

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
PARASITOLOGIA VETERINÁRIA

BIOLOGIA DA FASE NÃO PARASITARIA DE *Rhipicephalus*
sanguineus (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) SOB
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO: ASPECTOS DA OVIPOSIÇÃO

CASSIO FERNANDES COELHO

SOB ORIENTAÇÃO DO PROFESSOR:

DR. ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO

Tese submetida como requisito
parcial para obtenção do grau
de *Magister Scientiae* em Me-
dicina Veterinária, área de
concentração em Parasitologia
Veterinária.

Itaguaí, Rio de Janeiro

Junho de 1993

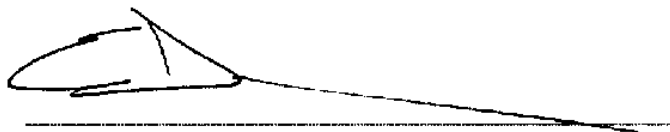
TÍTULO DA TESE

BIOLOGIA DA FASE NÃO PARASITÁRIA DE *Rhipicephalus*
sanguineus (LATREILLE, 1806) (ACARI: IXODIDAE) SOB
CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO: ASPECTOS DA OVIPOSIÇÃO

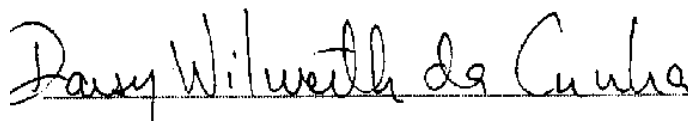
AUTOR

CASSIO FERNANDES COELHO

APROVADA EM: 25/06/1993



DR. ERIK DAEMON DE SOUZA PINTO



DRA. DAISY WILWERTH DA CUNHA



DR. ADIVALDO HENRIQUE DA FONSECA

A Lucy F. Coelho e
Alexandre F. Coelho

BIOGRAFIA

CASSIO FERNANDES COELHO, filho de Alexandre Cássio Coelho e Lucy Fernandes Coelho, nasceu em 26 de dezembro de 1964, na cidade do Rio de Janeiro, Estado do Rio de Janeiro.

Concluiu os cursos primário e secundário no Instituto Gay-Lussac, na cidade de Niterói, RJ. Ingressou na Faculdade de Biologia da Universidade Santa Úrsula, em março de 1983, graduando-se em Ciências Biológicas em dezembro de 1986.

Desde junho de 1985 vem exercendo funções ligadas ao ensino de Ciências para o 1º grau, Biologia para o 2º e Parasitologia para as Faculdades de Medicina e Odontologia da Universidade de Nova Iguaçu.

Em março de 1991 ingressou no Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração de Parasitologia Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Erik Daemon de Souza Pinto, pela amizade, paciência e firme orientação durante todas as fases do presente trabalho;

Aos Professores João Luiz Horácio Faccini e Daisy Wilwerth da Cunha pelos ensinamentos e interesse demonstrado;

Ao professor Gonzalo Efraim Moya Borja pela cessão de equipamento e instalações em uma das fases do presente trabalho;

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária, pelos ensinamentos e incansável disposição em despertar interesse pela Parasitologia;

Aos colegas de Curso, que tanto contribuíram com ensinamentos, sugestões, e principalmente pelo companheirismo demonstrado;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pelo suporte financeiro para a execução da presente tese;

A Rejane Meirelles Guerra pelo apoio e compreensão;

A Alex Vidal de Castro pela diagramação final, da parte escrita da tese;

A Hécio Luis V. Corrêa da Silva pelo auxílio nos cálculos matemáticos;

A Carlos Diniz de Freitas e Leandro Mendonça pelo auxílio na confecção do material fotográfico;

Aos funcionários ligados ao Curso, pela boa vontade demonstrada.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO DE LITERATURA	3
3.	MATERIAL E MÉTODOS	11
3.1.	Obtenção de <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	11
3.2.	Rotina e condições de laboratório	12
3.3.	Experimentos	13
3.3.1.	Teleóginas obtidas de coelhos sem infestação prévia	13
3.3.2.	Teleóginas obtidas de coelhos reinfestados	14
3.3.3.	Teleóginas obtidas de cães reinfestados	15
3.3.4.	Teleóginas obtidas de cães naturalmente infes- tados	15
3.4.	Dados biológicos	16
3.5.	Tratamento matemático-estatístico	16
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
4.1.	Experimento 1	18
4.2.	Experimento 2	21
4.3.	Experimento 3	24
4.4.	Experimento 4	28
5.	CONCLUSÕES	31
6.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela		Página
01	Peso médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	37
02	Períodos médios de pré-postura e postura de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	37
03	Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de <i>Rhipiceplalus sanguineus</i> sem contato	

	prévio com ixodídeos e mantidos durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	38
04	Índices de eficiência reprodutiva e nutricional de <i>Rhipiceplalus sanguineus</i> obtidas de coelhos sem contato prévia com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	38
05	Peso Médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidas durante três gerações a 27°C e umidade relativa acima de 80%	39
06	Períodos médios de pré-postura e postura de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	39
07	Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de <i>Rhipiceplalus sanguineus</i> obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e manti-	

	dos durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	40
08	Índices de eficiência reprodutiva e nutricional de <i>Rhipiceplalus sanguineus</i> obtidas de coelhos com contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	40
09	Peso médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	41
10	Períodos médios de pré-postura e postura de teleóginas de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	41
11	Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de <i>Rhipiceplalus sanguineus</i> obtidos de cães com contato prévio com ixodídeos e mantidos durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%	42

- 12 Índices de eficiência reprodutiva e nutricional de *Rhipiceplalus sanguineus* obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80% 42
- 13 Peso médio e limites máximo e mínimo, período de pré-postura, de postura, de incubação percentual de eclosão e índices de eficiência reprodutiva e nutricional de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de cães naturalmente infestados e mantidas a 27°C e umidade relativa superior a 80% 43

ÍNDICE DAS FIGURAS

Figura		Página
01	Ritmo de oviposição da 1 ^a geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80% Observação diária	44
02	Ritmo de oviposição da 2 ^a geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80% Observação de três em três dias	45
03	Ritmo de oviposição da 3 ^a geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e	

	umidade relativa acima de 80%.	
	Observação de seis em seis dias	46
04	Ritmo de oviposição da 1ª geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação diária	47
05	Ritmo de oviposição da 2ª geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias	48
06	Ritmo de oviposição da 3ª geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de seis em seis dias	49
07	Ritmo de oviposição da 1ª geração de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> , obtidos de cães reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação diária	50

- 08 Ritmo de oviposição da 2^a geração de *Rhipicephalus sanguineus*, obtidos de cães reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observações de três em três dias 51
- 09 Ritmo de oviposição de *Rhipicephalus sanguineus*, obtidos de cães naturalmente infestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias 52

RESUMO

Com o objetivo de estudar os parâmetros da oviposição de *Rhipicephalus sanguineus* provenientes de cães e coelhos submetidos a diferentes graus de exposição ao ixodídeo, teleóginas foram mantidas a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa superior a 80% e escotofase. Foram obtidos dados referentes à oviposição de teleóginas provenientes de coelhos sem infestação prévia e de coelhos infestados sucessivamente por larvas, ninfas e adultos de *R. sanguineus*, durante três gerações; para o estudo em teleóginas provenientes de cães, foram utilizados parasitos obtidos de cães adultos reinfestados conforme descrito acima, durante três gerações, bem como teleóginas obtidas em cães naturalmente infestados.

Para as três gerações obtidas de coelhos sem infestação prévia, o peso médio das teleóginas foi de 158,82mg, enquanto os períodos de pré-postura, postura, incubação foram respectivamente 4,02, 13,31 e 14,88 dias, e o percentual de eclosão 97,43%. Não foram observadas diferenças significativas entre as três gerações, no que toca ao peso médio de teleóginas.

Para as três gerações obtidas de coelhos submetidos a infestações sucessivas, o peso médio das teleóginas foi de 80,45mg, enquanto os períodos de pré-postura, postura, incubação foram respectivamente 4,23, 11,53 e 15,35 dias, e o percentual de eclosão 86,60%. Observou-se que os valores correspondentes a peso médio de teleóginas e percentuais de eclosão decresceram ao longo das três gerações.

Para as três gerações obtidas de cães submetidos a infestações sucessivas, obteve-se dados referentes as duas primeiras gerações, pois não se obteve teleóginas na terceira geração; o peso médio das teleóginas foi de 127,51mg, enquanto os períodos de pré-postura, postura, incubação foram respectivamente 5,87, 12,64 e 16,40 dias, e o percentual de eclosão 73,65%. Observou-se que os valores correspondentes a peso médio das teleóginas e percentuais de eclosão decresceram ao longo das duas gerações.

Para o estudo partindo de infestações naturais em cães, o peso médio das teleóginas foi de 110,75mg, enquanto os períodos de pré-postura, postura, incubação foram respectivamente 5,53, 15,24 e 14,95 dias, e o percentual de eclosão 94,50%.

Pode-se observar que o período de pré-postura parece ser influenciado pela espécie hospedeira, sendo maior em cães que em coelhos. Constatou-se ainda que a quantidade de teleóginas provenientes de cães reinfestados que iniciaram a oviposição foi inferior aos valores obtidos para teleóginas provenientes de coelhos, independente de terem sido reinfestados ou não.

ABSTRACT

Aiming to study the oviposition of *Rhipicephalus sanguineus* from dogs and rabbits submitted to different degrees of exposition to ixodid, engorged females were kept at $27\pm 1^{\circ}\text{C}$, relative humidity superior to 80% and escotophase. Data were obtained referring to the oviposition of engorged females from rabbits without prior infestation and from rabbits successively infested by larvae, nymph and *R. sanguineus* adults, along three generations of the parasite. The study in engorged females from dogs used engorged females obtained from adult dogs submitted to successive infestations by larvae, nymph and adults, for three generations, as well as engorged females obtained in natural ly infested dogs.

For the three generations obtained of non-previously infested rabbits, the average weight of engorged females was 158.82 mg, while the values corresponding to the pre-laying, laying and incubation periods and eclosion percentage were 4.02, 13.31 and 14.88 days, respectively, and 97.43%. No significant difference was observed between the three

generations, as far as the average weight of engorged females is concerned.

For the three generations obtained of rabbits submitted to successive infestations, the average weight of engorged females was 80.45 mg, while the values corresponding to the pre-laying, laying, incubation periods and eclosion percentage were 4.23, 11.53 and 15.35 days, respectively, and 86.60%. It was observed that the values corresponding to the average weight of engorged females and eclosion percentages decreased along three generations.

For the three generations obtained of dogs submitted to successive infestations, data referred to the first and second, since engorged females were not obtained in the third. The average weight of engorged females was 124.51 mg, while the values corresponding to the pre-laying, laying, incubation periods and eclosion percentage were 5.87, 12.64 and 16.40 days, respectively, and 73.65%. It was observed that values corresponding to the average weight of engorged females and eclosion percentages decreased along two generations.

For the study starting from natural infestations in dogs, the average weight of engorged females was 110.75 mg, while the values corresponding to the pre-laying, laying, incubation periods and eclosion percentage were 5.53, 15.24 and 14.95 days, respectively, and 94.50%.

It was noticed that the pre-laying period seems to be influenced by the hosting species, rather in dogs than in rabbits. The amount of engorged females from reinfested dogs

which started oviposition was inferior to the values obtained for engorged females from rabbits, whether reinfested or not.

