

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA DE MANUTENÇÃO DA FASE NÃO PARASITÁRIA SOBRE A FASE PARASITÁRIA DE *Haemaphysalis leporispalustris* (PACKARD, 1869) (ACARI: IXODIDAE)*

LUCIANA HELENA T. DE FREITAS¹; ANA CRISTINA DE B. CARDOSO¹;
MÁRCIA CRISTINA DE A. PRATA²; JOÃO LUIZ H. FACCINI³

ABSTRACT:-FREITAS, L.H.T. DE; CARDOSO, A.C. DE B.; PRATA, M.C. DE A.; FACCINI, J.L.H. [Influence of the maintenance temperature of the non-parasitic phase, on the parasitic phase, of *Haemaphysalis leporispalustris* (PACKARD, 1869) (Acari: Ixodidae).] Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 3, p. 115-123, 2004. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000, Brazil. E-mail: lhtf@ufrj.br

This work was conducted at The Experimental Station W.O. Neitz, Department of Animal Parasitology, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brazil from January 2001 to March 2002. The aim of the experiment was to verify if constant temperatures (18, 27 e 32 ± 1°C) of maintenance of the free living phases can influence the parasitic phases. The following parameters were evaluated under experimental conditions, using rabbits as hosts: parasitic period, recovery percentage, recovery rhythm and weight of engorged *Haemaphysalis leporispalustris* larvae, nymphs and females. The temperature of maintenance of free living phase of larvae, nymphs and females had effect on all parameters of parasitic phase stages evaluated (p<0,05), with exception of the recovery percentage of engorged nymphs (p>0,05). In general, the temperature of 18 ± 1°C was appropriate for maintenance of free living phases. Otherwise, the temperature of 32 ± 1°C was harmful in proceeding with the life cycle of this tick.

KEY WORDS: *Haemaphysalis leporispalustris*, effect of temperature, life cycle.

RESUMO

Este trabalho foi realizado na Estação Experimental W.O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil entre janeiro de 2001 e março de 2002. O objetivo do experimento foi o de verificar se temperaturas constantes (18, 27 e 32 ± 1°C) de manutenção das fases de vida livre podem influenciar as fases parasitárias. Os seguintes parâmetros foram avaliados sob condições experimentais, utilizando-se coelhos como hospedei-

ros: período parasitário, percentual de recuperação, ritmo de recuperação e peso de larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas de *Haemaphysalis leporispalustris*. A temperatura de manutenção da fase não-parasitária de fêmeas, larvas e ninfas de *H. leporispalustris* exerceu influência sobre todos os parâmetros da fase parasitária dos respectivos instares avaliados (p<0,05), exceto sobre o percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas (p>0,05). A temperatura de manutenção de 18 ± 1°C mostrou-se apropriada na manutenção das fases de vida livre. A temperatura de manutenção de 32 ± 1°C mostrou-se prejudicial para a continuidade do ciclo biológico de *H. leporispalustris*.

PALAVRAS-CHAVE: *Haemaphysalis leporispalustris*, efeito da temperatura, ciclo de vida.

INTRODUÇÃO

Haemaphysalis leporispalustris (Packard, 1869) é uma espécie de carrapato de três hospedeiros e de ampla distribui-

* Sob auspícios do CNPq. O Protocolo de Princípios Éticos em Pesquisa Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) foi seguido neste experimento.

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000. E-mail: lhtf@ufrj.br

² EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite (CNPGL), Juiz de Fora, MG.

³ Departamento de Parasitologia Veterinária, IV/UFRRJ, Bolsista IB do CNPq. E-mail: faccini@ufrj.br

ção geográfica. Os adultos são altamente hospedeiro-específicos, parasitando quase exclusivamente coelhos silvestres do gênero *Sylvilagus* (HOOGSTRAAL; KIM, 1985). No Brasil, a espécie *S. brasiliensis* L., 1778 (HOFFMAN, 1993) é o hospedeiro natural de *H. leporispalustris*, embora os coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus* L., 1758) também sejam parasitados acidental e experimentalmente. Os estádios imaturos possuem moderada especificidade e mesmo tendo predileção pelo coelho, podem parasitar antílopes (MERTINS et al., 1992) e pássaros, sendo estes últimos importantes dispersores da espécie na natureza (SONENSHINE; CLIFFORD, 1973; CAMPBELL; GLINES, 1979).

O envolvimento desta espécie na transmissão de agentes patogênicos entre animais silvestres, tais como: *Francisella tularensis*, riquetsia do grupo da Febre Maculosa e espiroquetas semelhantes a *Borrelia burgdorferi*, os quais podem infectar os seres humanos, encontra-se bem documentado na literatura pertinente (KOLLARS; OLIVER, 2003). Em relação aos ixodídeos neotropicais, os artigos publicados são escassos e referem-se à influência da temperatura na manutenção de colônias de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (BELLATO; DAEMON, 1997) e *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (CHACÓN et al., 2002).

