efeito da temperatura.

Foi empregada, ainda, análise de regressão linear para verificar o grau e a significância das relações entre o peso da fêmea ingurgitada e o peso da postura e entre a perda de peso da fêmea e o peso da postura, em cada grupo experimental.

2.2.3. Resultados e discussão

a. Percentual de recuperação e peso das fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*

Foi adotada a estratégia de colonização artificial porque, diferentemente do que ocorre com *A. nitens* e *B. microplus*, espécies que também parasitam animais de produção no Brasil, é difícil a obtenção de grande quantidade de fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* em curto espaço de tempo, mesmo na UFRRJ, que recentemente firmou convênio com a Polícia Rodoviária Federal e diariamente recebe animais nas mais diversas condições de sanidade, apreendidos em diferentes localidades do Estado do Rio de Janeiro. Além de garantir abundância e homogeneidade de material, com a utilização da técnica de infestação artificial sob condições de laboratório, eliminou-se o risco de parasito e/ou hospedeiro terem tido contato recente com produtos carrapaticidas.

Dos 640 casais de *A. cajennense* empregados nas infestações, foram recolhidos, após um período parasitário de $9,90 \pm 1,17$ dias, 301 fêmeas ingurgitadas, perfazendo um percentual de recuperação de 47,03%, valores que estão de acordo com os obtidos por SANAVRIA & PRATA (1996) e SANAVRIA *et al.* (1996), em experimentos com metodologia semelhante, demonstrando, deste modo, a estabilidade das populações de *A. cajennense* nos locais estudados. Para a constituição dos grupos experimentais, foram utilizadas somente fêmeas desprendidas naturalmente no nono e no décimo dias pós-infestação, garantindo uma maior homogeneidade da amostra.

Na Tabela 1 são apresentados os pesos médios das 30 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* constituintes de cada grupo experimental e as médias corrigidas, calculadas sem os pesos das fêmeas descartadas por morte precoce, bem como o resultado da análise estatística comparando cada parâmetro, em cada tratamento

térmico. Os pesos médios das fêmeas ingurgitadas foram de 544,68, 542,87, 545,03, 547,66 e 545,27 mg para os grupos I a V, respectivamente, não havendo diferenças

significativas ao nível de 5%, o que já era esperado, devido à metodologia de distribuição das fêmeas por faixas de peso para a constituição dos grupos.

Em todos os grupos experimentais ocorreram perdas de fêmeas, que morreram entre um e três dias após o início do tratamento, sem realizar postura. Nos grupos I (grupo controle, em que fêmeas e ovos foram submetidos a 27°C), II (grupo em que fêmeas foram mantidas a 27°C e ovos a 32°C) e III (fêmeas mantidas a 27°C durante o período de pré-postura e a 32°C durante o período de postura e ovos submetidos a 27°C) foi registrada morte de seis fêmeas ingurgitadas, sendo duas em cada grupo. Em cada um dos grupos IV (fêmeas sob 32°C durante período de pré-postura e 27°C durante período de postura e ovos mantidos a 27°C) e V (fêmeas permanentemente submetidas a 32°C e ovos a 27°C) foram detectadas mortes de três fêmeas ingurgitadas. Por terem ocorrido em número reduzido, essas mortes provavelmente foram causadas por fatores intrínsecos, inerentes a cada espécime e não pelo efeito do tratamento térmico. Mesmo com os numerosos critérios adotados para garantir amostras homogêneas, não houve intervenção na variabilidade genética dos carapatos e, dessa forma, as perdas, também registradas em pesquisas anteriores (PRATA, 1998), já eram esperadas no presente experimento.

Com o descarte das fêmeas que morreram precocemente, os tamanhos das amostras foram reduzidos de 30 para 28 nos grupos I, II e III e 27 nos grupos IV e V, havendo a preocupação de se calcular os pesos médios corrigidos para as fêmeas dos

grupos I a V que, conforme pode ser visualizado na Tabela 1, foram estatisticamente iguais.

b. Parâmetros relativos à postura

Os períodos relativos à fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* em cada tratamento térmico, bem como os resultados da análise estatística são apresentados na Tabela 2. Os períodos de pré-postura obtidos nos grupos I, II e III foram considerados estatisticamente iguais, uma vez que, nesta fase, as fêmeas dos três grupos foram submetidas à temperatura de 27°C. As médias encontradas, 6,32, 6,18 e 6,39 dias para os grupos I, II e III, respectivamente, também foram consideradas semelhantes às obtidas em outros experimentos, igualmente realizados a 27°C (DRUMMOND & WHETSTONE, 1975; SERRA FREIRE & OLIVIERI, 1992; SANAVRIA & PRATA, 1996; SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA & DAEMON, 1997; PRATA *et al.*, 1997), sugerindo que a amostra utilizada no presente experimento se comportou dentro do padrão estabelecido para a espécie, o que confere maior segurança para a análise do efeito de condições adversas sobre o desempenho biológico desta. As fêmeas dos grupos IV e V despenderam, em média, 5,89 e 5,56 dias, respectivamente, para iniciar o processo de postura, valores considerados estatisticamente iguais, ambos obtidos sob 32°C. A média registrada neste último grupo foi significativamente inferior à do grupo controle, evidenciando ação da temperatura de 32°C no encurtamento do período de pré-postura. No entanto, o valor obtido no grupo IV, embora numericamente inferior, foi considerado estatisticamente igual ao do

grupo controle, não tendo sido possível a determinação dos fatores responsáveis pela similaridade de resultados.

Com o período de postura ocorreu situação análoga. As fêmeas dos grupos I, II e IV, mantidas sob 27°C durante o processo de oviposição, exibiram períodos de postura entre 27,78 e 30,33 dias, considerados estatisticamente iguais entre si e semelhantes aos valores de referência obtidos na literatura (ROHR, 1909; DRUMMOND & WHETSTONE, 1975). Portanto, a manutenção da fêmea inicialmente a 32°C e a sua transferência para 27°C após o início da postura (grupo IV) não influenciaram na duração do processo de oviposição. Já a exposição permanente à temperatura de 32°C (grupo V) e até mesmo a exposição a este tratamento somente durante o processo de postura (grupo III) encurtaram para cerca de 19 dias a duração da oviposição, provavelmente pela aceleração do processo de transformação do sangue ingerido em ovos, suposição que encontra paralelo nos registros de LOND T (1977), que trabalhou com *B. decoloratus*, HEATH (1979) com *H. longicornis*, *I. holocyclus* e *R. sanguineus* e DESPINS (1992) com *D. (A.) nitens*, dentre outros autores. Essa aceleração de metabolismo em temperaturas elevadas, se confirmada sob condições naturais, pode ser utilizada pela fêmea como uma estratégia para garantir a perpetuação da espécie pois, uma vez que os riscos à sobrevivência dos carapatos expostos às condições ambientais são inúmeros, têm maior probabilidade de sucesso os que realizam a fase não parasitária em menor período, pelo menos no que toca à oviposição. Essas observações são sustentadas pelos registros de PATRICK & HAIR (1979) que, submetendo fêmeas de *A. americanum* a quatro diferentes habitats, nos Estados Unidos,

constataram a preferência destas em se destacar do hospedeiro em épocas que garantam períodos mínimos para a postura e a incubação dos ovos, reduzindo o tempo em que a próxima geração fica exposta ao ambiente. É importante ressaltar que a comparação com outras espécies, necessária devido à escassez de registros relativos a *A. cajennense*, é de fundamental importância para uma melhor compreensão do efeito do tratamento térmico em cada etapa da fase não parasitária de fêmeas e ovos do “carrapato estrela”. Contudo, nestas comparações são levadas em conta apenas as tendências de aceleração ou retardamento do ciclo de acordo com a temperatura, uma vez que os valores absolutos de cada parâmetro são particulares para cada espécie de carrapato.

A relação inversamente proporcional entre temperatura e duração dos períodos da fase não parasitária de *A. cajennense* já foi constatada em pesquisas anteriores. Os valores obtidos por HOOKER *et al.* (1912) para a duração da fase de pré-postura sob temperaturas de 17 e 29°C (18 e nove a 11 dias, respectivamente), seguem a tendência de obtenção de períodos mais curtos em temperaturas elevadas. TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE (1944) encontraram resultados que confirmam esse comportamento: o período de pré-postura passou de 7,6 dias a 26°C para 6,3 dias sob temperaturas entre 26,9 e 28,9°C, valor próximo aos obtidos nos grupos I, II e III, a 27°C; o processo de postura também foi encurtado, de 23,3 dias a 21,8°C para 13,7 dias sob temperatura constante de 26°C. Segundo os autores, essa variação de períodos de acordo com a temperatura foi de grande valia, pois possibilitou a distribuição de carapatos por diversos tratamentos térmicos, evitando-se, deste modo, sobrecarga de atividades, já que trabalhavam com grande quantidade de material para o preparo de vacinas. CERNY (1969), citado por RODRÍGUEZ DIEGO & VILLALBA (1984),

também encontrou períodos de pré-postura mais curtos em temperaturas elevadas. Situação diversa da obtida no presente experimento foi registrada por DOHM & LINTHICUM (1993), que constataram que a exposição a temperaturas de 19, 26 e 33°C não afetou os períodos relativos à postura de *A. cajennense*. No entanto, diferentemente do presente trabalho, os carapatos foram submetidos aos diversos tratamentos térmicos antes do processo de ingurgitamento, fato responsável pelos resultados conflitantes.

Os períodos de pré-postura e postura obtidos por PRATA (1998) sob temperatura constante de 32°C, embora numericamente inferiores, foram considerados estatisticamente semelhantes aos registrados sob 27°C, o que destoa da situação encontrada no presente experimento. No entanto, na pesquisa anterior, estes parâmetros foram contrastados com períodos mais longos, obtidos a 15 e 18°C. Se a análise tivesse sido feita somente entre temperaturas de 27 e 32°C, provavelmente as diferenças teriam sido evidenciadas.

Dando continuidade à análise da Tabela 2, pode-se verificar que o período de sobrevivência das fêmeas mantidas permanentemente a 32°C (42,74 dias; grupo V) foi significativamente mais curto que o daquelas submetidas a 32°C somente durante o período de pré-postura (54,26 dias; grupo IV); no entanto todos os grupos foram considerados estatisticamente iguais ao grupo controle, neste aspecto, o que indica que a manutenção a 32°C por períodos curtos ou longos não prejudicou significativamente a sobrevivência de fêmeas de *A. cajennense*. Com relação ao período de sobrevivência da fêmea após o término da postura, os valores obtidos foram ainda mais estáveis, entre 17,74 e 20,78 dias, todos considerados estatisticamente iguais. PRATA (1998) obteve, para fêmeas mantidas sob temperaturas constantes de 27 e 32°C, períodos de

sobrevivência de, respectivamente, 43,93 e 41,93 dias; após o término da postura as fêmeas sobreviveram por 13,10 e 15,71 dias, na mesma ordem. Embora inferiores aos do presente trabalho, os períodos relativos a cada parâmetro foram considerados estatisticamente iguais nas duas temperaturas, o que evidencia que a temperatura de 32°C não altera a longevidade de fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense*. Entretanto, GLÓRIA *et al.* (1993) verificaram, para *B. microplus*, períodos relativos à sobrevivência de fêmeas significativamente diferentes sob temperaturas de 17, 27 e 32°C, situação diversa da observada no presente trabalho, o que pode sugerir que tais parâmetros se comportam de modo particular para cada espécie de carapato.

Dando prosseguimento à análise dos parâmetros relativos à postura, pode-se verificar, na Tabela 3, que o peso médio da postura foi estatisticamente semelhante em todos os grupos experimentais, apesar da considerável variação numérica, de 315,97 mg no grupo controle a 274,22 mg, no grupo V, em que as fêmeas foram permanentemente submetidas a 32°C. No entanto, ao se avaliar o parâmetro índice de eficiência reprodutiva, percebe-se que os percentuais obtidos nos grupos III, IV e V (51,76, 51,78 e 50,89%, respectivamente), mesmo considerados satisfatórios quando comparados com os registros da literatura (SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA & DAEMON, 1997; LOPES *et al.*, 2000) foram estatisticamente inferiores ao do grupo controle (58,36%), evidenciando o efeito, embora pequeno, do estresse provocado pela permuta de temperaturas (grupos III e IV) ou pela exposição permanente a 32°C (grupo V) sobre a conversão do sangue ingerido em ovos. Esta informação é confirmada ao se verificar que as médias de peso da quenórgina nos grupos III (168,46 mg) e

V (176,31 mg) foram estatisticamente superiores à obtida no grupo controle (136,08 mg). Partindo-se do fato de que os grupos foram formados com fêmeas de pesos estatisticamente iguais, essa superioridade de peso da quenórgina sugere que a postura pode não ter sido realizada completamente em decorrência dos efeitos dos tratamentos térmicos. Essa redução na produção de massas de ovos, no entanto, pode ser considerada pequena, pois foi detectada somente com a avaliação da associação entre peso da postura e peso da fêmea, no parâmetro índice de eficiência reprodutiva. A análise conjunta da Tabela 4 sustenta essas afirmações, ao se evidenciar que, embora todas as correlações entre peso da fêmea ingurgitada e peso da postura tenham sido extremamente significativas, demonstrando que os tratamentos térmicos foram favoráveis à realização de posturas, os menores coeficientes de correlação foram obtidos nos grupos III, IV e V (0,8510, 0,6107 e 0,6140, respectivamente), confirmando uma pequena influência das permutas de temperaturas ou da exposição permanente a 32°C, acarretando a redução da conversão do sangue ingerido em ovos. Avaliando-se isoladamente o índice de eficiência reprodutiva nos grupos III, IV e V verifica-se que, embora os grupos III e IV tenham sido expostos a 32°C por menos tempo, esse menor período foi compensado pelo estresse da permuta de temperaturas, igualando estatisticamente os valores obtidos nestes ao do grupo V.

Para uma melhor compreensão da influência dos diferentes tratamentos térmicos sobre os parâmetros relativos à postura de *A. cajennense*, recorreu-se à análise da perda de peso da fêmea (Tabela 3), constatando-se que as fêmeas perderam entre

366,83 mg (grupo V) e 407,59 mg (grupo II), durante as fases de pré-postura e postura,

valores estatisticamente iguais em todos os grupos experimentais. Desta perda, verifica-se, pela análise dos índices de eficiência nutricional (Tabela 3) que aproximadamente 75% foram convertidos em ovos nos diversos grupos experimentais, sendo o restante empregado em outros processos metabólicos, como a evaporação, por exemplo. Essa uniformidade de valores entre os diferentes grupos confirma que o efeito do tratamento térmico foi exercido sobre a realização de posturas, não interferindo nos demais processos metabólicos. Finalmente, a análise da Tabela 4 demonstra que o referido efeito, ainda que presente, foi realmente de pequena intensidade, pois as correlações entre a perda de peso da fêmea e o peso da postura foram estatisticamente significativas nos cinco grupos experimentais, sendo todos os coeficientes de correlação superiores a 0,90.

Situação análoga à do presente trabalho foi obtida em pesquisas anteriores (PRATA, 1998; DAEMON *et al.*, 1999) em que, embora os pesos das posturas tenham sido estatisticamente iguais em 27 e 32°C, o peso da quenórgina foi significativamente mais elevado a 32°C, sugerindo uma menor eficiência na utilização dos nutrientes para a realização do processo de postura; os índices de eficiência reprodutiva e nutricional foram estatisticamente iguais sob 27 e 32°C e semelhantes aos obtidos no presente experimento. Os coeficientes de correlação entre o peso da fêmea e o peso da postura registrados a 27 e 32°C (0,93 e 0,66, respectivamente) foram semelhantes aos ora obtidos, respectivamente, no grupo controle (0,8819) e nos grupos IV e V (0,6107 e

0,6140, nesta ordem), sendo todas as correlações extremamente significativas. Portanto, assim como no presente trabalho, foi verificado que, embora a temperatura de 32°C não tenha sido deletéria ao processo de postura, este foi realizado mais eficientemente sob temperatura constante de 27°C. A similaridade de resultados entre as pesquisas já era esperada, uma vez que, além de terem enfocado a mesma espécie de carapato, foram conduzidas na mesma região geográfica, sob metodologias semelhantes e em períodos próximos.

Em pesquisas mais remotas, DRUMMOND & WHETSTONE (1975), obtiveram coeficiente de correlação de 0,870 para fêmeas de *A. cajennense* ingurgitadas em bovinos e mantidas sob 27°C, valor semelhante ao registrado no grupo controle do presente trabalho (0,8819). Em Cuba, RODRÍGUEZ DIEGO & VILLALBA (1984) também verificaram correlação altamente significativa entre o peso das fêmeas e o número de ovos postos, sob temperatura próxima de 25°C. Portanto, mesmo com variação geográfica e cronológica, foi registrado comportamento semelhante, o que sugere que este parâmetro possa constituir uma característica intrínseca da espécie.

Com outras espécies de carapatos foram encontrados resultados contrastantes. LONDT (1977), trabalhando com *B. decoloratus*, obteve quantidades significativamente maiores de massas de ovos em temperaturas mais altas e concluiu que o aumento da taxa metabólica, que leva ao encurtamento de períodos de pré-postura e postura, também eleva a eficiência de utilização dos nutrientes. Esse comportamento parece ser característico do gênero *Boophilus*, pois GLÓRIA *et al.*, (1993), com *B. microplus*, registraram maior peso de postura em fêmeas submetidas a 32°C, em

comparação àquelas mantidas a 27°C. Já CHILTON & BULL (1994), na Austrália, verificaram que as massas de ovos de *A. limbatum* obtidas em temperaturas constantes entre 21 e 34°C foram estatisticamente iguais, concordando com os resultados ora apresentados e evidenciando que, neste aspecto, os diferentes gêneros de carapatos se comportam de modo peculiar frente às variações de temperatura.

A influência da temperatura sobre a combinação de parâmetros peso e período de postura é melhor avaliada pela análise dos ritmos de postura. DIPEOLU *et al.* (1991) definiram dois padrões de oviposição para ixodídeos: o de tipo 1, observado na maioria das espécies, é caracterizado por uma taxa de oviposição inicialmente baixa, com posterior elevação até alcançar o pico após poucos dias e decréscimo gradual a partir deste até o último dia de postura; já o padrão de oviposição tipo 2 se caracteriza pelo alcance do pico logo no primeiro dia de postura e diminuição gradual da taxa de oviposição no decorrer do processo.

Os ritmos de oviposição obtidos nos grupos I a IV (Figura 1) foram, portanto, característicos do tipo 1, com picos de postura alcançados no quarto dia para os grupos I e II (correspondentes a 8,67 e 8,47% do total da postura, respectivamente), no terceiro dia para o grupo III (13,20% da postura) e no quinto dia para o grupo IV (7,65% da postura). Já o grupo V exibiu padrão de oviposição do tipo 2, pois atingiu o pico de oviposição logo no primeiro dia, correspondendo a 10,89% do total de ovos postos. Estes resultados são fortemente relacionados aos de PRATA (1998), que detectou pico de postura no terceiro dia para fêmeas mantidas a 27°C e no primeiro dia, sob temperatura constante de 32°C. O período necessário para a realização de 50% da

postura foi de sete dias nos grupos I e II e de oito dias no grupo III. Já nos grupos IV e V este período foi mais curto (cinco dias), evidenciando que a exposição a 32°C

durante o processo de postura eleva a taxa de oviposição. Esta aceleração do processo de postura sob temperaturas elevadas pode ser considerada benéfica para esta fase do ciclo biológico sob condições de campo pois, na ocorrência de algum fator impeditivo à continuidade da postura, como a predação das fêmeas, por exemplo, poucos dias após o início do processo, estas já teriam contribuído com grande número de ovos para a geração subsequente, uma vez que já foi comprovado que as atividades reprodutivas são concentradas nos meses de maiores médias de temperaturas (OLIVEIRA *et al.*, 2000). Na ausência de condições impeditivas, como nos experimentos realizados em laboratório, no entanto, ambas as temperaturas foram consideradas favoráveis à realização de posturas.

DRUMMOND & WHETSTONE (1975) e RODRÍGUEZ DIEGO & VILLALBA (1984) verificaram padrão de oviposição tipo 1 para fêmeas de *A. cajennense* mantidas a 27 e 25°C, respectivamente, com alcance de picos entre o quarto e o sexto dias, situação semelhante à ora observada nos grupos mantidos a 27°C durante a realização da postura (grupos I, II e IV). Com *A. maculatum*, entre 25 e 28°C, embora algumas fêmeas tenham exibido padrão tipo 2, predominou o padrão de oviposição de tipo 1 (DIPEOLU, 1991), sugerindo que algumas espécies do gênero *Amblyomma* se comportam de modo semelhante, sob estas condições, no tocante ao ritmo de postura. DÍAZ *et al.* (1991) observaram, para *A. nitens* mantidos a 26°C, padrão de oviposição tipo 1, com alcance do pico entre o terceiro e o quarto dias; já sob 32°C, embora tenha sido mantido o padrão tipo 1, o pico foi antecipado para o segundo dia, situação que

encontra correspondência com a observada no presente trabalho; comportamento análogo foi constatado, ainda, por HITCHCOCK (1955) e BENNETT (1974a), que trabalharam com *B. microplus*, LONDT (!977), com *B. decoloratus* e OUHELLI *et al.* (1982), com *B. annulatus*, o que pode indicar que até mesmo gêneros diferentes respondem de modo similar ao tratamento térmico, atingindo o pico precocemente quando submetidos a temperaturas elevadas, provavelmente pela aceleração do processo metabólico.

c. Parâmetros relativos à eclosão larval

A metodologia empregada permitiu a avaliação dos períodos de incubação e eclosão e do percentual de eclosão de acordo com o dia em que os ovos foram postos, podendo-se detectar, para cada parâmetro, a existência de diferenças significativas entre os diversos tratamentos e entre períodos de um mesmo tratamento térmico. Iniciando-se por uma análise isolada do grupo I, em que fêmeas e ovos foram mantidos em temperatura constante de 27°C, considerada ideal para a espécie, duas observações são dignas de nota. Primeiramente, em relação à incubação (Tabela 5), verificou-se que os ovos postos nos primeiros cinco dias e a partir do 21º dia após o dia modal de início de postura, necessitaram de um período de incubação significativamente mais elevado (acima de 30 dias) que os ovos provenientes da fase intermediária de postura (28 a 29 dias). A segunda observação diz respeito ao percentual final de eclosão. Através da análise da Tabela 6, constata-se que a eclosão larval em ovos provenientes do final da

postura (a partir do 26º dia após o dia modal) foi significativamente mais baixa que as demais, chegando a zero nos ovos correspondentes aos últimos dias da postura. Com a

análise conjunta da Figura 2, verifica-se que a eclosão também foi menos eficiente em relação aos ovos do primeiro e segundo dias após o dia modal de início de postura (85 e 86,25%, respectivamente) em comparação aos ovos postos na fase intermediária (acima de 90%).

O prolongamento do período de incubação e a redução no percentual de eclosão de acordo com o período em que os ovos foram postos já foram notificados em outras espécies (HITCHCOCK, 1955; BENNETT, 1974a; LOND'T, 1977; CAMPBELL & HARRIS, 1979). Com referência a *A. cajennense*, RODRÍGUEZ DIEGO & VILLALBA (1985), em Cuba, registraram período de incubação mais elevado nos ovos provenientes do terço final da postura e eclosão larval mais eficiente em ovos correspondentes ao terceiro e quarto dias de postura, valores que correspondem aos ora apresentados. No entanto, o experimento foi realizado sob condições de campo e, segundo os autores, a exposição ao microhabitat, com atuação de diversos fatores, como fungos e bactérias, além da temperatura variável (20 a 24°C) podem ter sido responsáveis pelos resultados. Sob condições ideais, portanto, esta é a primeira vez em que estes fenômenos são comprovados para *A. cajennense*. O único conhecimento disponível até então, sob condições controladas, restringe-se ao percentual final de eclosão de posturas completas de *A. cajennense* (SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA, 1998), sempre mais baixo que os obtidos com outras espécies predominantes no Brasil, como *B. microplus* (GLÓRIA *et al.*, 1993), *A. nitens* (BASTOS *et al.*, 1996) e *R.*

sanguineus (BELLATO & DAEMON, 1997).

A explicação para incubação mais prolongada nos ovos provenientes do início e do fim da postura ou, em outras palavras, um desenvolvimento embrionário mais lento nestes grupos de ovos, não foi determinada, à luz da literatura, havendo necessidade da realização de estudos mais aprofundados. Pode-se afirmar somente que, nestas condições, o desenvolvimento embrionário intra-uterino, referido para outras espécies, caso ocorra com *A. cajennense*, não é mais acentuado nos ovos provenientes do final da postura, contrastando com os registros de DIPEOLU *et al.* (1991) que explicaram desta forma a obtenção de período de incubação mais curto nas posturas tardias de *A. variegatum*.

Com relação às diferenças no percentual de eclosão de acordo com a fase de postura, faz-se necessário um entendimento da fisiologia de oviposição, antes de serem estabelecidas considerações para explicar o fenômeno. De acordo com informações constantes na literatura (DIEHL *et al.*, 1982; SONENSHINE, 1991), diferentemente dos argasídeos, as fêmeas de ixodídeos realizam apenas um ciclo gonotrófico, com postura lenta e contínua de milhares de ovos. Se o desenvolvimento de todos os oócitos do folículo ovariano fosse simultâneo, não seria possível sintetizar e transportar os precursores da gema em um ritmo que permitisse a adequada realização das demais etapas. Além disso, não haveria espaço suficiente no duto genital para armazenar milhares de oócitos que aguardam pelos processos de singamia (fertilização), absorção de água da hemolinfa, endurecimento da casca, postura propriamente dita e

impermeabilização individual pelo órgão de Gené, entre outras etapas, inviabilizando todo o processo de oviposição e comprometendo a perpetuação da família Ixodidae. Ainda segundo os autores, para evitar estes transtornos e garantir a sobrevivência, as fêmeas de ixodídeos adotaram como estratégia evolucionária o destacamento lento e gradual dos oócitos, permitindo um desenvolvimento vitelogênico pausado, eficiente e harmônico com os demais processos envolvidos na oviposição.

De posse destas informações, é possível especular-se que o percentual de eclosão algo inferior relativo aos dois primeiros dias de postura possa ser devido a falhas na formação e desenvolvimento dos primeiros oócitos destacados, distúrbios ao desencadear o processo de fertilização ou, mais provavelmente, problemas na absorção de água ou no início dos processos de endurecimento e deposição de substâncias impermeabilizantes na casca dos ovos, pois estes se encontravam escuros e encarquilhados, evidências de desidratação. Estas informações encontram paralelo em experimentos realizados com outras espécies de ixodídeos, em que foi destacado que a perda de água devida a uma impermeabilização deficiente ou à submissão a um ambiente de baixa saturação é a maior responsável por falhas no processo de eclosão (SAUER & HAIR, 1971; LONDT, 1977; MORAES *et al.*, 1987; STREY *et al.*, 1991; SUTHERST *et al.*, 1999). A única ressalva se refere ao fato de que, como no presente experimento os ovos foram mantidos em condições de umidade satisfatórias, é maior, neste caso, a probabilidade de deficiências no processo de absorção de água prévio à postura, ao invés de uma perda de água pós-oviposição. No entanto, os fatores hormonais e/ou neurosecretórios que desencadeiam as diferentes etapas do processo

são ainda desconhecidos, necessitando-se de estudos experimentais para se elucidar o fenômeno.

Em contrapartida, o baixo percentual de eclosão correspondente ao final da postura pode ter sido causado por depleção de nutrientes e/ou redução no estoque de espermatozóides, acarretando deficiências no desenvolvimento dos últimos oócitos, conforme já constatado por CAMPBELL & HARRIS (1979), em relação a *D. variabilis*. É importante ressaltar no entanto que, conforme pode ser observado pela análise das Figuras 1 e 2, os ovos que resultaram em baixa eclosão representam apenas um pequeno percentual da postura total da fêmea, sendo obtido um percentual de eclosão final que não chega a comprometer a perpetuação da espécie (SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA, 1998). Conforme já foi destacado, essas deficiências no processo de eclosão não foram detectadas, sob condições semelhantes, nas outras três espécies que predominam no Brasil (GLÓRIA *et al.*, 1993; BASTOS *et al.*, 1996; BELLATO & DAEMON, 1997), podendo ser um indicativo de que *A. cajennense* encontra-se evolutivamente atrasada em relação às demais espécies. Com o decorrer do processo evolucionário estas falhas poderão ser corrigidas, obtendo-se eclosões mais eficientes, que podem repercutir na maximização dos danos sobre homem e animais domésticos. Portanto, tornam-se necessários estudos para controlar a espécie de maneira eficaz e, desse modo, evitar ou pelo menos minimizar os prejuízos acarretados pelo parasitismo.

Passando-se à análise dos efeitos dos tratamentos térmicos sobre os parâmetros relativos à eclosão, verificou-se que a alteração mais evidente, nesta fase, foi a inibição completa da eclosão no grupo II (Tabela 6), enquanto em todos os outros

grupos foram obtidas larvas, indicando que o efeito deletério da temperatura de 32°C, ainda que presente em outras etapas, é exercido com mais vigor sobre o desenvolvimento embrionário, com a exposição direta dos ovos a esta temperatura. À observação diária não foram detectados, nos ovos deste grupo, as manchas brancas características de acúmulo de guanina no saco retal do embrião, presentes nos outros grupos experimentais, confirmando que houve o impedimento do desenvolvimento embrionário pela ação do tratamento térmico, no grupo II.

