

# ESTUDO DAS FÓVEAS DORSAIS DE NINFAS E ADULTOS DE QUATRO ESPÉCIES DE CARRAPATOS (ACARI: IXODIDAE) POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

LÍGIA M. F. BORGES<sup>1</sup>; MÚCIO F.B. RIBEIRO<sup>2</sup>; KELLY A. BICALHO<sup>3</sup>; FABIENE FERREIRA<sup>4</sup>

**ABSTRACT:-** BORGES, L.M.F.; RIBEIRO, M.F.B.; BICALHO, K.A.; FERREIRA, F. [Study of foveae dorsales of nymphs and adults of four species of ticks (Acari: Ixodidae) by Scanning Electron Microscopy]. Estudo das foveas dorsais de ninfas e adultos de quatro espécies de carrapatos (Acari: Ixodidae) por Microscopia Eletrônica de Varredura. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 3, p. 89-96, 2006. Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (UFG), Cx. Postal 131, Goiânia, GO 74 001-970. E-mail: ligia@iptsp.ufg.br

The foveae dorsalis, the external opening of the sex pheromone 2,6-dichlorophenol producer gland, of *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* and *Rhipicephalus sanguineus* was studied with scanning electron microscopy. At least three specimens from each stage: unfed larvae, nymphs, females and males, and females fed for 4 to 6 days were examined. The foveae dorsales were not observed in larvae and *R. (B.) microplus* males. The foveae dorsales were observed as paired depressions, below the scutum in nymphs and females. In males they appeared as paired subtle elevations, located 2/3 of the way along the idiosoma. Generally the larger structures with a higher number of pores were observed in *A. cajennense*. Males and nymphs showed foveae dorsales of similar sizes but smaller than those of females. After feeding, secretions were observed in *D. nitens* and *A. cajennense* foveae dorsalis. In *R. sanguineus* and *R. (B.) microplus* this kind of secretion was not observed. An attempt to connect the appearance of foveae dorsalis with the role of 2,6-dichlorophenol in tick copula has been made. The occurrence of *D. nitens* females with three foveae dorsales was described.

**KEY WORDS:** *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, foveae dorsalis.

## RESUMO

A fóvea dorsal, abertura da glândula produtora do feromônio sexual 2,6-diclorofenol, de *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* e *Rhipicephalus sanguineus* foi estudada através de microscopia eletrônica de varredura. Foram examinados pelo menos três indivíduos de cada um dos seguintes estádios: larvas, ninfas, machos e fêmeas não alimentadas e fêmeas alimentadas por quatro a seis dias em coelhos. As foveas dorsais não foram

observadas nas larvas das espécies estudadas, nem em machos de *R. (B.) microplus*. Nas ninfas e fêmeas elas foram observadas como depressões pareadas, localizadas abaixo do escudo. Nos machos elas se localizavam a 2/3 do início do idiossoma e não eram tão evidentes quanto nas fêmeas. Geralmente, as maiores estruturas e com maior número de poros foram observadas em *A. cajennense*. Machos e ninfas apresentaram as foveas dorsais menores e com menos poros do que as fêmeas. Após a alimentação as foveas dorsais de *D. nitens* e *A. cajennense* apresentavam secreções, enquanto em *R. sanguineus* e *R. (B.) microplus* esta alteração não foi observada. Foi feita uma abordagem tentando associar o aspecto da fóvea dorsal após a alimentação e o papel do 2,6-diclorofenol na cópula do carrapato. Foi descrita, pela primeira vez, a ocorrência de três foveas dorsais em fêmeas de *D. nitens*.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Amblyomma cajennense*, *Dermacentor nitens*, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*, *Rhipicephalus sanguineus*, fóvea dorsal.

<sup>1</sup> Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (UFG), Cx. Postal 131, Goiânia, GO 74 001-970. E-mail: ligia@iptsp.ufg.br

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG.

