

# INFLUÊNCIA DO COMPORTAMENTO GREGÁRIO NOS PROCESSOS DE MUDA DE *Haemaphysalis leporispalustris* (ACARI: IXODIDAE) EM CONDIÇÕES LABORATORIAIS\*

PAULO HENRIQUE D. CANÇADO<sup>1</sup>; ELIANE M. PIRANDA<sup>1</sup>; JOÃO LUIZ H. FACCINI<sup>2</sup>; ERIK DAEMON<sup>3</sup>

**ABSTRACT:-** CANÇADO, P.H.D.; PIRANDA, E.M.; FACCINI, J.L.H.; DAEMON E. [Influence of aggregation on the molting process of *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions.] Influência do comportamento gregário nos processos de muda de *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) em condições laboratoriais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 1, p. 47-53, 2007. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000. E-mail: cancadophd@ufrj.br

The aim of the experiment was to evaluate the influence of different aggregations on the molting process of the nidicolous ticks, *Haemaphysalis leporispalustris*. Tick-naïve domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were used as experimental hosts for the parasitic phase. All free-living phases were kept into 4.5 mL glass vials in incubators at 27±1°C, 80±5% relative humidity and scotophase. The periods of pre-molt, molt, percentage of ecdysis and molting pattern of larvae and nymphs were studied. A total of 1560 engorged larvae and nymphs were divided in six groups of aggregations: 1, 5, 10, 20, 40 and 80 ticks with ten repetitions. The molting of nymphs and adults were observed daily. The percentage of ecdysis was the only parameter with no statistical difference among the groups ( $p>0.05$ ). All others parameters were statistically different ( $p<0.05$ ). The results suggested that highest aggregations accelerate the molting process of *H. leporispalustris*. We recommended the following aggregations: 4.4 ticks/ml for scientific research and less than 7.7 tick/ml for ticks maintenance.

**KEY WORDS:** *Haemaphysalis leporispalustris*; Aggregation; Molt; Ixodidae, Larvae Nymphs.

## RESUMO

O experimento objetivou verificar a influência de diferentes agregações sobre os parâmetros relacionados aos processos de muda ninfal e de adulto de *Haemaphysalis leporispalustris*. Foram utilizados como hospedeiros coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) primo-infestados. Foram analisados os períodos de pré-ecdise, de ecdise e de muda, o percentual e o ritmo de ecdise para ambos os estágios estudados. Durante toda a fase não-parasitária, os carrapatos foram mantidos em frascos de vidro com capacidade de 4,5 ml em condições controladas de temperatura (27±1°C), umidade (80±5%) e

escotofase. Um total de 1560 larvas ingurgitadas e de 1560 ninfas ingurgitadas foi utilizado. Os carrapatos foram divididos em seis grupos contendo um, cinco, dez, 20, 40 e 80 espécimes cada. Para cada um desses grupos foram realizadas dez repetições. Os processos de muda ninfal e de adulto foram acompanhados diariamente. Verificou-se que não houve relação entre as diferentes agregações e o percentual de ecdise em nenhuma etapa experimental ( $p>0,05$ ). Em todos os outros parâmetros biológicos estudados, verificaram-se diferenças significativas ( $p<0,05$ ). Os resultados obtidos sugerem que agregações com 40 e 80 exemplares aceleraram os processos de muda. Recomenda-se agregações de até 17 carrapatos/ml para manutenção de colônias e 4,4 carrapatos /ml para experimentação científica

**PALAVRAS-CHAVE:** *Haemaphysalis leporispalustris*; Agregação; Muda, Ixodidae, Larvas; Ninfas.

## INTRODUÇÃO

Nos artrópodes, o processo de muda é determinado pela existência de um exoesqueleto que necessita ser substituído

\* Sob auspícios do CNPq e CAPES/PROEX.

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

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia Animal/ I.V./ UFRRJ - Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ, 23890-000.

<sup>3</sup> Departamento de Zoologia / Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 36036-330, MG.

sempre que se torna pequeno para o organismo em crescimento. A muda pode ser definida como todo o processo que envolve a substituição do exoesqueleto; sendo a ecdise apenas a etapa final deste processo (COLLAHAN, 1972). Nos ixodídeos, as ecdises ninfal e de adulto são processos obrigatórios no ciclo biológico. Desta maneira, o entendimento dos processos de muda de cada espécie é fundamental para a compreensão do ciclo biológico da mesma.