Ainda com a análise da Tabela 6 verifica-se que o percentual de eclosão no grupo IV (em que as fêmeas foram submetidas a 32°C durante o período de pré-postura) foi estatisticamente igual ao obtido no grupo controle em todos os períodos, exceto nos grupos de ovos correspondentes aos primeiros cinco dias de postura, em que a eclosão foi significativamente inferior. Portanto, a exposição das fêmeas ao tratamento de 32°C antes do início da postura, ainda que não tenha impedido o desenvolvimento embrionário, aparentemente exerceu ação negativa, possivelmente sobre a absorção de água prévia à postura dos primeiros grupos de ovos. A vitelogênese, primeira etapa de desenvolvimento, provavelmente não foi afetada, pois dos ovos que se encontravam nesta fase durante a exposição das fêmeas a 32°C, foram obtidas eclosões larvais satisfatórias. Similarmente ao que ocorreu no grupo II, os percentuais de eclosão relativos ao início e ao final da postura foram mais baixos que os demais, pelas mesmas razões já descritas.

Nos grupos III e V os percentuais de eclosão, entre 50 e 70%, foram

similares entre si e significativamente inferiores aos do grupo controle em todos os períodos, provavelmente por duas razões principais: deficiências no armazenamento de água, conforme ocorreu nos primeiros ovos do grupo IV e alterações no desenvolvimento embrionário determinadas por algumas horas de exposição direta dos ovos a 32°C (devido à metodologia de recolhimento das massas de ovos a intervalos de 24 h, cada grupo recolhido foi composto por ovos expostos a 32°C por períodos de zero a 24 h). Nestes grupos experimentais também foram obtidos percentuais de eclosão larval mais baixos nos ovos provenientes do fim da postura. Contudo, a marcante queda na eclosão larval dos primeiros grupos de ovos quando mantidos sob condições ideais, não foi verificada nestes grupos, sendo mais uma evidência de que a falha realmente deve ocorrer no processo de absorção de água prévio à postura, pois quando todo o processo de oviposição foi realizado sob temperatura deletéria à absorção de água, o efeito foi equilibrado, obtendo-se percentuais de eclosão similares nos primeiros 10 dias de postura.

A manutenção de fêmeas sob temperatura de 32°C, embora tenha encurtado os períodos relativos à postura, surpreendentemente prolongou o período de incubação dos ovos (Tabela 5), de aproximadamente 30 dias nos grupos I e IV, para 33,49 e 34,01 dias, respectivamente nos grupos III e V. Neste último grupo, a incubação foi significativamente mais longa que as demais em todos os períodos, com exceção dos ovos postos entre o primeiro e o quinto dias, em que os períodos de incubação foram estatisticamente iguais nos grupos III, IV e V (por volta de 33 dias). Analisando-se isoladamente o grupo V, constata-se que a incubação dos ovos postos a partir do 16º dia

(por volta de 37 dias) foi significativamente mais prolongada que as anteriores (entre 32 e 33 dias). Esta tendência de incubação mais longa nos ovos provenientes do terço final da postura foi mantida nos demais grupos e provavelmente se deve ao fato de que o metabolismo no interior do ovo durante o processo de desenvolvimento embrionário é muito complexo, necessitando de grande quantidade de água para se completar. Segundo DIEHL *et al.* (1982) o volume do ovo aumenta cerca de 90% devido à absorção de água após a fertilização, sendo esta água essencial para o processo de desenvolvimento embrionário. Como os ovos que foram expostos a 32°C provavelmente não absorveram água satisfatoriamente, a taxa metabólica, mesmo com a incubação tendo sido realizada sob temperatura ideal, foi retardada devido à falta do constituinte essencial para o processo. A verificação de período de incubação ainda mais prolongado nos grupos de ovos provenientes do terço final da postura suporta esta afirmativa pois, além da água, os níveis de nutrientes e/ou espermatozoides também seriam escassos (CAMPBELL & HARRIS, 1979), retardando ainda mais o metabolismo.

Já os períodos de eclosão sofreram pouca ou nenhuma alteração de acordo com o tratamento térmico (Tabela 7). Os menores períodos de eclosão observados nos grupos III a V, nos diferentes períodos, em relação aos demais grupos deveram-se mais ao fato de a eclosão não ter sido realizada satisfatoriamente do que a uma suposta aceleração do metabolismo determinada pela temperatura. O fato de terem sido obtidos períodos de eclosão mais curtos nos ovos provenientes do fim da postura, em relação aos demais períodos em todos os grupos confirma esta assertiva, pois já foi comprovada

uma eclosão larval significativamente mais baixa nos últimos ovos postos pelas fêmeas de *A. cajennense*. Estas constatações são suportadas pelos resultados obtidos por PRATA (1998) que, ao verificar períodos de eclosão mais curtos sob temperaturas deletérias ao processo (15 e 30°C), ressaltou que a avaliação deste

parâmetro, nestes casos, deve ser realizada com reservas, uma vez que o tratamento térmico impediu a ocorrência de percentuais satisfatórios de eclosão de larvas.

O ritmo de eclosão acumulada (Figuras 3 a 6) demonstrou comportamento similar em todos os grupos experimentais e em todos os períodos (ressalvados aqueles em que a eclosão foi sensivelmente prejudicada), com percentual baixo no primeiro dia, seguido de elevação acentuada nos dias subseqüentes e uma relativa estabilidade nos últimos dias de eclosão, o que parece indicar que, conforme constatado por PRATA (1998) este parâmetro não é afetado pelo tratamento térmico, constituindo-se em característica da espécie. BARROS-BATTESTI *et al.* (2000), com o gênero *Ixodes*, embora tenham obtido período de eclosão mais prolongado a 25 que a 27°C, verificaram que o ritmo de eclosão foi semelhante nas duas temperaturas, o que suporta os resultados ora obtidos e sugere que este parâmetro possa constituir um padrão para cada espécie, independente do tratamento térmico a que estejam submetidas durante o processo de postura.

Os resultados obtidos no presente experimento em referência aos parâmetros relativos ao processo de eclosão larval encontram paralelo, principalmente, com os registros de ROHR (1909) e PRATA (1998), o primeiro tendo determinado que

a exposição direta dos ovos a temperaturas superiores a 30°C inviabiliza o processo de eclosão e a segunda, que constatou que o efeito é exercido principalmente por temperaturas a partir de 32°C. No entanto, somente no presente experimento foi elucidada a fase em que este efeito é mais pronunciado, sendo fornecidas as primeiras hipóteses quanto ao mecanismo de ação da temperatura sobre a fisiologia do ixodídeo.

Com outras espécies do gênero *Amblyomma* também foram encontrados resultados correspondentes aos ora apresentados, com relação ao processo de eclosão larval. SAUER & HAIR (1971) constataram que em ambientes onde a umidade relativa é adequada (como no presente experimento) a absorção de água pelas fêmeas ingurgitadas de *A. americanum*, fundamental para o desenvolvimento e a deposição dos ovos, é diretamente dependente da temperatura, com máximo ganho de peso a 25°C e pouca ou nenhuma absorção a 5 e 45°C. Similarmente ao ocorrido nos grupos III e V, foram obtidos baixos percentuais de eclosão larval em ovos postos a temperaturas elevadas, levando os autores a concluir que falhas nos mecanismos de absorção de água e/ou impermeabilização dos ovos foram os responsáveis pelo processo. GUGLIELMONE (1992) verificou que ovos de *A. triguttatum triguttatum* postos em temperatura adequada e posteriormente transferidos para temperaturas deletérias ao desenvolvimento, não foram capazes de originar larvas, situação idêntica à do grupo II do presente trabalho. Já CHILTON & BULL (1994), com *A. limbatum*, observaram que todos os períodos relativos à eclosão, incluindo nestes o de incubação, foram acelerados com a elevação da temperatura, o que concorda apenas em parte com os resultados ora obtidos. No entanto, os autores não trabalharam com permutas de temperaturas, o que

pode ser o fator responsável pelo descompasso parcial nos resultados.

Embora tenha obtido períodos de incubação semelhantes no início e no fim da postura, HITCHCOCK (1955) também encontrou percentual de eclosão larval significativamente menor nos ovos provenientes do final da postura, o que levou o autor a recomendar que se utilizem somente ovos constituintes dos primeiros 10 dias de oviposição, garantindo uniformidade e abundância de material em estudos experimentais. Percentual de eclosão larval mais baixo relativo ao fim da postura também foi constatado por BENNETT (1974a,b), com *B. microplus*. Segundo o autor, o período de incubação dos últimos ovos postos foi significativamente mais longo, o que concorda com o presente experimento e contrasta com as pesquisas de DIPEOLU *et al.* (1991), com *A. variegatum*, em que foi obtida incubação mais curta no final da postura, sendo atribuído tal fato à ocorrência de desenvolvimento embrionário intra-uterino.

Com referência ao gênero *Rhipicephalus*, SRIVASTAVA & VARMA (1964), SWEATMANN (1967), BRANAGAN (1973) e HUSSEIN & MUSTAFA (1987), correlacionaram temperaturas elevadas com encurtamento de períodos relativos à eclosão larval, o que concorda em parte com os resultados ora obtidos, havendo ainda referências ao efeito deletério de altas temperaturas sobre o processo de eclosão. TUKAHIRWA (1976) verificou que, conforme as temperaturas vão se distanciando da ótima, os parâmetros relativos à fase não parasitária de *R. appendiculatus* vão sendo alterados até alcançar um limite, inferior ou superior, quando o metabolismo cessa, estando de acordo com a situação observada no grupo II, em que a temperatura de 32°C impediu o desenvolvimento embrionário dos ovos de *A. cajennense*.

Comportamento análogo ao do presente experimento também foi constatado em ixodídeos dos gêneros *Haemaphysalis*, *Hyalomma* e até mesmo em argasídeos, a partir de investigações relativas aos efeitos deletérios de temperaturas extremas sobre os parâmetros relativos à eclosão larval, bem como à implicação destes efeitos na dispersão geográfica das espécies (SNOW, 1969; DAVIS, 1974a,b; CAMPBELL & GLINES, 1979; HAGRAS & KHALIL, 1988; BUCZEK, 1992; OUHELLI, 1994; DANIELS *et al.*, 1996; DAUTEL & KNÜLLE, 1998).

d. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas

A partir da análise da Tabela 8 verifica-se que o período prévio à mortalidade nos grupos IV e V (por volta de 55 dias) foi significativamente inferior ao do grupo controle (62,50 dias) evidenciando que a manutenção das fêmeas à temperatura de 32°C, mesmo que por curto período, antecipou o início do processo de mortalidade larval. Não foi possível determinar, à luz da literatura, o fator responsável pela obtenção de períodos estatisticamente semelhantes entre o grupo III e o controle, entretanto, deve-se ressaltar que há uma probabilidade, embora pequena (inferior a 5%), de que este fato tenha ocorrido ao acaso. A análise do parâmetro longevidade larval mostra com mais clareza o efeito dos tratamentos térmicos. Embora tenham sido obtidos períodos estatisticamente semelhantes nos grupos I, III e IV (160,50, 157,80 e 154,80 dias, respectivamente), no grupo V a longevidade larval (146,00 dias) foi significativamente inferior ao grupo controle, indicando que, para reduzir o tempo de

sobrevivência de larvas mantidas sob condições ideais, foi necessária a manutenção da fêmea à temperatura de 32°C durante os períodos de pré-postura e postura. A análise do período de mortalidade de larvas corrobora esta assertiva, ao se evidenciar que o período registrado no grupo V (89,60 dias) foi significativamente mais curto que nos grupos III e IV (99,17 e 100,57 dias, respectivamente).

O ritmo de mortalidade acumulada (Figura 7) foi semelhante nos grupos I, III e IV, com pouca mortalidade de larvas nas três primeiras semanas e aumento do percentual de mortalidade nas semanas subsequentes, com alcance de 50% de larvas mortas em nove a 10 semanas após o início do processo. A partir daí, o percentual continuou em elevação até praticamente se estabilizar por volta da 13^a semana, com morte de poucas larvas até o fim do processo. Já no grupo V este ritmo foi mais acentuado logo no início do período, confirmando a constatação de que a manutenção de fêmeas durante os períodos de pré-postura e postura sob 32°C reduz a sobrevivência de larvas. Analisando-se estas observações em conjunto com as já estabelecidas em relação ao percentual de eclosão, pode-se supor que a morte prematura das larvas foi devida ao processo de desidratação, uma vez que suspeita-se de falhas no mecanismo de absorção de água prévia à postura dos ovos que as originaram. A pouca água disponível foi utilizada nos processos metabólicos relacionados ao desenvolvimento embrionário e à sobrevivência das larvas em jejum, suposição sustentada ao se verificar o “aspecto ressecado” das larvas deste grupo. VOUTOULOU (1987), com *A. variegatum*, CHILTON & BULL (1993), com *A. limbatum* e *A. hydrosauri* e PRATA (1998), com

A. cajennense, também constataram que temperaturas elevadas reduziram o período de sobrevivência larval, mas a comparação com estas pesquisas, neste aspecto, deve ser feita com reservas, uma vez que, diferentemente do presente experimento, as larvas foram expostas diretamente aos diversos tratamentos térmicos. Já DAVEY (1988), trabalhando com permutas de temperaturas, verificou que quanto maior o período de exposição de fêmeas ingurgitadas de *B. annulatus* a temperaturas deletérias, mais

adversos foram os efeitos sobre a postura, a eclosão e a sobrevivência de larvas mantidas em condições ideais, situação fortemente relacionada à do presente experimento.

Levando-se em conta que todos os carrapatos utilizados no presente experimento foram provenientes da mesma geração de laboratório, tendo recebido igual tratamento durante as fases parasitária e não parasitária e chegando ao estado de fêmea ingurgitada com pesos equivalentes, sendo submetidos a condições de umidade relativa, intensidade luminosa e manuseio diário semelhantes, pode-se inferir que todas as alterações registradas entre os cinco grupos (aceleração de períodos relativos à postura, redução na conversão do sangue ingerido em ovos, redução e/ou impedimento da eclosão, diminuição da longevidade larval) tenham sido decorrentes do efeito do tratamento térmico, único fator perceptível que divergiu entre os grupos experimentais.

**2.3. EXPERIMENTO II: EFEITO DELETÉRIO DE DIFERENTES PERÍODOS
DE EXPOSIÇÃO DE OVOS A 32°C SOBRE A ECLOSÃO LARVAL DE**

Amblyomma cajennense

2.3.1. Introdução

Os resultados obtidos no experimento I elucidaram os questionamentos levantados em pesquisas anteriores (ROHR, 1909; PRATA, 1998; DAEMON *et al.*, 1999), sendo estabelecido que, embora haja alguma interferência na conversão do sangue ingerido em ovos e no desenvolvimento destes ainda no interior da fêmea, o efeito deletério da temperatura de 32°C é exercido com mais vigor sobre o desenvolvimento embrionário dos ovos, quando expostos diretamente a esta temperatura. No entanto, outras indagações surgiram, sendo a principal destas relativa ao tempo mínimo de exposição a 32°C necessário para impedir a eclosão larval.

O experimento II foi delineado, portanto, com o objetivo de procurar respostas precisas para o tema em questão e, dessa forma, fornecer informações

que possam ser úteis na previsão da dispersão geográfica e da flutuação estacional da espécie, bem como no embasamento de estratégias mais racionais e eficazes para o controle.

2.3.2. Material e métodos

a. Local de execução

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ixodologia e demais dependências da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Município de Seropédica, RJ.

b. Obtenção de ixodídeos

Os ixodídeos utilizados nas diversas etapas do presente experimento foram constituintes da primeira geração de laboratório de *A. cajennense*, estabelecida a partir de fêmeas ingurgitadas coletadas de eqüinos naturalmente infestados e mantidas sob condições controladas (temperatura de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase). Larvas provenientes destas fêmeas foram ingurgitadas experimentalmente em coelhos, seguindo-se a técnica utilizada por NEITZ *et al.* (1971)

e mantidas em laboratório durante a fase não parasitária sob as mesmas condições das fêmeas. Procedimento análogo foi realizado com ninfas até a muda para adultos. Casais de adultos com aproximadamente 25 dias de idade foram empregados em infestações artificiais em eqüinos seguindo-se a técnica utilizada por SANAVRIA *et al.* (1996), para a obtenção das fêmeas ingurgitadas produtoras dos ovos utilizados no presente experimento.

c. Delineamento experimental

Antes do experimento propriamente dito, foi realizado um ensaio prévio em que 60 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense*, imediatamente após a coleta, foram transportadas para laboratório, onde foram submetidas a lavagem em água corrente, secagem em papel absorvente, pesagem em balança analítica, identificação e fixação em posição dorsal por meio de fita adesiva em placas de Petri, sendo mantidas sob temperatura constante de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase. Observações foram realizadas duas vezes ao dia para determinação do dia modal de início de postura do grupo. As posturas realizadas até o segundo dia após o dia modal de início do processo foram descartadas. As massas de ovos coletadas das fêmeas no terceiro dia após o dia modal de início de postura foram reunidas em um “pool”, sendo transferidas alíquotas de 50 mg para frascos de vidro transparente vedados com buchas de algodão hidrófilo. Grupos de quatro frascos foram expostos à temperatura de 32°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, em estufas incubadoras, por cinco, 10, 15 e 20 dias, sendo identificados com o número referente ao total de dias de exposição e com as letras A, B, C ou D, correspondentes às repetições para cada tratamento. Após o período de exposição relativo a cada grupo, os frascos foram transferidos para outra estufa incubadora para BOD regulada à temperatura constante de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase. Foi constituído, ainda, um grupo controle, também com quatro repetições, mantido permanentemente a 27°C. Procedimento análogo foi realizado no quarto dia após o dia modal de início de postura, sendo formados, além de um segundo grupo controle, três outros grupos, que foram mantidos sob 32°C por 25, 30 e 35 dias, este último correspondente ao período de incubação dos ovos de *A.*

cajennense (SANAVRIA & PRATA, 1996; SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA *et al.*, 1997). Os frascos foram observados diariamente, sob microscópio estereoscópico, para acompanhamento do processo de eclosão larval.

Este ensaio prévio foi formulado para fornecer informações iniciais sobre o período em que ocorre a atuação deletéria da temperatura de 32°C, orientando, dessa forma, o delineamento do experimento propriamente dito. Uma vez determinado este período, deu-se início à etapa experimental propriamente dita, em que 110 fêmeas obtidas a partir de infestações experimentais em dois eqüinos foram transportadas para laboratório imediatamente após a coleta, sendo submetidas ao mesmo procedimento descrito no ensaio prévio. Procedimento análogo foi utilizado também para a constituição dos grupos, realizada, da mesma forma que no ensaio anterior, no terceiro e no quarto dias após o dia modal de início de postura. As diferenças entre os experimentos referem-se apenas ao fato de que, neste, os grupos experimentais, identificados com os números 1, 2, 3, 4 ou 5, foram submetidos à temperatura de 32°C por períodos de um a cinco dias, sendo utilizadas 10 repetições, identificadas de A a J, para cada um dos cinco grupos experimentais e também para o controle relativo a cada dia de coleta.

Assim como no ensaio prévio, os frascos foram observados diariamente, sob microscópio estereoscópico, para acompanhamento do processo de eclosão larval. Nesta etapa, no entanto, as observações foram direcionadas também para o processo de mortalidade de larvas, prolongando-se pelo tempo necessário até a detecção da morte da última larva, em cada repetição de cada grupo experimental.

d. Parâmetros analisados

A partir da metodologia empregada foi possível a determinação, para cada grupo experimental, de parâmetros relativos aos processos de eclosão e de longevidade de larvas, discriminados a seguir.

Parâmetros relativos à eclosão larval: período de incubação (entre o dia da postura e a eclosão da primeira larva em cada frasco), período de eclosão (entre a eclosão da primeira e a da última larva, em cada repetição), percentual de eclosão (estimativa da quantidade de larvas eclodidas em relação à massa de ovos de cada frasco) e ritmo de eclosão acumulada (percentual de eclosão ocorrido até determinado dia).

Parâmetros referentes à sobrevivência de larvas: período prévio à mortalidade (número de dias decorridos entre o início da eclosão e a morte da primeira larva em cada repetição), longevidade larval (entre a eclosão da primeira e a morte da última larva de cada frasco), período de mortalidade de larvas (entre a morte da primeira e a da última larva) e ritmo de mortalidade acumulada (estimativa do percentual de mortalidade ocorrida até determinado dia).

Para uma melhor compreensão do efeito deletério da temperatura em cada grupo experimental, foi calculado ainda o percentual de redução da eclosão nos grupos submetidos a 32°C, em relação ao grupo controle correspondente, aplicando-se fórmula

normalmente utilizada para a determinação da eficácia de produtos carrapaticidas (SINDAN, 1990).

$$\% \text{ de redução em relação ao grupo controle} = \frac{\% \text{ de eclosão no grupo controle} - \% \text{ de eclosão no grupo tratado}}{\% \text{ de eclosão no grupo controle}} \times 100$$

e. Análise estatística

Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey-Kramer a níveis de significância de 5% (Programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-1994) foram empregados para cada parâmetro, com exceção dos ritmos de eclosão e mortalidade e do percentual de redução da eclosão, com o objetivo de verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos experimentais, determinadas pelos diversos períodos de exposição à temperatura de 32°C. Valores expressos em percentuais foram transformados para arcoseno previamente à aplicação dos testes estatísticos.

Para a análise de parâmetros em que a diferença entre os desvios padrões foi considerada, pelo teste de Bartlett, extremamente significativa, caracterizando uma amostragem sem distribuição normal, optou-se pela aplicação dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis e Dunn, também a níveis de significância de 5%, substituindo, respectivamente, a Análise de Variância e o teste de Tukey-Kramer.

Foi empregada ainda, análise de regressão linear para verificar o grau e a significância das relações entre o período de exposição e o percentual de eclosão obtido em cada grupo experimental.

2.3.3. Resultados e discussão

a. Parâmetros relativos à eclosão larval

Assim como no experimento I, foi adotada a estratégia de colonização artificial para garantir abundância de material em curto período e para eliminar o risco de que parasito e/ou hospedeiro tenham tido contato recente com parasiticidas. As 60 fêmeas ingurgitadas utilizadas no ensaio prévio pesaram, em média, $718,24 \pm 180,21$ mg, variando entre 336,2 e 1104,5 mg. Foram descartados os ovos obtidos até o segundo dia após o dia modal de início de postura porque, conforme os resultados obtidos no experimento I, a eclosão larval proveniente dos ovos deste período oscilou em torno de 85%, enquanto nos dias subseqüentes os valores foram mais elevados, chegando até a 100%. A escolha dos ovos do terceiro e quarto dias após o dia modal de início de postura foi motivada, além da obtenção de eclosões satisfatórias, pelo fato de que, de acordo com os registros de PRATA (1998) e do experimento I, estes são os dias de maior percentual de postura de fêmeas mantidas a 27°C, garantindo-se, dessa forma, homogeneidade e abundância de material.

No terceiro dia após o dia modal de início de postura das 55 fêmeas que

permaneceram vivas, foram coletados 1012,3 mg de ovos, quantidade suficiente para a formação dos grupos de cinco, 10, 15 e 20 dias de exposição, além do grupo controle. No quarto dia foram obtidos 1256,3 mg de ovos, sendo formados, além do controle, os grupos de 25, 30 e 35 dias de exposição, empregando-se o restante da postura deste e dos dias subseqüentes para a manutenção de colônias de *A. cajennense* em laboratório.

Como resultados do ensaio prévio foram obtidos, após um período de incubação de aproximadamente 32 dias, percentuais finais de eclosão em torno de 95% nos grupos controle referentes ao terceiro e ao quarto dias após o dia modal de início de postura, valores semelhantes aos registros utilizados como referência para a espécie (SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA *et al.*, 1997), evidenciando desempenho biológico satisfatório para a amostra estudada. Já nos grupos experimentais entre cinco e 35 dias de exposição a 32°C não houve eclosão de uma larva sequer, concluindo-se, portanto, que foram necessários, no máximo, cinco dias de exposição a 32°C para impedir a eclosão larval. Estes resultados direcionaram o delineamento do experimento propriamente dito, em que os grupos experimentais foram expostos a 32°C por zero a cinco dias, buscando-se quantificar a ação da temperatura sobre o desempenho biológico do carapato, em cada período de exposição.

Das 110 fêmeas ingurgitadas, com peso médio de $590,76 \pm 123,92$ mg, 102 produziram ovos, que foram utilizados no experimento. Da mesma forma e pelas mesmas razões que no ensaio prévio, foram descartadas as posturas obtidas até o segundo dia após o dia modal de início de postura do grupo. No terceiro dia após o dia modal de início de postura foram obtidos 1818,0 mg de ovos, sendo formados o

grupo controle e os grupos de um e de dois dias de exposição, cada um com 10 repetições. No quarto dia, a partir dos 2174,8 mg de ovos, foram constituídos os grupos de três, quatro e cinco dias de exposição, além do controle para os grupos formados neste dia.

Na Tabela 9 são apresentados os parâmetros relativos à eclosão larval nos diversos grupos experimentais, além dos resultados da análise estatística comparando cada parâmetro, em cada período de exposição. Analisando-se inicialmente os parâmetros obtidos para os dois grupos controle, verifica-se que os períodos de incubação foram de $32,50 \pm 0,53$ dias para o controle dos grupos 1 e 2 e $32,40 \pm 0,52$ dias, para o controle dos grupos 3, 4 e 5, valores considerados estatisticamente similares. Os períodos de eclosão foram de 9,00 e 8,50 dias e os percentuais de eclosão, de 90,90 e 91,20% para os controles dos grupos 1 e 2 e 3 a 5, respectivamente, também considerados estatisticamente semelhantes. Estes resultados estão em acordo com os registros de referência para a espécie, obtidos sob condições semelhantes (SERRA FREIRE & OLIVIERI, 1992; SANAVRIA *et al.*, 1996; PRATA *et al.*, 1997; PRATA, 1998), evidenciando um desempenho biológico satisfatório da amostra utilizada e garantindo a utilização destes grupos como padrão de comparação para aqueles formados no mesmo dia e, dessa forma, possibilitando a avaliação qualitativa e quantitativa do efeito do tratamento térmico.

Os períodos de incubação (32,70 dias) e de eclosão (9,20 dias) e o percentual de eclosão (90,20%) obtidos no grupo 1 (exposto a 32°C por 24 h) foram considerados estatisticamente iguais aos do respectivo grupo controle, indicando que a

exposição por 24 h a 32°C não afetou os parâmetros relativos à eclosão. Os períodos de incubação obtidos nos grupos expostos por dois e três dias (39,00 e 41,20 dias, respectivamente), considerados estatisticamente iguais, foram significativamente mais prolongados que nos respectivos grupos controle, situação semelhante à obtida nos grupos III e V do experimento I. No entanto, no experimento anterior, a exposição a 32°C foi realizada sobre as fêmeas durante os períodos de pré-postura e/ou postura, explicando-se o prolongamento de períodos por falhas no mecanismo de absorção de água dos ovos, prévia à oviposição; com a redução do constituinte essencial para o processo, mesmo em temperatura ideal, o desenvolvimento embrionário foi prejudicado, sendo prolongado o período de incubação. Em contraste, no presente experimento, a exposição a 32°C foi realizada diretamente sobre os ovos, durante o processo de desenvolvimento embrionário. A temperatura elevada, neste caso, provavelmente acarretou uma elevação do deficit de saturação, conforme já constatado por outros pesquisadores (HITCHCOCK, 1955; SWEATMANN, 1967; LOND'T, 1977; HEATH, 1979) provocando a perda de água dos ovos, mesmo sob umidade relativa adequada. Segundo LOND'T (1975), citado por LOND'T (1977), os ovos de *B. decoloratus* perderam água em todos os níveis de umidade relativa inferiores a 100% e não foram capazes de recuperar a água perdida, comprometendo o sucesso do desenvolvimento embrionário, situação correspondente à ora apresentada.

A diferença para o experimento I, portanto, referiu-se apenas aos fatores determinantes da redução da quantidade de água dos ovos. A partir daí, o processo foi semelhante ao descrito no experimento anterior, com prolongamento do período de

incubação devido a distúrbios no metabolismo referente ao desenvolvimento embrionário, provocados pela redução no teor de água dos ovos, o que pode ser confirmado pelo aspecto ressecado daqueles que não chegaram a originar larvas. No grupo exposto a 32°C por quatro dias, embora tenham-se obtido larvas em apenas cinco frascos, o que inviabilizou a análise estatística, verificou-se que o período de incubação também foi elevado (50,20 dias), possivelmente pelas mesmas razões. Não foi calculado o período de incubação para o grupo exposto a 32°C por cinco dias devido à ausência de eclosão larval neste grupo.

Embora o percentual de eclosão do grupo exposto a 32°C por 24 h tenha sido estatisticamente igual ao do grupo controle (por volta de 90%), no grupo 2 (exposto por dois dias) houve uma drástica redução deste percentual (15,80%); no grupo 3 ocorreu eclosão de larvas em todas as unidades experimentais, porém com percentual significativamente inferior aos dos grupos expostos por menos tempo (5,20%); no grupo 4 houve eclosão em apenas cinco repetições, com percentual médio de 0,90%, significativamente inferior aos dos grupos 1 a 3 e estatisticamente igual ao do grupo 5, em que, confirmando os resultados do ensaio prévio, não houve eclosão de uma larva sequer. Quando se relacionou o percentual de eclosão dos grupos expostos a 32°C com o controle correspondente, a ação da temperatura se torna ainda mais evidente, ao se verificar percentuais de redução de eclosão de 82,62, 94,30, 99,01 e 100% para os grupos 2, 3, 4 e 5, respectivamente. Não foi calculado o percentual de redução do grupo 1 porque a eclosão deste foi estatisticamente igual à do grupo controle.

