

EFEITO DE DIFERENTES AMOSTRAS DE *Babesia bovis* (BABES, 1888) EM CARRAPATOS *Boophilus microplus* (CANESTRINI, 1887)*

JAIRO D. BARREIRA¹; MARIA INÊS D. ROSSI²; FABIANO A. PIRES³;
GIL V.O. DA SILVA⁴; CARLOS L. MASSARD⁵

ABSTRACT:- BARREIRA, J.D.; ROSSI, M.I.D.; PIRES, F.A.; SILVA, G.V.O. DA; MASSARD, C.L. [The effect of different strains *Babesia bovis* (Babes, 1888) on tick of *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887).] Efeito de diferentes amostras de *Babesia bovis* (Babes, 1888) em carrapatos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 4, p. 138-142, 2006. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000, Brazil. E-mail: jaiobarreira@bol.com.br

Two samples (modified and no- modified) of *Babesia bovis*, were used to evaluate the effect on engorged females of *Boophilus microplus* *Babesia* spp- free. For so much, were used three holstein breed bovine, males with 6 months of age, (BH1, BH2 and BH3), coming of the Plateau of Itatiaia, Rio de Janeiro, Brazil. Each calf was infested with 0.2 g of *B. microplus* larvae *Babesia* spp- free, for 10 consecutive days. They were inoculated in the calves BH1 and BH2, modified and no modified sample, respectively. After natural fall of adults ticks from the vertebrate host, 100 engorged females of each host (BH1, BH2 and BH3) were incubated in BOD, with superior Relative Humidity up 80%, Temperature of 28°C, were appraised daily until the 12th day post incubation (dpi.). In the group of the engorged females obtained of calf BH1, infection of ticks was not observed, to the haemolymph exam and oviposture. The sporokinets absence in these samples was related with the successive passages in splenectomized calves and the criopreservation of the sample. In engorged females from BH2 it was observed rates of infection of 100% and 82% of mortality in 7th d.p.i. and 100% until 12nd dpi., as the oviposture, 70% did not make oviposition and 30% made it until 7th dpi.

KEY WORDS: *Babesia bovis* and *Boophilus microplus*.

RESUMO

Duas amostras (modificada e não-modificada) de *Babesia bovis*, foram utilizadas na avaliação do efeito sobre fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* livres de *Babesia* spp. Para tanto foram utilizados três bovinos holandeses, machos com 6 meses de idade (BH1, BH2 e BH3), provenientes do Planalto do Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil. Cada bezerro foi

infestado com 0,2 g de larvas livres de *B. bovis*, por 10 dias consecutivos. Foram inoculadas nos bezerros BH1 e BH2, cepas modificada e não modificada, respectivamente. Após os carrapatos adultos desprenderem-se naturalmente dos hospedeiros vertebrados 100 fêmeas ingurgitadas proveniente de cada hospedeiro (BH1, BH2 e BH3) foram incubadas em BOD., com Umidade Relativa superior a 80%, Temperatura de 28°C, sendo avaliadas diariamente até o 12º dia pós-incubação (dpi.). No grupo das fêmeas ingurgitadas obtidas do bezerro BH1, não se observou infecção dos carrapatos ao exame de hemolinfa e ovipostura. A ausência de esporocinetos nestas amostras foi relacionada com as sucessivas passagens em bezerros esplenectomizados e a criopreservação da amostra. No grupo das fêmeas ingurgitadas, oriundas do bezerro BH2, observou-se taxa de infecção de 100% e 82% de mortalidade no 7º dpi. e 100% até o 12º dpi., quanto a ovipostura, 70% não ovipositaram e 30% o fizeram até o 7º dpi.

PALAVRAS-CHAVE: *Babesia bovis*, *Boophilus microplus*.

* Sob auspícios da CAPES/PROEX.

