MARIA HALINA OGRZEWALSKA

**Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos
(Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia*
spp no Pontal do Paranapanema, SP**

**São Paulo
2009**

MARIA HALINA OGRZEWALSKA

**Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos
(Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia*
spp no Pontal do Paranapanema, SP**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor de Medicina Veterinária

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de Concentração:

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Fernando Ferreira

**São Paulo
2009**

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.2148
FMVZ

Ogrzewalska, Maria Halina

Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia* spp no Pontal do Paranapanema, SP / Maria Halina Ogrzewalska. – São Paulo : M. H. Ogrzewalska, 2009.
105 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2009.

Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Ferreira.

1. Carrapatos. Aves. *Rickettsia*. Fragmentação. Mata Atlântica. I. Título.

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (*Acari: Ixodidae*) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia spp* no Pontal do Paranapanema, SP", protocolado sob o nº1422/2008, utilizando 08 (oito) coelhos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Fernando Ferreira, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

We certify that the Research "Effect of the forest fragmentation on ticks infestation of wild birds and infection of ticks by *Rickettsia spp* in the Region of Pontal do Paranapanema, SP", utilizing 08 (eight) rabbits, protocol number 1422/2008, under the responsibility Prof. Dr. Fernando Ferreira, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved "ad referendum" of the meeting.

São Paulo, 21 de agosto de 2008

Prof. Dr. José Luiz Bernardino Merusse
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: OGRZEWALSKA, Maria Halina

Título: Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia* spp no Pontal do Paranapanema, SP

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor de Medicina Veterinária

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

AGRADECIMENTOS

A todos que colaboraram, em maior ou menor grau, para a realização desta tese, especialmente:

Ao Ale pela paciência, ajuda com as idéias, coleta e análise dos dados e apoio.

Toda minha família, especialmente aos meus sogros pelo apoio.

Ao Marcelo Labruna pela amizade, confiança, e tudo que aprendi com ele.

Aos amigos maravilhosos pela amizade e ajuda: Adriano, Fernanda, Richard e Daniela, Thiaguinho, Jonas, Mauricio, Iara, Mariana, Guilherme, João, Patrícia, Edu, Duda e Regina.

Ao Instituto de Pesquisas Ecológicas pelo apoio logístico.

À Karla Paranhos por falar comigo em inglês e agüentar meus coelhos☺

À Valeria Onofrio por disponibilizar as seqüência de *A. nodosum* para as análises.

Ao Cicinho - melhor mateiro do mundo - pela ajuda no trabalho de campo.

À Alessandra Nava e Cassio Peterka pela inspiração e idéias sobre o projeto.

Ao Pedrinho pela amizade e por cuidar dos meus coelhos.

À Sheila por fazer todos os meus sequenciamentos que derem certo.

Ao Waltinho, Bispo, Anaia, Danival, Ricardo, Valeria, Fernando, Lili, Zeze, Evalise, Rodrigo, Paulo, Sibebe, Marcelo, Vannessa, Thais, Pancho, Guacy, Ale pela amizade e ótima companhia nas festas☺.

Esse estudo teve o apoio financeiro da FAPESP (05/56708-5).

RESUMO

OGRZEWALSKA, M. H. **Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia* spp no Pontal do Paranapanema, SP.** [The effect of the forest fragmentation on the infestation of wild birds with ticks and infection by *Rickettsia* spp in the region Pontal do Paranapanema, SP]. 2009.105 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

A fragmentação do habitat causa a redução na diversidade de espécies, afetando as relações entre os hospedeiros vertebrados e os parasitos. Neste estudo se verificou se o tamanho do fragmento florestal influencia a diversidade das aves silvestres o que poderia afetar a prevalência dos carrapatos nas aves. As aves foram capturadas através de redes de neblina em 12 áreas florestais: quatro fragmentos pequenos (80-140 ha); quatro grandes (480-1850 ha) e quatro controles, no Parque Estadual Morro do Diabo (~36000 ha). Adicionalmente foram coletados também carrapatos de vida livre através de arrasto com a flanela branca ao longo de trilhas. A infecção de carrapatos por riquetsias foi avaliada através de PCR. No total foram capturadas 1745 aves representando 80 espécies de 24 famílias. 223 (13%) das aves foram encontradas parasitadas por formas imaturas de carrapatos: 1800 larvas e 539 ninfas. A espécie mais comum parasitando aves foi *Amblyomma nodosum*. Outras espécies: *Amblyomma coelebs*, *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma calcaratum*, e *Amblyomma naponense* foram achados nas aves esporadicamente. Entre os carrapatos de vida livre, *A. cajennense* foi a espécie mais comum, seguindo *A. coelebs*, *A. naponense*, *Amblyomma brasilense* e *Haemaphysalis juxtakochi*. De dois carrapatos *A. nodosum* foram isoladas bactérias do gênero *Rickettsia* em células Vero. Os isolados foram caracterizados por PCR e os fragmentos dos genes *gltA*, *htrA* sequenciados, e quando possível *ompA* e *ompB*. Um isolado foi identificado como *Rickettsia bellii* e o segundo, como *R. parkeri*. Dos 174 *A. nodosum* testados para a presença de riquetsia, 41 (23.6%) foram infectados por *R. parkeri* e 10 (5.7%) por *R. bellii*. A diversidade de aves era maior em áreas do controle, mas varias espécies as aves e também dos carrapatos responderam ao fragmentação em modo diferente. *A. nodosum* parasitando as aves era mais abundante em áreas pequenas, enquanto

A. cajennense encontrado nas aves e em vida livre, era mais abundante em áreas do controle e em áreas grandes. Essas diferenças de ocorrência dos carrapatos podem ser relacionadas com a abundância dos hospedeiros principais e fatores ambientais como temperatura e humidade nas áreas amostradas. Isso é um resultado da fragmentação do habitat que ilustra a falta de equilíbrio entre relações de parasitos, hospedeiros e ambiente.

Palavras-chave: Carrapatos. Aves. *Rickettsia*. Fragmentação. Mata Atlântica.

ABSTRACT

OGRZEWALSKA, M. H. **The effect of the forest fragmentation on the infestation of wild birds with ticks and infection by *Rickettsia* spp in the region Pontal do Paranapanema, SP.** [Efeito da fragmentação florestal na infestação por carrapatos (Acari: Ixodidae) em aves e infecção de carrapatos por *Rickettsia* spp no Pontal do Paranapanema, SP]. 2009. 105 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

Habitat fragmentation causes reduction in species diversity, affecting the relationships between vertebrate hosts and parasites. We tested if patch size has influence on forest birds diversity, which could affect the prevalence of ticks on wild birds. During two years we conducted a bird survey, using mist net in 12 areas: four small patches (80-140 ha), four large ones (480-1850 ha) and four control areas within the Morro do Diabo State Park (~36000 ha). Free living ticks were also collected through dragging the vegetation. Identified ticks were tested in the laboratory for the presence of *Rickettsia*. A total of 1,745 birds were captured representing 80 species from 24 families. A total of 223 (13%) birds were found infested by immature forms of ticks: 1,800 larvae and 539 nymphs. The most common tick parasitizing birds was *Amblyomma nodosum*. Other species, *Amblyomma coelebs*, *Amblyomma cajennense*, *Amblyomma ovale*, *Amblyomma longirostre*, *Amblyomma calcaratum*, and *Amblyomma naponense* were found sporadically. Among free-living ticks collected in the environment, *A. cajennense* was the most common followed by *A. coelebs*, *A. naponense*, *Amblyomma brasiliense* and *Haemaphysalis juxtakochi*. From two individuals of *A. nodosum* ticks, rickettsiae were isolated in Vero cell culture and the isolates were molecularly characterized using the rickettsial genes *gltA*, *htrA*, and when possible also *ompA* and *ompB*. The first isolate was identified as *Rickettsia bellii* and the second isolate, was identified as *R. parkeri*. Among 174 *A. nodosum* tested, 41 (23.6%) were found to be infected by *R. parkeri* and 10 (5.7%) were infected with *R. bellii* strain Pontal. Bird diversity was higher in control and large areas, but various species of birds and also ticks responded in different way for fragmentation. *A. nodosum* parasitizing birds was more abundant in small patches, while *A. cajennense* found on birds and in the

environment was more abundant in control and large areas. These differences of the occurrence of ticks could be related with the abundance of main vertebrate hosts, or environmental conditions such as temperature and humidity in sampled areas. This is a result of fragmentation of habitat and shows the lack of balance between the environment-host-parasite relationships.

Key words: Ticks. Birds. *Rickettsia*. Fragmentation. Atlantic Forest.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Carrapatos (Ixodida).....	13
1.2 Aves como hospedeiros de carrapatos	15
1.3 Gênero <i>Rickettsia</i>	16
1.4 Patógenos associadas com carrapatos encontrados nas aves	18
2 OBJETIVOS	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	21
3.1 Área do estudo.....	21
3.2 Desenho amostral.....	23
3.3 Captura de aves silvestres.....	23
4 Coleta dos carrapatos	25
3.5 Identificação de carrapatos	25
3.6 Extração do DNA dos carrapatos	26
3.7 PCR e sequenciamento	26
3.8 Detecção de riquetsias nos carrapatos	27
3.8.1 Detecção de riquetsias nos carrapatos através do teste de hemolinfa	27
3.8.2 Detecção de riquetsias nos carrapatos através do sequenciamento	28
3.9 Isolamento em cultivo de células Vero	29
3.10 Análises filogenéticas	30
3.11 Fatores da paisagem e ambientais que podem influenciar na prevalência dos carrapatos nas aves	30

3.12 Análises estatísticas	31
4 RESULTADOS	34
4.1 A diversidade de aves no Pontal.....	34
4.2 Prevalência e composição dos carrapatos encontrados nas aves.....	39
4.3 Composição dos carrapatos encontrados em vida livre.....	48
4.4 Variações sazonais dos carrapatos	49
4.5 Riquetsias infectando carrapatos	52
4.5.1 Caracterização dos isolados.....	52
4.5.2 Análises filogenéticas do isolado NOD	53
4.5.3 Detecção de riquetsias em carrapatos	58
5 DISCUSSÃO	62
5.1 Espécies de carrapatos encontrados na região Pontal do Paranapanema.....	62
5.2 Influência da fragmentação na abundância dos carrapatos.....	65
5.3 Infecção dos carrapatos por riquetsias	69
6 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	75
APÊNDICES.....	92

1 INTRODUÇÃO

O aumento global da população humana e suas implicações podem gerar a emergência de novas doenças infecciosas e a re-emergência de outras (DASZAK; CUNNINGHAM; HAYATT, 2000; DASZAK; CUNNINGHAM, 2003). Entre essas implicações, a degradação do ambiente natural e a fragmentação do habitat têm causado grande pressão sobre a vida silvestre.

A fragmentação do habitat é definida como um processo durante o qual uma grande área de habitat é transformada em vários fragmentos com áreas menores, isolados uns dos outros através da matriz (FAHRIG, 2003). A fragmentação resulta na perda do habitat causando impacto negativo sobre a biodiversidade (FAHRIG, 2003). Vários estudos mostram que algumas variáveis da paisagem fragmentada, como o tamanho, grau de isolamento, e qualidade dos fragmentos influenciam a diversidade e riqueza das espécies (FAHRIG, 2003).

Um exemplo claro dessa modificação é a destruição e fragmentação da Mata Atlântica. Números recentes mostram que hoje restam entre 11 e 16% da vegetação nativa (RIBEIRO et al., 2009). Sabe-se que a alteração do habitat pode proporcionar a manifestação de epidemias de doenças de diversas maneiras, por exemplo, causando mudanças na diversidade de espécies, no comportamento dos animais, nas populações de vetores, na virulência de patógenos e nos padrões de transmissão de doenças (DOBSON; FOUFOPOULOS, 2001). As epidemias em animais selvagens, a emergência e re-emergência de várias doenças, portanto, são consequências que crescem em importância e urgência, tornando necessário o melhor entendimento da biologia, ecologia e das relações entre os patógenos e seus hospedeiros invertebrados e vertebrados (DOBSON; FOUFOPOULOS, 2001; GALVANI, 2003).

Mudanças na cobertura florestal são conhecidas pelo impacto significativo sobre a diversidade e funcionamento de ecossistemas (SALA et al., 2000). Foi verificado que mudanças no uso de terra, como o desmatamento para a instalação de plantações, pastagens e reflorestamento têm influências na transmissão de doenças dos vetores artrópodes para os seres humanos (SERVICE, 1991; SUTHERST, 2004). Essas mudanças afetam também a diversidade dos hospedeiros afetando relações entre os hospedeiros e vetores o que pode levar ao

aumento da exposição às doenças assim como foi verificado para a Doença de Lyme (OSTFELD; KEESING, 2000; SCHMIDT; OSTFELD, 2001) Febre Ocidental (EZENWA et al., 2006), encefalite (RIZZOLI et al., 2009) e a Febre Maculosa (LABRUNA, 2009).

A exposição a doenças também pode estar associada à movimentação de animais domésticos em áreas naturais, em que, doenças específicas desses animais são transmitidas para animais silvestres e vice-versa. Da mesma forma, pode acontecer de animais selvagens, tanto aves quanto mamíferos, ao se deslocarem entre fragmentos de habitat, utilizando diferentes elementos da paisagem, dispersarem e/ou adquirirem agentes infecciosos (por exemplo, carrapatos) ao entrar em contato com animais domésticos (ROJAS; MARINI; COUTINHO, 1999).

1.1 Carrapatos (Ixodida)

Entre todos os vetores invertebrados, os carrapatos são o segundo grupo de artrópodes ectoparasitos, depois dos mosquitos, a transmitirem maior variedade de patógenos aos seres humanos, e ocupam o primeiro lugar em relação ao número de patógenos transmitidos aos animais domésticos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Os carrapatos são membros da classe Arachnida e são separados em dois grupos principais: Ixodidae (carrapatos duros) e Argasidae (carrapatos moles). Ixodidae é a família mais importante do ponto de vista da ameaça aos seres humanos e abrange 683 espécies do total de, pelo menos, 867 espécies de carrapatos descritos (JONGEJAN; UILENBERG, 2004).

Os carrapatos duros são distribuídos em quase todo o mundo, são parasitas obrigatórios, embora passem apenas uma pequena parte da vida nos animais hospedeiros (SONENSHINE, 1993; ANDERSON, 2002). Na fase não-parasitária vivem em ambientes variados como florestas, savanas ou pastagens (SONENSHINE, 1993; ANDERSON, 2002). Os estágios de desenvolvimento dos carrapatos incluem ovo, larva, ninfa e a fase adulta. Em cada estágio, os carrapatos alimentam-se apenas uma vez. Eclodidos dos ovos, as larvas procuram os hospedeiros vertebrados, geralmente animais pequenos (ANDERSON, 2002). Utilizando um hipostômio como âncora, a larva fixa-se à pele e alimenta-se de

sangue e fluídos dos tecidos. Depois de alguns dias de alimentação, ingurgita-se e desprende-se do hospedeiro. Nessa fase não-parasitária, se transforma em ninfa e, em seguida, procura por um novo hospedeiro e, novamente, após a alimentação, cai e muda para o estágio adulto. Os adultos parasitam os animais maiores. Finalmente, a fêmea ingurgitada fertilizada pelo macho coloca grande quantidade de ovos e morre (ANDERSON, 2002). Dessa maneira, para que um carrapato tenha sucesso de desenvolvimento e reprodução num ambiente é necessário que todos os hospedeiros para as diferentes fases da vida estejam presentes, além das condições microclimáticas.

No Brasil foram descritas 56 espécies de carrapatos dos quais 33 espécies pertencem ao gênero *Amblyomma*. No entanto, a biologia e ecologia de muitas delas são pouco conhecidas (LABRUNA et al., 2002b). A maioria dessas espécies precisa de três hospedeiros para completar o ciclo de vida. Os estágios imaturos geralmente apresentam baixa especificidade parasitária, infestando uma grande variedade de répteis, aves e pequenos mamíferos. A especificidade dos adultos varia de acordo com a espécie de carrapato. *Amblyomma cajennense*, por exemplo, parasita principalmente cavalos, antas e capivaras, mas podem ser encontrados em diversos outros animais domésticos e silvestres (ESTRADA-PENA; GUGLIEMONE; MANGOLD, 2004). *Amblyomma calcaratum* e *Amblyomma nodosum*, diferentemente, mostram alta especialização para mamíferos da ordem Xanarthra (GUGLIEMONE et al., 2003).

A atividade dos carrapatos durante o ano, medida pela densidade dos diferentes estágios, é variável. Por exemplo, no Brasil, no estado de São Paulo e em Minas Gerais, os estágios imaturos de *A. cajennense* são predominantes no outono e inverno, enquanto os estágios adultos são predominantes na primavera e verão (OLIVEIRA et al., 2000; LABRUNA et al., 2002a; ESTRADA-PENA; GUGLIEMONE; MANGOLD, 2004). Padrões de atividades semelhantes foram observados também para carrapatos do gênero *Ixodes* (ARZUA; BARROS-BATTESTI, 1999; BARROS-BATTESTI et al., 2000).

A competência dos carrapatos e hospedeiros vertebrados em relação à habilidade em adquirir, manter e transmitir patógenos na natureza é variável. Por exemplo, alguns carrapatos podem adquiri-los, porém não são capazes de transmiti-los para um hospedeiro vertebrado (SONENSHINE; MATHER, 1994). A competência pode variar dentro da população de um vetor eficiente, sendo influenciado por

fatores intrínsecos e extrínsecos. Entre os intrínsecos, está a condição fisiológica que influencia na infecção e transmissão de patógenos. Já as variáveis relacionadas às populações do hospedeiro, tais como: abundância, área de vida, sazonalidade, padrões de alimentação, susceptibilidade do hospedeiro a doenças e as condições ambientais são exemplos de fatores extrínsecos (SONENSHINE; MATHER, 1994).