<sup>3</sup> Biotério de Produção do Centro de Pesquisas René Rachou / FIOCRUZ

<sup>4</sup> Curso de Pós-graduação em Ciência Animal, UFGM

## INTRODUÇÃO

As foveas dorsais, aberturas externas das glândulas foveais, são estruturas pareadas, subcirculares, com poros nas fêmeas e localizadas dorsalmente, aproximadamente na metade do idiossoma. (LAYTON; SONENSHINE, 1975; VERNICK et al., 1978; AXTELL; LEFURGEY, 1979; SONENSHINE et al., 1981). Sua função na produção do feromônio sexual de carrapatos, 2,6-diclorofenol é bem conhecida. Os primeiros estudos realizados por Sonenshine et al. (1974) em *Dermacentor variabilis* (Say) e *D. andersoni* (Stiles) indicaram que a liberação deste feromônio ocorria próxima à região da fovea dorsal. Evidências histológicas nestas mesmas espécies, além de *Amblyomma americanum* (Linnaeus) e *A. maculatum* (Koch), demonstraram a existência de um par de glândulas associadas às foveas dorsais. Estas glândulas aumentam de tamanho durante a alimentação, de acordo com o desenvolvimento da atratividade da fêmea (LAYTON; SONENSHINE, 1975). Posteriormente, Sonenshine et al. (1981) confirmaram que as glândulas foveais armazenam e liberam o 2,6-diclorofenol em *D. andersoni* e que elas passam por um ciclo de desenvolvimento em *Hyalomma dromedarii* (Koch), que acompanha a maturação, alimentação e o ciclo reprodutivo das fêmeas (SONENSHINE et al., 1983).

Desde o estudo inicial conduzido por Berger (1972) que identificou e descreveu o papel do 2,6-diclorofenol na cópula de *A. americanum*, a participação deste composto na cópula de outros carrapatos tem sido investigada. Atualmente, sabe-se que o 2,6-diclorofenol atua como feromônio sexual de atração e de monta em *Dermacentor nitens* (Neumann) (BORGES et al., 2002) e de atração em *D. andersoni* e *D. variabilis* (GORDON et al., 1988). O papel deste feromônio na cópula de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* é controverso. Bruyne e Guerin (1994) não observaram atração nem reconhecimento de manequins (pérolas de vidro, simulando as fêmeas) tratados com este composto, entretanto Cardoso et al. (2000) observaram atração, mas não reconhecimento dos septos tratados com 2,6-diclorofenol, embora a atração tenha sido bem menor do que aquela observada em *D. nitens* (BORGES et al., 2002). Como ocorre esta variação no papel desempenhado pelo 2,6-diclorofenol na cópula, é sugerido que ela seja refletida na morfologia externa da fovea dorsal. As espécies mais comuns de carrapatos encontradas nos animais domésticos do Brasil são *R. sanguineus* (Latreille), *R. (B.) microplus*, *A. cajennense* (Fabricius) e *D. nitens* e sabe-se que em todas ocorre a produção de 2,6-diclorofenol (CHOW et al., 1975; BRUYNE; GUERIN, 1994; BORGES et al., 2002). O objetivo deste estudo foi descrever, através da microscopia eletrônica de varredura, a fovea dorsal de larvas, ninfas, machos e fêmeas (alimentadas e não alimentadas) destas quatro espécies de carrapatos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas de carrapatos foram coletadas em seus hospedeiros naturais: *D. nitens* e *A.*

*cajennense* em eqüinos, *R. (B.) microplus* em bovinos, e *R. sanguineus* em cães. Larvas e ninfas foram mantidas em estufa BOD em condições controladas (temperatura = 27°C e umidade relativa > 80%) até a ecdise e as fêmeas até o final da oviposição. Em seguida, os ovos foram igualmente incubados até a eclosão. Larvas, ninfas, fêmeas e machos não alimentados, e fêmeas alimentadas em coelhos (*Oryctolagus cuniculi*) por quatro a seis dias, foram usados no estudo de microscopia eletrônica de varredura.

Os espécimes foram mortos em água quente (70 a 80°C) e fixados em etanol a 70%. Eles foram limpos em um banho de ultra-som (Branson Ultrasonic Cleaner Mod. B 2200) por quatro minutos e desidratados em série alcoólica (70, 80, 90 e 100% por 30 minutos). Os espécimes desidratados foram cobertos com ouro (BAF-300-BALZERS) e examinados ao microscópio eletrônico de varredura (DSM 950-Zeiss). Pelo menos três indivíduos de cada estágio foram examinados para cada espécie.

## RESULTADOS

A fovea dorsal não foi observada nas larvas de nenhuma espécie estudada. Desde o estágio de ninfa, em todas as quatro espécies examinadas, esta estrutura foi observada, com exceção dos machos de *R. (B.) microplus*. As foveas dorsais foram observadas como depressões pareadas, abaixo do escudo nas ninfas e fêmeas e nos machos como sutis elevações, também pareadas e localizadas a 2/3 do início do idiossoma.

Machos e ninfas apresentaram as foveas dorsais de tamanhos similares, mas menores do que aquelas das fêmeas. Geralmente as maiores estruturas foram observadas em ninfas e fêmeas de *A. cajennense* (Tabela 1). Nas espécies examinadas, o número de poros foi crescente de ninfas para machos e destes para as fêmeas. O número destas aberturas foi também variável de acordo com a espécie. Em fêmeas, maior quantidade de poros foi observada em *R.*

Tabela 1. Medida do diâmetro (µm) da fovea dorsal de três espécimens de ninfas, machos e fêmeas de carrapatos.

