

EFEITO DA IMERSÃO DE LARVAS NÃO ALIMENTADAS DE *Anocentor nitens* (NEUMANN, 1897) E DE *Amblyomma cajennense* (FABRICIUS, 1787) (ACARI: IXODIDAE) EM ÁGUA DESTILADA

ADRIANA DA R. PAULA¹; ELIANE M. PIRANDA²; JOÃO L. H. FACCINI³; ERIK DAEMON⁴

ABSTRACT: - PAULA, A. R.; PIRANDA, E. M.; FACCINI, J.L.H.; DAEMON, E. [The effect of immersion in distilled water on the unfed larvae of *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) and *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae).] Efeito da imersão de larvas não-alimentadas de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) e de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* v. 13, n. 1, p. 13-17, 2004. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, 23890-000, RJ, Brasil.

Unfed larvae of *Anocentor nitens* and *Amblyomma cajennense* were immersed in distilled water within test tubes for 24, 48, 72 and 96 hours. The parameters observed were: survival, premortality, longevity and mortality periods. A significant decrease in the survival occurred from 48 h of immersion of *A. nitens* and from 72 h of immersion of *A. cajennense*. Premortality period was similar for both species and inversely proportional to the immersion period. The longevity and mortality periods decreased significantly from 24 and 72 h of immersion of *A. nitens* and *A. cajennense*, respectively. These findings suggest that immersion in water is deleterious to the free-living phase of larvae of the studied species.

KEY WORDS: *Anocentor nitens*, *Amblyomma cajennense*, survival, unfed larvae, immersion.

RESUMO

Larvas não-alimentadas de *Anocentor nitens* e *Amblyomma cajennense* foram imersas em água destilada em tubos de ensaio por períodos de 24, 48, 72 e 96 h. Os seguintes parâmetros foram avaliados: percentual de sobrevivência e períodos de pré-mortalidade, longevidade e mortalidade. Redução significativa no percentual de sobrevivência ocorreu a partir de 48 h para *A. nitens* e 72 h para *A. cajennense*. O período de pré-mortalidade foi semelhante para as duas espécies, sendo inversamente proporcional ao tempo de imersão. A longevidade e a mortalidade diminuíram significativamente a partir de 24 e 72 h para *A. nitens* e *A. cajennense*, respectivamente. Estes dados permitem-nos inferir que a imersão

em água é deletéria para a fase não-parasitária de larva das espécies estudadas.

PALAVRAS-CHAVE: *Anocentor nitens*, *Amblyomma cajennense*, sobrevivência, larvas não-alimentadas, imersão.

INTRODUÇÃO

Anocentor nitens (Neumann, 1897) e *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) são duas espécies de carrapatos de notória importância no Brasil. Os equinos são considerados os hospedeiros principais para ambas espécies, porém, outros vertebrados podem servir de hospedeiros em determinadas situações.

Além da ação direta dos parasitos sobre os hospedeiros, a transmissão de agentes patogênicos reveste-se de grande importância na relação parasito-hospedeiro. O envolvimento de ambas as espécies na transmissão de protozoários (ROBY; ANTHONY, 1963; ROBY et al., 1964), riquétsias (LEMONS et al., 1997) e, possivelmente, vírus (LINTHICUM et al., 1991) e microsporídios (RIBEIRO; GUIMARÃES, 1998) encontra-se documentado na literatura. Estes tópicos da relação parasito-hospedeiro apontam para a necessidade de um conhecimento detalhado sobre ecologia das espécies em questão.

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Instituto de Veterinária (IV) / Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, 23890-000, Brasil. E-mail: arpaula@globom.com

²CPGCV/IV/UFRRJ, Seropédica, RJ, 23890-000, Brasil.

³Departamento de Parasitologia Animal, IV / UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, 23890-000, Brasil. Bolsista do CNPq, faccini@ufrj.br

⁴Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas / Universidade Federal de Juiz de Fora.

De um modo geral, os carrapatos têm uma relação ambígua com a água: eles necessitam de elevada umidade relativa para manter o equilíbrio hídrico, mas parecem evitar o contato direto com ela (KRÖBER; GUERIN, 1999). Dados disponíveis sobre o efeito deletério da imersão em água das fases imaturas das duas espécies aqui estudadas restringem-se aos trabalhos de Gazeta et al. (1995), Paula et al. (2000) e Paula (2003). Em relação a outras espécies de carrapatos, a literatura pertinente ainda registra as publicações Arthur (1951) com *I. hexagonus*, Murray e Vestjens (1967) com *I. uriae*, Smith (1973) com *Rhipicephalus appendiculatus* e *Amblyomma variegatum*, Ekpenyong (1993) com *A. variegatum* e Penna (1999) com *R. sanguineus*.

