# EFEITO DE TRÊS TEMPERATURAS CONSTANTES SOBRE A FASE NÃO PARASITÁRIA DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE)

SAMUEL C. CHACÓN¹, PATRICIA G. CORREIA¹, FÁBIO S. BARBIERI¹, ERIK DAEMON¹, JOÃO L.H. FACCINI¹

ABSTRACT.- CHACÓN S.C., CORREIA P.G., BARBIERI F.S. DAEMON E., FACCINI J.L.H. [Effects of three constants temperatures on the free living phase of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae).] Efeito de três temperaturas constantes sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 13-20, 2003. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias - Parasitologia Veterinária/IV/UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, Rio de Janeiro, 23890-000, Brazil. E-mail: scchacon@ufrrj.br

With the purpose of evaluating the effects of three constant temperatures on the free living phase of Amblyomma cajennense, larvae, nymphs, adults and eggs were kept at 18, 27 and  $32 \pm 1^{\circ}$ C, relative humidity of  $80 \pm 10\%$  and darkness. There was not development of the embryo at 32°C. The hatching rate at 18°C and 27°C were 3% and 54.64%, respectively. After the infestation of domestic rabbits with larvae, moulting of larvae and nymphs occurred in the above three temperatures. Nymphs and adults were then transferred to rabbits and horses, respectively. The life cycle of the tick was influenced by the temperature of maintenance. The temperature of 18°C extended all the nonparasitic periods of the larvae, nymphs and females when compared to the temperatures of 27 and 32°C (p<0.05). At 32°C, the pre-ecdysis and moulting periods were shorter (p<0.05) in relation to 27°C. The percentage of ecdysis was only different (p<0.05) for the adults maintained at 27 and 32°C, less at 32°C than in the former. The females kept at 27 and 32°C did not show differences on the pre-oviposition period (p>0,05), however, the oviposition periods were different (p<0.05) in all temperatures. The reproductive efficiency index was different at  $32^{\circ}$ C (p<0.05), less than a half of the number found at 18 and 27°C. The correlation coefficient (r) between the female weight and weight of egg mass was 0.34, 0.57, 0.70 at 32, 27 and 18°C, respectively. The incubation and eclosion periods also showed differences at 18 and 27°C (p<0.05), longer at 18°C. The temperature of 18°C is probably less dangerous for the life cycle of A. cajennense than 32°C. It is appropriate for slowing the life periods of larvae, nymphs and females. The temperature of 27°C was confirmed as the temperature of choice for maintenance of the life cycle of this species in the laboratory.

KEY WORDS: Ixodidae, *Amblyomma cajennense*, temperature, non-parasitic phases.

### **RESUMO**

Com o objetivo de avaliar os efeitos de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense*, larvas, ninfas, adultos e ovos foram mantidos em temperaturas constantes de 18, 27 e  $32 \pm 1$  °C, umidade relativa de  $80 \pm 10$ % e escotofase. Não houve desenvolvimento embrionário na temperatura de 32 °C, enquanto que a 18 e 27 °C o percentual de eclosão foi de apenas 3,0 e 54,6%, respectivamente. Após as infestações com larvas nos coelhos e as mudas de larvas e

ninfas obtidas nas três temperaturas, ninfas e adultos foram transferidos para coelhos e eqüinos, respectivamente. O ciclo de vida do carrapato sofreu variações em função da temperatura de manutenção dos instares, onde na temperatura de 18°C houve prolongamento de todos os períodos da fase não parasitária de larvas, ninfas e fêmeas, quando comparados às de 27 e 32°C (p<0,05). Na temperatura de 32°C para o período de pré-ecdise e o período total de muda foram registrados valores menores (p<0,05) que na de 27°C. O percentual de ecdise só foi diferente (p<0,05) entre os adultos mantidos nas temperaturas de 27 e 32°C, sendo a primeira a que apresentou valores superiores. As fêmeas mantidas a 27 e 32°C não apresentaram diferenças (p>0,05) no período de pré-postura, enquanto que para o período de postura mostraram diferença (p<0,05) para as três temperaturas. O índice de eficiência

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Parasitologia Veterinária / IV/UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000. e-mail: scchacon@ufrrj.br

reprodutiva na temperatura de 32°C, foi inferior (p<0,05) à metade do valor observado nas temperaturas de 18 e 27°C. O coeficiente de correlação (r) entre o peso da fêmea e o da sua postura foi de 0,34; 0,57 e 0,70 nas temperaturas de 32, 27 e 18°C respectivamente. Os períodos de incubação e de eclosão foram prolongados na temperatura de 18°C (p<0,05) quando comparados com a de 27°C. Comparando-se as temperaturas de 18 e 32°C observou-se ser a primeira menos prejudicial que a segunda, inclusive podendo ser útil para estrategicamente retardar algumas fases do ciclo de *A. cajennense*. É confirmado que 27°C é a temperatura de conforto para manutenção de colônias de *A. cajennense* no laboratório.

PALAVRAS-CHAVE: Ixodidae, *Amblyomma cajennense*, temperatura, fase não parasitária.

## INTRODUÇÃO

Diversos autores são unânimes em concluir que a temperatura tem influência direta sobre a bioecologia das espécies de carrapatos. De um modo geral, temperaturas superiores não letais encurtam as fases não parasitárias e temperaturas inferiores não letais prolongam estas fases (HEATH, 1979, 1981; KOCK; TUCK, 1986; HOUSSEIN; MUSTAFA, 1987; SHOURA, 1987; HAGRAS; KHALIL, 1988; DAVEY; COOKSEY, 1989). Entretanto, características intrínsecas de cada espécie conferem determinados graus de adaptação a diferentes condições ecológicas, resultando em faixas térmicas distintas para a ocorrência das diversas etapas do seu ciclo biológico.