INTRODUÇÃO

Dentre as ectoparasitoses conhecidas, as causadas por organismos da Ordem Acari, especialmente os ixodídeos, vem tomando lugar de destaque. Isto se dá por conta da enorme variedade de prejuízos que acarretam aos animais parasitados, tanto pela ação espoliativa direta quanto pelo grande potencial de transmissão de patógenos. Consequentemente o desempenho biológico dos indivíduos parasitados altera-se com reflexo na produtividade de animais de importância zootécnica, além do aspecto de saúde pública.

Rhipicephalus sanguineus (Latreille, 1806) não só está inserido neste contexto como é o ixodídeo mais importante como parasito de cães no Brasil, estando envolvido na transmissão de protozooses e riquetsioses (FLETCHMANN, 1973).

R. sanguineus é uma espécie de ampla distribuição geográfica, tendo como principais hospedeiros canídeos domésticos e silvestres (FLETCHMANN, 1973).

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização dos parâmetros biológicos da oviposição deste

ixodídeo sob condições controladas em laboratório, graus de exposição ao ixodídeo, visando fornecer bases para estudos epidemiológicos e métodos de manutenção de colônia em laboratório, já que os dados disponíveis sobre este aspecto até o presente são raros e por vezes contraditórios.

2- REVISÃO DE LITERATURA

NUTTALL, (1915) estudando o ciclo biológico de *R. sanguineus* verificou que o período de pré-postura variou de dois a quatro dias podendo chegar a oito ou mais e que o de postura variou de nove a 15 dias. Estes dados foram conseguidos mantendo-se uma temperatura constante de 30°C. Comprovou ainda que a temperatura é fator determinante para a duração da fase não parasitária do ciclo, pois mantendo teleóginas a uma temperatura de 12 °C observou um período de pré-postura de 25 dias não conseguindo a emergência das larvas. Outros autores, citados por NUTTALL (1915), como CHRISTOPHERS (1907), que verificou períodos médios de pré-postura de três dias, oito ou mais para o período de postura e de três a quatro semanas para o período de incubação. PATTON & CRAGG (1913) que encontraram valores de dois a quatro dias, sete dias e sete a 10 dias para os mesmos períodos.

SAPRE, (1942) destacou a importância não só da temperatura como da umidade como fatores determinantes para a fase de oviposição de *R. sanguineus*. Este autor trabalhou a

uma temperatura de 22 °C e com umidade relativa de 80 a 90%, encontrando três a seis dias para o período de pré-postura, 15 dias em média para o período de postura e 25 a 40 dias para o período de incubação (com média em 31 dias).

FELDMAN-MUHSAM, (1964) chamou atenção para fatores especificamente ligados à manutenção de colônias de *R. sanguineus* em laboratório. A autora se reporta à fragilidade do parasito e a dificuldade de alimentação em hospedeiros não habituais e aconselha sempre que possível mantê-los em seus hospedeiros habituais, ou seja, cães. A autora cita quatro critérios para se avaliar a aceitação de outros hospedeiros pelo ixodídeo: o percentual de parasitos que conseguem se alimentar, duração do repasto, o percentual de ecdise e a duração total do ciclo. Segundo ela a umidade relativa não pode ultrapassar os 95%. O aspecto imunológico também foi analisado neste estudo, no qual sugere fortemente o aparecimento de resistência quando o mesmo hospedeiro é usado em várias infestações.

SRIVASTAVA & VARMA (1964) também se detiveram nos parâmetros que cercam a manutenção de colônias de *R. sanguineus*. Eles determinaram em seu experimento que o ciclo de vida do parasito completa-se entre 86 e 123 dias a uma temperatura de 25°C e entre 65 a 90 dias se a temperatura for mantida a 29°C. Chamou a atenção para a facilidade de alimentação em todos os estágios de vida do parasito em "animais comuns de laboratório" e deu como um dos motivos do ciclo curto a ausência de qualquer forma de diapausa.

LUTTERMOSER (1947) foi citado neste trabalho por não conseguir alimentar ninfas e adultos em coelhos. O período de pré-oviposição foi de quatro a sete dias com média em 5,3 dias a 25 °C e 100% de umidade relativa e de três a cinco com média de 4,2 dias a 29 °C e 80% de umidade relativa. O período de oviposição foi de sete a 17 dias nas duas condições anteriormente citadas. A 29°C e 80% de umidade relativa o período de incubação foi de 19 a 21 dias com média em 19,6 dias. O autor obteve 99% de eclodibilidade mantendo os ovos a 25 °C e 100% de umidade relativa.

SWEATMAN, (1967) chamou atenção para a importância epidemiológica de *R. sanguineus* na transmissão e propagação de doenças, já que ele está comprovadamente associado com inúmeros microorganismos e discutiu alguns fatores que interferem em aspectos como longevidade e oviposição. O autor coloca que não só a quantidade de sangue ingerido é responsável pela produtividade de ovos, mas também a condição de síntese de cutícula dos ovos por parte da fêmea ingurgitada. Segundo o autor o número de ovos produzidos a uma temperatura de 15 °C é significativamente menor do que a 30 °C, ficando esta produção também prejudicada se a temperatura ultrapassar os 35 °C. O autor encontrou a temperatura ótima de pré-oviposição a 30 °C e demonstrou que abaixo dos 20 °C este período é acrescido de três dias e meio para cada grau decrescido até chegar aos 15 °C, que segundo ele é a temperatura mínima para haver oviposição. Nenhuma relação foi achada pelo autor entre o período de postura e o

número total de ovos postos por fêmea, sendo o maior número de ovos postos em temperaturas que vão de 20 a 30 °C. Também foi citada pelo autor a relação entre a período de postura e a temperatura, sendo que quanto menor a mesma maior é o período.

PAUL, KAPOOR & PERTI (1970), a partir de coleta no campo, iniciaram uma colônia para realizarem observações sobre a ciclo biológico de *R. sanguineus*. Para a manutenção dos parasitos, os autores utilizaram cães. As teleóginas foram submetidas a uma temperatura de 27 °C e 70 +/- 5% de umidade relativa. Notaram os autores que os ovos do parasito vão se tornando mais claros a medida em que se aproxima a emergência das larvas e que são os mesmos colocados em massas. O período de pré-postura foi de dois a cinco dias com média de três dias enquanto a período de postura foi de 15 a 24 dias com média 18,4 dias. Segundo o autor o percentual de ecladibilidade chega aos 96%.

FUJISAKI, KITAOKA & MORII, (1976) fizeram observações bionômicas sobre várias espécies de ixodídeas no Japão, inclusive com *R. sanguineus*. Os autores trataram os ovos do parasito a 25 °C, 100% de umidade relativa e escotofase. O período de pré-postura encontrado foi de quatro a 10 dias para todas as espécies estudadas. O peso de ovo encontrado para *R. sanguineus* foi de 49 +/- 2 mcg.

MAHADEV, (1977) usando cilindros de metal para contenção de *R. sanguineus* para alimentação em coelhos e após quatro gerações passando os parasitas para se alimentarem em

ções, traçaram alguns parâmetros básicos sobre o ciclo biológico do mesmo. Trabalhou com umidade relativa entre 90 e 100% e temperatura entre 25 e 30 °C. O autor determinou que o ciclo completo dura entre 59 a 106 dias. Notou correlação entre a produção total de ovos e o peso da fêmea e que o pico de oviposição se dá entre dois e três dias a partir do começo da mesma. Os períodos de pré-oviposição, oviposição e incubação foram respectivamente de 3 a 5, 12 a 14 e de 18 a 25 dias.

FAHMY, MANDIUR & ARAFA (1977) fizeram observações acerca do ciclo biológico de *R. sanguineus* relacionando-se a vários fatores, inclusive variações sazonais. Os autores chamaram atenção para o fato dos ovos deste parasito serem colocados sob forma de massas densas e que quanto maior é o peso da teleógina maior é o período de oviposição. Também foi observado que quando as estações do ano são bem marcadas os períodos de desenvolvimento do parasito são significativamente menores no verão do que no inverno. No verão, o período de pré-postura foi de três a cinco dias, de postura foi de 10 a 18 dias e o de incubação foi de 21 dias em média, enquanto no inverno estes períodos foram de 13 a 17 dias, 12 a 26 dias e de 30 dias em média, respectivamente.

SALEH, EL-GAYAR & SHAZLI (1978) determinaram alguns parâmetros do ciclo biológico de *R. sanguineus* em condições controladas de laboratório usando coelhos como única "fonte de alimento para todas as fases do ciclo. O período de incubação foi de 14.2 +/- 0,14 dias a uma temperatura de 34 +/- 1 °C.

Os autores notaram que os ovos são postos em massas e continuamente. O período de oviposição foi de 4,8 dias na média a uma temperatura de $34 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

HEATH, (1979} estabeleceu as faixas ideais de temperatura e umidade para o desenvolvimento dos ovos de três espécies de ixodídeos, entre eles *R. sanguineus*. Observou o autor que os ovos deste parasito eclodem entre 18 e 38°C e que a temperatura é fator importante na duração do período de incubação, sendo que dentro da faixa de temperatura estudada foi observado que quanto maior for, menor é o referido período. Quanto ao efeito da umidade, este trabalho é concordante com a maioria dos outros, afirmando que o parasito necessita de altos índices de umidade relativa.

HAFEZ & BASSAL, (1980) mantiveram *R. sanguineus* em condições de laboratório usando coelhos como hospedeiros. Trabalhando com umidade relativa a 75% e temperaturas de 23, 30, 37°C verificaram períodos de pré-postura de 6,65, 3,29, 3,89 dias em média para as temperatura de 23, 30 e 37°C , sendo que para estas mesmas temperaturas os períodos de postura foram de 16,15, 10,64 e 8,38 dias em média respectivamente. O pico de postura foi observado aos 2,5 dias para a primeira temperatura, 1,5 dia para a segunda e dois dias para a terceira. Neste trabalho os autores chegaram a conclusão que o período de pré-postura decresce a medida que a temperatura é elevada dos 23 para os 30°C ; entretanto citaram que dos 30 aos 37°C acontece o inverso, considerando esta última temperatura como limite.

HEATH, (1981) estabeleceu as faixas ideais de temperatura e umidade para o desenvolvimento de larvas de três espécies de ixodídeos, entre elas de *R. sanguineus*. O autor coloca a amplitude de temperatura entre 18 e 38°C como aquele que as larvas conseguem desempenhar seu papel no ciclo biológico e faz observação sobre a umidade relativa, que a exemplo de outras fases do ciclo, é desejável, que seja alta.

RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981) fazendo observações sobre o ciclo biológico de *R. sanguineus* em laboratório chamaram a atenção para o fato de se ter maiores dificuldades para se conseguir completar o ciclo deste parasito, já que se trata de um ixodídeo trioxeno. Observaram que o período de pré-postura é de três a cinco dias e o de postura prolongou-se por 12 a 14 dias. A 24 °C o período de incubação chega aos 25 dias em média. Cada ovo, segundo eles pesa cerca de 50 mcg e o índice de eclodibilidade é sempre muito alto, ficando entre 98 e 100%.

KOCH, (1982) comparou um grupo de teleóginas de *R. sanguineus* diariamente perturbado e outro não perturbado. O autor chegou a conclusão que o desempenho biológico das fêmeas não perturbadas foi significativamente melhor do que das perturbadas, no que tange a produção de ovos.

KOSHY, RAJAVELU & LALITHA (1983) realizaram trabalho sobre o ciclo biológico de *R. sanguineus* sob condições não controladas. Durante este experimento a temperatura oscilou entre 21,1 e 38,4 °C e a umidade relativa entre 34 e 86%. O período de pré-postura foi de quatro a cinco dias e o de

postura foi de 10 a 31 dias e o parasito teve seu ciclo completado entre 73 e 123 dias.