Os benefícios do comportamento gregário para algumas espécies de ixodídeos durante a alimentação são notórios e já se conhece o papel de alguns feromônios neste processo (RECHAV et al., 1997; WANG et al., 2001). Em relação à fase não parasitária, o feromônio de reunião está relacionado com o comportamento gregário, sendo este, no entanto, pouco estudado. Sabe-se que algumas espécies de carrapatos têm comportamento gregário durante o processo de muda, porém não existem estudos direcionados para tal fim (HAMILTON, 1992).

A espécie *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) é ainda pouco estudada no Brasil. Nos estágios imaturos, é um parasita de aves e pequenos mamíferos. Na fase adulta, tem como principais hospedeiros coelhos silvestres (GUIMARÃES, 2001).

Esta espécie de carrapato vem sendo incriminada como potencial vetor dos agentes da Febre Maculosa e da Borreliose de Lyme entre seus hospedeiros silvestres, no entanto alguns aspectos importantes necessitam de maiores esclarecimentos. Como por exemplo, o papel da espécie na epidemiologia da Febre Maculosa Brasileira, uma vez que *Rickettsia rickettsii* já foi isolada deste carrapato e de seus hospedeiros silvestres (LEMONS MONTEIRO, 1933; FUENTES et al., 1985; SHIRAI, 1961; PARKER, 1951). *Haemaphysalis leporispalustris* também já foi relatada parasitando humanos (ESTRADA-PENNA; JORGEJAM, 1999).

É notória a importância da manutenção de colônias de artrópodes vetores em laboratórios, incluindo os carrapatos, para estudos experimentais sobre a biologia dos mesmos. No caso específico dos carrapatos de três hospedeiros, como é o caso de *H. leporispalustris*, os três estágios do ciclo biológico passam por fases no hospedeiro (fase parasitária) e outras fora do mesmo (fase de vida livre). Os procedimentos laboratoriais para a manutenção da fase de vida livre consistem basicamente em juntar um determinado número de exemplares em tubos de ensaio, os quais são mantidos em temperatura, umidade e luminosidade controladas até a ecdise. Embora este seja um procedimento padrão (FREITAS et al., 2000; LABRUNA et al., 2000; CARDOSO et al., 2002), a literatura pertinente não registra dados sobre a possível influência da quantidade de exemplares das diferentes espécies de carrapatos estudados até o presente em relação ao espaço ocupado pelos mesmos nos processos de muda.

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos do comportamento gregário nos estágios imaturos de *H. leporispalustris* durante os processos de muda. E desta maneira, entender melhor o processo de ecdise para facilitar a criação desta espécie em condições laboratoriais.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Ixodologia do Departamento de Parasitologia Animal / Instituto de Veterinária, localizado na Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Município de Seropédica / RJ, Brasil.

Como hospedeiros foram utilizados coelhos domésticos (*Oryctolagus cuniculus*) mestiços (Nova Zelândia X Califórnia), de ambos os sexos cedidos pelo Setor de Cunicultura do Instituto de Zootecnia/UFRRJ. Estes foram mantidos em gaiolas individuais, alimentados com ração comercial para coelhos e água fornecida *ad libitum*. Neste experimento, foi seguido o protocolo de Princípios Éticos em Pesquisa Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

O experimento teve seu início a partir de fêmeas pertencentes à nona geração de uma colônia pré-estabelecida no Laboratório de Ixodologia/UFRRJ. Durante todo o experimento, a fase não-parasitária foi mantida em estufa incubadora para B.O.D reguladas a temperatura de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$ , umidade relativa de (UR)  $80 \pm 5\%$  e escotofase. Após o final da postura, um “pool” foi formado. Este “pool” de ovos foi pesado, dividido e armazenado em seringas plásticas de 5ml, cortadas e tampadas com buchas de algodão hidrofílico. O processo de eclosão das larvas foi observado diariamente. As larvas foram mantidas estocadas até atingirem idade adequada para as infestações dos coelhos domésticos.

Todas as infestações seguiram a técnica utilizada por Neitz et al. (1971), utilizando saco de orelha confeccionado com pano, pasta UNA e esparadrapo para sua fixação. Cinco coelhos foram infestados com 4000 larvas com 20 dias de jejum (LABRUNA et al., 1997) e outros cinco com 2000 ninfas com 25 dias de jejum (FREITAS et al., 2000).

A partir do primeiro dia após a infestação, os sacos de pano foram abertos para limpeza e coleta dos espécimes ingurgitados tão logo iniciaram o desprendimento.

Todos os dias, as larvas ingurgitadas recuperadas foram limpas e pesadas. Parte do material foi utilizado para montagem do experimento e o restante foi novamente armazenado em seringas plásticas cortadas, fechadas com buchas de algodão e mantidas sob as mesmas condições de temperatura e umidade relativa. Essas larvas ingurgitadas deram origem às ninfas que foram utilizadas para a segunda etapa do experimento.