Dados sobre a distribuição geográfica (ROBINSON, 1926), hospedeiros (ROHR, 1909; ARAGÃO, 1936; SANTOS et al., 1985; LINARDI et al., 1987) e importância de *Amblyomma cajennense* (TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1944; MASSARD, 1984; LEMOS et al., 1997 a,b; FIGUEIREDO et al., 1999) estão registrados na literatura.

Rohr (1909), parece ter sido um dos primeiros pesquisadores a estudar a influência da temperatura na biologia desta espécie de carrapato no Brasil. Porém, a influência de fatores abióticos sobre as características biológicas intrínsecas das populações de A. cajennense, adaptadas a região neotropical, começaram a ser desvendadas no início da década de noventa por pesquisadores da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, principalmente no que concerne a temperatura (DAEMON; ISHIZUKA, 1992, 1995; PRATA, 1998) e umidade relativa (SILVA, et al. 2000). Com relação a temperatura, Daemon & Ishizuka (1992, 1995) fizeram observações sobre a fase de vida livre de larvas e ninfas ingurgitadas mantidas em três temperaturas utilizando ínstares não ingurgitados procedentes da temperatura de 27 ± 1°C, alimentados em coelhos em temperatura ambiente. Já Prata (1998) analisou o efeito de diferentes temperaturas sobre os processos de postura, eclosão e mortalidade de larvas, partindo de fêmeas não ingurgitadas mantidas a 27 ± 1 °C e posteriormente alimentadas em equinos em temperatura ambiente. Em todos estes artigos as colônias de onde foram obtidos os exemplares para os experimentos eram mantidas a  $27^{\circ}\text{C}$  e  $80 \pm 10\%$  de umidade relativa, condições ideais para o desenvolvimento do ciclo biológico das populações de A. cajennense originárias da região fisiográfica denominada Baixada Fluminense do Estado do Rio de Janeiro. Dados sobre a fase de vida livre de ixodídeos relacionados com diferentes temperaturas influenciando a manutenção constante de colônias de carrapatos, existem somente para uma população de  $Rhipicephalus\ sanguineus\ originária\ da\ mesma\ região\ (BELLATO; DAEMON, 1997a).$ 

A importância de um conhecimento adequado sobre a influência da temperatura nas diversas fases do ciclo biológico dos ixodídeos poderá ser exemplificada pela utilização de faixas térmicas na formulação de estratégias de controle (De La VEGA et al., 1993) ou ainda, no caso de Travassos e Vallejo-Freire (1944) que utilizaram-se da temperatura para melhor administrar as colônias de A. cajennense, acelerando ou alongando o ciclo desta espécie de carrapato para facilitar a fabricação da vacina contra a Febre Maculosa. Adicionalmente, estes conhecimentos podem também permitir a formulação de modelos matemáticos, utilizados na execução de programas de controle. O presente trabalho teve o propósito de avaliar o efeito de três temperaturas constantes sobre a fase de vida livre de ninfas e fêmeas de A. cajennense cujas etapas ingurgitadas e não ingurgitadas precedentes foram mantidas nas mesmas temperaturas em que foram mantidas as fases ingurgitadas estudadas.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON), do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ).

Foram utilizados como hospedeiros para as fases de larva e ninfa coelhos da espécie Oryctolagus cuniculus (L., 1758), mestiços Califórnia x Nova Zelândia com idade entre 60 e 90 dias, de ambos os sexos, com peso inicial entre 1,5 e 2,1 Kg, sem contato prévio com carrapatos e produtos acaricidas, provenientes do Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Os coelhos foram mantidos durante o período experimental em gaiolas individuais, em condições ambientais, onde receberam ração comercial e água. Para realização da fase parasitária de adultos de A. cajennense foram utilizados como hospedeiros equinos (Equus cabalus L., 1758), provenientes do Setor de Apreensão da UFRRJ, sem contato recente com carrapaticidas, porém com prévia exposição a carrapatos. Os animais foram mantidos durante a fase experimental em baias individuais, em condições ambientais, onde receberam capim picado e água.

Fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* com peso médio de 794,07  $\pm$  175,9 mg foram coletadas de eqüinos naturalmente infestados e sem contato recente com carrapaticidas, no Município de Seropédica (Lat.: 22° 45' S; Long.: 43° 41' W; Alt.: 33m), Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Estas foram trans-

portadas ao laboratório, limpas, pesadas, identificadas, acondicionadas em placas de Petri por fixação em posição dorsal com auxílio da fita adesiva e mantidas sob condições controladas em câmara climatizada (27 ± 1°C, 80 ± 10% UR e escotofase), para a realização da postura (PRATA, 1998).

A postura foi acompanhada e os ovos de cada fêmea coletados de três em três dias após o início da postura, reunidos, misturados e acondicionados em grupos de 100 mg em seringas plásticas descartáveis com capacidade de 5ml, previamente preparadas e identificadas. Estes ovos foram incubados nas mesmas condições controladas descritas para as fêmeas ingurgitadas. Foi feita a verificação contínua dos ovos, até a eclosão total das larvas.