PUTTALAKSHMAMMA, (1987) trabalhou com resposta imune de coelhos para antígenos de *R. sanguineus*. O autor se utilizou de extratos de ovos, larvas, ninfas e adultos do parasito para provocar resposta imune nos hospedeiros. De forma geral o autor colocou a imunidade como fator que o hospedeiro adquire e incrementa com a continuidade do processo de parasitismo.

LATIF, NEWSON & DHADIALLA (1988) provaram ser possível manter carrapatos se alimentando repetidamente em coelhos, mesmo, segundo os autores, tendo observado processo de desenvolvimento de resistência ao parasito por parte dos coelhos.

CLARKE, ELS, HELLER-HAUPT & VARMA (1989) estudaram a imunidade adquirida em coelhos e cobaios para estágios imaturos de *R. sanguineus* e de *R. evertsi*. Os autores sustentaram que durante infestações sucessivas no mesmo hospedeiro o pêso final do parasito ingurgitado vai sofrendo progressivo decréscimo.

FIVAZ & NORVAL (1989) trabalharam com *R. appendiculatus* e *R. zambiensis* e fizeram observações sobre a imunidade de coelhos após infestações sucessivas. De forma geral, este trabalho concorda com outros que abordaram o mesmo tema, chamando atenção para diminuição do desempenho biológico do parasito quando os mesmos hospedeiros são usados em sucessivas infestações.

3- MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado entre setembro de 1991 e junho de 1992 no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON), do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

3.1- Obtenção de *Rhipicephalus sanguineus*

Para a implantação da colônia foram coletadas teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de cães naturalmente infestados. Após limpas e pesadas, as teleóginas foram acondicionadas em Placas de Petri e transferidas para estufa biológica para BOD regulada a 27 +/- 1°C, umidade relativa sempre superior a 80% e em escotofase. As larvas obtidas foram aplicadas no pavilhão auricular dos cães e coelhos, segundo técnica de NEITZ et al (1976). As metalarvas obtidas foram coletadas, acondicionadas individualmente em frascos de vidro com 2 ml de capacidade, onde aguardava-se a ecdise e consequente passagem para o próximo instar. As ninfas foram

colocadas em número de 150 por hospedeiro, que foram três cães e 10 coelhos, sendo cinco sem contato prévio com ixodídeos e cinco infestados sucessivamente por larvas ninfas e adultos, A infestação com adultos se traduzia na colocação de 20 machos e 20 fêmeas em cada hospedeiro no caso dos coelhos e de 40 machos e 40 fêmeas no caso dos cães.

Os cães utilizados foram três fêmeas SRD, da mesma ninhada, pesando aproximadamente 1.2 kg, com dois anos de idade, enquanto os coelhos foram machos e fêmeas Nova Zelândia, com cerca de dois quilos, provenientes do Instituto de Zootecnia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Este procedimento de infestação controlada foi repetido ao longo de três gerações.

3.2- Rotina e condições de laboratório

Após coletadas, as fêmeas *±*ingurgitadas de *R. sanguineus* foram limpas com pincel de cerdas naturais nº 2, pesadas em balança analítica com precisão de 0,0001g*. Note-se que toda fêmea com peso inferior a 20 mg só era computada para efeito de queda, sendo descartada para todas as outras etapas. Seguindo-se a este procedimento as fêmeas foram acondicionadas individualmente em placas de Petri. tamanho 50 X 20 mm, identificadas pela data de queda, grupo e peso e levadas a estufa biológica para BOD com temperatura a 27 +/- 1 °C e umidade relativa sempre superior a 80%. As

*Bosch, mod. M 2000.

referidas condições da estufa biológica foram conferidas pelo menos uma vez ao dia, através de termohigrômetro e a umidade era mantida nos níveis desejados mediante a colocação de recipientes com água destilada no seu interior.

As posturas foram recolhidas em espaços de tempo sempre constantes para a mesma geração (foram trabalhadas três gerações em cada grupo), pesadas e colocadas em seringas plásticas descartáveis com as extremidades distais cortadas. Estas seringas foram previamente lavadas com água e sabão neutro e colocadas de molho em etanol comercial por pelo menos 48 horas. Uma vez com a postura em seu interior, as seringas foram fechadas na parte inferior pelo próprio êmbolo e pela parte superior por um tecido de trama fina e fixado com fita gomada. A identificação da postura consistiu na data de queda, pêso da teleógina, o grupo a qual ela pertencia e número da coleta.

3.3- Experimentos

3.3.1- Teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de coelhos sem infestação prévia por ixodídeos.

Durante três gerações foram infestados grupos de cinco coelhos por geração com cada hospedeiro recebendo 20 machos e 20 fêmeas.

As teleóginas naturalmente desprendidas foram

recolhidas e tratadas como processo anteriormente descrito. Para a 1ª geração as posturas de cada fêmea foram recolhidas diariamente, pesadas e acondicionadas nas seringas (cada seringa abrigava somente uma postura). As fêmeas também foram pesadas diariamente, tendo sido utilizadas 40 teleóginas. Na 2º geração as posturas foram colhidas de três em três dias e para uma mesma fêmea as posturas foram colocadas sempre na mesma seringa. As fêmeas também foram pesadas de três em três dias, juntamente com a postura, tendo sido utilizadas 50 teleóginas. Na 3ª geração as posturas foram colhidas de seis em seis dias e colocadas sempre na mesma seringa. As fêmeas nesta fase foram pesadas por ocasião de sua queda do hospedeiro e quando se encerrava a oviposição, tendo sido utilizadas 86 teleóginas.

Para efeito de observação foram consideradas as teleóginas com 20,0 mg ou mais.

3.3.2- Teleóginas de *R. sanguineus* vindas de coelhos reinfestados.

Durante três gerações foi infestado um grupo de cinco coelhos. Os mesmos animais receberam todos os estágios do parasito ao longo de três gerações. No que se refere a infestação com adultos cada hospedeiro recebeu 20 machos e 20 fêmeas.

O procedimento para com as posturas e as teleóginas foi o mesmo que o já citado para o anterior. O grupo de

teleóginas de *R. sanguineus* para a 1ª geração foi em número de 40, para a 2ª foi de 50 e para a 3ª foi de 25.

3.3.3- Teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de cães reinfestados.

Durante três gerações foi infestado um grupo de três cães, adultos, sem raça definida, fêmeas e provenientes da mesma ninhada, submetidos a infestações prévias com *R. sanguineus*. Os mesmos animais receberam todos os estágios do parasito ao longo de três gerações. No que se refere a infestação com adultos, cada hospedeiro recebeu 40 machos e quarenta fêmeas.

O procedimento para com as posturas e as teleóginas foram os mesmos que os já citados para os grupos anteriores. O grupo de teleóginas de *R. sanguineus* para a 1ª geração foi em número de 35, para a 2ª foi de 35 e na 3ª não houve produção de teleóginas.

3.3.4- Teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de cães naturalmente infestados.

As teleóginas foram obtidas a partir de catação manual em cães da região do município de Itaguaí e do bairro de Campo Grande, zona oeste da cidade do Rio de Janeiro.

O procedimento para com as posturas e as teleóginas foram os mesmos que os já citados para os grupos anteriores.

Neste grupo foram observadas um total de 30 teleóginas.

3.4- Dados biológicos

As observações se concentraram no peso médio das teleóginas, período de pré-postura, período de postura, ritmo de oviposição, peso dos ovos, percentual médio de eclosão, período de incubação e peso médio de quenóginas. Foram ainda obtidos os índices de eficiência reprodutiva e nutricional para cada fêmea estudada.

3.5- Tratamento matemático-estatístico

Foram feitas análises de variância (ANOVA) para se saber se houve variações dentro de um mesmo tratamento e entre os tratamentos numa mesma geração e entre as gerações.

A ANOVA foi seguida por aplicação do teste de Tukey. Através destas foram analisados os seguintes pontos:

- a) Diferenças entre o peso médio das teleóginas provenientes de coelhos sem infestação prévia e reinfestados ao longo de três gerações;
- b) Diferenças entre o peso médio das teleóginas provenientes do mesmo grupo de coelhos por três gerações;
- c) Diferenças entre o peso médio das teleóginas provenientes do mesmo grupo de cães por duas gerações.

Foram também calculados os índices de eficiência reprodutiva (IER) e de eficiência nutricional (IEN). Tais

índices foram verificados individualmente para cada fêmea dentro de um grupo e depois calculada a média geral do grupo. Aplicou-se as seguintes fórmulas para os cálculos dos índices, segundo BENNET (1977):

$$\text{IER} = \frac{\text{PESO DA MASSA DE OVOS} \times 100}{\text{PESO INICIAL DA FÊMEA}}$$

$$\text{IEN} = \frac{\text{PESO DA MASSA DE OVOS} \times 100}{\text{PESO INICIAL} - \text{PESO RESIDUAL DA FÊMEA}}$$

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Experimento 1 - Teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* provenientes de coelhos sem infestação prévia por ixodídeos.

Nas três gerações de ixodídeos obtidos a partir da infestação de cinco coelhos observou-se que na 1ª geração o peso médio das 40 teleóginas observadas foi de 166,02 mg, na 2ª geração o peso médio das 50 teleóginas foi de 154,01 mg e na 3ª geração foram analisadas 83 teleóginas obtendo-se 156,45 mg para seu peso médio (Tab. 1). Não foram encontradas diferenças significativas entre as médias. O período de pré-postura foi de 3,85 dias em média para a 1ª geração, 3,96 para a 2ª e 4,24 para a 3ª (Tab. 2). Em condições semelhantes NUTTALL (1915), SAPRE (1942), PAUL, KAPOOR & PERTI (1970) MAHADEV (1977) encontraram para o referido período valores similares. O período de postura também foi determinado para as três gerações obtendo-se 10,81 dias em média para a 1ª geração, 13,27 para a 2ª e 15,85 para a 3ª (Tab. 2). Note-se que a metodologia de observação contribuiu para o incremento destes valores ao longo das três gerações. Os percentuais de

fêmeas (que realizaram postura foram de 100% para a 1ª geração, 100% para a 2ª e 99,3% para 3ª. Estes valores concordam com os achados por SAPRE (1942), MAHADEV (1977), HAFEZ & BASSAL (1980), que trabalharam em condições semelhantes.

O ritmo de oviposição pode ser visto nas figuras 1, 2 e 3. Observou-se que nos primeiros sete dias foram ovipostos 89,54% do total de ovos na 1ª geração, 81,33% na 2ª e 89,13% na 3ª.

O período de incubação para a 1ª geração foi de 15,25 dias em média, 14,68 para a 2ª e 14,72 para a 3ª (Tab. 3). SRIVASTAVA (1964) encontrou 19,6 dias em média para este período trabalhando com 29 °C de temperatura e 80% de umidade relativa, enquanto MAHADEV (1977) chegou a um período de 18 a 25 dias para temperaturas que variavam entre 25 e 30°C.

A média de eclodibilidade encontrada foi semelhante nas três gerações estudadas, tendo sido de 95,88% para a 1ª geração, 97,49% para a 2ª e 98,91% para a 3ª (Tab 3). SRIVASTAVA (1964), PAUL, KAPOOR & PERTI (1970), RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981) encontraram valores próximos aos achados no presente trabalho e chamam a atenção para o fato de que a eclodibilidade ser sempre muito alta desde que a temperatura e a umidade estejam em níveis satisfatórios.

O peso dos ovos também foi alvo de estudo, achando-se 39,6 mcg em média para a 1ª geração, 42,8 mcg para a 2ª e 39,8 para a 3ª, discordando do verificado por FUJISAKI, KITAOKA & MORII (1976), que chegaram a um resultado

de 49 mcg em média para o peso de ovo e de RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981), que dizem que cada ovo pesa em média 50 mcg.