Considerando que algumas das áreas de distribuição de *A. nitens* e *A. cajennense* podem se tornar alagadas na estação das chuvas, decidiu-se investigar mais detalhadamente a possível ação deletéria da imersão em água, em condições controladas, de larvas destas duas espécies de ixodídeos. Os resultados reportados neste artigo são parte de um projeto elaborado pelo grupo de pesquisa Acarologia Veterinária – CNPq para avaliar a possível ação deletéria da imersão nas diversas fases do ciclo biológico das principais espécies de carrapatos que ocorrem no Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Todas as etapas do experimento foram realizadas no Laboratório de Ixodologia localizado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON), do Departamento de Parasitologia Animal, do Instituto de Veterinária, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), situado em Seropédica - RJ, no período de novembro de 1999 a julho de 2000.

Para a realização das etapas do experimento, fêmeas ingurgitadas de *A. nitens* e de *A. cajennense* foram coletadas de equinos naturalmente infestados, mantidos no campus da UFRRJ (22°45'S, 43°41'W, 33m). Após a coleta, foram transportadas para o laboratório, lavadas em água corrente, secas em papel absorvente, pesadas em balança analítica⁵ e identificadas segundo Aragão e Fonseca (1961). As fêmeas foram fixadas dorsalmente em placas de Petri (100 x 15 mm) com auxílio de tiras de esparadrapo e mantidas em estufa incubadora para BOD a 27±1°, UR³80% e escotofase. Os ovos foram coletados entre o terceiro e o oitavo dias de postura, homogeneizados e fracionados em alíquotas de 50 mg que foram, então, acondicionadas em tubos de ensaio com capacidade para 20 ml. Estes tubos, que tiveram sua extremidade fechada com tecido de organza preso com elástico de borracha, foram identificados e mantidos em estufa incubadora para BOD sob as condições anteriormente citadas. Para cada espécie foram formados cinco tratamentos, para imersão por 24, 48, 72, 96 h e um grupo controle, sendo que cada tratamento continha 30 tubos de ensaio, totalizando 150 tubos por espécie. Quinze dias após o dia modal de eclosão larval, os

tubos de ensaio, com exceção dos do grupo controle, receberam água destilada até sua extremidade, com o auxílio de seringa pressionando a água contra a organza, de modo a enchê-los. Estes tubos foram, então, acondicionados em recipientes plásticos repletos com água destilada, para evitar a entrada de ar, formação de bolhas e evaporação da água durante o experimento, sendo mantidos em estufa incubadora para BOD sob condições já descritas. Decorridos os períodos descritos acima, os tubos foram retirados da imersão e a água existente em seu interior foi aspirada com auxílio de seringa agulhada para facilitar a operação. Após esta operação, todos os tubos, inclusive os do grupo controle, foram transferidos novamente para a estufa incubadora para BOD. A leitura dos grupos foi feita em intervalos de 24h. A leitura do grupo controle teve início juntamente com a leitura do grupo 24 h. Os seguintes parâmetros foram avaliados: percentual de sobrevivência, período de pré-mortalidade (compreendido entre a retirada do material das condições de imersão e a morte da primeira larva), longevidade larval (compreendido entre a eclosão da primeira à morte da última larva), período de mortalidade larval (compreendido entre a morte da primeira e a da última larva) e ritmo de mortalidade larval acumulada.

A Análise de Variância e o Teste de Tukey-Kramer, a níveis de significância de 5%, foram empregados para cada parâmetro. Valores expressos em percentuais foram transformados para arco seno, previamente à aplicação dos testes.

Para a análise de parâmetros em que a diferença entre os desvios padrões foi considerada extremamente significativa pelo teste de Bartlett, optou-se pela aplicação do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual médio de sobrevivência larval para *A. nitens* foi significativamente menor a partir de 48 h de imersão, alcançando níveis próximos de zero com 96 h de imersão (Tabela 1). Já para *A. cajennense*, o percentual médio de sobrevivência teve uma diminuição significativa somente após 72 h de imersão, alcançando, aproximadamente 40% com 96 h de imersão (Tabela 2). Na Figura 1, pode-se observar a comparação entre a sobrevivência das larvas não alimentadas destas duas espécies, após a imersão.