1.2 Aves como hospedeiros de carrapatos

Sabe-se que algumas espécies de carrapatos duros parasitam as aves, especialmente nos estágios imaturos, embora a detecção de parasitas em estágios adultos também seja verificada (ARZUA; BARROS-BATTESTI, 1999; EVANS; MARTINS; GUGLIELMONE, 2000; SANTOS-SILVA et al., 2006; BARROS-BATTESTI et al., 2003; JORDAN et al., 2009). Geralmente, esses artrópodes são encontrados em uma variedade de espécies de Passeriformes, principalmente aquelas que forrageiam próximas ao chão. Esse comportamento facilita a infestação por carrapatos (ANDERSON et al., 1986; SANTOS-SILVA et al., 2006; SCOTT et al., 2001). No entanto, os carrapatos são encontrados também nas espécies não-Passeriformes (KURTENBACH et al., 1998, MOCK; APPLIGATE; FOX, 2001, FRENOT et al., 2001). O grupo comum que é parasitado pelos carrapatos são as aves marinhas (DUFFY, 1983). Devido esse grupo ter normalmente o comportamento migratório, cobrindo longas distâncias, são responsáveis pela distribuição global de muitos patógenos transmitidos por carrapatos (OLSEN; JAENSON; BERGSTRÖM, 1995; BJÖERSDORFF et al., 2001). As aves migratórias de primavera também são envolvidas na dispersão de carrapatos para novas áreas (HOOGSTRAAL, 1961; WEISBROD; JOHNSON, 1989, KLICH; LANKESTER; WU, 1996).

Estudos demonstraram que existe uma grande variação entre diferentes regiões geográficas na prevalência dos carrapatos nas aves (ex. OLSEN; JAENSON; BERGSTRÖM, 1995; MARINI et al., 1996; ROJAS; MARINI; COUTINHO, 1999; ISHIGURO et al., 2000; ARZUA et al., 2003, OGRZEWALSKA et al., 2008). Essas diferenças dependem do tipo de vegetação, e da ecologia e comportamento dos hospedeiros. Por exemplo, as aves que habitam diferentes

extratos da floresta não têm as mesmas taxas de infestação; algumas famílias, devido a comportamentos de forrageamento diferenciados são mais, ou menos, infestados pelos carrapatos (MARINI et al., 1996). Algumas espécies de aves que possuem a capacidade de deslocar-se entre fragmentos de floresta podem espalhar os carrapatos entre as áreas (ROJAS; MARINI; COUTINHO, 1999).

No Brasil, aves silvestres foram verificadas como hospedeiros importantes para os estágios imaturos e adultos de *Ixodes auritulus* e *Ixodes paranaensis* (ARZUA; BARROS-BATTESTI, 1999; ARZUA et al., 2003; BARROS-BATTESTI et al., 2003), e para os estágios imaturos de *Amblyomma aureolatum* (ARZUA et al., 2003), *Amblyomma longirostre*, *A. calcaratum*, e *A. nodosum* (ARAGÃO, 1911; ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005; LABRUNA et al., 2007d). Outras espécies de carrapatos foram registradas esporadicamente em aves como formas imaturas de *Ixodes fuscipes* (ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005), *Amblyomma parkeri* (OGRZEWALSKA et al., 2008), *A. cajennense* (ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005; LABRUNA et al., 2007d), *Amblyomma tigrinum* (ARAGÃO, 1936; EVANS; MARTINS; GUGLIELMONE, 2000), *Amblyomma pseudoconcolor*, e *Amblyomma brasiliense* (ARAGÃO, 1911), e adulto de *Rhipicephalus sanguineus* (SZABÓ et al., 2008), e *Haemaphysalis juxtakochi* (ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005).

1.3 Gênero *Rickettsia*

As bactérias do gênero *Rickettsia* (Rickettsiales; Rickettsiaceae) são pequenas (variando de 0,8 a 2,0 µm de comprimento e de 0,3 a 0,5 µm de largura), possuem a forma bacilar e são Gram-negativas. São parasitas intracelulares obrigatórios que se multiplicam no citoplasma, ou às vezes, dentro dos núcleos de várias células hospedeiras eucarióticas (RAOULT; ROUX, 1997). Filogeneticamente essas bactérias são relacionadas com endossimbioses intercelulares como *Wolbachia* e organelas intracelulares como as mitocôndrias (EMELYNANOW, 2001).

Riquétsias são amplamente distribuídas por todas as partes do mundo e são mantidas na natureza através de vetores artrópodes (carrapatos, piolhos, pulgas e ácaros) através da transmissão transovariana (PAROLA; DAVOUST; RAOULT,

2005). Eles também são capazes de infectar vertebrados, o que, por sua vez, permite a infecção de novas linhas de vetores através desses hospedeiros. Seres humanos também podem adquirir esses microorganismos através do parasitismo e das fezes dos artrópodes infectados, no entanto, o papel do ser humano no ciclo natural das riquetsias é secundário, exceto para uma única espécie com distribuição mundial, a *Rickettsia prowazekii* (RAOULT; ROUX, 1997).

Riquetsias são responsáveis por numerosos casos de doenças e mortes entre os seres humanos. Os registros dos sintomas dessas doenças causadas por alguns desses patógenos datam de séculos atrás, como o tifo epidêmico, causado por *R. prowazekii* e o tifo murino causado por *Rickettsia typhi* (RAOULT; ROUX, 1997).

Tradicionalmente, as riquetsias patogênicas foram divididas em dois grupos principais: o grupo tifo (GT), composto por *R. prowazekii* e *R. typhi*; e o grupo da febre maculosa (GFM), composto por pelo menos 20 espécies (RAOULT; ROUX, 1997; AZAD; BEARD, 1998). O GT consiste em riquetsias associadas aos insetos (piolhos e pugas) enquanto as bactérias incluídas no GFM são geralmente transmitidas por carrapatos duros, com exceção de *Rickettsia felis* e *Rickettsia akari* que são associadas com pulgas e ácaros, respectivamente (AZAD; BEARD, 1998). No entanto, a classificação das riquetsias ainda não está bem resolvida, e estudos recentes sugerem a existência de pelo menos cinco grupos distintos, e a ocorrência e diversidade das riquetsias é muito mais ampla do que era presumido (WEINERT et al., 2009).

Durante os últimos 10 anos se observou o aumento do número de novas espécies de riquetsias com patogenicidade não conhecida ou suspeita, que foram isoladas de várias espécies de artrópodes, sanguessugas e amebas, (PERLMAN; HUNTER; ZCHORI-FEIN, 2006; WEINERT et al., 2009). Algumas espécies de riquetsias, inicialmente identificadas como não patogênicas mostraram-se patogênicas em casos recentes de infecção humana como a *Rickettsia slovacae*, *Rickettsia aeschlimannii* e *Rickettsia massiliae* (PAROLA; DAVOUST; RAOULT, 2005). No caso de *Rickettsia parkeri*, detectada em carrapatos em 1939, sua patogenicidade foi apenas comprovada recentemente, 65 anos após sua descoberta (PADDOCK et al., 2004). Esses fatos indicam que cada espécie nova de riquetsia descoberta apresenta o potencial patogênico para os seres humanos (AZAD; BEARD, 1998).

No Brasil, a Febre Maculosa, causada por *Rickettsia rickettsii*, é a mais importante rickettsiose transmitida por carrapatos (LABRUNA, 2009). Fora do Brasil, a Febre Maculosa ocorre também nos Estados Unidos, Colômbia, México, Canadá, Panamá, Costa Rica, Argentina e Brasil (PADDOCK et al., 2008a; LABRUNA, 2009). Os vetores principais no Brasil são os carrapatos *A. cajennense* e *A. aureolatum* (ESTRADA-PENA; GUGLIEMONE; MANGOLD, 2004; PINTER; LABRUNA, 2006). Há evidências que essa doença exista em algumas partes do Brasil há pelo menos 100 anos (LEMOS et al., 2001). Análises de amostras de soros de seres humanos, de animais de estimação, e de investigações diretas em carrapatos atestaram a presença de *R. rickettsii* nos seguintes estados: Espírito Santo (SEXTON et al. 1993), Minas Gerais (LEMOS; MACHADO; COURA, 1994; LEMOS et al., 1997a, b; GALVÃO et al., 2002, 2003; GUEDES et al., 2005; VIANNA et al., 2008), São Paulo (LEMOS et al., 2001; LIMA et al., 2003; HORTA et al., 2004, 2007; NASCIMENTO et al., 2005; SANGIONI et al., 2005; PINTER et al., 2008) e Rio de Janeiro (ROZENTAL et al., 2002).

Além de *R. rickettsii*, estudos recentes no Brasil mostraram a presença de várias outras riquetsias com patogenicidade não conhecida ou suspeita, isoladas das várias espécies de carrapatos: *R. parkeri*, *Rickettsia bellii*, *Candidatus Rickettsia amblyommii* e *Rickettsia rhipicephali* (LABRUNA et al., 2004a, b, c, 2005a, 2007c, PINTER; LABRUNA, 2006; SILVEIRA et al., 2007; OGRZEWALSKA et al., 2008; LABRUNA, 2009).

1.4 Patógenos associadas com carrapatos encontrados nas aves

Aves podem servir como reservatórios, para algumas doenças transmitidas por carrapatos, o que foi verificado, por exemplo, para *Borrelia burgdorferi* em numerosos estudos conduzidos em diferentes países (ANDERSON et al., 1986; OLSEN; JAENSON; BERGSTRÖM, 1995; KURTENBACH et al., 1998, ISHIGURO; TAKADA; MASUZAWA, 2000, SCOTT et al., 2001). Frequentemente as aves cumprem o papel de carregadores mecânicos dos ectoparasitos hematófagos. E através desse processo, muitos grupos de vírus (p. ex. o vírus da encefalite), bactérias (*Anaplasma phagocytophilum*, *B. burgdorferi*, *Borrelia lonestari*, *Coxiella*

burnetii) e protozoários (*Babesia microti*) são distribuídos pelo planeta (HOOGSTRAAL, 1961; BJÖERSDORFF et al., 2001; HUBALEK, 2004; IOANNOU et al., 2009; JORDAN et al., 2009).

Entre as riquetsias, *R. rickettsii* foi encontrada em carrapatos parasitando as aves nos Estados Unidos (SONENSHINE; CLIFFORD, 1973); e *Rickettsia aeschlimanii*, *Rickettsia helvetica* e *R. massiliae* foram encontradas em carrapatos nas aves em Portugal (SANTOS-SILVA et al., 2006). Ioannou et al. (2009) encontrou *Rickettsia* sp em carrapatos coletados de aves migratórias em Cyprus. No Brasil, *Candidatus* 'Rickettsia amblyommii' e *R. bellii* foram encontradas em *A. longirostre* coletados de aves silvestre na Mata Atlântica (PINTER, 2007; OGRZEWALSKA et al., 2008).

2 OBJETIVOS

O objetivo geral deste estudo é verificar como o tamanho dos fragmentos florestais influencia a distribuição e abundância de espécies de carrapatos em aves e no ambiente na região do Pontal do Paranapanema e avaliar a infecção desses parasitos por bactérias do gênero *Rickettsia*.

As hipóteses nulas deste estudo são:

1. O tamanho do fragmento florestal não influencia a diversidade e riqueza das aves.
2. O tamanho do fragmento florestal não influencia a distribuição e abundância de diferentes espécies de carrapatos encontrados em aves e em vida livre
3. O tamanho do fragmento florestal não influencia a prevalência das espécies de riquetsias nos carrapatos encontrados em aves e em vida livre.
4. A riqueza e diversidade de aves não influenciam na prevalência de carrapatos em aves.
5. A riqueza e diversidade de aves não influenciam na prevalência das espécies de riquetsias nos carrapatos encontrados em aves.
6. O extrato que habitam as aves, não influencia na infestação e prevalência de carrapatos nas aves.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área do estudo

A área de estudo localiza-se no extremo oeste do Estado de São Paulo (Figura 1). Em 1942, essa região tinha quase 100% de cobertura florestal e foi declarada área protegida como a “Grande Reserva do Pontal” com mais de 260.000 ha de extensão (LEITE, 1998). No entanto, durante os últimos 50 anos, a região passou por vários conflitos entre proprietários de terra e intenso desmatamento para obtenção de madeira e para a criação de pastagens (VALLADARES-PADUA; PÁDUA; CULLEN, 2002). Hoje restaram somente 17% da cobertura original da região e a unidade da paisagem predominante no Pontal (a matriz) é composta por pastos, plantações de cana-de-açúcar e pequenos assentamentos rurais (LEITE, 1998; Apêndice F). O maior fragmento florestal remanescente é o Parque Estadual do Morro do Diabo que totaliza uma área de aproximadamente 36.000 ha, constituindo o maior remanescente de floresta semidecidual no Estado de São Paulo. O Parque foi estabelecido como Reserva Florestal do Morro do Diabo em 1941 e transformado em Parque Estadual em 1986 para proteção de importantes espécies da fauna e flora (LEITE, 1998). Outros remanescentes florestais da região variam aproximadamente de 2 a 2000 ha que apresentam diferenças quanto ao grau de perturbação (DITT, 2002).

O Pontal do Paranapanema situa-se na província geomorfológica conhecida por Planalto Ocidental de São Paulo e caracteriza-se pela presença de colinas amplas, com declividade baixa (<15%) e interflúvios de 4 km² (PONÇANO et al., 1981).

O clima da região tem um período seco no inverno (de Julho ao Setembro) e úmido no verão (de Dezembro a Março) com temperaturas variando de 22°C no inverno e 40°C no verão. A precipitação anual média é de 1500 mm (MENEGUETTE, 2001).

O tipo de vegetação é denominado Floresta Estacional Semidecidual, sendo influenciada por duas estações climáticas marcantes; tropical, com chuvas de verão

intensas, e subtropical, com seca fisiológica causada pelas temperaturas baixas do inverno (VELOSO; RANGEL-FILHO; LIMA, 1991).

Figura 1 – Localização da área do estudo. O mapa em menor escala mostra a Estado de São Paulo. O mapa mais detalhado ilustra a Região do Pontal do Paranapanema com o Parque Estadual Morro do Diabo (floresta contínua) e a paisagem fragmentada com os fragmentos escolhidos para o levantamento

3.2 Desenho amostral

Para avaliar a infestação das aves com os carrapatos, esses parasitas foram coletados em 12 áreas florestais, categorizados pelo tamanho: quatro grandes (480-1850 ha), quatro pequenos (80-140 ha) e quatro áreas dentro do Parque Estadual do Morro do Diabo que foram tratadas como controle. Embora haja uma variação no tipo de uso do solo no entorno dos fragmentos, a maior parte deles é cercado por monoculturas de pastos e/ou cana de açúcar (Tabela 1). Os dados de qualidade dos fragmentos a serem estudados foram coletados em trabalho anterior (UEZU, 2007). As áreas foram escolhidas após visitas ao local de estudo, levantamentos anteriores e através de mapas disponíveis da região (Figura 1).

Tabela 1 – Características dos fragmentos florestais selecionados para este estudo, Pontal do Paranapanema

Fragmentos	Área (ha)	Tamanho	Isolamento^a
P1	80.0	Pequeno	a1965
P2	114.5	Pequeno	a1965
P3	134.0	Pequeno	1972
P4	140.0	Pequeno	a1965
G1	480.0	Grande	a1965
G2	1154.9	Grande	a1962
G3	1282.3	Grande	ap1978
G4	1850.0	Grande	a1978
C1 ^b	35830.4	Controle	Contínuo
C2 ^b	35830.4	Controle	Contínuo
C3 ^b	35830.4	Controle	Contínuo
C4 ^b	35830.4	Controle	Contínuo

a: tempo de isolamento da área (a1962: antes de 1962; a1965: antes de 1965; 1972: em 1972; a1978: antes de 1978; ap1978: após 1978)

b: área controle, dentro do Parque Estadual do Morro do Diabo

3.3 Captura de aves silvestres

As aves silvestres foram capturadas utilizando 15 redes de neblina 2,5 x 12 m, com malha de 36 mm. As redes foram dispostas em trilhas nos fragmentos florestais e áreas controle. As aves foram coletadas durante dois anos (2005 e 2006)

sendo amostradas as quatro estações em cada ano: julho/agosto (inverno), novembro/dezembro (primavera), janeiro/fevereiro (verão) e abril/maio (outono).

Durante cada visita em uma área, a captura era realizada por 1,5 dias. As redes eram abertas aproximadamente as 6: 00 h da manhã e fechadas as 18: 00 h, no primeiro dia. No segundo dia, as redes eram fechadas ao meio-dia. Esse período foi baseado em um estudo piloto (maio de 2004) em quatro das áreas consideradas neste estudo (P1, G2, G4, C3) que visou determinar o tempo mais eficiente para a captura das aves. As vistorias eram feitas a cada uma hora. Todas as aves, após a identificação específica, determinação do sexo (quando possível) e coleta das medidas padrão (peso, comprimento total, comprimento das asas, tarso, bico e cauda), eram examinadas quanto à presença dos carrapatos.

No total, tivemos um esforço amostral (número de redes x número total de horas) de cerca de 2000 horas rede em cada fragmento, 23 688 horas-rede no total das áreas (Tabela 2).