A partir da análise dos resultados, constata-se que a exposição direta dos

ovos por 48 h à temperatura constante de 32°C acarretou uma redução superior a 80% na eclosão larval, sendo necessários quatro a cinco dias para inviabilizar completamente o processo. Conforme já descrito na análise dos períodos de incubação, provavelmente o deficit de saturação decorrente da alta temperatura tenha provocado a perda de água dos ovos, constituinte essencial para o desenvolvimento embrionário. No entanto, para se compreender melhor o fenômeno, é necessário o conhecimento da fisiologia do desenvolvimento embrionário. Segundo SONENSHINE (1991), imediatamente após a fertilização e a oviposição, inicia-se a clivagem do núcleo e porções deste migram para o citoplasma marginal, mas não há divisão celular nesta fase. Em uma segunda etapa, as porções migrantes do núcleo se agrupam na periferia do citoplasma, formando a blastoderme ou periblástula, circundando a blastocele central, onde porções remanescentes do núcleo formam células denominadas vitelófagos. As células da blastoderme então se agregam e formam o primórdio genital, caracterizando o início do processo denominado gastrulação. A proliferação do primórdio genital forma o disco germinal, que migra pela periferia do embrião, que agora é chamado gástrula, conferindo-lhe simetria bilateral. A etapa seguinte é a metamerização, onde começam a ser evidenciados palpos, quelíceras, pernas e estruturas nervosas. Finalmente, ocorre a blastocinese, onde o desenvolvimento das estruturas é completado, obtendo-se a larva pronta para eclodir.

A partir destas informações, pode-se especular que o grupo 1 tenha sido exposto a 32°C durante a fase de clivagem (que ocorre imediatamente após a oviposição) e que esta não tenha sido afetada pela elevação da temperatura, o que

parece coerente, uma vez que o metabolismo nesta fase é de pouca intensidade, quando comparado às etapas subsequentes. Embora SONENSHINE (1991) não tenha informado os períodos de ocorrência dos eventos e não haja registros na literatura, neste aspecto, para *A. cajennense*, pode-se ter uma idéia aproximada da ocorrência destes a partir dos registros de DIPEOLU (1991), em que foi determinado que a fase de gastrulação para *A. maculatum* ocorre em sete a 11 dias após a oviposição e, entre 12 a 15 dias, tem lugar a metamerização. Partindo-se da suposição de que estes eventos tenham duração similar para *A. cajennense*, conclui-se que os demais grupos foram expostos a 32°C durante a fase de formação da blastoderme e blastocele, sendo estes eventos os que sofreram o efeito mais marcante da temperatura. Estas suposições encontram suporte nos registros de SONENSHINE (1991), onde constam informações de que, em experimentos anteriores, o desenvolvimento embrionário de insetos foi prejudicado quando da exposição dos ovos a compostos inibidores do processo, como hormônio juvenil, principalmente durante as fases de blastoderme e blastocinese. Na ausência de experimentos que as comprovem, as inferências ora apresentadas, embora coerentes, são meramente especulativas, mas podem servir de base para a realização de estudos direcionados à explicação do fenômeno. No momento, encontram-se em andamento na UFRRJ pesquisas relativas aos diversos eventos envolvidos no processo de desenvolvimento embrionário de *A. cajennense*, cujos resultados poderão vir a confirmar as suposições ora apresentadas.

O marcante efeito da temperatura de 32°C sobre o processo de eclosão pode ser evidenciado ainda com a análise de regressão linear entre os períodos de exposição e

os percentuais de eclosão em cada grupo (valores transformados para arcoseno), em que foi obtido um coeficiente de correlação de -0,9323, indicando que estes parâmetros são fortemente relacionados e inversamente proporcionais ou, em outras palavras, o aumento do período de exposição a 32°C acarretou forte redução no percentual de eclosão. Estes resultados encontram paralelo nas pesquisas de DAVEY (1988), DAVEY & COOKSEY (1989) e DAVEY *et al.* (1991), com o gênero *Boophilus*, em que foi constatada uma acentuada relação negativa entre o tempo de exposição a temperaturas inibidoras do desenvolvimento embrionário e o processo de eclosão larval.

Dando continuidade à análise da Tabela 9, verifica-se que os períodos de eclosão dos grupos expostos por 48 h ou mais a 32°C foram significativamente mais curtos que os dos grupos controle e do grupo 1. No entanto, este encurtamento de períodos, que à observação inicial poderia sugerir uma elevação da taxa metabólica, deveu-se apenas ao fato de que o tratamento térmico impediu a ocorrência de percentuais significativos de eclosão de larvas, situação análoga à observada no experimento I e nas pesquisas de PRATA (1998), nos grupos expostos a temperaturas deletérias.

Os ritmos de eclosão acumulada (Figura 8) dos dois grupos controle e do grupo 1 foram similares entre si, sendo semelhantes ainda ao registrado por PRATA (1998) sob temperatura constante de 27°C, com percentual baixo no primeiro dia (3 a

4%), seguido de elevação acentuada nos dias subseqüentes e uma relativa estabilidade a partir do sétimo dia, confirmando ser este parâmetro um padrão para a espécie, sob

condições ideais. A curva de eclosão nos grupos 2, 3 e 4 exibiu comportamento semelhante, mas a comparação é prejudicada devido ao fato de não terem ocorrido eclosões satisfatórias nestes grupos experimentais.

b. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas

A partir da análise da Tabela 10 verifica-se que, do mesmo modo que ocorreu com os parâmetros relativos à eclosão larval, o período prévio à mortalidade (50 a 55 dias), a longevidade larval (150 a 165 dias) e o período de mortalidade de larvas (100 a 110 dias) foram estatisticamente semelhantes nos dois grupos controle e no grupo 1, confirmando a não interferência da exposição a 32°C por 24 h sobre ovos e larvas de *A. cajennense*. Os valores obtidos foram similares, ainda, aos registros de pesquisas anteriores (PRATA, 1998), sob condições semelhantes, corroborando o bom desempenho biológico da amostra estudada.

O período prévio à mortalidade no grupo 2 (19,60 dias) foi significativamente inferior ao obtido no grupo controle e estatisticamente igual ao do grupo 3 (6,90 dias). Esta tendência foi confirmada nos parâmetros longevidade larval (58,80 e 13,00 dias para os grupos 2 e 3, respectivamente e período de mortalidade de larvas (39,20 e 6,10 dias, na mesma ordem). Portanto, assim como ocorreu com os parâmetros relativos à eclosão larval, a sobrevivência de larvas foi significativamente

reduzida pela exposição a 32°C por períodos a partir de 48 h. No grupo 4, as poucas larvas obtidas morreram em menos de 24 h após a eclosão, o que pode indicar que a

reduzida quantidade de água que restou nos ovos foi utilizada nos processos de desenvolvimento embrionário e eclosão larval. Situação análoga foi registrada por PRATA (1998) que, ao verificar a morte prematura de larvas mantidas a 15°C, concluiu que a perda de água durante o processo de desenvolvimento embrionário e o gasto de energia para o rompimento da casca do ovo provocaram o enfraquecimento e a morte das larvas em curto período.

Os ritmos de mortalidade acumulada (Figura 9) nos grupos controle e no grupo 1 foram estatisticamente iguais entre si, com percentual baixo na primeira semana, seguido de elevação nas semanas subsequentes até atingir 50% de larvas mortas entre a oitava e nona semanas e relativa estabilidade por volta da 13^a semana após o início da mortalidade. A inclinação da curva foi semelhante à obtida no grupo I do experimento I e nos estudos de PRATA (1998) sob 27°C, confirmando o comportamento padrão da amostra estudada, no tocante a este parâmetro. No grupo 2 a taxa de mortalidade foi acelerada, com elevação acentuada da quantidade de larvas mortas já na segunda semana de início do processo e alcance de 50% de mortalidade entre a terceira e quarta semanas; no grupo 3 a aceleração do processo foi tão evidente que o acompanhamento do ritmo de mortalidade passou a ser diário, verificando-se 100% de larvas mortas dezenove dias após a eclosão ou 16 dias após a detecção da morte da primeira larva. Estes resultados confirmam o efeito nocivo da exposição de ovos à temperatura de 32°C por períodos a partir de 48 h sobre a sobrevivência de

larvas de *A. cajennense* e demonstram que, mesmo sob condições ideais, as larvas não tiveram capacidade de reverter as alterações sofridas. Estudos futuros quanto ao poder

infestante destas poderão fornecer informações adicionais sobre o mecanismo de atuação e a intensidade destes efeitos.

Não foram encontrados registros com a espécie *A. cajennense* sob condições semelhantes para serem efetuadas comparações, no entanto, DAVEY (1988), DAVEY & COOKSEY (1989) e DAVEY *et al.* (1991), com o gênero *Boophilus* e CHILTON & BULL (1993), com *A. limbatum* e *A. hydrosauri* verificaram resultados similares aos ora apresentados com relação à sobrevivência larval frente a diferentes períodos de exposição a temperaturas inibidoras do desenvolvimento dos ovos, sugerindo que as diversas espécies de carapatos, embora com parâmetros numericamente diferentes, se comportam de modo semelhante, quando submetidas a variações de temperatura durante a fase não parasitária.

2.4. CONSIDERAÇÕES

Os resultados obtidos no decorrer dos experimentos I e II, quanto ao efeito deletério da temperatura de 32°C sobre ovos e larvas de *A. cajennense* poderiam, a uma primeira análise, ser considerados surpreendentes para um carapato típico de regiões tropicais, onde a temperatura ambiente pode atingir 40°C nos meses mais quentes do ano. Em uma avaliação mais detalhada, no entanto, recorrendo-se a registros de outros pesquisadores (HITCHCOCK, 1955; SAUER & HAIR, 1971; HUSSEIN & MUSTAFA, 1987; GUGLIELMONE, 1992) constata-se que os diferentes estágios das mais diversas espécies de carapatos comportam-se de modo peculiar frente às

variações de temperatura, com a tendência de que, quanto mais evoluído o estágio, maior seja sua capacidade de resistir às variações ambientais. Somando-se a estas constatações os resultados obtidos em pesquisas anteriores, com relação à abundância de larvas e ninfas de *A. cajennense* nos meses mais frios do ano e redução drástica e/ou até mesmo total ausência destes nos meses de maiores médias de temperaturas, em que predominam os adultos, conclui-se que a espécie, para conseguir fazer frente às condições adversas e obter êxito na dispersão geográfica, adotou como estratégia a sincronização das atividades reprodutivas nos meses mais quentes do ano, quando pastagens e hospedeiros são abundantes, garantindo a obtenção de larvas e ninfas nas épocas em que as condições meteorológicas são mais favoráveis ao desenvolvimento destas (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos em laboratório, portanto, embora não constituam uma reprodução fiel do que ocorre na natureza, onde interferem fatores bióticos e abióticos em intensidades variáveis, são fundamentais para se estabelecer a capacidade de dispersão geográfica, bem como a dinâmica populacional das espécies (LONDT, 1977; HEATH, 1979; DESPINS, 1992; CHILTON, 1994; INOKUMA *et al.*, 1996; DAUTEL & KNÜLLE, 1998; SOLOMON & KAAYA, 1998), podendo até mesmo prever a ocorrência de pragas em uma dada área. No entanto, conforme já constatado por ESTRADA-PENA (2001) para *B. microplus*, alterações nos ecossistemas geradas pela ação do homem e pelo aquecimento global interferem na adequação dos habitats à instalação das espécies de carapatos, com gradual redução na adequação de áreas onde o carapato já estava estabelecido e transformação de zonas extremamente frias e

inadequadas ao desenvolvimento, em habitats em potencial, com consequências imprevisíveis para uma população de hospedeiros vulneráveis ao parasitismo. Com todas essas modificações, é de se esperar que haja reflexos sobre a biologia dos ixodídeos com o decorrer do tempo, principalmente no que toca à sua dinâmica populacional.

Portanto, é constante a necessidade de realização de pesquisas sobre a biologia e ecologia das diferentes espécies de carrapatos. Os resultados obtidos com os diferentes estágios, associados a valores atualizados dos índices climáticos de determinada área, serão extremamente úteis ao indicar o momento certo de se empregar as diferentes estratégias de controle, seja por alterações no manejo (De La VEGA & DÍAZ, 1985a,b,c, 1987, 1992; De La VEGA *et al.*, 1988, 1993), seja por aplicação de produtos químicos e/ou biológicos sobre pastagens e/ou hospedeiros, sempre baseando-se na premissa de que o conhecimento da biologia do parasito é fundamental para se obter êxito em qualquer estratégia de controle.

2.5. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos nos experimentos I e II, relativos aos processos de postura, eclosão e sobrevivência de larvas de *A. cajennense* sob permutas de temperaturas de 27 e 32°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, pode-se concluir que:

1. A manutenção da fêmea sob 32°C durante o período de postura reduz a conversão do sangue ingerido em ovos.

2. A permuta de temperaturas de 27 e 32°C durante os períodos de pré-postura e postura não altera o padrão de oviposição da espécie.
3. Quando fêmeas e ovos são mantidos sob temperatura constante de 27°C, os períodos de incubação dos ovos postos nos primeiros cinco dias e a partir do 21º dia são superiores aos dos demais.
4. Quando fêmeas e ovos são mantidos sob temperatura constante de 27°C, os percentuais de eclosão larval relativos aos ovos provenientes do primeiro, segundo e a partir do 22º dias de postura são inferiores aos dos demais.
5. A exposição de fêmeas a 32°C durante o período de pré-postura reduz o percentual de eclosão larval relativo aos ovos postos nos primeiros cinco dias.
6. A exposição de fêmeas a 32°C durante o período de postura eleva o período de incubação e reduz o percentual de eclosão larval relativo a toda a postura.
7. A manutenção de fêmeas a 32°C durante os períodos de pré-postura e postura reduz a longevidade de larvas eclodidas e mantidas a 27°C.
8. A exposição de ovos à temperatura de 32°C por períodos a partir de 48 h reduz o percentual de eclosão e a longevidade de larvas eclodidas e mantidas a 27°C.
9. A exposição dos ovos por cinco dias à temperatura de 32°C impede a eclosão larval, mesmo quando estes são transferidos para condições ideais.

3. CAPÍTULO II

RELAÇÃO ENTRE PESO E NÚMERO DE LARVAS E NINFAS INGURGITADAS EM COELHOS E EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DOS PROCESSOS DE MUDA LARVAL E NINFAL DE

Amblyomma cajennense

3.1. REVISÃO DA LITERATURA

3.1.1. Estudos relativos aos processos de muda e à dinâmica populacional de

Amblyomma cajennense

Assim como ocorreu com os parâmetros relativos à postura, ROHR (1909) foi o pioneiro no Brasil em investigações relativas aos processos de ingurgitamento e de muda de larvas e ninfas de *A. cajennense* em laboratório. Segundo o autor, após um período de ingurgitamento de cerca de três a seis dias em coelhos, as larvas aumentam

consideravelmente de peso, destacam-se e ficam em repouso durante 18 a 26 dias, sob temperatura ambiente de laboratório entre 20,5 e 21,0°C, para efetuar a mudança de pele, transformando-se em ninfas. Estas, por sua vez, após período de ingurgitamento de cinco a sete dias, abandonam o hospedeiro e efetuam a mudança de pele para adultos após 23 a 25 dias, sob temperatura de 20,4 a 22,4°C, em média. HOOKER *et al.* (1912), nos Estados Unidos, registraram período de ingurgitamento larval entre três e sete dias, acrescentando que o maior número de desprendimentos ocorreu no quarto dia pós-infestação. O período de muda mais curto, por volta de 10 dias, foi obtido a 32°C. As ninfas se desprenderam do hospedeiro principalmente no quarto e quinto dias pós-infestação e realizaram muda após 12 dias, sob temperatura de 32°C. Em temperatura mais baixa, no entanto, o período necessário para muda foi sensivelmente elevado (105 dias, sob 11,67°C).

A duração da alimentação de larvas também oscilou entre três e quatro dias, em coelhos cujo sangue era utilizado para o preparo de vacina contra a febre maculosa (TRAVASSOS E VALLEJO-FREIRE, 1944). O período de pré-ecdise de 91,4% das larvas coletadas variou entre sete e 13 dias, sob temperatura de 30 a 32°C. Com os dados fornecidos pelos autores, foi possível calcular o período de muda destas larvas, que foi de 9,76 dias, em média. Em um segundo lote mantido sob temperatura ambiente do laboratório, esses períodos foram mais prolongados, principalmente nos meses mais frios, variando entre 19 e 24 dias. O período de pré-ecdise de adultos oscilou entre nove e 12 dias, quando mantidos no interior de estufas, com temperatura variando entre 30 e 32°C.

Os artigos de OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984a,b) relativos aos estágios larval e ninfal de *A. cajennense* são tidos como referência para pesquisas do gênero, pois foram realizados em laboratório, sob condições consideradas ideais (temperatura de 27°C e umidade relativa superior a 70%). Os valores encontrados, relativos a unidade experimental de 100 larvas e 100 ninfas ingurgitadas, respectivamente, foram de: 10,91 e 15,66 dias para o início de ecdise, 5,59 e 3,91 dias para o período de ecdise e percentuais de ecdise de 84,79 e 81,80%. Segundo os autores, a estratégia de combate baseada no rodízio de pastagens com descanso de três meses por piquete, eficaz para o controle de *B. microplus*, não é aplicável para *A. cajennense*, uma vez que larvas e ninfas conseguem sobreviver por períodos superiores a 100 dias em jejum, mantendo seu poder de infestação e de efetivação do ciclo vital.

Os únicos registros disponíveis na literatura, relativos aos processos de muda de larvas e ninfas de *A. cajennense* sob diferentes tratamentos térmicos em laboratório, são os artigos de DAEMON & ISHIZUKA (1992, 1995). Trabalhando com grupos de 30 espécimes ingurgitados mantidos sob temperaturas constantes de 18, 27 e 32°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, os autores verificaram diferenças significativas em todos os períodos, determinadas pelo efeito do tratamento térmico, ressaltando que as diferenças entre 18 e 27°C foram mais acentuadas que as obtidas entre 27 e 32°C. Somando-se a estas constatações, os baixos percentuais de ecdise obtidos a 18°C (65,84 e 74,17%, para ecdise de ninfas e de adultos, respectivamente), em comparação a valores superiores a 90% nas outras temperaturas, os autores foram levados a concluir que, nestes aspectos, a espécie parece estar mais adaptada a altas

temperaturas, destacando ainda que os resultados obtidos em experimentos laboratoriais são fundamentais para uma melhor compreensão da dinâmica populacional das espécies.

Em experimentos sobre a longevidade de adultos não alimentados de *A. cajennense* sob diferentes regimes de temperatura e umidade relativa, STREY *et al.* (1996) observaram que, sob 85% de umidade relativa, os períodos de sobrevivência de machos e fêmeas foram de, respectivamente, 187,5 e 179,0 dias sob temperatura de 33°C e 641,2 e 682,5 dias, a 23°C, sem diferenças significativas entre os sexos. Os autores informaram ainda que, apesar da capacidade de sobreviver por longos períodos de jejum e da baixa especificidade, a dispersão geográfica da espécie é limitada pela pouca tolerância ao frio.

PRATA *et al.* (1996, 1997) empreenderam estudos relacionados, respectivamente, aos estágios ninfal e larval de *A. cajennense* sob temperatura constante de 27°C, umidade relativa superior a 70% e 12 h de fotofase. Segundo os autores, o ingurgitamento larval em coelhos foi realizado entre quatro e seis dias e o processo de muda durou em média 11,29 dias, obtendo-se aproximadamente 95% de ecdise. As ninfas, por sua vez, realizaram ingurgitamento em cinco dias, em média, e após 13,43 dias, 95% das ninfas ingurgitadas recuperadas realizaram muda para o estágio adulto. A partir dos resultados obtidos nestas pesquisas, foi descrita uma metodologia para colonização da espécie, sob condições controladas de laboratório (SANAVRIA & PRATA, 1996).

Com relação à distribuição estacional de *A. cajennense*, SMITH (1974,1975), em Trinidad e Tobago, destacou que o maior número de exemplares imaturos da espécie foi encontrado durante a estação seca, referindo-se à chuva e à umidade excessiva do solo como os principais fatores limitantes da dispersão geográfica do carapato estrela. GUGLIELMONE *et al.* (1990), na Argentina, verificaram a ocorrência de apenas uma geração de *A. cajennense* por ano, com predominância de adultos nos meses mais quentes e chuvosos e de larvas e ninhas durante a estação seca. No Brasil, a estacionalidade de *A. cajennense* foi inicialmente estudada por SERRA FREIRE (1982), que identificou a presença de larvas nos meses mais quentes do ano (janeiro a março), de ninhas no outono e inverno (maio a agosto) e adultos durante a primavera (setembro a dezembro). SOUZA & SERRA FREIRE (1994a,b), no entanto, consideraram que as condições climáticas à época do experimento anterior foram discrepantes das predominantes nos anos subsequentes, ao evidenciar picos de larvas e ninhas durante as estações mais frias e secas (maio a setembro e julho a setembro, respectivamente) e de adultos no verão quente e chuvoso (outubro a março). Mais recentemente, OLIVEIRA *et al.* (2000) obtiveram, em Minas Gerais, picos de larvas e ninhas também nos meses mais frios e secos (maio e julho, respectivamente) e de adultos no período mais quente e chuvoso (janeiro e fevereiro). Segundo os autores, a presença de picos de um determinado estágio em meses específicos, aliada a drásticas reduções e até mesmo ausência total de outros estágios, sugere a ocorrência de diapausa durante uma fase do ciclo biológico de *A. cajennense*. Esta adaptação fisiológica permitiria a otimização das atividades reprodutivas durante o

período de máxima disponibilidade de hospedeiros e pastagens, além de garantir a sobrevivência do espécime por longos períodos, até as condições se tornarem favoráveis.

3.1.2. Efeitos da temperatura sobre os processos de muda em outras espécies do gênero *Amblyomma*

Com relação à espécie *A. americanum*, KOCH (1981) mantendo larvas e ninfas ingurgitadas sob temperaturas constantes entre 10 e 35°C e diferentes umidades relativas, observou que não ocorreu muda sob 10°C e que a temperatura de 27°C, combinada com umidade relativa superior a 80% constituíram as condições ideais para o processo, obtendo-se percentuais de 96 e 97% para ecdise de ninfas e adultos, respectivamente. Sob condições ideais, as ninfas sobreviveram por 24 a 26 semanas, sendo obtidos períodos reduzidos em temperatura elevada (nove semanas, sob 35°C). Segundo o autor, os resultados obtidos em experimentos laboratoriais podem auxiliar a formulação de modelos populacionais para a espécie. GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1985) constataram que, embora os períodos de ingurgitamento tenham sido semelhantes, ninfas de *A. triguttatum triguttatum* que deram origem a machos tiveram menor peso e necessitaram de menos tempo para realizar muda em relação àquelas que originaram fêmeas, sendo este o fator responsável pelo surgimento de machos mais cedo nas pastagens. Ao avaliar a literatura disponível, os autores identificaram três tipos de comportamento em relação à muda: no primeiro tipo, que

engloba a maioria das espécies de carrapatos, as ninfas que dão origem a machos mudam em tempo mais curto em relação às que originam fêmeas, sendo incluídas neste grupo algumas espécies do gênero *Amblyomma*; no segundo tipo as diferenças entre sexos quanto ao período de muda não são significativas, como por exemplo em *Rhipicephalus glabroscutatum*; e no terceiro grupo, mais raro, as ninfas que originam fêmeas têm período de muda menor e, portanto, surgem mais cedo nas pastagens, como no caso de *Hyalomma dromedarii*. Os mesmos autores, um ano mais tarde, concluíram que a sazonalidade de *A. triguttatum triguttatum* é regulada principalmente pela diapausa de ninfas ingurgitadas, sendo induzida nos meses em que o período de luz é mais curto. Essa diapausa ninfal garante que as atividades reprodutivas se iniciem no fim da primavera, resultando no desenvolvimento dos ovos durante o verão, quando as condições são mais adequadas para a espécie (GUGLIELMONE & MOORHOUSE, 1986). Submetendo os diferentes estágios de *A. triguttatum triguttatum* sob temperaturas de 15 a 40°C, GUGLIELMONE (1992) verificou que não ocorreu muda de larvas a 40°C, enquanto as ninfas ingurgitadas realizaram muda somente entre 20 e 35°C. Os períodos de muda foram encurtados com o aumento da temperatura, sendo 25 e 35°C as temperaturas ideais para a ocorrência do processo em larvas e ninfas, respectivamente, com sucessos de muda de 98,5% para larvas e 93,5% para ninfas.

SOLOMON & KAAZA (1998), avaliando o desenvolvimento do ciclo biológico de *A. variegatum* sob condições de campo na Etiópia, observaram que, enquanto os períodos de ingurgitamento permaneceram praticamente constantes durante toda a duração do experimento, os processos de incubação e de muda foram fortemente

influenciados pelas estações do ano, sendo mais longos durante a época chuvosa e mais curtos na seca, o que foi refletido na duração do ciclo biológico, que passou de 141 dias no período das águas para 108 dias na época da estiagem. Investigando a influência de temperaturas entre 13 e 34°C e umidades entre zero e 80% sobre os processos de muda de *A. limbatum* e *A. hydrosauri*, na Austrália, CHILTON *et al.* (2000) verificaram que, embora a temperatura tenha exercido um marcante efeito no processo de muda de ambas as espécies, cada uma respondeu de modo peculiar aos diferentes tratamentos térmicos. Larvas e ninfas de *A. hydrosauri* foram capazes de mudar a temperaturas mais baixas que *A. limbatum*, mas a temperatura constante de 13°C foi prejudicial ao processo em ambas as espécies. Sob temperaturas a partir de 21°C, larvas de *A. limbatum* necessitaram de menos tempo para mudar que *A. hydrosauri*, sugerindo que a primeira está mais adaptada a regiões de temperaturas mais altas. A elevação da temperatura acarretou a redução dos períodos de muda em ambas as espécies, devido à ativação de enzimas essenciais ao metabolismo. Nas duas espécies o período de muda de larvas foi mais curto que o de ninfas, provavelmente pelo menor peso corporal das larvas, necessitando de menos tempo para metabolizar o sangue ingerido. Em contrapartida, ninfas foram capazes de efetuar muda em uma faixa de temperaturas mais ampla que as larvas, talvez porque o maior peso corporal das ninfas tenha lhes proporcionado uma maior capacidade de resistir à expressiva perda de água que ocorre na muda a altas temperaturas; já os períodos de muda de ninfas que originaram machos e fêmeas foram estatisticamente iguais entre sexos, em ambas as espécies. Segundo os autores, diferenças específicas no sucesso de muda sob variadas condições de

temperatura e umidade podem representar adaptações às condições climáticas a que cada espécie está submetida em seu habitat particular. Portanto, *A. hydrosauri* estaria mais adaptado a regiões quentes e secas, sendo obrigado a se manter em porções mais profundas do solo, como uma estratégia para evitar a morte por desidratação. Já *A. limbatum* poderia se localizar mais superficialmente, expondo-se diretamente à temperatura e, dessa forma, garantindo encurtamento dos períodos de muda e do tempo de espera pelo hospedeiro, fases críticas do ciclo biológico dos ixodídeos.

3.1.3. Efeitos da temperatura sobre os processos de muda em outros gêneros de carapatos

Além do gênero *Amblyomma*, os estudos relativos ao processo de muda em carapatos heteroxenos têm enfocado principalmente os gêneros *Haemaphysalis*, *Rhipicephalus* e *Ixodes*, havendo ainda pesquisas direcionadas aos argasídeos. Com referência à espécie *H. leporispalustris*, DAVIS (1974a,b) verificou que a temperatura crítica para as diferentes etapas do ciclo biológico mudou conforme o estágio de desenvolvimento e o estado nutricional, mas foi similar em ambos os sexos. A temperatura crítica de ninfas ingurgitadas recém-desprendidas, 36 a 40°C, elevou-se para 46 a 47°C durante o processo de muda, caindo para 42 a 43°C imediatamente após a obtenção dos adultos e mantendo-se nesta faixa até o processo de ingurgitamento de fêmeas, quando voltou a cair para 35 a 36°C. Estas variações foram atribuídas às contínuas mudanças sofridas pela epicutícula dos carapatos, com deposição e remoção

de lipídios durante e após os processos de ingurgitamento, acarretando alterações na permeabilidade. Tais observações levaram o autor a concluir que quanto maior a temperatura crítica de um espécime, maior é a sua capacidade de resistir à desidratação (DAVIS, 1974b). Ainda com relação ao gênero *Haemaphysalis*, HEATH (1981) investigando as preferências térmicas de larvas ingurgitadas de *H. longicornis*, além de *I. holocyclus* e *R. sanguineus*, verificou que as três espécies se desenvolveram em faixas térmicas distintas, com *H. longicornis* sendo considerado mais resistente, pois foi capaz de realizar muda em uma faixa mais ampla, entre 15 e 38°C (*I. holocyclus* entre 18 e 28°C e *R. sanguineus* entre 18 e 38°C), o que se refletiu no maior potencial de dispersão geográfica desta espécie, em relação às demais. O autor destacou ainda a importância da capacidade de resistência dos instares ingurgitados a condições térmicas distintas, devido à maior dificuldade destes em encontrar um local abrigado, em relação aos espécimes não ingurgitados.

