

# MORFOMETRIA E BIOLOGIA DAS NINFAS INGURGITADAS DE *Rhipicephalus sanguineus* (LATREILE, 1806) (ACARI:IXODIDAE) COMO PROGNÓSTICO DO SEXO DOS ADULTOS

FÁBIO S. BARBIERI<sup>1</sup>; SAMUEL C. CHACÓN<sup>1</sup>; KÁTIA M. FAMADAS<sup>2</sup>

**ABSTRACT:-** BARBIERI, F.S.; CHACÓN, S.C.; FAMADAS, K.M. [Morphometric and biological features of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreile, 1806) (Acari:Ixodidae) engorged nymphs to predict the sex of adults]. Morfometria e biologia das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreile, 1806) (Acari: Ixodidae) como prognóstico do sexo dos adultos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 4, p. 159-163, 2003. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: barbierifs@bol.com.br

*Rhipicephalus sanguineus* engorged nymphs were studied by morphometric and biological features to predict the sex of adults. Although the average weight, length, width of idiosoma and period of ecdysis were different for both male and female nymphs, it was not possible to predict the sex of adults by these measurements because there was considerable overlapping. In opposite of the other species cited in the literature, the ecdysis male period was longer than the female one.

**KEY WORDS:** *Rhipicephalus sanguineus*, nymph, moulting, males, females.

## RESUMO

Ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* foram avaliadas pelo comprimento, largura e espessura do idiossoma, massa corporal, períodos de ingurgitamento e ecdise com o objetivo de se prever o sexo dos adultos. Embora diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) tenham sido encontradas em relação às médias do peso, comprimento, largura do idiossoma, e período de ecdise entre ninfas que originaram machos e fêmeas, através desses parâmetros não foi possível realizar uma previsão acurada do sexo dos adultos devido a uma grande área de superposição dos valores computados para ambos. Ao contrário de outras espécies citadas na literatura, o período de ecdise foi em média maior para as ninfas ingurgitadas que mudaram para machos.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Rhipicephalus sanguineus*, ninfa, muda, macho, fêmea.

## INTRODUÇÃO

A manutenção de carrapatos em condições controladas de laboratório torna-se necessária para que se possa observar a bioecologia destes, assim como o envolvimento destes como transmissores de patógenos. Com este intuito, diversos trabalhos têm sido realizados visando a implantação e manutenção de colônias de diferentes espécies de ixodídeos (NEITZ et al., 1971; CUNHA, 1978; SANAVRIA; PRATA, 1996).

Com a filosofia de otimizar colônias e ou trabalhos experimentais vários autores (ARTHUR; SNOW, 1966; GUGLIELMONE; MOORHOUSE, 1985; OLIVIERI et al., 1986; BARBIERI et al., 2001) investigaram nos estágios imaturos características que pudessem auxiliar na determinação prévia do sexo dos adultos e para algumas espécies encontraram resultados positivos. A determinação prévia do sexo dos adultos ainda na fase de ninfa ou larva dá subsídios ao planejamento de estudos onde um número expressivo de machos e/ou fêmeas (casais) seja necessário.

Como o Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) tem tradição em pesquisas com bioecologia de carrapatos e para isso necessita manter colônias de algumas espécies, parte dos estudos que vem sendo

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: barbierifs@bol.com.br

<sup>2</sup>Departamento de Parasitologia Animal, - Instituto de Veterinária/ UFRRJ, BR 465, Km7, Seropédica, RJ.

realizados tem sido direcionada para a colonização que é o alicerce para o sucesso das outras pesquisas.

Assim em seqüência às pesquisas já iniciadas e publicadas (OLIVIERI et al., 1986; PRATA et al., 1998; FREITAS et al., 2000; BARBIERI, 2001; BARBIERI et al., 2001) investigou-se a predeterminação do sexo na espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), através das relações entre o peso, períodos de ingurgitamento e de ecdise, comprimento, largura e espessura do idiossoma das ninfas ingurgitadas com o sexo dos adultos emergentes.

## MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas Wilhelm Otto Neitz, do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária/ UFRRJ (latitude sul 22° 45', longitude oeste 43° 41' e altitude 33 m). Todo o experimento foi realizado sob condições controladas de laboratório ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $80 \pm 10\%$  URA; escotofase).

Ninfas em jejum de *R. sanguineus* ( $G_1$ ), com idade variando entre 20 e 25 dias, foram obtidas a partir de colônia recentemente estabelecida no Laboratório de Ixodologia (origem canina). Três coelhos da espécie *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) foram infestados artificialmente seguindo-se a técnica do saco de pano (CUNHA, 1978). Cada coelho recebeu 1000 ninfas, totalizando 3000 exemplares, conforme o protocolo de Barbieri (2001).