Tabela 2 - Esforço amostral em cada área estudada - Pontal do Paranapanema - 2005-2006

Fragmentos	Horas	Horas-rede
C1	123	1768
C2	120	1800
C3	169	2472
C4	124	1845
G1	125	1813
G2	127	1872
G3	140	2048
G4	126	1843
P1	200	2750
P2	130	1950
P3	127	1746
P4	118	1727
Total	1629	23688

4 Coleta dos carrapatos

Os carrapatos foram coletados das aves e do ambiente nas áreas estudadas. Todos os parasitos encontrados nas aves foram coletados com o uso de pinças e depositados em frascos plásticos com folhas frescas e fechados com rolhas com pequenos orifícios para entrada de ar. Os carrapatos mantidos vivos nessas condições eram levados ao laboratório para identificação taxonômica. Os carrapatos da vegetação foram coletados com flanela branca (100 cm x 50 cm), passando-a por entre a vegetação até a altura de 50 cm como descrito na literatura (OLIVEIRA et al., 2000). Em cada área amostral era percorrida uma distância de 1000 m ao longo das trilhas, inclusive pelos trechos em que foram montadas as redes de neblina.

3.5 Identificação de carrapatos

No laboratório todos os ectoparasitos foram identificados em nível de espécie. Devido ao fato de não existir uma chave taxonômica disponível para a identificação das espécies em formas de larvas e ninfas de *Amblyomma* spp, essas foram alimentadas em laboratório até atingirem o estágio adulto, através da infestação artificial em coelhos domésticos (LABRUNA et al., 2002b).

Os adultos foram identificados através de chaves taxonômicas (JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006) e, depois, examinados quanto à presença de riquetsia, utilizando-se primeiro o teste de hemolinfa e, em seguida, os métodos moleculares.

3.6 Extração do DNA dos carrapatos

Dos carrapatos que morreram (ninfas e larvas ingurgitadas) antes da muda foi feita a extração do DNA conforme adaptação do protocolo descrito por Sangioni et al. (2005). O material final extraído era congelado a -20°C até a análise por PCR.

Das larvas não ingurgitadas coletadas das aves, o DNA foi extraído através de fervura. Cada larva após ser triturada foi submetida à fervura com tampão TE em 100°C, durante 20 min (HORTA et al., 2005). Das aves que foram infestadas por grande número de larvas (>50) foram feitos agrupamentos: cinco conjuntos com cinco larvas cada para cada ave infestada.

Das larvas coletadas no ambiente, o DNA também foi extraído pela fervura como descrito acima, em também analisado em conjuntos de cinco larvas.

Para todos *A. nodosum* que foram testados pelo teste de hemolinfa (veja abaixo) também foram extraídos o DNA. As patas dos artrópodes eram cortadas no gelo, para evitar o descongelamento do carrapato, e, em seguida, trituradas com 40 µl de tampão TE e submetidas à fervura em 100°C durante 20 min. O DNA extraído era congelado à -20°C até o momento da análise por PCR (HORTA et al., 2005).

3.7 PCR e sequenciamento

As amostras foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) usando os primers 16S+ (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCAAGT-3') e 16S- (5'-GCTCAATGATTTTTTAAATTGCTGT-3') para amplificar um fragmento de ≈460-bp do gene mitocondrial 16S rDNA (MANGOLD; BARGUES; MAS-COMA, 1998). Os produtos foram purificados com o produto comercial ExoSAP-IT (USB Corporation) e submetidos a reações de sequenciamento utilizando o kit Big Dye Terminator (Perkin Elmer) de acordo com especificações do fabricante, em sequenciador modelo ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Perkin Elmer).

Finalmente, as sequências obtidas eram comparadas com as sequências parciais de gene mitocondrial 16S rDNA dos carrapatos disponíveis no GenBank

através do programa NCBI Nucleotide BLAST searches (ALTSCHUL et al., 1990) e com as sequências obtidas durante esse estudo das seguintes espécies de carrapatos adultos (localidade em parênteses): *Amblyomma brasiliense* (Teodoro Sampaio: 22°53'S, 52°09'W), *A. calcaratum* (Piraju, São Paulo: 23°11' S, 49°23'W), *Amblyomma naponense* (Teodoro Sampaio: 22°53'S, 52°09'W), *Amblyomma oblongoguttatum* (Monte Negro, Rondonia: 10°17'S, 63°14'W), *A. cajennense* (Teodoro Sampaio: 22°53'S, 52°09'W), *Amblyomma incisum* (Ribeirão Grande, São Paulo: 24°18'S, 48°24'W), e *Amblyomma coelebs* (Teodoro Sampaio: 22°53'S, 52°09'W) e *A. nodosum* (adulto da larva da fêmea ingurgitada coletada no Parque Zoológico de São Paulo, São Paulo, 23°40'S, 45°44'W)

Voucher das espécies coletadas durante este estudo foram depositados na “Coleção Nacional de Carrapatos” (CNC) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (números de acesso: 879, 885, 891, 1171-1251).

3.8 Detecção de riquetsias nos carrapatos

3.8.1 Detecção de riquetsias nos carrapatos através do teste de hemolinfa

Os estágios imaturos dos carrapatos coletados nas aves que mudaram para os estágios adultos e os adultos dos carrapatos encontrados na vegetação foram submetidos ao teste de hemolinfa para verificar se continham em seus hemócitos estruturas morfolologicamente compatíveis com as riquetsias (BURGDORFER, 1970). De cada carrapato, a parte distal da pata era cortada e uma gota de hemolinfa colocada em lâmina de vidro e os carrapatos eram imediatamente congelados a -80°C para posterior processamento. As lâminas com hemolinfa fixada eram coradas pelo método de Giménez (1964) e examinadas ao microscópio óptico com aumento de 1200x.

3.8.2 Detecção de riquetsias nos carrapatos através do sequenciamento

Todas as amostras de *A. nodosum* dos quais foram extraídos os DNA foram submetidas ao PCR conforme descrito por Labruna et al. (2004c). Foram usados os primers CS-78 e CS-323 que amplificam o fragmento de 401-bp do gene da proteína citrato sintase (*gltA*), existente em todas as espécies de riquetsias. Para amostras com resultados positivo para o PCR foi feito outro PCR da amostra para o fragmento de 532-bp do gene da 190-kDa, da proteína externa de membrana (*ompA*), presente somente nas riquetsias do Grupo da Febre Maculosa-GFM (Tabela 3). Em etapa posterior, os produtos do PCR, os fragmentos de *ompA* ou de *gltA* (para amostras positivas somente para esse gene) eram sequenciados.

Todos os produtos do PCR foram purificados e sequenciados como descrito acima. Sequências parciais obtidas foram submetidas às análises do BLAST (ALTSCHUL et al., 1990) para determinar a similaridade dos nossos isolados com outras riquetsias.

Tabela 3 – Os marcadores usados para PCR para detecção de riquetsias nos carrapatos

(continua)

Pares dos primers	Genes e primers	Sequência dos marcadores (5' → 3')	Referência
<i>gltA</i>			
1	CS-78	GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT	Labruna et al. (2004c)
	CS-323	GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	Labruna et al. (2004c)
2	CS-239	GCTCTTCTCATCCTATGGCTATTAT	Labruna et al. (2004c)
	CS-1069	CAGGGTCTTCGTGCATTCTT	Labruna et al. (2004c)
<i>ompA</i>			
3	Rr190.70F	ATGGCGAATATTTCTCCAAAA	Regnery et al. (1991)
	Rr190.602R	AGTGCAGCATTCGCTCCCCCT	Regnery et al. (1991)

(Conclusão)			
Pares dos primers	Genes e primers	Sequência dos marcadores (5' → 3')	Referência
	<i>ompB</i>		
4	120-M59	CCGCAGGGTTGGTAACTGC	Roux; Raoult (2000)
	120-807	CCTTTTAGATTACCGCCTAA	Roux; Raoult (2000)
	<i>htrA</i>		
	17K-5	GCTTTACAAAATTCTAAAAACCATATA	Labruna et al. (2004b)
5	17K-3	TGTCTATCAATTCACAACCTTGCC	Labruna et al. (2004b)

3.9 Isolamento em cultivo de células Vero

Dois carrapatos *A. nodosum* que deram resultados positivos para o teste da hemolinfa foram submetidos à técnica de isolamento de riquetsias em cultura de células Vero, conforme descrito por Kelly, Raoult e Mason (1991). As células Vero foram inoculadas com homogenatos dos carrapatos e incubadas a 28°C. A percentagem das células infectadas foi monitorada através da coloração de Giménez das células raspadas da monocamada inoculada. Após o estabelecimento do isolado no laboratório, que é determinado após três passagens, cada um alcançando >90% das células infectadas, o DNA das bactérias era extraído das células infectadas como descrito pelo Labruna et al. (2004c). Para a caracterização completa do isolado, amostras foram submetidas ao PCR para os genes *gltA*, *ompA*, *ompB*, *htrA*. Para a amplificação do gene *gltA* se usou os pares dos marcadores CS-78 com CS-323 e CS-239 com CS-1069 para obter um fragmento maior de 1148-bp (Tabela 3). O gene *ompB* codifica a proteína da membrana, e o gene *htrA* 17-kDa codifica a proteína específica para o gênero. Os produtos foram purificados e sequenciados como descrito previamente e depositados no GenBank .

3.10 Análises filogenéticas

Dos isolados foram feitas análises filogenéticas no programa MEGA versão 4 (TAMURA et al., 2007). As sequências parciais do DNA obtidas (*gltA*, *htrA*, *ompB* e *ompA*) foram alinhadas com as sequências correspondentes de outras espécies de riquetsias disponíveis no GenBank usando o algoritmo CLUSTAL W. Para cada gene analisado foi construída a árvore filogenética através do método de *neighbor-joining* usando o modelo Kimura-2-parâmetros. Os intervalos de confiança para cada ramo da árvore foram determinados com análises de 'bootstrap' com 1000 reamostragem.

3.11 Fatores da paisagem e ambientais que podem influenciar na prevalência dos carrapatos nas aves

Os mapas da região foram produzidos através da classificação de imagens de satélite Landsat, do ano de 2003. Esse mapa contém informações das seguintes categorias de ocupação do solo: mata primária, mata secundária, pastagem, vegetação de várzea, áreas urbanas e agricultura. A partir desse mapa foram calculados índices da paisagem representando diferentes atributos dos fragmentos (UEZU, 2007). Para o cálculo desses índices foi utilizado o programa Fragstats. Alguns desses índices foram usados no presente trabalho para verificar a influência da paisagem na riqueza e diversidade de aves e na prevalência de carrapatos.

Para as análises dos dados preliminares foram utilizados dois índices da paisagem, um que representa o tamanho dos remanescentes florestais e outro que corresponde ao grau de isolamento desses: $\log(\text{AREA})$, logaritmo do tamanho dos fragmentos e $\log(\text{PROX})$, logaritmo do índice de proximidade, com raio de 2 km, calculado através da fórmula:

$$PROX = \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{d_i^2}$$

a – área (tamanho) dos fragmentos que interceptam um raio de 2 km a partir da borda do fragmento estudado

d- distância, borda-a-borda, entre esses fragmentos.

O índice varia de 0 a infinito. Quanto menor o valor desse índice, maior é a distância dos remanescentes no entorno do fragmento estudado e/ou menor é o tamanho desses, ou seja, maior é o grau de isolamento do fragmento.

Adicionalmente aos índices de paisagem, verificamos também a influência da estrutura da vegetação sobre a riqueza e diversidade de aves e prevalência dos carrapatos. Esses dados de vegetação também foram obtidos em outro estudo na região (UEZU, 2007) e foram coletados ao longo das trilhas utilizadas para a captura das aves e coleta dos carrapatos do ambiente. Os dados foram coletados em 13 parcelas de 5 x 5 m, distribuídas à uma distância de 10 m ao longo das trilhas, totalizando 39 parcelas por área amostral. Em cada parcela, coletaram-se os seguintes dados: porcentagem de cobertura herbácea; porcentagem de área ocupada por emaranhado, e a abertura de dossel, estimada com densiômetro esférico. Adicionalmente, ao longo das trilhas, foi contado o número de árvores emergentes (com alturas maiores que 15 m). Essas variáveis foram usadas para ordenação das áreas amostradas em uma análise de componentes principais – ACP. O primeiro eixo dessa análise, que explicou cerca de 42% da variação dos dados, serviu como índice da estrutura da vegetação, que deve refletir a qualidade dos fragmentos para as espécies.

No entanto, análises preliminares mostraram que o grau de proximidade e a qualidade do habitat pouco influenciam na diversidade e riqueza das aves e na prevalência dos carrapatos, enquanto o tamanho dos fragmentos tem papel essencial. Portanto, somente a variável tamanho dos fragmentos foi usada nas análises finais apresentadas neste estudo.

3.12 Análises estatísticas

Para cada área estudada foram calculadas a riqueza e a diversidade das aves. Para a primeira, foi considerado o número total de espécies encontradas, enquanto para a diversidade foi usada a fórmula do índice de Shannon:

$$H' = -\sum_{i=1}^n p_i \ln p_i$$

Onde, p_i – proporção de indivíduos de uma espécie em relação ao total da comunidade.

A prevalência de carrapatos nas aves (número de indivíduos hospedeiros infestados com parasitas dividido pelo número de hospedeiros examinados) foi calculada considerando diferentes espaços amostrais: prevalência de cada espécie de carrapatos entre as ordens Passeriformes e não Passeriformes; prevalência total de carrapatos (independentemente da espécie) em relação ao número total de aves capturadas; prevalência de carrapatos (independentemente da espécie) por espécie de ave; e prevalência de cada espécie de carrapato em cada espécie de ave.

A fim de verificar as respostas à redução do habitat das espécies de aves amostradas foram usados diferentes critérios: para as espécies que ocorreram em mais de sete sítios amostrais, aplicamos o teste não paramétrico Kruskal-Wallis: se a abundância da espécie era mais alta nas áreas controle e fragmentos grandes, em relação aos fragmentos menores, a espécie era considerada afetada pela fragmentação; se a abundância da espécie se mantivesse constante entre diferentes categorias de tamanho de fragmentos, a espécie era considerada não afetada e, as espécies que aumentavam em abundância em fragmentos menores, eram consideradas beneficiadas. Para as espécies que ocorriam apenas entre quatro e sete sítios amostrais, essa categorização foi feita com base na presença e ausência. Se a espécie tivesse sido capturada apenas nas áreas contínuas e fragmentos grandes era classificada, como afetada; se estivesse presente nas três classes de fragmentos era considerada não afetada e se estivesse presente apenas nas áreas menores era considerada beneficiada. Para as espécies que ocorreram em menos de quatro sítios amostrais ou que não era possível determinar com clareza suas respostas pelos critérios acima, o efeito da fragmentação foi determinado a partir de dados de outro estudo na região (UEZU, 2007) que utilizou a metodologia de ponto fixo, para o levantamento da avifauna (Apêndice A).

Para comparar a variação de riqueza e diversidade de aves e a prevalência de carrapatos em aves entre as categorias de tamanho das áreas amostrais (Hipóteses 1 e 2, respectivamente) foi usado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis.

A influência da riqueza e diversidade de aves sobre a prevalência de carrapatos para cada área estudada (Hipótese 4) foram verificadas através de modelos de regressão linear simples, aplicando as análises de resíduos a fim de verificar o atendimento dos pressupostos desse teste. Para essa análise foram tiradas as médias dos valores da área controle, sendo essas representadas por apenas um ponto na regressão. Para verificar a influência do tamanho dos fragmentos florestais sobre a abundância dos carrapatos no ambiente (Hipótese 2) foi usado o mesmo procedimento descrito acima.

A relação entre o estrato da floresta que as espécies de aves silvestres utilizam e a taxa de infestações por carrapatos (Hipótese 6) foi verificada pelo teste de independência, usando a estatística de qui-quadrado.

Por razões logísticas, não era possível criar cada carrapato imaturo coletado num coelho exclusivo, portanto, não podemos excluir a possibilidade de co-infecção de carrapatos no laboratório durante a alimentação. Por essa razão, comparamos as taxas de infecção entre os carrapatos coletados das aves já ingurgitados e não alimentados nos coelhos e os carrapatos coletados das aves não ingurgitados e alimentados nos coelhos. Para tanto, foi aplicado o teste de independência usando a estatística de qui-quadrado.

4 RESULTADOS

4.1 A diversidade de aves no Pontal

No total, foram feitas 1745 capturas de aves que representam 80 espécies de 24 famílias, excluindo as recapturas do mesmo dia. A ordem Passeriformes foi a mais comum representando 86,1% (1485 indivíduos) de todas as aves capturadas. A espécie mais frequente foi *Thamnophilus pelzenii*, sendo capturados 317 indivíduos, seguida por *Conopophaga lineata* e *Arremon flavirostris* (Figura 2).

Figura 2 - As 20 espécies de aves mais comuns nos levantamentos de rede de neblina - Pontal do Paranapanema

As espécies apresentaram diferentes respostas à paisagem fragmentada (Figura 3) e podemos categorizar essas respostas em três classes: 1. as mais sensíveis, que só estavam presentes no parque e/ou nos fragmentos grandes; 2. as não afetadas, que não alteraram suas abundâncias entres as áreas amostradas; e 3. aquelas beneficiadas, que aumentaram em abundância em fragmentos menores.

(Continua)

Figura 3 – Comparação da abundância de espécies de aves entre as categorias de fragmentos classificados de acordo com o tamanho - Pontal do Paranapanema

(Conclusão)

Figura 3 – Comparação da abundância de espécies de aves entre as categorias de fragmentos classificados de acordo com o tamanho - Pontal do Paranapanema

Apenas a espécie *T. pelzenii* esteve presente em todas as áreas amostradas. Outras espécies como: *Corythops delalandi*, *Malacoptila striata*, *Schiffornis virescens*, *Xenops rutilans*, *Nonnula rubecula*, *Hemitriccus orbitatus* e *Chiroxiphia caudata* estiveram presentes apenas na área controle ou em fragmentos grandes, sendo, portanto, afetadas pela fragmentação. Outras mantiveram os mesmo níveis de abundância entre as áreas, tais como: *T. pelzenii*, *C. lineata*, *A. flavirostris*, *Basileuterus culicivorus*, *Basileuterus flaveolus* e *Sittasomus griseicapillus*. E algumas parecem se beneficiar em ambientes fragmentados, estando apenas presente ou aumentando em abundância nos fragmentos pequenos, entre elas: *Cnemotriccus bimaclatus*, *Hemitriccus margaritaceiventer*, *Formicivora rufa* e *Cyanocorax chrysops* (Apêndice A e B).