Passando-se às pesquisas com o gênero *Hyalomma*, KNIGHT *et al.* (1978), ao acompanhar o desenvolvimento do ciclo biológico do carrapato de dois hospedeiros *H. marginatum rufipes*, observaram que o ingurgitamento das ninfas que originaram machos foi mais rápido que o das que deram origem a fêmeas, resultando em médias de pesos significativamente menores para as primeiras, embora os períodos de muda tenham sido estatisticamente iguais para ambos os sexos. Situação idêntica foi verificada com *R. glabroscutatum* por RECHAV & KNIGHT (1981), que inferiram que os mecanismos reguladores do surgimento de machos de algumas espécies mais cedo nas pastagens são o período de ingurgitamento mais curto e, em alguns casos, o período

de muda menor. Por outro lado NTIAMOA-BAIDU (1987), em experimento com *R.hipicephalus simpsoni*, constatou que o período de muda relativo ao sexo feminino foi mais curto, tanto na transformação de larva para ninfa quanto na de ninfa para adulto, indicando que a espécie se enquadra no terceiro grupo descrito por GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1985). No entanto, o autor destacou que essa diferença de períodos de desenvolvimento, embora tenha significado biológico, não foi refletida na detecção precoce de fêmeas na pastagem, provavelmente porque as desigualdades podem ter sido compensadas durante o processo de endurecimento da cutícula, que ocorre imediatamente após a muda e precede a busca dos ixodídeos pelo hospedeiro.

Ainda com referência ao gênero *Rhipicephalus*, KOCH & TUCK (1986), estudando o comportamento de *R. sanguineus* sob temperaturas entre 10 e 35°C e diferentes umidades relativas, observaram que, sob temperatura constante de 10°C, larvas e ninfas ingurgitadas permaneceram vivas por períodos superiores a 30 semanas, mas não foram capazes de realizar muda, mesmo com umidade relativa favorável. Embora os percentuais de ecdisse tenham sofrido pouca alteração, sob condições de umidade relativa a partir de 85%, os períodos de muda e de sobrevivência de ninfas e adultos foram encurtados com o aumento da temperatura, situação semelhante à observada, no Brasil, por BELLATO & DAEMON (1997), com a mesma espécie, sob temperaturas de 18, 27 e 32°C. HUELI (1987) ressaltou a alta capacidade das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus bursa* em resistir às condições adversas por períodos prolongados e realizar muda, ao retornar às condições ideais, sugerindo a ocorrência de diapausa morfogenética neste estágio do ciclo biológico da espécie.

A ocorrência de diapausa também foi detectada em larvas de *Argas reflexus* (DAUTEL & KNÜLLE, 1998) e ninfas de *I. rubicundus* (FOURIE *et al.*, 2001), sendo responsável pela sincronização sazonal dos processos de muda, reduzindo as mortes por desidratação e garantindo, dessa forma, sucesso na sobrevivência e na capacidade de dispersão geográfica destas espécies.

3.1.4. Estudos sobre exigências térmicas em artrópodes

Os estudos abordando as exigências térmicas das diferentes fases do ciclo biológico dos artrópodes são mais numerosos com a classe dos insetos, sendo calculadas a temperatura base, a constante térmica e a equação que define o desenvolvimento, pela análise de regressão linear, lançando-se as diferentes temperaturas no eixo das abscissas contra o inverso dos períodos de desenvolvimento, nas ordenadas. Neste sentido, podem ser citados os registros de BEAN (1961), HADDAD & PARRA (1984), AGUIAR-VALGODE & MILWARD-DE-AZEVEDO (1992), MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.* (1995) e QUEIROZ (1996), entre outros. A utilização deste modelo, no entanto, tem gerado controvérsias, pois alguns autores afirmam que a relação entre as variáveis não é linear, sendo melhor definida por uma curva sigmoidal e necessitando, portanto, de uma análise de regressão não linear para a obtenção de valores mais confiáveis dos diferentes parâmetros (LOGAN *et al.*, 1976; BRIERE *et al.*, 1999).

Estudos dessa natureza enfocando carapatos ainda são escassos nos diversos países do mundo, com exceção de Cuba, onde uma equipe de pesquisadores tem concentrado esforços para formular estratégias de combate baseadas em alterações no manejo dos animais, a partir dos valores obtidos para os parâmetros de desenvolvimento de *B. microplus* (De La VEGA & DÍAZ, 1985a,b,c, 1986, 1987, 1992; De La VEGA *et al.*, 1988, 1993), iniciando-se as investigações, mais recentemente, com *A. nitens* (De La VEGA & DÍAZ, 2000). Para contornar os problemas quanto à interpretação do relacionamento entre as variáveis e validar o método de regressão linear, os autores propuseram o uso somente da porção da curva que representa verdadeiramente uma hipérbole para o cálculo das constantes térmicas, após a transformação dos dados. DAVEY (1988), ao avaliar o efeito de diferentes temperaturas sobre o desenvolvimento de *B. annulatus*, comparou os modelos linear e curvilíneo, concluindo que, embora ambos apresentem problemas, em se tratando de carapatos o modelo linear fornece valores mais próximos da realidade para os diferentes parâmetros.

Mais recentemente, IKEMOTO & TAKAI (2000) propuseram um novo modelo, também linear, baseado na fórmula $DT = k + tD$, onde 't' é a temperatura base, em graus Celsius e 'k' é a constante térmica, em graus dias. A diferença para o modelo anterior se refere ao fato de que, neste, são lançados a duração do desenvolvimento (D) na abscissa e o produto entre a duração do desenvolvimento e a temperatura (DT), na ordenada, tendo sido obtidos desvios padrões ainda menores que no método da sigmóide para os diferentes parâmetros, validando-se, desta forma, o método de regressão linear.

3.2. EXPERIMENTO I: RELAÇÃO ENTRE PESO E NÚMERO DE LARVAS E NINFAS INGURGITADAS DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) EM INFESTAÇÕES EXPERIMENTAIS EM COELHOS

Versão em português de artigo publicado na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Apêndice 1).

3.2.1. Introdução

Em estudos sobre ciclos biológicos de carapatos heteroxenos, é comum a realização de infestações em animais com larvas, ninfas e adultos, obtidos sob condições laboratoriais, objetivando-se determinar os diversos parâmetros relativos às fases parasitária e não parasitária dos diferentes estágios.

No Brasil, a espécie *A. cajennense* (Fabricius, 1787) tem sido estudada por diversos pesquisadores, devido à sua capacidade de causar injúrias aos animais domésticos e à sua importância em Saúde Pública. TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE (1944) estabeleceram colônias de *A. cajennense* em laboratório para o preparo da vacina contra a febre maculosa. CUNHA (1978) analisou experimentalmente o poder toxicóforo dos diferentes estágios do ciclo biológico desta espécie de carapato. OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984a,b) estudaram as fases larval e ninfal do ciclo biológico do *A. cajennense*. Foi avaliado ainda, o efeito de diferentes temperaturas

sobre a ecdise larval (DAEMON & ISHIZUKA, 1992) e ninfal (DAEMON & ISHIZUKA, 1995) deste ixodídeo. PRATA *et al.* (1995a) determinaram o número de ovos existentes em um grama de postura (OPG). PRATA *et al.* (1995b) e PRATA *et al.* (1996) empreenderam estudos abordando os parâmetros biológicos das fases larval e ninfal do ciclo biológico do *A. cajennense*, respectivamente.

Nestes experimentos, o número aproximado de larvas utilizado em cada infestação é obtido através de uma regra de três simples, desde que se conheça a quantidade de ovos presentes em um grama de postura (OPG) (PRATA *et al.*, 1995a) e o percentual de eclosão. Entretanto, quando são recuperados os espécimes ingurgitados, a falta de um parâmetro que permita a conversão do peso em número de larvas ou ninfas ingurgitadas, obriga o pesquisador a contar os exemplares ingurgitados, um a um, o que se torna um processo cansativo e demorado, haja vista a grande quantidade de larvas e ninfas utilizadas nas infestações. No presente trabalho objetivou-se determinar a relação entre o peso e o número de larvas e ninfas ingurgitadas de *A. cajennense*, tornando possível a conversão do peso em número, a partir de uma regra de três simples.

3.2.2. Material e métodos

O experimento foi realizado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, situada no Município de Seropédica, Rio de Janeiro, no período de janeiro a

abril de 1997. Foram coletadas 10 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* de eqüinos naturalmente infestados em área próxima à UFRRJ. As fêmeas foram transportadas para laboratório, onde foram limpas, pesadas e mantidas em estufa incubadora para BOD a 27°C, umidade relativa superior a 70% e escotofase, condições normalmente utilizadas em estudos biológicos de ixodídeos tropicais. As posturas das fêmeas foram reunidas em um “pool”, sendo transferidas alíquotas de 100 mg para seringas plásticas previamente preparadas, também mantidas em estufa incubadora, onde ocorria a eclosão das larvas.

Para determinação da relação entre peso e número de larvas ingurgitadas, realizaram-se infestações em seis coelhos adultos, mestiços de Nova Zelândia x Califórnia, sendo três machos e três fêmeas. Cada animal foi infestado com 200 mg ou aproximadamente 3280 larvas (PRATA *et al.*, 1995a), com 15 dias de jejum. As larvas foram depositadas no pavilhão auricular dos coelhos, onde previamente havia sido adaptado um saco de pano, de acordo com a técnica utilizada por NEITZ *et al.* (1971). Diariamente, os sacos foram abertos e as larvas ingurgitadas desprendidas foram recolhidas. Formaram-se 20 grupos de 50 larvas ingurgitadas para cada coelho, que foram pesados em balança analítica. Após pesagem, as larvas ingurgitadas foram acondicionadas em seringas plásticas previamente preparadas e mantidas em estufa incubadora para BOD, sob as mesmas condições descritas anteriormente.

Após a muda das larvas, foram realizadas infestações com ninfas de *A. cajennense* em outros seis coelhos, com as mesmas características daqueles utilizados nas infestações com larvas, com o objetivo de determinar a relação peso x número de

ninfas ingurgitadas. Cada coelho foi infestado com aproximadamente 1100 ninfas com 15 dias de jejum, depositadas no pavilhão auricular (NEITZ *et al.*, 1971). Diariamente foram coletadas as ninfas ingurgitadas desprendidas, formando-se 13 grupos de 50 ninfas ingurgitadas para cada coelho, que foram pesados em balança analítica. Após pesagem, as ninfas foram acondicionadas em seringas e mantidas em estufa incubadora, sob condições já descritas.

Foram realizados Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey a níveis de significância de 5%, para verificar a existência de diferenças significativas com relação ao peso das larvas e das ninfas ingurgitadas entre coelhos e entre os dias de coleta.

3.2.3. Resultados e discussão

a. Relação peso x número de larvas ingurgitadas

Foram coletadas larvas ingurgitadas de *A. cajennense* entre o terceiro e o sexto dias após a infestação. O período médio de ingurgitamento larval foi de $4,08 \pm 0,62$ dias. Este período foi semelhante aos registrados na literatura (ROHR, 1909; HOOKER *et al.*, 1912; OLIVIERI & SERRA FREIRE, 1984a; PRATA *et al.*, 1995b). O percentual de recuperação de larvas ingurgitadas variou entre 46,03 e 72,07%, com média de $57,90 \pm 8,93\%$. Dos 20 grupos de 50 larvas ingurgitadas de cada coelho, cinco foram formados no terceiro dia após a infestação, 10 no quarto dia e cinco no quinto

dia. No sexto dia não foram recuperadas larvas ingurgitadas em quantidades suficientes para a formação de grupos. Os pesos médios dos grupos de 50 larvas ingurgitadas de *A. cajennense* em cada coelho são apresentados na Tabela 11. A análise de variância evidenciou que não houve diferenças significativas entre os pesos médios dos grupos de larvas ingurgitadas de acordo com o coelho utilizado para ingurgitamento. Entre os dias de coleta, contudo, houve diferenças significativas com relação aos pesos médios dos grupos de larvas ingurgitadas (ANOVA, seguida de teste de Tukey), obtendo-se ordem decrescente de pesos, à medida que se prolongava o tempo pós-infestação (Figura 10). Portanto, pode-se afirmar que, em infestações experimentais em coelhos, o peso médio de 50 larvas ingurgitadas foi de 38,2 mg (média geral), ou 39,2 mg no terceiro dia, 38,3 mg no quarto dia e 37,0 mg no quinto dia após a infestação. Uma larva ingurgitada de *A. cajennense* pesou por volta de 0,76 mg (média geral) ou 0,78 mg no terceiro dia, 0,77 mg no quarto dia e 0,74 mg no quinto dia após a infestação. Dessa forma, a partir de uma regra de três simples, pode-se converter o peso das larvas ingurgitadas de *A. cajennense* em número, sem ser necessário contá-las.

O período de pré-ecdise de ninfas foi de $10,80 \pm 0,84$ dias; a ecdise ninfal se processou em $4,40 \pm 0,55$ dias. OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984a), em estudos sobre a fase larval do ciclo biológico de *A. cajennense* obtiveram, sob condições semelhantes às do presente trabalho, período de pré-ecdise de $10,91 \pm 0,04$ dias e período de ecdise de $5,59 \pm 0,03$ dias. DAEMON & ISHIZUKA (1992), avaliando o efeito de diferentes temperaturas sobre a ecdise ninfal de *A. cajennense*, verificaram que o período de pré-ecdise foi de $11,31 \pm 1,19$ dias, enquanto o período de ecdise foi de

aproximadamente cinco dias, valores semelhantes aos do presente trabalho. Do total de larvas ingurgitadas obtidas, 97% mudaram para ninfas, valor superior aos 91,67% obtidos por DAEMON & ISHIZUKA (1992), à temperatura de 27°C.

A semelhança de resultados entre experimentos realizados desde 1984 até 1997, indica uma estabilidade nas populações do carapato *A. cajennense*, o que torna os dados obtidos no presente trabalho, ainda mais confiáveis.

b. Relação peso x número de ninfas ingurgitadas

Foram coletadas ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* entre o terceiro e o sétimo dias após a infestação. O período médio de ingurgitamento ninfal foi de $4,23 \pm 0,82$ dias. O percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas variou entre 68,73 e 84,36%, com média de $75,54 \pm 5,86\%$. OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984b), registraram período médio de ingurgitamento ninfal de $5,31 \pm 0,18$ dias. PRATA *et al.* (1996) verificaram que o ingurgitamento ninfal se processou entre três e cinco dias, com uma maior quantidade de ninfas levando cinco dias para se ingurgitar e obtiveram percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas de 53,44%. Apesar de serem experimentos com metodologias semelhantes, foram realizados em épocas distintas e com diferentes períodos de jejum de ninfas, o que talvez possa explicar a diversidade entre resultados.

Dos 13 grupos de 50 ninfas ingurgitadas de cada coelho, dois foram formados no terceiro dia, oito no quarto dia e três no quinto dia após a infestação. No

sexto e no sétimo dias não foram recuperadas ninfas ingurgitadas em quantidades suficientes que possibilitassem a formação de grupos. Os pesos médios dos grupos de 50 ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* em cada coelho são apresentados na Tabela 12. A média do peso de grupos de 50 ninfas ingurgitadas entre os seis coelhos foi de 677,2 mg (ou 13,5 mg, para uma ninfa). Em dois coelhos as médias foram superiores às das demais (ANOVA, seguida de teste de Tukey). Essa diferença não pode ser relacionada ao sexo nem à cor da pelagem do hospedeiro, pois as médias mais elevadas ocorreram em um coelho macho e uma fêmea e todos os coelhos do experimento eram de pelagem branca. Estudos mais intensos tornam-se necessários para se determinar os fatores envolvidos no processo. Da mesma forma que com as larvas, as médias dos pesos dos grupos de 50 ninfas foram diferentes de acordo com o dia de coleta (Figura 11), porém não ocorreu uma ordem decrescente de pesos, como nas larvas. A maior média foi verificada no quarto dia após a infestação (698,8 mg), seguida do quinto dia (651,5 mg) e do terceiro (628,9 mg).

Devido às diferenças encontradas entre coelhos, a conversão peso x número de ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* deve ser utilizada com reservas, apenas para se ter uma idéia inicial do número de ninfas ingurgitadas obtidas. Quando o experimento exigir maior precisão de dados, é recomendável contá-las.

O período de pré-ecdise de adultos foi de $13,33 \pm 0,58$ dias; a ecdise imaginal se processou em $5,67 \pm 0,58$ dias. OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984b), em experimento com metodologia semelhante, obtiveram período de pré-ecdise de $15,66 \pm 0,15$ dias e período de ecdise de $3,91 \pm 0,11$ dias. DAEMON & ISHIZUKA (1995)

verificaram que, a 27°C, o período de pré-ecdise foi de 15,33 dias e o período de ecdise variou entre um e sete dias. Os diferentes períodos de jejum de ninfas utilizados nos diversos trabalhos podem ser responsáveis pela variação de resultados.

Do total de ninfas ingurgitadas recuperadas (4986 ninfas), aproximadamente 98% mudaram para adultos. OLIVIERI & SERRA FREIRE (1984b) verificaram que, para cada “unidade experimental de 10 metaninfas”, 81,8% realizaram muda. DAEMON & ISHIZUKA (1995) e PRATA *et al.* (1996) registraram percentuais próximos ao do presente trabalho (95,83 e 95%, respectivamente).

A proporção entre machos e fêmeas obtidos a partir das ninfas ingurgitadas em cada dia de coleta, embora não tenha feito parte dos objetivos do experimento, é digna de nota. Do total de ninfas ingurgitadas recolhidas no terceiro dia após a infestação (793 ninfas), 75,03% originaram machos, 24,47% originaram fêmeas e 0,50% morreram antes de mudar para adultos; das ninfas recolhidas no quarto dia (2669 ninfas), 49,01% originaram machos, 49,49% originaram fêmeas e 1,50% morreram; já no quinto dia, das 1144 ninfas ingurgitadas recolhidas, 29,98% originaram machos, 65,04% originaram fêmeas e 4,98% morreram. As ninfas ingurgitadas recolhidas no sexto e sétimo dias pós-infestação (347 e 33 ninfas, respectivamente), foram desprezadas, devido à quantidade ser insuficiente para a formação de grupos. Tais resultados evidenciam que as ninfas que originaram machos tiveram período de ingurgitamento mais curto (e, de acordo com a Figura 11, menor peso) que as ninfas que originaram fêmeas. Esses resultados estão em acordo com os obtidos por outros pesquisadores. KNIGHT *et al.* (1978) em estudos sobre o ciclo biológico de *H.*

marginatum rufipes e RECHAV & KNIGHT (1981), analisando a biologia de *R. glabroscutatum*, também verificaram que as ninfas que originaram machos tiveram período de ingurgitamento mais curto e peso mais baixo que as que originaram fêmeas. Embora no presente trabalho esta análise tenha sido feita em caráter preliminar, necessitando de estudos mais intensos para ser confirmada, a comparação entre os resultados do presente experimento e de registros anteriores, indica comportamentos similares entre ninfas de diferentes espécies de carapatos.

3.3. EXPERIMENTO II: EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DO PROCESSO DE MUDA

LARVAL DE *Amblyomma cajennense*

3.3.1. Introdução

A partir dos resultados das pesquisas desenvolvidas por DAEMON & ISHIZUKA (1992, 1995), PRATA (1998) e OLIVEIRA *et al.* (2000) foi constatado que, embora o processo de eclosão larval de *A. cajennense* ocorra somente entre 15 e 30°C, larvas e ninfas ingurgitadas são capazes de realizar muda satisfatoriamente a 32°C, explicando-se, desta forma, o estabelecimento da espécie em países tropicais, através da estratégia de distribuição dos diferentes estágios nos meses que apresentam condições mais propícias aos seus respectivos desenvolvimentos.

No entanto, surgiu a dúvida: quais os limites térmicos que larvas e ninfas poderiam suportar e obter êxito em seus processos de muda? A resposta a este questionamento, que foi investigada ao longo dos experimentos II e III deste capítulo, aliada aos registros dos dados climáticos dos diferentes países, poderá determinar a capacidade de *A. cajennense*, hoje restrito ao continente americano, estabelecer-se nas mais diversas regiões do planeta, uma vez que a dispersão da espécie é facilitada pelo polixevismo.

3.3.2. Material e métodos

a. Local de execução

O experimento foi conduzido no Laboratório de Ixodologia e demais dependências da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Município de Seropédica, RJ.

b. Obtenção de ixodídeos

Larvas de *A. cajennense* com aproximadamente 15 dias de jejum, obtidas a partir de fêmeas ingurgitadas em eqüinos naturalmente infestados e mantidas em laboratório sob condições controladas (temperatura de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase), foram utilizadas em infestações experimentais em seis coelhos, adultos, mestiços Nova Zelândia x Califórnia, sendo três machos e três fêmeas. Cada animal foi infestado com larvas eclodidas de 200 mg de ovos ou aproximadamente 3280 larvas (PRATA & DAEMON, 1997) depositadas no pavilhão auricular, onde previamente havia sido adaptado um capuz de pano, segundo a técnica utilizada por NEITZ *et al.* (1971). Durante o período parasitário os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sendo alimentados com ração comercial balanceada e água *ad libitum*. Diariamente os capuzes foram abertos e as larvas ingurgitadas naturalmente

desprendidas dos seis coelhos foram reunidas em um “pool”, acondicionadas em seringas plásticas previamente preparadas e imediatamente transportadas para laboratório, onde foram submetidas a lavagem em água corrente, secagem em papel absorvente, pesagem e identificação do grupo conforme o dia de coleta.

c. Delineamento experimental

As larvas ingurgitadas provenientes do dia modal de queda foram transferidas em grupos de 10 unidades para frascos de vidro transparente, vedados com buchas de algodão hidrófilo, que constituíram as unidades experimentais de cada tratamento térmico. Formaram-se sete grupos experimentais, cada qual constituído por 20 frascos, devidamente numerados, que foram mantidos em estufas incubadoras para BOD, sob umidade relativa superior a 80%, escotofase, sendo cada grupo submetido a uma das temperaturas constantes de 12, 15, 27 (grupo controle), 35, 38, 41 e 44°C.

Os frascos foram observados a cada 24 h sob microscópio estereoscópico para acompanhamento dos processos de muda larval e/ou mortalidade de larvas ingurgitadas. Foi considerado concluído o processo de muda em cada exemplar quando da visualização da ninfa, após rompimento completo da exúvia, caracterizando o processo de ecdise ninfal. As observações se mantiveram diárias na primeira semana após o término da muda em cada frasco, para registro da taxa de mortalidade ninfal. A partir de então, devido à lentidão do processo, as verificações passaram a ser semanais.

d. Parâmetros analisados

A partir da metodologia empregada foi possível a determinação, para cada tratamento térmico, de parâmetros relativos aos processos de muda larval (conforme definições estabelecidas por HINTON & MACKERRAS, 1970, citados por JORGENSEN & KEMP, 1986) e de sobrevivência de larvas ingurgitadas e de ninhas, calculados para cada unidade experimental de 10 larvas ingurgitadas e discriminados a seguir.

Período de sobrevivência de larvas ingurgitadas - número de dias decorridos entre a coleta e a morte das larvas ingurgitadas que não conseguiram realizar muda em cada frasco, devido ao tratamento térmico.

Período de pré-ecdise de ninhas - número de dias decorridos entre a coleta de larvas ingurgitadas e a obtenção da primeira ninha, em cada unidade experimental.

Período de ecdise ninhal - compreendido entre a obtenção da primeira e da última ninha em cada frasco.

Período de muda de larvas - média ponderada dos períodos entre a coleta de larvas ingurgitadas e a obtenção das ninhas constituintes da unidade experimental.

Percentual de ecdise de ninhas - quantidade de ninhas obtidas em relação ao total de larvas ingurgitadas em cada frasco.

Ritmo de ecdise ninhal acumulada - percentual de ecdise obtido até determinado dia.

Período prévio à mortalidade de ninfas - número de dias decorridos entre o início da ecdise e a detecção da morte da primeira ninfa, em cada unidade experimental.

Longevidade ninfal - entre o início da ecdise e a morte da última ninfa.

Período de mortalidade de ninfas - entre a morte da primeira e a morte da última ninfa em cada frasco.

Ritmo de mortalidade ninfal acumulada - percentual de ninfas mortas até determinado dia.

Para o cálculo das constantes térmicas relativas ao processo de muda larval, foi realizada análise de regressão linear pelo método clássico, preconizado por BEAN (1961), em que são lançados a temperatura, na abscissa e os inversos dos períodos de desenvolvimento, na ordenada e também pelo método descrito por IKEMOTO & TAKAI (2000), lançando-se os períodos de desenvolvimento (D) na abscissa e o produto entre os períodos de desenvolvimento e a temperatura (DT), no eixo das ordenadas (Apêndice 2).

e. Análise estatística

Foram empregados Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey-Kramer a níveis de significância de 5% (Programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-1994) em cada parâmetro, com exceção dos ritmos de ecdise e de mortalidade e das constantes térmicas, para verificar a existência de diferenças

significativas determinadas pela ação do tratamento térmico. Valores expressos em percentuais foram transformados para arcoseno previamente à aplicação dos testes estatísticos.

Para a análise de parâmetros em que a diferença entre os desvios padrões foi considerada, pelo teste de Bartlett, extremamente significativa, caracterizando uma amostragem sem distribuição normal, optou-se pela aplicação dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis e Dunn, também a níveis de significância de 5%, substituindo, respectivamente, a Análise de Variância e o teste de Tukey-Kramer.

3.3.3. Resultados e discussão

a. Percentual de recuperação e parâmetros relativos ao processo de muda de larvas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*

Após um período parasitário de $4,13 \pm 0,84$ dias, variando entre três e seis dias, foram recuperadas 56% das larvas infestantes, ou aproximadamente 11000 larvas ingurgitadas. Este percentual foi obtido a partir do índice de conversão entre o peso e o número de larvas ingurgitadas, preconizado por PRATA *et al.* (1998) (experimento I, deste capítulo), sem ter sido necessário contar os espécimes. Aproximadamente 6000 larvas ingurgitadas ou 55% do total foram obtidas somente no quarto dia pós-infestaçao, considerado dia modal de queda de larvas ingurgitadas. Estes resultados estão de acordo com os registros da literatura, sob condições semelhantes (ROHR,

1909; HOOKER *et al.*, 1912; TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE, 1944; OLIVIERI & SERRA FREIRE, 1984a; SANAVRIA & PRATA, 1996; PRATA *et al.*, 1997, 1998), caracterizando a estabilidade das populações de *A. cajennense*, neste aspecto, não obstante a distância geográfica e/ou cronológica dos primeiros registros.

Antes de se dar início à análise dos parâmetros relativos ao processo de muda, algumas considerações se fazem necessárias. Os termos ‘muda’ e ‘ecdise’, bem como seus derivados, têm sido utilizados com significados contrastantes por pesquisadores de todas as partes do mundo, muitos dos quais tendo empregado tais termos em seus artigos sem ao menos citar o critério utilizado para defini-los, o que tem gerado comparações indevidas. Portanto, recomenda-se atenção redobrada quando da análise de publicações relativas ao assunto e estabelecimento de critérios e definições, na confecção de novos projetos e artigos. No presente experimento, conforme pôde ser visualizado no item ‘material e métodos’, o termo ‘muda’ foi empregado para definir todas as transformações que ocorrem desde a queda do espécime imaturo ingurgitado, quando se inicia a apólise (separação da cutícula velha da epiderme básica e preenchimento deste espaço com o líquido de muda, rico em enzimas digestivas) até o rompimento da velha cutícula, que caracteriza o fenômeno conhecido como ecdise, a última etapa do processo de muda (HINTON & MACKERRAS, 1970, citados por JORGENSEN & KEMP, 1986). Portanto, durante a transformação de larva para ninfa, quem realiza a muda é o estágio ingurgitado (muda larval) e este processo é concluído com o rompimento da cutícula velha, pelo novo estágio (ecdise ninfal).

Uma vez estabelecidas as considerações, é possível proceder-se à análise dos resultados. No grupo experimental mantido à temperatura constante de 12°C, as larvas ingurgitadas foram capazes de se manter vivas por $39,96 \pm 6,64$ dias, porém sem esboçar qualquer sinal de muda. Durante este tempo, os espécimes se mantiveram praticamente imóveis e agrupados no fundo dos frascos e a partir do terceiro dia de exposição começaram a surgir rugas no tegumento, que se intensificaram no decorrer do período, sugerindo perda de água por tempo prolongado, que resultou em morte por desidratação. No grupo mantido a 15°C, 57,00% das larvas ingurgitadas não conseguiram se transformar em ninfas, embora tenham permanecido vivas por $52,85 \pm 6,69$ dias, período estatisticamente semelhante ao registrado sob 12°C. Durante este tempo, as larvas também apresentaram rugas no tegumento; no entanto, diferentemente do grupo mantido a 12°C, expressaram alguma mobilidade na primeira semana de exposição e demonstraram ter iniciado o processo de muda, o que foi detectado pela visualização de mancha branca na extremidade anterior do idiossoma, caracterizando a fase de apólise. Sob 41°C, embora tenham iniciado a muda, 97,50% das larvas ingurgitadas ressecaram e morreram após $9,04 \pm 1,05$ dias, período estatisticamente inferior aos obtidos sob 12 e 15°C; algumas alcançaram adiantado estágio de metabolismo, mas morreram na condição de larvas faratas, ao não conseguir romper a exúvia. Já no grupo submetido a 44°C, todas as larvas morreram ressecadas após $1,22 \pm 0,10$ dias de exposição, período significativamente inferior aos obtidos nos demais grupos experimentais.

A análise destes resultados sugere que, sob baixas temperaturas, principalmente 12°C, as larvas ingurgitadas de *A. cajennense* podem entrar em diapausa morfogenética, sendo capazes de manter-se vivas por até 40 dias, aguardando a reversão das condições adversas. Esta suposição poderá ser confirmada ou não em estudos futuros, retornando-se as larvas para condições ideais (27°C e umidade relativa superior a 80%) após prolongada exposição a 12°C e avaliando-se o sucesso de muda.