A necessidade de maiores esclarecimentos sobre a relação parasito-hospedeiro tem incentivado vários pesquisadores a estudar mais detalhadamente a biologia/ecologia da espécie em questão. Neste sentido, a manutenção de colônias em laboratório é de fundamental importância. Para tal, se faz necessário um conhecimento detalhado dos fatores abióticos e bióticos que possam interferir na colônia. O objetivo deste trabalho foi o de verificar se, em condições experimentais, temperaturas constantes e contínuas de manutenção ($18 \pm 1^\circ\text{C}$, $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $32 \pm 1^\circ\text{C}$) da fase não parasitária podem exercer influência sobre a fase parasitária de larvas, ninfas e adultos de *H. leporispalustris*.

MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Ixodologia situado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz (EPPWON), do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), no período de janeiro de 2001 a março de 2002.

A colônia teve origem numa fêmea ingurgitada coletada em um coelho silvestre não identificado, na área da UFRRJ (Lat.: $22^\circ 45' \text{S}$; Long.: $43^\circ 41' \text{W}$ Grw; Alt.: 33m). Após identificada como *H. leporispalustris*, segundo Aragão e Fonseca (1961), a fêmea foi mantida a $27 \pm 1^\circ\text{C}$, UR = 80% e escotofase, em câmara climatizada (ELETROLAB®) para a obtenção de larvas da primeira geração laboratorial. A partir destas larvas, chegou-se aos adultos de 1ª geração, através de infestações artificiais em coelhos, segundo metodologia publicada em Neitz et al. (1971), que consiste em envolver os pavilhões auriculares em um dis-

positivo de pano, sendo este fixado à base das orelhas por meio de uma cola atóxica (à base de glicerina, gelatina e óxido de zinco). A fase não parasitária desta 1ª geração foi mantida nas mesmas condições da fêmea que originou a colônia. A postura das fêmeas de 2ª geração laboratorial, com aproximadamente 24 horas de incubação, foi então distribuída em quatro diferentes temperaturas ($18 \pm 1^\circ\text{C}$, $27 \pm 1^\circ\text{C}$ e $32 \pm 1^\circ\text{C}$, $35 \pm 1^\circ\text{C}$), com UR = 80% e escotofase, em câmaras climatizadas. Para ter certeza de que a temperatura de manutenção estaria realmente atuando na biologia da espécie em tela, as fases não parasitárias destes grupos foram mantidas, cada qual, desde a fase de ovo, nas referidas temperaturas. Chegou-se dessa forma a grupos distintos de larvas, ninfas e adultos de 2ª geração laboratorial, com exceção da postura mantida a 35°C , onde não se verificou eclosão. Este procedimento foi repetido para a 3ª geração laboratorial ou seja, a fase não parasitária de duas gerações laboratoriais (2ª e 3ª) mantidas isoladamente nas temperaturas mencionadas acima (exceto para 35°C).

O experimento para verificar a influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária iniciou com fêmeas não ingurgitadas da 3ª geração laboratorial e teve continuidade com larvas e ninfas não ingurgitadas da 4ª geração.

Foram utilizados como hospedeiros para as fases parasitárias de larva, ninfa e adulto, coelhos domésticos (*O. cuniculus*) mestiços Califórnia X Nova Zelândia, de ambos os sexos, com idade compreendida entre 60 e 90 dias, com peso inicial de 1,5 a 2,1 kg, sem contato prévio com carrapatos e produtos acaricidas, provenientes do Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia da UFRRJ. Durante o período experimental, os animais foram mantidos no coelhário da EPPWON, em gaiolas individuais, sob condições ambientais de temperatura e umidade, recebendo ração comercial e água *ad libitum*.

Para a fase parasitária das fêmeas (3ª geração laboratorial), foram utilizados nove coelhos. Para cada temperatura de origem, três coelhos foram infestados segundo a técnica supracitada, recebendo cada coelho 30 casais de *H. leporispalustris* com aproximadamente 30 dias de jejum. Os dispositivos de infestação foram diariamente verificados e as fêmeas ingurgitadas coletadas no decorrer do período parasitário foram limpas com pincel de cerdas macias, contadas e pesadas individualmente em balança analítica BOSCH®, modelo SAE-200. Após este procedimento, as fêmeas foram acondicionadas em placas de Petri, fixadas em decúbito dorsal por meio de fita adesiva, identificadas e transferidas para as câmaras climáticas (18°C , 27°C e 32°C), respeitando-se a temperatura de origem (antes da alimentação). Os machos que permaneceram fixados após a queda das fêmeas ingurgitadas, foram retirados manualmente dos coelhos e imersos em álcool 70%.

A fase parasitária de larvas iniciou-se quando as larvas de 4ª geração, provenientes da postura das fêmeas mantidas nas

respectivas temperaturas, atingiram aproximadamente 20 dias de jejum. Para as infestações, foram utilizados nove coelhos, sendo três para cada temperatura de origem. Cada coelho foi infestado com larvas provenientes de 250 mg de ovos, aproximadamente 4000 larvas. Este número baseou-se nos resultados de Labruna et al. (1997) que estabeleceram ser de 16.667 o número de ovos de *H. leporispalustris* contidos em 1 (uma) g de ovos. A técnica de infestação foi a mesma descrita anteriormente. Diariamente, as larvas ingurgitadas recuperadas foram limpas e pesadas em balança analítica, na sua totalidade, de acordo com o coelho utilizado, para estabelecer o percentual de recuperação. Após este procedimento, formaram-se grupos de 50 indivíduos ingurgitados de acordo com o dia de recuperação, por coelho e por temperatura de origem. Estes grupos foram pesados, para estabelecer a relação do número de 50 indivíduos ingurgitados com o peso (FREITAS et al., 2000), comparando-os entre as diferentes temperaturas. Após a pesagem, as larvas ingurgitadas provenientes de cada temperatura de origem foram homogeneizadas, e acondicionadas em seringas plásticas com capacidade para 5 ml, com as extremidades anteriores cortadas e obstruídas por buchas de algodão, sendo transferidas para as respectivas temperaturas de origem, para dar continuidade ao ciclo biológico.