Embora a metodologia de captura por redes de neblina selecione, em geral, espécies de sub-bosque, as espécies coletadas apresentam diferentes preferências quanto ao uso dos estratos da floresta (PARKER; STOTZ; FITZPATRICK, 1996), tendo sido amostradas desde espécies que usam os estratos mais baixos até aquelas de estratos médios e dossel (Apêndice A e B).

Apesar das respostas variadas das espécies à paisagem fragmentada, em geral, a diversidade da comunidade de aves de sub-bosque é influenciada pelo tamanho dos fragmentos, apresentando-se mais baixa em fragmentos menores ($H_{(12,2)} = 6,27$; $p=0,043$) (Figura 4). Para a riqueza, encontramos tendência semelhante (Figura 5), embora o nível de significância tenha sido marginal, ficando acima do critério adotado ($H_{(12,2)} = 5,88$; $p=0,053$).

Figura 4 – Comparação da diversidade de aves entre fragmentos classificados de acordo com o tamanho - Pontal do Paranapanema

Figura 5 – Comparação da riqueza de aves entre fragmentos classificados de acordo com o tamanho - Pontal do Paranapanema

4.2 Prevalência e composição dos carrapatos encontrados nas aves

Do total de aves capturadas, 223 (13 %, 28 espécies) estavam infestadas por carrapatos. Foram coletados 2339 ectoparasitos exclusivamente em estágios imaturos (1800 larvas e 539 ninfas) do gênero *Amblyomma*, compondo sete espécies: *A. cajennense*, *A. calcaratum*, *A. coelebs*, *A. longirostre*, *A. naponense*, *A. nodosum* e *A. ovale*. 2305 carrapatos (98,6%) foram coletados de Passeriformes, enquanto somente 34 carrapatos (1,4%) de não-Passeriformes (Tabela 4). Apesar do número de espécies não-Passeriformes ser pequeno em relação aos Passeriformes, impedindo análises estatísticas, é possível verificar que parece haver uma diferença entre os carrapatos que parasitam esses dois grupos de aves (Tabela 4). Enquanto *A. cajennense*, *A. calcaratum* e *A. coelebs* parecem ter preferência pelos não-Passeriformes, *A. nodosum* alimenta-se mais frequentemente de Passeriformes.

Tabela 4 - Prevalência de diferentes espécies de carrapatos em aves Passeriformes e não-Passeriformes, Pontal do Paranapanema

Espécies	Não Passeriformes	Passeriformes
<i>Amblyomma cajennense</i>	0.33	0.02
<i>Amblyomma calcaratum</i>	0.11	0.00
<i>Amblyomma coelebs</i>	0.44	0.03
<i>Amblyomma longirostre</i>	0.00	0.03
<i>Amblyomma naponense</i>	0.00	0.01
<i>Amblyomma nodosum</i>	0.11	0.90
<i>Amblyomma ovale</i>	0.00	0.03

Considerando a prevalência total de carrapatos, foi encontrada uma relação inversa dessa com a diversidade e riqueza de aves ($R^2 = 0,51$; $p = 0,032$ e $R^2 = 0,44$; $p = 0,052$, respectivamente). Quanto maior a diversidade e riqueza das aves menor a prevalência dos carrapatos (Figuras 6 e 7).

Figura 6 – Relação entre a riqueza das aves e a prevalência dos carrapatos nas aves - Pontal do Paranapanema

Figura 7 - Relação entre a diversidade das aves e a prevalência dos carrapatos nas aves - Pontal do Paranapanema

A prevalência dos carrapatos nas aves varia de 0 a 100%. Considerando somente as espécies de aves em que foram capturados mais do que três indivíduos, a prevalência mais alta foi observada em: *Thamnophilus caerulescens* (Passeriformes: Thamnophilidae), prevalência de 44,4%; *T. pelzenii* (Passeriformes: Thamnophilidae), 30,9%; *C. lineata* (Passeriformes: Conopophagidae), 28,7%; *Momotus momota* (Coraciiformes: Momotidae), 22,2%; *Baryphthengus ruficapillus* (Coraciiformes: Momotidae), 14,5%; *Casiornis rufa* (Passeriformes: Tyrannidae), 14,2%; *Dysithamnus mentalis* (Passeriformes: Formicariidae), 13,9%; *C. fuscatus* (Passeriformes: Tyrannidae), 12,8%; *B. flaveolus* (Passeriformes: Parulinae), 12,5%; e *Elaenia mesoleuca* (Passeriformes: Tyrannidae), 12,5% (Tabela 5).

As aves geralmente foram infestadas por poucos carrapatos, considerando 23 espécies de aves do total de 28 infestadas, a intensidade média foi inferior a 3 carrapatos por ave. Para as outras cinco espécies esses valores foram de: 66,8 carrapatos/ave para *A. flavirostris* (Passeriformes: Emberizidae), 29,6 para *C. lineata*, 10 para *Leptotila verreauxi* (Columbiformes: Columbidae), 4,9 para *T. caerulescens*, e 3,4 para *T. pelzenii* (Tabela 5).

Tabela 5 – Carrapatos coletados nas aves - Pontal do Paranapanema - 2005-2006

(Continua)

Aves						Carrapatos		
Ordem	Família	Espécie	No. infestadas/ No. capturas	Prevalência	Intensidad e média	Espécie	No. larvas	No. ninfas
Galliformes	Cracidae	<i>Penelope superciliaris</i>	1/2	50.0	1.0	<i>A. cajennense</i>		1
Columbiformes	Columbidae	<i>Leptotila verreauxi</i>	1/21	4.8	10.0	<i>A. coelebs</i>	10	
Strigiformes	Strigidae	<i>Glaucidium brasilianum</i>	1/11	9.1	1.0	<i>Amblyomma</i> sp		1
		<i>Glaucidium minutissimum</i>	1/3	33.3	1.0	<i>Amblyomma</i> sp		1
Coraciiformes	Momotidae	<i>Baryphthengus ruficapillus</i>	11/76	14.5	2.0	<i>A. nodosum</i>		2
						<i>A. cajennense</i>		7
						<i>A. calcaratum</i>		2
						<i>A. coelebs</i>		10
						<i>Amblyomma</i> sp		1
		<i>Momotus momota</i>	2/9	22.2	1.0	<i>A. cajennense</i>		1
						<i>A. coelebs</i>		1
Piciformes	Bucconidae	<i>Malacoptila striata</i>	1/19	5.3	1.0	<i>A. coelebs</i>		1
Passeriformes								
	Dendrocolaptidae	<i>Dendrocolaptes platyrostris</i>	1/13	7.7	1.0	<i>A. nodosum</i>		1
		<i>Sittasomus griseicapillus</i>	1/66	1.5	3.0	<i>A. longirostre</i>	3	
	Thamnophilidae	<i>Thamnophilus caerulescens</i>	8/18	44.4	4.9	<i>A. nodosum</i>		28
						<i>Amblyomma</i> sp		11
		<i>Thamnophilus pelzenii</i>	98/317	30.9	3.6	<i>A. nodosum</i>	1	208
						<i>A. cajennense</i>		1
						<i>A. coelebs</i>	1	7
						<i>A. ovale</i>		3
						<i>A. naponense</i>		1
						<i>Amblyomma</i> sp	62	55

						(Conclusão)		
Aves						Carrapatos		
Ordem	Família	Espécie	No. infestadas/ No. capturas	Prevalência	Intensidade média	Espécie	No. larvas	No. ninfas
	Formicariidae	<i>Dysithamnus mentalis</i>	6/43	13.9	1.7	<i>A. nodosum</i>		8
						<i>A. cajennense</i>		1
						<i>Amblyomma</i> sp		1
	Conopophagidae	<i>Conopophaga lineata</i>	43/150	28.7	29.6	<i>A. nodosum</i>	56	112
						<i>A. coelebs</i>		1
						<i>Amblyomma</i> sp	1077	25
	Tyrannidae	<i>Casiornis rufa</i>	1/7	14.2	3.0	<i>A. nodosum</i>		3
		<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	10/78	12.8	1.2	<i>A. nodosum</i>		5
						<i>A. longirostre</i>		1
						<i>Amblyomma</i> sp		5
		<i>Elaenia mesoleuca</i>	1/8	12.5	1.0	<i>Amblyomma</i> sp		1
		<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	1/10	10.0	3.0	<i>A. nodosum</i>	1	1
		<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	2/27	7.4	1.0	<i>A. longirostre</i>	1	1
		<i>Platyrinchus mystaceus</i>	4/94	4.3	1.0	<i>A. nodosum</i>		4
	Pipridae	<i>Pipra fasciicauda</i>	4/145	2.8	1.0	<i>A. longirostre</i>		1
						<i>Amblyomma</i> sp		3
	Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	1/18	5.5	2.0	<i>A. nodosum</i>		1
						<i>A. coelebs</i>		1
		<i>Turdus subalaris</i>	1/2	5.0	1.0	<i>A. ovale</i>		1
	Emberizidae	<i>Arremon flavirostris</i>	9/147	6.1	66.8	<i>A. nodosum</i>		9
						<i>A. cajennense</i>		1
						<i>A. ovale</i>	5	1
						<i>Amblyomma</i> sp	583	2

(Conclusão)

Aves						Carrapatos		
Ordem	Família	Espécie	No. infestadas/ No. capturas	Prevalência	Intensidade média	Espécie	No. larvas	No. ninfas
	Thraupidae	<i>Habia rubica</i>	1/13	7.7	1.0	<i>A. nodosum</i>		1
		<i>Trichothraupis melanops</i>	1/1	100	1.0	<i>A. nodosum</i>		1
		<i>Formicivora rufa</i>	1/1	100	1.0	<i>A. nodosum</i>		1
	Parulidae	<i>Basileuterus culicivorus</i>	2/69	2.9	1.5	<i>A. nodosum</i>		3
		<i>Basileuterus flaveolus</i>	8/64	12.5	1.0	<i>A. nodosum</i>		6

No total, 9 larvas e 237 ninfas coletadas das aves foram criadas até o estágio adulto em laboratório e identificadas como: *A. nodosum* (6 larvas, 222 ninfas), *A. longirostre* (2 larvas, 3 ninfas), *A. cajennense* (4 ninfas), *A. calcaratum* (2 ninfas), *A. coelebs* (1 larva, 2 ninfas), e *A. ovale* (4 ninfas). Paralelamente, 69 larvas e 192 ninfas coletadas das aves foram identificadas através de análises moleculares e foram identificadas como: *A. nodosum* (52 larvas, 172 ninfas), *A. longirostre* (2 larvas), *A. cajennense* (8 ninfas), *A. coelebs* (10 larvas, 19 ninfas), *A. naponense* (1 ninfa), e *A. ovale* (5 larvas, 1 ninfa).

No total, 1722 larvas e 111 ninfas morreram antes de mudar para o estágio adulto e não conseguimos extrair DNA suficiente para amplificação e análises moleculares e, por isso, esses carrapatos foram identificados como *Amblyomma* spp.

Para as análises moleculares das larvas e ninfas coletadas das aves e também das larvas encontradas no ambiente foram amplificados os fragmentos 16S rDNA de comprimento de 372 ± 40 bp (de 206 até 406-bp) os quais se mostraram 97.9-100% idênticos aos fragmentos correspondentes das seqüências de estágios adultos das espécies *Amblyomma* disponíveis no GenBank ou das seqüências de espécies *Amblyomma* nos estágios adultos que identificamos durante nosso estudo (Tabela 6).

Tabela 6 - Carrapatos coletados das aves e do ambiente identificados através de análises moleculares do fragmento 16S rDNA - Pontal do Paranapanema

Estágio (No.)	Espécie do carrapato com a seqüência com similaridade mais alta (fonte ^a)	% similaridade ^b
Larvas (52)	<i>Amblyomma nodosum</i> (este estudo)	99,9
Ninfas (172)	<i>Amblyomma nodosum</i> (este estudo)	99,9
Larvas (2)	<i>Amblyomma longirostre</i> (EU805564)	99,7
Larvas (31)	<i>Amblyomma cajennense</i> (este estudo)	100
Ninfas (8)	<i>Amblyomma cajennense</i> (este estudo)	100
Larvas (16)	<i>Amblyomma coelebs</i> (este estudo)	100
Ninfas (10)	<i>Amblyomma coelebs</i> (este estudo)	100
Larvas (2)	<i>Amblyomma naponense</i> (este estudo)	100
Ninfa (1)	<i>Amblyomma naponense</i> (este estudo)	100
Larvas (4)	<i>Amblyomma brasiliense</i> (este estudo)	100
Larva (5)	<i>Amblyomma ovale</i> (AF541255)	97,9
Ninfa (1)	<i>Amblyomma ovale</i> (AF541255)	97,9

^a Números de acesso no GenBank ou sequências obtidas de carrapatos adultos neste estudo.

^b comparação com a sequência correspondente ao estágio adulto do carrapato

Os números de acesso ao GenBank das sequências de nucleotídeos do fragmento 16S rDNA mitocondrial obtidos neste estudo são: FJ424399 (*A. brasilense* adulto), FJ424400 (*A. calcaratum* adulto), FJ424401 (*A. longirostre* larva), FJ424402 (*A. nodosum* ninfa) FJ424403 (*A. nodosum* adulto), FJ424404 (*A. cajennense* adulto), FJ424405 (*A. incisum* adulto), FJ424406 (*A. naponense* adulto), FJ424407 (*A. oblongoguttatum* adulto), FJ424408 (*A. coelebs* adulto) e FJ424409 (*A. ovale* larva).

Entre as aves Passeriformes, *A. nodosum* foi o ectoparasita mais comum; foram encontradas 58 larvas e 394 ninfas dessa espécie parasitando 16 espécies de aves, totalizando 170 indivíduos dos 223 infestados por carrapatos (Tabela 5). As espécies das aves que habitam o estrato mais baixo da floresta foram mais infestadas por esse carrapato do que as espécies de estratos mais altos ($X^2 = 9$, $df = 1$, $p = 0.003$, Figura 8). A prevalência dessa espécie também é influenciada pelo tamanho dos fragmentos, sendo mais elevada em fragmentos menores ($H_{(12,2)} = 6,64$; $p = 0,036$; Figura 9).

Figura 8 - As espécies das aves silvestres que habitam estrato baixo e alto em comparação de infestação por *A. nodosum* – Pontal do Paranapanema

Figura 9 – Comparação da prevalência de *A. nodosum* em aves entre fragmentos classificados de acordo com o tamanho - Pontal do Paranapanema

Outras espécies de carrapatos infestando Passeriformes foram *A. longirostre* em quatro espécies de aves; *A. cajennense*, *A. coelebs* e *A. ovale* em três espécies de aves; e *A. naponense* em uma espécie. Em não-Passeriformes, a espécie mais comum foi *A. coelebs* em quatro espécies de aves, e *A. cajennense* em três espécies, seguidos de *A. calcaratum* e *A. nodosum*, encontrados em uma espécie de ave (Tabela 5).

Embora a ocorrência dessas outras espécies tenha sido verificada em poucos fragmentos, impedindo testar estatisticamente o efeito da fragmentação sobre as populações dessas espécies, verificamos que parece haver diferença na resposta dessas espécies à paisagem fragmentada. *A. cajennense* e *A. longirostre* foram encontrados nas três classes de tamanho de fragmentos; *A. coelebs*, *A. calcaratum*, e *A. naponense* apenas nos controles e/ou fragmentos grandes e *A. ovale* mais frequentemente nos fragmentos pequenos (Apêndice D).

4.3 Composição dos carrapatos encontrados em vida livre

No ambiente foram encontradas cinco espécies de carrapatos (Tabela 7). *A. cajennense* foi a espécie mais abundante representando 65,5% de todos os carrapatos identificados, sendo encontrada em quase todos os fragmentos, exceto P2. Embora sua abundância variasse sendo maior nas áreas controle e nos fragmentos grandes ($R^2 = 0,70$; $p < 0,01$; Figura 10).

Outras espécies de vida livre, *A. coelebs*, *A. naponense*, *A. brasiliense*, e *Haemaphysalis juxtakochi* foram encontradas esporadicamente representando somente 4,2% de todos os carrapatos identificados. 30,3% de carrapatos de vida livre foram identificados somente até o gênero *Amblyomma*. Apenas duas espécies coletadas no ambiente, *A. brasiliense* e *H. juxtakochi*, não foram encontradas parasitando as aves.

Da mesma forma que para os carrapatos encontrados nas aves, os carrapatos encontrados no ambiente parecem responder de forma diferenciada ao tamanho dos fragmentos. *A. coelebs*, *A. brasiliense* e *A. naponense*, foram encontrados nas áreas do controle e mais frequentemente em fragmentos grandes e em algumas áreas pequenas. Já para *H. juxtakochi*, foram encontrados poucos indivíduos nas diferentes categorias de fragmentos amostrados (Apêndice C).