O peso médio das 37 quenóginas da 1ª geração foi de 35,33 mg. Na 2ª geração contando com 47 quenóginas o peso médio foi de 34,40 mg. Já na terceira geração o número de quenóginas foi de 81 e o peso médio achado foi de 24,37 mg.

Os índices de eficiência reprodutiva e nutricional foram calculados para cada fêmea ao longo das três gerações. A média geral do índice de eficiência reprodutiva da 1ª geração foi de 64,50%, da 2ª foi de 62,83% e da 3ª foi de 65,24%. A média geral do índice de eficiência nutricional na 1ª geração foi de 79,92%, na 2ª foi de 79,00% e na 3ª foi de 77,32% (Tab. 4).

Como pode-se notar este experimento caracterizou-se por não apresentar grandes diferenças entre as gerações em nenhum dos aspectos anteriormente citados. Isto se deve, provavelmente ao fato de que as condições de laboratório foram semelhantes ao longo das três gerações, além da utilização de hospedeiros sem contato prévio com ixodídeos.

Pode-se concluir ainda que coelhos são hospedeiros adequados para a manutenção de populações de *R. sanguineus* em laboratório, ao contrário do observado por FELDMAN-MUHSAM, (1964). Finalmente ficou claro que *R. sanguineus* pode ser mantido em coelhos por três gerações, sem que haja alterações sensíveis no desempenho de oviposição da espécie.

4.2- Experimento 2 - Teleóginas de *R. sanguíneus* provenientes de coelhos reinfestados.

Nas três gerações de ixodídeos obtidos a partir de cinco coelhos reinfestados observou-se que na 1ª geração o peso médio das 40 teleóginas observadas foi de 130,70 mg, enquanto na 2ª geração o peso médio das 50 teleóginas estudadas foi de 63,03 mg e na 3ª geração o peso médio das 25 teleóginas em questão foi de 47,62 mg (Tab. 5). Foram encontradas diferenças significativas entre as três médias. Do mesmo modo estes valores foram sensivelmente inferiores aos encontrados no experimento anterior, onde os coelhos não tinham contato prévio com ixodídeos. Isto sugere fortemente o incremento do processo da resposta imune por parte dos hospedeiros quando acontece reinfestações sucessivas. FELDMAN-MUHSAM, (1964), PUTTALAKSHMAMMA, (1987), LATIF, NEWSON & DHADIALLA, (1988), CLARKE, ELS, HELLER-HAUPT & VARMA, (1989) e FIVAZ & NORVAL (1989) corroboram estas observações, tendo estes autores considerado reinfestações sucessivas como o ponto chave para o aumento da resposta imune do hospedeiro, com consequente baixa nos índices de desempenho biológico.

Na 1ª geração o período de pré-postura foi de 4,18 dias, na 2ª foi de 4,2 dias e na 3ª foi de 4,31 dias (Tab. 6). Este parâmetro biológico foi algo superior ao encontrado no grupo anterior, embora estejam próximos aos valores considerados normais pela maioria dos autores em condições

semelhantes de laboratório. O período de postura foi de 10,12 dias para a 1ª geração, 10,61 para a 2ª e 13,85 para a 3ª (TAB. 6). Note-se que a metodologia de observação contribuiu para o incremento destes valores ao longo das três gerações. Estes valores foram ligeiramente inferiores aos encontrados no experimento anterior embora ainda próximos aos encontrados por outros autores em condições semelhantes de laboratório, como SAPRE (1942), MAHADEV (1977), HAFEZ & BASSAL (1980). Sendo assim parece não haver influências da resposta imune deste grupo de hospedeiros, sobre os períodos de pré-postura e postura.

O ritmo de oviposição pode ser visto nas figuras 4, 5 e 6. Observou-se que nos primeiros sete dias foram ovipostos 90,49% do total de ovos na 1ª geração, 91,12% na 2ª e 92,89% na 3ª.

O período de incubação foi de 15,1 dias para a 1ª geração, 15,64 dias para a 2ª e de 15,30 dias para a 3ª (Tab. 7). Estes valores são similares aos encontrados no experimento anterior; mas uma vez parece não ter ocorrido influência das reinfestações sobre este parâmetro biológico.

A média de eclodibilidade para a 1ª geração foi de 92,29%, na 2ª foi de 88,79% e na 3ª foi de 82,73% (Tab. 7). Embora estas médias possam parecer altas convém lembrar que as conseguidas no experimento anterior foram maiores; do mesmo modo, foram inferiores ao encontrado por autores que trabalharam com hospedeiros sem infestação prévia SRIVASTAVA,

(1964), PAUL, KAPPOR & PERTI (1970), RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981)). Este fato leva a crer que o processo de imunidade desenvolvido pelos hospedeiros em infestações sucessivas afeta a eclodibilidade dos ovos.

A exemplo do grupo anterior o pêso dos ovos também foi monitorado ao longo das três gerações. Na 1ª geração o pêso médio de ovo ficou em 40,1 mcg, na 2ª em 38,7 mcg e na 3ª em 39,9 mcg. Os valores encontrados neste experimento foram bastante semelhantes aos do experimento anterior, discrepando portanto dos valores encontrados por FUJISAKI, KITAOKA & MORII (1976) e RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981) que chegaram a um pêso médio de 50 mcg. Sendo assim é provável que a resposta imune não interfira de forma sensível neste aspecto.

O pêso médio das quenóginas foi monitorado ao longo das três gerações e o que se observou, a exemplo do pêso médio ele teleóginas, foi uma grande diferença nos valores encontrados entre o experimento anterior e o presente. O pêso médio de quenóginas na 1ª geração foi 31,51 mg, na 2ª foi de 23,63 e na 3ª foi de 14,68 mg.

Os índices de eficiência reprodutiva e nutricional foram calculados para cada fêmea ao longo das três gerações. A média geral do índice de eficiência reprodutiva da 1ª geração foi de 56,78%, da 2ª foi de 47,28% e da 3ª foi de 57,59%. A média geral do índice de eficiência nutricional da 1ª geração foi de 76,49%, da 2ª foi de 68,22% e da 3ª foi de 72,58% (Tab. 8). Todas estas médias foram inferiores às do

experimento anterior, sugerindo que a resposta imune do hospedeiro se reflete também nestes índices.

De forma geral pode-se entender que o uso dos mesmos hospedeiros em infestações sucessivas por *R. sanguineus* provavelmente provoca um gradual aumento na capacidade da resposta imune destes, provocando redução no desempenho biológico do parasito.

Conclui-se ainda que para a manutenção de *R. sanguineus* em laboratório, coelhos usados em sucessivas infestações não são adequados.

4.3- Experimento 3 - Teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de cães reinfestados.

Nas três gerações de ixodídeos obtidos a partir de cães reinfestados observou-se que na 1ª geração o peso médio das 35 teleóginas trabalhadas foi de 133,53 mg; na 2ª geração o peso médio das 35 teleóginas estudadas foi de 115,50 mg; enquanto na 3ª geração não houve produção de teleóginas em condições para estudo, sendo que por ocasião da coleta o que se observou foram parasitos semi-ingurgitados e mortos (Tab. 9). Isto se deve provavelmente ao alto grau de defesa imune adquirida pelos hospedeiros ao longo das infestações. Este fato é corroborado por vários autores que admitem o processo de incremento de imunidade por parte dos hospedeiros quando estes são utilizados em infestações sucessivas, tais como FELDMAN-MUHSAM (1964), PUTTALAKSHMAMMA (1987), LATIF, NEWSON

& DHADIALLA (1988). A análise estatística demonstrou que houve diferença significativa entre as médias, o que confirma esta interpretação.

Na 1ª geração das 35 teleóginas coletadas 15 apresentaram oviposição com média para o período de pré-postura de 5,73 dias. Na 2ª geração mais 35 teleóginas foram coletadas e apenas quatro iniciaram o processo de postura com média de seis dias para o período de pré-postura. Comparando-se os valores obtidos para este período com aqueles obtidos para coelhos, pode-se supor um efeito da espécie do hospedeiro sobre sua duração. O período de postura na 1ª geração foi de 11,77 dias em média e na 2ª foi de 13,5 dias em média (Tab. 10). Note-se que o aumento verificado da 1ª geração para a 2ª teve influência da metodologia de observação. Pode-se notar que os valores correspondentes ao número de fêmeas que iniciaram a oviposição são nitidamente inferiores aos encontrados nos dois experimentos anteriores, aparentando assim a maior eficiência de coelhos em relação aos cães no que se refere a manutenção de *R. sanguineus* em laboratório. NUTTALL (1915) mantendo teleóginas a 30 °C observou que este período variou de nove a 15 dias. Outros autores como SRIVASTAVA & VARMA (1964), entre outros, observaram lapsos de tempo semelhantes para o período, em condições de laboratório próximas às do presente trabalho. Assim, tanto para o período de pré-postura quanto para o de postura o fato dos mesmos hospedeiros serem usados sucessivamente não parece ter influenciado sua duração.

O ritmo de oviposição pode ser visto nas figuras 7 e 8. Observou-se que nos primeiros sete dias foram ovipostos 81,15% do total de ovos na 1ª geração e 72,01% na 2ª.

O período de incubação na 1ª geração foi, 16,8 dias em média, similar ao observado para a 2ª geração, 16 dias em média, Estes valores guardam correspondência com o observado nos experimentos anteriores, o que denota não haver influência da espécie e do estado imune do hospedeiro.

O percentual de eclodibilidade na 1ª geração foi de 78,84% em média e na 2ª foi de 68,46% em média (Tab. 11). Estes percentuais estão bem abaixo dos encontrados na literatura, entretanto é prudente lembrar que autores como SRIVASTAVA (1964), PAUL, KAPPOR & PERTI (1970), RACIOPPI LOMBARDERO & MORIENA (1981) não trabalharam com hospedeiros reinfestados. Isto nos leva a crer que o processo de reinfestações num mesmo hospedeiro se reflete claramente sobre este parâmetro biológico. Em relação aos dois experimentos anteriores podemos notar que os valores sobre este parâmetro possuem médias muito superiores as das encontradas neste experimento, nos levando a crer mais uma vez que coelhos são melhores hospedeiros para se manter o parasito em laboratório.

O pêso de ovo na 1ª geração ficou em 38 mcg e na 2ª em 40,8 mcg, que são valores discrepantes aos encontrados por FUJISAKI, KITAOKA & MORII (1976) e RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981) que encontraram 40 mcg e 50 mcg respectivamente. Entretanto são similares aos valores

verificados nos experimentes anteriores; assim sobre este aspecto as reinfestações sucessivas nos mesmos hospedeiro não parecem afetar de modo significativo este parâmetro biológico.

O peso médio das quenóginas na 1ª geração foi de 37,07 mg e na 2ª foi de 31,98 mg evidenciando, assim como no peso médio de teleóginas, um decréscimo deste valor com a continuidade das infestações nos mesmos hospedeiros, provavelmente como reflexo do menor peso das teleóginas.

Os índices de eficiência reprodutiva e nutricional foram calculados para cada fêmea ao longo das duas gerações. A média geral do índice de eficiência reprodutiva para a 1ª geração foi de 52,16% e para a 2ª foi de 57,95%. A média geral do índice de eficiência nutricional para a 1ª geração foi de 73,76% e para a 2ª foi de 77,09% (Tab. 12). Estes resultados podem parecer contraditórios, mas convém lembrar que para a 1ª geração 12 fêmeas entraram nos cálculos e na 2ª apenas quatro, muito provavelmente as de maior potencial de conversão de todo o grupo inicial.

Neste experimento pode-se concluir que, embora seja possível manter colônia de *R. sanguineus* por pelo menos duas gerações em cães adultos reinfestados deve-se levar em conta o efeito deletério que ocorre sobre sua produção peso de teleóginas e percentual de eclodibilidade, o que pode vir a inviabilizar a manutenção de colônias por um prazo maior.