¹Rua Venâncio Veloso, 35, aptº 102, Recreio dos Bandeirantes, Rio de Janeiro, RJ 22790-420. E-mail: jaiobarreira@bol.com.br

²Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica, FIOCRUZ, RJ, Brasil. E-mail: midoria@uol.com.br

³Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Bolsista CNPq, e-mail: fapvet@yahoo.com.br

⁴CPGCV, UFRRJ, Bolsista PROCAD/CAPES. E-mail: gilsilva75@yahoo.com.br

⁵Departamento de Parasitologia Veterinária, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23890-000 Brasil. E-mail: carlosmassard@ufrj.br.

INTRODUÇÃO

O primeiro registro envolvendo carrapatos na distribuição e transmissão dos protozoários do gênero *Babesia* foi estabelecida por Smith e Kilborne, 1893 ao caracterizar a participação de *Boophilus annulatus* (Say, 1821) na transmissão de *Babesia bigemina* para bovinos na região do Texas, EUA. No entanto, esta observação foi confirmada por Koch (1906) a partir de dados referindo-se a biologia e presença de estruturas de aspectos claviformes destes parasitos nas amostras de conteúdo intestinal e hemolinfa colhidas de carrapatos *Rhipicephalus evertsi* (Neumann, 1897) e *Boophilus australis* (Fuller, 1758). Resultados citados na literatura têm indicado que a presença destes protozoários e o seu mecanismo de evolução determinam lesões nos diferentes órgãos do carrapato vetor, alterando o tempo de vida e o seu potencial reprodutivo e/ou causando a sua morte (OUHELLI et al., 1987; GUGLIELMONE et al., 1996; GUGLIELMONE et al., 1997). Valores conflitantes foram apresentados por Riek (1966), Gray (1982), De Vós et al. (1989), Barreira (2001) sobre a taxa de infecção e mortalidade de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus*, quando infectadas naturalmente e experimentalmente com amostras de *Babesia* spp. Considerando os diferentes resultados encontrados na literatura sobre o comportamento de *Babesia* spp. nos respectivos vetores, tornou-se necessário desenvolver um experimento cujos objetivos fossem conhecer os efeitos de amostras modificada e não modificada de *B. bovis* sobre a taxa de infecção e de mortalidade das fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*.

MATERIALE MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido nos laboratórios de protozoologia da estação para pesquisa parasitológica W.O. Neitz, Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ. Para tanto foram utilizados três bezerros (BH1, BH2 e BH3) da raça Holandesa, machos, sensíveis, livres de infecção por hemoparasitos, mantidos em baias individuais em condições de isolamento. Os animais foram considerados livres de hemoparasitos a partir de resultados negativos encontrados nos exames de esfregaços sangüíneos e sorológicos. As provas sorológicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Veterinária da UNESP, Campus Jaboticabal, SP.

As larvas não infectadas utilizadas no experimento foram obtidas das amostras de ovos do primeiro e segundo dia de postura colhidas de fêmeas ingurgitadas comprovadamente negativas a partir de exame de hemolinfa. Os ovos foram pesados em balança, separados em amostras de 0,2 g e mantidos em condições experimentais de acordo com os critérios adotados por Neitz et al. (1971) e Benett (1974). Para comprovar a ausência de parasitos do gênero *Babesia* foram realizados exames das amostras de ovos e após eclosão, as larvas foram utilizadas para infestação de hospedeiro sensível (BARREIRA et al., 2005).

As amostras de *B. bovis* modificadas foram isoladas no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor, RS e utilizadas para inocular os animais do experimento após a 12ª passagem em animais sensíveis

Os grupos de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* infectadas foram obtidas a partir de bezerros infestados por 10 dias alternados com aproximadamente 4000 larvas livres de *Babesia* spp. Após o aparecimento das primeiras fêmeas ingurgitadas, os bezerros BH1 e BH2 foram inoculados com 10 ml de cada amostra de *B. bovis*, modificada e não modificada, respectivamente. As fêmeas que constituíram o grupo controle foram obtidas do bezerro BH3, não infectado com *B. bovis*. Após desprenderem-se dos respectivos hospedeiros (BH1, BH2 e BH3) as fêmeas foram lavadas em água corrente e secadas em papel de filtro (STEWART et al., 1982). Em seguida foram selecionadas 100 fêmeas de cada hospedeiro, identificadas numericamente e incubadas em câmara climatizada (BOD) a temperatura de 27 +/- 2°C e umidade relativa superior a 80 % (DAVEY et al., 1984).