Um grupo de 18 coelhos foi infestado através da técnica do saco de pano aderido à base das orelhas (NEITZ et al., 1971). Cada coelho recebeu uma dose infestante de larvas, com aproximadamente 3280 larvas equivalentes a eclosão total de 200mg de ovos (PRATA; DAEMON, 1997), com 15 a 25 dias de idade. Foi feita a coleta diária das larvas ingurgitadas que se desprenderam após a fase parasitária. No laboratório estas larvas foram limpas, pesadas, misturadas e acondicionadas em vidros com capacidade para 2,5 ml, contendo dez larvas cada, fechados com tampa de algodão. Também foram colocadas larvas em seringas plásticas de 10 ml para a continuação do ciclo em cada temperatura.

A partir das larvas coletadas, todo o desenvolvimento da fase não parasitária foi realizado separadamente em câmaras climatizadas (BOD), reguladas em três temperaturas diferentes, 18, 27 e 32  $\pm$  1°C. As temperaturas extremas correspondem as médias das mínimas e das máximas da região onde foi realizado o estudo, enquanto a temperatura de 27°C é freqüentemente utilizada para o desenvolvimento dos carrapatos das regiões neotropicais (DAEMON; ISHIZUKA, 1992). Para as três temperaturas a UR foi de 80  $\pm$  10% e escotofase. Para cada temperatura foram colocadas na câmara climatizada vidros e seringas e feita a observação contínua dos exemplares para verificação do fim da fase não parasitária e para confirmação da emergência ninfal.

Após 7 a 10 dias da ecdise ninfal ou muda de larvas, ninfas provenientes da muda de 764 mg de larvas ingurgitadas, aproximadamente 1000 ninfas (PRATA et al., 1998), foram utilizadas para as infestações por coelho, repetindo a metodologia descrita para as larvas. A coleta das ninfas ingurgitadas foi realizada como descrito anteriormente para larvas. Estas foram acondicionadas em vidros com capacidade para 2,5 ml contendo dez exemplares cada, permanecendo 15 vidros na temperatura de 18°C, 20 vidros a 27°C e 33 vidros a 32°C. As ninfas foram acondicionadas também em seringas de 10 ml contendo 80 exemplares cada e colocadas nas mesmas três temperaturas de manutenção das larvas em câmara climatizada para realização da fase não parasitária.

Utilizando-se uma adaptação da técnica descrita por Sanavria e Prata (1996), onde a cola utilizada pelos autores foi substituída por cola de sapateiro, adultos obtidos destas ninfas foram utilizados para infestar equinos e obter fêmeas

ingurgitadas para as observações sobre a fase não parasitária deste estágio, assim foram colocados 160 casais de *A. cajennense* (80 de cada lado do pescoço ) com 15 dias de jejum por eqüino, sendo dois animais para cada temperatura. Depois de recuperar as fêmeas ingurgitadas desprendidas naturalmente, oriundas de cada tratamento e de observar a fase parasitária destas, as mesmas foram limpas, pesadas, identificadas e colocadas para postura nas suas temperaturas de origem, permanecendo 105 fêmeas a 18°C, 20 a 27°C e 80 a 32°C. As massas de ovos foram pesadas a cada três dias, sendo depois misturadas e separadas em amostras contendo 100 mg, acondicionadas em seringas plásticas e incubados nas mesmas temperaturas de origem, permanecendo 49 seringas a 18°C, 36 a 27°C e 45 a 32°C, até a eclosão das larvas.

As atividades relacionadas com o acompanhamento da fase experimental foram realizadas diariamente pela manhã.

Os parâmetros biológicos analisados foram:

- Período de pré-ecdise (ppe); compreendido desde a recuperação do instar ingurgitado até o dia da primeira ecdise de cada vidro.
- Período de ecdise (pe); compreendido entre a ecdise ou muda do primeiro e do último exemplar de cada vidro.
- Período total de muda; percentual de ecdise; período de pré- postura (ppp); período de postura (pp); período de incubação (pi); período de eclosão (pe) e percentual de eclosão, cujas definições encontram-se em Bellato e Daemon, (1997a).
- Índice de eficiência reprodutiva (IER); é a relação da postura total da fêmea com o seu peso inicial, ou seja quanto do seu peso de ingurgitamento a fêmea consegue transformar em ovos, ou melhor, quanto do sangue ingerido foi transformado em ovos (BENNETT, 1974).
- Coeficiente de correlação (r) entre o peso inicial da fêmea e sua postura, verifica se o peso da postura está relacionado com o peso da fêmea.

Os resultados foram avaliados pela Análise de Variância (ANOVA) e o teste Tukey - Kramer do programa estatístico Instat ao nível de significância de 5%.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos a fase não parasitária de larvas ingurgitadas nas três temperaturas não estavam dentro do objetivo do experimento, já que as etapas precedentes foram mantidas a  $27 \pm 1^{\circ}$ C. Porém a sua inclusão na discussão é fundamental, pois observamos diferenças no percentual de ecdise quando se comparam estes resultados com os obtidos por Daemon e Ishizuka (1992), os quais utilizaram metodologia idêntica. As diferenças observadas neste artigo (97,1; 95,8; 100%) e o relatado por estes autores (65,8; 91,7; 90,8%), nas três temperaturas (18, 27, 32°C), podem ter decorrido em função de variações na sensibilidade à temperatura das diferentes populações de *A. cajennense*.