Do mesmo modo, ao comparar-se os resultados aqui obtidos com os dos experimentes anteriores, fica patente que

a obtenção de *R. sanguineus* é mais fácil utilizando-se coelhos como hospedeiros, tanto pela facilidade de manejo dos animais como pela resposta do parasito no que se refere ao seu desempenho biológico, ao contrário do que diz FELDMAN-MUHSAM (1964) que preconiza o uso de cães sempre que possível para a manutenção de *R. sanguineus*.

4.4- Experimento 4 - Teleóginas de *R. sanguineus* provenientes de cães naturalmente infestados.

Foram coletadas 30 teleóginas de cães naturalmente infestados. O peso médio das mesmas foi de 110,75 mg (tab. 13). Este valor médio é inferior ao do grupo anterior provavelmente pela diversidade de hospedeiros e condições de coleta, porém seu valor mínimo o supera em muito.

Todas as 30 teleóginas coletadas iniciaram o processo de oviposição, o que não aconteceu com o grupo anterior. O período de pré-postura foi de 5,43 dias em média e o de postura foi de 15,24 dias em média (tab. 13). Estes valores estão próximos aos encontrados no experimento anterior e são similares aos de autores já citados anteriormente para condições semelhantes de laboratório. Este valor médio foi algo superior aos encontrados nos dois primeiros experimentos, ficando bem mais próximo dos valores encontrados no 3º experimento.

O ritmo de oviposição pode ser visto na figura 9. Observou-se que nos primeiros sete dias foram ovipostos

87,07% do total de ovos na 1ª geração.

O período de incubação ficou em 14,95 dias em média, também similar aos valores encontrados nos experimentos anteriores (tab. 13).

A média de eclodibilidade dos ovos concordou com autores SRIVASTAVA (1964), PAUL, KAPOOR & PERTI (1970), RACIOPPI, LOMBARDERO & MORIENA (1981) que dizem estar sempre perto dos 100%. Neste experimento a média encontrada foi de 94,50%. Note-se que esta média é sensivelmente maior do que no experimento anterior. Isto vem corroborar o raciocínio de que reinfestações sucessivas num mesmo hospedeiro sempre com a mesma cepa do parasito incrementam o processo de resposta imune por parte do mesmo, o que leva ao decréscimo do seu desempenho biológico.

O peso de ovo foi calculado e sua média ficou em 43,8 mcg, discrepando dos valores encontrados por autores anteriormente citados e concordando com todos OS experimentos anteriores.

O peso médio de quenógina ficou em 20,94 mg.

Os índices de eficiência reprodutiva e nutricional foram calculados para cada fêmea, ficando em média o 1º em 61.68% e o 2º em 76,31%.

Ficou evidente que o desempenho biológico da fase de oviposição é melhor para parasitos coletados em seus hospedeiros naturais em campo do que aqueles mantidos sendo alimentados em cães no laboratório em infestações sucessivas. Isto acontece, provavelmente porque, na natureza as fêmeas

que chegam a se ingurgitar representam a parcela mais apta das que iniciaram a sucção.

5- CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

2) Coelhos são hospedeiros adequados para a manutenção de *Rhipicephalus sanguineus*, em detrimento de cães;

2) Teleóginas obtidas de coelhos submetidos a infestações sucessivas por larvas, ninfas e adultos do ixodídeos, apresentaram desempenho biológico decrescente ao longo das três gerações, não sendo portanto adequadas para a manutenção de colônia em laboratórios;

3) A duração do período de pré-postura foi influenciada pela espécie hospedeira;

4) Infestações sussecivas provocaram queda nos percentuais de eclosão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLARKE, F. C.; ELS D.; HELLER-HAUPT, A.; RECHAV, Y. & VARMA, M. G. R. 1989. Expression of Acquired Immunity to Immature Stages of the Tick *Rhipicephalus evertsi evertsi* by Rabbits and Guinea-Pigs. *Med. Vet. Entomol.* 3: 35-39.
- FAHMY, M. A. M.; MANDOUR, A. M. & ARAFA, M. S. 1977. Certain Biological and Ecological Observations on *Rhipicephalus s. sanguineus* (Latreille, 1806) in Assiut Area, Upper Egypt. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 7(1): 25-34.
- FELDMAN-MUHSAM, B. 1964. Laboratory Colonies of *Rhipicephalus*. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 31: 587-589
- FIVAZ, H.B. & NORVAL, A. 1989. Observations on Successive Infestations of the Rabbit Host by the Ticks *Rhipicephalus appendiculatus* and *R. zambeziensis* (Acari: Ixididae). *Exp. Appl. Acarol.* 7: 267-279.
- FUJISAKI, K.; KITAOKA, S. & MORII, T. 1976. Comparative

Observations on Some Bionomics of Japanese Ixodid Ticks under Laboratory Cultural Conditions. *Nat. Anim. Hlth. Quart.* 16: 122-128.

HAFEZ, M. & BASSAL, T. M. 1980. The Nutrition and Ambient Temperature Effect on the Oviposition Ability of *Rhipicephalus sanguineus* Latr. (Ixodidae, Acarina). *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 10(2): 295-300.

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: 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: 169-175.

KOCH, H. G. 1982. Oviposition of the Brown Dog Tick (Acari: ixodidae) in the Laboratory. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 75(5): 583-586.

KOSHY, T. J.; RAJAVELU, G. & LALITHA, C. M. 1983. On the Life Cycle of *Rhipicephalus sanguineus* (latreille, 1806). *Cheiron.* 12(6): 337-338

- LATIF, A. A.; NEWSON, R. M. & DHADIALLA, T. S. 1988. Feeding Performance of *Amblyomma variegatum* (Acarina: Ixodidae) Fed Repeatedly on Rabbits. *Exp. Appl. Acarol.* 5: 83-92.
- MAHADEV, P. V. M. 1977. Life Cycle, Feeding Behavior and Ovipositional Ability of *Rhipicephalus sanguineus* and *R. turanicus*. *Indian J. Acarol.* 2: 12-20.
- NUTTAL, G. H. F. 1915. Observations on the Biology of Ixodidae. *Parasitology.* 7 448-456.
- PAUL, C. F.; KAPOOR, D. & PERTI, S. L. 1970. Studies on the Life-History and Development of Ticks. *Labdev J. Sci. Tech.* 8(2): 80-83.
- PUTTALAKSHMAMMA, G. C. 1987. Studies on Immune Response of Rabbits to Antigens of *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806 (Acarina: Ixodidae). *Departament of Parasitology Hebbal.* 289.
- RACIOPPI, O.; LOMBARDERO, O. & MORIENA, R. A. 1981. Presencia de *Rhipicephalus sanguineus* Koch 1844 en Perros de la Ciudad de Corrientes. *Gac. vet. B. Aires T.* 361: 448-452.
- SALEH, R. S.; EL-GAYAR, F. & SHAZLI, A. 1978. Biological Studies on *Rhipicephalus sanguineus sanguineus* Latr. *Alex. J. Agric. Res.* 26(3): 653-657.

SAPRE, S. N. 1942. Some Observations on the Life-History of the Dog Tick *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) at Mukteswar. *Ind. vet. Sci.* 14: 111-112.

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.

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.

APÊNDICE

Tab 1. Peso Médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Peso médio (mg)	166,02 ^A	154,01 ^A	156,45 ^A
Desvio padrão	+/-29.99	+/-43.38	+/-40.32
Limites	82,6 - 228,6	73,4 - 217,7	43,5 - 210,2

Médias seguidas de letras iguais não diferenciam entre si a nível de 5% (ANOVA).

Tab 2. Períodos médios de pré-postura e postura, de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa, acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Pré-postura (dias)	3,85	3,96	4,24
Desvio padrão	+/-0,43	+/-0,88	+/-2,74
Postura (dias)	10,81	13,27	15,85
Desvio padrão	+/-3,30	+/-1,50	+/-3,33

Tab 3. Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Incubação(dias)	15,25	14,68	14,72
Desvio padrão	+/-1,67	+/-1,87	+/-1,09
Eclosão(%)	95,88	97,49	98,91

Tab 4. Índices de eficiência, reprodutiva e nutricional de teleógina de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Índices(%)	Geração		
	G1	G2	G3
Eficiência reprodutiva	64,50	62,83	65,24
Eficiência nutricional	79,92	79,0	77,32

Tab 5. Peso Médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Peso médio (mg)	130,7 ^A	63,03 ^B	47,62 ^C
Desvio padrão	+/-33,48	+/-37,58	+/-34,34
Limites	50,0 - 205,2	25,0 - 131,9	20,0 - 156,1

Médias seguidas de letras iguais não diferenciam entre si a nível de 5% (ANOVA).

Tab. 6. Períodos médios de pré-postura e postura, de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa, acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Pré-postura (dias)	4,18	4,2	4,32
Desvio padrão	+/-0,67	+/-0,22	+/-1,05
Postura (dias)	10,12	10,61	13,85
Desvio padrão	+/-1,90	+/-2,23	+/-2,88

Tab 7. Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos durante três gerações a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Incubação(dias)	15,1	15,64	15,30
Desvio padrão	+/-2,28	+/-1,45	+/-1,88
Eclosão(%)	92,29	87,79	82,73

Tab 8. Índices de eficiência reprodutiva, e nutricional de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de coelhos com contato prévio com ixodídeos e mantidas durante três gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Índices(%)	Geração		
	G1	G2	G3
Eficiência reprodutiva	56,78	47,28	57,59
Eficiência nutricional	76,49	68,22	71,58

Tab 9. Peso Médio e limites máximo e mínimo de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações a 27°C e umidade relativa, acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Peso médio (mg)	133,53 ^A	115,50 ^B	-----
Desvio padrão	+/-36,81	+/-33,27	-----
Limites	27,2 - 176,5	37,1 - 164,8	-----

Médias seguidas de letras iguais não diferenciam entre si a nível de 5% (ANOVA).

Tab 10. Períodos médios de pré-postura e postura de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Pré-postura (dias)	5,73	6,0	-----
Desvio padrão	+/-0,70	+/-1,2	-----
Postura (dias)	11,77	13,5	-----
Desvio padrão	+/-4,11	+/-1,73	-----

Tab 11. Períodos médios de incubação e percentuais de eclosão de ovos provenientes de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de cães com contato prévio com ixodídeos e mantidos durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Parâmetros	Geração		
	G1	G2	G3
Incubação(dias)	16,8	16,0	-----
Desvio padrão	+/-2,79	+/-1,83	-----
Eclosão(%)	78,84	68,46	-----

Tab 12. Índices de eficiência, reprodutiva e nutricional de teleóginas de *Rhipicephalus sanguineus* obtidas de cães reinfestados com ixodídeos e mantidas durante duas gerações, a 27°C e umidade relativa acima de 80%.

Índices(%)	Geração		
	G1	G2	G3
Eficiência reprodutiva	52,16	57,95	-----
Eficiência nutricional	73,76	77,09	-----

Tab 13. Peso médio e limites máximo e mínimo, período de pré-postura, de postura, de incubação, percentual de eclosão e índices de eficiência reprodutiva e nutricional de teleógenas de *Rhipicephalus sanguineus* coletadas superior a 80%.