Tabela 7 - Espécies de carrapatos encontradas no ambiente - Pontal do Paranapanema

Espécie	No. de carrapatos			
	Adultos	Ninfas	Grupos de larvas	Total (%)
<i>Amblyomma cajennense</i>	227	1,992	31	2,250 (65.5)
<i>Amblyomma coelebs</i>	8	47	6	61 (1.8)
<i>Amblyomma brasiliense</i>	9	22	4	35 (1.0)
<i>Amblyomma naponense</i>	7	34	2	43 (1.3)
<i>Haemaphysalis juxtakochi</i>	-	4	-	4 (0.1)
<i>Amblyomma</i> spp	-	1,010	32	1,042 (30.3)
Total	251	3,109	75	3,435 (100)

Figura 10 – Variação da abundância de *A. cajennense* em função do tamanho dos fragmentos florestais - Pontal do Paranapanema

4.4 Variações sazonais dos carrapatos

Foram observadas flutuações sazonais para as duas espécies de carrapatos mais comuns: *A. nodosum*, que apresentou a prevalência mais alta nas aves (Figura 11), e *A. cajennense*, mais abundante no ambiente (Figura 12). Como as larvas de *A. nodosum* foram encontradas em somente 4 indivíduos, os valores de prevalências foram calculados somente para os estágios de ninfa. A prevalência mais baixa de ninfas foi observada durante a primavera e verão (7 e 8%, respectivamente), aumentando no outono e inverno (12% e 13%, respectivamente). Para *A. cajennense* encontrados no ambiente, as larvas foram mais abundantes durante o outono e inverno, ninfas durante o inverno e primavera e os adultos durante a primavera e verão (Figura 12).

Figura 11 – Variações sazonais da prevalência de ninfas de *A. nodosum* em aves durante as estações do ano, entre dezembro de 2004 até dezembro de 2006 - Pontal do Paranapanema

Figura 12 - Variações sazonais de *A. cajennense* coletados no ambiente durante as estações do ano, entre dezembro de 2004 até dezembro de 2006 - Pontal do Paranapanema. L – grupos das larvas; N- ninfas; A – adultos

4.5 Riquetsias infectando carrapatos

4.5.1 Caracterização dos isolados

De dois carrapatos *A. nodosum* foram isoladas riquetsias em células Vero. De um isolado foi amplificado um fragmento do gene *gltA*, com 1095-bp, e um fragmento do gene *htrA*, com 499-bp. Nenhum produto foi obtido com o uso de primers para fragmentos do gene *ompA* nem *ompB*. Os fragmentos obtidos deram similaridades mais altas com alguns isolados de *R. bellii* (com homologia de 99,7%–100%). Por exemplo, a sequência de *gltA* do novo isolado apresentou similaridade de 99,9% (1094/1095) com *R. bellii* de *Dermacentor variabilis* dos Estados Unidos (U59716), 99,8% (1093/1095) com *R. bellii* isolada de *Amblyomma scalpturatum* (AY375161) e *Amblyomma dubitatum* (AY362703) do Brasil e 99,8% (1093/1095) com *R. bellii* isolada de *A. neumanni* da Argentina (DQ517288). A sequência do fragmento do gene *htrA* apresentou similaridade de 100% (499/499) com *R. bellii* isolada de *D. variabilis* dos Estados Unidos (CP000849) e *A. dubitatum* do Brasil (AY362702), 99,8% (496/497) com *R. bellii* isolada de *A. neumanni* da Argentina (DQ517289). A cepa foi desenhada como *R. bellii* cepa Pontal e as sequências obtidas foram depositadas no GenBank com os números de acesso EU567181 para o fragmento de *gltA* e EU567182 para o fragmento *htrA*.

Do outro isolado foram obtidos as sequências dos fragmentos do gene *gltA* (1056-bp), *htrA* (504-bp), *ompB* (776-bp) e *ompA* (491-bp). O fragmento do gene *gltA* mostrou maior identidade com *Rickettsia parkeri* (99,9 % - 1055/1056); U59732), 99,8% (1054/1056) com *Rickettsia sibirica* (U59734) e *Rickettsia* sp (AF178035), 99,7% (1053/1056) com *Rickettsia mongolotimonae* (DQ097081) e *Rickettsia* sp (U59735) e 99,6% (1052/1056) com *Rickettsia* sp cepa COOPERI (AY362704).

O produto do sequenciamento do fragmento do gene *htrA* mostrou 99,4% (501/504) identidade com *R. rickettsii* (CP000766), 99,2% (500/504) com *Rickettsia conori* (AE008675), 99,1% (491/495) com *R. sibirica* (AF445384) e 99,5% (487/489) com *R. parkeri* (EF102237). A sequência de *htrA* de *Rickettsia* sp cepa COOPERI

(AY362705) depositada no GenBank é mais curta do que a obtida no isolado deste estudo, mas apresentou alta similaridade (99,4% - 392/394). O produto do sequenciamento do gene *ompB* mostrou 99,2% (770/776) de similaridade com *R. parkeri* (AF123717) e *R. africae* (AF123706). Não há no GenBank a sequência do gene *ompB* da *Rickettsia* SP cepa COOPERI para comparação com nosso isolado. O produto do gene *ompA* mostrou identidade maior 98,3% (483/491) com *Rickettsia* SP cepa COOPERI (AY362706) e 97,9% (482/492) com *R. parkeri* (U43802), *Rickettsia africae* (U83436), *R. slovaca* (U433808) outras *Rickettsia* spp do Grupo de Febre Maculosa (AF548338, U43805, U43796, AF311959). O isolado foi desenhado como NOD e as sequências foram depositadas no GenBank com os seguintes números de acesso: EU567177, EU567178, EU567179, EU567180 para os fragmentos *gltA*, *htrA*, *ompB* e *ompA*, respectivamente.

4.5.2 Análises filogenéticas do isolado NOD

As análises filogenéticas inferidas da sequência parcial do gene *gltA* (1059-bp) mostraram que a isolado NOD tem a similaridade maior com *R. parkeri* (U59732; valor do “bootstrap” de 64%; Figura 13) e análises baseadas na sequência parcial do gene *htrA* (312-bp) mostraram que a cepa NOD tem a similaridade maior (valor do “bootstrap” de 67%) com várias riquetsias do Grupo da Febre Maculosa, incluindo *R. parkeri* e *Rickettsia* sp cepa COOPERI (Figura 14)

As análises filogenéticas inferidas da sequência parcial do gene *ompB* (777-bp) mostraram que o isolado NOD tem a similaridade maior (valor do “bootstrap” de 92%) com *R. parkeri* (AF123717) e as análises inferidas do fragmento do gene *ompA* (490-bp) mostraram que o isolado NOD tem a similaridade maior (valor do “bootstrap” de 80%) com *Rickettsia* sp cepa COOPERI (AY362706; Figuras 15 e 16, respectivamente).

Figura 13 - Árvore filogenética de *R. parkeri* cepa NOD mostrando a relação entre as diferentes riquetsias do GFM, baseada nas seqüências do fragmento do gene *gltA* (N-J, Kimura 2 parâmetros, bootstrap 1000). A barra de escala representa uma substituição por 100 posições de nucleotídeos

Figura 14 - Árvore filogenética de *R. parkeri* cepa NOD mostrando a relação entre as diferentes riquetsias do GFM, baseada nas sequências do fragmento do gene *htrA* (N-J, Kimura 2 parâmetros, bootstrap 1000). A barra de escala representa uma substituição por 50 posições de nucleotídeos

Figura 15 - Árvore filogenética de *R. parkeri* cepa NOD mostrando a relação entre as diferentes riquetsias do GFM, baseada nas sequências do fragmento do gene *ompB* (N-J, Kimura 2 parâmetros, bootstrap 1000). A barra de escala representa uma substituição por 50 posições de nucleotídeos

Figura 16 - Árvore filogenética de *R. parkeri* sp. cepa AL mostrando a relação entre as diferentes riquetsias do GFM, baseada nas sequências do fragmento do gene *ompA* (N-J, Kimura 2 parâmetros, bootstrap 1000). A barra de escala representa uma substituição por 50 posições de nucleotídeos

4.5.3 Detecção de riquetsias em carrapatos

Para o teste de hemolinfa, foram submetidos 183 carrapatos coletados das aves que foram criados até o estágio adulto: 174 *A. nodosum*, 4 *A. cajennense*, 3 *A. ovale*, 1 *A. coelebs* e 1 *A. calcaratum*.

Apenas amostras de *A. nodosum* foram positivas para o teste de hemolinfa: 30 amostras deram resultados positivos, 43 resultados duvidosos e 101 resultados negativos.

Todos os *A. nodosum* (174) que passaram pelo teste de hemolinfa, foram testados também, por PCR, para a presença dos genes *gltA* e *ompA*. Dessas amostras, 10 (5,7%) foram positivas somente para o gene *gltA*. As sequências foram idênticas com as obtidas do isolado *R. bellii* cepa Pontal (Tabela 8).

41 (23,6 %) *A. nodosum* foram positivos para a presença dos dois genes: *gltA* e *ompA*. Os produtos foram sequenciados e mostraram 100% identidade com a sequência obtida do isolado NOD (Tabela 8). Nenhum carrapato foi infectado por duas espécies de riquetsias.

Ninfas de *A. nodosum* infectadas com *R. parkeri* cepa NOD foram encontradas nas áreas C1, G2, G3, P1, P2, P4, e com *R. bellii* cepa Pontal nas áreas G2, G3, P1, P4 (Apêndice E).

Tabela 8 – Infecção por riquetsias em *A. nodosum* coletados das aves - Pontal do Paranapanema

Ordem	Família	Espécie	No. de <i>A. nodosum</i> testado pelo PCR	<i>Rickettsia parkeri</i>	<i>Rickettsia bellii</i>
Passeriformes	Dendrocolaptidae	<i>Dendrocolaptes platyrostris</i>	1	-	-
		<i>Thamnophilus caerulescens</i>	8	5	1
	Themnophilidae	<i>Thamnophilus punctatus</i>	97	16	6
		<i>Dysithamnus mentalis</i>	1	-	-
		<i>Conopophaga lineata</i>	51	16	2
	Tyrannidae	<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	1	-	-
		<i>Platyrinchus mystaceus</i>	1	-	1
		<i>Casiornis rufa</i>	2	2	-
	Emberizinae	<i>Arremon flavirostris</i>	6	1	-
	Thraupinae	<i>Habia rubica</i>	1	-	-
	Parulinae	<i>Basileuterus culicivorus</i>	2	-	-
		<i>Basileuterus flaveolus</i>	3	1	-
	Total		174	41	10

O teste de independência usando a estatística de χ^2 mostrou não haver diferença entre a infecção dos carrapatos *A. nodosum* coletados já ingurgitados nas aves e não alimentados nos coelhos e os carrapatos alimentados nos coelhos ($\chi^2=1,12$; df =1; p=0,29, Figura 17)

Figura 17 - Número de carrapatos *A. nodosum* coletados nas aves em estágios de ninfas criados em coelhos até o estágio adulto e não criados em coelhos (coletados já engurgitados) e o número de carrapatos infectados e não infectados por riquetsias

Entre os carrapatos de vida livre somente os adultos foram submetidos ao teste de hemolinfa. Dos 239 carrapatos adultos analisados nenhum deu resultado positivo para o teste de hemolinfa (Tabela 9).

Tabela 9 – Número de carrapatos coletados no ambiente que passaram pelo teste de hemolinfa - Pontal do Paranapanema

Espécie	Sexo	
	Macho	Femea
<i>A. cajennense</i>	102	111
<i>A. coelebs</i>	-	12
<i>A. brasiliense</i>	4	4
<i>A. naponense</i>	4	2
Total	110	129

5 DISCUSSÃO

5.1 Espécies de carrapatos encontrados na região Pontal do Paranapanema

Neste estudo se registrou sete espécies do gênero *Amblyomma*, em estádios imaturos, parasitando aves silvestres na região do Pontal do Paranapanema. O carrapato mais comum encontrado nas aves foi o *A. nodosum*. Essa espécie é amplamente distribuída na América do Sul; ocorre no México, Venezuela, Bolívia, Colômbia, Nicarágua, Costa Rica, Guatemala, Panamá, Trinidad, Argentina e no Brasil (MS, MT, MG, GO, SP, RJ, PR) (JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; GUGLIELMONE et al., 2003). Os estágios adultos parasitam geralmente os tamanduás: *T. tetradactyla* e *M. tridactyla* (ARAGÃO, 1936; FAIRCHILD; KOHLS; TIPTON, 1966; JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; LABRUNA et al., 2007d). Os estágios imaturos dessa espécie foram verificados algumas vezes nas aves (JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972). Labruna et al. (2007d) achou ninfas em alguns Passeriformes: *D. mentalis* e *Manacus manacus*. Essa primeira espécie também foi encontrada infestada por *A. nodosum* no presente estudo. Adicionalmente, nosso trabalho registra pela primeira vez essa espécie em outras 16 espécies de aves (15 Passeriformes e 1 Coraciiformes).

Contrariamente ao encontrado nas aves, nenhum *A. nodosum* foi coletado no ambiente. Outros estudos mostram que essa espécie é raramente encontrada em vida livre (PETERKA 2008, SZABÓ; MARTINS; SANTOS, 2007b). Esse fato pode estar relacionado com duas hipóteses: 1 – sincronização da atividade dos carrapatos e seus hospedeiros e 2 – o estrato da floresta onde o carrapato procura seu hospedeiro. Como os carrapatos de vida livre foram capturados durante o horário da manhã, nos poderíamos não ter achado as formas adultas de *A. nodosum* porque seus hospedeiros principais, os tamanduás, têm o hábito noturno e são geralmente inativos durante o dia (SHAW; MACHADO-NETO; CARTER, 1987; RODRIGUES; MARINHO-FILHO, 2003). Talvez, os adultos de *A. nodosum* tenham o mesmo padrão de atividade. Correlações semelhantes a essa foram encontradas para algumas espécies de carrapatos em outros estudos (SONENSHINE, 1993; SCHULZE; JORDAN 2003). Contrariamente, seria esperado que as ninfas e larvas

de *A. nodosum* exibissem atividades diurnas, assim como as aves hospedeiras capturadas em nosso estudo. Nesse caso, esses estágios imaturos poderiam procurar os hospedeiros no solo, diminuindo a probabilidade de serem encontradas através da metodologia de arrasto da flanela em cima de vegetação. Aliado a isso, sabe-se que todas as espécies de aves infestadas por *A. nodosum* em nosso estudo vivem no subosque e têm o hábito de forragear próximo ao chão a procura de alimentos (SICK, 1997) e várias delas (*C. lineata*, *M. striata*, *B. ruficapillus*, *M. momota*, *A. flavirostris*) nidificam no solo (SICK, 1997). Esses fatos sugerem que os estágios imaturos de *A. nodosum* procuram por seus hospedeiros, principalmente aves Passeriformes, no solo, comportamento sugerido por Labruna et al. (2007d).

Entre outros carrapatos encontrados parasitando as aves, *A. coelebs*, *A. ovale* e *A. naponense* foram registrados pela primeira vez parasitando aves. Formas imaturas dessas três espécies ainda não foram descritas com exceção da larva de *A. ovale* (BARBIERI et al., 2008). Os adultos de *A. coelebs* são encontrados principalmente nas antas (*Tapirus* spp) (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006). As ninfas foram encontradas em onça (*Panthera onça* e *Puma concolor*), gambás (*Didelphis albiventris*), porcos do mato (*Tayassu tajacu*) e em humanos (LABRUNA et al., 2005b). Todas as aves infestadas por *A. coelebs* têm hábitos terrestres o que pode facilitar as infestações por essa espécie que deve procurar seus hospedeiros nos estratos mais baixos, próximo do solo. O carrapato *A. ovale*, na fase adulta, parasita principalmente carnívoros (LABRUNA et al., 2005b). Todos os registros de formas imaturas são de várias ordens de mamíferos (Carnivora, Didelphimorphia, Rodentia) (GUGLIELMONE et al., 2003, LABRUNA et al., 2005b). Nossos resultados sugerem que as aves também podem ter um papel importante no ciclo de vida desse carrapato.

Os adultos de *A. naponense* parasitam principalmente porcos do mato (*Tayassu* spp.) e houve um registro da ninfa dessa espécie em humano (LABRUNA et al., 2005b). Nosso registro de *A. naponense* em *T. pelzenii* é o primeiro da forma imatura dessa espécie na natureza.

Três outras espécies, *A. calcaratum*, *A. longirostre*, e *A. cajennense*, foram anteriormente achadas parasitando as aves (JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005; LABRUNA et al., 2007d). *A. calcaratum* é uma espécie ecologicamente e morfologicamente próxima a *A. nodosum*, que em sua fase adulta parasita também tamanduás e as aves;

geralmente os pequenos Passeriformes são considerados os hospedeiros primários para os estágios imaturos dessa espécie (JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; LABRUNA et al., 2007d). Nós encontramos somente duas ninfas dessa espécie em *B. ruficapillus* (Momotidae) que constitui o primeiro registro desse carrapato nessa espécie de ave.

A. longirostre em estágios adultos parasita preferencialmente ouriço (*Coendou* spp.) e as ninfas e larvas são freqüentemente encontradas em aves da ordem Passeriformes (ARAGÃO, 1936; JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; LABRUNA et al., 2007d). Em outras áreas do Estado de São Paulo, *A. longirostre* é a espécie mais comum encontrada em Passeriformes (LABRUNA et al., 2007d; OGRZEWSKA et al., 2008). Labruna et al. (2007d) sugeriu que *A. longirostre* é uma espécie arbórea, vivendo no dossel, onde os estágios imaturos e adultos procuram por aves e ouriços, respectivamente. Os nossos resultados suportam essa hipótese visto que todas as espécies de aves infestadas por esse carrapato (*Pipra fasciicauda*, *Leptopogon amaurocephalus*, *Cnemotriccus fuscatus*, e *Sittasomus griseicapillus*) frequentam os estratos mais elevados da floresta (SICK, 1997), e nenhum *A. longirostre* foi encontrado através do arrasto da flanela na vegetação.