Para conhecer a taxa e o grau de infecção das fêmeas ingurgitadas, as amostras de hemolinfa foram colhidas entre o primeiro e o 12º dia de incubação como preconizado por El Allawy (1977); Mahoney e Mirre (1971). As amostras foram obtidas a partir da secção das patas com auxílio de tesoura e pinças oftálmicas (BURGDORFER, 1970). Os carrapatos utilizados e mantidos no laboratório de protozoologia, foram caracterizados morfológicamente conforme preconizado por Barreira (2001). As preparações de hemolinfa foram fixadas em metanol por cinco minutos e coradas pelo método de Giemsa por 30 minutos. O exame das amostras obtidas permitiu quantificar o número de carrapatos infectados com *B. bovis* e os diferentes graus de infecção. O exame foi realizado com auxílio de fotomicroscópio Carl Zeiss e objetivas de 10, 40 e 100X e oculares de 10X. O grau de infecção das fêmeas ingurgitadas foi calculado utilizando a magnitude de 1000x, obedecendo o seguinte critério: Grau 1 – 1 a 5 esporocinetos; Grau 2 – 6 a 50 esporocinetos; Grau 3 – 51 a 100 esporocinetos; Grau 4 – >100 esporocinetos por campo microscópico (FRIEDHOFF; SMITH, 1981). A taxa de infecção foi obtida através do percentual de fêmeas infectadas observadas no total das amostras.

As amostras do conteúdo intestinal foram obtidas de 60 fêmeas ingurgitadas, com 48 horas de incubação, colhidas equitativamente dos bovinos BH1 e BH2. Estas amostras foram fixadas e coradas usando a mesma metodologia adotada para as lâminas contendo hemolinfa (BARREIRA, 1988).

O período de oviposição e peso da massa de ovos das fêmeas ingurgitadas em hospedeiros infectados com amostras de *B. bovis* modificada e não modificada (BH1 e BH2) e o grupo controle (BH3) foram avaliados segundo Davey et al. (1980) e Davey (1981).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos exames das amostras de sangue periférico colhidas dos hospedeiros BH1, BH2 e BH3, foram observadas no interior dos eritrócitos e livres no plasma sangüíneo, estruturas de aspecto arredondada, oval, piriforme simples e pareada, identificados como *B. bovis*. Estruturas semelhantes também foram observadas nas amostras de conteúdo intestinal de fê-

meas de *B. microplus* com 24 horas de incubação colhidas dos hospedeiros BH1 e BH2. Nas amostras de sangue periférico e de conteúdo intestinal colhidas das fêmeas que ingurgitaram no bezerro controle (BH3) não foram observadas formas evolutivas de *B. bovis*. No período da obtenção das amostras de sangue periférico e das fêmeas ingurgitadas, o grau de parasitemia calculado para o animal BH1 e BH2 foi de 0,8 e 1,2 %, respectivamente. Observações sobre os aspectos morfológicos realizadas neste experimento, também foram feitos por Riek (1964, 1966) e Barreira (1988, 2001).