No dia modal de recuperação, as larvas ingurgitadas foram coletadas, limpas e pesadas. Após a formação de um “pool” contendo todas as larvas ingurgitadas coletadas naquele dia, estas foram divididas em seis grupos A, B, C, D, E e F contendo um, cinco, dez, 20, 40 e 80 espécimes por frasco de vidro de 4,5ml de volume, respectivamente. Para cada grupo foram formadas dez repetições, todas no mesmo dia. Os frascos foram identificados, tampados com buchas de algodão hidrofílico e mantidos em estufa incubadora para B.O.D. nas mesmas condições para acompanhamento de todo o processo de muda.

A montagem do experimento para observação do processo de ecdise de adulto seguiu os moldes do experimento de ecdise ninfal. Formaram-se os grupos A, B, C, D, E e F contendo um, cinco, dez, 20, 40, e 80 indivíduos respectivamente. Nesta etapa, formou-se o número máximo possível de repetições por dia, respeitando-se a uniformidade dos tratamentos, até que fossem completadas dez repetições. Da mesma forma que para as larvas ingurgitadas, os frascos foram fechados e mantidos em condições controladas para observação de todo o processo.

Os parâmetros analisados para os processos de muda para ninfa e para adultos foram: períodos de pré-ecdise e de ecdise (CHACÓN et al., 2003); período de muda (ou “pre-molting period”) e percentual de ecdise (BELLATO; DAEMON, 1997) e ritmo de ecdise definido como percentual médio diário de ecdise.

Para a análise do período de pré-ecdise, percentual de ecdise e o período de muda foram feitos testes de Análise de Variância (ANOVA) seguido do teste de Tukey-Kramer. Quando, os desvios padrões mostraram diferença significativa entre as populações através do teste de Bartlett, foi necessária a realização do teste não paramétrico de Kruskal-Wallis segui-

do do teste de Dunn. Para a análise do período de ecdise, o grupo A foi retirado da análise por possuir apenas um indivíduo por frasco, não sendo possível realizar uma análise fidedigna com esses dados. Os demais grupos foram analisados pelos mesmos testes citados acima. A análise do ritmo de ecdise foi feita pela comparação das curvas de ecdise em gráficos de linha.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados apresentados a seguir são pioneiros, sendo este o primeiro estudo sobre agregação de ixodídeos na fase não-parasitária realizado de forma controlada. Os mesmos estão dispostos nas Tabelas 1 e 2 e nas Figuras 1 e 2.

O período de pré-ecdise ninfal mostra uma clara tendência a diminuir quando se aumenta a agregação (Tabela 1). O grupo E e o grupo F obtiveram a mesma média  $8 \pm 0$  dias igualando a média ao limite mínimo observado. Este resultado mostra que, quando a agregação alcançou níveis elevados, os efeitos decorrentes desta, chegaram ao limite. Na maioria dos grupos, o valor mínimo (oito dias) foi alcançado em alguma repetição. A única exceção foi o grupo A, porém só nos grupos onde a agregação era maior, as médias se igualaram aos

Tabela 1. Efeito do comportamento gregário sobre os parâmetros de ecdise ninfal de *Haemaphysalis leporispalustris* em seis níveis de agregação (1, 5, 10, 20, 40, 80 indivíduos/frasco) mantido em estufas tipo B.O.D. a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80 \pm 5\%$  UR. Médias seguidas de desvio padrão e amplitude.

Parâmetros Biológicos	Grupos com diferentes agregações					
	A n=10	B n=50	C n=100	D n=200	E n=400	F n=800
Período de Pré-ecdise (dias)	12,4 $\pm$ 1,7 <sup>a</sup> 10-15	9,4 $\pm$ 0,1 <sup>ab</sup> 8-11	8,6 $\pm$ 0,7 <sup>bc</sup> 8-10	8,2 $\pm$ 0,4 <sup>bc</sup> 8-9	8 $\pm$ 0 <sup>c</sup> 8-8	8 $\pm$ 0 <sup>c</sup> 8-8
Período de Ecdise (dias)	-	6,3 $\pm$ 1,7 <sup>b</sup> 5-9	8,7 $\pm$ 2,7 <sup>ab</sup> 4-13	9,4 $\pm$ 4,3 <sup>ab</sup> 5-17	12,2 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup> 6-19	10,2 $\pm$ 2,1 <sup>a</sup> 7-13
Período de Muda (dias)	12,4 $\pm$ 1,6 <sup>a</sup> 10-15	11,5 $\pm$ 2,2 <sup>b</sup> 8-18	11,5 $\pm$ 2,4 <sup>b</sup> 8-19	11,1 $\pm$ 2,5 <sup>bc</sup> 8-25	11,2 $\pm$ 2,6 <sup>bc</sup> 8-21	10,5 $\pm$ 2,0 <sup>c</sup> 8-20
Percentual de ecdise	70 $\pm$ 48,3 <sup>a</sup> 0-100	88 $\pm$ 10,3 <sup>a</sup> 80-100	92 $\pm$ 7,9 <sup>a</sup> 80-100	89 $\pm$ 4,6 <sup>a</sup> 80-95	83 $\pm$ 11,2 <sup>a</sup> 65-100	89,1 $\pm$ 3,9 <sup>a</sup> 80-92