Iniciado o período da queda, as ninfas ingurgitadas foram colhidas diariamente até o último exemplar se desprender. No laboratório estas foram limpas com um pincel de cerdas macias e grupos amostrais com 20 indivíduos foram formados, aleatoriamente, por dia de recuperação (queda) por hospedeiro.

Cada exemplar foi pesado em balança eletrônica analítica (BOSH SAE 200) e em seguida tomadas as medidas do comprimento, largura e espessura do idiossoma com o auxílio de um Vernier (paquímetro) conforme descrito por Barbieri (2001). Posteriormente as ninfas foram acondicionadas individualmente em frascos de vidro arrolhados com algodão hidrófilo, devidamente identificados e mantidos em condições controladas de laboratório, até a emergência dos adultos. Os adultos foram sexados e os períodos de ingurgitamento e ecdise registrados.

Os dados foram coligidos e tratados pelo teste t de Student ( $p < 0,01$ ). Os valores obtidos para os itens avaliados foram divididos em classes de frequência com intervalos de 1 mg para o peso e 0,2 mm para o comprimento, largura e espessura.

## RESULTADOS

Durante três dias consecutivos foram recuperadas 180 ninfas ingurgitadas, dessas 165 realizaram ecdise, sendo 67 (40,6%) fêmeas e 98 (59,4%) machos. Na Tabela 1 encontram-se os valores médios e desvio padrão dos parâmetros analisados para as ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus*.

Em relação ao peso das ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus*, observou-se que as que originaram fêmeas foram em média ( $p < 0,01$ ), mais pesadas que aquelas que originaram machos. Quando ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* foram distribuídas em classes de frequência (Figura 1), de acordo com o peso e sexo dos adultos emergidos, verificou-se que em todas as classes ocorreram ninfas que originaram ambos os sexos e a maior frequência de espécimens foi obtida no intervalo de 2,9–3,8 (48,48%). Vale ressaltar que a maior porcentagem de ninfas que mudaram para machos se con-

Tabela 1. Valores médios e desvios padrões, amplitude, e número de exemplares observados (seqüência vertical) dos parâmetros morfométricos e biológicos de ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*, em relação ao sexo dos adultos, em condições controladas ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ,  $80 \pm 10\%$  UR, escotofase).

Parâmetros	Ninfas (machos)	Ninfas (fêmeas)	Geral
Peso (mg)	$3,1 \pm 0,88^a$ (0,9 - 5,6) 98	$3,63 \pm 0,55^b$ (1,8 - 5) 67	$3,31 \pm 0,81$ (0,9 - 5,6) 165
Comprimento (mm)	$2,85 \pm 0,28^a$ (2,0 - 3,7) 98	$2,99 \pm 0,16^b$ (2,5 - 3,5) 67	$2,91 \pm 0,24$ (2,0 - 3,7) 165
Largura (mm)	$1,92 \pm 0,14^a$ (1,4 - 2,2) 98	$2,0 \pm 0,16^b$ (1,7 - 3,0) 67	$1,96 \pm 0,15$ (1,4 - 3,0) 165
Espessura (mm)	$1,1 \pm 0,17^a$ (0,8 - 1,8) 98	$1,13 \pm 0,11^a$ (0,9 - 1,4) 67	$1,11 \pm 0,15$ (0,8 - 1,8) 165
Período ingurgitamento (dias)	$5,09 \pm 0,83^a$ (4 - 6) 98	$4,85 \pm 0,82^a$ (4 - 6) 67	$5 \pm 0,83$ (4 - 6) 165
Período de pré-ecdise (dias)	$13,05 \pm 1,15^a$ (11 - 17) 98	$12,52 \pm 0,79^b$ (11 - 15) 67	$12,84 \pm 1,05$ (11 - 17) 165

\*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa ao nível de significância de 1%.

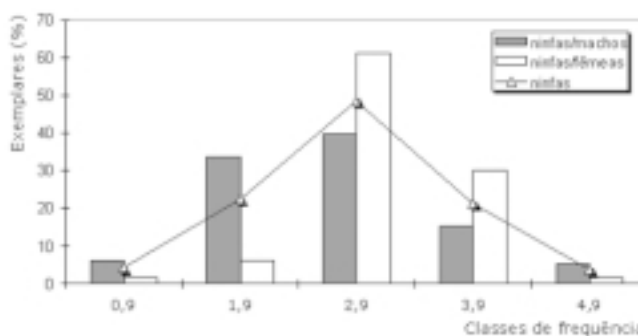


Figura 1. Distribuição das frequências relativas, com intervalos de 1 mg, de acordo o peso das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que originaram machos e fêmeas, em condições de laboratório ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $80 \pm 10\%$ ).