Do total de fêmeas de *B. microplus* coletadas do bezerro BH1, 100 % apresentaram-se negativas para *B. bovis*. Nas amostras de hemolinfa não foram observadas alterações na sua coloração. A presença de estruturas arredondadas, piriforme simples e pareadas e corpos raiados na luz intestinal e a ausência de esporocinetos de *B. bovis* nas amostras de hemolinfa de *B. microplus* colhidas do hospedeiro BH1, está relacionado à redução da sua patogenicidade, bem como a menor capacidade de infecção, devido a passagens sucessivas das amostras em bezerros esplenectomizados e ao processo de criopreservação. Apesar dos resultados apresentados por Mafra et al. (1994) mostrarem a capacidade infectante de amostra de *B. bovis* atenuadas após 26 passagens em bovinos esplenectomizados para o carrapato *B. microplus*, resultados semelhantes aos deste estudo foram observados por Dalglish et al. (1981), Mehlhorn e Shein (1984), Stewart et al. (1986) e Barreira (1988), reforçando nossas observações. As diferenças observadas na capacidade de infecção entre as amostras atenuadas de *B. bovis* para o carrapato *B. microplus* podem estar relacionadas as diferenças na sensibilidade das populações de *B. microplus*, patogenicidade da espécie *B. bovis*, forma e grau de infecção do hospedeiro. Neste grupo de fêmeas o período de postura e peso da massa de ovos estabelecido foi de 12,05 dias e 123,84 mg, respectivamente (Fig.1-A). Estes valores mostraram-se semelhantes quando comparados ao do grupo controle, cujo período de postura registrado foi de 12,2 dias e o peso da massa de ovos de 121,25 mg. A semelhança entre os valores encontrados no grupo de fêmeas infectadas com amostra de *B. bovis* modificada e o grupo controle é sustentado pelo resultado apresentado por Barreira (2001).

Nas amostras de fêmeas ingurgitadas, obtidas do hospedeiro BH2 infectado com amostra de *B. bovis* não modificada, observou-se uma taxa de infecção destes carrapatos de 100%.

Valores semelhantes foram observados por Gray (1982); Barreira (1988); De Vós et al. (1989); Melendez e Forlano (1995) e Guglielmone et al. (1997) cujos percentuais encontrados de fêmeas infectadas foram superiores a 96 %. Do total de fêmeas infectadas com amostra não modificada, 70 não realizaram a ovipostura e somente 30 o fizeram parcialmente (Fig. 1-B). No último grupo de fêmeas, o período de postura foi de sete dias. A taxa de mortalidade de 82% das fêmeas de *B. microplus* obtidas do hospedeiro BH2, foi registrada no sétimo dia de incubação, onde 70 fêmeas pertenciam ao grupo que não ovipositou e 12 com oviposição reduzida. Para as demais fê-