O procedimento para a avaliação da fase parasitária de ninfas de *H. leporispalustris* foi feito da mesma forma descrita para a fase parasitária das larvas, utilizando-se igualmente nove coelhos, sendo que cada coelho foi infestado com 1000 ninfas aproximadamente. Para se chegar a este valor, converteu-se o peso de larvas ingurgitadas em número, levando-se em consideração o percentual final de ecdise de ninfas (FREITAS et al., 2000). Os procedimentos de pesagem e acondicionamento foram idênticos àqueles realizados para as larvas ingurgitadas.

Os parâmetros avaliados foram: período parasitário de larvas, ninfas e fêmeas de *H. leporispalustris* (período compre-

endido entre o dia da infestação e o dia da recuperação de cada indivíduo ingurgitado), ritmo de recuperação (não acumulado) de indivíduos ingurgitados (percentual de indivíduos ingurgitados recuperados a cada dia de parasitismo), percentual de recuperação de indivíduos ingurgitados (quantidade de indivíduos recuperados em relação ao total de indivíduos utilizados na infestação de cada coelho), peso da fêmea ingurgitada, relação do peso com o número de larvas e de ninfas ingurgitadas (peso de grupos de 50 indivíduos ingurgitados).

O programa estatístico utilizado foi o INSTATÓ. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos (cada temperatura de manutenção), sendo a unidade experimental os carrapatos ingurgitados. Os dados obtidos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA), seguindo-se do teste de Tukey-Kramer. Quando os valores não obedeceram a uma distribuição normal (teste de Bartlett), os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis e Dunn foram empregados. Em todos os testes estatísticos utilizou-se o nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fase parasitária de fêmeas

Na Tabela 1 são apresentados os valores referentes ao período parasitário, percentual de recuperação e peso da fêmea ingurgitada. Sob 35°C não houve eclosão larval, razão pela qual a continuidade do ciclo foi analisada somente sob as temperaturas de 18, 27 e 32°C.

Houve diferença estatística entre os períodos parasitários nas três temperaturas ($p < 0,05$), com as fêmeas provenientes da temperatura de manutenção de 18°C apresentando período parasitário mais longo que o de fêmeas provenientes das outras duas temperaturas.

Tabela 1. Fase parasitária de fêmeas de *Haemaphysalis leporispalustris*, provenientes de três temperaturas de manutenção da fase não parasitária, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Variáveis		Temperaturas		
		18 ± 1°C	27 ± 1°C	32 ± 1°C
Período parasitário (dias)		86 16,24 ^a ± 1,18 13 – 19	82 13,51 ^c ± 1,28 11 – 15	71 13,98 ^b ± 1,05 11 – 15
Percentual de recuperação (%)	n	3 (coelhos)	3 (coelhos)	3 (coelhos)
	μ ± σ	95,56 ^a ± 3,85	91,11 ^{ab} ± 6,94	78,89 ^b ± 13,47
	Limites	93 – 100	83 – 97	67 – 93
Peso de fêmeas ingurgitadas (mg)		86 294,62 ^a ± 70,65 47,00 – 423,70	71 155,09 ^b ± 81,35 9,80 – 327,20	71 121,92 ^c ± 61,32 10,30 – 227,80

* Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si, com $\alpha = 5\%$. n = tamanho da amostra; μ = média aritmética; σ = desvio padrão da média; limites = valor mínimo e máximo, respectivamente.

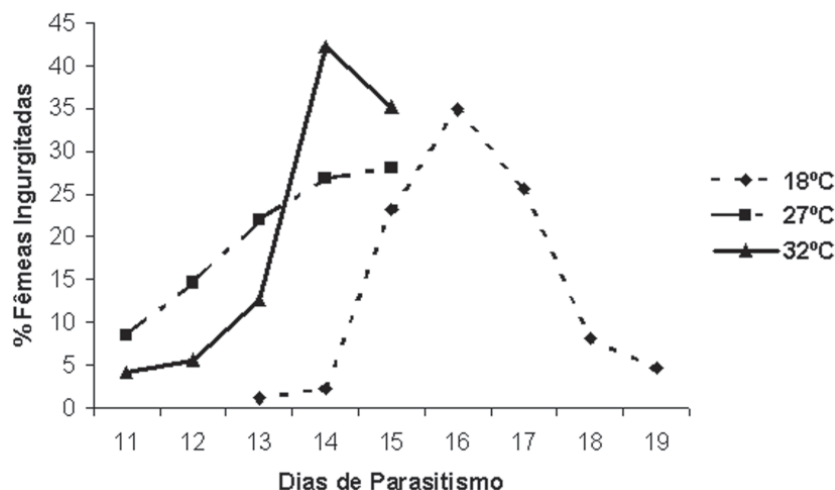


Figura 1. Ritmo de recuperação de fêmeas ingurgitadas de *Haemaphysalis leporispalustris* provenientes de coelhos infestados artificialmente, de acordo com a temperatura de manutenção da fase de vida livre antecedente ao parasitismo.