Letras iguais, na mesma linha, médias não diferem entre si ( $p > 0,05$ ).

Tabela 2. Efeito do comportamento gregário sobre os parâmetros de ecdise de adultos de *Haemaphysalis leporispalustris* em seis níveis de agregação (1, 5, 10, 20, 40, 80 indivíduos/frasco) mantidos em estufas tipo B.O.D. a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  e  $80 \pm 5\%$  UR. Médias seguidas de desvio padrão e amplitude.

Parâmetros Biológicos	Grupos com diferentes agregações					
	A n=10	B n=50	C n=100	D n=200	E n=400	F n=720
Período de Pré-ecdise (dias)	12,8 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup> 12-14	11,7 $\pm$ 0,5 <sup>ab</sup> 11-12	11,7 $\pm$ 0,9 <sup>ab</sup> 10-13	10 $\pm$ 0 <sup>c</sup> 10-10	11 $\pm$ 0,7 <sup>bc</sup> 10-12	10 $\pm$ 0 <sup>c</sup> 10-10
Período de Ecdise (dias)	-	3,4 $\pm$ 1,0 <sup>b</sup> 2-5	4,7 $\pm$ 1,4 <sup>a</sup> 3-8	5,6 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup> 4-6	5,7 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup> 4-6	5,2 $\pm$ 0,7 <sup>a</sup> 4-6
Período de Muda (dias)	12,8 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup> 12-14	12,9 $\pm$ 1,1 <sup>a</sup> 11-16	13,2 $\pm$ 1,3 <sup>a</sup> 10-18	12,0 $\pm$ 1,2 <sup>b</sup> 10-15	13 $\pm$ 1,2 <sup>a</sup> 10-17	11,9 $\pm$ 1,1 <sup>b</sup> 10-15
Percentual de ecdise	100 $\pm$ 0 <sup>a</sup> 100	96 $\pm$ 8,4 <sup>a</sup> 80-100	99 $\pm$ 3,2 <sup>a</sup> 90-100	97 $\pm$ 3,5 <sup>a</sup> 90-100	99,8 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup> 99-100	99,1 $\pm$ 1,5 <sup>a</sup> 95-100

Letras iguais, na mesma linha, médias não diferem entre si ( $p > 0,05$ ).