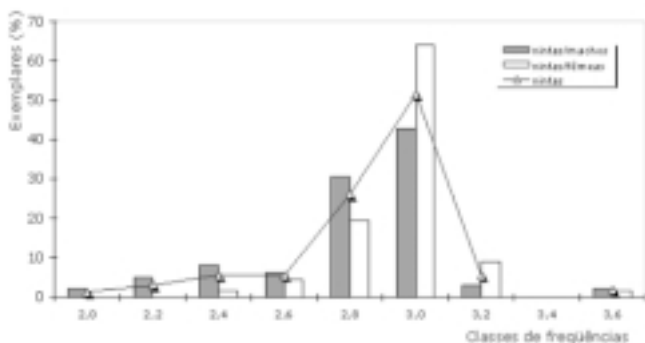


Figura 2. Distribuição das frequências relativas, com intervalos de 0,2 mm, de acordo com o comprimento das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que originaram machos e fêmeas, em condições de laboratório ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $80 \pm 10\%$ ).

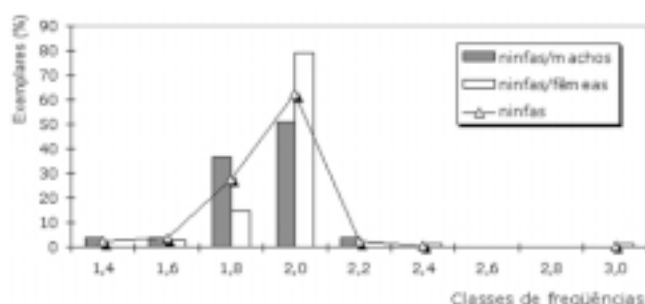


Figura 3. Distribuição das frequências relativas, com intervalos de 0,2 mm, de acordo com a largura das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que originaram machos e fêmeas, em condições de laboratório ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $80 \pm 10\%$ ).

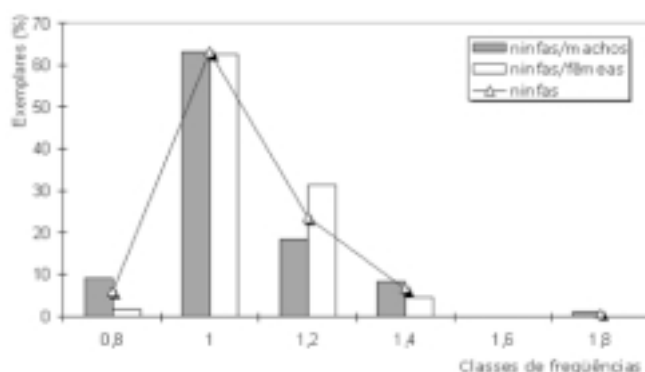


Figura 4. Distribuição das frequências relativas, com intervalos de 0,2 mm, de acordo com a espessura das ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus* que originaram machos e fêmeas, em condições de laboratório ( $27 \pm 1^\circ\text{C}$ ;  $80 \pm 10\%$ ).

centrou nas classes de peso inferiores e as que originaram fêmeas nas superiores.

Com relação ao comprimento das ninfas ingurgitadas constatou-se diferença significativa ( $p < 0,01$ ) nas mensurações, sendo as ninfas que mudaram para fêmeas, em média, mais longilíneas do que as que originaram machos (Tabela 1). No entanto observou-se que o maior percentual de ninfas que mudaram para ambos os sexos estão concentradas no inter-

valo de 3,0-3,1, com (42) 42,85% ninfas ingurgitadas que mudaram para machos e (43) 64,17% para fêmeas (Figura 2). Ninfas ingurgitadas com o comprimento menor que 2,4 mudaram somente para machos, porém apenas 7 indivíduos (7,14%) foram obtidos neste intervalo.

Para o item largura do idiossoma, também foi observada diferença significativa ( $p < 0,01$ ) entre as médias das ninfas que originaram machos e fêmeas. Estas quando distribuídas em classes de frequência (Figura 3) se concentraram no intervalo de 2,0-2,1 (62,42%), com 50 (51,02%) ninfas ingurgitadas que mudaram para machos e 53 (79,1%) mudaram para fêmeas. No intervalo de 1,4-1,5 e acima de 2,3 foram recuperadas exclusivamente machos 4 (4,08%) e fêmeas 2 (3,0%), respectivamente. Porém, como para o comprimento, atenta-se para o fato de que nessas classes poucos indivíduos foram recuperados.