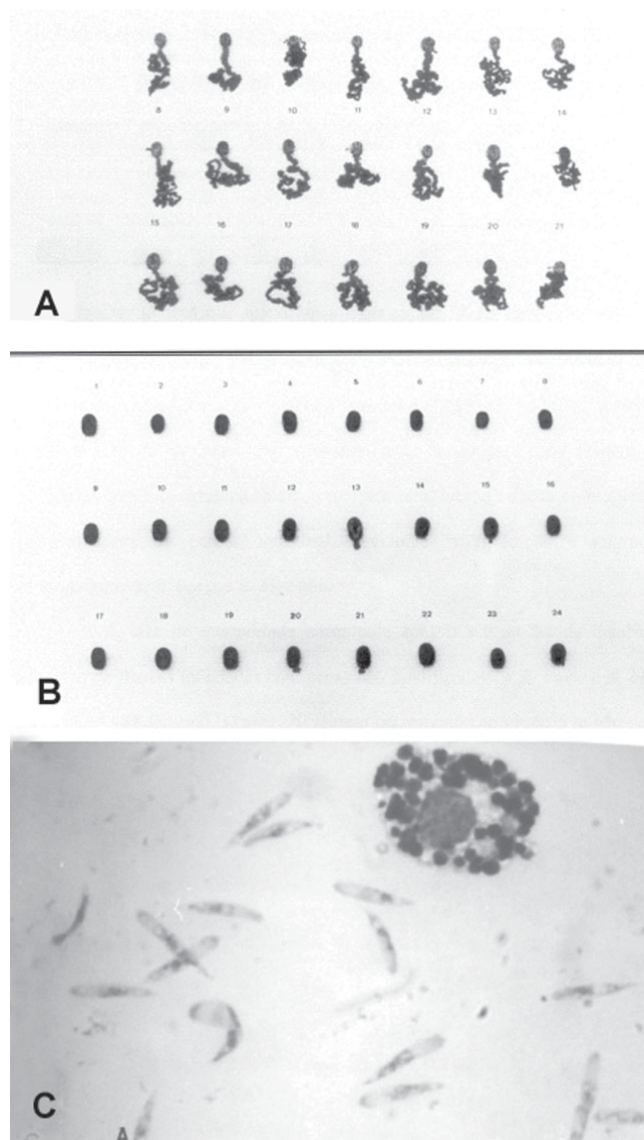


Figura 1. (A) Fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* infectadas com amostra de *Babesia bovis* modificada (com 10 dias de incubação). (B) Fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* infectadas com amostra de *B. bovis* não-modificada (com 10 dias de incubação). (C) Esporocinetos de *B. bovis* em amostras de hemolinfa coletadas de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* infectadas com cepas não modificadas. Giemsa. 1000x.

meas (18 fêmeas), o período de sobrevivência foi de 12 dias. Com relação à taxa de mortalidade, observações semelhantes foram feitas por Riek (1966); Gray (1982); Guglielmone et al. (1985); Barreira (1988) e De Vós et al. (1989), cujos resultados foram de 90; 93,3; 90; 94 e 98%, respectivamente. Entretanto, ao contrário do que foi observado neste experimento, Ouhelli et al. (1987) e Guglielmone et al. (1989), registraram em populações de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus* e infectadas com *B. bovis*, taxas de mortalidade de 47 e 23,2%, respectivamente. Os diferentes resultados encontrados na literatura relacionados a taxa de mortalidade das fêmeas de *B. microplus*, indicam variação na patogenicidade das amostras de *B. bovis*, sensibi-

lidade do carrapato vetor e diferentes graus de infecção do hospedeiro vertebrado.