**1. Fase não parasitária de ninfas.** Os parâmetros biológicos da fase não parasitária de ninfas de *A. cajennense* e o ritmo acumulado da ecdise dos adultos em cada tratamento,

podem ser observados na Tabela 1 e Figura 1, respectivamente

Verificou-se que a média de duração do ppe, diminuiu pro-

Tabela 1. Parâmetros biológicos da fase não parasitária de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* mantidas a 18, 27 e  $32 \pm 1$ °C, coletadas de coelhos infestados artificialmente e provenientes de larvas ingurgitadas mantidas a 18, 27 e  $32 \pm 1$ °C, UR de  $80 \pm 10\%$  e escotofase.

Parâmetros	Medidas de		Temperaturas	
analisados	tendência central	18°C	27°C	32°C
Período de pré Ecdise (dias)	Limites  x±SD  n (vidros)	48 -53 50,0° ± 1,5 15	13 -15 14,0 <sup>b</sup> ± 0,4 20	9 -10 9,8° ± 0,4 33
Período de Ecdise (dias)	Limites x̄± SD n (vidros)	4 -11 8,1 <sup>a</sup> ± 2,3 15	2 -4 2,9 <sup>b</sup> ± 0,5 20	2 -5 3,6 <sup>b</sup> ±1,0 33
Período total de muda (dias)	Limites x̄± SD n (ninfas)	48 -60 54,5 <sup>a</sup> ± 2,5 140	13 -17 15,0 <sup>b</sup> ± 0,7 200	9 -14 10,8°±1,1 297
Percentual de ecdise	Limites x̄±SD n (vidros)	80 - 100 $93,3^{ab} \pm 8,2$ 15	100 -100 100,0ª 20	40 -100 88,9 <sup>b</sup> ±15,1 33

Obs. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 0,05.

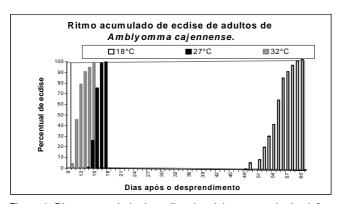


Figura 1. Ritmo acumulado de ecdise de adultos ou muda de ninfas de *Amblyomma cajennense* mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, coletadas de coelhos infestados artificialmente e provenientes de larvas ingurgitadas mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, UR 80  $\pm$  10% e escotofase.

gressivamente com o aumento da temperatura. Resultado similar foi encontrado por Daemon e Ishizuka (1995), ao trabalhar com as mesmas temperaturas utilizadas, porém com ninfas ingurgitadas obtidas a partir de exemplares não alimentados mantidos a 27°C. O pe também sofreu influência da temperatura de manutenção dos exemplares. Para este parâmetro não houve diferença da temperatura de 27°C para a de  $32 \pm 1$ °C, sendo a temperatura de  $18 \pm 1$ °C a única que prolongou este período quando comparada com as demais, comportamento semelhante foi relatado por Daemon e

Ishizuka (1995). Com relação ao ritmo acumulado das ecdises (Figura 1), as ninfas oriundas de larvas mantidas a 32°C, além de mostrar um ppe mais curto, apresentaram 95,3% das ecdises até o quinto dia de ecdise ou 13° dia pós desprendimento do hospedeiro (pdh). Já a 27°C as ecdises iniciaram quatro dias depois que a 32°C com um acúmulo de 100,0% até o quinto dia de ecdise ou 17° dia pdh. Na temperatura de 18°C, as ecdises iniciaram 48 dias pdh, com um acúmulo de 20,7% ocorrendo até o quinto dia de ecdise ou 52° dia pdh. Daemon e Ishizuka (1995), observaram resultado maior a 18°C, onde 32,6% das ecdises ocorreram até o quinto dia, provavelmente em decorrência de temperaturas variáveis durante o experimento. Já para as temperaturas de 27 e 32°C os resultados encontrados conferem com os dados apresentados pelos autores que relataram mais de 90,0% das ecdises ocorrendo até o quinto dia. O percentual de ecdise foi maior a 27 ± 1°C, apresentando diferença quando comparado aos exemplares mantidos a  $32 \pm 1$ °C, porém estes dois grupos não apresentaram resultados estatísticamente diferentes do grupo proveniente de 18°C. Estes resultados diferem dos encontrados por Daemon e Ishizuka (1995), que relataram diferença para as médias do percentual de ecdise, sendo as ninfas mantidas a 18°C as que apresentaram percentuais de ecdise de adulto menores, quando comparadas com as médias do percentual de ecdise de adultos provenientes das ninfas mantidas a 27 e 32°C. Daemon e Ishizuka (1992, 1995), ao trabalhar com larvas e ninfas ingurgitadas de A. cajennense, obtidas a partir de exemplares não ingurgitados mantidos 27°C, relataram um efeito deletério da temperatura de 18°C sobre o percentual de ecdise. Por outro lado, ao que parece e ao contrário do relatado por estes autores, larvas e ninfas de A. cajennense sofrem mais com os efeitos deletérios causados por altas temperaturas, quando mantidas constantemente nestas, do que com os efeitos causados pelas baixas temperaturas, como pode ser observado no trabalho de Chacón et al., (2002) (aceito para publicação), onde ninfas provenientes da temperatura de 32°C pesaram menos quando alimentadas em coelhos domésticos. Já a temperatura de 18°C pode ser utilizada para retardar os períodos não parasitários de larvas e ninfas. A variação observada no experimento, com relação aos parâmetros biológicos da fase não parasitária de ninfas é atribuída somente a influência da temperatura, que provavelmente alterou o metabolismo do carrapato.