Ao contrário dos demais parâmetros avaliados, não houve diferença significativa ( $p > 0,01$ ) entre as médias da espessura das ninfas que originaram machos e fêmeas (Tabela 1), e quando essas foram distribuídas nas classes de acordo com sua respectiva espessura (Figura 4), observou-se superposição das classes de frequência das ninfas machos e fêmeas, com exceção do intervalo 1,7-1,8 onde só ocorreram machos (1,02%).

O período de ingurgitamento das ninfas de *R. sanguineus* variou entre 4 e 6 dias (Tabela 1), não havendo diferenças significativas quando foram comparados os valores médios entre o sexo dos adultos. O período de ecdise variou entre 11 e 17 dias, com intervalos de 11 a 17 e 11 a 15 dias e médias de 13,05 e 12,52 dias para as ninfas que originaram machos e fêmeas, respectivamente (Tabela 1). Acima dos 15 dias de ecdise foram obtidos somente espécimes machos 5,1% (5).

## DISCUSSÃO

Diferenças significativas entre as médias do peso de ninfas ingurgitadas que mudaram para machos e fêmeas, de outras espécies do gênero *Rhipicephalus*, estão registradas na literatura, tais como, *R. evertsi evertsi* (Neumann, 1897) e *R. glabroscutatum* (Du Toit, 1941) (REHAV et al., 1977; REHAV; KNIGHT, 1981). Em ninfas ingurgitadas de algumas espécies do gênero *Amblyomma* também foram encontradas diferenças significativas entre o peso das ninfas ingurgitadas que mudaram para machos e fêmeas, com ninfas que mudaram para fêmeas sendo as mais pesadas. Porém em ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* (Fabricius, 1787), *A. triguttatum triguttatum* (Koch, 1844), *A. neumannii* (Ribaga, 1902), e *A. tigrinum* (Koch, 1844) (GUGLIELMONE; MOORHOUSE, 1985; OLIVIERI et al., 1986; AGUIRRE et al., 1999; BARBIERI et al., 2001; LABRUNA et al., 2002), não foi possível obter-se um peso limite entre as ninfas ingurgitadas que originaram machos e fêmeas, devido à ampla superposição das classes. Já para *A. tuberculatum* (Marx, 1894), *A. inornatum* (Banks, 1914), *A. americanum* (Linnaeus, 1758), *A. limbatum* (Neumann, 1899) (COONEY; HAYS, 1972; GLADNEY et al., 1977; KOCH, 1981; CHILTON et

al., 2000), assim como em *Hyalomma anatolicum anatolicum* (Koch, 1844) (ARTHUR; SNOW, 1966) a determinação acurada do sexo dos adultos a partir de ninfas ingurgitadas foi possível.

O comprimento do idiosoma de ninfas ingurgitadas foi investigado em *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) onde observou-se uma pequena área de superposição (DUSBÁBEK, 1996), e em *A. inornatum*, sendo que nesta espécie a superposição no comprimento de ninfas ingurgitadas que originaram machos e fêmeas não ocorreu (GLADNEY et al., 1977).

Na literatura tem sido registrado que os períodos de ingurgitamento e de ecdise da ninfa regulam a emergência antecipada dos machos (RECHAV; KNIGHT, 1981), e que quando um dos períodos é em média menor para as ninfas que mudam para machos, o outro é similar para ambos os sexos. Em *R. evertsi evertsi* (RECHAV et al., 1977) foi observado um período de ecdise menor para ninfas ingurgitadas que mudaram para machos, assim como *A. inornatum* (GLADNEY et al., 1977) e *A. triguttatum triguttatum* (GUGLIELMONE; MOORHOUSE, 1985). Já em *R. glabroscutatum* (RECHAV; KNIGHT, 1981) e *A. cajennense* (BARBIERI et al., 2001) o período de ingurgitamento foi menor nas ninfas que mudaram para machos, e em ninfas ingurgitadas de *A. trigrinum* ambos os períodos foram similares (LABRUNA et al., 2002). Porém, para ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* o período de ecdise foi menor naquelas que originam fêmeas e maior para os machos, e o período de ingurgitamento foi similar para ambos os sexos.