Espécie	Estádio			
	Ninfa	Macho	Fêmea não alimentada	Fêmea alimentada
<i>Dermacentor nitens</i>	17	26	51	52
	22	31	52	61
	25	34	60	73
<i>Amblyomma cajennense</i>	22	22	67	54
	31	23	85	68
	34	38	87	83
<i>Rhipicephalus (B.) microplus</i>	10	-	27	28
	13		30	32
	15		37	37
<i>R. sanguineus</i>	11	13	54	37
	15	18	58	41
	16	19	59	46





Figura 1. Fôvea dorsal de ninfas de: a) *Dermacentor nitens* (1600x), b) *Amblyomma cajennense* (2100x), c) *Rhipicephalus sanguineus* (3000x) e d) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (5250x). MEV

*sanguineus* e *A. cajennense*. Entretanto, *D. nitens* apresentou os maiores e mais evidentes poros. Tanto ninfas quanto machos de *R. sanguineus* e *D. nitens* apresentaram um número similar de aberturas sendo este número menor do que em *A. cajennense* e *R. (B.) microplus* (Fig. 1a,b,c,d; 2a,b,c; 3a,b,c,d).

O aspecto das fôveas dorsais foi variável após a alimentação das fêmeas. A presença de secreções pode ser observada com bastante evidência em *D. nitens* (Fig. 4a) e mais sutil em *A. cajennense* (Fig. 4b). Em *R. sanguineus* (Fig. 4c) e

*R. (B.) microplus* (Fig. 4d) não foi observado este tipo de secreção.

Devido à observação, através de microscopia eletrônica de varredura, de fêmeas de *D. nitens* com três fôveas dorsais (Fig. 5a e b), 95 fêmeas foram examinadas através de um microscópio estereoscópico para determinar a prevalência deste tipo de alteração. Três fôveas dorsais foram observadas em 23 (24%) do total de indivíduos examinados. Este tipo de anomalia não foi detectado nas outras espécies de ixodídeos investigadas no presente estudo.