O ritmo de recuperação das fêmeas ingurgitadas pode ser acompanhado na Figura 1. Notam-se diferenças nos padrões de recuperação das fêmeas de acordo com a temperatura de origem. A 18°C, podemos observar o início relativamente tardio da recuperação das fêmeas, com período parasitário mínimo de 13 dias, o que representou um atraso de dois dias no início da recuperação, se comparado com 27 e 32°C. Consequentemente, o período parasitário máximo também foi afetado a 18°C, sendo prolongado por quatro dias, tomando-se por referência os limites encontrados nas outras temperaturas. As fêmeas ingurgitadas provenientes da temperatura de 18°C apresentaram um pico máximo de recuperação (dia modal) marcadamente no 16º dia de parasitismo, prolongando-se até o 19º dia. A 27°C, o ritmo de recuperação foi crescente, sem presença de um dia modal, até o 15º dia de parasitismo, aí terminando abruptamente. A 32°C ocorreu concentração da recuperação de indivíduos ingurgitados nos dias 14 (pico máximo) e 15 de parasitismo, terminando aí também a fase parasitária das fêmeas.

Estes resultados podem estar indicando que os carrapatos adultos provenientes de 18°C prolongaram o período parasitário devido à redução do metabolismo, que acarretaria uma diminuição nas taxas de alimentação, crescimento e desenvolvimento (BALASHOV, 1972). Os carrapatos provenientes das temperaturas de 27 e 32°C já se encontravam metabolicamente mais ativos e por isto os respectivos períodos parasitários foram próximos, com um ligeiro atraso para 32°C. Este atraso pode ser explicado em parte, pelo estresse metabólico a que foram submetidas às fêmeas e os machos jovens, para manter o equilíbrio hídrico pois segundo Davis (1974a,b) com a elevação da temperatura, ocorre mudança de estado de solidificação dos lipídios da epicutícula, aumentando a permeabilidade da cutícula, o que determina diminuição da resistência à dessecação. Esta alteração da homeostase pode

ter se refletido tanto nos processos de fixação e cópula, como também no ingurgitamento e excreção de água, íons e metabólitos.

Padrão de variação similar do período parasitário de fêmeas provenientes das diferentes temperaturas foi observado por Chacón et al. (2002) para a espécie *A. cajennense*. No presente estudo, observamos que fêmeas de *H. leporispalustris* provenientes da temperatura de 18°C, se comportaram de forma semelhante a *R. sanguineus* (BELLATO; DAEMON, 1997) e a *A. cajennense* (CHACÓN et al., 2002). Entretanto, Bellato e Daemon (1997) verificaram que não houve diferença ($p > 0,05$) quanto ao potencial biótico de fêmeas de *R. sanguineus* alocadas nas temperaturas de 27 e 32°C.

Em relação aos percentuais de recuperação das fêmeas ingurgitadas, (Tabela 1), verifica-se uma redução inversamente proporcional às temperaturas de manutenção, destacando-se a redução para as fêmeas provenientes de 32°C ($p < 0,05$) quando comparadas com aquelas originárias de 18°C.

Bellato e Daemon (1997) e Chacón et al. (2002) não encontraram diferenças significativas ($p > 0,05$) na recuperação de fêmeas de *R. sanguineus* e *A. cajennense* provenientes das temperaturas de 18, 27 ou 32°C de origem.

No que concerne ao peso da fêmea ingurgitada (Tabela 1), podemos verificar que o valor numérico desta variável foi decrescendo significativamente ($p < 0,05$) à medida que a temperatura de origem aumentava. Este fato pode ser explicado devido ao prolongado período parasitário que as fêmeas mantidas a 18°C apresentaram, levando a uma maior ingestão sanguínea. Fêmeas ingurgitadas mais leves foram obtidas quando, como fêmeas jovens, foram mantidas sob a temperatura de 32°C previamente ao parasitismo, sugerindo a sensibilidade de *H. leporispalustris* a esta temperatura, pois ocorreu prejuízo no processo de parasitismo. A não ocorrência de eclosão larval sob 35°C confirma o efeito deletério de temperaturas eleva-