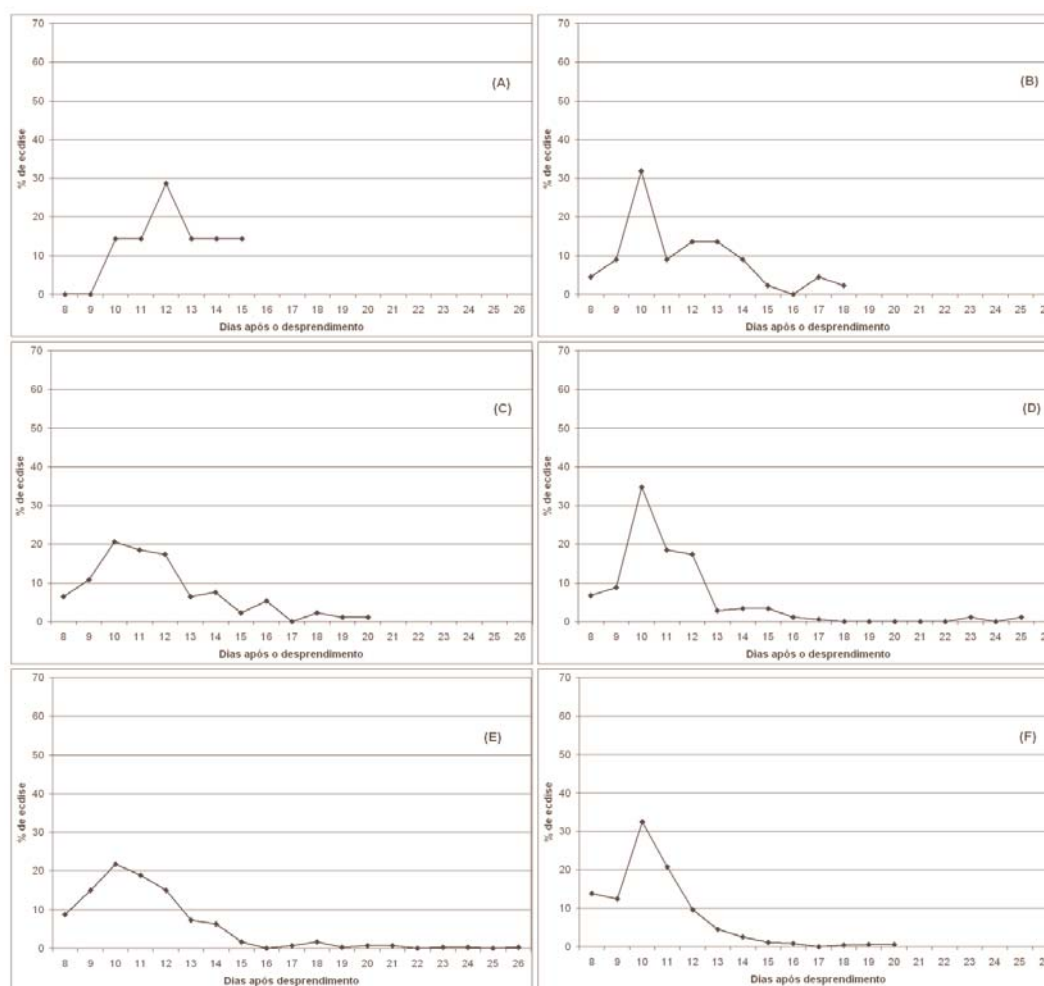


Figura 1. Ritmo de ecdise ninfal de *Haemaphysalis leporispalustris* em diferentes níveis de agregação e a temperatura ( $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa (80-5%) controladas. Grupo A: n=1; Grupo B: n=5; Grupo C: n=10; Grupo D: n=20; Grupo E: n=40; Grupo F: n=80.

limites inferiores; provavelmente porque nestes grupos a variabilidade genética alcançou níveis elevados. As médias obtidas para *H. leporispalustris* foram significativamente diferentes entre os seguintes grupos: a média do grupo A foi significativamente maior que a dos grupos C, D, E e F. O Grupo B teve sua média significativamente maior que a dos grupos E e F (Tabela 1).

Quando se avalia o período de ecdise, é esperado que o valor médio seja maior em grupos maiores, uma vez que, com maior variabilidade genética aumenta-se a possibilidade de aparecerem valores extremos. Olivieri e Serra-Freire (1984) afirmaram que o período de ecdise é mais influenciado pelo tamanho da amostra do que por outros fatores. Desta forma, os resultados relativos ao período de ecdise ninfal mostraram tendência a aumentar o período quando se aumentou a agregação até o grupo E (Tabela 2). Nos períodos de ecdise ninfal de *H. leporispalustris* o grupo B foi significativamente inferior que e os grupos E e F. (Tabela 1).

O período de muda é o parâmetro que melhor representa a velocidade do processo de muda, por levar em consideração

todos os indivíduos de cada tratamento. Os parâmetros anteriormente discutidos consideram apenas valores extremos (o primeiro e/ou o último indivíduo de cada repetição). O período médio de muda foi reduzindo gradativamente, na medida em que a agregação aumentou caracterizando a tendência de se encurtar o período não parasitário. As médias obtidas para *H. leporispalustris* foram significativamente distintas entre os seguintes grupos: o grupo A foi significativamente superior aos demais e os grupos B e C superiores ao grupo F.

Não houve diferença significativa entre os tratamentos com relação ao percentual de ecdise ninfal. Os resultados mostram que a agregação aparentemente não interfere neste parâmetro na espécie estudada. A agregação máxima utilizada de 80 indivíduos por frasco, não foi suficiente para aumentar a competição a ponto de provocar mortalidade. Os possíveis efeitos tóxicos dos excrementos podem ter sido suplantados pelos efeitos benéficos da agregação. Os valores médios dos percentuais de ecdise ninfal de *H. leporispalustris* foram estatisticamente semelhantes e variaram de  $70\pm 48,30\%$  (A) a  $92\pm 7,89\%$  (C).