A. cajennense foi o carrapato mais comum encontrado no ambiente que concorda com estudo feito por Peterka (2008) na mesma região. Esse carrapato é distribuído amplamente na América do Sul parasitando muitas espécies de mamíferos, incluindo os humanos, e algumas espécies de aves (BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006; LABRUNA et al., 2007d). Embora Rojas, Marini e Coutinho (1999) tivesse registrado vários Passeriformes infestados por formas imaturas de *A. cajennense*, consideramos esses resultados duvidosos (LABRUNA et al., 2007d), pois nesse trabalho os carrapatos foram identificados somente através de comparação morfológica. Adicionalmente, nós mostramos que *A. cajennense* exibe certa restrição para parasitar as aves, já que embora tenha apresentado alta abundância no ambiente, raramente foi encontrado parasitando as aves. Adicionalmente, foram os primeiros registros de algumas espécies de aves (*B. ruficapillus*, *M. momota*, *T. pelzenii*, *D. mentalis*, *P. superciliaris*) como hospedeiras de *A. cajennense*.

Em nosso estudo, duas espécies, *A. brasiliense* e *H. juxtakochi* foram encontradas no ambiente, mas não nas aves. Os hospedeiros principais para *A. brasiliense* são mamíferos das ordens Artiodactyla e Perissodactyla (GUGLIELMONE

et al. 2003; BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006). Embora exista um registro de *A. brasiliense* em ave (ARAGÃO, 1911), nossos resultados sugerem que as aves (pelo menos Passeriformes) não são hospedeiras importantes para o ciclo de vida desse carrapato. Todos os estágios dessa espécie foram coletados na vegetação, mostrando seu ciclo completo de reprodução na região que não inclui o parasitismo nas aves. No caso de *H. juxtakochi*, encontramos somente 4 ninfas de vida livre. *H. juxtakochi* parece ser um carrapato típico de veado (SZABÓ et al., 2006), embora tenha havido alguns registros em aves no sul do Brasil e no Uruguai (ARZUA; ONOFRIO; BARROS-BATTESTI, 2005; VENZAL et al., 2005).

Em relação à comparação sazonal para as duas espécies mais abundantes de carrapatos, estudos anteriores na região sudeste do Brasil (incluindo o Estado de São Paulo) mostraram que *A. cajennense* completa uma geração por ano caracterizada por atividades mais altas das larvas durante o outono, ninfas durante o inverno e adultos durante a primavera-verão (OLIVEIRA et al., 2000; LABRUNA et al., 2002a). Nós observamos um padrão de distribuição sazonal similar, indicando também um padrão de uma geração por ano na região estudada. Para *A. nodosum*, nenhum padrão de distribuição sazonal havia sido descrita anteriormente. Embora as ninfas tivessem sido encontradas em aves em todas as estações amostradas, a prevalências mais altas foram encontradas durante o outono e inverno, sugerindo o padrão sazonal parecido com *A. cajennense*. Para algumas outras espécies do genero *Amblyomma* no Brasil (*A. incisum*, *A. triste*, *A. dubitatum*, *A. brasiliense*) foi observado padrão semelhante (SZABÓ et al., 2007, 2009), no entanto, não temos os dados sobre a distribuição sazonal das larvas e adultos impedindo a conclusão mais precisa da atividade sazonal de *A. nodosum*.

5.2 Influência da fragmentação na abundância dos carrapatos

A região estudada sofreu durante os últimos 50 anos intenso desmatamento e hoje a paisagem é composta, predominantemente, por pastagens e plantações de cana-de-açúcar e restou somente 17% de cobertura original da Mata Atlântica (LEITE, 1998). Mudanças como essa, ou seja, redução e fragmentação dos habitats naturais levam ao isolamento e redução dos tamanhos das populações (FAHRIG,

2003). Isso provoca as mudanças entre as relações ecológicas dos hospedeiros e seus patógenos afetando o comportamento, movimento, densidades e diversidade das espécies e, conseqüentemente, influenciando na transmissão das doenças (OSTFELD; KEESING, 2000). Neste estudo foi verificado que a diversidade e riqueza das aves silvestres são mais baixos em fragmentos menores e mais isoladas. Esse resultado concorda com estudo anterior realizado na mesma região (UEZU, 2007) e com vários outros estudos de avifauna (ex. WILLIS, 1979; RIBON; SIMON; MATTOS, 2003; UEZU; METZGER; VIELLIARD, 2005). Os fragmentos pequenos contêm menos habitats, suportam populações menores de espécies nativas que, dessa forma, ficam mais suscetíveis à extinção (NOSS et al., 2005). Várias espécies não conseguem atravessar a matriz onde estão inseridos os remanescentes de habitat, visto que essa é freqüentemente inóspita para muitas espécies (NOSS, et al., 2005; UEZU; BEYER; METZGER, 2008). As influências climáticas, a presença dos predadores e competidores oportunistas das áreas alteradas que podem penetrar nos fragmentos reduzem também a área efetiva favorável às espécies (efeito de borda) (NOSS et al., 2005). O resultado se verifica na queda de diversidade e na permanência e aumento em abundância de espécies generalistas e/ou menos sensíveis em fragmentos pequenos.

Foi observado também que as diferentes espécies de carrapatos respondem de modo diferente à fragmentação. A prevalência de *A. nodosum* nas aves foi registrada maior em fragmentos pequenos enquanto algumas outras espécies, tais como *A. cajennense* e *A. coelebs* (coletadas nas aves e em vida livre) eram mais abundantes nas áreas de controle e em áreas grandes e menos frequentes em fragmentos pequenos. Para algumas espécies de carrapatos foi provado anteriormente que a abundância do hospedeiro pode influenciar na abundância dos carrapatos. Quanto maior a abundância dos hospedeiros, maior é chance para os carrapatos encontrá-los e darem continuidade em seus ciclos de vida (RANDOLPH, 2009). Por exemplo, Deblinger et al. (1993), nos Estados Unidos, registrou que a abundância média das larvas e ninfas de *Ixodes dammini* infestando o roedor *Peromyscus leucopus*, diminuiu após a redução da população de veado, hospedeiro para estágios adultos. O exemplo clássico é outro estudo feito também nos Estados Unidos em que foi demonstrado que a densidade de *Ixodes scapularis* variava dependendo do tamanho dos fragmentos de floresta; essa densidade era inversamente correlacionada com o tamanho dos fragmentos. Essas mudanças

estavam associadas com o aumento relativo da abundância do roedor *P. leucopus* em fragmentos pequenos. Esse roedor é um dos principais hospedeiros de *I. scapularis* e não é afetado pela fragmentação do habitat, situação inversa de outros hospedeiros menos eficientes, que desapareceram dos fragmentos. (OSTFELD; KEESING, 2000; ALLAN; KEESING; OSTFELD, 2003). As densidades dos hospedeiros são influenciadas por vários fatores como a disponibilidade de alimento, taxa de predação, caça, entre outros. Baseado nisso, uma das hipóteses para a prevalência mais alta de *A. nodosum* nas aves nos fragmentos menores poderia estar relacionada com a abundância de seus hospedeiros. Como mencionado acima, os estágios adultos de *A. nodosum* parasitam geralmente os tamanduás: *T. tetradactyla* e *M. tridactyla* e estágios imaturos as aves (ARAGÃO, 1936; FAIRCHILD; KOHLS; TIPTON, 1966; JONES; CLIFFORD; KEIRANS, 1972; LABRUNA et al., 2007d). Talvez as espécies menos sensíveis (*T. pelzenii*, *T. caerulescens*, *C. lineata*) que são abundantes em fragmentos pequenos são melhores hospedeiros para ninfas e larvas de *A. nodosum*. Além disso, devido a seus hábitos de viverem próximos ao solo podem ser mais facilmente infestados por carrapatos (assumindo que os estágios imaturos de *A. nodosum* procuram seus hospedeiros nesse nível). Outra hipótese estaria relacionada com os tamanduás. Como os adultos de *A. nodosum* se alimentam exclusivamente desses animais, é possível que a maior prevalência desse carrapato nas aves em áreas menores seja por causa da maior densidade de tamanduás em fragmentos menores. Esse grupo talvez seja beneficiado em fragmentos menores devido à ausência dos grandes predadores [*T. tetradactyla* é predado por jaguatiricas e onças (REDFORD; EISENBERG 1989)], que geralmente desaparecem em áreas fragmentadas (NOSS et al., 2005); ou devido ainda à maior disponibilidade de alimentos, como formigas e cupins. *M. tetridactyla* e *T. tetradactyla* apresentam ampla distribuição no América do Sul e, no Brasil são encontradas em todos os biomas e são capazes de usar vários tipos de habitats; de florestas tropicais até campos abertos, e ambientes savânicos. *M. tetridactyla* parece ser mais abundante em formações de vegetação mais aberta onde há maior abundância de formigas e cupins. No entanto, se sabe que as maiores ameaças para essas espécies é a redução do habitat, caça, atropelamento nas rodovias e incêndios (REDFORD; EISENBERG 1989) e embora essas duas espécies ocorram na região, não existem estudos sobre suas abundâncias e não podemos afirmar se as abundâncias desses mamíferos são maiores em fragmentos

pequenos. Uma terceira hipótese estaria associada com as condições micro-climáticas. Os carrapatos passam a maior parte de suas vidas fora do hospedeiro e, portanto, condicionados aos fatores ambientais como a temperatura e a umidade (OLIVER, 1989, RANDOLPH, 2009). Para várias espécies foi mostrado que a temperatura e a umidade podem influenciar no ciclo de vida (sazonalidade, mortalidade, tempo de procura de hospedeiro, tempo da muda) e, conseqüentemente, em suas abundâncias (RANDOLPH, 2009). Embora não haja dados sobre os requerimentos climáticos de *A. nodosum*, podemos supor que, por ser uma espécie característica de regiões de Cerrado, comumente parasitando tamanduás, as condições micro-climáticas em fragmentos menores são mais adequadas do que no interior da mata mais bem preservada, visto que são mais semelhantes às áreas de Cerrado, sendo mais secas e quentes devido às influências do entorno. Já, em áreas como no interior do Parque Estadual do Morro do Diabo essas espécies encontrariam condições divergentes do que seriam seu ótimo ecológico.

Ao contrário da abundância de *A. nodosum*, algumas outras espécies de carrapatos apresentaram a tendência de desaparecer em áreas florestais menores, como *A. cajennense*, apresentando alta abundância no Parque e em fragmentos grandes. Outras espécies foram encontradas poucas vezes, mas mesmo com o número baixo de amostras pode-se observar que *A. coelebs*, *A. brasiliense*, *A. naponense* e *H. juxtakochi* ocorrem preferencialmente em áreas maiores. *A. coelebs* parasita principalmente as antas (*Tapirus* spp), *A. naponense* e *A. brasiliense* - porcos do mato (*Tayassu* spp) (GUGLIELMONE et al. 2003; BARROS-BATTESTI; ARZUA; BECHARA, 2006). A tendência de desaparecer dos fragmentos pequenos está relacionada, provavelmente, à falta dos hospedeiros para as fases adultas (porcos, antas) nesses fragmentos. No entanto, todas essas cinco espécies foram encontradas num fragmento pequeno P1. Esse fragmento se localiza relativamente próximo do Parque (<1 km) o que indica a existência provável de fluxos de animais entre essas áreas.

Para outras espécies encontramos somente poucos indivíduos (*A. ovale*, *A. calcaratum*) e por isso é difícil tirar alguma conclusão sobre efeito de fragmentação nessas espécies.

Os parasitos têm funções significantes na redução dos hospedeiros na natureza, interagindo com outros processos populacionais e determinando a

estrutura da comunidade. Os ectoparasitos podem reduzir o sucesso reprodutivo, aumentar a mortalidade dos filhotes e causar o abandono de ninhinhos, além de causar feridas no tegumento, provocar paralisia e transmitir patógenos (LOYE; CARROLL, 1995, JONGEJAN; UILENBERG, 2004). Alguns estudos na África mostram que num ecossistema estável os mamíferos apresentam altos níveis de prevalência e riqueza de parasitos, entre eles nematodes, carrapatos e bactérias (HUDSON; DOBSON; LAFFERTY, 2006). E sugerido que as cadeias longas de conexões entre várias espécies podem estabilizar a estrutura da comunidade, aumentando a resiliência e persistência dessas (NEUTEL; HEESTERBEEK; RUITER, 2002). Nosso estudo concorda parcialmente com essa teoria, visto que nas áreas contínuas, certas espécies de carrapatos, como *A. cajennense*, se apresentava em grande quantidade, no entanto, verificamos também que nos fragmentos pequenos a abundância de outras espécies também era alta, indicando que o nível de prevalência de parasitas depende não somente do grau de alteração do ambiental, mas também das composições de hospedeiros e parasitas que se está considerando.

5.3 Infecção dos carrapatos por riquetsias

Neste estudo foi verificada pela primeira vez a infecção dos carrapatos *A. nodosum* por duas espécies de riquetsias: *R. bellii* designada como *R. bellii* cepa Pontal e riquetsia do Grupo da Febre Maculosa designada como cepa NOD.

No entanto, como não foi possível criar cada ninfa não ingurgitada em coelhos separados, a possibilidade de transmissão horizontal das bactérias no laboratório entre os carrapatos alimentados no mesmo animal, não pode ser excluída. No entanto, a prevalência da infecção em carrapatos adultos, cujas ninfas se alimentaram nos coelhos, não foi significativamente mais alta do que a prevalência observada nos carrapatos coletados já ingurgitados nas aves e não alimentados nos coelhos no laboratório. Dessa forma, as prevalências observadas de infecção por riquetsias são, provavelmente, representativas das naturais infecções de *A. nodosum* na área estudada.

Rickettsia bellii é uma mais comuns riquetsias transmitida pelos carrapatos na América do Norte e na América do Sul, sendo encontrada em várias espécies do gênero *Amblyomma*, *Ixodes*, *Haemaphysalis*, *Dermacentor*, *Argas* e *Ornithodoros* (PHILIP et al., 1983; LABRUNA et al., 2004b, c; HORTA et al., 2006; PINTER; LABRUNA, 2006; LABRUNA et al., 2007b, c). Até o momento essa riquetsia não é considerada patogênica para os seres humanos ou para os animais. Embora existam evidências sorológicas indicando que capivaras (*Hydrochoerus hydrocheris*) são naturalmente infectadas com *R. bellii* (PACHECO et al., 2007), cachorros e gambás naturalmente expostos aos carrapatos infectados com *R. bellii* não mostraram evidências de infecção (HORTA et al., 2007; PINTER et al., 2008).

Comparando a prevalência de *R. bellii* que foi encontrada em *A. nodosum* (5,74%) com a prevalência encontrada em outras espécies de carrapatos *Amblyomma* da América do Sul, os resultados são semelhantes aos de Labruna et al. (2007b) nos *Amblyomma neumannii* da Argentina (4%), e por Pinter; Labruna (2006) em *Amblyomma aureolatum* (1,5%) no Brasil. Mas a prevalência encontrada é menor quando comparado com os resultados obtidos dos carrapatos *Amblyomma dubitatum* (40%) por Labruna et al. (2004c), mostrando que há variação da prevalência dessa riquetsia entre as espécies de carrapatos e entre as localidades geográficas.

Foram encontradas 41 ninfas de *A. nodosum* infectadas pela nova cepa de riquetsia do Grupo de Febre Maculosa, que foi designada cepa NOD. Essa riquetsia parece geneticamente mais próxima com as cepas de *R. parkeri*, anteriormente reportadas infectando carrapatos *Amblyomma* nos Estados Unidos, Uruguai, Brasil e Argentina (VENZAL et al., 2004; SILVEIRA et al., 2007; NAVA et al., 2008).

No presente estudo as análises filogenéticas inferidas dos fragmentos dos genes *gltA*, *htrA* e *ompB* agruparam a cepa NOD no cluster junto com *R. parkeri* com altas porcentagens de bootstrap (64%, 67%, 92%, respectivamente) e inferidas do gene *ompA* com *Rickettsia* sp. cepa COOPERI junto com *R. parkeri* com bootstrap de 74%. Seguindo os critérios propostos por Fournier et al. (2003), que se baseiam em seqüências de genes para a identificação de novas espécies de riquetsia, para que a riquetsia seja classificada como uma nova espécie, o isolado não deve exibir em nenhum dos genes abaixo graus de similaridade de nucleotídeos mais elevados do que de uma espécie homóloga válida: $\geq 99,8$ % para o gene *rrs*, $\geq 99,9$ % para o *gltA*, $\geq 98,8$ % para o gene *ompA*, $\geq 99,2$ % para o gene *ompB* e $\geq 99,3$ % para o

gene *sca4*. Embora não tenhamos as seqüências dos genes *rrs* e *sca4*, seguindo os critérios apresentados acima comparando as seqüências parciais obtidas dos genes *ompA*, *ompB* e *gltA* do isolado NOD com as seqüências de *R. Parkeri*, podemos concluir que a riquetsia encontrada nesse estudo é uma cepa nova de *R. parkeri*.