Tabela 2. Fase parasitária de larvas de *Haemaphysalis leporispalustris*, provenientes de três temperaturas de manutenção da fase não parasitária, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Variáveis	Temperaturas		
	18 ± 1°C	27 ± 1°C	32 ± 1°C
	~ 5.291 (indivíduos)	~ 8.313 (indivíduos)	~ 1.435 (indivíduos)
Período parasitário (dias)	6,81 ^c ± 0,91	8,08 ^b ± 1,15	9,28 ^a ± 1,16
	5 – 9	6 – 11	7 – 12
	n		
	3 (coelhos)	3 (coelhos)	3 (coelhos)
Percentual de recuperação (%)	μ ± σ		
	47,55 ^{ab} ± 13,49	76,33 ^a ± 12,21	15,34 ^b ± 2,18
	Limites		
	35 – 64	62 – 90	13 – 18
Peso individual da larva ingurgitada (mg)	0,3648	0,2988	0,2850
Peso de 50 larvas ingurgitadas (mg)	68 (grupos)	92 (grupos)	17 (grupos)
	18,24 ^a ± 1,20	14,94 ^b ± 1,10	14,25 ^c ± 0,97
	16,00 – 21,30	11,90 – 17,70	12,60 – 15,60

* Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si, com $\alpha = 5\%$.

n = tamanho da amostra; μ = média aritmética; σ = desvio padrão da média; limites = valor mínimo e máximo, respectivamente.

das, sugerindo que a espécie está mais adaptada a regiões de temperaturas mais amenas.

Os resultados obtidos no presente trabalho contrastaram com aqueles obtidos por Bellato e Daemon (1997) para *R. sanguineus*. Estes autores verificaram que as fêmeas ingurgitadas mais leves eram provenientes de 18°C de origem ($p < 0,05$), quando comparadas às fêmeas oriundas de 27 e 32°C. Embora as médias de peso de fêmeas ingurgitadas não tenham diferido estatisticamente nas temperaturas 27 e 32°C ($p > 0,05$), os maiores pesos das fêmeas foram observados nas originadas em 27°C.

Semelhanças ($p > 0,05$) nos pesos de fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* provenientes tanto de 18 como de 27°C foram observadas por Chacón et al. (2002). Fêmeas ingurgitadas procedentes da temperatura de 32°C de origem, foram significativamente ($p < 0,05$) mais leves.

Estas diferenças na relação do peso da fêmea ingurgitada com a temperatura de manutenção da fase não parasitária podem estar demonstrando as peculiaridades que cada espécie possui em relação à sua resistência aos fatores abióticos e a seus requerimentos térmicos para reprodução e nutrição, pois segundo Obenchain e Galun (1982), a distribuição das diferentes espécies de carrapatos indica diferenças significativas em suas habilidades em manter o equilíbrio hídrico contra o poder evaporativo da atmosfera.

Mesmo estando parasitando um animal de sangue quente, a exposição prolongada a diferentes temperaturas ambientais durante a fase não-parasitária exerceu influência, de modo particular em cada espécie, sobre a fase de vida parasitária dos estágios adultos.

Fase parasitária de larvas

O período parasitário, percentual de recuperação, peso da larva ingurgitada e relação do peso com o número de 50 larvas

ingurgitadas de *H. leporispalustris* podem ser observados na Tabela 2. A temperatura de manutenção interferiu ($p < 0,05$) sobre todos os parâmetros avaliados. O ritmo de recuperação de larvas de *H. leporispalustris* está representado na Figura 2.

O percentual de recuperação de larvas ingurgitadas de *H. leporispalustris* apresentado (Tabela 2 e Figura 2), indica que houve prejuízo no êxito parasitário das larvas provenientes de 32°C, quando comparadas às procedentes de 27°C. Neste aspecto, as temperaturas de manutenção de 18 e 27°C foram as mais apropriadas para a continuação do ciclo biológico de *H. leporispalustris*, pois apresentaram os melhores percentuais de recuperação de indivíduos ingurgitados.

O ritmo de recuperação de larvas de *H. leporispalustris* (Figura 2) ilustra claramente estes padrões de parasitismo. Conforme podemos verificar, ocorreu um deslocamento nítido do período parasitário, retardando em um (1) dia de acordo com o aumento da temperatura ($p < 0,05$). Larvas oriundas de 32°C levaram de sete a 12 dias no ingurgitamento, com dia modal no nono dia de parasitismo. Ainda na Figura 2, observamos que seis a 11 dias foram requeridos pelas larvas provenientes de 27°C, sendo o oitavo dia o dia modal de queda de indivíduos ingurgitados. Para as larvas eclodidas em 18°C, cinco a nove dias foram suficientes para que estas concluíssem o processo parasitário, com recuperação equivalente nos dias cinco, seis e sete de parasitismo (Figura 2).

Tomando-se como referência à temperatura de manutenção de 27°C, que é a adotada como padrão nos experimentos com espécies que habitam áreas tropicais, seria de se supor que com o aumento da temperatura (32°C), os indivíduos levassem menos tempo nos seus processos de fixação e alimentação, devido ao metabolismo estar aumentado. Da mesma forma, na temperatura mais baixa (18°C) estes processos deveriam ser retardados, devido ao metabolismo estar diminuído, conforme o ocorrido com as fêmeas. O que pode estar