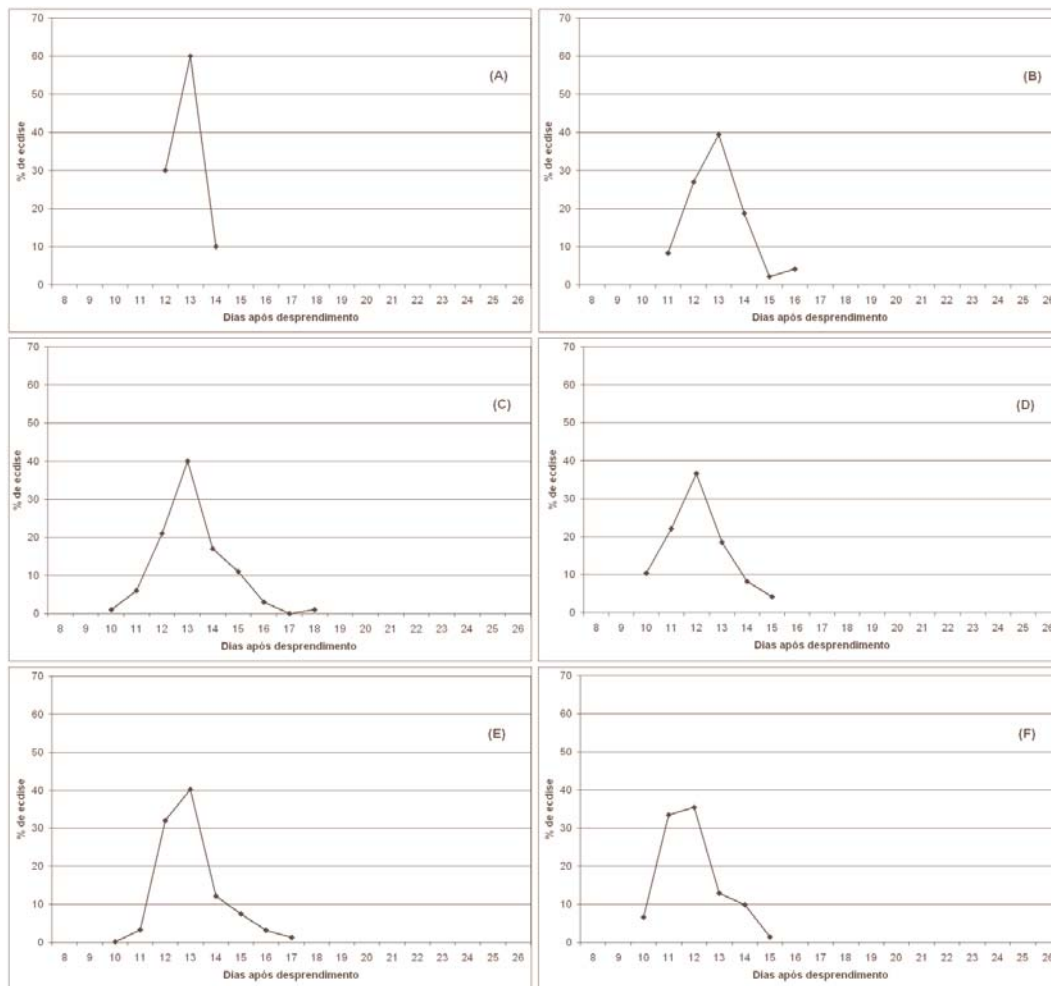


Figura 2. Ritmo de ecdise de adulto de *Haemaphysalis leporispalustris* em diferentes níveis de agregação e a temperatura ( $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) e umidade relativa ( $80\pm 5\%$ ) controladas. Grupo (A):  $n=1$ ; Grupo (B):  $n=5$ ; Grupo (C):  $n=10$ ; Grupo (D):  $n=20$ ; Grupo (E):  $n=40$ ; Grupo (F):  $n=80$ .

Uma clara tendência à aceleração do ritmo de ecdise ninfal foi observada em grupos maiores. O dia modal ocorreu primeiro nos tratamentos onde os carrapatos foram mantidos agrupados. O grupo A, com apenas um indivíduo, apresentou uma curva de ritmo distinta dos demais grupos, porém deve-se levar em consideração o tamanho da amostra (Figura 1). As ecdises concentraram na metade anterior do período total. Nota-se que os grupos C e E tiveram a maior parte das ecdises concentradas entre o 10º e 12º dia após a formação dos grupos. Os grupos B, D e F tiveram no 10º dia após o desprendimento, o dia modal. Este bem definido e com mais que 30% das ecdises de cada grupo.