Alguns anos atrás Labruna et al. (2004c) isolou no Brasil *Rickettsia* sp. strain COOPERI dos carrapatos *A. dubitatum*. Posteriormente, Horta et al. (2007) sugeriu que a cepa COOPERI deveria ser considerada a nova cepa de *R. parkeri* no Brasil devido a proximidade filogenética. Nossos resultados indicam que a cepa NOD é também uma cepa nova dessa espécie. Análises filogénicas baseadas nas seqüências do gene *ompA* colocam *R. parkeri* no mesmo agrupamento da cepa NOD, COOPERI e *R. parkeri*. Muito pouco ou nenhum polimorfismo foi encontrado pelas análises baseadas nos fragmentos dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB* entre os isolados de *R. parkeri* do Brasil, Uruguai, Argentina e Estados Unidos (PACHECO et al., 2006; SILVEIRA et al., 2007; NAVA et al., 2008). É possível que o ramo de *R. parkeri* mostrado na Figura 12 evoluiu na América do Sul gerando as cepas diferentes (ex. NOD, COOPERI e *R. parkeri* s.s.) em diferentes espécies dos carrapatos especialmente no gênero *Amblyomma*. *R. parkeri* na América do Norte pode representar simplesmente a introdução relativamente recente da América do Sul. Isso poderia explicar porque não foram ainda encontrados (embora tenham vários estudos de carrapatos infectados com riquetsias do Grupo da Febre Maculosa) outras cepas geneticamente próximas (mas distintas) de *R. parkeri* nos Estados Unidos. Essa hipótese ainda deve ser testada, mas os dados biogeográficos disponíveis indicam que a especiação dos carrapatos que formam o grupo `maculatum` (i.e. *A. maculatum*, *A. triste* e *A. tigrinum*) ocorreu no América do Sul de onde *A. maculatum* conseguiu radiar para a região neoártica e *A. triste* e *A. tigrinum* para a parte central e sudeste da América do Sul, respectivamente (ESTRADA-PENA et al., 2005).

R. parkeri foi isolada pela primeira vez dos carrapatos *Amblyomma maculatum* nos Estados Unidos em 1939 e a princípio era considerada não patogênica até que se detectou sua patogenicidade para os humanos em 2004 (PADDOCK et al., 2004). Recentemente, nos Estados Unidos há cada vez mais casos confirmados de infecção humana causada por essa bactéria (SUMNER et al., 2007; WHITMAN et al., 2007, PADDOCK et al., 2008b). Nos Estados Unidos foi observado que vários casos identificados como casos brandos de febre maculosa

foram causados pela *R. parkeri* e não pela *R. rickettsii* (RAOULT; PADDOCK, 2005; PADDOCK et al., 2008b). Na América do Sul onde *R. parkeri* foi encontrada em carrapatos do Brasil, Uruguai e Argentina, a suposta infecção humana com *R. parkeri* foi somente relatada no Uruguai, país onde não ocorre *R. rickettsii* (VENZAL et al., 2004). No América do Sul, como nos Estados Unidos (PADDOCK et al., 2008b), as manifestações clínicas da infecção poderiam ter sido erroneamente diagnosticadas como infecções de *R. rickettsii* (LABRUNA, 2009).

A prevalência de infecção por *R. parkeri* do carrapatos encontrada no presente estudo é mais alta do que a encontrada em *A. dubitatum* no Brasil (7,5%) por Labruna et al. (2004c), *A. triste* no Uruguai (2,56%) por Pacheco et al. (2006) e no *A. triste* no Brasil (10%) por Silveira et al. (2007) e em *A. maculatum* nos Estados Unidos (10%) por Sumner et al. (2007). No Brasil há também evidências sorológicas da presença dessa bactéria em cachorros (LABRUNA et al., 2007a, HORTA et al., 2004, 2007), capivaras (PACHECO et al., 2007), gambás e cavalos (HORTA et al., 2007).

Dos 293 carrapatos adultos coletados em vida livre, nenhum foi positivo para teste de hemolinfa para a presença de riquetsias. Em outro estudo feito na região foram testadas 629 carrapatos de vida livre pela mesma técnica e também não foi encontrado nenhum carrapato infectado (PETERKA, 2008). Na região não houve também os casos registrados da Febre Maculosa. *A. cajennense* é o carrapato mais comum na região que freqüentemente atacam humanos e é o principal vetor da *R. rickettsii* no Brasil (ESTRADA-PENA; JONGEJAN, 1999; ESTRADA-PENA, GUGLIEMONE; MANGOLD, 2004). No entanto, esse resultado não pode excluir a possibilidade de infecção desses carrapatos pelas riquetsias e o resultado negativo pode ser devido ao número relativamente pequeno de carrapatos testados, visto que as taxas de infecção de carrapatos por riquetsias patogênicas são muito baixas, por exemplo, 0,89% em *A. aureolatum* (PINTER; LABRUNA, 2006), 1.3% em *A. cajennense* (GUEDES et al., 2005), 7.5% em *A. dubitatum* (LABRUNA et al., 2004c) do Brasil e 0,05–1.3% em *D. variabilis* nos Estados Unidos (BURGDORFER, 1988). As baixas taxas de infecção são provavelmente por causa do efeito patogênico letal dessas riquetsias sobre os carrapatos (NIEBYLSKI; PEACOCK; SCHWAN, 1999).

Entre outros carrapatos encontrados neste estudo, *H. juxtakochi*, *A. coelebs*, *A. longirostre* e *A. ovale* foram previamente encontrados infectados por riquetsias com patogenicidade desconhecida; *A. coelebs* em Rondônia (LABRUNA et al.,

2004c) da Guiana Francesa (PAROLA; MATSUMOTO; SOCOLOVSKI, 2007) foi infectado pela Candidatus ``*R. amblyomii*`` , *H. juxtakochi* foi infectado pela *R. rhipicephali* da Rondônia (LABRUNA et al., 2005a), *A. longirostre* foi encontrado pela Candidatus ``*R. amblyomii*`` em Rondônia e São Paulo (LABRUNA et al., 2004a; OGRZEWALSKA et al., 2008) e *A. ovale* pela *R. bellii* em Rondônia (LABRUNA et al., 2004c).

Os carrapatos infectados com *R. parkeri* foram encontrados nas áreas controle, fragmentos grandes e fragmentos pequenos. *R. bellii* foi somente encontrada em dois fragmentos grandes e dois pequenos, mas devido ao baixo número de carrapatos testados em algumas áreas amostradas, não é possível concluir precisamente se a fragmentação tem influência na infecção por essa riquetsia (Apêndice E).

6 CONCLUSÕES

- A composição das espécies de carrapatos nas aves é diferente da encontrada no ambiente.
- As aves Passeriformes na região Pontal do Paranapanema têm um papel importante na manutenção do ciclo de vida de *A. nodosum*, sendo freqüentemente hospedeiros para os estágios imaturos dessa espécie.
- Foram registradas pela primeira vez as ocorrências de estágios imaturos de *A. coelebs*, *A. ovale* e *A. naponense* em aves.
- A diversidade e a riqueza das aves são dependentes do tamanho dos fragmentos, sendo mais alta em áreas florestais maiores.
- Há uma relação inversa entre a diversidade e riqueza das aves e a prevalência de *A. nodosum*.
- Várias espécies de carrapatos respondem de forma distinta ao processo de fragmentação: *A. cajennense*, *A. coelebs*, *A. naponense*, *A. brasilense* tendem a sumir dos fragmentos pequenos servindo como indicadores do desaparecimento dos mamíferos de porte grande nesses fragmentos.
- Foi registrado pela primeira vez a infecção de *A. nodosum* por nova cepa de *R. parkeri* e por *R. bellii*.

REFERÊNCIAS

ALLAN, B. F.; KEESING, F.; OSTFELD, R. S. Effect of forest fragmentation on Lyme disease risk. **Conservation Biology**, v. 17, p. 267-272, 2003.

ALTSCHUL, S. F.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E. W.; LIPMAN, D. J. Basic local alignment search tool. **Journal of Molecular Biology**, v. 215, p. 403-410, 1990.

ANDERSON, J. F. The natural history of ticks. **Medical Clinics of North America**, v. 2, p. 205-219, 2002.

ANDERSON, J. F.; JOHNSON, R. C.; MAGNARELLI, L. A.; HYDE, F. W. 1986. Involvement of birds in the epidemiology of the Lyme disease agent *Borrelia burgdorferi*. **Infection and Immunity**, v. 2, p. 394-396, 1986.

ARAGÃO, H. B. Ixodidas brasileiros e de alguns países limitrofes. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 31, p. 759-843, 1936.

ARAGÃO, H. B. Notas sobre ixodidas brasileiros. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 3, n. 2, p. 145-195, 1911.

ARZUA, M.; BARROS-BATTESTI, D. M. Parasitism of *Ixodes (Multidentatus) auritulus* Neumann (Acari: Ixodidae) on birds from the city of Curitiba, State of Paraná, Southern Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n. 5, p. 597-603, 1999.

ARZUA, M.; ONOFRIO, V. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. Catalogue of the tick collection (Acari, Ixodida) of the Museu de História Natural Capão da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n. 3, p. 623-632, 2005.

ARZUA, M.; SILVA, M. A. N.; FAMADAS, K. M.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M. *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae) on birds in southern Brazil, with notes on their ecology. **Experimental and Applied Acarology**, v. 31 n. 3-4, p. 238-296, 2003.

AZAD, A. F.; BEARD, C. B. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. **Emerging Infectious Diseases**, v. 4, n. 2, p. 179-186, 1998.

BARBIERI, F. S.; BRITO, L. G.; LABRUNA, M. B.; BARROS-BATTESTI, D. M.; CAMARGO, L. M. A.; FAMADAS, K. M. Description of the larva of *Amblyomma ovale*

Koch, 1844 (Acari: Ixodidae) by light and scanning electron microscopy. **Systematic and Applied Acarology**, v. 13, p. 109–119, 2008.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical**: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, 223 p.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; PICHORIM, M.; KEIRANS, J. K. *Ixodes (Multidentatus) paranaensis* n.sp. (Acari: Ixodidae) a parasite of *Streptoprocne biscutata* (Sclater 1865) (Apodiformes: Apodidae) birds in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 1, p. 93-102, 2003.

BARROS-BATTESTI, D. M.; YOSHINARI, N. H.; BONOLDI, V. L.; DE GOMES, C. A. Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari: Ixodidae) on small wild mammals From an Atlantic Forest in the State of São Paulo, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 37, n. 6, p. 820-827, 2000.

BJÖERSDORFF, A.; BERGSTRÖM, S.; MASSUNG, R. F.; HAEMIG, P. D.; OLSEN, B. *Ehrlichia* - infected ticks on migrating birds. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 5, p. 877 - 879, 2001.

BURGDORFER, W. Ecological and epidemiological considerations of Rocky Mountain spotted fever and scrub typhus. In: **Biology of rickettsial diseases**. Boca Raton: CRC Inc, 1988. p. 33–50, WALKER, D. H (Ed).

BURGDORFER, W. Hemolymph test. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 19, n. 6, p. 1010-1014, 1970.

CHESSER, R. T. Migration in South America, an overview of the austral system. **Bird Conservation International**, v. 4, p. 91–107, 1994.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A. Anthropogenic change, biodiversity loss, and a new agenda for emerging diseases. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 37-41, 2003.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HAYATT, A. D. Emerging infectious diseases of wildlife. Threats to biodiversity and human health. **Science**, v. 287, p. 443-449, 2000.

DEBLINGER, R. D.; WILSON, M. L.; RIMMER, D. W.; SPIELMAN, A. Reduced abundance of immature *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) following incremental removal of deer. **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 1, p. 144-150, 1993.

DITT, E. H. **Fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema**. 1. ed. São Paulo: Annablume, 2002. v. 1, 140 p.

DOBSON A.; FOUFOPOULUS, J. Emerging infectious pathogens of wildlife. **Philosophical Transaction of The Royal Society of London**, v. 356, p. 1001-1012, 2001.

DUFFY, D. C. The ecology of tick parasitism on densely nestling Peruvian seabirds. **Ecology**, v. 64, n. 1, p. 110-119, 1983.

EMELYANOV, V. V. Evolutionary relationship of Rickettsiae and mitochondria. **FEBS Letters**, v. 501, p. 11-18, 2001.

EREMEEVA, M. E.; DASCH, G. A.; SILVERMAN, D. J. Evaluation of a PCR assay for quantitation of *Rickettsia rickettsii* and closely related Spotted Fever Group Rickettsiae. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, n. 12, p. 5466-5472, 2003.

ESTRADA-PENA, A.; GUGLIEMONE, A. A.; MANGOLD, A. J. The distribution and ecological 'preferences' of tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 283-292, 2004.

ESTRADA-PENA, 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, p. 685-715, 1999.

ESTRADA-PENA, A.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; CAFRUNE, M. M.; GUGLIELMONE, A. A. The *Amblyomma maculatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae: Amblyomminae) tick group: diagnostic characters, description of the larva of *A. parvitarsum* Neumann, 1901, 16S rDNA sequences, distribution and hosts. **Systematic Parasitology**, v. 60, p. 99-112, 2005.

EVANS, D. E.; MARTINS, J. R.; GUGLIELMONE, A. A. A review of ticks (Acari: Ixodidia) of Brazil, their hosts and geographic distribution – 1. The state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 4, p. 453-470, 2000.

EZENWA, V. O.; GODSEY, M. S.; KING, R. J.; GUPTHILL, S. C. Avian diversity and West Nile virus: Testing associations between biodiversity and infectious disease risk. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 273, p. 109–117, 2006.

FAHRIG, L. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 34, p. 487–515, 2003.

FAIRCHILD, G. B.; KOHLS, G. M.; TIPTON, V. J. The ticks of Panama (Acarina: ixodoidea), p. 167-219. Em: WENZEL, R. L.; TIPTON, V. J. **Ectoparasites of Panama**. Chicago, Illinois: Field Museum of Natural History, 1966.

FOURNIER, P. E.; DUMLER, J. S.; GREUB, G.; ZHANG, J.; WU, Y.; RAOULT, D. Gene sequence-based criteria for identification of new *Rickettsia* isolates and description of *Rickettsia heilongjiangensis* sp. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 41, p. 5456-5465, 2003.

FRENOT, Y.; OLIVEIRA, E.; GAUTHIER-CLERCB, M.; DEUNFFC, J.; BELLIDOA, A.; VERNONA, P. Life cycle of the tick *Ixodes uriae* in penguin colonies: relationships with host breeding activity. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1040-1047, 2001.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA / INPE. **Atlas da evolução dos remanescentes florestais e ecossistemas associados no Domínio da Mata Atlântica no período de 2005 – 2008**. São Paulo: SOSMA, 2009. 156 p.

GALVANI, A. P. Epidemiology meets evolutionary ecology. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 18, n. 3, p. 132-139, 2003.

GALVÃO, M. A.; DUMLER, J. S.; MAFRA, C. L.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; FILHO, G. C.; OLANO, J. P.; WALKER, D. H. Fatal spotted fever rickettsiosis, Minas Gerais, Brazil. **Emergous Infectious Diseases**, v. 9, n. 11, p. 1402-1405, 2003.

GALVÃO, M. A.; LAMOUNIER, J. A.; BONOMO, E.; TROPIA, M. S.; REZENDE, E.G.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MACHADO, M. C.; OTONI, M. E.; LEITE, R. C.; CARAM, C.; MAFRA, C. L.; WALKER, D. H. Emerging and reemerging rickettsiosis in an endemic area of Minas Gerais State, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 18, n. 6, p. 1593-1597, 2002.

GIMÉNEZ, D. F. Staining rickettsiae in youk-sac cultures. **Stain Technology**, v. 39, p. 135-140, 1964.

GUEDES, E.; LEITE, R. C.; PRATA, M. C. A.; PACHECO, R. C.; WALKER, D. H.; LABRUNA, M. B. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 841-845, 2005.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; SZABÓ, M. P.; MARTINS, J. R.; GONZALEZ-ACUNA, D.; ESTRADA-PENA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, p. 83–100, 2006.

GUGLIELMONE, A. A.; ESTRADA-PENÑA, A.; KEIRANS, J. E.; ROBBINS, R. G. 2003. **Ticks (Acari: Ixodida) of the Neotropical Zoogeographic Region**. Atlanta, Houten, The Netherlands, 173 p. 2003.

GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A. J.; LUCIANI, C. E.; VIÑABAL, A. E. *Amblyomma tigrinum* (Acari: Ixodidae) in relation to phytogeography of central-northern Argentina with notes on hosts and seasonal distribution. **Experimental and Applied Acarology**, v. 24, p. 983-989, 2000.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. Editora Plêiade, São Paulo, 213 p. 2001.

HOOGSTRAAL, H. Migrating birds and their ectoparasites in relation to disease. **The East African Journal**, v. 38, n. 5, p. 221-226, 1961.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; PINTER, A.; LINARDI, P. M.; SCHUMAKER, T. T. S. *Rickettsia* infection in five areas of the state of São Paulo, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 7, p. 793-801, 2007.

HORTA, M. C.; LABRUNA, M. B.; SANGIONI, L. A.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; GALVÃO, M. A. M.; MAFRA, C. L.; VIDOTTO, O.; SCHUMAKER, T. T. S.; WALKER, D. H. Prevalence of antibodies to Spotted Fever Group *Rickettsiae* in humans and domestic animals in a Brazilian Spotted Fever-Endemic area in the State of São Paulo, Brazil: Serologic evidence for infection by *Rickettsia rickettsii* and another spotted fever group *Rickettsia*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 71, p. 93-97, 2004.

HORTA, M. C.; PINTER, A.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; GENNARI, S. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia felis* (Rickettsiales: Rickettsiaceae)

in *Ctenocephalides felis felis* (Siphonaptera: Pulicidae) in the State of São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 332, p. 1-325, 2005.

HORTA, M. C.; PINTER, A.; SCHUMAKER, T. T. S.; LABRUNA, M. B. Natural infection, transovarial transmission, and transstadial survival of *Rickettsia bellii* in the tick *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodidae) from Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1078, p. 285–290, 2006.

HUBALEK, Z. An annotated checklist of pathogenic microorganisms associated with migratory birds. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 4, p. 639–659, 2004.