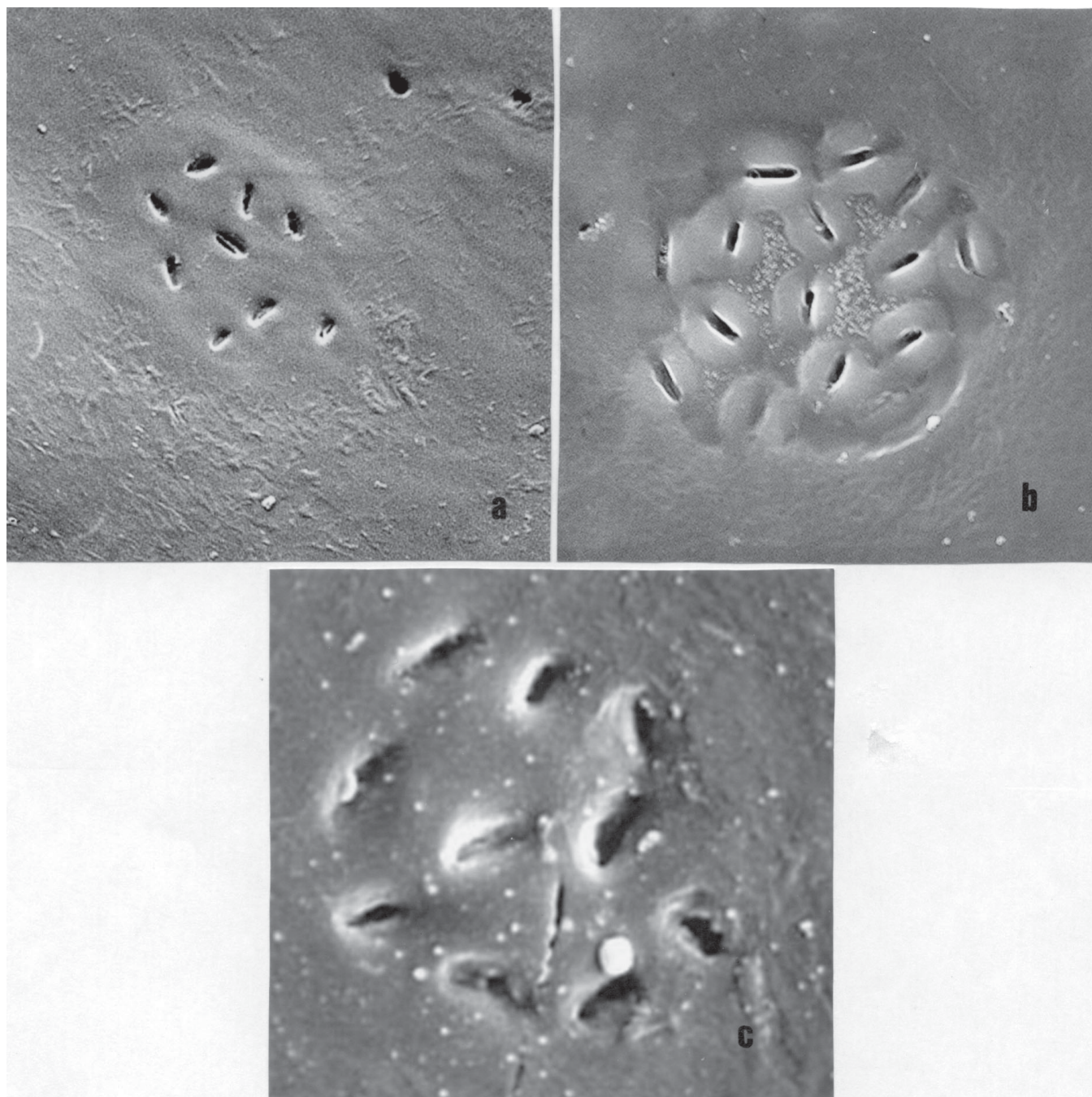


Figura 2. Fóvea dorsal de machos de: a) *Dermacentor nitens* (940X), b) *Amblyomma cajennense* (2200x) e c) *Rhipicephalus sanguineus* (4500x). MEV

### DISCUSSÃO

Assim como observado no presente trabalho, a localização das fóveas dorsais, o maior tamanho e maior quantidade de aberturas nas fêmeas do que nos machos foi também descrito em diversas espécies de carrapatos, tais como *D. variabilis*, *D. andersoni* (LAYTON; SONENSHINE, 1975; AXTELL; LEFURGEY, 1979), *A. americanum*, *A. maculatum* (AXTELL; LEFURGEY, 1979) e *R. appendiculatus* (Neumann) (WALKER et al., 1996). É provável que os machos de *R. (B.) microplus* tenham a glândula foveal, uma vez que Bruyne e

Guerin (1994) determinaram a produção de 2,6-diclorofenol por este estágio. O não encontro desta estrutura neste estágio pode ser devido ao seu tamanho, pois ninfas e fêmeas desta espécie tinham as menores fóveas dorsais e também porque nos machos as fóveas não são tão evidentes quanto nas fêmeas (AXTELL; LEFURGEY, 1979). Fóveas dorsais foram descritas em ninfas de *R. appendiculatus* (WALKER et al., 1996). Embora não se tenha observado a presença de fóveas dorsais nas larvas examinadas, estas estruturas foram observadas por Clifford et al. (1961), Klompen et al. (1996)