Segundo BELOZEROV (1982), diapausa morfogenética é um bloqueio em etapas essenciais ao desenvolvimento de exemplares ingurgitados expostos a condições adversas, com o objetivo de preservar a vida e sincronizar o ciclo biológico com as estações mais propícias a cada estágio. Na literatura, a única referência relativa à diapausa em *A. cajennense* foi feita por OLIVEIRA *et al.* (2000), que sugeriram a ocorrência do fenômeno para explicar o registro de picos bem definidos de cada estágio em épocas determinadas do ano, aliada a drásticas reduções e até mesmo ausência de outros estágios. GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1986), HUELI (1987), DAUTEL & KNÜLLE (1998) e FOURIE *et al.* (2001), trabalhando com *A. triguttatum*, *R. bursa*, *A. reflexus* e *I. rubicundus*, respectivamente, também se referiram à ocorrência de diapausa morfogenética para retardar os períodos de muda na presença de condições adversas. As suposições levantadas pelos autores correspondem à ora apresentada necessitando, no entanto, de estudos específicos para comprovação. KOCH (1981), com *A. americanum* e KOCH & TUCK (1986), com *R. sanguineus* também encontraram situação semelhante à do presente experimento ao

constatar que larvas e ninfas ingurgitadas mantidas sob temperatura constante de 10°C permaneceram vivas por períodos prolongados, não sendo capazes de realizar muda, mas os autores não fizeram referência à ocorrência de diapausa para explicar o fato.

Sob altas temperaturas, entretanto, ocorreu situação diversa, sendo acelerado o processo metabólico e com este, a perda de água, o que levou à morte dos espécimes por desidratação. As evidências de andamento do processo de muda sob 41°C, associadas ao considerável período de sobrevivência de larvas ingurgitadas (9,04 dias), são indicativos de que, na natureza, as larvas ingurgitadas poderiam suportar esta temperatura e se manter vivas, dando continuidade ao ciclo, desde que as condições adversas fossem revertidas em poucos dias.

Na Tabela 13 são apresentados os parâmetros relativos ao processo de muda larval de *A. cajennense* nos diferentes grupos, bem como o resultado da análise estatística comparando cada parâmetro, em cada temperatura. Iniciando-se com uma análise isolada do grupo controle (27°C) verifica-se que os períodos de pré-ecdise (9,20 dias), de ecdise (4,60 dias) e de muda (10,77 dias), além do percentual de ecdise (95,00%) foram similares aos registrados na literatura, sob condições semelhantes (OLIVIERI & SERRA FREIRE, 1984a; DAEMON & ISHIZUKA, 1992; PRATA *et al.*, 1997), sendo estritamente relacionados aos obtidos no experimento I, do capítulo II (PRATA *et al.*, 1998), em que foram encontrados valores de 10,80 e 4,40 dias para os períodos de pré-ecdise e de ecdise, respectivamente, além do percentual de ecdise de 97,00%. Esta similaridade de resultados entre o presente experimento e os valores de

referência da literatura evidencia o desempenho biológico satisfatório da amostra ora utilizada, permitindo uma adequada avaliação dos efeitos dos tratamentos térmicos nos diferentes grupos experimentais.

A partir da análise dos períodos de pré-ecdise, de ecdise e de muda de acordo com o tratamento térmico (Tabela 13) verifica-se que, com a elevação da temperatura de 15 para 38°C, estes períodos foram significativamente encurtados, passando de, respectivamente, 60,60, 8,25 e 64,11 dias sob 15°C, para 6,80, 2,40 e 7,87 dias sob 38°C, evidenciando a aceleração do processo metabólico determinada pelo aumento da temperatura; as diferenças foram mais expressivas entre 15 e 27°C; já entre 35 e 38°C, todos os períodos foram considerados estatisticamente iguais entre si e inferiores aos obtidos em temperaturas mais baixas. No grupo mantido a 41°C houve ecdise ninfal em apenas quatro frascos, obtendo-se um total de cinco ninfas após 10,75 dias, em média, o que demonstra que, embora as larvas ingurgitadas tenham conseguido permanecer vivas por até nove dias, esta não é uma temperatura adequada para o processo de muda larval de *A. cajennense*, constituindo o limite térmico superior para a ocorrência do processo. A pouca quantidade de larvas disponível impossibilitou a análise estatística dos períodos obtidos sob esta temperatura. É importante ressaltar, no entanto, que os valores obtidos não são estáticos, podendo ser alterados com o decorrer do tempo, o que torna necessária a realização constante de experimentos para monitorá-los. De especial relevância, neste sentido, é o limite térmico superior, pois é o mais suscetível a alterações decorrentes do aquecimento global do planeta.

Os prolongados períodos relativos ao processo de muda obtidos sob 15°C poderiam sugerir, a uma primeira análise, a utilização desta temperatura para retardar o ciclo biológico de *A. cajennense* em laboratório. No entanto, o baixo percentual de ecdise (43%) indica que esta não é uma temperatura adequada para o processo de muda larval da espécie. Sob 27, 35 e 38°C foram obtidos percentuais de ecdise estatisticamente iguais (95,00, 93,00 e 96,50%, respectivamente), caracterizando um desempenho satisfatório desta fase do ciclo em temperaturas elevadas, o que já era esperado, por se tratar de uma espécie típica de países tropicais. Após comprovação do poder infestante das ninfas obtidas sob 35 e 38°C, em experimentos futuros, poder-se-á recomendar estas temperaturas para acelerar o ciclo biológico deste carapato em laboratório.

As curvas relativas aos ritmos de ecdise obtidas sob 27, 35 e 38°C (Figura 12) apresentaram comportamento semelhante, com elevação acentuada nos primeiros dias e relativa estabilidade no final do processo. Sob 15°C a curva foi mais suave, caracterizando a lentidão do processo. Já sob 41°C, a estabilidade da curva foi determinada pela pouca quantidade de ninfas obtidas (apenas cinco ninfas ou 2,5% do total de larvas ingurgitadas do grupo).

O único registro na literatura relativo ao processo de muda larval de *A. cajennense* sob diferentes temperaturas controladas em laboratório é o de DAEMON & ISHIZUKA (1992) que, sob 18, 27 e 32°C, observaram comportamento semelhante ao ora apresentado, com encurtamento de períodos conforme o aumento da temperatura,

verificando-se diferenças mais acentuadas entre 18 em relação a 27°C que entre 27 e

32°C, além de percentual de ecdise significativamente menor a 18°C (65,84%), enquanto os obtidos sob 27 e 32°C foram considerados estatisticamente iguais (91,67 e 90,83%, respectivamente). Os ritmos de ecdise também foram semelhantes aos ora apresentados, com elevação acentuada nos primeiros dias de ecdise sob 27 e 32°C, enquanto a 18°C o processo foi mais lento e uniforme em todo o período. Os resultados obtidos no presente experimento, somados aos registros de DAEMON & ISHIZUKA (1992) evidenciam que o processo de muda larval de *A. cajennense* pode ocorrer, até o momento, entre 15 e 41°C, com melhor desempenho acima de 18 e até 38°C. Estudos futuros poderão complementar os resultados destas pesquisas, a partir de investigações de alterações nestes parâmetros com o decorrer do tempo e da avaliação do potencial de infestação das ninfas obtidas nas temperaturas testadas, o que poderá fornecer subsídios para a compreensão da flutuação sazonal e da dispersão geográfica da espécie.

GUGLIELMONE (1992), com *A. triguttatum triguttatum*, encontrou situação semelhante à ora observada com *A. cajennense*, ao verificar que os períodos relativos à muda larval foram encurtados com a elevação da temperatura de 15 para 35°C, constatando ainda o efeito deletério da temperatura de 40°C sobre o processo. Situação correspondente à do presente experimento foi observada a campo por SOLOMON & KAAYA (1998) ao evidenciar alterações nos períodos de muda de *A. variegatum* de acordo com as estações do ano. CHILTON & BULL (2000) também verificaram, em laboratório, que a elevação da temperatura acarretou redução nos

períodos de muda de *A. limbatum*, devido à ativação das enzimas essenciais ao metabolismo. Comportamento semelhante foi observado, ainda, com *R. sanguineus* por KOCH & TUCK (1986) e BELLATO & DAEMON (1997), evidenciando que a temperatura, embora com resultados numericamente diferentes, atua de forma similar entre as diversas espécies de ixodídeos, com encurtamento de períodos provocado pela aceleração do processo metabólico.

Na Tabela 14 são apresentados os parâmetros relativos às exigências térmicas do processo de muda larval de *A. cajennense*, calculados pela análise de regressão linear, sob os métodos de BEAN (1961) e IKEMOTO & TAKAI (2000), utilizando-se seis casas decimais, conforme preconizado por HADDAD & PARRA (1984). Através da análise da tabela, verifica-se que em ambos os métodos foram obtidos altos coeficientes de correlação, evidenciando que a duração do processo de muda larval é acentuadamente influenciada pela temperatura e confirmando a relação linear entre as variáveis transformadas nos dois métodos. No entanto, a temperatura base (abaixo da qual não ocorre o processo) obtida pelo método de IKEMOTO & TAKAI (2000), 12,046769°C, ficou mais próxima do intervalo observado experimentalmente (12 a 15°C). Este fato, aliado ao maior coeficiente de correlação calculado por este método (0,998361) demonstra que, assim como já foi provado em relação a insetos e protozoários, o método de IKEMOTO & TAKAI (2000) é mais adequado ao cálculo das exigências térmicas de carapatos. É importante ressaltar que, embora o cálculo das constantes térmicas constitua prática de rotina em experimentos relacionados a insetos (BEAN, 1961; LOGAN *et al.*, 1976; HADDAD & PARRA,

1984; AGUIAR-VALGODE & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1992; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1995; QUEIROZ, 1996; BRIERE *et al.*, 1999), esta é a primeira vez

em que são calculados parâmetros relativos às exigências térmicas de *A. cajennense*. De posse do valor obtido para a constante térmica relativa ao processo de muda larval (188,064296GD), da temperatura base e de dados climáticos das diferentes regiões, é possível estimar-se a duração do processo de muda larval da espécie em diversos locais, em qualquer época do ano, aplicando-se a equação $DT = 188,064296 + 12,046769D$, onde ‘T’ é a temperatura média, em graus Celsius, do período a ser testado, em determinada região e ‘D’ é a duração, em dias, do processo de muda na temperatura ‘T’, na região estudada. Com o cálculo das exigências térmicas das outras etapas do ciclo biológico de *A. cajennense*, poder-se-á estimar o número de gerações por ano em qualquer região, além de se obter dados sobre a flutuação estacional e a duração de cada processo relativo à fase não parasitária do ciclo, ao se avaliar os valores obtidos juntamente com os dados climáticos das diferentes regiões. Dessa forma será possível a formulação de estratégias de combate baseadas em alterações no manejo dos animais de acordo com os picos de ocorrência de cada estágio do ciclo biológico, conforme já foi constatado com *B. microplus* (De La VEGA & DÍAZ, 1985a,b,c, 1986, 1987, 1992; De La VEGA *et al.*, 1988, 1993), *B. annulatus* (DAVEY, 1988) e, mais recentemente, com *A. nitens* (De La VEGA & DÍAZ, 2000). Entretanto, conforme já foi destacado, os valores encontrados são passíveis de mudanças através dos tempos, principalmente devido ao fenômeno do aquecimento global.

b. Parâmetros relativos à sobrevivência de ninfas

A partir da análise da Tabela 15, verifica-se que os maiores valores para o período prévio à mortalidade, longevidade ninfal e período de mortalidade de ninfas foram obtidos sob 27°C (132,90, 284,80 e 151,90 dias, respectivamente), confirmando ser esta a temperatura mais adequada para o desenvolvimento desta etapa do ciclo biológico de *A. cajennense*. Com a elevação da temperatura de 27 para 35 e 38°C, estes períodos foram significativamente encurtados, evidenciando a ação deletéria de temperaturas elevadas sobre a sobrevivência de ninfas em jejum. Sob 41°C este efeito foi ainda mais acentuado, obtendo-se a morte das cinco ninfas em até 24 h após a ecdisse. No grupo mantido a 15°C, diferentemente do que ocorreu com os parâmetros relativos ao processo de muda, os períodos referentes à sobrevivência de ninfas foram encurtados. Somando-se a estas constatações o baixo percentual de ecdisse registrado neste grupo (43,00%), conclui-se que esta não é uma temperatura adequada à manutenção de larvas ingurgitadas e ninfas de *A. cajennense*. A análise dos ritmos de mortalidade acumulada (Figura 13) corrobora estas observações ao se verificar que, enquanto sob 27°C foram necessárias 15 semanas após o início do processo para se atingir 50% de mortalidade, nas temperaturas de 15, 35 e 38°C, por volta da quinta semana já se registrava a morte de aproximadamente 50% das ninfas obtidas em cada grupo.

Os resultados alcançados no presente experimento demonstram que, embora as temperaturas de 35 e 38°C tenham se mostrado satisfatórias para o desenvolvimento

do processo de muda larval, a sobrevivência das ninfas foi significativamente encurtada

nestas temperaturas, o que pode explicar a ocorrência destas nos meses de temperaturas mais amenas, conforme já estabelecido em pesquisas a campo realizadas em Trinidad e Tobago (SMITH, 1974, 1975), na Argentina (GUGLIELMONE *et al.*, 1990) e no Brasil (SERRA FREIRE, 1982; SOUZA & SERRA FREIRE, 1984a,b; OLIVEIRA *et al.*, 2000). Nestes experimentos os autores se referiram às chuvas como o fator limitante da ocorrência de picos deste estágio em meses mais quentes. Está comprovado, a partir do momento, que a temperatura também exerce importante papel nestas preferências estacionais.

3.4. EXPERIMENTO III: EXIGÊNCIAS TÉRMICAS DO PROCESSO DE MUDA NINFAL DE *Amblyomma cajennense*

3.4.1. Introdução

Os resultados obtidos no experimento II deste capítulo responderam o questionamento relativo às exigências térmicas do processo de muda larval de *A. cajennense*, mas ainda persiste a dúvida quanto à muda de ninfas ingurgitadas. Seriam estas mais resistentes que larvas ingurgitadas frente às variações de temperatura, conforme constatado por CHILTON *et al.* (2000) em relação a *A. limbatum*? Uma resposta afirmativa poderia explicar o predomínio de adultos de *A. cajennense* nos meses mais quentes do ano (SOUZA & SERRA FREIRE, 1994a,b; OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Outra lacuna ainda existente quanto ao processo de muda ninfal de *A. cajennense* refere-se ao período de muda de ninfas em relação ao sexo dos adultos. Segundo GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1985), na maioria das espécies de ixodídeos as ninfas que originam machos mudam em tempo mais curto em relação às

que dão origem a fêmeas, havendo ainda um segundo grupo, em que os períodos de muda são semelhantes nos dois sexos e um terceiro, mais raro, em que as ninfas que originam fêmeas têm período de muda menor e, portanto, surgem mais cedo nas pastagens. Com relação a *A. cajennense*, a única informação disponível, neste aspecto, foi obtida no experimento I deste capítulo (PRATA *et al.*, 1998), em que foi constatado que ninfas que originaram machos tiveram período de ingurgitamento mais curto e, consequentemente, peso menor que aquelas que deram origem a fêmeas. Entretanto, não há, até o momento, registros quanto ao período de muda em relação ao sexo, nesta espécie. Visando elucidar os questionamentos apresentados foi delineado o presente experimento, fundamentado na exposição de ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* a diversas temperaturas constantes em laboratório.

3.4.2. Material e métodos

a. Local de execução

O experimento foi executado no Laboratório de Ixodologia e demais dependências da Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no Município de Seropédica, RJ.

b. Obtenção de ixodídeos

Larvas de *A. cajennense* constituintes da primeira geração de laboratório, estabelecida a partir de fêmeas ingurgitadas naturalmente em eqüinos, foram alimentadas artificialmente em coelhos e mantidas, após desprendimento, em laboratório sob condições controladas (temperatura de 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase), para realizar muda. Por volta de 15 dias após a obtenção das ninfas, estas foram empregadas em infestações experimentais em seis coelhos, adultos, mestiços Nova Zelândia x Califórnia, sendo três machos e três fêmeas. Cada animal foi infestado com aproximadamente 1000 ninfas (conforme índice de conversão preconizado por PRATA *et al.*, 1998) que foram depositadas no pavilhão auricular, onde previamente havia sido adaptado um capuz de pano, segundo a técnica utilizada por NEITZ *et al.* (1971). Durante o período parasitário os animais foram mantidos em gaiolas individuais, sendo alimentados com ração comercial balanceada e água *ad libitum*. Diariamente os capuzes foram abertos e as larvas ingurgitadas naturalmente desprendidas dos seis coelhos foram reunidas em um “pool”, acondicionadas em seringas plásticas previamente preparadas e imediatamente transportadas para laboratório, onde foram submetidas a lavagem em água corrente, secagem em papel absorvente, pesagem em balança analítica e identificação do grupo conforme o dia de coleta.

c. Delineamento experimental

As ninfas ingurgitadas desprendidas no quarto dia após infestação (dia modal de queda, segundo PRATA *et al.*, 1998) foram transferidas em grupos de 10 unidades para frascos de vidro transparente, vedados com buchas de algodão hidrófilo, que constituíram as unidades experimentais de cada tratamento térmico. Formaram-se oito grupos experimentais, cada qual constituído por 20 frascos, devidamente numerados, que foram mantidos em estufas incubadoras para BOD, sob umidade relativa superior a 80% e escotofase, sendo cada grupo submetido a uma das temperaturas constantes de nove, 12, 15, 27 (grupo controle), 35, 38, 41 e 44°C.

Os frascos foram observados a cada 24 h sob microscópio estereoscópico para acompanhamento dos processos de mortalidade de ninfas ingurgitadas (nos grupos em que o tratamento térmico impediu a ocorrência de mudas) e/ou de muda ninfal, sendo registrado o sexo dos adultos obtidos. Foi considerado concluído o processo de muda em cada exemplar quando da visualização do adulto, após rompimento completo da exúvia, caracterizando o processo de ecdise de adultos ou ecdise imaginal. As observações mantiveram-se diárias na primeira semana após o término da muda em cada frasco, para registro da ocorrência de morte, bem como do sexo do adulto morto. A partir de então, devido à lentidão do processo, as verificações passaram a ser semanais.

d. Parâmetros analisados

A partir da metodologia empregada foi possível a determinação, para cada tratamento térmico, de parâmetros relativos aos processos de muda ninfal (conforme definições estabelecidas por HINTON & MACKERRAS, 1970, citados por JORGENSEN & KEMP, 1986) e de sobrevivência de ninfas ingurgitadas e de adultos, calculados para cada unidade experimental de 10 ninfas ingurgitadas e discriminados a seguir.

Período de sobrevivência de ninfas ingurgitadas - número de dias decorridos entre a coleta e a morte das ninfas ingurgitadas que não conseguiram realizar muda em cada frasco, devido ao tratamento térmico.

Período de pré-ecdise de adultos - número de dias decorridos entre a coleta de ninfas ingurgitadas e a obtenção do primeiro adulto, em cada unidade experimental.

Período de ecdise de adultos - compreendido entre a obtenção do primeiro e do último adulto em cada frasco.

Período de muda de ninfas ou período de muda para adultos - média ponderada dos períodos entre a coleta de ninfas ingurgitadas e a obtenção dos adultos constituintes da unidade experimental.

Percentual de ecdise de adultos - quantidade de adultos obtidos em relação ao total de ninfas ingurgitadas em cada frasco.

Ritmo de ecdise acumulada de adultos - percentual de ecdise obtido até determinado dia.

Período prévio à mortalidade de adultos - número de dias decorridos entre o início da ecdisse e a detecção da morte do primeiro adulto, em cada unidade experimental.

Longevidade de adultos - entre o início da ecdisse e a morte do último adulto em cada frasco.

Período de mortalidade de adultos - entre a morte do primeiro e a morte do último adulto em cada frasco.

Ritmo de mortalidade acumulada de adultos - percentual de adultos mortos até determinado dia.

Nota: Além de adultos, englobando machos e fêmeas, cada parâmetro, com exceção do período de sobrevivência de ninfas ingurgitadas, também foi calculado isoladamente para machos e para fêmeas.

Para o cálculo das constantes térmicas relativas aos processos de muda para adultos e para machos e para fêmeas isoladamente, foi realizada análise de regressão linear segundo o método descrito por IKEMOTO & TAKAI (2000), lançando-se os períodos de desenvolvimento (D) na abscissa e o produto entre os períodos de desenvolvimento e a temperatura (DT), no eixo das ordenadas (Apêndice 2).

e. Análise estatística

Foram empregados Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey-Kramer a níveis de significância de 5% (Programa Graph Pad Instattm, Copyright 1990-

1994) em cada parâmetro relativo a adultos, sem discriminar o sexo e também isoladamente para machos e para fêmeas, com o objetivo de verificar a existência de diferenças significativas entre os grupos experimentais, determinadas pela ação da temperatura. Para comparar valores relativos a machos e fêmeas em um mesmo grupo experimental foi utilizado o teste ‘t’ de Student, a nível de 5%. Valores expressos em percentuais foram transformados para arcoseno previamente à aplicação dos testes estatísticos. Para a análise de parâmetros em que a diferença entre os desvios padrões foi considerada, pelo teste de Bartlett, extremamente significativa, caracterizando uma amostragem sem distribuição normal, optou-se pela aplicação dos testes não paramétricos Kruskal-Wallis, Dunn e Mann Whitney, também a níveis de significância de 5%, substituindo, respectivamente, a Análise de Variância, o teste de Tukey-Kramer e o teste ‘t’ de Student.

3.4.3. Resultados e discussão

a. Percentual de recuperação e parâmetros relativos ao processo de muda de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*

Após um período parasitário de $4,29 \pm 0,76$ dias, variando entre três e seis dias, foram recuperadas aproximadamente 4300 ninfas ingurgitadas ou 72% das ninfas infestantes, valor obtido a partir da conversão do peso em número de ninfas ingurgitadas, conforme preconizado por PRATA *et al.* (1998). Estes resultados estão de

acordo com os registros da literatura, sob condições semelhantes (ROHR, 1909; HOOKER *et al.*, 1912; TRAVASSOS & VALLEJO-FREIRE, 1944; OLIVIERI & SERRA FREIRE, 1984b; SANAVRIA & PRATA, 1996; PRATA *et al.*, 1996, 1998), caracterizando o bom desempenho biológico da amostra estudada e garantindo a confiabilidade dos resultados obtidos nos diferentes tratamentos térmicos. Aproximadamente 2600 ninfas ingurgitadas ou 60% do total foram coletadas somente no quarto dia, considerado dia modal de queda de ninfas ingurgitadas em coelhos. A escolha deste dia para a constituição dos grupos experimentais, além de assegurar abundância de material, permite a obtenção de machos e fêmeas em proporções semelhantes, conforme já destacado por PRATA *et al.* (1998).

Antes de se dar início à análise dos parâmetros relativos ao processo de muda ninfal, deve-se ressaltar que os termos ‘muda’ e ‘ecdise’, bem como seus derivados, têm recebido definições contrastantes por pesquisadores de todas as partes do mundo, o que tem gerado comparações indevidas, conforme já destacado no experimento II deste capítulo. Portanto, recomenda-se atenção na análise de publicações relacionadas ao assunto, além do uso de definições claras e precisas quando da confecção de projetos e artigos próprios. No presente experimento, conforme pode ser constatado no item ‘material e métodos’, o termo ‘muda’ foi empregado segundo definições estabelecidas por HINTON & MACKERRAS (1970), citados por JORGENSEN & KEMP (1986), para exprimir todas as transformações que ocorrem desde a queda da ninfa ingurgitada, quando se inicia a apólise (separação da cutícula velha da epiderme básica e preenchimento deste espaço com o líquido de muda), até o

rompimento da velha cutícula, que caracteriza o fenômeno conhecido como ecdise, a última etapa do processo de muda. Portanto, durante a transformação de ninfa para adulto, quem realiza a muda é o estágio ingurgitado (muda ninfal) e este processo é concluído com o rompimento da cutícula velha, pelo novo estágio (ecdise de adulto ou ecdise imaginal ou ecdise de macho ou ecdise de fêmea, conforme o caso).

Na Tabela 16 são apresentados os períodos de sobrevivência de ninfas ingurgitadas que não foram capazes de realizar muda devido ao efeito do tratamento

térmico. No grupo experimental mantido a 12°C foi registrado o maior período de sobrevivência (172,20 dias), porém sem qualquer sinal de início do processo de muda. A partir do terceiro dia de exposição, as ninfas ingurgitadas deste grupo passaram a apresentar aspecto escurecido e, assim como verificado com larvas ingurgitadas (experimento II, deste capítulo), mantiveram-se imóveis e agrupadas, com a ressalva de que as rugas no tegumento foram menos acentuadas que as observadas no experimento anterior. Situação semelhante foi obtida no grupo mantido a 9°C, porém o frio mais intenso determinou um período de sobrevivência menor (73,50 dias). Sob temperatura constante de 15°C, a maioria das ninfas ingurgitadas (76,50%) conseguiu se transformar em adultos, restando 23,50% que se mantiveram vivas por 114,98 dias, período considerado estatisticamente semelhante aos obtidos sob 9 e 12°C. No entanto, diferentemente dos grupos submetidos a temperaturas mais baixas, estas ninfas se mantiveram móveis no início do período e por volta do 30º dia de exposição evidenciaram ter iniciado o processo de muda, ao apresentar mancha branca na

extremidade anterior do idiossoma, caracterizando o processo de apólise. Situação análoga foi observada em 45,50% das ninfas ingurgitadas submetidas a 41°C, com a ressalva de que o calor reduziu significativamente o tempo de sobrevivência (17,22 dias) e conferiu aspecto ressecado aos espécimes. Finalmente, no grupo mantido a 44°C, todas as ninfas ingurgitadas perderam líquidos através dos poros da cutícula e morreram escuras e ressecadas após 10,97 dias, sem evidências de terem iniciado o processo de muda.

A partir da análise destes resultados, pode-se inferir que, sob temperaturas de 9 e 12°C, do mesmo modo que ocorreu com larvas ingurgitadas a 12°C, as ninfas ingurgitadas podem bloquear o processo de muda e entrar em diapausa morfogenética, sendo capazes de se manter vivas por longos períodos (73,50 e 172,20 dias, respectivamente), aguardando a reversão das condições adversas. Segundo BELOZEROV (1982) a diapausa constitui uma estratégia utilizada pelas diferentes espécies de carapatos, baseada na inibição do metabolismo com o intuito de preservar a vida sob condições adversas e sincronizar o ciclo com as estações mais propícias a cada estágio. Embora haja a necessidade de estudos específicos para comprovação, a suposição ora apresentada encontra suporte nos registros de OLIVEIRA *et al.* (2000) sob condições de campo, em que foi constatada a ocorrência de picos bem definidos de cada estágio do ciclo de *A. cajennense* em determinadas épocas do ano, aliada a drásticas reduções e até mesmo ausência de outros estágios, sendo sugerida a ocorrência de diapausa para explicar o fenômeno. KOCH (1981), trabalhando com *A. americanum* e KOCH & TUCK (1986), com *R. sanguineus*, também encontraram situação análoga à

do presente experimento ao constatar que larvas e ninfas ingurgitadas permaneceram vivas por períodos prolongados sob temperatura de 10°C sem realizar muda, mas não houve referências à diapausa como fator determinante do processo. Já GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1986), HUELI (1987), DAUTEL & KNÜLLE (1998) e FOURIE *et al.* (2001), em experimentos com *A. triguttatum triguttatum*, *R. bursa*, *A. reflexus* e *I. rubicundus*, respectivamente, sugeriram que o retardo dos períodos de muda na presença de condições adversas foi determinado pela diapausa morfogenética, evidenciando que as diferentes espécies de ixodídeos e até mesmo argasídeos adotam estratégias semelhantes para garantir a sobrevivência sob baixas temperaturas.

Em temperaturas elevadas, no entanto, ocorreu processo oposto, com aceleração do metabolismo levando ao aumento da perda de água e, consequentemente, à morte dos espécimes por desidratação, situação semelhante à constatada com larvas ingurgitadas, no experimento anterior. No entanto, as ninfas ingurgitadas se mostraram mais resistentes que larvas ingurgitadas à ação do calor, mantendo-se vivas por períodos superiores a 10 dias sob temperatura constante de 44°C. Em estudos futuros, seria interessante a transferência de ninfas ingurgitadas para condições ideais após prolongada exposição a 44°C, simulando situações passíveis de ocorrer sob condições de campo, para verificar a capacidade destas em recuperar a água perdida e efetuar o processo de muda. Nas Tabelas 17 a 20 são apresentados os parâmetros relativos aos processos de muda de adultos e de machos e fêmeas isoladamente, bem como os resultados das análises estatísticas comparando cada parâmetro em cada temperatura e confrontando machos e fêmeas, na mesma temperatura. Iniciando-se com uma análise isolada dos adultos (englobando machos e fêmeas) mantidos sob 27°C, verifica-se que

os períodos de pré-ecdise (12,50 dias), de ecdise (2,50 dias) e de muda (13,81 dias), além do percentual de ecdise (99,00%), foram similares aos registros da literatura sob condições semelhantes (OLIVIERI & SERRA FREIRE, 1984b; DAEMON & ISHIZUKA, 1995; PRATA *et al.*, 1996, 1998), evidenciando que a amostra utilizada no presente experimento encontra-se dentro dos padrões estabelecidos para a espécie no tocante ao processo de muda ninfal, permitindo uma adequada avaliação dos efeitos dos tratamentos térmicos nos diferentes grupos experimentais.