Estes dados demonstram uma menor resistência a esta condição adversa para *A. nitens*. Os resultados obtidos para *A. nitens* são semelhantes aos de Paula et al. (2002), em pesquisa sobre imersão deste estágio em água destilada na presença de solo, podendo ser considerado este prazo como um limite máximo para a sobrevivência deste estágio para esta espécie de carrapato. Penna (1999) observou mortalidade elevada também a partir de 48 h de imersão para *R. sanguineus*, atingindo 100% de mortalidade após 96 h de imersão.

Arthur (1951) manteve larvas de *I. hexagonus* imersas por quatro meses, sem efeito deletério sobre a sobrevivência das mesmas. Murray e Vestjens (1967) observaram que larvas de *I. uriae* permaneceram vivas, sob condições de imersão, por

⁵Bosch – SAE 200.

Tabela 1. Sobrevivência, pré-mortalidade, longevidade e mortalidade de larvas não-alimentadas de *Anocentor nitens* submetidas à imersão em água destilada por diferentes períodos. Na seqüência vertical: média, desvio padrão, Amplitude de Variação da variação e N.

Parâmetros	Período de imersão				
	Controle*	24 h	48 h	72 h	96 h
Sobrevivência (%)	99,83 ^a	99,90 ^a	22,50 ^b	1,67 ^c	0,10 ^c
	0,38	0,31	22,08	3,65	0,31
	99 – 100	99 – 100	5 – 80	1 – 20	0 – 1
	30	30	30	30	30
Pré-mortalidade (dias)	18,80 ^a	13,90 ^b	7,00 ^c	4,00 ^d	3,00 ^{cd}
	5,70	3,17	0,00	0,00	0,00
	9 – 30	8 – 17	7 – 7	4 – 4	3 – 3
	30	30	30	23	3
Longevidade (dias)	75,83 ^a	89,20 ^b	56,53 ^c	44,73 ^d	35,00 ^d
	3,38	3,49	6,86	13,14	0,00
	69 – 83	85 – 92	43 – 71	26 – 66	35 – 35
	30	30	23	3	
Mortalidade (dias)	37,57 ^a	56,37 ^b	29,53 ^c	21,33 ^d	11,00 ^d
	7,69	4,52	6,86	12,65	0,00
	28 – 56	49 – 65	16 – 44	5 – 40	11 – 11
	30	30	30	23	3

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p = 5%).

* A leitura do grupo controle teve inicio juntamente com a leitura do grupo 24 h.

Tabela 2. Sobrevivência, pré-mortalidade, longevidade e mortalidade de larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* submetidas à imersão em água destilada por diferentes períodos. Na seqüência vertical: média, desvio padrão, Amplitude de Variação da variação e N.

Parâmetros	Período de imersão				
	Controle*	24 h	48 h	72 h	96 h
Sobrevivência (%)	98,77 ^a	99,73 ^a	99,47 ^a	91,93 ^b	38,83 ^c
	0,43	0,45	0,51	6,40	27,28
	99 – 100	99 – 100	99 – 100	70 – 99	5 – 90
	30	30	30	29	30
Pré-mortalidade (dias)	16,43 ^a	11,90 ^b	8,67 ^c	6,00 ^d	5,00 ^d
	5,54	5,19	2,25	0,00	0,00
	9 – 29	8 – 28	7 – 14	6 – 6	5 – 5
	30	30	30	30	30
Longevidade (dias)	172,60 ^a	178,33 ^a	173,73 ^a	161,00 ^b	149,50 ^b
	3,58	8,36	6,66	10,55	17,38
	166 – 177	168 – 208	156 – 191	117 – 177	107 – 170
	30	30	30	29	30
Mortalidade (dias)	135,83 ^{ac}	144,27 ^b	143,07 ^{ab}	132,31 ^c	120,70 ^d
	6,33	10,28	7,23	6,66	16,78
	126 – 146	123 – 181	125 – 160	113 – 141	78 – 141
	30	30	30	29	30

Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si (p = 5%).

* A leitura do grupo controle teve inicio juntamente com a leitura do grupo 24 h.