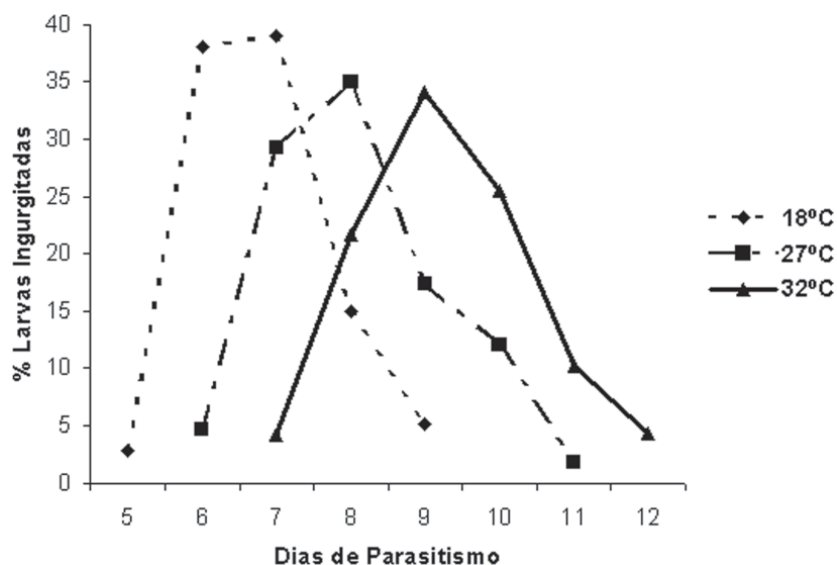


Figura 2. Ritmo de recuperação de larvas ingurgitadas de *Haemaphysalis leporispalustris* provenientes de coelhos infestados artificialmente, de acordo com a temperatura de manutenção da fase de vida livre antecedente ao parasitismo.

relacionado a esta aparente inversão seria o fato de que o estágio larval é mais suscetível à desidratação quando exposto a elevadas temperaturas que o estágio adulto, devido à espessura e composição das classes de lipídios cuticulares (DAVIS, 1974a,b). Com o aumento da temperatura de manutenção pode ter ocorrido um maior gasto de energia na conservação do equilíbrio hidroeletrólítico, esgotando as reservas nutritivas dos embriões e larvas não ingurgitadas, causando desta forma um retardamento no parasitismo das larvas provenientes de 32°C, devido à debilidade das mesmas. Por outro lado, ocorreu uma aceleração no período parasitário das larvas originadas a 18°C, indicando ser esta temperatura de manutenção favorável ao desenvolvimento neste estágio da vida de *H. leporispalustris*.

Em relação à influência da temperatura no período parasitário de larvas ingurgitadas de outros ixodídeos, poucas informações foram encontradas. Para *R. sanguineus* (BELLATO; DAEMON, 1997) a temperatura de 18°C inviabilizou a eclosão das larvas. O período parasitário das larvas mantidas a 32°C foi semelhante ao encontrado para as provenientes de 27°C. Para *A. cajennense* (CHACÓN et al., 2002), não houve continuidade do ciclo a 32°C e a 18°C, o percentual de eclosão de larvas foi muito baixo (3%) e as larvas que emergiram apresentaram-se debilitadas, inviabilizando o estudo da influência destas temperaturas sobre fase parasitária.

Bellato e Daemon (1997) observaram semelhanças nos percentuais de recuperação entre larvas de *R. sanguineus* originadas a 27°C e as procedentes de 32°C. O peso individual e

Tabela 3. Fase parasitária de ninfas de *Haemaphysalis leporispalustris*, provenientes de três temperaturas de manutenção da fase não parasitária, umidade relativa superior a 80% e escotofase.

Variáveis		Temperaturas		
		18 ± 1°C	27 ± 1°C	32 ± 1°C
Período parasitário (dias)		~ 2.123 (indivíduos) 8,12 ^b ± 1,53 6 – 14	~ 2.236 (indivíduos) 7,89 ^b ± 0,81 6 – 10	~ 483 (indivíduos) 8,22 ^a ± 0,74 6 – 9
Percentual de recuperação (%)	n	3 (coelhos)	3 (coelhos)	3 (coelhos)
	μ ± σ	64,51 ^a ± 15,98	70,45 ^a ± 13,00	59,66 ^a ± 10,10
	Limites	44 – 78	54 – 83	49 – 71
Peso individual da ninfa ingurgitada (mg)		1,642 41 (grupos)	1,469 45 (grupos)	1,104 9 (grupos)
Peso de 50 ninfas ingurgitadas (mg)		82,10 ^a ± 3,36 75,40 – 89,90	73,45 ^b ± 5,16 56,70 – 80,50	55,20 ^c ± 6,12 45,00 – 61,00

* Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem significativamente entre si, com α = 5%.

n = tamanho da amostra; μ = média aritmética; σ = desvio padrão da média; limites = valor mínimo e máximo, respectivamente.

a relação do peso com o número de larvas ingurgitadas *H. leporispalustris* provenientes das diferentes temperaturas estão apresentados na Tabela 2. Larvas criadas a 18°C apresentaram-se mais pesadas, tendo a média de peso alcançada diferido ($p < 0,05$) em relação às demais. Bellato e Daemon (1997) encontraram valores semelhantes ($p > 0,05$) para a média de peso individual de larvas ingurgitadas de *R. sanguineus* provenientes tanto de 27°C como de 32°C.