Avaliando-se os períodos de pré-ecdise, tanto de adultos em geral, quanto de machos e fêmeas isoladamente (Tabela 17), verifica-se que, da mesma forma que ocorreu com larvas ingurgitadas, houve uma tendência de aceleração do processos com a elevação da temperatura de 15 (com médias superiores a 100 dias) até 38°C (aproximadamente nove dias, nas três categorias); passando-se de 38 para 41°C, no entanto, o período voltou a se prolongar (entre 12 e 13 dias), evidenciando que, embora seja possível a ocorrência do processo, a temperatura de 41°C não é adequada para a realização de muda de ninfas ingurgitadas. Comparando-se machos e fêmeas na mesma temperatura, observa-se que os períodos foram significativamente mais curtos para machos em todas as temperaturas, com exceção de 15°C, onde houve equilíbrio entre os sexos. Já os períodos de ecdise (Tabela 18) foram estatisticamente iguais entre machos e fêmeas em todas as temperaturas; semelhantes estatisticamente, ainda, foram as médias obtidas entre os grupos experimentais de 27 a 38°C (por volta de dois dias), embora o valor registrado a 15°C tenha sido significativamente superior, nas três categorias (sete a 12 dias, aproximadamente). Estes resultados evidenciam que este

parâmetro só é significativamente afetado em temperaturas extremas, enquanto sob temperaturas próximas à ideal, é determinado principalmente pelo tamanho da unidade experimental, o que pode ser comprovado pelo registro de PRATA *et al.* (1998), em que foi obtido, a 27°C, período de 5,67 dias, em média, para a realização de ecdise em grupos de 50 ninfas ingurgitadas.

O comportamento observado para o período de muda de adultos e de machos e fêmeas nas diferentes temperaturas (Tabela 19) foi semelhante ao do período de pré-ecdise, com valores elevados a 15°C (acima de 100 dias), seguidos de decréscimo acentuado a 27°C (por volta de 13 dias), caracterizando aceleração do processo metabólico, com redução também para 35 e 38°C (aproximadamente 10 dias) e nova elevação a 41°C, confirmando que esta temperatura não é favorável ao processo de muda de ninfas ingurgitadas de *A. cajennense*. Entre sexos o comportamento também se manteve, com períodos significativamente mais curtos para machos nas temperaturas de 27 a 41°C e estabilidade a 15°C, evidenciando que a redução da taxa metabólica equilibrou os períodos relativos à muda nos dois sexos.

Assim como observado para larvas ingurgitadas, os percentuais de ecdise de adultos obtidos a 27, 35 e 38°C foram estatisticamente semelhantes e próximos a 100% (Tabela 20), caracterizando um bom desempenho biológico desta fase do ciclo nestas temperaturas, o que já era esperado, por se tratar de espécie típica de países tropicais. Sob 15°C foi obtido percentual significativamente inferior (76,50%) fato que, aliado à não ocorrência de ecdise a 9 e 12°C, evidencia que a temperatura base para o processo de muda ninhal de *A. cajennense* está entre 12 e 15°C. O baixo percentual de ecdise

obtido a 41°C (54,50%) corrobora as observações anteriores, referentes à ação prejudicial desta temperatura para esta fase do ciclo, sendo estabelecido que o limite térmico superior para a muda de ninfas de *A. cajennense* está entre 41 e 44°C, uma vez que não foi possível a realização de ecdise nesta última temperatura. Assim como destacado no experimento anterior, deve-se ressaltar a necessidade de realização de estudos constantes para monitorar estes parâmetros, que são suscetíveis a modificações no decorrer do tempo, principalmente os relacionados a limites térmicos superiores, devido à grande probabilidade de sofrerem alterações determinadas pelo aquecimento global.

Entre machos e fêmeas foram obtidos percentuais de ecdise estatisticamente semelhantes nas temperaturas de 15, 27, 35 e 41°C, o que já era esperado, pois os grupos foram compostos por ninfas ingurgitadas desprendidas no quarto dia pós-infestação, quando as proporções de machos e fêmeas são semelhantes (PRATA *et al.*, 1998). Não foi possível determinar, à luz da literatura, a razão da obtenção significativamente maior de fêmeas a 38°C. No entanto, deve-se ressaltar que há a possibilidade, ainda que reduzida (inferior a 5%) de que este fato tenha ocorrido ao acaso.

As curvas relativas aos ritmos de ecdise de adultos, de machos e de fêmeas (Figuras 14 a 18) obtidas sob 27, 35 e 38°C apresentaram comportamento semelhante, com percentual baixo no primeiro dia, seguido de elevação acentuada nos dias subseqüentes e relativa estabilidade no final do processo, situação análoga à observada para larvas ingurgitadas, evidenciando que os ritmos de ecdise constituem um padrão

para a espécie sob temperaturas próximas à ideal. Em temperaturas extremas, no entanto (15 e 41°C), as curvas foram mais suaves, caracterizando a lentidão do processo a 15°C e o menor número de ecdises a 41°C, tanto para adultos em geral, quanto para machos e fêmeas isoladamente.

A análise de todos estes parâmetros em conjunto evidencia que, do mesmo modo que ocorreu com larvas ingurgitadas, a elevação da temperatura de 15 até 38°C determinou a aceleração da taxa metabólica, principalmente entre 15 e 27°C,

encurtando o processo de muda ninfal de *A. cajennense*. Este encurtamento de períodos é extremamente benéfico à continuidade do ciclo biológico na natureza pois, quanto mais prolongada for a fase não parasitária, maiores são os riscos de ocorrência de algum fator impeditivo ao desenvolvimento do carapato, como a predação do espécime ou a alteração das condições meteorológicas. Entre 38 e 41°C, no entanto, esta tendência de aceleração foi quebrada devido à ação prejudicial da temperatura de 41°C sobre esta fase do ciclo biológico da espécie. O único registro da literatura relativo ao processo de muda ninfal de *A. cajennense* sob diferentes temperaturas controladas em laboratório é o de DAEMON & ISHIZUKA (1995), que sob temperaturas de 18, 27 e 32°C, observaram comportamento semelhante ao ora apresentado, com encurtamento de períodos conforme o aumento da temperatura, verificando-se diferenças mais acentuadas entre 18 em relação a 27 que entre 27 e 32°C, além de percentual de ecdise significativamente menor a 18°C (74,17%), em relação aos obtidos sob 27 e 32°C (95,83 e 96,67%, respectivamente). Os ritmos de ecdise também foram semelhantes aos ora apresentados, com elevação acentuada nos primeiros dias de ecdise sob 27 e 32°C, enquanto a 18°C o processo foi mais lento, obtendo-se curva mais suave.

Comparando-se os resultados ora apresentados com os registrados para larvas ingurgitadas no experimento anterior, constata-se que, embora larvas e ninfas tenham realizado muda nas mesmas faixas de temperatura, ninfas ingurgitadas demonstraram ser mais resistentes que larvas às variações de temperaturas, pois foram obtidos percentuais de ecdise mais expressivos nos limites do intervalo em relação aos do experimento I, além de se terem evidenciado períodos mais longos de sobrevivência de ninfas ingurgitadas nas temperaturas de 12 e 44°C, em comparação às larvas. Esta resistência maior de ninfas às condições adversas pode garantir a dispersão e o estabelecimento da espécie em regiões de condições meteorológicas distintas, através da estratégia de sincronizar o predomínio de ninfas e adultos durante as épocas em que as temperaturas são extremas, proporcionando a obtenção de ovos e larvas sob condições mais amenas. Outro aspecto que se evidencia ao se comparar os dois estágios refere-se aos períodos relativos ao processo de muda; embora tenham apresentado comportamento semelhante frente às variações de temperatura nos dois estágios, os períodos relativos à muda de larvas ingurgitadas foram numericamente inferiores, provavelmente devido ao tamanho menor destas e ao metabolismo mais complexo na muda para adultos, quando são diferenciadas as estruturas reprodutivas. CHILTON *et al.* (2000) também verificaram período de muda de larvas de *A. limbatum* mais curto que o de ninfas, atribuindo o fato ao menor peso corporal das larvas, necessitando de menos tempo para metabolizar o sangue ingerido. Ainda em concordância, embora parcialmente, com os resultados ora obtidos, os autores observaram que as ninfas foram capazes de efetuar muda em uma faixa de temperaturas mais ampla que larvas,

provavelmente porque o maior peso corporal das ninfas tenha lhes proporcionado uma maior capacidade de resistir à expressiva perda de água que ocorre na muda a altas temperaturas.

Com outros gêneros de carapatos também foram encontrados resultados correspondentes aos ora apresentados. DAVIS (1974a,b), com *H. leporispalustris*, verificou que a temperatura crítica se alterou conforme o estágio de desenvolvimento e o estado nutricional dos espécimes, atribuindo tais variações às contínuas mudanças sofridas pela epicutícula dos carapatos, com deposição e remoção de lipídios durante e após os processos de ingurgitamento, acarretando alterações na permeabilidade. Estas constatações levaram o autor a concluir que quanto maior a temperatura crítica de um espécime, maior é a sua capacidade de resistir à desidratação. HEATH (1981), trabalhando com *H. longicornis*, *I. holocyclus* e *R. sanguineus*, constatou a aceleração do processo de muda de acordo com a elevação da temperatura e o prolongamento de períodos sob condições adversas, destacando que a capacidade de realizar muda em uma faixa mais ampla se reflete no maior potencial de distribuição geográfica da espécie. Na mesma região geográfica do presente experimento, BELLATO & DAEMON (1997) verificaram a aceleração dos processos de muda de larvas e ninfas de *R. sanguineus* conforme a elevação da temperatura de 18 até 32°C e também encontraram períodos numericamente superiores para ninfas em relação a larvas, situação análoga à ora apresentada com *A. cajennense*.

Os períodos mais curtos de pré-ecdise e de muda de machos nas diferentes temperaturas do presente experimento, somados aos menores períodos de

ingurgitamento para ninfas que originaram machos (PRATA *et al.*, 1998), podem garantir o surgimento de machos de *A. cajennense* mais precocemente que fêmeas nas pastagens. No entanto, há a necessidade de estudos sob condições de campo para comprovar o fato, pois NTIAMOA-BAIDU (1987), com *R. simpsoni*, concluiu que as diferenças nos períodos de muda em relação ao sexo, embora tenham significado biológico, não se refletiram na atividade sazonal dos dois sexos, provavelmente porque estas desigualdades podem ter sido compensadas durante o processo de endurecimento da cutícula, que ocorre imediatamente após a muda e precede a busca dos ixodídeos pelo hospedeiro. De qualquer forma, está comprovado, a partir do momento, que o metabolismo para a obtenção de machos de *A. cajennense* é mais curto sob diferentes condições de temperatura, provavelmente porque as fêmeas necessitam de mais tempo para formar as estruturas reprodutivas que vão ser responsáveis pela produção de milhares de ovos. Há ainda a possibilidade de que os machos acelerem os processos de ingurgitamento e de muda devido à necessidade de um período maior para a maturação dos espermatozóides, estando aptos a copular com a fêmea com o surgimento mais tardio destas. Estudos específicos no futuro poderão solucionar os questionamentos apresentados.

Os registros da literatura evidenciam que os períodos de ingurgitamento e de muda em relação ao sexo variam de acordo com a espécie, citando-se por exemplo as pesquisas de KNIGHT *et al.* (1978), com *H. marginatum rufipes* e RECHAV & KNIGHT (1981), com *R. glabroscutatum*, que encontraram períodos de ingurgitamento e peso menores para as ninfas que deram origem a machos, embora os períodos de

muda tenham sido estatisticamente iguais para ambos os sexos. Já GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1985) constataram que, embora os períodos de ingurgitamento tenham sido semelhantes para ambos os sexos, ninfas de *A. triguttatum triguttatum* que deram origem a machos tiveram menor peso e necessitaram de menos tempo para realizar muda, em relação àquelas que originaram fêmeas, sendo este o fator responsável pelo surgimento de machos mais cedo na pastagem, situação que corresponde parcialmente à ora observada com *A. cajennense*. As diferenças encontradas nas publicações relativas ao assunto levaram os autores a identificar três tipos de comportamento em relação à muda: no primeiro tipo, que engloba a maioria das espécies de ixodídeos, as ninfas que dão origem a machos mudam em tempo mais curto em relação às que originam fêmeas, sendo incluídas neste grupo algumas espécies do gênero *Amblyomma* (e comprovando-se, a partir do momento, a inclusão da espécie *A. cajennense*); no segundo tipo as diferenças entre sexos quando ao período de muda não são significativas; e no terceiro grupo, mais raro, as ninfas que originam fêmeas têm período de muda menor e, portanto, surgem mais cedo nas pastagens.

Na Tabela 21 são apresentados os parâmetros relativos às exigências térmicas dos processos de muda para adultos em geral e separadamente para machos e fêmeas, com seis casas decimais, conforme preconizado por HADDAD & PARRA (1984), calculados pela análise de regressão linear, segundo o método de IKEMOTO & TAKAI (2000), que se mostrou mais adequado ao cálculo das exigências térmicas de carapatos (experimento II, deste capítulo). Pode-se verificar, a partir da análise da tabela, que nas três categorias (adultos, machos e fêmeas) foram obtidos coeficientes de

correlação superiores a 0,99, caracterizando o alto grau de dependência entre as variáveis transformadas e a relação linear entre estas, o que torna ainda mais confiáveis os valores calculados pelo método utilizado. De fato, foram obtidos valores próximos de 13°C para a temperatura base do processo de muda para adultos, machos e fêmeas, encontrando-se dentro do intervalo estabelecido experimentalmente (12 a 15°C). A constante térmica mais elevada para fêmeas (227,887189GD, para fêmeas e

216,220183GD, para machos) também está de acordo com o comportamento observado experimentalmente, em que as fêmeas necessitaram de mais tempo para realizar o processo de muda.

Embora o cálculo das exigências térmicas constitua prática de rotina entre entomologistas (BEAN, 1961; HADDAD & PARRA, 1984; AGUIAR-VALGODE & MILWARD-DE-AZEVEDO, 1992; MILWARD-DE-AZEVEDO *et al.*, 1995; QUEIROZ, 1996), esta é a primeira vez em que são calculadas as constantes térmicas relativas ao processo de muda ninfal de *A. cajennense*, não tendo sido encontrados na literatura valores referentes a carapatos heteroxenos para efetuar comparações. De posse dos valores obtidos para a temperatura base (*t*) e para a constante térmica (*k*) dos processos de muda para adultos, machos e fêmeas e dos dados climáticos de uma determinada região, pode-se estimar as épocas mais propícias à atividade de machos e fêmeas de *A. cajennense*, aplicando-se a equação $DT = k + tD$, onde 'T' é a temperatura média, em graus Celsius, do período a ser investigado e 'D' é o valor calculado, em dias, para a duração do processo de muda sob temperatura 'T', na região estudada. Associando-se os valores ora obtidos com os resultados do experimento anterior, relativos ao processo de muda larval e com as constantes térmicas dos processos de

postura e incubação, poder-se-á determinar o número de gerações de *A. cajennense* por ano em qualquer região, além de se obter dados sobre a flutuação estacional e a duração de cada processo relativo à fase não parasitária do ciclo, ao se avaliar estes dados em conjunto com os registros climáticos das diferentes regiões. Dessa forma, torna-se viável a formulação de estratégias de combate baseadas em alterações no manejo dos animais de acordo com os picos de cada estágio do ciclo biológico da espécie, conforme já constatado com *B. microplus* por De La VEGA & DÍAZ (1985a,b,c, 1986, 1987, 1992) e De La VEGA *et al.* (1988, 1993), com *B. annulatus*, por DAVEY (1988) e com *A. nitens* (De La VEGA & DÍAZ, 2000). É importante ressaltar, no entanto, que estes dados têm que ser atualizados constantemente através da realização de novos experimentos, pois o aquecimento global do planeta, bem como as transformações geradas pela ocupação humana, podem alterar significativamente a biologia das espécies e as médias climáticas das diferentes regiões.

b. Parâmetros relativos à sobrevivência de adultos

Nas Tabelas 22 a 24 são apresentados o período prévio à mortalidade, a longevidade e o período de mortalidade de adultos em geral e de machos e fêmeas de *A. cajennense* nos diferentes grupos experimentais, bem como os resultados das análises estatísticas comparando cada parâmetro em cada temperatura e confrontando machos e fêmeas na mesma temperatura. Pela análise das tabelas, verifica-se que médias significativamente mais elevadas para os três parâmetros, nas três categorias foram

obtidas na temperatura de 27°C (valores de aproximadamente 170, 270 e 90 dias para os três parâmetros, respectivamente). Somando-se a esta constatação o comportamento observado nos experimentos anteriores, confirma-se que a temperatura de 27°C é a mais adequada para o completo desenvolvimento do ciclo biológico de *A. cajennense* em laboratório. O prolongamento de períodos relativos à muda, o baixo percentual de

ecdise e os valores significativamente mais baixos para sobrevivência de machos e fêmeas sob temperatura de 15°C, aliados aos resultados obtidos por DAEMON & ISHIZUKA (1995) para a temperatura de 18°C, evidenciam que a espécie não está adaptada a baixas temperaturas, o que já era esperado, por se tratar de carapato típico de países tropicais. Sob 35 e 38°C, embora os percentuais de ecdise tenham sido próximos de 100%, os valores significativamente mais baixos para a sobrevivência de adultos de ambos os sexos de *A. cajennense* em relação aos verificados a 27°C, indicam algum efeito deletério destas temperaturas, provavelmente causando a desidratação dos espécimes. Sob 41°C, considerada temperatura crítica para a ocorrência do processo, confirma-se esta tendência ao se constatar a morte precoce de machos e fêmeas, com sinais evidentes de ressecamento. A análise comparativa de machos e fêmeas em cada tratamento térmico indicou uma certa estabilidade quanto à sobrevivência em ambos os sexos, com exceção das temperaturas de 38 e 41°C, onde os machos se mostraram significativamente mais resistentes que as fêmeas. Este fato pode gerar reflexos no processo de perpetuação da espécie, uma vez que cada exemplar macho é capaz de fecundar diversas fêmeas durante o período parasitário.

A análise das curvas obtidas para os ritmos de mortalidade de adultos em geral e de machos e fêmeas, em cada temperatura (Figuras 19 a 23), confirma o comportamento observado nas Tabelas 22 a 24. Enquanto sob 27°C foram necessárias por volta de 10 semanas após o início da mortalidade para se atingir a morte de 50% de machos e fêmeas, nas temperaturas de 15, 35 e 38°C, embora tenham sido necessários períodos significativamente diferentes para se finalizar a mortalidade, entre a terceira

e a quarta semanas já se registrava 50% de espécimes mortos nas três categorias. Sob 41°C o ritmo foi ainda mais acentuado, confirmando ser esta a temperatura crítica para a manutenção de ninfas ingurgitadas e adultos de *A. cajennense*. Embora os períodos relativos à sobrevivência de adultos sejam úteis para a avaliação do nível de contaminação das pastagens, o único registro encontrado na literatura para se efetuar comparações foi o de STREY *et al.* (1996). Mesmo com metodologia diferente, os autores verificaram redução nos períodos de sobrevivência de machos e fêmeas de *A. cajennense* sob temperaturas elevadas e destacaram que, apesar da capacidade de sobrevivência por longos períodos em jejum e da baixa especificidade parasitária, a dispersão geográfica da espécie é limitada devido à pouca tolerância ao frio, observações que encontram respaldo nos resultados ora apresentados.

Os resultados obtidos no presente experimento, sob condições de laboratório, embora não constituam uma reprodução fiel do que ocorre na natureza, onde interferem fatores bióticos e abióticos em intensidades variáveis, são fundamentais

para se estabelecer a capacidade de dispersão geográfica, bem como a dinâmica populacional da espécie, pois experimentos realizados a nível de laboratório refletem as condições a que os carapatos estão submetidos em seus habitats, conforme já foi constatado em outras espécies, por HEATH (1981), KOCH (1981), GUGLIELMONE & MOORHOUSE (1985) e CHILTON & BULL (2000).

3.5. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos nos experimentos I, II e III deste capítulo, referentes à relação entre o peso e o número de larvas e ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* em coelhos e aos processos de muda larval e ninfal sob diferentes temperaturas, pode-se concluir que:

1. Há possibilidade de conversão do peso em número de larvas e ninfas ingurgitadas em coelhos (50 larvas ingurgitadas = 38,2 mg; 50 ninfas ingurgitadas = 677,2 mg), facilitando estudos laboratoriais.
2. Ninfas ingurgitadas provenientes do dia modal de queda originam machos e fêmeas em proporções equivalentes.
3. Ninfas que dão origem a machos têm períodos de ingurgitamento e de muda mais curtos e peso menor que ninfas que originam fêmeas.

4. Os processos de muda larval e ninfal ocorrem em temperaturas acima de 12 até 41°C, sendo acelerados com a elevação da temperatura.
5. A temperatura de 15°C não é recomendada para retardar os processos de muda larval e ninfal em laboratório, porque reduz a eficiência destes.
6. As temperaturas de 35 e 38°C são adequadas para a realização dos processos de muda larval e ninfal, porém não são recomendadas para manutenção dos carapatos após a muda.
7. Machos são mais resistentes que fêmeas a temperaturas a partir de 38°C.
8. A temperatura de 27°C é considerada ideal para os processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense*, bem como para manutenção dos espécimes após a muda.

Tabela 1. Peso das fêmeas ingurgitadas e peso corrigido das fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Grupos					Teste estatístico	
	I	II	III	IV	V		
Peso das fêmeas ingurgitadas (mg)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	30 544,68 ^a ± 125,03 316,50-822,00	30 542,87 ^a ± 139,81 325,20-825,80	30 545,03 ^a ± 92,59 349,80-719,50	30 547,66 ^a ± 97,95 421,20-781,70	30 545,27 ^a ± 101,59 366,10-879,80	ANOVA
Peso corrigido das fêmeas ingurgitadas* (mg)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 544,35 ^a ± 125,26 316,50-822,00	28 544,17 ^a ± 143,99 325,20-825,80	28 544,72 ^a ± 94,97 349,80-719,50	27 543,30 ^a ± 94,21 421,20-781,70	27 543,14 ^a ± 105,40 366,10-879,80	ANOVA

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

* Calculado sem os pesos das fêmeas descartadas por morte precoce.

DP = Desvio padrão.

I = Fêmeas e ovos a 27°C.

II = Fêmeas a 27°C e ovos a 32°C.

III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C.

IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C.

V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 2. Períodos relativos à fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Grupos					Teste estatístico	
	I	II	III	IV	V		
Período de pré-postura (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 6,32 ^a ± 0,86 4,00-8,00	28 6,18 ^{ab} ± 0,94 4,00-8,00	28 6,39 ^a ± 0,88 5,00-9,00	27 5,89 ^{ab} ± 1,05 4,00-8,00	27 5,56 ^b ± 0,75 4,00-7,00	ANOVA Tukey-Kramer
Período de postura (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 27,78 ^a ± 4,18 21,00-35,00	28 28,46 ^a ± 5,80 17,00-43,00	28 19,39 ^b ± 4,35 11,00-27,00	27 30,33 ^a ± 6,71 19,00-43,00	27 19,56 ^b ± 4,10 14,00-29,00	Kruskal-Wallis Dunn
Sobrevivência da fêmea (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 52,54 ^{abc} ± 13,46 37,00-88,00	28 55,43 ^a ± 17,64 33,00-91,00	28 43,78 ^{bc} ± 13,35 19,00-90,00	27 54,26 ^{ab} ± 15,43 30,00-91,00	27 42,74 ^c ± 13,05 24,00-86,00	ANOVA Tukey-Kramer
Sobrevivência da fêmea após término da postura (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 18,43 ^a ± 14,91 4,00-61,00	28 20,78 ^a ± 16,92 2,00-57,00	28 18,00 ^a ± 14,63 1,00-70,00	27 18,04 ^a ± 15,40 3,00-58,00	27 17,74 ^a ± 13,84 1,00-61,00	ANOVA

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

DP = Desvio padrão.

I = Fêmeas e ovos a 27°C.

II = Fêmeas a 27°C e ovos a 32°C.

III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (pp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C.

IV = Fêmeas a 32°C (pp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C.

V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 3. Parâmetros relativos à postura de fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Grupos					Teste estatístico	
	I	II	III	IV	V		
Peso da postura (mg)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 315,97 ^a ± 71,32 180,20-463,20	28 315,77 ^a ± 97,32 162,80-507,60	28 285,22 ^a ± 80,56 103,60-425,80	27 281,01 ^a ± 74,83 144,40-447,10	27 274,22 ^a ± 58,85 159,10-384,10	ANOVA
Índice de eficiência reprodutiva (%)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 58,36 ^a ± 5,11 40,11-65,77	28 57,81 ^a ± 7,21 34,73-66,81	28 51,76 ^b ± 9,29 27,66-66,19	27 51,78 ^b ± 10,12 22,71-63,43	27 50,89 ^b ± 8,45 34,32-62,02	Kruskal-Wallis Dunn
Peso da quenórgina (mg)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 136,08 ^c ± 57,73 70,20-362,40	28 136,58 ^{ac} ± 44,54 75,60-221,30	28 168,46 ^b ± 36,32 105,30-235,00	27 161,40 ^{bc} ± 59,53 85,00-398,00	27 176,31 ^{ab} ± 63,64 99,70-388,80	Kruskal-Wallis Dunn
Perda de peso da fêmea (mg)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 402,38 ^a ± 100,74 168,40-582,10	28 407,59 ^a ± 116,10 237,20-654,80	28 376,26 ^a ± 92,28 153,10-544,00	27 381,90 ^a ± 85,51 237,90-590,40	27 366,83 ^a ± 73,91 246,00-497,30	ANOVA
Índice de eficiência nutricional (%)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	28 77,44 ^a ± 3,65 68,68-84,17	28 77,15 ^a ± 6,38 60,80-86,87	28 75,34 ^a ± 7,72 44,75-86,83	27 73,14 ^a ± 7,83 49,83-86,86	27 74,70 ^a ± 5,98 62,18-84,51	Kruskal-Wallis

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

DP = Desvio padrão.

I = Fêmeas e ovos a 27°C.

II = Fêmeas a 27°C e ovos a 32°C.

III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C.

IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C.

V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre o peso da fêmea ingurgitada e o peso da postura e entre a perda de peso da fêmea e o peso da postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Coeficiente de correlação	Grupos				
	I	II	III	IV	V
Peso da fêmea x peso da postura	0,8819	0,9233	0,8510	0,6107	0,6140
Perda de peso da fêmea x peso da postura	0,9188	0,9698	0,9504	0,9073	0,9213

Todas as correlações foram extremamente significativas ($p \leq 0,0007$).

I = Fêmeas e ovos a 27°C.

II = Fêmeas a 27°C e ovos a 32°C.

III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C.

IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C.

V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 5. Períodos de incubação relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Dias após dia modal de início de postura	$\bar{x} \pm DP$	Período de incubação			
		I	III	IV	V
1º ao 5º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $30,80^{bA} \pm 1,06$	n 20 $31,90^{abB} \pm 0,97$	n 20 $33,30^{aA} \pm 1,87$	n 20 $32,90^{abB} \pm 0,85$
6º ao 10º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $28,80^{dB} \pm 0,70$	n 20 $31,10^{bB} \pm 0,64$	n 20 $30,40^{cBC} \pm 0,50$	n 20 $32,35^{abB} \pm 0,88$
11º ao 15º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $29,00^{cB} \pm 1,17$	n 20 $32,00^{bB} \pm 0,97$	n 20 $29,65^{cC} \pm 0,81$	n 20 $33,20^{abB} \pm 1,47$
16º ao 20º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $28,80^{bB} \pm 0,70$	n 20 $35,75^{aA} \pm 2,10$	n 20 $29,80^{bc} \pm 0,62$	n 20 $36,70^{aA} \pm 2,39$
21º ao 25º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $30,75^{bA} \pm 1,58$	n 16 $37,50^{aA} \pm 0,52$	n 20 $30,25^{bBC} \pm 0,79$	n 4 $38,50^* \pm 0,58$
26º ao 30º	$\bar{x} \pm DP$	n 20 $32,85^{aA} \pm 1,46$	Não houve eclosão	n 20 $31,40^{bAB} \pm 1,43$	Não houve eclosão
31º ao 33º	$\bar{x} \pm DP$	n 12 $31,67^{aA} \pm 0,49$	Não houve eclosão	n 12 $31,42^{aAB} \pm 0,90$	Não houve eclosão
1º ao último	$\bar{x} \pm DP$	n 132 $30,29^b \pm 1,86$	n 96 $33,49^a \pm 2,71$	n 132 $30,86^b \pm 1,62$	n 84 $34,01^a \pm 2,45$

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre períodos.

Testes estatísticos: ANOVA, Tukey-Kramer; Kruskal-Wallis, Dunn; teste “t” de Student; Mann-Whitney.

DP = Desvio padrão; * Número insuficiente de dados para análise estatística.

I = Fêmeas e ovos a 27°C; III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C; IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C; V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 6. Percentuais de eclosão relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Dias após dia modal de início de postura		Percentual de eclosão				
		I	II	III	IV	V
1º ao 5º	n $\bar{x} \pm DP$	20 92,45 ^{aA} ± 6,26	20 0 ^{c+}	20 72,25 ^{bA} ± 10,32	20 34,90 ^{bBC} ± 33,60	20 72,50 ^{bA} ± 5,96
6º ao 10º	n $\bar{x} \pm DP$	20 95,20 ^{aA} ± 3,27	20 0 ^{c+}	20 71,50 ^{bA} ± 8,75	20 95,10 ^{aA} ± 2,12	20 54,50 ^{bcAB} ± 17,98
11º ao 15º	n $\bar{x} \pm DP$	20 94,25 ^{aA} ± 3,40	20 0 ^{c+}	20 57,50 ^{bB} ± 12,72	20 95,05 ^{aA} ± 3,03	20 34,00 ^{bcBC} ± 13,44
16º ao 20º	n $\bar{x} \pm DP$	20 94,55 ^{aA} ± 4,21	20 0 ^{c+}	20 17,75 ^{bC} ± 11,69	20 92,75 ^{aA} ± 5,16	20 15,55 ^{bCD} ± 9,83
21º ao 25º	n $\bar{x} \pm DP$	20 72,00 ^{aAB} ± 21,42	20 0 ^{b+}	20 3,60 ^{bD} ± 2,44	20 69,75 ^{aAB} ± 16,58	20 1,30 ^{bDE} ± 2,75
26º ao 30º	n $\bar{x} \pm DP$	20 24,15 ^{aBC} ± 16,46	20 0 ^{b+}	12 0 ^{bE}	20 21,05 ^{aBCD} ± 11,72	20 0 ^{bE}
31º ao 35º	n $\bar{x} \pm DP$	20 6,00 ^{aC} ± 8,74	20 0 ^{b+}	Não houve postura	20 6,50 ^{aCD} ± 9,21	Não houve postura
36º a 40º	n $\bar{x} \pm DP$	4 0 ^{**}	20 0 ^{**}	Não houve postura	20 0 ^{*D}	Não houve postura
41º a 45º	n $\bar{x} \pm DP$	Não houve postura	16 0 ^{**}	Não houve postura	20 0 ^{*D}	Não houve postura

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre períodos.