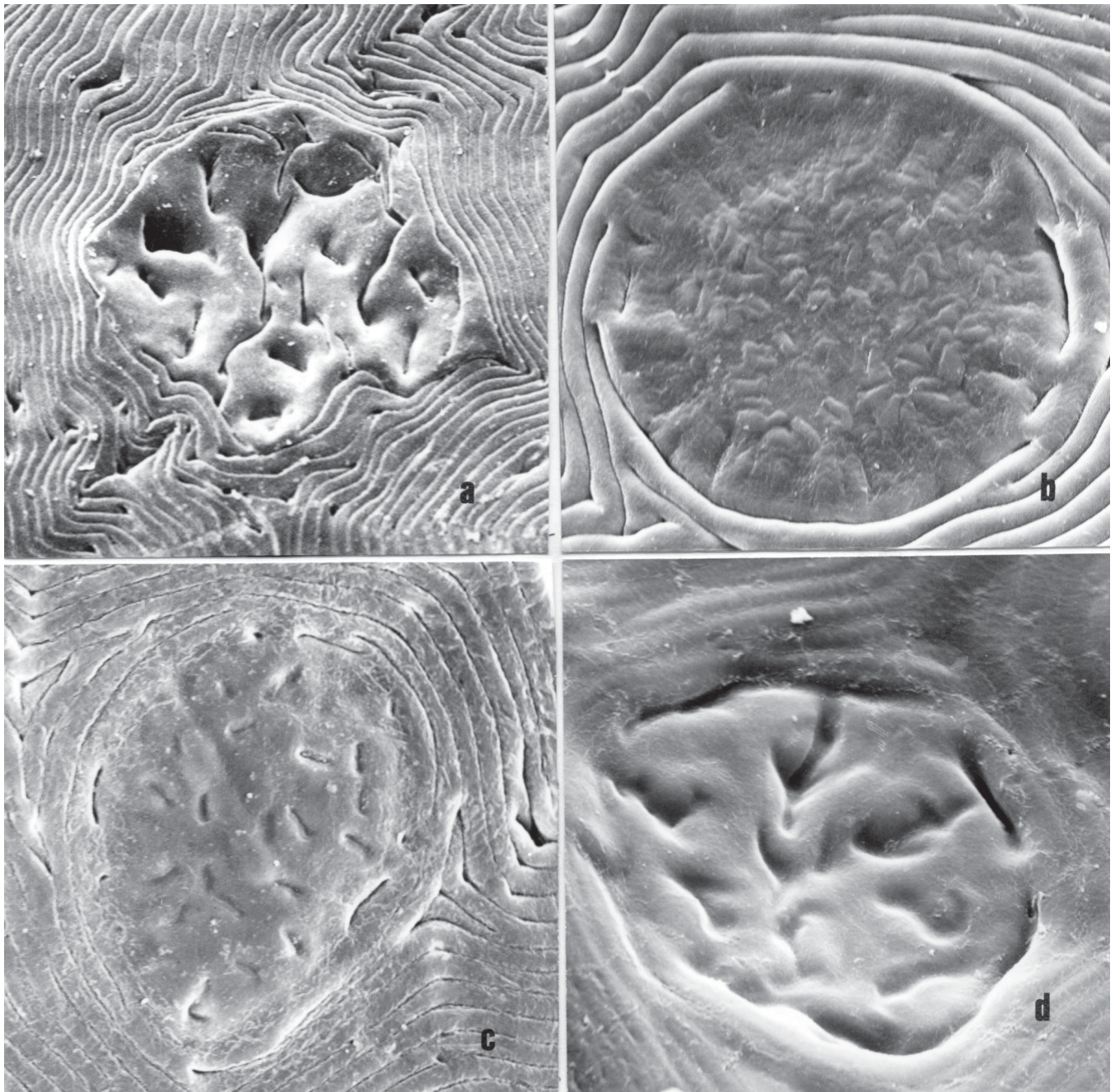


Figura 3. Fôvea dorsal de fêmeas não alimentadas de: a) *Dermacentor nitens* (1000x), b) *Amblyomma cajennense* (820x), c) *Rhipicephalus sanguineus* (1100x) e d) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (2430x). MEV

e Famadas et al. (1997) em larvas de diversas espécies de Ixodidae, com uma única fenda localizada logo abaixo do escudo.

Todavia a ocorrência de 2,6-diclorofenol seja comum em carrapatos, pois este composto já foi identificado em 17 espécies e 7 gêneros diferentes (SONENSHINE, 1985, BRUYNE; GUERIN, 1994, BORGES et al., 2002), sua participação na cópula varia conforme a espécie estudada. Por exemplo, em *D. nitens* 2,6-diclorofenol atua como feromônio sexual de atração e de monta (BORGES et al., 2002). Nesta

espécie foram observadas secreções na fôvea dorsal. Além disto, é importante ressaltar que fêmeas de *D. nitens* submetidas ao processo de extração de feromônios sexuais, mas que ainda tinham traços de secreção (Fig. 5c), não perderam sua capacidade de serem reconhecidas pelos machos, mas aquelas que ficaram com as fôveas limpas (Fig. 5d) não foram reconhecidas. Em *D. variabilis* e *D. andersoni*, o 2,6-diclorofenol atua somente como feromônio sexual de atração e nestas espécies este tipo de secreção nunca foi reportado (LAYTON; SONENSHINE, 1975;