Podemos dizer que a temperatura de manutenção de 18°C mostrou-se apropriada na continuidade do ciclo biológico de *H. leporispalustris*, pois as larvas provenientes desta temperatura atingiram peso superior em um período parasitário menor, apresentando sucesso no parasitismo, expresso pelo percentual de recuperação, semelhante ($p > 0,05$) ao das larvas mantidas a 27°C. Já a temperatura de manutenção de 32°C exerceu efeito prejudicial no parasitismo de larvas, pois estas mesmo permanecendo por mais tempo sobre o hospedeiro não atingiram médias de peso elevadas, além de apresentarem baixo percentual de recuperação (15,34 %).

Fase parasitária de ninfas

O período parasitário, percentual de recuperação, peso da ninfa ingurgitada e relação do peso com o número de 50 ninfas ingurgitadas de *H. leporispalustris* podem ser observados na Tabela 3.

Embora as ninfas mantidas a 32°C tenham apresentado período parasitário mais longo ($P < 0,05$) que as demais ninfas provenientes de 18 e 27°C, os valores foram próximos entre si, sob o ponto de vista biológico, pois a variação máxima encontrada no período parasitário foi de 0,33 dia, ocorrendo entre

27°C (menor média) e 32°C (maior média). Neste caso, as ninfas seriam menos influenciadas pela temperatura que o estágio larval, provavelmente devido à maior espessura da cutícula das primeiras em relação às últimas. (DAVIS, 1974a,b).

Observando os limites do período parasitário (Tabela 3) e o ritmo parasitário de ninfas (Figura 3), notamos que a 18°C ocorreu um prolongamento do mesmo até o 14º dia de parasitismo e a 32°C ocorreu um encurtamento do mesmo para o dia nove de parasitismo, tomando-se como referência o período parasitário de ninfas de *H. leporispalustris* originadas a 27°C.

Bellato e Daemon (1997) observaram que, em *R. sanguineus*, o período parasitário das ninfas aumentava significativamente ($p < 0,05$) com a elevação da temperatura, sendo que a 18°C ninfas ingurgitadas foram recuperadas do terceiro ao sétimo dias de parasitismo, ocorrendo encurtamento no referido período. A 27 e 32°C o período parasitário variou do quarto ao oitavo dias, e as ninfas procedentes de 32°C apresentaram período parasitário mais longo que as demais. Chacón et al. (2002), observaram que ninfas de *A. cajennense* provenientes da temperatura de 18°C apresentaram período parasitário mais longo, seguindo-se das ninfas mantidas a 32°C, sendo que as ninfas provenientes de 27°C exibiram a menor duração para este período.

O percentual de recuperação das ninfas ingurgitadas de *H. leporispalustris* (Tabela 3) foi semelhante ($p > 0,05$) para as três temperaturas de manutenção avaliadas, sendo o maior percentual obtido naquelas procedentes de 27°C e o menor, de 32°C. Resultados semelhantes foram encontrados por Bellato e Daemon (1997) e por Chacón et al. (2002) para ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* e *A. cajennense*, respectivamente.

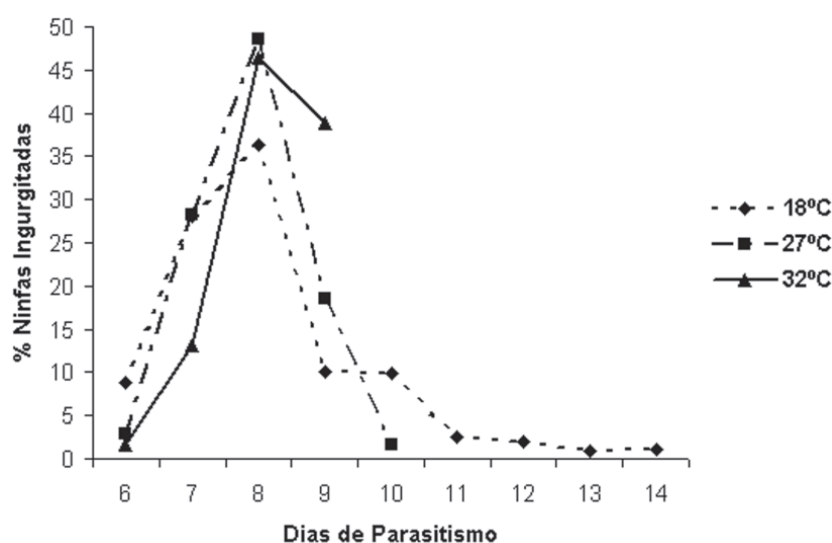


Figura 3. Ritmo de recuperação das ninfas ingurgitadas de *Haemaphysalis leporispalustris* provenientes de coelhos infestados artificialmente, de acordo com temperatura de manutenção da fase de vida livre antecedente ao parasitismo.

O peso e a relação do peso com o número de ninfas ingurgitadas de *H. leporispalustris* provenientes das temperaturas de manutenção de 18, 27 e 32°C estão apresentados na Tabela 3. Da mesma forma que foi observado para as larvas, as médias de peso foram decrescendo com o aumento da temperatura. Contudo, para as ninfas, as médias de peso foram bastante discrepantes ($p < 0,001$) entre todas as temperaturas. A maior média de peso foi alcançada por larvas ingurgitadas provenientes de 18°C e a menor média ficou com as larvas ingurgitadas oriundas de 32°C.