Em suma, a espessura do idiossoma e o período de ingurgitamento por não apresentarem valores diferentes entre as ninfas ingurgitadas que mudaram para machos e fêmeas, bem como o peso, comprimento e largura do idiossoma, que embora tenha sido constatada diferença entre as médias, apresentaram ampla faixa de superposição nas classes de frequência de ambos os sexos, não podem ser utilizados para prever o sexo dos adultos. Vale ressaltar que através do comprimento, largura do idiossoma e período de ecdise pode-se obter uma quantidade muito pequena de exemplares do mesmo sexo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIRRE, D.H.; VINABAL, A.E.; GUGLIELMONE, A.A.. The life cycle of *Amblyomma neumanni* (Ribaga, 1902) (Acari: Ixodidae) in the laboratory. *Experimental and Applied Acarology*, v. 23, n. 2, p. 159-164, 1999.
- ARTHUR, D.R.; SNOW, K.. The significance of size in the immature stages of the Ixodoidea. *Parasitology*, v. 56, n. 2, p. 391-397, 1966.
- BARBIERI, F.S.. Avaliação de parâmetros morfológicos e biológicos de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) como prognóstico do sexo dos adultos. 2001. 46 f. Dissertação: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.
- BARBIERI, F.S.; CHACON, S.C. FAMADAS, K.M.; DAEMON, E. Avaliação do peso e de parâmetros biológicos de ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) como prognóstico do sexo dos adultos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 83-86, 2001.
- 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. *International Journal for Parasitology*, v. 30, n. 9, p. 973-979, 2000.
- COONEY, J.C.; HAYS, K.L. Bionomics of the gopher tortoise tick, *Amblyomma tuberculatum* MARX. *Journal of Medical Entomology*, v. 9, n. 3, p. 239-245, 1972.
- DUSBÁBEK, F. Nymphal sexual dimorphism in the sheep tick *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Folia Parasitologica*, v. 43, n. 1, p. 75-79, 1996.
- CUNHA, D.W. da. Estudos da toxicidade de alguns carrapatos comumente encontrados no Brasil (Acarina: Ixodidae). 1978. 89f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1978.
- FREITAS, L.H.T.; DAEMON, E.; PRATA, M.C.A.; FACCINI, J.L.H. Relação entre o peso e o número de larvas e ninfas ingurgitadas e entre o período de ingurgitamento ninfal e o sexo dos adultos de *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (Acari, Ixodidae) em condições experimentais. *Revista Brasileira de Zootecias*, v. 2, n. 2, p. 21-32, 2000.
- GLADNEY, W.J.; DAWKINS, C.C.; PRICE, M.A. *Amblyomma inornatum* (Acarina: Ixodidae): natural hosts and laboratory biology. *Journal of Medical Entomology*, v. 14, n. 1, p. 85-88, 1977.
- GUGLIELMONE, A.A.; MOORHOUSE, D.E.. Differences in nymphs of *Amblyomma triguttatum triguttatum* Koch moulting to males and females. *Acarologia*, v. 26, n. 1, p. 7-11, 1985.
- KOCH, H.G. Suitability of birds and mammals as host for immature stages of the lone star tick, *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 18, n. 2, p. 93-98, 1981.
- LABRUNA, M.B.; SOUZA, S.L.P.; MENEZES, A.C.; HORTA, M.C.; PINTER, A.; GENNARI, S.M.. Life-cycle and host specificity of *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology*, v. 26, n. 1-2, p. 115-125, 2002.
- NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.W. Laboratory investigation on the life-cycle of the Karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215-224, 1971.
- 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. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 7, n. 2, p. 107-111, 1998.
- OLIVIERI, J.A.; DAEMON, E.; SERRA-FREIRE, N.M.. Correspondência entre o peso, período de pré-muda da metaninfa e o sexo do adulto em duas linhagens de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina:Ixodidae). *Atas da Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro*, v. 26, p. 5-7, 1986.
- RECHAV, Y; KNIGHT, M.M. Life cycle in the laboratory and seasonal activity of the tick *Rhipicephalus glabroscutatum* (Acarina: Ixodidae). *Journal of Parasitology*, v. 67, n. 1, p. 85-89, 1981.
- RECHAV, Y; KNIGHT, M.M.; NORVAL, R.A.I. Life cycle of the tick *Rhipicephalus evertsi evertsi* Neumann (Acarina: Ixodidae) under laboratory conditions. *Journal of Parasitology*, v. 63, n. 3, p. 575-579, 1977.
- SANAVRIA, A.; PRATA, M.C.A. Metodologia para colonização do *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 5, n. 2, p. 87-90, 1996.

Recebido em 01 de dezembro de 2003.

Aceito para publicação em 31 de dezembro de 2003.