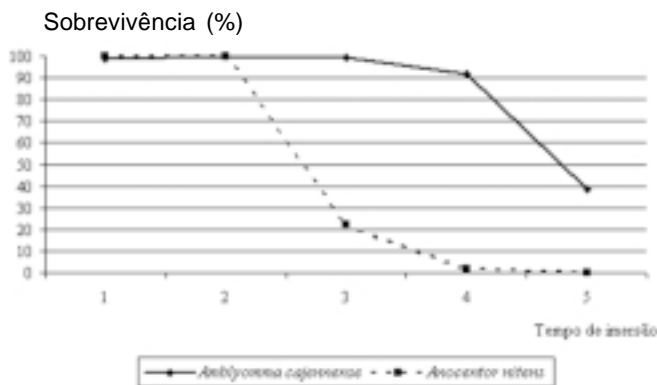


Figura 1. Comparação entre a sobrevivência de larvas não-alimentadas de *Anocentor nitens* e a de *Amblyomma cajennense* submetidas à imersão em água destilada por diferentes períodos.

mais de 208 dias. Smith (1973) verificou mortalidades de 50% após 64 e 48 dias de imersão para larvas não-alimentadas de *A. variegatum* e *R. appendiculatus*, respectivamente. No entanto, Ekpenyoung (1993), embora tenha verificado também a mortalidade crescente de larvas de *A. variegatum* de acordo com o período de imersão, citou que a mortalidade atingiu 100% após 96 h de imersão. Embora, algumas divergências tenham sido detectadas entre os resultados registrados na literatura e os dados obtidos neste experimento, pode-se inferir que a imersão em água exerce um efeito deletério nas larvas das espécies mencionadas.

O período médio de pré-mortalidade larval foi inversamente proporcional ao tempo de imersão, sendo significativo a partir de 24 h para ambas as espécies. A metodologia utilizada para promover as condições de imersão prejudicou a observação das larvas imediatamente após a retirada dos tubos da água, visto que, mesmo após esta ter sido escoada e os tubos terem permanecido emborcados, gotículas de água permaneceram nas paredes dos mesmos. Nestas, as larvas ficaram presas, não realizando movimentos que demonstrassem estarem vivas. Assim, somente após cinco a seis dias da retirada da água, o material passou a ser observado diariamente para verificação do início da mortalidade larval. Isto explica o porquê de o período de pré-mortalidade não ter sofrido variação em períodos de imersão por 72 e 96 h e por estes tratamentos estarem demonstrados na tabela com dados sobre *A. nitens* com um número de tubos inferior a 30, uma vez que, no momento da observação, a mortalidade já havia iniciado. Não foi possível determinar se a mesma se iniciou com as larvas ainda imersas. Em 27 tubos de ensaio do grupo 96 h, todas as larvas não-alimentadas saíram mortas da condição de imersão. Alterações neste parâmetro a partir de 24 h de imersão também foram verificadas por Paula et al. (2002), para larvas não-alimentadas desta espécie imersas em água na presença de solo.

A longevidade larval média de *A. nitens* após 24 h foi significativamente superior a do grupo controle, não sendo possível determinar, à luz da literatura, os fatores que levaram à obtenção destes resultados. À análise em conjunto deste

parâmetro com o percentual de sobrevivência de larvas de *A. nitens* pôde-se constatar que 24 h é o período máximo que estas larvas suportam tais condições de imersão sem sofrer efeito deletério. A partir de 48 h de imersão, foi verificado decréscimo gradual na longevidade larval e, conseqüentemente, no percentual de sobrevivência das larvas dos diferentes grupos.

Já o período médio de mortalidade larval de *A. nitens* tendeu a aumentar com 24 h de imersão, sendo significativamente diferente a partir deste tratamento, sofrendo declínio a partir de 48 h, demonstrando que as larvas morriam mais rapidamente depois de prolongados períodos de imersão. Paula et al. (2002) observaram um aumento neste parâmetro após 24 e 48 h de imersão, havendo subseqüentemente um decréscimo no mesmo a partir de 72 h, demonstrando não ter havido influência do solo quando se compara tal resultado aos do presente trabalho.

As larvas não-alimentadas de *A. cajennense* apresentaram alteração significativa em sua longevidade média a partir de 72 h de imersão, demonstrando suportar, no máximo, 48 h de imersão sem efeito deletério sobre as mesmas, fato este também observado no percentual de sobrevivência.

Já o período médio de mortalidade larval desta espécie sofreu redução somente após 96 h de imersão, demonstrando que este parâmetro sofre pouca influência das condições de imersão. A mortalidade de *A. variegatum* foi analisada por Ekpenyoung (1993) que observou um declínio neste parâmetro diretamente proporcional ao período de imersão.