Parâmetros						
Peso médio de teleógenas e limites	Período de pré-postura	Período de postura	Período de incubação	Eclosão	Índice de eficiência reprodutiva	Índice de eficiência nutricional
190,75mg +/- 17,97mg 75,5 - 193,6 (limites)	5,43 +/- 1,19 dias	15,24 +/- 1,74 dias	14,35 +/- 1,72 dias	94,50%	51,60%	76,31%

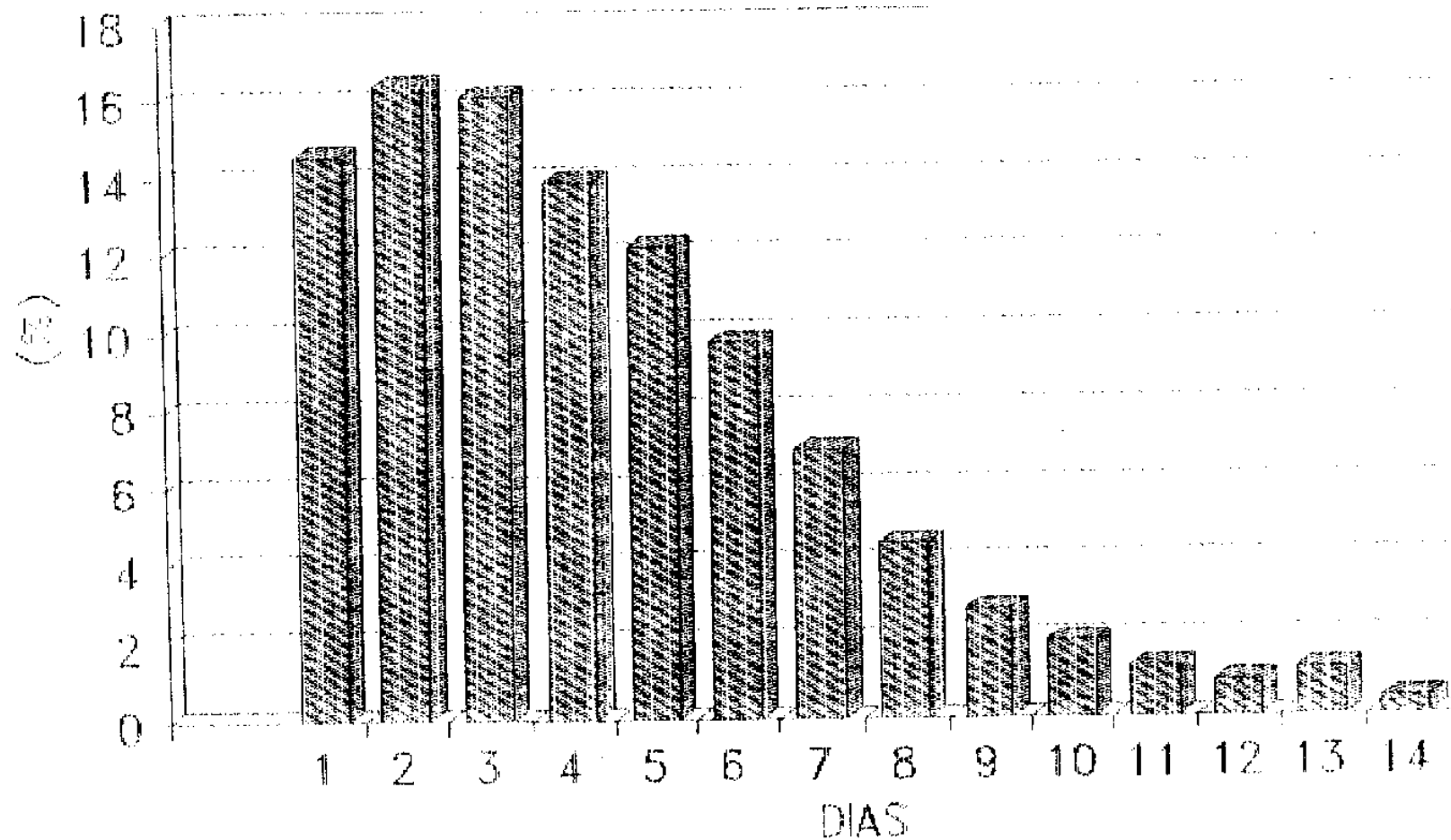


Figura 01. Ritmo de oviposição da 1ª geração de *Rhipicephalus sanguineus*, obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação diária.

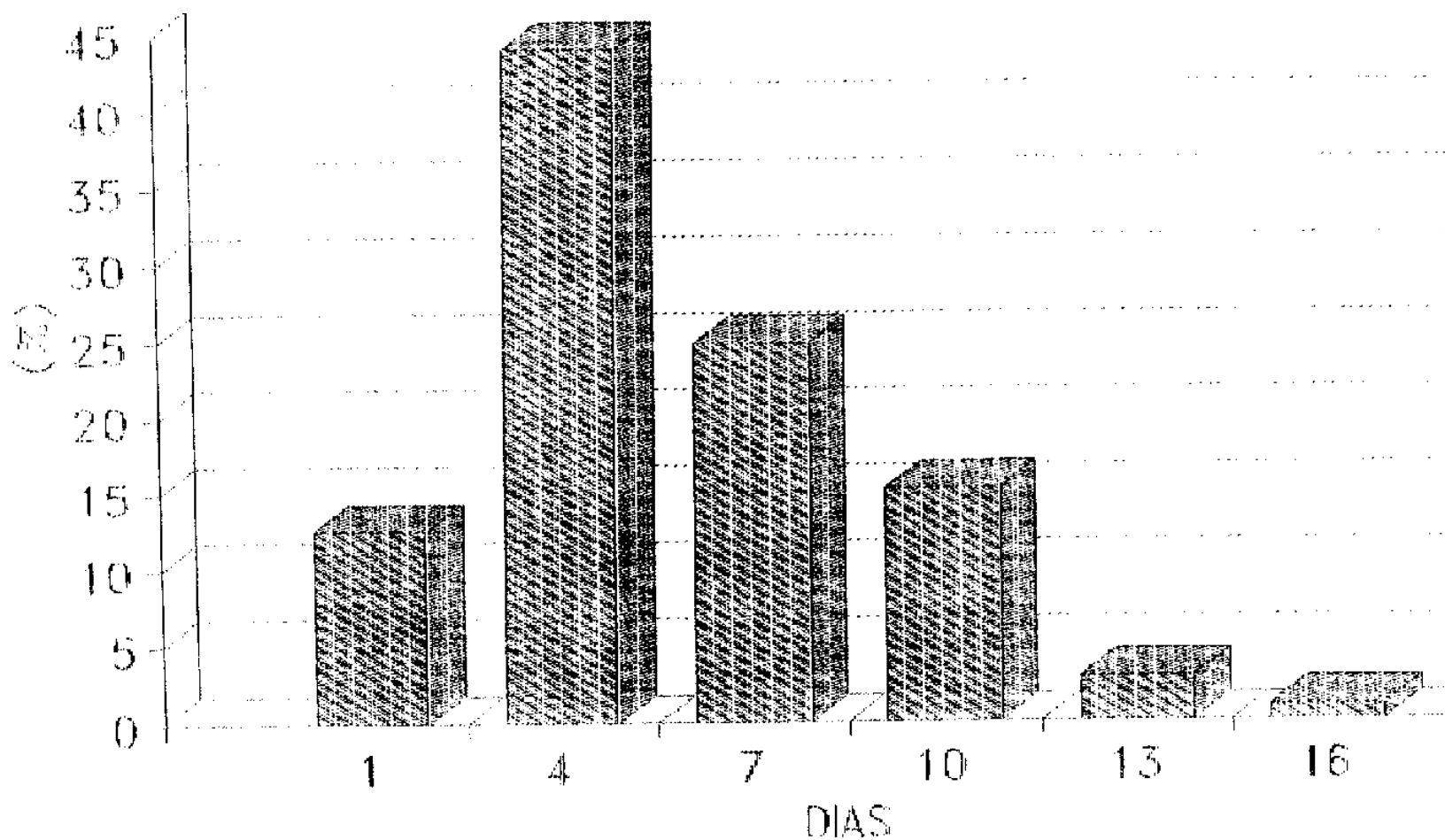


Figura 02. Ritmo de oviposição da 2ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias.

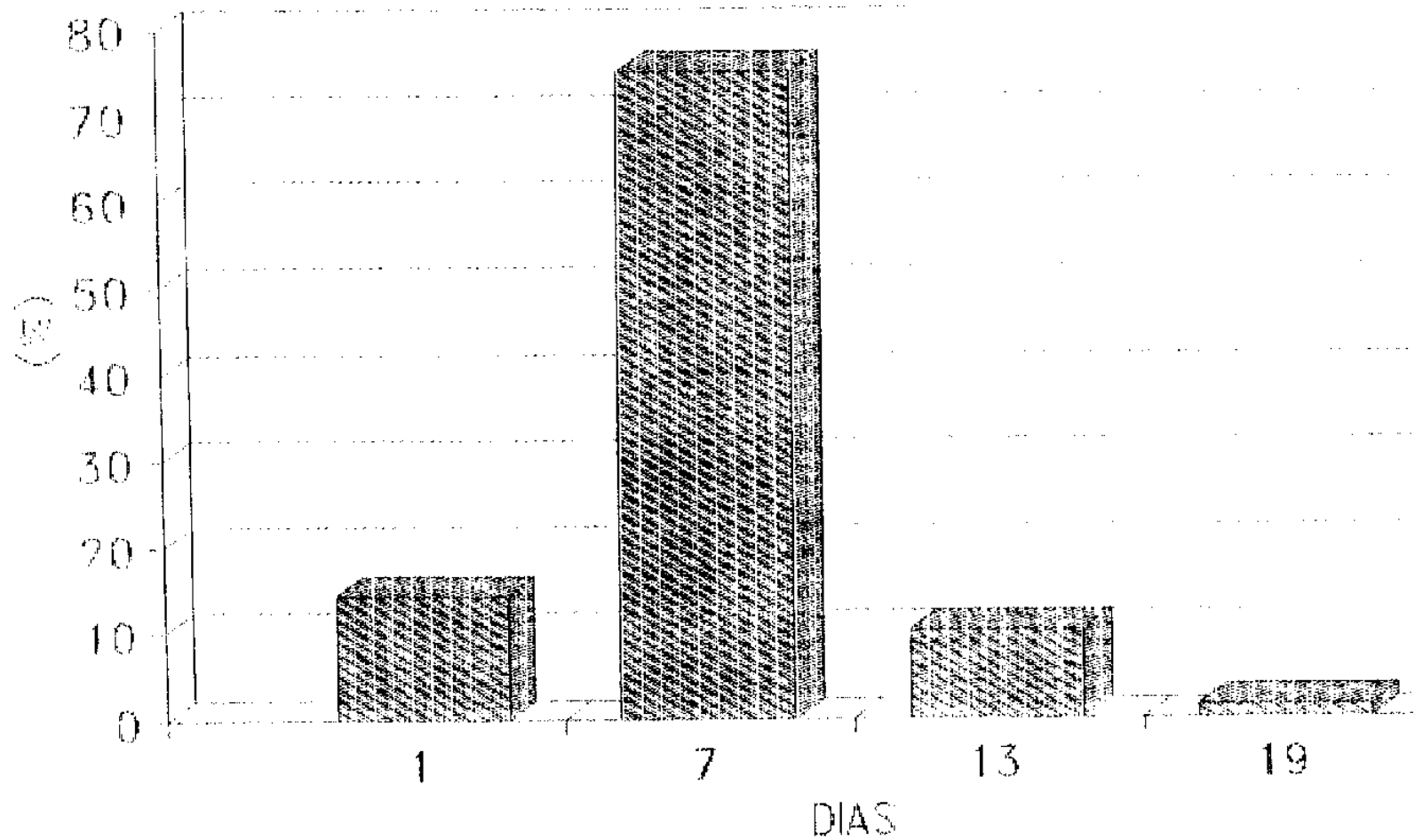


Figura 03. Ritmo de oviposição da 3ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos sem contato prévio com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de seis em seis dias.