Os resultados da fase não parasitária de ninfas ingurgitadas mantidas a temperatura constante de 27°C, assemelham-se aos encontrados por Prata et al., (1996) e Prata et al., (1998), embora este segundo grupo de autores tenham relatado um período de ecdise maior (5,7 dias), provavelmente devido a temperaturas variáveis durante os experimentos e a diversos graus de sensibilidade à temperatura de populações de *A. cajennense*.

Com relação ao período total de muda das ninfas, houve uma tendência do mesmo se prolongar com a diminuição da temperatura. Fato este também observado por Bellato e Daemon (1997a) para *Rhipicephalus sanguineus*.

Tabela 2. Parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, coletadas de cavalos infestados artificialmente e provenientes de ninfas mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, UR de 80  $\pm$  10% e escotofase.

Parâmetros	Medidas de	Temperaturas		
analisados	tendência	18°C	27°C	32°C
	central			
Peso da fê-	Limites	105,9 -976,1	385,3 -802,5	226,1-788,1
mea (mg)	⊼± SD	$573,4^a \pm 187,6$	595,1° ± 126,1	480,9 <sup>b</sup> ±104,6
	n (fêmeas)	105	20	80
Período de	Limites	18 - 44	6 -10	5 -17
pré-postura	⊼± SD	$23,9^a \pm 4,3$	$7,5^{b} \pm 1,2$	6,9 <sup>b</sup> ±1,6
(dias)	n (fêmeas)	105	20	80
Período de	Limites	4-69	20-53	1-33
postura (dias)	₹± SD	$50,0^a \pm 14,0$	$34,4^{b} \pm 10,6$	$17,3^{\circ} \pm 6,4$
	n (fêmeas)	105	20	80
Peso da pos-	Limites	2,1- 570,8	100,8 - 497,4	0,3 -200,6
tura total (mg)	₹± SD	$232,9^a \pm 112,4$	$222,9^a \pm 88,3$	$83,2^{b} \pm 51,8$
	n (posturas)	105	20	80(p<0,001)
Índice de	Limites	0,3 - 63,2	13,3 - 62,0	0,06 - 42,9
eficiência	⊼± SD	$40,0^a \pm 13,1$	$37,4^a \pm 10,4$	$17,4^{b} \pm 10,0$
Reprodutiva (%)	n(fêmeas)	105	20	80
Coeficiente de				
correlação*	r	0,70	0,57	0,34

Obs. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 0,05.

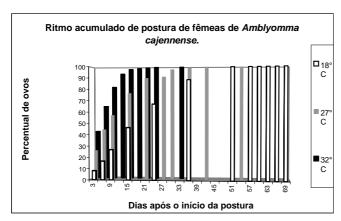


Figura 2. Ritmo acumulado de postura de fêmeas de *Amblyomma cajennense* mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, coletadas de eqüinos infestados artificialmente e provenientes de ninfas mantidas a 18, 27 e 32  $\pm$  1°C, UR 80  $\pm$  10% e escotofase.

**2. Fase não parasitária de fêmeas.** Os parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas de *Amblyomma cajennense* e o ritmo acumulado de postura em cada tratamento podem ser observados na Tabela 2 e Figura 2, respectivamente.

O peso das fêmeas sofreu influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária, com as fêmeas provenientes da temperatura de 32°C pesando menos que as fêmeas mantidas a 18 e 27°C.

Nas temperaturas de 18, 27 e 32°C o total de fêmeas que realizaram postura foi 89,0; 90,9 e 80,8%, respectivamente.

Em média, a duração do período de pré-postura (ppp) foi menor com o aumento da temperatura. As médias do ppp das fêmeas provenientes de 27 e 32°C, foram inferiores a aquela de 18°C, porém não diferiram entre si. Já no período de postura (pp), além de ser constatada diminuição com o aumento da temperatura, também foi observada diferença entre as médias dos três tratamentos. Os resultados obtidos estão de acordo com os de Prata (1998), que ao trabalhar com fêmeas de A. cajennense obtidas de colônia mantida a 27°C constantes e alimentadas em cavalos, relatou que o ppp foi influenciado mais intensamente pelas temperaturas mais baixas, tendo observado ppp de  $17.7 \pm 1.3$ ,  $6.0 \pm 0.9$  e  $5.0 \pm 0.7$  dias, e pp de  $46.9 \pm 9.8$ ;  $24.8 \pm 7.0$  e  $21,2 \pm 6,3$  dias, para fêmeas mantidas a 18, 27 e 32°C, respectivamente. Em relação ao ritmo acumulado de postura, como pode ser observado na Figura 2, 26,7; 57,1 e 82,0% do total de ovos foram acumulados nos primeiros nove dias de postura, nas temperaturas de 18, 27 e  $32 \pm 1$ °C respectivamente. O peso médio da postura foi menor a 32°C quando comparado aos demais tratamentos. Esta diferença, em parte já era esperada, uma vez que o peso médio das fêmeas provenientes de ninfas mantidas a 32°C foi menor que nas demais temperaturas. Tal fato também foi verificado por Bellato e Daemon (1997a) que afirmaram ter sido em decorrência do efeito deletério da temperatura sobre todos os