Os resultados obtidos para o processo de ecdise de adulto estão em concordância com aqueles referentes ao processo de ecdise ninfal. Também ficou clara a tendência da redução dos períodos médios quando se aumentou a agregação. Quando analisado o período de pré-ecdise, os grupos D e F obtiveram suas médias iguais ao extremo inferior ( $10\pm 0$  dias); o grupo E obteve uma pequena variação, o que elevou a média para  $11\pm 0,67$  dias. Os valores médios dos grupos D e F foram significativamente iguais ao grupo E e inferiores aos demais. O

grupo A obteve a maior média ( $12,8\pm 0,63$  dias) sendo superior aos grupos D, E e F (Tabela 2).

Os valores médios dos períodos de ecdise são diretamente proporcionais a crescente agregação imposta aos grupos, como mencionado anteriormente. Desta maneira, tais diferenças encontradas nos períodos de ecdise de adulto são esperadas.

O período de muda de adulto não mostrou tendência de prolongamento ou de redução. Analisando apenas os grupos D e F, observou-se a redução do período na maior agregação (grupo F). Assim o efeito da agregação sobre o período de muda foi mais evidenciado no estágio larval.

Os valores médios obtidos para o percentual de ecdise de adulto não deixam dúvidas de que a agregação não foi deletéria para o processo em questão. Todas as médias foram próximas de 100%, sendo o grupo B o que obteve a menor média ( $96\pm 8,43$ ). O grupo A teve 100% de ecdise, evidenciando que o isolamento não prejudicou o processo.

O ritmo de ecdise de adulto seguiu a tendência à redução do período não-parasitário. É evidente que os grupos D e F tiveram seu ritmo acelerado. O grupo E teve apenas um pequeno desvio neste sentido (Figura 2).

Estes resultados deixaram clara a tendência de redução da fase não parasitária em elevadas agregações. O aumento do metabolismo dos carrapatos agregados pode ter ocorrido em função da alteração micro-climática proporcionada pela agregação. A alteração ou formação de micro-climas em populações agregadas é colocada por outros autores como benéfica. Hamilton (1992) considerou o aumento da sobrevivência como consequência da manutenção de um micro-clima favorável quando as condições ambientais são desfavoráveis. A competição intra-específica provocada pela agregação é contrabalançada pelos efeitos benéficos da agregação: maior capacidade de defesa, de encontrar recursos e modificar o micro-clima favorecendo a sobrevivência (ZUBEN, 2000). Porém não há relatos específicos sobre efeitos de alterações micro-climáticas nos parâmetros aqui estudados. Possíveis consequências benéficas da aceleração do processo são a menor exposição a predadores e a maior probabilidade de encontrar novos hospedeiros pelo fato dos carrapatos estarem aptos mais cedo. O processo de ecdise de adulto de forma agrupada pode ter efeito positivo sobre a reprodução dos carrapatos, uma vez que aumentam as chances de parasitarem o mesmo hospedeiro.

Os trabalhos sobre *H. leporispalustris* não trazem informações sobre as condições de agregação as quais os carrapatos foram submetidos. Davis (1974), ao estudar a perda de água de ninfas e fêmeas ingurgitadas de *H. leporispalustris* em diferentes temperaturas críticas, utilizou duas condições de agregação. No entanto, o autor não avaliou a possível influência da agregação sobre o experimento. Freitas et al., (2000) utilizaram grupos de 50 indivíduos sem descrever a relação entre o número de carrapatos e o volume de armazenamento. Labruna et al. (2000) não mencionaram a quantidade de exemplares mantidos nos frascos. Para estudar a longevidade de adultos de *H. leporispalustris*, Cardoso et al. (2002), separaram os carrapatos em grupos de 10 indivíduos, no entanto não relataram o tamanho dos tubos de ensaio utilizados, impossibilitando estabelecer uma relação de número de carrapatos por volume.

A escassez de informações sobre as condições detalhadas de manutenção, onde se inclui a agregação, dos carrapatos pode trazer falhas na interpretação e discussão dos resultados, bem como dificultar a repetição do experimento. Desta maneira, em virtude dos resultados apresentados sugere-se a padronização das condições gregárias de manutenção dos estágios imaturos de *H. leporispalustris* para experimentação.

## CONCLUSÕES

Não ocorreu prejuízo no percentual de ecdise em qualquer agregação utilizada. Entretanto, nas maiores agregações, 8,9 e 17,8 indivíduos/ml. (grupos E e F, respectivamente), a visualização do processo fica prejudicada em função dos resíduos resultantes do processo de muda. Desta forma, a utilização destas agregações para experimentos científicos não é aconselhada. Para a manutenção de colônias em laboratório estas podem ser utilizadas.