No grupo de fêmeas obtidas do hospedeiro BH2 que morreram na primeira semana, verificou-se amostra de hemolinfa com coloração vermelha, indicando a presença de hemoglobina do conteúdo intestinal na cavidade geral do carrapato vetor, resultados estes encontrados por Riek (1964); Dalgliesh et al. (1981) e Barreira (1988). Nas amostras de hemolinfa colhidas das 82 fêmeas de *B. microplus* que ingurgitaram no bezerro BH2, verificou-se o grau de infecção 3 (51 a 100 esporocinetos por campo) no sexto dia de incubação (Fig.1-C). Nas amostras de hemolinfa de fêmeas com sobrevivência de 12 dias registrou-se um grau de infecção 4 (mais de 100 esporocinetos por campo). De acordo com os resultados, o grau de infecção, está relacionado a infectividade de *B. bovis* e o período de incubação das fêmeas infectadas, concordando com aqueles já observados por Akinboade e Dipeolu (1981); Guglielmone et al. (1985); Gaiado e Guglielmone (1995) e Guglielmone et al. (1997). Neste mesmo grupo de fêmeas, o período de oviposição foi de 7,86 dias e o peso da massa de ovos foi de 9,72 mg. Estes valores foram inferiores aos obtidos para as fêmeas que constituíram o grupo controle (BH3) e para as fêmeas infectadas com amostras de *B. bovis* modificadas (BH1). Entretanto, foram semelhantes aos obtidos por Davey et al. (1981); Gray (1982); Davey et al. (1980) e Ouhelli et al. (1987) quando, em condições experimentais similares avaliaram o efeito de amostras de *B. bovis* não modificadas sobre os parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas de *B. microplus*. Estes resultados reforçam os encontrados neste experimento, permitindo concluir que, amostra de *B. bovis* não modificada é patogênica e interfere na biologia do carrapato vetor *B. microplus*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKINBOADE, O.A.; DIPEOLU, O.O. Detection of *Babesia bovis* infections in *Boophilus geigy* with egg crushings larval smears, and haemolymph puncture. *Veterinary Quarterly*, v. 3, n. 3, p. 143-47, 1981.
- BARREIRA, J.D. *Caracterização Morfológica, Aspectos Biológicos e Patogenia das formas evolutivas de Babesia bigemina* (Smith e Kilborne, 1893) e *Babesia bovis* (Babes, 1888) (Protozoa: Babesiidae) em *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). 1988, 103 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaguaí, 1988.
- BARREIRA, J.D. *Efeitos da infecção de Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) e *Babesia bovis* (Babes, 1888) sobre os parâmetros biológicos do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). 2001, 138 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2001.
- BARREIRA, J.D.; ROSSI, M.I.D.; SILVA, G.V.O.; PIRES, F.A.; MASSARD, C.L. Morphologic characterization and biological aspects of evolutive forms of *Babesia bigemina* (Smith and Kilborne, 1893) (Protozoa: Babesiidae) in *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 14, n. 1, p. 1-6, 2005.
- BENNETT, F.G. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarida/Ixodidae). I Influence of tick size on egg production. *Acarologia*, v. 16, n. 1, p. 51-61, 1974.
- BURGDORFER, W. A technique for detection of rickettsiae in tick. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 19, n. 6, p. 1010-1014, 1970.
- DALGLIESH, R.J.; STEWART, N.P.; DUNCALFE, F. Reduction in pathogenicity of *Babesia bovis* for its tick vector *Boophilus microplus* after rapid blood passage in splenectomized calves. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 64, n. 3, p. 347-51, 1981.
- DAVEY, R.B. Effects of *Babesia bovis* on the ovipositional success on the Southern cattle tick *Boophilus microplus*. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 74, n. 3, p. 331-333, 1981.
- DAVEY, R.B.; GARZA Jr., J.; THOMPSON, G.D.; DRUMMOND, R.O. Ovipositional biology of the Southern cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, v. 17, n. 1, p. 117-121, 1980.
- DAVEY, R.B.; OSBURN, R.L.; MILLER, J.A. Ovipositional and morphological comparisons of *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) collected from different geographic areas. *Annals of the Entomological Society of America*, v. 77 n. 1, p. 1-3, 1984.
- DE VÓS, A.J.; STEWART, N.P.; DALGLIESH, R.J. Effect of different methods of maintenance on the pathogenicity and infectivity of *Babesia bigemina* for the vector *Boophilus microplus*. *Research in Veterinary Science*, v. 46, n. 1, p. 139-42, 1989.
- EL-ALLAWY, T.A. Detection of piroplasmas in the tick vector haemolymph and egg smears of tick with especial reference to the effect of incubation time on the infectivity of tick eggs. *Agricultural Research Review*, v. 55, n. 1, p. 9-13, 1977.
- FRIEDHOFF, K.T.; SMITH, R.D. Transmission of *Babesia* of ticks. In: RISTIC, M.; KREIER, J.P. *Babesioses*. New York: Academic Press, 1981. p. 267-327.
- GAIDO, A.B.; GUGLIELMONE, A.A. Infection dynamics of *Babesia* spp. Kinetics in naturally infected engorged female *Boophilus microplus*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v. 89, n. 3, p. 309-11, 1995.
- GRAY, J.S. The effects of the piroplasm *Babesia bigemina* on the survival reproduction of the blue tick *Boophilus decoloratus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, v. 39, n. 3, p. 413-15, 1982.
- GUGLIELMONE, A.A.; GAIDO, A.B.; AGUIRRE, D.H.; CAFRUNE, M.M. Some quantitative aspects of natural babesial infection in the haemolymph of *Boophilus microplus* engorged female ticks. *Parasitology*, v. 4, n. 3, p. 337-41, 1997.
- GUGLIELMONE, A.A.; GAIDO, A.B.; AGUIRRE, D.H.; MANGOLD, A.J. The effects of infection by *Babesia* sp. on some biological parameters of engorged females of