instares, com maior expressão nos adultos. Por outro lado, os resultados encontrados foram diferentes dos que obteve Prata (1998) para as mesmas temperaturas. A autora relatou massas de ovos pesando  $414.9 \pm 157.7$ ;  $402.4 \pm 93.4$  e 386.0 $\pm$  135,6 mg (p>0,05), respectivamente. Estas diferenças foram devido, provavelmente, a desigualdades metodológicas referentes ao tempo de exposição dos grupos às diferentes temperaturas, já que no nosso trabalho a exposição ocorreu a partir de larvas ingurgitadas, enquanto que a autora realizou seu experimento somente com fêmeas ingurgitadas. Segundo Hafez e Bassal (1980), existe uma correlação linear positiva entre o peso da fêmea e o peso da postura, porém, verificou-se que além do peso inicial das fêmeas provenientes de 32°C ter sido menor, e por conseqüência o peso médio das posturas ter sido também menor, o coeficiente de correlação, embora significativo (p<0,001) para os três tratamentos, mostrou valores decrescentes com o aumento da temperatura, o que demonstra uma menor correlação entre o peso das fêmeas obtidas a 32°C e sua postura, sendo a maior correlação positiva de r = 0,70 na temperatura de 18°C, demonstrando, provavelmente, que A. cajennense pode estar melhor adaptado a temperaturas entre 18 e 27°C. Por outro lado, houve redução do índice de eficiência reprodutiva (IER) das fêmeas provenientes de 32°C, que também foi menor quando comparado com as fêmeas provenientes de 18 e 27°C, evidenciando além de uma menor capacidade de ingurgitamento, também uma menor capacidade de conversão de nutrientes em ovos. Os resultados obtidos apresentaram variações quando comparados com os de Prata (1998), devido às diferenças metodológicas supracitadas. A autora relatou não haver diferença significativa entre o IER das temperaturas 18 (57,3%), 27 (58,4%) e 32°C (51,6%), já com relação ao coeficiente de correlação entre o peso da fêmea e sua postura, esta autora relatou valores maiores dos encontrados por nós para cada tratamento, porém menores na temperatura de 32°C, o que confirma o efeito acumulativo da temperatura e das condições laboratoriais sobre as colônias de carrapatos, e principalmente o efeito deletério das altas temperaturas constantes sobre a biologia dos carrapatos. A escassez de trabalhos na literatura com metodologias estritamente semelhantes dificulta a comparação dos resultados.

Prata et al., (1997) utilizando eqüinos nas infestações de adultos de *A.cajennense*, temperatura constante de 27°C, UR >70% e 12 horas de fotofase, obtiveram ppp de 5,3 ± 1,0 dias e peso médio da massa de ovos de 286,4 ± 91,8 mg. Prata e Daemon (1997) ao trabalhar com fêmeas ingurgitadas em eqüinos e criadas a 27°C, 70% de UR e 12 horas de fotofase, relataram ser de 388,8 ± 94,4 mg o peso médio da massa de ovos, o que provocou um IER de 47,6%. Os resultados observados a 27°C mostraram uma baixa eficiência da população de *A. cajennense* estudada, quando comparados com dados da literatura, principalmente com relação ao IER e ao coeficiente de correlação entre o peso da fêmea e o peso da postura, fato devido provavelmente a diferenças

metodológicas encontradas, à variação na sensibilidade das populações de *A. cajennense* à temperatura e ao efeito das condições laboratoriais e da exposição a temperaturas constantes sobre os ínstares, fato pouco comentado na literatura para esta espécie de carrapato.

Os resultados encontrados, com relação ao ppp e ao pp de A. cajennense, apresentam tendência semelhante aos encontrados por Bellato e Daemon (1997 a) que ao trabalhar com fêmeas de R. sanguineus encontraram períodos diminuindo significativamente com o aumento da temperatura. Já nas fêmeas de A. cajennense, a temperatura que promoveu os menores pesos das fêmeas e da massa de ovos e os menores IER foi a de  $32 \pm 1$  °C, com melhor desempenho em 18 e 27 °C, enquanto que os autores relataram valores menores para fêmeas mantidas a  $18 \pm 1$ °C e um melhor desempenho a 27 e 32°C. O efeito deletério da temperatura de 18°C sobre a fase reprodutiva das fêmeas de R. sanguineus (BELLATO; DAEMON, 1997a,b) e de 32°C sobre A. cajennense (CHACÓN et al., 2002, aceito para publicação), evidenciam as diferenças interespecíficas decorrentes das características intrínsecas de cada espécie, as quais refletem de certo modo as adaptações às diversas condições ecológicas que as mesmas experimentam nas suas extensões geográficas, como descrito por Chilton et al., (2000).

**2.** Incubação dos ovos e eclosão das larvas. Os parâmetros biológicos referentes à incubação dos ovos e eclosão das larvas estão expressos na Tabela 3.

Os períodos de incubação e eclosão foram os que mais sofreram com a ação da temperatura, sendo maior nos ovos mantidos a 18°C, do que em aqueles mantidos a 27°C. Já a 32°C não ocorreu eclosão larval. Os resultados apresentaramse de acordo com os de Prata (1998) que obteve valores de  $89.4 \pm 2.9$  dias a 18°C e de  $33.3 \pm 2.1$  dias a 27°C para o

Tabela 3. Período de incubação, período e percentual de eclosão de larvas de *Amblyomma cajennense* mantidas a 18 e  $27 \pm 1^{\circ}$ C, procedentes de fêmeas mantidas a  $18 e 27 \pm 1^{\circ}$ C coletadas de eqüinos infestados artificialmente e provenientes de ninfas mantidas a  $18 e 27 \pm 1^{\circ}$ C, UR de  $80 \pm 10\%$  e escotofase.