Testes estatísticos: ANOVA, Tukey-Kramer; Kruskal-Wallis, Dunn. * Análise estatística não realizada entre grupos experimentais;

DP = Desvio padrão; ^aAnálise estatística não realizada entre períodos; ^bAnálise estatística não realizada entre períodos e entre grupos.

I = Fêmeas e ovos a 27°C; II = Fêmeas a 27°C e ovos a 32°C; III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C; IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C; V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 7. Períodos de eclosão relativos ao dia modal de início de postura de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Dias após dia modal de início de postura	Período de eclosão				
	I	III	IV	V	
1º ao 5º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $8,90^{aA} \pm 1,29$	20 $8,20^{abA} \pm 1,47$	20 $6,65^{bBC} \pm 2,60$	20 $9,40^{aA} \pm 1,23$
6º ao 10º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $9,20^{aA} \pm 1,10$	20 $8,45^{abA} \pm 1,05$	20 $9,00^{abA} \pm 1,45$	20 $7,95^{bB} \pm 1,50$
11º ao 15º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $9,35^{aA} \pm 1,14$	20 $8,60^{abA} \pm 1,14$	20 $8,35^{bcAB} \pm 0,93$	20 $7,55^{cB} \pm 1,43$
16º ao 20º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $8,85^{aA} \pm 0,93$	20 $5,90^{bcB} \pm 1,89$	20 $7,55^{abAB} \pm 0,82$	20 $5,95^{ccC} \pm 1,85$
21º ao 25º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $8,20^{aA} \pm 1,00$	16 $3,38^{cB} \pm 0,88$	20 $6,95^{bBC} \pm 1,54$	4 $6,50^* \pm 1,73$
26º ao 30º	n $\bar{x} \pm DP$	20 $5,35^{aB} \pm 1,90$	Não houve Eclosão	20 $5,10^{aCD} \pm 1,55$	Não houve Eclosão
31º ao 33º	n $\bar{x} \pm DP$	12 $3,33^{aB} \pm 1,30$	Não houve Eclosão	12 $2,92^{aD} \pm 1,08$	Não houve Eclosão
1º ao último	n $\bar{x} \pm DP$	132 $7,86^a \pm 2,31$	96 $7,05^b \pm 2,35$	132 $6,87^b \pm 2,31$	84 $7,61^{ab} \pm 1,95$

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre períodos.

Testes estatísticos: ANOVA, Tukey-Kramer; Kruskal-Wallis, Dunn; teste "t" de Student.

DP = Desvio padrão; * Número insuficiente de dados para análise estatística.

I = Fêmeas e ovos a 27°C; III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (pp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C; IV = Fêmeas a 32°C (pp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C; V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 8. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas de *Amblyomma cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Grupos					Teste estatístico
	I	III	IV	V		
Período prévio à mortalidade de larvas (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	30 62,50 ^a ± 5,89 53,00-75,00	30 58,63 ^{ab} ± 5,82 47,00-70,00	30 54,23 ^b ± 7,34 41,00-68,00	30 56,40 ^b ± 3,78 51,00-63,00	Kruskal-Wallis Dunn
Longevidade larval (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	30 160,50 ^a ± 14,95 131,00-185,00	30 157,80 ^a ± 16,81 118,00-180,00	30 154,80 ^{ab} ± 17,07 103,00-173,00	30 146,00 ^b ± 14,25 113,00-175,00	ANOVA Tukey-Kramer
Período de mortalidade de larvas (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	30 98,00 ^{ab} ± 14,12 70,00-126,00	30 99,17 ^a ± 17,54 63,00-119,00	30 100,57 ^a ± 17,58 49,00-119,00	30 89,60 ^b ± 13,93 56,00-119,00	ANOVA Tukey-Kramer

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

DP = Desvio padrão.

I = Fêmeas e ovos a 27°C.

III = Fêmeas a 27°C durante período de pré-postura (ppp) e a 32°C durante período de postura (pp); ovos a 27°C.

IV = Fêmeas a 32°C (ppp) e a 27°C (pp); ovos a 27°C.

V = Fêmeas a 32°C e ovos a 27°C.

Tabela 9. Parâmetros relativos à eclosão larval de *Amblyomma cajennense* sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C.

Parâmetro	Grupos								Teste estatístico
	Controle para grupos 1 e 2		1	2	Controle para grupos 3 a 5		3	4	
	n	10	10	10	10	10	5		
Período de incubação (dias)	$\bar{x} \pm DP$	32,50 ^b ± 0,53	32,70 ^b ± 0,48	39,00 ^a ± 1,41	32,40 ^b ± 0,52	41,20 ^a ± 1,93	50,20 ^a ± 2,78	Não houve eclosão	Kruskal-Wallis Dunn
Percentual de eclosão (%)	$\bar{x} \pm DP$	90,90 ^a ± 2,77	90,20 ^a ± 3,39	15,80 ^b ± 7,58	91,20 ^a ± 3,16	5,20 ^c ± 2,66	0,90 ^d ± 1,10	10 0 ^d	ANOVA Tukey-Kramer
Período de eclosão (dias)	$\bar{x} \pm DP$	9,00 ^a ± 0,82	9,20 ^a ± 0,79	4,90 ^b ± 1,60	8,50 ^a ± 0,71	3,80 ^b ± 0,92	1,40 ^a ± 0,55	Não houve eclosão	ANOVA Tukey-Kramer
	Limites	32,00-33,00	32,00-33,00	37,00-42,00	32,00-33,00	38,00-45,00	48,00-55,00		
	Limites	85,00-95,00	85,00-96,00	5,00-25,00	85,00-96,00	2,00-10,00	0,00-3,00		
	Limites	8,00-10,00	8,00-10,00	2,00-7,00	8,00-10,00	2,00-5,00	1,00-2,00		

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

Números dos grupos correspondentes aos dias de exposição a 32°C.

* Número insuficiente de dados para análise estatística.

DP = Desvio padrão.

Tabela 10. Parâmetros relativos à sobrevivência de larvas de *Amblyomma cajennense* sob 27°C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, após diferentes períodos de exposição dos ovos a 32°C.

Parâmetro	Grupos						Teste estatístico
	Controle para grupos 1 e 2	1	2	Controle para grupos 3 e 4	3	4	
Período prévio à mortalidade de larvas (dias)	n x ± DP Limites	10 55,20 ^a ± 1,23 53,00-57,00	10 50,40 ^{ab} ± 3,448 45,00-55,00	10 19,60 ^{bc} ± 4,79 15,00-30,00	10 55,10 ^a ± 1,66 53,00-57,00	10 6,90 ^c ± 2,60 3,00-10,00	5 0* 0*
Longevidade larval (dias)	n x ± DP Limites	10 165,80 ^a ± 14,11 141,00-183,00	10 150,50 ^{ab} ± 9,23 134,00-164,00	10 58,80 ^{bc} ± 17,48 36,00-90,00	10 165,70 ^a ± 8,14 151,00-176,00	10 13,00 ^c ± 4,57 5,00-19,00	5 0* 0*
Período de mortalidade de larvas (dias)	n x ± DP Limites	10 110,60 ^a ± 14,31 84,00-126,00	10 100,10 ^{ab} ± 8,76 84,00-112,00	10 39,20 ^{bc} ± 14,46 21,00-70,00	10 110,60 ^a ± 7,95 98,00-119,00	10 6,10 ^c ± 2,92 2,00-11,00	5 0* 0*

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

Números dos grupos correspondentes aos dias de exposição a 32°C.

* Número insuficiente de dados para análise estatística.

DP = Desvio padrão.

Tabela 11. Pesos médios de 20 grupos de 50 larvas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* a partir de infestações experimentais em coelhos.

Coelho	Peso de 50 larvas ingurgitadas (mg) $\bar{x} \pm DP$
1	37,60 ± 0,80
2	38,60 ± 1,10
3	38,30 ± 2,10
4	38,00 ± 1,60
5	38,20 ± 1,00
6	38,40 ± 2,00
Média	38,20 ± 1,50

As médias não diferiram estatisticamente a nível de 5% (ANOVA).

DP = Desvio padrão.

Tabela 12. Pesos médios de 13 grupos de 50 ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* a partir de infestações experimentais em coelhos.

Coelho	Peso de 50 ninfas ingurgitadas (mg) $\bar{x} \pm DP$
1	656,40 ^b ± 53,50
2	735,60 ^a ± 45,40
3	665,60 ^b ± 32,90
4	640,90 ^b ± 30,50
5	644,30 ^b ± 40,80
6	720,10 ^a ± 42,40
Média	677,20 ± 54,90

Médias seguidas de letras iguais não diferiram estatisticamente a nível de 5% (ANOVA e teste de Tukey).

DP = Desvio padrão.

Tabela 13. Parâmetros relativos ao processo de muda larval de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Temperatura (°C)							Teste estatístico
	12	15	27	35	38	41	44	
Período de pré-ecdise (dias)	n x ± DP Limites	Não houve ecdise	20 60,60 ^a ± 2,85 57,00-69,00	20 9,20 ^b ± 0,41 9,00-10,00	20 7,40 ^c ± 0,50 7,00-8,00	20 6,80 ^c ± 0,41 6,00-7,00	4 10,75* ± 1,71 9,00-13,00	Não houve ecdise Kruskal-Wallis Dunn
Período de ecdise (dias)	n x ± DP Limites	Não houve ecdise	20 8,25 ^a ± 4,19 1,00-20,00	20 4,60 ^{ab} ± 2,42 1,00-12,00	20 3,15 ^{bc} ± 2,13 1,00-10,00	20 2,40 ^c ± 1,05 1,00-5,00	4 1,00* ± 0,00 1,00-1,00	Não houve ecdise Kruskal-Wallis Dunn
Período de muda (dias)	n x ± DP Limites	Não houve ecdise	20 64,11 ^a ± 2,88 59,33-72,50	20 10,77 ^b ± 0,61 9,70-12,11	20 8,61 ^c ± 0,47 7,86-10,00	20 7,87 ^c ± 0,39 7,20-8,40	4 10,75* ± 1,71 9,00-13,00	Não houve ecdise Kruskal-Wallis Dunn
Percentual de ecdise (%)	n x ± DP Limites	20 0 ^c	20 43,00 ^b ± 20,29 10,00-80,00	20 95,00 ^a ± 6,88 80,00-100,00	20 93,00 ^a ± 8,64 70,00-100,00	20 96,50 ^a ± 5,87 80,00-100,00	20 2,50 ^c ± 5,50 0,00-20,00	20 0 ^c ANOVA Tukey-Kramer

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

Unidade experimental = 10 larvas ingurgitadas.

* Número insuficiente de dados para análise estatística.

DP = Desvio padrão.

Tabela 14. Parâmetros relativos às exigências térmicas do processo de muda larval de *Amblyomma cajennense* em laboratório sob umidade relativa superior a 80% e escotofase, calculados por dois métodos distintos.

Parâmetro	Método de BEAN (1961)	Método de IKEMOTO & TAKAI (2000)
Coeficiente de correlação (r)	0,983487	0,998361
Temperatura base (°C)	10,481196	12,046769
Constante térmica (GD)	207,802226	188,064296
Equação da reta	$1000/T = -50,438324 + 4,812268T$	$DT = 188,064296 + 12,046769D$

T = Temperatura (°C).

D = Duração do período de muda na temperatura 'T'.

Tabela 15. Parâmetros relativos à sobrevivência de ninfas de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Temperaturas (°C)					Teste estatístico	
	15	27	35	38	41		
Período prévio à mortalidade (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	30 35,00 ^c ± 16,96 15,00-95,00	20 132,90 ^a ± 23,71 109,00-166,00	20 62,55 ^b ± 4,78 56,00-71,00	20 35,15 ^c ± 7,42 29,00-50,00	4 0 [*]	Kruskal-Wallis Dunn
Longevidade ninfa (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	20 155,75 ^b ± 55,39 62,00-243,00	20 284,80 ^a ± 33,92 215,00-320,00	20 142,00 ^b ± 14,97 112,00-169,00	20 85,55 ^c ± 3,47 78,00-92,00	4 0 [*]	Kruskal-Wallis Dunn
Período de mortalidade de ninfas (dias)	n $\bar{x} \pm DP$ Limites	20 120,75 ^{ab} ± 61,65 0,00-210,00	20 151,90 ^a ± 32,37 105,00-210,00	20 79,45 ^b ± 15,11 56,00-112,00	20 50,40 ^c ± 7,39 35,00-63,00	4 0 [*]	Kruskal-Wallis Dunn

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

Unidade experimental = 10 larvas ingurgitadas.

* Número insuficiente de dados para análise estatística.

DP = Desvio padrão.

Tabela 16. Períodos de sobrevivência de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* que não foram capazes de realizar muda sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Parâmetro	Temperaturas (°C)					Teste estatístico	
	9	12	15	41	44		
Período de sobrevivência (dias)	n x ± DP Limites	20 73,50 ^{b,c} ± 5,97 59,50-87,50	20 172,20 ^a ± 21,73 137,20-212,80	16 114,98 ^{a,b} ± 5,10 106,00-124,50	20 17,22 ^{c,d} ± 1,05 15,14-19,00	20 10,97 ^d ± 1,26 8,20-13,20	Kruskal-Wallis Dunn

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente a nível de 5%.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 17. Períodos de pré-ecdise, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico
	15	27	35	38	41	
Adultos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	104,70 ^a ± 2,74	12,50 ^b ± 0,61	9,05 ^c ± 0,39	8,95 ^c ± 0,51	12,50 ^b ± 0,69
	Limites	99,00-109,00	12,00-14,00	8,00-10,00	8,00-10,00	11,00-14,00
Machos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	106,10 ^{aA} ± 3,66	12,55 ^{BB} ± 0,69	9,15 ^{cB} ± 0,49	9,05 ^{cB} ± 0,51	12,42 ^{BB} ± 0,61
	Limites	99,00-112,00	12,00-14,00	8,00-10,00	8,00-10,00	11,00-13,00
Fêmeas						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	106,65 ^{aA} ± 3,63	13,25 ^{bA} ± 0,64	9,70 ^{cA} ± 0,47	9,55 ^{cA} ± 0,60	13,94 ^{bA} ± 1,14
	Limites	100,00-115,00	12,00-14,00	9,00-10,00	8,00-10,00	13,00-16,00
Teste estatístico	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	Mann Whitney	

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 18. Períodos de ecdise, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico
	15	27	35	38	41	
Adultos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	12,30 ^a ± 3,26	2,50 ^{bc} ± 0,69	2,00 ^b ± 0,79	2,35 ^{bc} ± 0,67	3,45 ^c ± 1,36
	Limites	7,00-18,00	1,00-4,00	1,00-4,00	1,00-4,00	1,00-6,00
Machos		20	20	20	20	Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	19	
	$\bar{x} \pm DP$	7,75 ^{aA} ± 3,73	1,75 ^{bA} ± 0,64	1,10 ^{bA} ± 0,31	1,35 ^{bA} ± 0,67	2,10 ^{bA} ± 1,20
	Limites	0,00-13,00	1,00-3,00	1,00-2,00	1,00-3,00	0,00-4,00
Fêmeas		20	20	20	17	Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	17	
	$\bar{x} \pm DP$	10,00 ^{aA} ± 3,46	1,75 ^{bA} ± 0,55	1,35 ^{bA} ± 0,59	1,70 ^{bA} ± 0,66	2,00 ^{bA} ± 1,54
	Limites	3,00-16,00	1,00-3,00	0,00-2,00	1,00-3,00	0,00-5,00
Teste estatístico	"t" de Student	"t" de Student	Mann Whitney	"t" de Student	"t" de Student	

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 19. Períodos de muda, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico
	15	27	35	38	41	
Adultos						
	n	20	20	20	20	20
	$\bar{x} \pm DP$	110,53 ^a ± 2,91	13,81 ^b ± 0,29	10,02 ^c ± 0,26	10,06 ^c ± 0,25	14,06 ^b ± 0,78
	Limites	104,30-115,00	13,20-14,30	9,40-10,60	9,80-10,70	12,60-15,67
Machos						
	n	20	20	20	20	19
	$\bar{x} \pm DP$	110,00 ^{aA} ± 2,95	13,50 ^{bB} ± 0,37	9,76 ^{cB} ± 0,32	9,79 ^{cB} ± 0,37	13,48 ^{bB} ± 0,70
	Limites	105,28-115,00	13,00-14,28	9,33-10,33	9,25-10,60	12,20-15,00
Fêmeas						
	n	20	20	20	20	17
	$\bar{x} \pm DP$	111,41 ^{aA} ± 3,93	14,12 ^{bA} ± 0,41	10,27 ^{cA} ± 0,34	10,28 ^{cA} ± 0,25	14,88 ^{abA} ± 0,95
	Limites	102,00-118,00	13,00-14,86	9,50-11,00	10,00-11,00	13,67-17,00
Teste estatístico	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 20. Percentuais de ecdise de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperatura (°C)							
	9	12	15	27	35	38	41	44
Adultos	n x ± DP Limites	20 0° 40,00-100,00	20 76,50 ^b ± 15,65 40,00-100,00	20 99,00 ^a ± 3,08 90,00-100,00	20 98,50 ^a ± 3,66 90,00-100,00	20 98,50 ^a ± 3,66 90,00-100,00	20 54,50 ^b ± 16,38 30,00-90,00	20 0° 30,00-90,00
Machos	n x ± DP Limites	20 0 ^{d*} 10,00-70,00	20 36,00 ^{bCA} ± 14,65 10,00-70,00	20 52,50 ^{aA} ± 15,52 30,00-80,00	20 48,50 ^{abA} ± 17,85 20,00-90,00	20 44,00 ^{abcB} ± 14,29 20,00-70,00	20 31,50 ^{cA} ± 13,87 0,00-50,00	20 0 ^{d*} 0,00-50,00
Fêmeas	n x ± DP Limites	20 0 ^{c*} 20,00-70,00	20 40,50 ^{aA} ± 14,68 20,00-70,00	20 46,50 ^{aA} ± 16,31 20,00-70,00	20 50,00 ^{aA} ± 18,06 10,00-80,00	20 54,50 ^{aA} ± 13,56 30,00-80,00	20 23,00 ^{bA} ± 15,59 0,00-50,00	20 0 ^{c*} 0,00-50,00
Teste estatístico	*	*	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	*

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Testes estatísticos entre grupos: Kruskal-Wallis, Dunn (adultos); ANOVA, Tukey-Kramer (machos e fêmeas).

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

* Análise estatística não realizada entre sexos.

Tabela 21. Parâmetros relativos às exigências térmicas dos processos de muda para adultos e para machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* em laboratório sob umidade relativa superior a 80% e escotofase, calculados pelo método de IKEMOTO & TAKAI (2000).

Parâmetro	Adultos	Machos	Fêmeas
Coeficiente de correlação (r)	0,999322	0,999374	0,999303
Temperatura base (°C)	12,978550	13,025091	12,944491
Constante térmica (GD)	222,359452	216,220183	227,887189
Equação da reta	DT = 222,359452 + 12,978550D	DT = 216,220183 + 13,025091D	DT = 227,887189 + 12,944491D

T = Temperatura (°C).

D = Duração do período de muda na temperatura 'T'.

Tabela 22. Período prévio à mortalidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico
	15	27	35	38	41	
Adultos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	23,15 ^{cd} ± 3,95	168,40 ^a ± 28,90	53,90 ^{ab} ± 5,82	42,80 ^{bc} ± 11,20	8,35 ^d ± 1,35
	Limites	16,00-35,00	141,00-219,00	47,00-69,00	27,00-56,00	6,00-11,00
Machos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	26,45 ^{cA} ± 13,46	186,20 ^{aA} ± 37,10	57,30 ^{bA} ± 7,30	55,65 ^{bA} ± 15,23	9,53 ^{cA} ± 1,17
	Limites	14,00-76,00	141,00-261,00	47,00-69,00	27,00-83,00	7,00-11,00
Fêmeas						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	23,70 ^{cdA} ± 5,71	179,55 ^{aA} ± 41,30	58,90 ^{abA} ± 10,50	44,30 ^{bcB} ± 10,01	7,53 ^{dB} ± 2,04
	Limites	16,00-42,00	141,00-296,00	47,00-83,00	26,00-55,00	4,00-12,00
Teste estatístico	Mann Whitney	"t" de Student	"t" de Student	Mann Whitney	Mann Whitney	

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 23. Longevidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico	
	15	27	35	38	41		
Adultos	N	20	20	20	20	20	Kruskal-Wallis Dunn
	$\bar{x} \pm DP$	87,00 ^b ± 33,29	280,40 ^a ± 32,96	111,30 ^b ± 14,15	78,50 ^b ± 9,04	15,35 ^c ± 3,34	
	Limites	30,00-130,00	206,00-304,00	69,00-125,00	55,00-97,00	10,00-19,00	
Machos	n	20	20	20	20	19	Kruskal-Wallis Dunn
	$\bar{x} \pm DP$	61,20 ^{bA} ± 35,39	275,80 ^{aA} ± 38,73	96,50 ^{bA} ± 18,70	78,40 ^{bA} ± 9,07	14,26 ^{cA} ± 3,66	
	Limites	17,00-126,00	185,00-304,00	68,00-125,00	55,00-97,00	9,00-19,00	
Fêmeas	n	20	20	20	20	17	Kruskal-Wallis Dunn
	$\bar{x} \pm DP$	81,35 ^{bA} ± 37,21	259,35 ^{aA} ± 40,21	102,30 ^{bA} ± 17,28	69,85 ^{bB} ± 9,36	11,18 ^{cB} ± 3,50	
	Limites	29,00-128,00	191,00-304,00	68,00-124,00	47,00-83,00	6,00-18,00	
Teste estatístico	Mann Whitney	"t" de Student	"t" de Student	Mann Whitney	Mann Whitney		

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

Tabela 24. Período de mortalidade, em dias, de adultos e de machos e fêmeas, isoladamente, de *Amblyomma cajennense* sob diferentes temperaturas, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Categoria	Temperaturas (°C)					Teste estatístico
	15	27	35	38	41	
Adultos						Kruskal-Wallis Dunn
	N	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	63,70 ^b ± 32,10	112,00 ^a ± 30,30	57,40 ^b ± 13,36	35,70 ^b ± 12,21	7,00 ^c ± 3,04
	Limites	10,00-105,00	49,00-161,00	21,00-77,00	21,00-70,00	1,00-11,00
Machos						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	34,75 ^{bb} ± 33,26	89,60 ^{aA} ± 40,73	39,20 ^{abA} ± 18,22	22,75 ^{bA} ± 13,41	4,74 ^{cA} ± 3,66
	Limites	0,00-105,00	7,00-161,00	7,00-70,00	7,00-49,00	0,00-11,00
Fêmeas						Kruskal-Wallis Dunn
	n	20	20	20	20	
	$\bar{x} \pm DP$	57,65 ^{abA} ± 36,68	79,80 ^{aA} ± 39,49	43,40 ^{abA} ± 22,44	25,55 ^{bA} ± 10,72	3,65 ^{cA} ± 3,46
	Limites	2,00-104,00	7,00-140,00	0,00-77,00	14,00-56,00	0,00-10,00
Teste estatístico	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	"t" de Student	

Letras minúsculas iguais na mesma linha indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre grupos experimentais.

Letras maiúsculas iguais na mesma coluna indicam ausência de diferenças significativas a nível de 5%, entre sexos.

Unidade experimental = 10 ninfas ingurgitadas.

DP = Desvio padrão.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise das diferentes fases do ciclo biológico de *A. cajennense* frente às variações de temperaturas, ao longo dos cinco experimentos apresentados, foi interessante observar que, enquanto o desenvolvimento embrionário é sensivelmente prejudicado pela exposição direta dos ovos a partir de 48 horas à temperatura de 32°C, larvas e ninhas conseguem obter êxito nos processos de muda a 38°C e ninhas ingurgitadas são capazes de se manter vivas por até 10 dias sob 44°C. Essa diversidade de respostas dos diferentes estágios às variações térmicas garante o sucesso no estabelecimento da espécie em países tropicais, pela estratégia de distribuição de larvas, ninhas e adultos em épocas do ano que apresentem condições mais propícias ao desenvolvimento de cada estágio (OLIVEIRA *et al.*, 2000).

Os resultados obtidos, já apresentados e discutidos no decorrer do texto, proporcionaram respostas a indagações que surgiram em experimentos anteriores (DAEMON & ISHIZUKA, 1992, 1995; PRATA, 1998) graças à manutenção da linha

de pesquisa do Laboratório de Ixodologia da UFRRJ, fundamentada no estudo dos efeitos de fatores abióticos sobre a biologia de carapatos de animais domésticos e silvestres. Por outro lado, foram levantados novos questionamentos que poderão ser respondidos em pesquisas futuras. Recomenda-se o estudo das diferentes etapas do desenvolvimento embrionário de *A. cajennense* em condições ideais e sob tratamentos térmicos deletérios; avaliação dos constituintes da casca do ovo e da cutícula de larvas e ninfas, bem como da hemolinfa nas diferentes situações estudadas; a reprodução do experimento II do capítulo I com temperaturas diferenciadas entre dia e noite; a determinação do poder infestante dos espécimes nas diferentes condições, entre outras pesquisas. Deve se ressaltar, ainda, que é constante a necessidade de realização de experimentos relativos à biologia e ecologia das diferentes espécies de carapatos em condições de laboratório e de campo, bem como da atualização dos dados climáticos das diversas regiões, pois as alterações geradas pela ocupação humana e pelo aquecimento global interferem na constituição dos ecossistemas, podendo haver reflexos na biologia das espécies. A partir dos resultados dos experimentos II e III do capítulo II sabe-se, por exemplo, que a temperatura crítica para os processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense*, no momento, é de 41°C. Mas, e no futuro, com o aquecimento global do planeta, qual será esta temperatura? A temperatura ideal para o desenvolvimento do ciclo biológico de ixodídeos tropicais continuará sendo a de 27°C? Estas e outras perguntas só poderão ser respondidas com a monitoração dos parâmetros biológicos de amostras de *A. cajennense* coletadas periodicamente na natureza.

Os resultados apresentados constituem, portanto, uma contribuição parcial para o entendimento da biologia de *A. cajennense* sob tratamentos térmicos diferenciados. A integração de pesquisas realizadas nas mais diversas partes do mundo, numa abordagem multidisciplinar, possibilitará a obtenção de informações adicionais sobre o mecanismo de atuação e a intensidade dos efeitos deletérios dos diferentes tratamentos térmicos, fornecendo base para a determinação do momento certo de se empregar as estratégias de controle mais adequadas para cada região, obtendo-se máxima eficiência ao se deparar com uma população de carapatos naturalmente enfraquecida.

5. CONCLUSÕES

A partir da análise dos resultados obtidos nos cinco experimentos, relativos aos processos de postura, eclosão, sobrevivência larval e mudas larval e ninfal de *A. cajennense* em laboratório, pode-se concluir que:

1. A manutenção da fêmea sob 32°C durante o período de postura reduz a conversão do sangue ingerido em ovos.
2. A permuta de temperaturas de 27 e 32°C durante os períodos de pré-postura e postura não altera o padrão de oviposição da espécie.
3. Quando fêmeas e ovos são mantidos sob temperatura constante de 27°C, os períodos de incubação dos ovos postos nos primeiros cinco dias e a partir do 21º dia são superiores aos dos demais.
4. Quando fêmeas e ovos são mantidos sob temperatura constante de 27°C, os percentuais de eclosão larval relativos aos ovos provenientes do primeiro, segundo e a partir do 22º dias de postura são inferiores aos dos demais.

5. A exposição de fêmeas a 32°C durante o período de pré-postura reduz o percentual de eclosão larval relativo aos ovos postos nos primeiros cinco dias.

6. A exposição de fêmeas a 32°C durante o período de postura eleva o período de incubação e reduz o percentual de eclosão larval relativo a toda a postura.

7. A manutenção de fêmeas a 32°C durante os períodos de pré-postura e postura reduz a longevidade de larvas eclodidas e mantidas a 27°C.

8. A exposição de ovos à temperatura de 32°C por períodos a partir de 48 h reduz o percentual de eclosão e a longevidade de larvas eclodidas e mantidas a 27°C.

9. A exposição dos ovos por cinco dias à temperatura de 32°C impede a eclosão larval, mesmo quando estes são transferidos para condições ideais.

10. Há possibilidade de conversão do peso em número de larvas e ninfas ingurgitadas em coelhos (50 larvas ingurgitadas = 38,2 mg; 50 ninfas ingurgitadas = 677,2 mg), facilitando estudos laboratoriais.

11. Ninfas ingurgitadas provenientes do dia modal de queda originam machos e fêmeas em proporções equivalentes.

12. Ninfas que dão origem a machos têm períodos de ingurgitamento e de muda mais curtos e peso menor que ninfas que originam fêmeas.

13. Os processos de muda larval e ninfal ocorrem em temperaturas acima de 12 até 41°C, sendo acelerados com a elevação da temperatura.