As agregações de até 4,4 indivíduos/ml (grupo D) propiciam uma boa visualização de todo o processo de ecdise, sendo esta a agregação recomendada para a experimentação científica (20 exemplares por frasco de 4,5ml). Quando necessária, a manutenção de indivíduos isoladamente pode ser utilizada sem prejuízos para a colônia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELLATO, V.; DAEMON, E. Efeito de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 6, n. 1, p. 21-27, 1997.
- CARDOSO, A.C.B.; ARAUJO, C.L.D.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Longevidade de adultos não alimentados de *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1969) (Acari: Ixodidae) em diferentes umidades relativas. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 11, n. 2, p. 85-90, 2002.
- CHACÓN, S.C.; CORREIA, P.G.; BARBIERI, F.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Efeito de três temperaturas constantes sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 13-20, 2003.
- COLLAHAN, P.S. *The Evolution of insect*. 3 ed. New York: Holliday House, 1972. 192p.
- Davis, M.B. Changes in critical temperature during nymphal and adult development in the rabbit tick, *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae: Ixodidae). *Journal of Experimental Biology*, v. 60, p. 85-94, 1974.
- ESTRADA-PEÑA, A.; JONGEJAN, F. Ticks feeding on humans: a review of records on human-biting Ixodoidea with special reference to pathogen transmission. *Experimental and Applied Acarology*, v. 23, n. 9, p. 685-715, 1999.
- FREITAS, L.H.T.; DAEMON, E.; PRATA, M.C.A.; FACCINI, J.L.H. Relação entre o peso e o número de larvas ingurgitadas e entre o período de ingurgitamento ninfal e o sexo dos adultos de *Haemaphysalis leporispalustris* (Packard, 1869) (Acari: Ixodidae) em condições experimentais. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 2, n. 2, p. 21-32, 2000.
- FUENTES, L.; CALDERÓN, A.; HUN, L. Isolation and identification of *Rickettsia rickettsii* from rabbit tick (*Haemaphysalis leporispalustris*) in the Atlantic zone of Costa Rica. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 34, n. 3, p. 564-567, 1985.
- GUIMARÃES, J.H.; TUCCI, E.C.; BARROS-BATTESTI, D.M. *Ectoparasitos de importância veterinária*. 1 ed. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001. 203p.
- HAMILTON, J.G.C. The role of pheromones in tick biology. *Parasitology Today*, v. 8, n. 4, p. 130-132, 1992.
- 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.

- LABRUNA, M.B.; LEITE, R.C.; FACCINI, J.L.H.; FERREIRA, F. Life cycle of the tick *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology*, v. 24, n. 9, p. 683-694, 2000.
- LEMOS MONTEIRO, J. Comportamento Experimental do Coelho aos virus do Typho Exanthemático de São Paulo e da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas. *Memórias do Instituto Butantan*, v. 8, n. 21, p. 3-80, 1933.
- NEITZ, W.O.; BOUGHTON, F.; WALTERS, H.S. Laboratory investigations on the karoo paralysis tick (*Ixodes rubicundus* Neumann, 1904). *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v. 38, n. 3, p. 215-224, 1971.
- OLIVIERI, J.A.; SERRA-FREIRE, N.M.S. Estádio larval do ciclo biológico de *Amblyomma cajennense*. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, v. 7, n. 2, p. 139-148, 1984.
- PARKER, R.R.; PICKENS, E.G.; LACKMAN, D.B.; BELL, E.J.; THRAIKILL, F.B. Isolation and Characterization of Rocky Mountain spotted fever Rickettsiae from the rabbit tick *Haemaphysalis leporis-palustris* Packard. *Public Health Reports*, v. 66, p. 455-463, 1951.
- RECHAV, Y.; GOLDBERG, M.; FIELDEN, L.J. Evidence for attachment pheromones in the Cayenne Tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, v. 34, n. 2, p. 234-237, 1997.
- SHIRAI, A.; BOZEMAN, M.; PERRI, S.; HUMPHRIES, J.W.; FULLER, H.S. Ecology of Rocky Mountain spotted fever. I. *Rickettsia rickettsii* recovered from a cottontail rabbit from Virginia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, v. 107, p. 211-214, 1961.
- WANG, H.; HAILS, R.S.; CUI, W.W.; NUTTALL, P.A. Feeding aggregation of the *Rhipicephalus appendiculatus* (Ixodidae): benefits and costs in the contest with host response. *Parasitology*, v. 123, Pt 5, p. 447-453, 2001.
- ZUBEN, C.J.V. Implicações do fenômeno de agregação espacial para a dinâmica de populações de insetos. I-Competição por recursos alimentares e espaço. *Revista Brasileira de Zoociências*, v. 2, n. 1, p. 117-133, 2000.

Recebido em 12 de setembro de 2006.

Aceito para publicação em 14 de fevereiro de 2007.