Parâmetros	Medidas de	Temperaturas	
analisados	tendência central	18°C	27°C
Período de in - cubação (dias)	Limites  x ± SD  n*	86 -106 93,9° ± 5,7 49	22 -32 28,6 <sup>b</sup> ± 2,8 36
Período de Eclosão (dias)	Limites $\overline{x} \pm SD$ $n^*$	1 - 39 17,2° ± 10,8 49	6 -14 10,2 <sup>b</sup> ± 2,1 36
Percentual de eclosão	Limites $\bar{x} \pm SD$ $n^*$	1 -15 3,0° ± 2,9 49	3 -98 54,6 <sup>b</sup> ± 29,2 36

Obs. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si ao nível de 0,05.

período de incubação (p<0,05) e valores de 10,0 ± 2,7 dias a 18°C e de 8,9 ± 1,8 dias a 27°C para o período de eclosão (p<0,05), não havendo continuidade do ciclo a 32°C já que também não ocorreram eclosões nesta temperatura, confirmando 32°C como a temperatura mais deletéria para o ciclo de vida de A. cajennense. Com relação ao percentual de eclosão, na temperatura de 18°C ocorreu apenas 3,0% de eclosão larval, com encarquilhamento de aproximadamente 77,2% dos ovos, enquanto que a 27°C 54,6% das larvas eclodiram. Estes resultados diferem dos encontrados por Prata (1998) que relatou como sendo de 57,8 e 93,5% os percentuais de eclosão a 18 e 27°C, respectivamente. Estas diferenças entre os percentuais provavelmente devem-se às metodologias distintas, porém confirma-se a temperatura de 27°C como a melhor para manutenção do ciclo biológico de A. cajennense em laboratório.

A ausência de artigos similares e diferenças metodológicas na literatura dificultam a comparação dos resultados. Por outro lado, os resultados encontrados na literatura com relação ao período de incubação e período de eclosão a 27°C constantes estão muito próximos dos relatados por Prata et al., (1997) na temperatura de 27°C.

Com relação a R. sanguineus Bellato e Daemon (1997a) relataram que a 18°C ocorreu a eclosão de unicamente três larvas, sendo isto indicativo de que esta é a temperatura limite para a ocorrência deste processo, relataram também bom desenvolvimento larval a 32°C e melhor a 27°C. Embora a 18°C o desenvolvimento de A. cajennense não seja satisfatório, a temperatura de 32°C mostrou-se mais deletéria para esta espécie, já que não houve continuidade do ciclo biológico do carrapato. Estas diferenças entre as espécies decorrem de características intrínsecas como relatado anteriormente. Sob esse aspecto, a temperatura de 27°C se reafirma como a mais adequada para manutenção do ciclo de vida do A. cajennense em laboratório, e a de 18°C, como um artifício para retardar o desenvolvimento dos ínstares ingurgitados desta espécie de carrapato durante uma geração, porém não devendo ser utilizada para manutenção constante de uma colônia.

As diferenças encontradas nos parâmetros analisados, ocorreram provavelmente devido ao efeito da temperatura sobre o metabolismo que regula as atividade biológicas de *A. cajennense*, como relatado por Chilton et al., (2000) para a fase não parasitária de *Amblyomma limbatum* e *Aponomma hidrosauri*, carrapatos de lagartos no continente australiano. O encarquilhamento dos ovos a 18 e 32°C pode ter decorrido da ação da temperatura sobre a casca do ovo, alterando suas propriedades físico - químicas e também em função do reflexo da temperatura sobre o metabolismo das fêmeas como descrito anteriormente.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns paizes limitrophes. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 31, n. 4, p. 759-845, 1936.
- BELLATO, V. & DAEMON, E Efeitos de três temperaturas

- sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 6, p. 21 27, 1997 a.
- BELLATO, V. & DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, V. 6, n. 1, p. 15-19, 1997 b.
- BENNETT, G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida: Ixodidae). I. Influence of tick size on egg production. *Acarologia*, t. XVI, fasc. I.: p. 52-61, 1974.
- CHACÓN, S. C, BARBIERI, F. S., CORREIA, P. G., FACCINI, J. L. H., DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v. 9, n. 3, p. 00-00, 2002.
- CHILTON, N. B., ANDREWS, R. H., BULL, C. M. Influence of temperature and relative humidity on the moulting success of *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. *Intl. J. for Parasitol.*, v. 30, p. 973-979, 2002.
- DAEMON, E., ISHIZUKA, A. C. Efeito de diferentes temperaturas sobre a ecdise larval de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae). *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 1, n. 2, p. 105-107, 1992.
- DAEMON, E., ISHIZUKA, A. C. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a ecdise ninfal de *Amblyomma cajennense* (Acarina: Ixodidae). *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v. 2, n. 1, p. 7-9, 1995.
- DAVEY, R. B., COOKSEY, L. M. Effects of prolonged exposure at low temperature on *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 26, p. 407-410, 1989.
- De LA VEGA, R., FARRADÁ, F., DÍAZ, G. Aplicación de las constantes térmicas en el control de la garrapata del ganado vacuno (*Boophilus microplus*). VII. Despoblamiento. *Rev. Salud Animal.*, v. 15, p. 162-171, 1993.
- FIGUEIREDO, L. T. M., BADRA, S. J., PEREIRA, L. E., SZABÓ, M. P. J. Report on ticks collected in the Southeast and Mid-West regions of Brazil: analysing the potential transmission of tick borne pathogens to man. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropical*, v. 32, n. 6, p. 613-619, 1999.
- HAFEZ, M., BASSAL, T.M. The nutrition and ambient temperature effect on the oviposition ability of *Rhipicephalus sanguineus* Latr. (Ixodidae, acarina). *J. Egypt Soc. Parasitol.*, v. 10, n. 2, p. 295-300, 1980.
- HAGRAS, A. E., KHALIL, G. M. Effect of temperature on *Hyalomma (Hyalomma) dromedarii* Koch (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 25, p. 354-359, 1988.
- HEATH, A.C.G. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis, Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodidae): Studies on eggs. *Intl. J. Parasitol.*, v. 9, p. 33-39, 1979.