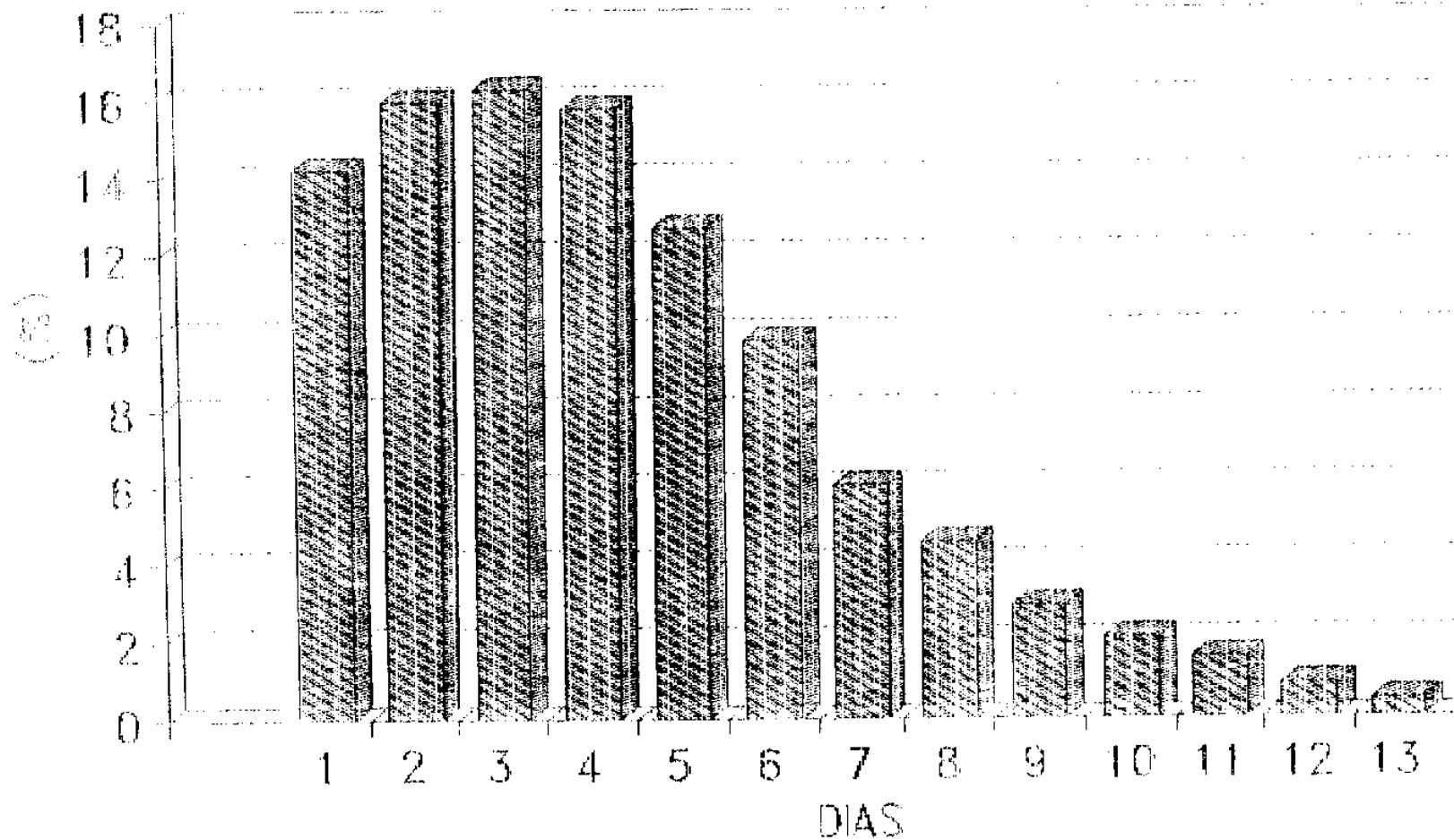


Figura 04. Ritmo de oviposição da 1ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação diária.

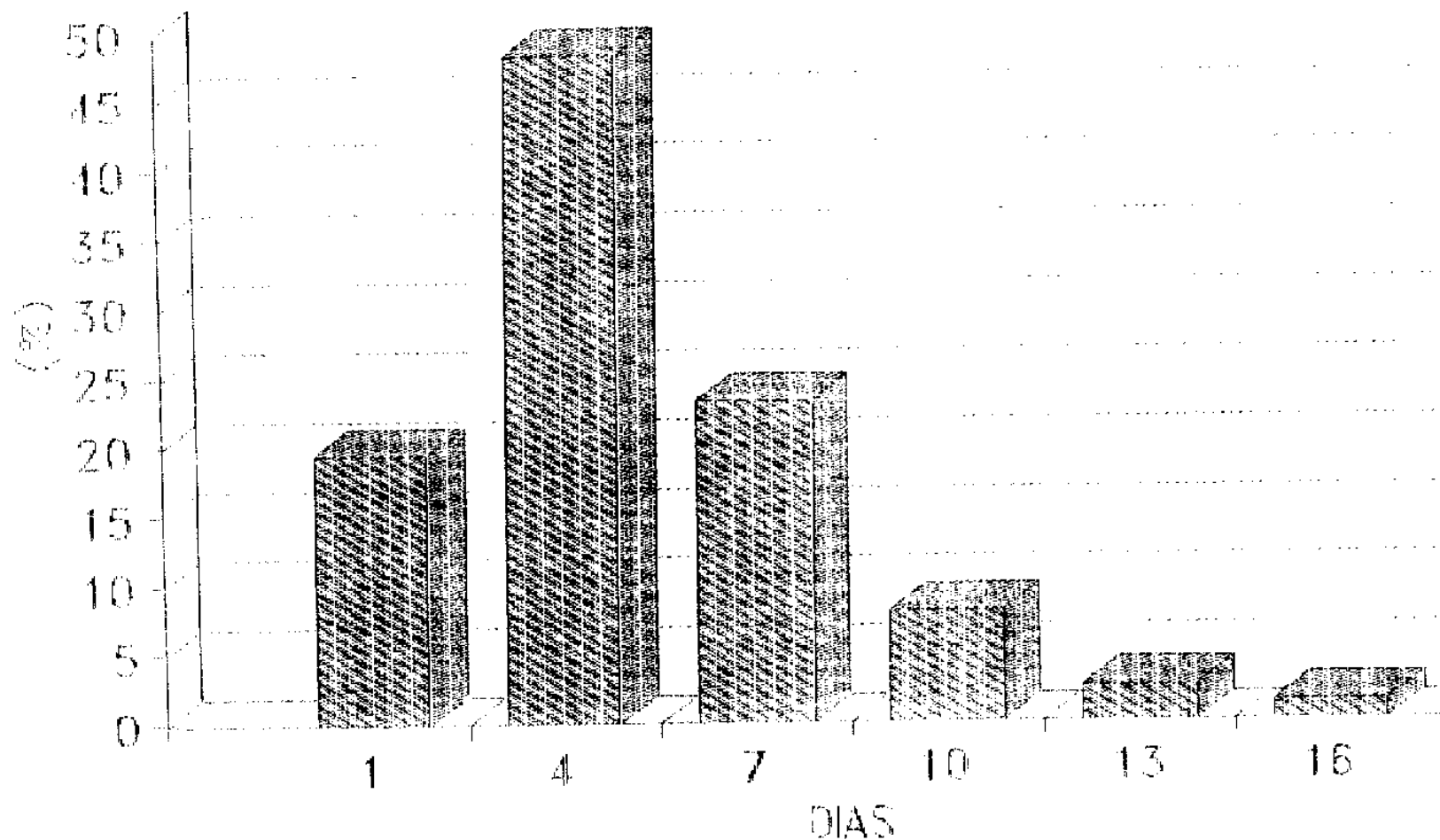


Figura 05. Ritmo de oviposição da 2ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias.

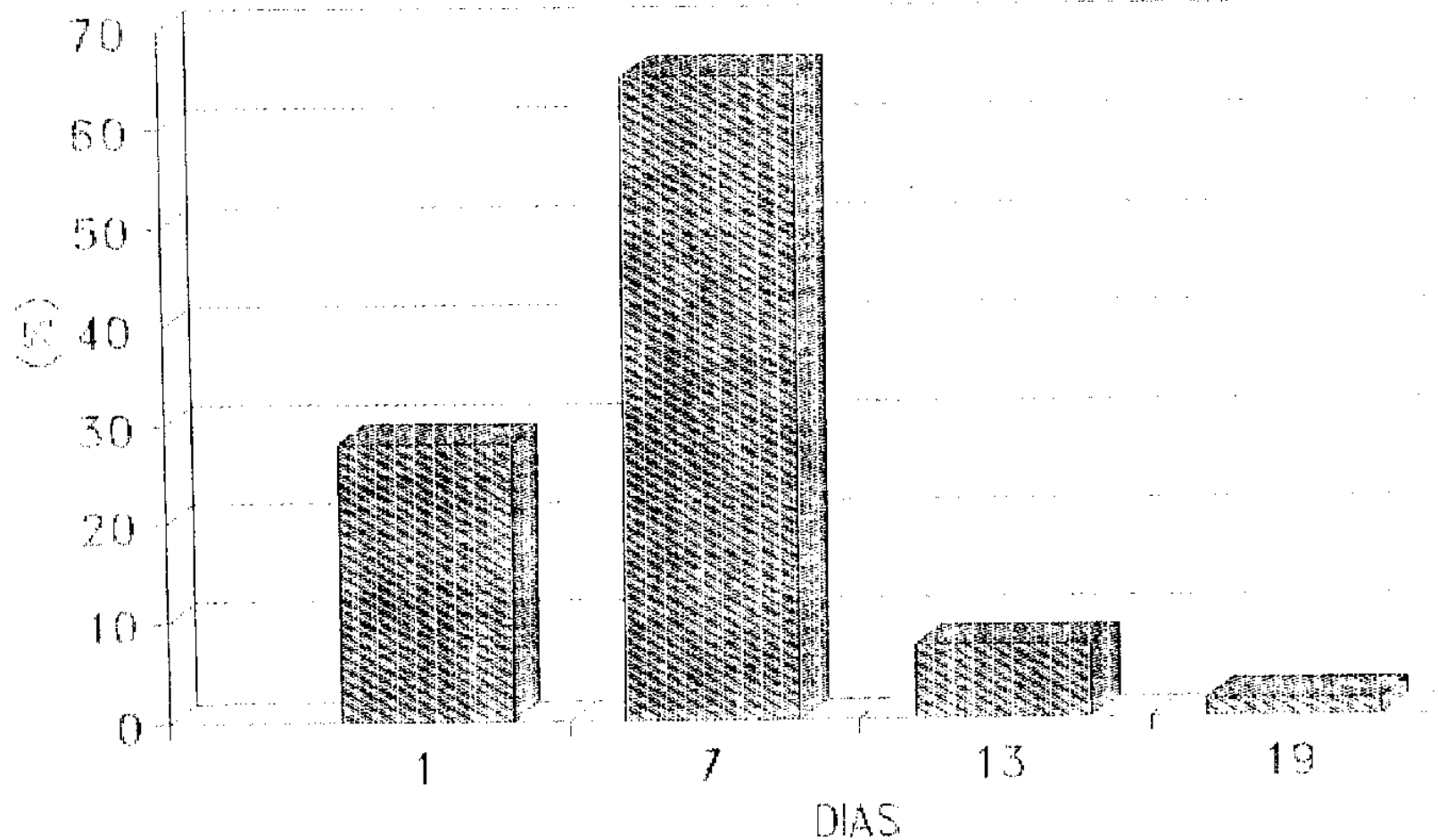


Figura 06. Ritmo de oviposição da 3ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de seis em seis dias.