- Boophilus microplus*. *Folia Parasitologica*, v. 36, n. 1, p. 1-6, 1989.
- GUGLIELMONE, A.A.; GAIDO, A.B.; MANGOLD, A.J. Light microscopy diagnosis of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* kinetes in the haemolymph of artificially infected *Boophilus microplus* engorged female tick. *Veterinary Parasitology*, v. 61, n. 1, p. 15-20, 1996.
- GUGLIELMONE, A.A.; MANGOLD, A.J.; BERMUDEZ, A.C.; HADANI, A. Detection de merozoítos grandes (vermículos de *Babesia* em teleóginas de *B. microplus*) alimentadas sobre terneros com distintos niveles de parasitemia de *Babesia bigemina* y *Babesia bovis* (*B. argentina*). *Revista Ibérica de Parasitología*, v. 46, n. 3, p. 303-11, 1985.
- KOCH, R. Beitrag zur entwick lungsergeschichte der piroplasmen. *Zeitschrift fur Hygiene und Infektion*, v. 54, n. 1, p. 1-9, 1906.
- MAFRA, C.L.; PATARROYO, J.H.; SILVA, S.S. Infectivity of an attenuated strain of Brazilian origen for the tick vector, *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*, v. 52, n. 1-2, p. 139-142, 1994.
- MAHONEY, D.F.; MIRRE, G.B. Bovine babesiosis: estimation of infection rates in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v. 65, n. 3, p. 309-17, 1971.
- MEHLHORN, H.; SCHEIN, E. The piroplasm: Cycle and sexual stage. *Advance in Parasitology*, v. 23, n. 1, p. 37-103, 1984.
- MELLENDEZ, R.D.; FORLANO, M. Incidence and intensity of *Babesia spp.* Sporokinetes in engorged *Boophilus microplus* from a dairy herd in Venezuela. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 23 n. 791, p. 148-56, 1996.
- NEITZ W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the life-cycle of the Karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v. 38, n. 2, p. 215-23, 1971.
- OUHELLI, H.; PANDEY, V.S.; ABOUGHAL, A. Effect of infetion by babesia spp. On the development and survival of free-living stages of *Boophilus annulatus* (Say, 1821). *Veterinary Parasitology*, v. 23, n. 2, p. 147-54, 1987.
- RIEK, R.F. The life cycle of *Babesia argentina* (Lignieres, 1903) (sporozooa: Piroplasmidea) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 17, n. 2, p. 247-54, 1966.
- RIEK, R.F. The life cycle of *Babesia bigemina* (Smith & Kilborne, 1893) in the tick vector *Boophilus microplus* (Canestrini). *Australian Journal of Agricultural Research*, v. 15, n. 8, p. 802-21, 1964.
- SMITH, T.; KILBORNE, F.L. Investigation in to the nature, causation and prevention of Texas or Southern cattle fever. *USA Department Agriculture Bureau Animal Industrial Bulletin*, v. 1, n. 1, p. 117-300, 1893.
- STEWART, N.P.; CALLOW, L.L.; DUNCALFE, F. Biological comparisons between a laboratory maintained and a recently isolated field sample of *Boophilus microplus*. *Journal of Parasitology*, v. 68, n. 5, p. 691-94, 1982.
- STEWART, N.P.; DALGLIESH, R.J.; DE VÓS, A.J. Effect of different methods of maintenance on the development and morphology of *Babesia bigemina* in the gut *Boophilus microplus*. *Research in Veterinary Science*, v. 40, n. 1, p. 94-98, 1986.

Recebido em 09 de maio de 2005.

Aceito para publicação em 20 de outubro de 2006.