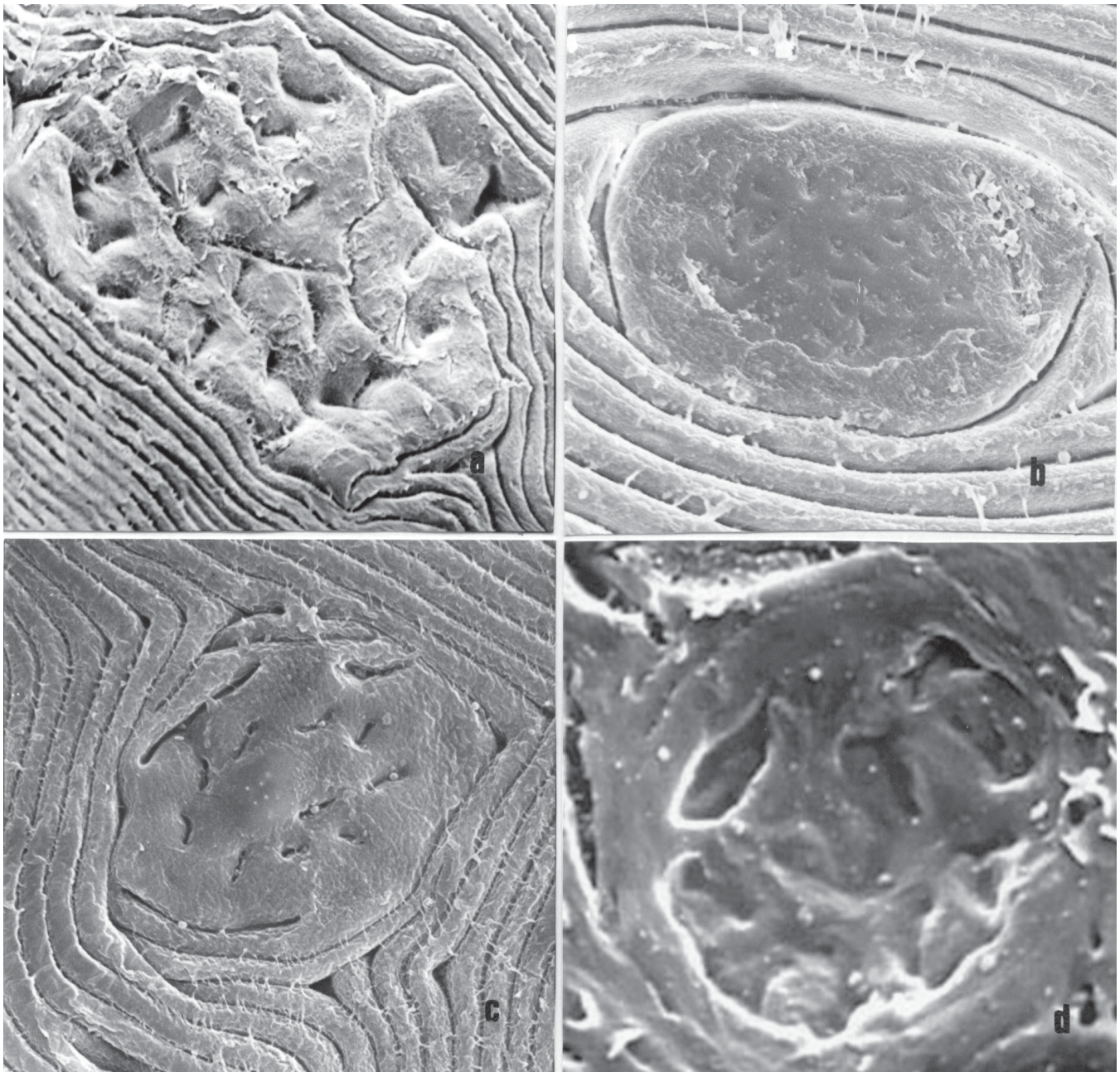


Figura 4. Fóvea dorsal de fêmeas alimentadas de: a) *Dermacentor nitens* (920x), b) *Amblyomma cajennense* (870x), c) *Rhipicephalus sanguineus* (1160x) e d) *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (2450x). MEV

VERNICK et al., 1978; AXTELL; LEFURGEY, 1979; SONENSHINE et al., 1981).

A atuação do 2,6-diclorofenol na cópula de *R. (B.) microplus* é controversa. BRUYNE; GUERIN (1994) não observaram atração nem reconhecimento de manequins tratados com este composto pelos machos, mas Cardoso et al. (2000) verificaram atração, embora bem menor do que aquela observada em *D. nitens* (BORGES et al., 2002). Mas assim como Bruyne e Guerin (1994), Cardoso et al. (2000) também não evidenciaram reconhecimento dos septos tratados, papel este que é desempenhado pelo feromônio sexual de monta. Estas observações parecem justificar o encontro da fóvea dorsal aparentemente sem secreções.

Não existem ensaios biológicos sobre o papel do 2,6-diclorofenol na cópula de *R. sanguineus* e *A. cajennense* que subsidiem este tipo de comparação.

Neste trabalho foi observada, pela primeira vez, a ocorrência de três fóveas dorsais em carrapatos. Além desta anomalia não ter sido reportada na literatura, *D. nitens* foi a única espécie das quatro examinadas com este tipo de alteração. Apesar da alta ocorrência não se pode inferir se ela apresenta qualquer adaptação fisiológica para esta espécie de carrapato.