Com base nesta pesquisa, pode-se inferir que larvas não-alimentadas de *A. cajennense* resistem à imersão em água destilada por um período mais longo que as de *A. nitens*. Outra consideração a ser feita é o fato de que a imersão foi realizada em laboratório, sob condições artificiais, uma vez que, provavelmente, em condições naturais de alagamento devido a chuvas, as larvas não-alimentadas se comportem de maneira diferente, visto a presença de vegetação na pastagem fornecer substrato adequado para que as mesmas se abriguem, evitando a imersão. Assim, somente em casos de chuvas fortes e prolongadas, pode se esperar efeito semelhante aos obtidos neste trabalho, que podem ser utilizados como uma forma de se prever a flutuação populacional das espécies em questão nestas condições adversas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, H. B.; FONSECA, P. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n.2, p.115-1129, 1961.
- ARTHUR, D.R. The bionomics of *Ixodes hexagonus* Leach in Britain. *Parasitology*, v. 41, n. 1-2, p. 82-90, 1951.
- EKPENYONG, G.D. The effect of flooding and sodium chloride on the development of *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) (Acarina: Ixodidae). *Acarologia*, v. 34, n. 2, p. 123-129, 1993.
- GAZETA, G. S.; ROCHA, G. C.; CAVALCANTI, P. L.; CAIAFFA, RT. M.; SERRA-FREIRE, N. M. Comporta-

- mento de teleóginas e ovos de *Amblyomma cajennense*, *Anocentor nitens* e *Boophilus microplus* em imersão. *Entomologia y Vectores*, v. 2, n.6, p. 145-150, 1995.
- KRÖBER, T.; GUERIN, P. M. Ixodid ticks avoid contact with liquid water. *The Journal of Experimental Biology*, v. 202, n. 14, p. 1877-1883, 1999.
- LEMOES, E. R. S.; MACHADO, R. D.; PIRES, F. D. A.; MACHADO, S. L.; COSTA, L. M. C.; COURA, J. R. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 4, p. 477-481, 1997.
- LINTHICUM, K.J.; LOGAN, T.M.; BAILEY, C.L.; GORDON, S.W.; PETERS, C.J.; MONATH, T.P.; OSORIO, J.; FRANCY, D.B.; McLEAN, R.G.; LEUC, J.W.; GRAHAM, R.R.; JAHRLING, P.B.; MOULTON, J.R.; DOHM, D.J. Venezuelan Equine Encephalomyelitis virus infection and transmission by the tick *Amblyomma cajennense* (Arachnida: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 28, n. 3, p. 405-409, 1991.
- MURRAY, M. D.; VESTJENS, J. M. Studies on the ectoparasites of seals and penguins III. The distribution of the tick *Ixodes uriae* White and the flea *Parapsyllus magellanicus heardi* de Meillon on Macquarie Island. *Australian Journal of Zoology*, v. 15, n. 6, p. 715-725, 1967.
- PAULA, A. R. Efeito da imersão em água contendo ou não solo sobre os estágios não-parasitários de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) e de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em condições artificiais. 2003. 82 p. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2003.
- PAULA, A. R.; DAEMON, E.; CUNHA, D. W.; FACCINI, J. L. H. Efeito da imersão de fêmeas ingurgitadas e ovos de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) e de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em água destilada. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 22, n. 1, p. 30-36, 2000.
- PAULA, A. R.; PIRANDA, E. M.; FACCINI, J. L. H.; DAEMON, E. Efeito da imersão de *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) (Acari: Ixodidae) em água destilada com solo em capacidade de campo: II. Larvas não-alimentadas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD-ROM.
- PENNA, A. P. Efeito da imersão em água destilada sobre as fases de vida livre do ciclo evolutivo de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). 1999. 38 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1999.
- RIBEIRO, M. F. B.; GUIMARÃES, A. M. *Encephalitozoon*-like microsporidia in the ticks *Amblyomma cajennense* and *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 35, n. 6, p. 1029-1033, 1998.
- ROBY, T.O.; ANTHONY, D.W. Transmission of equine piroplasmiasis by *Dermacentor nitens* Neumann. *Journal American Veterinary Medicine Association*, v. 142, n. 7, p. 768-769, 1963.
- ROBY, T.O.; ANTHONY, D.W.; THORTON Jr., C.W.; HOLBROOK, A.A. The hereditary transmission of *Babesia caballi* in the Tropical Horse Tick *Dermacentor nitens* Neumann. *American Journal of Veterinary Research*, v. 25, n. 105, p. 494-499, 1964.
- SMITH, M. W. The effect of immersion in water on the stages of the Ixodid ticks - *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann 1901 and *Amblyomma variegatum* Fabricius 1794. *Annals of the Tropical Medical Parasitology*, v. 67, n. 4, p. 483-492, 1973.

Recebido em 11 de fevereiro de 2004.

Aceito para publicação em 31 de março de 2004.