14. A temperatura de 15°C não é recomendada para retardar os processos de muda larval e ninfal em laboratório, porque reduz a eficiência destes.

15. As temperaturas de 35 e 38°C são adequadas para a realização dos processos de muda larval e ninfal, porém não são recomendadas para manutenção dos carapatos após a muda.

16. Machos são mais resistentes que fêmeas a temperaturas a partir de 38°C.

17. A temperatura de 27°C é considerada ideal para os processos de muda larval e ninfal de *A. cajennense*, bem como para manutenção dos espécimes após a muda.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR-VALGODE, M. & MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V. 1992.

Determination of thermal requirements of *Stomoxys calcitrans* (L.) (Diptera, Muscidae), under laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 87:11-20, suppl. I.

ARAGÃO, H.B. 1936. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 31(4):759-845.

BARROS-BATTESTI, D.M.; ONOFRIO, V.C.; SIMONS, S.M.; BONOLDI, V.L.N. & YOSHINARI, N.H. 2000. Oviposition and eclosion periods of *Ixodes didephidis* Fonseca and Aragão, 1951 (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 95(6):905-908.

BASTOS, K.M.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. & CUNHA, D.W. 1996. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a fase não parasitária de *Dermacentor (Anocentor) nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 5(1):29-32.

BEAN, J.L. 1961. Predicting emergence of second-instar spruce budworm larvae from hibernation under field conditions in Minnesota. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 54:175-177.

BELLATO, V. & DAEMON, E. 1997. Efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 6(1):21-27.

BELOZEROV, V.N. 1982. Diapause and biological rhythms in ticks. In: OBENCHAIN, F.D. & GALUN, R. *Physiology of ticks*. 1^a ed., Pergamon Press, Oxford, p. 469-500.

BENNETT, G.F. 1974a. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae). I. Influence of tick size on egg production. *Acarologia*, XVI(1):52-61.

BENNETT, G.F. 1974b. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae). II. Influence of temperature, humidity and light. *Acarologia, XVI*(2):250-257.

BRANAGAN, D. 1973. The developmental periods of the ixodid tick *Rhipicephalus appendiculatus* Neum. under laboratory conditions. *Bull. Ent. Res., 63*:155-168.

BRIERE, J.F.; PRACROS, P.; LE ROUX, A.Y. & PIERRE, J.S. 1999. A novel rate model of temperature-dependent development for arthropods. *Environ. Entomol., 28*(1):22-29.

BUCZEK, A. 1992. Studies on the biology of *Argas (A.) reflexus* (Fabricius, 1794) (Acari: Ixodida: Argasidae). 2. Effect of alternating temperatures on embryonic development and egg hatch. *Folia biol. (Kraków), 40*(3-4):151-153.

CAMPBELL, A. & GLINES, M.V. 1979. Development, survival, and oviposition of the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard) (Acari: Ixodidae), at constant temperatures. *J. Parasitol., 65*(5):777-782.

CAMPBELL, A. & HARRIS, D.L. 1979. Reproduction of the american dog tick, *Dermacentor variabilis*, under laboratory and field conditions. *Environ. Entomol., 8*(4):734-739.

CAMPOS PEREIRA, M. & LABRUNA, M.B. 1998. Febre maculosa: aspectos clínico-epidemiológicos. *Clin. Vet.*, **III**(12):19-23.

CHILTON, N.B. 1994. Differences in the life cycles of two species of reptile tick: implications for species distributions. *Int. J. Parasitol.*, **24**(6):791-795.

CHILTON, N.B. & BULL, C.M. 1993. A comparison of the off-host survival times of larvae and nymphs of two reptile tick species. *Int. J. Parasitol.*, **23**(5):693-696.

CHILTON, N.B. & BULL, C.M. 1994. Influence of environmental factors on oviposition and egg development in *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae). *Int. J. Parasitol.*, **24**(1):83-90.

CHILTON, N.B.; ANDREWS, R.H. & BULL, C.M. 2000. Influence of temperature and relative humidity on the moulting success of *Amblyomma linbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. *Int. J. Parasitol.*, **30**(6):973-979.

CUNHA, D.W. 1978. *Estudos da toxicidade de alguns carapatos comumente encontrados no Brasil (Acarina: Ixodidae)*. Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ, 89 p.

DAEMON, E. & ISHIZUKA, A.C. 1992. Efeito de diferentes temperaturas sobre a ecdise larval de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 1(2):105-107.

DAEMON, E. & ISHIZUKA, A.C. 1995. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a ecdise ninfal de *Amblyomma cajennense* (Acarina: Ixodidae). *R. Bras. Ci. Vet.*, 2(1):7-9.

DAEMON, E.; PRATA, M.C.A. & FACCINI, J.L.H. 1999. Efeitos de diferentes temperaturas sobre o processo de postura de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). In: XI Seminário Brasileiro de Paracitologia Veterinária, *Anais...* Salvador, BA, p. 92.

DANIELS, T.J.; FALCO, R.C.; CURRAN, K.L. & FISH, D. 1996. Timing of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) oviposition and larval activity in Souther New York. *J. Med. Entomol.*, 33(1):140-147.

DAUTEL, H. & KNÜLLE, W. 1998. The influence of physiological age of *Argas reflexus* larvae (Acari: Argasidae) and of temperature and photoperiod on induction and duration of diapause. *Oecologia*, 113:46-52.

DAVEY, R.B. 1988. Effect of temperature on the ovipositional biology and egg viability of the cattle tick *Boophilus annulatus* (Acari: Ixodidae). *Exp. Appl. Acarol.*, **5**:1-14.

DAVEY, R.B. & COOKSEY, L.M. 1989. Effects of prolonged exposure at low temperature on *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, **26**(5):407-410.

DAVEY, R.B.; COOKSEY, L.M. & DESPINS, J.L. 1991. Survival of larvae of *Boophilus annulatus*, *Boophilus microplus*, and *Boophilus* hybrids (Acari: Ixodidae) in different temperature and humidity regimes in the laboratory. *Vet. Parasitol.*, **40**:305-313.

DAVIS, M.T.B. 1974a. Changes in critical temperature during nymphal and adult development in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae). *J. Exp. Biol.*, **60**(1):85-94.

DAVIS, M.T.B. 1974b. Critical temperature and changes in cuticular lipids in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*. *J. Insec. Physiol.*, **20**(6):1087-1100.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1985a. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). I. Cálculo de las constantes térmicas. **Rev. Salud Anim.**, 7:141-148.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1985b. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). II. Estimación del inicio de la eclosión em condiciones naturales simuladas. **Rev. Salud Anim.**, 7:307-316.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1985c. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). III. Simplificaciones del método de estimación de los períodos de la fase no parasitaria. **Rev. Salud Anim.**, 7:441-446.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1986. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). IV. Pronóstico del inicio de la eclosión em condicones de intemperie. **Rev. Salud Anim.**, 8:337-345.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1987. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). V. Supervivencia larvaria en el laboratorio. **Rev. Salud Anim.**, 9:259-265.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 1992. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). VIII. Validacion del programa de cuarentena. *Rev. Salud Anim.*, 14:133-136.

De La VEGA, R. & DÍAZ, G. 2000. Thermal constant estimation in tropical horse tick, *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Ann. NY Acad. Sci.*, 916:298-302.

De La VEGA, R.; FARRADÁ, F. & DÍAZ, G. 1988. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). VI. Cuarentena. *Rev. Salud Anim.*, 10:71-75.

De La VEGA, R.; FARRADÁ, F. & DÍAZ, G. 1993. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). VII. Despoblamiento. *Rev. Salud Anim.*, 15:163-171.

DESPINS, J.L. 1992. Effects of temperature and humidity on ovipositional biology and egg development of the tropical horse tick, *Dermacentor (Anocentor) nitens*. *J. Med. Entomol.*, 29(2):332-337.

DÍAZ, G.; De La VEGA, R. & CHÁVEZ, G. 1991. Influencia de la temperatura y de la humedad relativa en la fase no parasitaria de *Anocentor nitens* (Ixodoidea: Ixodidae). *Rev. Salud Anim.*, 13:124-132.

DIEHL, P.A.; AESCHLIMANN, A. & OBENCHAIN, F.D. 1982. Tick reproduction: oogenesis and oviposition. In: OBENCHAIN, F.D. & GALUN, R. *Physiology of ticks*. 1^a ed., Pergamon Press, Oxford, p. 277-350.

DIPEOLU, O.O. 1991. Laboratory studies on the oviposition, egg-sizes and shapes and embryonic development of *Dermacentor variabilis*, *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma maculatum*. *Acarologia*, XXXII(3):233-244.

DIPEOLU, O.O.; AMOO, A.O. & AKINBOADE, O.A. 1991. Studies on ticks of veterinary importance in Nigeria: intrinsic factors influencing oviposition and egg-hatch of *Amblyomma variegatum* under natural conditions. *Folia Parasitol.*, 38:63-74.

DOHM, D.J. & LINTHICUM, K.J. 1993. Effects of temperature on fecundity and viral replication in *Amblyomma cajennense* (Arachnida: Ixodidae) infected with venezuelan equine encephalomyelitis virus. *J. Med. Entomol.*, 30(1):286-290.

DRUMMOND, R.O. & WHETSTONE, T.M. 1975. Oviposition of the cayenne tick, *Amblyomma cajennense* (F.), in the laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 68(2):214-216.

ESTRADA-PENA, A. 2001. Climate warming and changes in habitat sultability for *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in Central America. *J. Parasitol.*, **87**(5):978-987.

FOURIE, L.J.; BELOZEROV, V.N. & NEEDHAM, G.R. 2001. *Ixodes rubicundus* nymphs are short-day diapause-induced ticks with thermolabile sensitivity and desiccation resistance. *Med. Vet. Entomol.*, **15**:335-341.

GLÓRIA, M.A.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. & GRISI, L. 1993. Influência de diferentes temperaturas sobre a biologia da fase não parasitária de *Boophilus microplus* (Can., 1887) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, **2**(2):85-91.

GUGLIELMONE, A.A. 1992. The effect of temperature and humidity on development and longevity of *Amblyomma triguttatum triguttatum* (Acarina: Ixodidae). *Bull. Entomol. Res.*, **82**:203-208.

GUGLIELMONE, A.A. & MOORHOUSE, D.E. 1985. Differences in nymphs of *Amblyomma triguttatum triguttatum* Koch moulting to males or females. *Acarologia*, **XXVI**(1):7-10.

GUGLIELMONE, A.A. & MOORHOUSE, D.E. 1986. The effect of photoperiod on the development of *Amblyomma triguttatum triguttatum* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 23(3):274-278.

GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; AGUIRRE, D.H. & GAIDO, A.B. 1990. Ecological aspects of four species of ticks found on cattle in Salta, Northwest Argentina. *Vet. Parasitol.*, 35:93-101.

HADDAD, M.L. & PARRA, J.R.P. 1984. *Métodos para estimar os limites térmicos e a faixa ótima de desenvolvimento das diferentes fases do ciclo evolutivo dos insetos*. Agricultura e Desenvolvimento - FEALQ, Piracicaba, São Paulo, 12 p.

HAGRAS, A.E. & KHALIL, G.M. 1988. Effect of temperature on *Hyalomma (Hyalomma) dromedarii* Koch (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, 25(5):354-359.

HEATH, A.C.G. 1979. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis*, *Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae): studies on eggs. *Int. J. Parasitol.*, 9(1):33-39.

HEATH, A.C.G. 1981. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis*, *Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae): studies on engorged larvae. *Int. J. Parasitol.*, **11**(2):169-175.

HITCHCOCK, L.F. 1955. Studies of the non-parasitic stages on the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). *Austr. J. Zool.*, **3**(3):295-311.

HOOKER, W.A.; BISHOPP, F.C. & WOOD, H.P. 1912. *The Life History and Bionomics of Some North American Ticks*. U.S. Dept. Agric. Bur. Entomol. Plant. Quart. Bull., n. 106, Washington D.C., 239 p.

HUELI, L.E. 1987. Resistencia de las ninfas de algunos ixódidos parásitos de bovinos a condiciones ambientales desfavorables. *Rev. Ibér. Parasitol.*, Vol. Extraordinário: 273-276.

HUSSEIN, H.S. & MUSTAFA, B.E. 1987. Temperature and humidity effects on the life cycle of *Haemaphysalis spinulosa* and *Rhipicephalus simus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, **24**(1):77-81.

IKEMOTO, T. & TAKAI, K. 2000. A new linearized formula for the law of total effective temperature and the evaluation of line-fitting methods with both variables subject to error. *Environ. Entomol.*, **29**(4):671-682.

INOKUMA, H.; TAMURA, K. & ONISHI, T. 1996. Seasonal occurrence of *Rhipicephalus sanguineus* in Okayama Prefecture, Japan and effect of temperature on development of the tick. *J. Vet. Med. Sci.*, **58**(3):225-228.

JORGENSEN, W.K. & KEMP, D.H. 1986. Continued functioning of the feeding apparatus during moulting of *Boophilus microplus* as an adaptation of one-host ticks. *J. Parasit.*, **72**(6):846-851.

KNIGHT, M.M.; NORVAL, R.A.I. & RECHAV, Y. 1978. The life cycle of the tick *Hyalomma marginatum rufipes* Koch (Acarina: Ixodidae) under laboratory conditions. *J. Parasitol.*, **64**(1):143-146.

KOCH, H.G. 1981. Lone star tick: molting of engorged larvae and nymphs and survival of unfed nymphs at different temperatures and humidities. *Southwest. Entomol.*, **6**(3):240-244.

KOCH, H.G. & TUCK, M.D. 1986. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different tempeartures and humidities. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **79**(1):11-14.

LEMOS, E.R.S.; MACHADO, R.D.; PIRES, F.D.A.; MACHADO, S.L.; COSTA, L.M.C. & COURAS, J.R. 1997. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the state of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **92**(4):477-481.

LINARDI, P.M.; TEIXEIRA, V.P.; BOTELHO, J.R. & RIBEIRO, L.S. 1987. Ectoparasitos de roedores em ambientes silvestres do município de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, **82**(1):137-139.

LOGAN, J.A.; WOLKIND, D.J.; HOYT, S.C. & TANIGOSHI, L.K. 1976. An analytic model for description of temperature dependent rate phenomena in arthropods. *Environ. Entomol.*, **5**:1133-1140.

LONDT, J.G.H. 1977. Oviposition and incubation in *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844) (Acarina: Ixodidae). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, **44**(1):13-20.

LOPES, C.M.L.; OLIVEIRA, P.R.; HADDAD, J.P.A.; PINHEIRO, R.R.; FREITAS, C.M.V.; PAZ, G.F. & LEITE, R.C. 2000. Reproductive parameters and conversion efficiency index (CEI) of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) females under field and laboratory conditions. *Revue Méd. Vét.*, **151**(10):945-948.

MASSARD, C.A. 1984. *Ehrlichia bovis (Donatien & Lestoquard, 1936): diagnóstico, cultivo “in vitro” e aspectos epidemiológicos em bovinos no Brasil.* Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, RJ, 113 p.

MILWARD-DE-AZEVEDO, E.M.V.; CARDOSO, D.; FERREIRA, Y.L. & FARIA, E.H. 1995. Exigências térmicas do estágio pupal e longevidade de adultos da mosca-da-bicheira, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel) (Diptera, Calliphoridae), em diferentes temperaturas. *Revta bras. Ent.*, 39(3):493-499.

MONTEIRO, J.L. 1935/36. A vaccinação preventiva como base da prophylaxia do “Typho Exanthematico” de S. Paulo (Rickettsiose Neotropica). *Mem. Inst. Butantan*, X:1-16.

MORAES, F.R.; SILVA, V.M.S.; MORAES, J.R.E.; FREITAS, J.C.M. & ROCHA, U.F. 1987. Ecologia de carapatos. XX. Influência do abaixamento brusco da temperatura, e de sua manutenção por cinco dias, sobre desenvolvimento embrionário e eclosão larval de *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ars Veterinaria*, 3(1):89-85.

NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F. & WALTERS, H.S. 1971. Laboratory investigations on the life-cycle of the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, 38(3):215-224.

NTIAMOA-BAIDU, Y. 1987. *Rhipicephalus simpsoni* (Acari: Ixodidae) development under controlled conditions. *J. Med. Entomol.*, 24:438-443.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L. & LEITE, R.C. 2000. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 92(4):295-301.

OLIVIERI, J.A. & SERRA FREIRE, N.M. 1984a. Estágio larval do ciclo biológico de *Amblyomma cajennense*. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 7(2):139-147.

OLIVIERI, J.A. & SERRA FREIRE, N.M. 1984b. Estágio ninfal do ciclo biológico de *Amblyomma cajennense*. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 7(2):149-156.

OUHELLI, H. 1994. Comparative development of *Hyalomma marginatum* (Koch, 1844), *H. detritum* (Schulze, 1919), *H. anatolicum excavatum* (Koch, 1844), *H. lusitanicum* (Koch, 1884) and *H. dromedarii* (Koch, 1844) under laboratory conditions. *Acta Parasitologica*, 39(3):153-157.

OUHELLI, H.; PANDEY, V.S. & CHOUKRI, M. 1982. The effects of temperature, humidity, photoperiod and weight of the engorged female on oviposition of *Boophilus annulatus* (Say, 1821). *Vet. Parasitol.*, 11:231-239.

PATRICK, C.D. & HAIR, J.A. 1979. Oviposition behavior and larval longevity of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acarina: Ixodidae), in different habitats. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 72(2):308-312.

PRATA, M.C.A. 1998. Efeitos de diferentes temperaturas sobre os processos de postura, eclosão e mortalidade de larvas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). Tese de Mestrado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 75p.

PRATA, M.C.A.; ALONSO, L.S. & SANAVRIA, A. 1996. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 3(2):55-57.

PRATA, M.C.A.; ALONSO, L.S. & SANAVRIA, A. 1997. Parâmetros biológicos do estágio larval de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 4(1):5-8.

PRATA, M.C.A. & DAEMON, E. 1997. Determinação do número de ovos por grama de postura de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, 4(2):81-82.

PRATA, M.C.A.; DAEMON, E. & SANAVRIA, A. 1995a. Determinação do número de ovos por grama de postura de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4(2):64, suppl. 1.

PRATA, M.C.A.; FACCINI, J.L.H. & DAEMON, E. 1998. Relationship between weight and number of engorged *Amblyomma cajennense* larvae and nymphs (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) in experimental infestations on rabbits. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 7(2):107-111.

PRATA, M.C.A.; SANAVRIA, A. & ALONSO, L.S. 1995b. Parâmetros biológicos do estágio larval de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 4(2):59, suppl. 1.

QUEIROZ, M.M.C. 1996. Temperature requirements of *Chrysomya albiceps* (Wiedemann, 1819) (Diptera, Calliphoridae) under laboratory conditions. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 91(6):785-788.

RECHAV, Y. & KNIGHT, M.M. 1981. Life cycle in the laboratory and seasonal activity of the tick *Rhipicephalus glabroscutatum* (Acarina: Ixodidae). *J. Parasitol.*, **67**(1):85-89.

ROBINSON, L.E. 1926. *The Genus Amblyomma*. Cambridge Univ. Press, Grã Bretanha, 301 p.

RODRÍGUEZ DIEGO, J. & VILLALBA, G. 1984. Fase preparasitica de *Amblyomma cajennense* em condiciones naturales. I. Protoquia y cotoquia. *Rev. Salud Anim.*, **6**:517-523.

RODRÍGUEZ DIEGO, J. & VILLALBA, G. 1985. *Amblyomma cajennense*: Fase preparasitica en condiciones naturales. II. Emersión y supervivencia larvarias. *Rev. Salud Anim.*, **7**:35-39.

ROHR, C.J. 1909. *Estudos sobre Ixodidas do Brasil*. Tese de Doutorado, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 220 p.

ROJAS, R.; MARINI, M.A. & COUTINHO, M.T.Z. 1999. Wild birds as hosts of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, **94**(3):315-322.

SANAVRIA, A. & PRATA, M.C.A. 1996. Metodologia para colonização do *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 5(2):87-90.

SANAVRIA, A.; PRATA, M.C.A.; MORAIS, M.C. & ALONSO, L.S. 1996. Determinação de alguns parâmetros biológicos de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em infestação artificial de eqüinos. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 24(2):79-86.

SANTOS, O.L.; MACHADO, R.Z.; ALESSI, A.C.; BECHARA, G.H.; COSTA, A.J. & ROCHA, U.F. 1985. Ecologia de carrapatos. XII. Mamíferos domésticos parasitados por *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) em Jaboticabal e Matão, SP. *Biológico*, 51(8):215-218.

SAUER, J.R. & HAIR, J.A. 1971. Water balance in the lone star tick (Acarina: Ixodidae): the effects of relative humidity and temperature on weight changes and total water content. *J. Med. Ent.*, 8(5):479-485.

SERRA FREIRE, N.M. 1982. Epidemiologia de *Amblyomma cajennense*: ocorrência estacional e comportamento dos estádios não-parasitários em pastagens do Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 5(2):187-193.

SERRA FREIRE, N.M. & OLIVIERI, J.A. 1992. Estádio adulto do ciclo de *Amblyomma cajennense*. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, 20:224-234.

SINDAN. 1990. *Normas para produção, controle e utilização de produtos antiparasitários*. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária, Ministério da Agricultura. Diário Oficial de 22.01.90, p. 1506-1509.

SMITH, M.W. 1974. A survey of the distribution of the ixodid ticks *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) and *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) in Trinidad and Tobago and the possible influence of the survey results on planned livestock development. *Trop. Agric.*, 51(4):559-567.

SMITH, M.W. 1975. Some aspects of the ecology and lifecycle of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) in Trinidad and their influence on tick control measures. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 69(1):121-129.

SNOW, K.R. 1969. *Hyalomma anatolicum anatolicum* Koch, 1844 (Ixodoidea, Ixodidae) under laboratory conditions. *Parasitology*, 59:105-122.

SOLOMON, G. & KAAYA, G.P. 1998. Development, reproductive capacity and survival of *Amblyomma variegatum* and *Boophilus decoloratus* in relation to host

resistance and climatic factors under field conditions. *Vet. Parasitol.*, 75(2-3):241-253.

SONENSHINE, D.E. 1991. *Biology of ticks*. Vol. 1, Oxford University Press, Oxford, 447 p.

SOUZA, A.P. & SERRA FREIRE, N.M. 1994a. Variação sazonal da fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* e *Boophilus microplus* no município de Paracambi, estado do Rio de Janeiro. *Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. da Vida*, 16(1-2):57-65.

SOUZA, A.P. & SERRA FREIRE, N.M. 1994b. Variação sazonal da fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens* no município de Itaguaí, RJ: avaliação epidemiológica e metodológica. *Rev. Univ. Rural, Sér. Ciênc. da Vida*, 16(1-2):67-74.

SRIVASTAVA, S.C. & VARMA, M.G.R. 1964. The culture of the tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) (Ixodidae) in the laboratory. *J. Med. Ent.*, 1(2):154-157.

STREY, O.F.; TEEL, P.D.; RING, D.R. & LONGNECKER, M.T. 1991. Modeling embryo development and emergence of *Boophilus annulatus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, **28**(1):165-173.

STREY, O.F.; TEEL, P.D.; LONGNECKER, M.T. & NEEDHAM, G.R. 1996. Survival and water-balance characteristics of unfed adult *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, **33**(1):63-73.

SUTHERST, R.W.; BOURNE, A.S. & SUTHERLAND, I.D. 1999. Production and survival of eggs of the cattle tick *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae) in the wet and dry tropics of north Queensland. *Aust. J. Entomol.*, **38**(4):340-347.

SWEATMAN, G.K. 1967. Physical and biological factors affecting the longevity and oviposition of engorged *Rhipicephalus sanguineus* female ticks. *J. Parasitol.*, **53**(2):432-445.

TRAVASSOS, J. & VALLEJO-FREIRE, A. 1944. Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. *Mem. Inst. Butantan*, **18**:145-235.

TUKAHIRWA, E.M. 1976. The effects of temperature and relative humidity on the development of *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann (Acarina, Ixodidae). *Bull. Ent. Res.*, **66**(2):301-312.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. 1976. *Ticks of Veterinary Importance*. Animal and Plant Health Inspection Service, Agriculture Handbook, n. 485, 122 p.

VOUTOULOU, N. 1987. Oviposition et longévité de la tique *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1794 (Ixodoidea: Ixodidae) en République Populaire du Congo. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, **40**(3):279-282.

APÊNDICE 2:
EXEMPLO HIPOTÉTICO PARA O CÁLCULO DAS
COSTANTES TÉRMICAS DE CARRAPATOS SEGUNDO O
MÉTODO DE IKEMOTO & TAKAI (2000)*

Seja uma dada espécie de carrapato, criada sob condições controladas de laboratório. Para cada temperatura ‘T’ (variável independente: ‘x’), em graus Celsius, foi obtido um determinado número de dias para a duração do processo de muda larval ‘D’ (variável dependente: ‘y’), conforme tabela a seguir:

X=T(°C)	Y=D(dias)
15	80
20	50
25	15
30	8
35	5

* Recomenda-se a leitura do artigo antes de analisar o exemplo proposto.

A relação entre as variáveis não é linear, necessitando da realização de cálculos complexos para se obter a equação que define o desenvolvimento do processo de muda larval do carrapato. A proposta de IKEMOTO & TAKAI (2000) é transformar as variáveis para se obter uma relação linear entre elas e, desse modo, facilitar os cálculos.

Portanto, efetuando-se a transformação ‘x’ = ‘D’ e ‘y’ = DT, os novos valores passam a ser:

X=D(dias)	Y=DT(dias x °C)
80	80 x 15 = 1200
50	50 x 20 = 1000
15	15 x 25 = 375
8	8 x 30 = 240
5	5 x 35 = 175

A equação que define o desenvolvimento, agora linear, é: $y = a + bx$ (equação geral de primeiro grau). Nesta equação de primeiro grau, ‘a’ é o coeficiente linear da reta e corresponde à constante térmica para o processo de muda larval ‘k’, em graus-dias e ‘b’ constitui o coeficiente angular, correspondendo à temperatura base ‘t’ (temperatura mínima em que ocorre o processo de muda larval desta espécie de carrapato), em graus Celsius. Lembrando que foi efetuada a transformação ‘x’ = ‘D’ e ‘y’ = ‘DT’, a equação passa a ser: $DT = k + tD$.

O problema agora consiste em obter os valores de ‘k’ e ‘t’, para que se possa calcular a duração do processo de muda do carrapato, em qualquer temperatura. A partir das fórmulas preconizadas para o cálculo do coeficiente angular e linear da reta, e

transformadas para o caso em questão, obtêm-se as seguintes fórmulas para a determinação de 't' e 'k':

$$t = \frac{\sum(DDT) - \sum D \sum(DT)}{n}$$

$$\frac{\sum D^2 - (\sum D)^2}{n}$$

$$k = \frac{\sum(DT) - t \sum D}{n} \quad \text{onde 'n' = número de pares 'D x DT'}$$

Para facilitar os cálculos, recomenda-se que seja construída uma tabela contendo os dados a serem utilizados nas fórmulas, conforme a seguir:

D	DT	D^2	DDT
80	$80 \times 15 = 1200$	$80^2 = 6400$	$80 \times 1200 = 96000$
50	$50 \times 20 = 1000$	$50^2 = 2500$	$50 \times 1000 = 50000$
15	$15 \times 25 = 375$	$15^2 = 225$	$15 \times 375 = 5625$
8	$8 \times 30 = 240$	$8^2 = 64$	$8 \times 240 = 1920$
5	$5 \times 35 = 175$	$5^2 = 25$	$5 \times 175 = 875$
$\Sigma D = 158$	$\Sigma(DT) = 2990$	$\Sigma D^2 = 9214$	$\Sigma(DDT) = 154420$

Então:

$$t = \frac{154420 - \underline{158 \times 2990}}{\underline{9214 - 158^2}} \quad t = 14,198806^\circ\text{C} \text{ (temperatura base)}$$

$$k = \underline{2990} - 14,198806 \times \underline{158} \quad k = 149,317730 \text{ GD} \text{ (constante térmica)}$$

5 5

Portanto, a equação que define o desenvolvimento do processo de muda larval desta espécie de carrapato é:

$$DT = 149,317730 + 14,198806D .$$

De posse desta equação, é possível estimar-se a duração do processo de muda larval deste carrapato em qualquer região, desde que se conheça a temperatura média do local estudado.

Para se verificar o grau de relação entre as variáveis transformadas, recomenda-se o cálculo do valor do coeficiente de correlação ‘r’, segundo a fórmula:

$$r = \frac{\sum(DDT) - \frac{\sum D \sum(DT)}{n}}{\left[\sum D^2 - \frac{(\sum D)^2}{n} \right]^{1/2} \times \left[\sum(DT)^2 - \frac{(\sum DT)^2}{n} \right]^{1/2}}$$

O único valor ainda não disponível para aplicação desta fórmula é o ‘ $\sum(DT)^2$ ’, que deve, então, ser obtido à parte:

$$\sum(DT)^2 = 1200^2 + 1000^2 + 375^2 + 240^2 + 175^2 = 2668850.$$

De posse deste valor, é possível a aplicação da fórmula para o cálculo do coeficiente de correlação ‘r’:

$$r = \frac{154420 - \frac{158 \times 2990}{5}}{\sqrt{(9214 - \frac{158^2}{5})} \times \sqrt{(2668850 - \frac{2990^2}{5})}} = 0,982933$$

O valor obtido para o coeficiente de correlação (0,982933, em um máximo possível de 1,000000) indica que há um alto grau de relação entre as variáveis transformadas segundo IKEMOTO & TAKAI (2000), concluindo-se, portanto, pela confiabilidade do método utilizado.