**Agradecimentos:-** Os autores agradecem ao Centro de Microscopia Eletrônica (CEMEL) do ICB/UFMG pela cessão



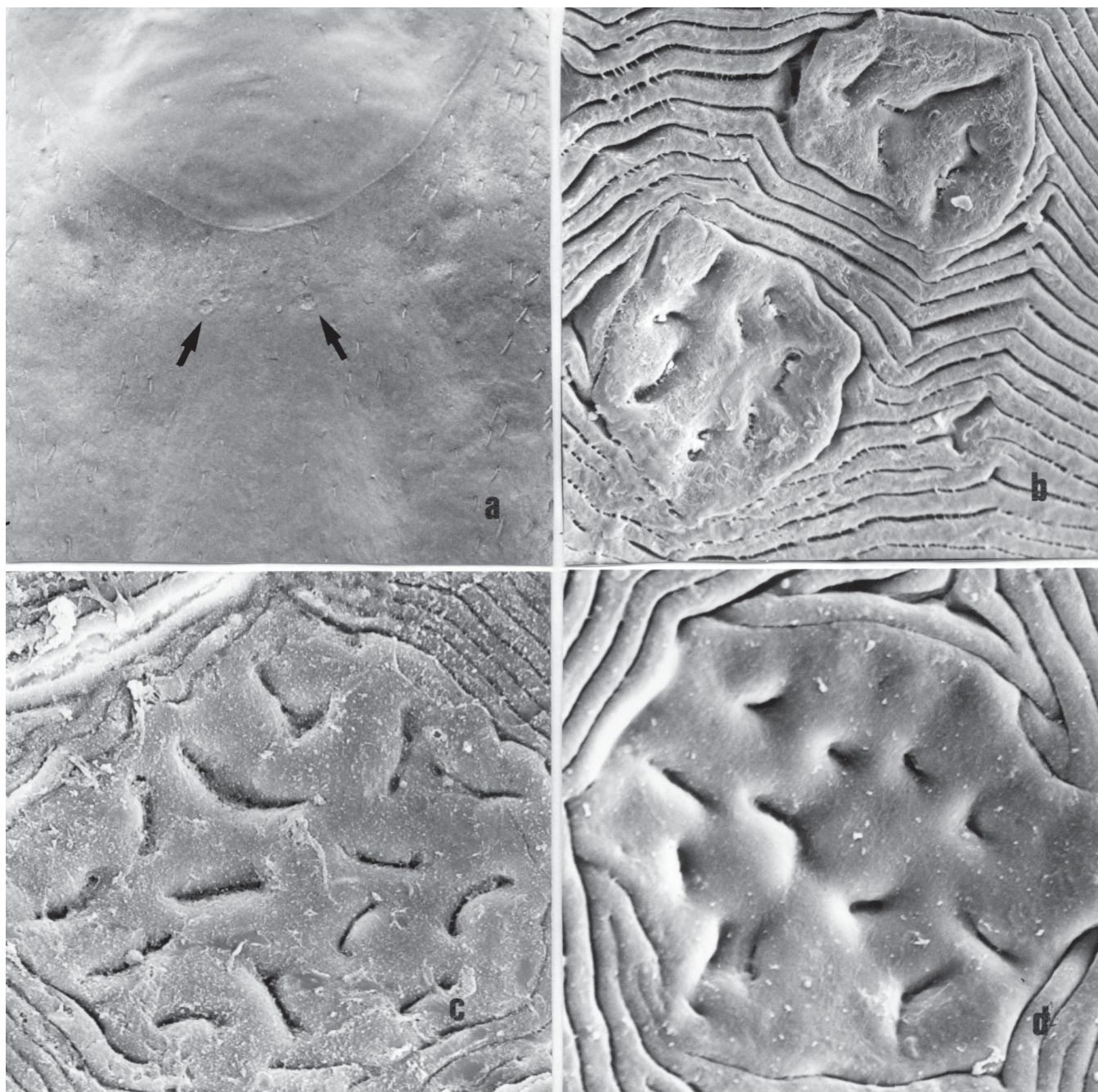


Figura 5. Fôvea dorsal de fêmeas de *Dermacentor nitens*: a) fêmea com três fôveas, sendo duas à esquerda e uma à direita (56x), b) Detalhe das duas fôveas à esquerda mostradas na figura anterior (780x), c) fêmea atrativa para os machos após tentativa de extração de feromônios sexuais (1220x) e d) fêmea não atrativa para os machos após a extração dos feromônios sexuais (1170x). MEV

dos equipamentos e à técnica Ivete Bozzi pela ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AXTELL, R.C.; LEFURGEY, A. Comparisons of the foveae dorsales in male and female ixodid ticks *Amblyomma americanum*, *A. maculatum*, *Dermacentor andersoni* and *D. variabilis* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 16, n. 3, p. 173-179, 1979.
- BERGER, R.S. 2,6-dichlorophenol, sex pheromone of the lone star tick. *Science*, v. 177, n. 4050, p. 704-705, 1972.
- BORGES, L.M.F.; EIRAS, A.E.; FERRI, P.H.; LÔBO, A.C.C. The role of 2,6-dichlorophenol as sex pheromone of the tropical horse tick *Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, v. 27, n. 3, p. 223-230, 2002.
- BRUYNE, M.; GUERIN, P.M. Isolation of 2,6-dichlorophenol from the cattle tick *Boophilus microplus*: receptor cell