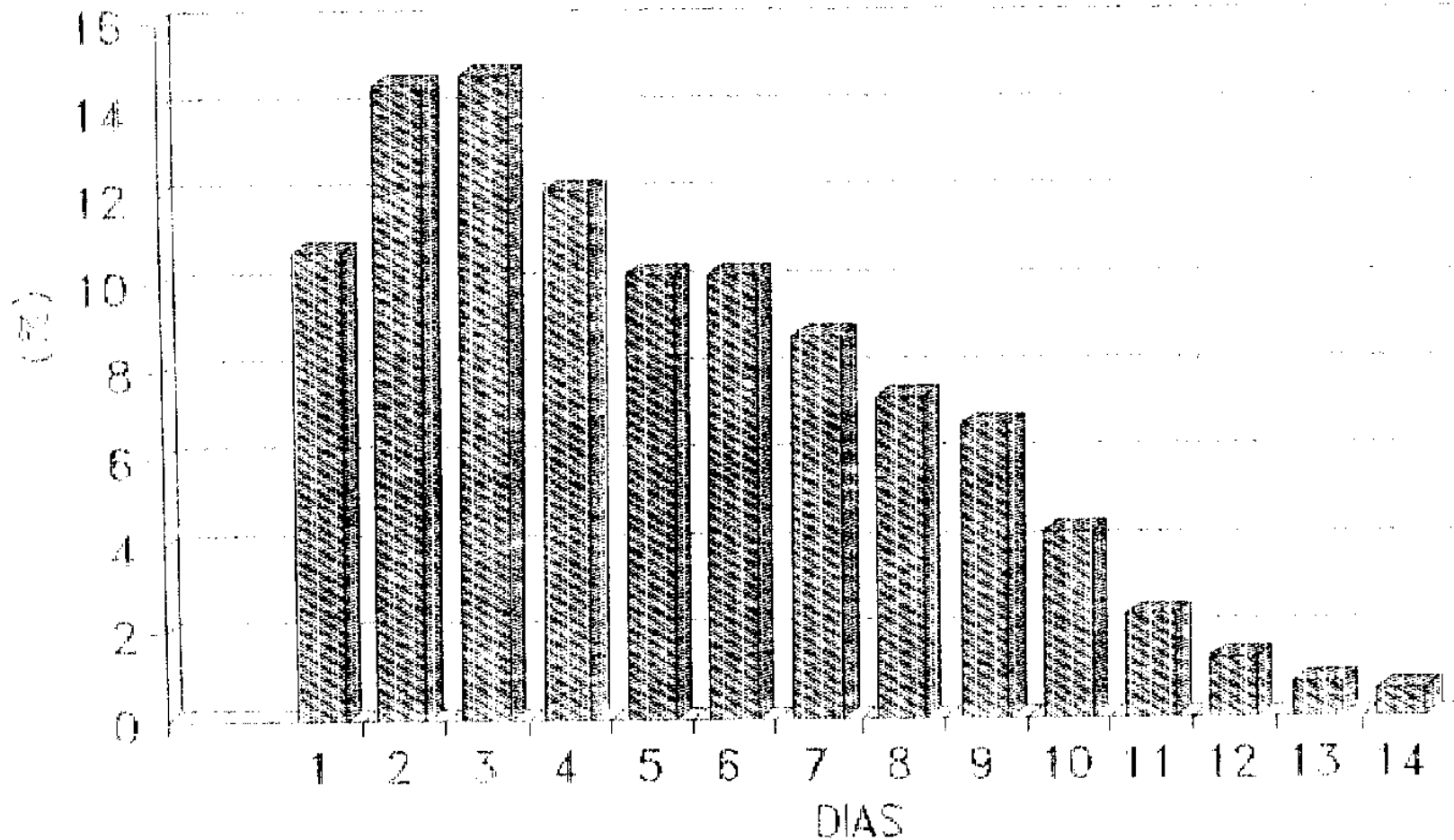


Figura 07. Ritmo de oviposição da 1ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de coelhos reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação diária.

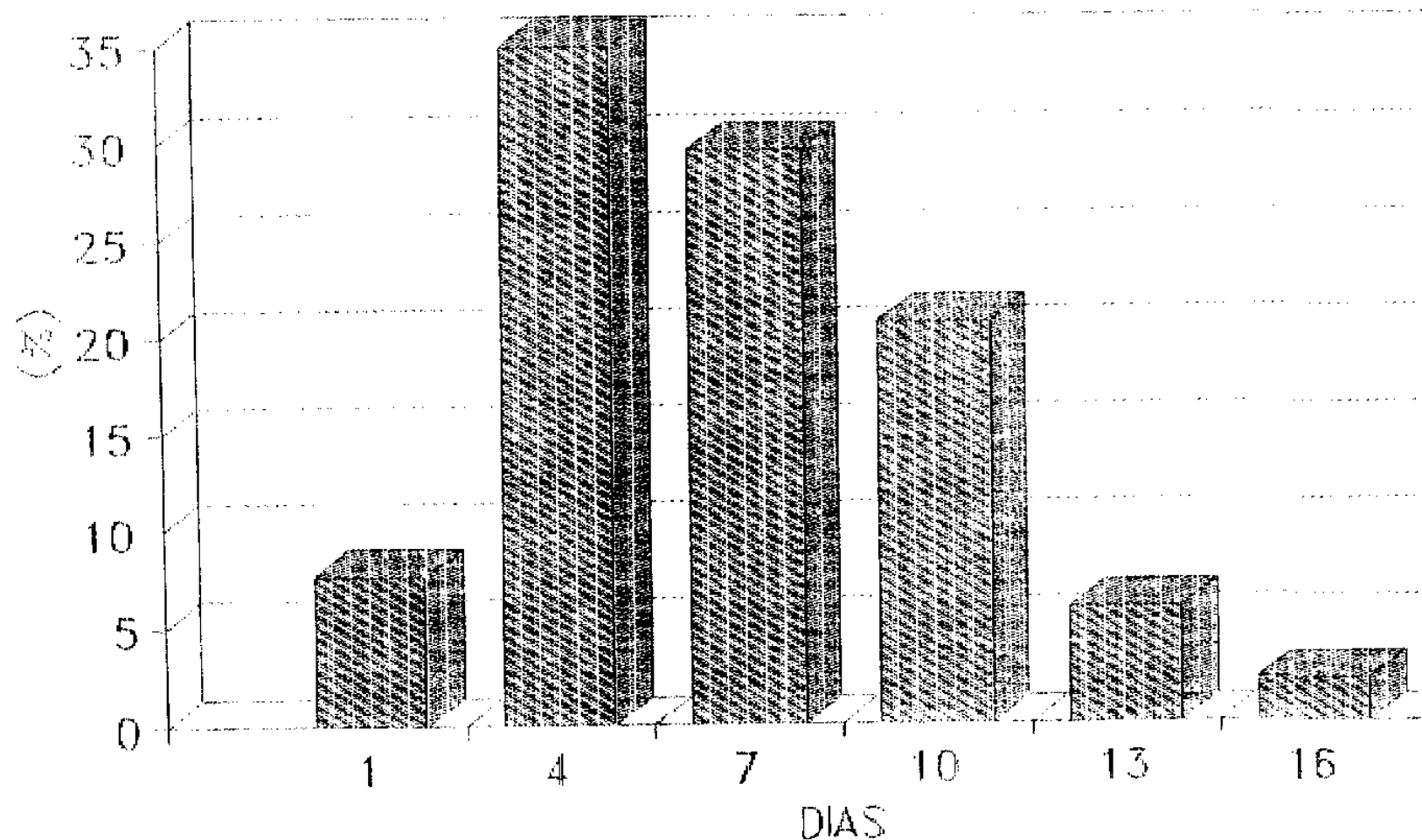


Figura 08. Ritmo de oviposição da 2ª geração de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de cães reinfestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias.

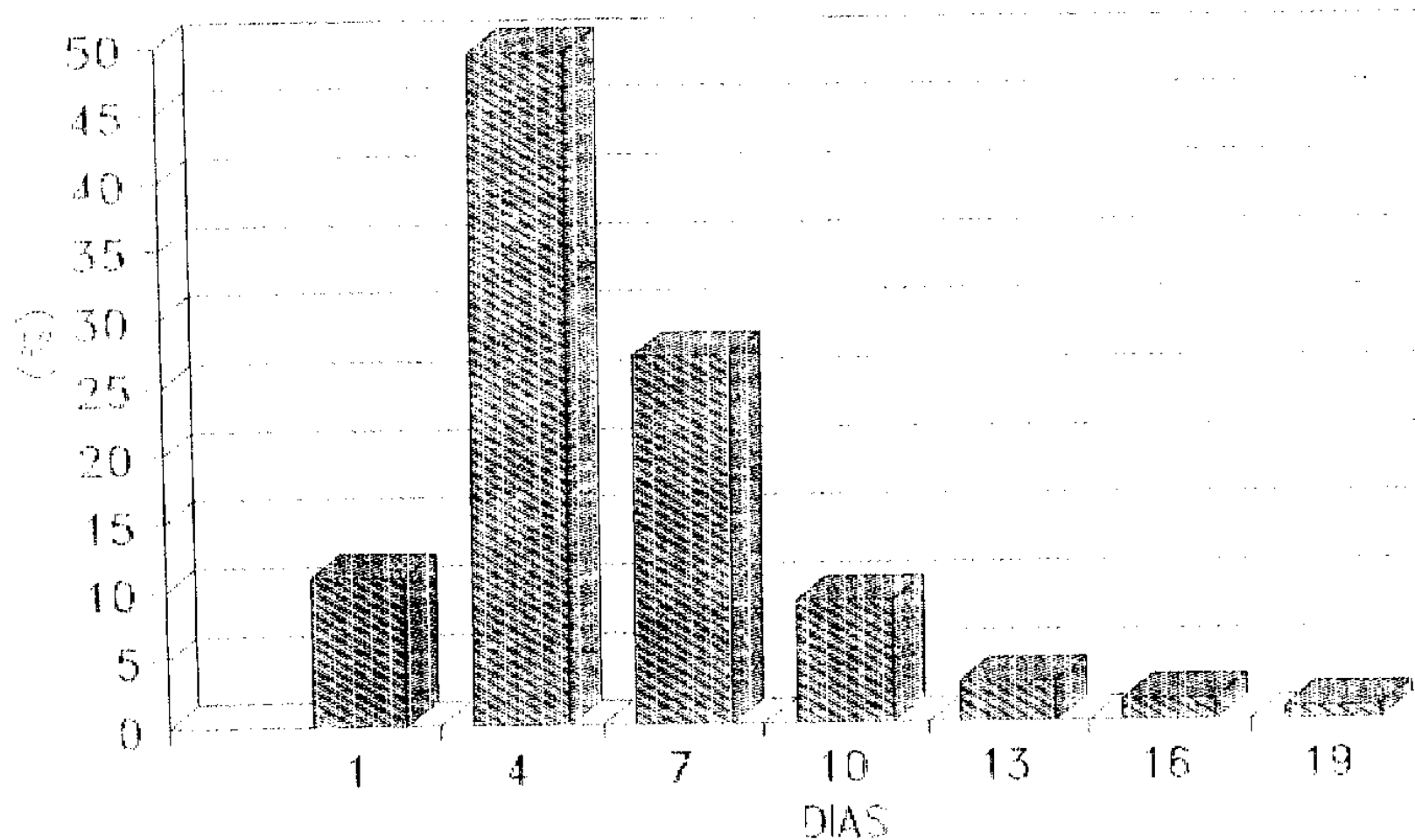


Figura 09. Ritmo de oviposição de *Rhipicephalus sanguineus* obtidos de cães naturalmente infestados com ixodídeos e mantidos a 27°C e umidade relativa acima de 80%. Observação de três em três dias.