Conforme registrado por Bellato e Daemon (1997), os maiores pesos para ninfas ingurgitadas de *R. sanguineus* são procedentes da temperatura de 27°C, seguindo-se da temperatura de 32°C e, finalmente, pelas médias de peso atingidas pelas ninfas provenientes da temperatura de 18°C. Diferentemente, Chacón et al. (2002), encontraram médias semelhantes ($p > 0,05$) entre os pesos de ninfas ingurgitadas de *A. cajennense* procedentes de 18 e 27°C. A temperatura de manutenção de 32°C produziu ninfas ingurgitadas ($p < 0,05$) mais leves que as demais temperaturas.

Podemos dizer que a temperatura de manutenção de 18°C mostrou-se apropriada no desenvolvimento do ciclo biológico de ninfas de *H. leporispalustris* em laboratório, pois os indivíduos provenientes desta temperatura atingiram peso superior, em um período parasitário e percentual de recuperação semelhante ao dos indivíduos procedentes de 27°C. Já a temperatura de manutenção de 32°C exerceu efeito prejudicial ao parasitismo das ninfas, pois, da mesma forma que ocorreu com as larvas, estas permaneceram por mais tempo sobre o hospedeiro e ainda assim não atingiram médias de peso elevadas.

CONCLUSÕES

Considerando-se os objetivos propostos pelo presente estudo, a metodologia empregada e os resultados obtidos, podemos concluir que a temperatura de manutenção da fase não-parasitária de fêmeas, larvas e ninfas de *H. leporispalustris* exerceu influência sobre todos os parâmetros biológicos da fase parasitária dos respectivos instares, exceto sobre o percentual de recuperação de ninfas ingurgitadas. Os pesos alcançados pelas fêmeas, larvas e ninfas ingurgitadas de *H. leporispalustris* foram inversamente proporcionais às temperaturas de manutenção estudadas. A temperatura de manutenção de $18 \pm 1^\circ\text{C}$ foi a mais adequada para a continuidade do ciclo biológico de *H. leporispalustris* e a temperatura de manutenção de $32 \pm 1^\circ\text{C}$ é deletéria ao desenvolvimento de *H. leporispalustris*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAGÃO, H.; FONSECA, F. Notas de ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 59, n. 2, p. 115-129, 1961.
- BALASHOV, Y. S. Bloodsucking ticks (Ixodoidea) – vectors of diseases of man and animals. *Annals of Entomological Society of America*, v. 8, n. 5, p. 161-376, 1972.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária sobre a fase parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 15-19, 1997.
- CAMPBELL, A.; GLINES, M. V. Development, survival and oviposition of the rabbit tick *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard) (Acari: Ixodidae), at constant temperatures. *Journal of Parasitology*, v. 65, n. 5, p. 777-782, 1979.
- 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). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v. 9, n. 3, p. 158-163, 2002.
- DAVIS, M. T. B. Critical temperature and changes in cuticular lipids in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris*. *Journal of Insect Physiology*, v. 20, n. 6, p. 1087-1100, 1974a.
- DAVIS, M. T. B. Changes in critical temperature during nymphal and adult development in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae: Ixodidae). *Journal of Insect Physiology*, v. 20, n. 6, p. 1087-1100, 1974b.
- 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 entro o período de ingurgitamento ninfal e o sexo dos adultos de *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (Acari: Ixodidae) em condições experimentais. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 2, n. 2, p. 21-32, 2000.
- HOFFMAN, R. S. Ordem Lagomorpha. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. *Mammal species of the world. A taxonomic and geographical reference*. 2. ed. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1993. p. 807-827.
- HOOGSTRAAL, H.; KIM, K. C. Ticks and mammal coevolution, with emphasis on *Haemaphysalis*. In: _____. *Coevolution of Parasitic Arthropods and Mammals*. New York: John Wiley & Sons, 1985. p. 505-568.
- KOLLARS, T. M.; OLIVER Jr., J. H. Host associations and seasonal occurrence of *Haemaphysalis leporispalustris*, *Ixodes brunneus*, *I. cookei*, *I. dentatus* and *I. texanus* (Acari: Ixodidae) in southeastern Missouri. *Journal of Medical Entomology*, v. 40, n. 1, p. 103 – 107, 2003.
- LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R. Study of the weight of eggs from six ixodid species from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 92, n. 2, p. 205-207, 1997.

- MERTINS, J.W.; SCHLATER, J.L.; CORN, J.L. Ectoparasites of the blackbuck antelope (*Antilope cervicapra*). *Journal of Wildlife Diseases*, v. 28, n. 3, p. 481-484, 1992.
- NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215-224, 1971.
- OBENCHAIN, F.D.; GALUN, R. *Physiology of ticks*. New York: Pergamon Press, 1982. 509p.
- SONENSHINE, D.E.; CLIFFORD, C.M. Contrasting incidence of Rocky Mountain Spotted Fever in ticks infesting wild birds in Eastern U. S. Piedmont and Coastal areas, with notes on the ecology of these ticks. *Journal of Medical Entomology*, v. 10, n. 5, p. 497-502, 1973.

Recebido em 16 de agosto de 2004.

Aceito para publicação em 27 de outubro de 2004.