- HEATH, A.C.G. The temperature and humidity preferences of *Haemaphysalis longicornis, Ixodes holocyclus* and *Rhipicephalus sanguineus:* Studies on engorged larvae. *Intl. J. Parasitol.*, v. 11, p. 169-175, 1981.
- HOUSSEIN, H. S., MUSTAFA, B. E. Temperature and humidity effects on the life cycle of *Haemaphysalis spinulosa* and *Rhipicephalus simus* (Acari: Ixodidae). *J. Med. Entomol.*, v. 24, p. 77-81, 1987.
- KOCH, H. G., TUCK, M. D. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. *Ann. Entomol. Soc. Am..*, v. 79, p. 11-14, 1986.
- LEMOS, E. R. D., MACHADO, R. D., COURA, J. R., GUI-MARÃES, M. A. A., SERRA FREIRE, N. M., AMORIM, M., GAZETA, G. S. Epidemiological aspects of the Brazilian Spotted Fever: seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Tropical*, v. 30, n. 3, p. 181-185, 1997a.
- LEMOS, E. R. D., MACHADO, R. D., PIRES, F. D., MACHADO, S. L., COSTA, L. M., COURA, J. R. Rickettsiae infected ticks in an endemic area of Spotted Fever in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 4, p. 477-481, 1997b.
- LINARDI, P. M., TEIXEIRA, V. P., BOTELHO, J. R., RI-BEIRO, L. S. Ectoparasitos de roedores em ambientes silvestres do município de Juiz de Fora, Minas Gerais. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v. 82, n. 1, p. 137-139, 1987.
- MASSARD, C. A. Ehrlichia bovis (Donatien & Lestoquard, 1936) diagnóstico, cultivo in vitro e aspectos epidemiológicos em bovinos no Brasil.1984, 113 p. Tese (Doutorado), 1984, UFRRJ, Itaguaí, 1984.
- NEITZ, W.O., BOUGHTON, F., WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life cycle of the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort J. Vet. Res.*, v. 38, n. 3, p. 215-224, 1971.
- PRATA, M. C. A.; ALONSO, L. S. & SANAVRIA, A. Parâmetros biológicos do estágio ninfal de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em coelhos. Rev. Bras. Ciênc. Vet., v. 3, n. 2, p. 55-57, 1996.
- PRATA, M. C. A., DAEMON, E. Determinação do número

- de ovos por grama de postura de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Rev. Bras. Ciênc. Vet.*, v. 4, n. 2, p. 81-82, 1997.
- PRATA, M. C. A. Efeitos de diferentes temperaturas sobre os processos de postura, eclosão e mortalidade de larvas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). 1998, 75 p. Tese (Mestrado), UFRRJ, Seropédica 1998.
- PRATA, M. C. A., FACCINI, J. L. H., DAEMON, E. 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.*, v. 7, n. 2, p. 107-111, 1998.
- ROBINSON, L. E. Ticks. A Monograph of The Ixodoidea. Part IV. The *Genus Amblyomma*. Cambridge Univ. Press, 302 pp., pls. I VII, 1926.
- ROHR, C.J. *Estudos sobre Ixodidas do Brasil.* 1909, 220 p. Tese (Doutorado), Instituto Oswaldo Cruz, 1909.
- SANAVRIA, A., PRATA, M. C. A. Metodologia para colonização do *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 5, n. 2, p. 87-90, 1996.
- SANTOS, O. L., MACHADO, R. Z., ALESSI, A. C., BECHARA, G. H., COSTA, A. J., ROCHA, U. F. Ecologia de carrapatos. XII. Mamíferos domésticos parasitados por *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) em Jaboticabal e Matão, SP. *Biológico*, v. 51. n. 8, p. 215-218, 1985.
- SHOURA, S. M. Effect of temperature and relative humidity on the life cycle of *Ornithodoros (Pavloskyella) erraticus* (Ixoidoidea: Argasidae). *J. Parasitol.*, v. 73, p. 1102-1108, 1987.
- SILVA, C.L.G., DAEMON, E., SANTOS, A.C.G., FACCINI, J.L.H. Efeito de diferentes teores de umidade relativa sobre fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas em jejum de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). *Rev. Univ. Rur. Sér. Ciênc. Vida*, v. 22 (supl.), p. 137-142, 2000.
- TRAVASSOS, J., VALLEJO-FREIRE, A. Criação artificial de Amblyomma cajennense para o preparo da vacina contra a febre maculosa. *Mem. Inst. Butantan*, v. 18, p. 145-235, 1944.

Recebido em 8 de janeiro de 2003. Aceito para publicação em 25 de abril de 2003.