- responses but no evidence for a behavioral response. *Journal of Insect Physiology*, v. 40, n. 2, p. 143-154, 1994.
- CARDOSO, V.A.; BORGES, L.M.F.; EIRAS, A.E. 2,6-dichlorophenol as attractant sex pheromone of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). In: ANNUAL MEETING OF THE INTERNATIONAL SOCIETY OF CHEMICAL ECOLOGY, 17<sup>th</sup>, 2000, Poços de Caldas. Anais...2000. p. PO43.
- CHOW, Y.S.; WANG, C.B.; LIN, L.C. Identification of a sex pheromone of the female brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 68, p. 485-488, 1975.
- CLIFFORD, C.M.; ANASTOS, G.; ELBL. The larval ixodid ticks of the Eastern United States (Acarina: Ixodidae). *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America*, v. 2, n. 3, p. 213-237, 1961.
- FAMADAS, K.M.; SERRA-FREIRE, N.M.; LANFREDI, R.M. Redescription of the larva of *Amblyomma cajennense* (Fabricius) (Acari: Ixodidae) using optical and scanning electron microscopy. *Acarologia*, v. 38, n. 2, p. 101-109, 1997.
- GORDON, J.; HAMILTON, C.; SONENSHINE, D.E. Evidence for occurrence of mounting sex pheromone on body surface of female *Dermacentor variabilis* (Say) and *Dermacentor andersoni* (Stiles) (Acari: Ixodidae). *Journal of Chemical Ecology*, v. 14, n. 1, p. 401-410, 1988.
- KLOMPEN, J.S.H.; KEIRANS, J.E.; FILIPOVA, N.A.; OLIVER, J.H. Idiossal lyrifissures, setae, and small glands as taxonomic characters and potential indicators of ancestral segmentation patterns in larval Ixodidae (Acari: Ixodidae). *International Journal of Acarology*, v. 22, p. 113-134, 1996.
- LAYTON, E.C.; SONENSHINE, D.E. Description of a gland associated with the foveae dorsales in 2 species of *Dermacentor* ticks, and its possible role in sex pheromone activity (Metastigmata: Ixodidae) *Journal of Medical Entomology*, v. 12, n. 3, p. 287-295, 1975.
- SONENSHINE, D.E. Pheromones and other semiochemicals of the Acari. *Annual Review of Entomology*, v. 30, p. 1-28, 1985.
- SONENSHINE, D.B.; SILVERSTEIN, R.M.; LAYTON, E.C.; HOMSHER, P.J. Evidence for the existence of a sex pheromone in 2 species of ixodid ticks (Metastigmata: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 11, n. 3, p. 307-315, 1974.
- SONENSHINE, D.E., HOMSHER, P.J., VANDEBERG, J.S., DAWSON, D. Fine structure of the foveae dorsales of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say). *Journal of Parasitology*, v. 67, n. 5, p. 627-646, 1981.
- SONENSHINE, D.E.; KHALIL, G.M.; HOMSHER, P.J.; DEES, W.H.; CARSON, K.A.; WANG, V. Development, ultrastructure, and activity of the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acari: Ixodidae). 2. Maturation and pheromone activity. *Journal of Medical Entomology*, v. 20, n. 4, p. 424-439, 1983.
- WALKER, A.R.; LLOYD, C.M.; MCGUIRE, K.; HARRISON, S.J.; HAMILTON, J.G.C. Integumental glands of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* (Acari: Ixodidae) as potential producers of semiochemicals. *Journal of Medical Entomology*, v. 33, n. 5, p. 743-759, 1996.
- VERNICK, S.H.; THOMPSON, S.; SONENSHINE, D.E.; COLLINS, L.A., SAUNDERS, M.; HOMSHER, P.J. Ultrastructure of the foveal glands of the ticks, *Dermacentor andersoni* Stiles and *D. variabilis* (Say). *Journal of Parasitology*, v. 64, n. 3, p. 515-523, 1978.

Recebido em 20 de abril de 2005.

Aceito para publicação em 23 de agosto de 2006.