HUDSON, P. J.; DOBSON, A. P.; LAFFERTY, K. D. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 7, p. 381-385, 2006.

IOANNOU, T.; CHOCHLAKIS, D.; KASINIS, N.; ANAYIOTOS, P.; LYSSANDROU A.; PAPADOPOULOS, B.; TSELENTIS Y.; PSAROULAKI, A. Carriage of *Rickettsia* spp., *Coxiella burnetii* and *Anaplasma* spp. by endemic and migratory wild birds and their ectoparasites in Cyprus. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 4, p. 1-3, 2009.

ISHIGURO, F.; TAKADA, N.; MASUZAWA, T.; FUKUI, T. Prevalence of Lyme Disease *Borrelia* spp. in ticks from migratory birds on the Japanese mainland. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 3, p. 982–986, 2000.

JONES, E. K.; CLIFFORD, C. M.; KEIRANS, J. E. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the Western Hemisphere. **Brigham Young University Science Bulletin: Biological Series**, v. 17, n. 5, p. 1-40, 1972.

JONGEJAN, G.; UILENBERG, G. The global importance of ticks. **Parasitology**, v. 129, p. 3–14, 2004.

JORDAN, B. E.; ONKS, K. R.; HAMILTON, S. W.; HAYSLETTE, S. E.; WRIGHT, S. M. Detection of *Borrelia burgdorferi* and *Borrelia lonestari* in Birds in Tennessee. **Journal of Medical Entomology**, v. 46, n. 1, p. 131-138, 2009.

KELLY, J. P.; RAOULT, D.; MASON, P. R. Isolation of spotted fever group rickettsias from titrated ticks using a modification of the centrifugation-shell vial technique. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, p. 397-398, 1991.

KLICH, M.; LANKESTER, M. W.; WU, K. W. Spring migratory birds (Aves) extend the northern occurrence of blacklegged tick (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 33, n. 4, p. 581-585, 1996.

KURTENBACH, K.; PEACEY, M.; RIJPKEMA, G. T.; HOODLESS, A. W.; NUTTALL, P.; RANDOLPH, S. E. Differential transmission of the genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato by game birds and small rodents in England. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 64, p. 1169-1174, 1998.

LABRUNA M. B. Ecology of *Rickettsia* in South America. Rickettsiology and rickettsial diseases-fifth International conference: Annals of New York Academy of Science, v. 1166, 156–166, 2009.

LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; ERNEY, P.; CAMARGO, E. P.; WALKER, D. H. Detection of a spotted fever group *Rickettsia* in the tick *Haemaphysalis juxtakochi* in Rondonia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 169–174, 2005a.

LABRUNA, M. B.; HORTA, M. C.; CAVALCANTE, D. M. G. T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M. A. Prevalence of *Rickettsia* infection in dogs from the urban and rural areas of Monte Negro Municipality, Western Amazon, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, p. 249-256, 2007a.

LABRUNA, M. B.; KASAI, N.; FERNANDO, F.; HACCINI, J. L. H.; GENNARI, S. M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 65-77, 2002a.

LABRUNA, M. B.; MCBRIDE, J. W.; BOUYER, D. H.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P., WALKER, D. H. Molecular evidence for a Spotted Fever Group *Rickettsia* species in the ticks *Amblyomma longirostre* in Brazil. **Journal of Medical Entomology** , v. 41, n. 3, p. 533-537, 2004a.

LABRUNA, M. B.; PACHECO, R. C.; NAVA, S.; RICHTZENHAIN, L. J.; GUGLIELMONE, A. A. Infection by *Rickettsia bellii* and *Candidatus 'Rickettsia amblyommii'* in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. **Microbial Ecology**, v. 54, p. 126-133, 2007b.

LABRUNA, M. B., PACHECO, R. C., RICHTZENHAIN, L. J.; SZABÓ, M. J. P. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the state of Sao Paulo, Brazil. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 73, p. 869–873, 2007c

LABRUNA, M. B.; PAULA, C. D. DE.; LIMA, T. F.; SANA, D. A. Ticks (Acari: *Ixodidae*) on wild animals from the Porto-Primavera hydroelectric power station area, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 8, p. 1133-1136, 2002b.

LABRUNA, M. B.; SANA, R. J. D.; JÁCOMO, A.; KASHIVAKURA, C.; FURTADO, M.; FERRO, C.; PEREZ, S.; SILVEIRA, L.; SANTOS, J. R. T.; MARQUES, S.; MORATO, R.; NAVA, A.; ADANIA, C.; TEIXEIRA, R.; GOMES, A.; CONFORTI, V.; AZEVEDO, F.; PRADA, C.; SILVA, J.; BATISTA, A.; MARVULO, M.; MORATO, R.; ALHO, C.; PINTER, A.; FERREIRA, P.; FERREIRA, F.; BARROS-BATTESTI, D. Ticks (Acari: *Ixodida*) on wild carnivores in Brazil. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 151-165, 2005b.

LABRUNA, M. B.; SANFILIPPO, L. F.; DEMETRIO, C.; MENEZES, A. C.; PINTER, A.; GUGLIELMONE, A. A.; SILVEIRA, L. F. Ticks collected on birds in the state of São Paulo. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, n. 2, p. 147-160, 2007d.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; POPOV, V.; WALKER, D. H. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon, Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 41, n. 6, p. 1073-1081, 2004b.

LABRUNA, M. B.; WHITWORTH, T.; HORTA, M. C.; BOUYER, D. H.; MCBRIDE, J. W.; PINTER, A.; POPOV, V.; GENNARI, S. M.; WALKER, D. H. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, p. 90-98, 2004c.

LEITE, F. J. **A ocupação do Pontal do Paranapanema**. Ed. Hucitec, Fundação UNESP. 1998. 202 p.

LEMOS, E. R.; ALVARENGA, F. B.; CINTRA, M. L.; RAMOS, M. C.; PADDOCK, C. D.; FEREBEE, T.; ZAKI, S. R.; FERREIRA, F. C.; RAVAGNANI, R. C.; MACHADO, R. D.; GUIMARÃES, M. A.; COURA, J. R. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the state of São Paulo. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, p. 329-334, 2001.

LEMOS, E. R.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R. Rocky Mountain spotted fever in an endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 497-501, 1994.

LEMOS, E. R.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A.; SERRA FEIRE, N. M.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S. Epidemiological aspects of ticks collected in an

endemic area in São Paulo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 3, p.181-185, 1997b.

LEMOS, E. R.; MACHADO, R. D.; PIRES, F. D.; MACHADO, S. L.; COSTA, L. M., COURA, J. R. Rickettsiae-infected ticks in an endemic area of spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 477-481, 1997a.

LIMA, V. L.; SOUZA S. S. de.; SOUZA, C. E. de.; VILELA, M. F.; PAPAIORDANOU, P. M.; DEL GUERCIO, V. M.; ROCHA, M. M. Spotted fever in Campinas region, State of São Paulo, Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 331-334, 2003.

LOYE, J.; CARROLL, S. Birds, bugs and blood: avian parasitism and conservation. **Tree**, v. 10, n. 6, p. 232-235, 1995.

MANGOLD, A. J.; BARGUES, M. D.; MAS-COMA, S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). **Parasitology Research**, v. 84, p. 478-484, 1998.

MARINI, M. A.; REINERT, B. L.; BORNSCHEIN, M. R.; PINTO, J. C.; PICHORIM, M. A.; Ecological correlates of ectoparasitism on Atlantic Forest birds, Brazil. **Ararajuba**, v. 4, p. 93, 103, 1996.

MENEGUETTE, A. A. C. **Atlas interativo do Pontal do Paranapanema**: uma contribuição à educação ambiental. 2001. Tese (Livre-Docência em Cartografia) - FCT - Universidade Estadual Paulista, 2001.

MOCK, D. E.; APPLEGATE, R. D.; FOX, L. B. Preliminary survey of ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing wild turkeys (Aves: Phasianidae) in eastern Kansas. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 1, p. 118-121, 2001.

NASCIMENTO, E. M.; GEHRKE, F. S.; MALDONADO, R. A.; COLOMBO, S.; SILVA, L. J.; SCHUMAKER, T. T. S. Detection of Brazilian spotted fever infection by polymerase chain reaction in a patient from the state of São Paulo. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 3, p. 277-279, 2005.

NAVA, S.; ELSHENAWY, Y.; EREMEEVA, M. E.; SUMNER, J. W.; MASTROPAOLO, M.; PADDOCK, C. D. *Rickettsia parkeri* in Argentina. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, p. 1894–1897, 2008.

NEUTEL, A. M.; HEESTERBEEK, J. A. P.; RUITER, P. C. Stability in real food webs: weak links in long loops. **Science**, v. 296, p. 1120–1123, 2002.

NEVES, R. L.; FARIAS, A. M. I.; TELINO JUNIOR, W. R.; ARZUA, M.; BOTELHO, M. C. N.; ABREU, E.; LIMA, M. C. Ectoparasitismo em aves silvestres (Passeriformes-Emberizidae) de Mata Atlântica, Igarassu, Pernambuco. **Melopsittacus**, v. 3, n. 2, p. 64-71, 2000.

NIEBYLSKI, M. L.; PEACOCK, M. G.; SCHWAN, T. G. Lethal effect of *Rickettsia rickettsii* on its tick vector (*Dermacentor andersoni*). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 65, n. 2, p. 773-778, 1999.

NOSS, R. F.; CSUTI, B.; GROOM, M. J. Habitat Fragmentation. Em: GROOM, M. J.; MEFFE, G. K.; CARROLL, C. R. **Principles of conservation biology**. 3rd ed. 2005. p. 213-251.

OGRZEWALSKA, M.; PACHECO, R.; UEZU, A.; FERREIRA, F.; LABRUNA, M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild birds in an Atlantic Forest area in the state of São Paulo, Brazil, with isolation of *Rickettsia* from the tick *Amblyomma longirostre*. **Journal of Medical Entomology**, v. 45, p. 770-774, 2008.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; LOPES, C. M. L.; LEITE, R. C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 92, p. 295-301, 2000.

OLIVER JUNIOR, J. H. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 20, p. 397-430, 1989.

OLSEN, B.; JAENSON, T. G. T.; BERGSTRÖM, S. Prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato – infected ticks on migrating birds. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 8, p. 3082-3087, 1995.

OSTFELD, R. S.; KEESING, F. Biodiversity and disease risk: the case of Lyme disease. **Conservation Biology**, v. 14, p. 722-728, 2000.

PACHECO, R. C.; HORTA, M. C.; MORAES-FILHO, J.; ATALIBA, A. C.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from São Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia bellii* and *Rickettsia parkeri*. **Biomédica**, v. 27, n. 3, p. 364-371, 2007.

PACHECO, R. C.; VENZAL, J. M.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 11, p. 1804-1805, 2006.

PADDOCK, C. D.; FERNANDEZ, S.; ECHENIQUE, G. A.; SUMNER, J. W.; REEVES, W. K.; ZAKI, S. R.; REMONDEGUI, C. E. Rocky mountain spotted fever in Argentina. **American Journal of Tropical. Medicine and Hygiene**, v. 78, p. 687– 692, 2008a.

PADDOCK, C. D.; FINLEY, R. W.; WRIGHT, C. S.; ROBINSON, H. N.; SCHRODT, B. J.; LANE, C. C.; EKENNA, O.; BLASS, M. A.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A.; MCLELLAN, S. L.; GODDARD, J.; HOLMAN, R. C.; OPENSHAW, J. J.; SUMNER, J. W.; ZAKI, S. R.; EREMEEVA, M. E. *Rickettsia parkeri* rickettsiosis and its clinical distinction from Rocky Mountain Spotted fever. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, p. 1188– 1196. 2008b.

PADDOCK, C. D.; SUMMER, J. W.; COMER, J. A.; ZAKI, S. R.; GOLDSMITH, C. S.; GODDARD, J.; MCLELLAN, S. L. F.; TAMMINGA, C. L.; OHL, C. A. *Rickettsia parkeri*: A newly recognized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. **Clinical Infectious Diseases**, v. 38, p. 805-811, 2004.

PARKER, T. A.; STOTZ, D. F.; FITZPATRICK J. W. **Ecological and distributional databases**, in: STOTZ, D. F.; FITZPATRICK, J. W.; PARKER T. A.; MOSKOVITS, D.K. (Eds.) *Neotropical birds: Ecology and conservation*, The University of Chicago Press, Chicago, 111-410 pp, 1996.

PAROLA, P.; DAVOUST, B.; RAOULT, D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. **Veterinary Research**, v. 36, p. 469–492, 2005.

PAROLA, P.; MATSUMOTO, K.; SOCOLOVSKI, C. A tick-borne rickettsia of the spotted-fever group, similar to *Rickettsia amblyommii*, in French Guyana. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 101, n. 2, p. 185-188, 2007.

PERLMAN, S. J.; HUNTER, M. S.; ZCHORI-FEIN, E. The emerging diversity of *Rickettsia*. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, p. 2097-2106, 2006.

PETERKA, C. R. L. Avaliação do efeito da fragmentação florestal na diversidade de carrapatos e patógenos transmitidos por carrapatos na região do Pontal Paranapanema, SP. 2008. 44 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

PHILIP, R. N.; CASPER, E. A.; ANACKER, R. L.; CORY, J.; HAYES, S. F.; BURGDORFER, W.; YUNKER, E. *Rickettsia bellii* sp. nov.: a tick-borne rickettsia, widely distributed in the USA, that is distinct from the spotted fever and typhus biogroups. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 33, p. 94–106, 1983.

PINTER A. **Aspectos ecológicos da Febre Maculosa Brasileira em foco endêmico no Estado de São Paulo**. 2007. 87 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, p. 523-529, 2006.

PINTER, A.; PACHECO, R. C.; HORTA, M. C.; MORAES-FILHO, J.; LABRUNA, M. B. Seroevaluation on dogs and humans from a Spotted Fever endemic area in the State of Sao Paulo, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 24, n. 2, p. 247-252, 2008.

PONÇANO, W. L.; CARNEIRO, C. D. R.; BISTRICHI, C. A.; ALMEIDA, F. F. M.; PRANDINI, F. L. **Mapa geomorfológico do Estado de São Paulo**. São Paulo: IPT – Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1981. v. 1.

RANDOLPH, S. E. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. **Parasitology**, v. 129, p. 37– 65, 2004.

RAOULT, D.; PADDOCK, C. D. *Rickettsia parkeri* infection and other spotted fevers in the United States. **New England Journal of Medicine**, v. 353, p. 626–627, 2005.

RAOULT, D.; ROUX, V. Rickettsioses as paradigms of new or emerging infectious diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 10, p. 694-719, 1997.

REDFORD, K. H.; EISENBERG, J. F. Mammals of the Neotropics. The Central Neotropics. Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. London: The University of Chicago Press, 1989, Chicago and London, v. 3, 609 p.

REGNERY, R. L.; SPRUILL, C. L.; PLIKAYTIS, B. D. Genotypic identification of *Rickettsiae* and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. **Journal of Bacteriology**, v. 173, n. 5, p. 1576-1589, 1991.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, p. 1141–1153, 2009.

RIBON, R.; SIMON, J. E.; MATTOS, G. T. Bird extinctions in Atlantic Forest fragments of Viçosa Region, Southeastern Brazil. **Conservation Biology**, v. 17, p. 1827-1839, 2003.

RIDGELY, R. S.; TUDOR, G. **The birds of South America**. The suboscine passerines. Austin: University of Texas Press, 1994. v. 2.

RIZZOLI, A.; HAUFFE, H. C.; TAGLIAPIETRA, V.; NETELER, M.; ROSA, R. Forest structure and Roe Deer abundance predict Tick- Borne Encephalitis risk in Italy. **PLoS ONE**, v. 4, n. 2, p. e4336, 2009.

RODRIGUES, F. H. G.; MARINHO-FILHO, J. S. Diurnal rest sites of translocated Lesser nteater (*Tamandua tetradactyla*) in the Brazilian Cerrado. **Edentata - The Newsletter of the IUCN Edentate Specialist Group**, v. 5, p. 44-45, 2003.

ROJAS, R.; MARINI, M. A.; COUTINHO, M. T. Z. Wild birds as hosts of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, p. 315-322, 1999.

ROUX, V.; RYDKINA, E.; EREMEEVA, M.; RAOULT, D. Cirtate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the rickettsiae. **International Journal of Sysyematic Bacteriology**, v. 47, n. 2, p. 252-261, 1997.

ROZENTAL, T.; BUSTAMANTE, M. C.; AMORIM, M.; SERRA-FREIRE, N. M.; LEMOS, E. R. Evidence of spotted fever group rickettsiae in state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 44, n. 3, p. 155-158, 2002.

SALA, O. E.; CHAPIN, F. S.; ARMESTO, J. J.; BERLOW, E.; BLOOMFIELD, J.; DIRZO, R.; HUBER-SANWALD, E.; HUENNEKE, L. F.; JACKSON, R. B.; KINZIG, A.; LEEMANS, R.; LODGE, D. M.; MOONEY, H. A.; OESTERHELD, M.; POFF, N. L.; SYKES, M. T.; WALKER, B. H.; WALKER, M.; WALL, D. H. Global Biodiversity Scenarios for the Year 2100. **Science**, v. 287, p. 1770-1774, 2000.

SANGIONI, L. A.; HORTA, M. C.; VIANNA, M. C. B.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M.; GALVÃO, M. A. M.; SCHUMAKER, T. T. S.; FERREIRA, F.; VIDOTTO, O.; LABRUNA, M. B. Rickettsial infection in animals and Brazilian Spotted Fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 2, p. 265-270, 2005.

SANTOS-SILVA, M. M.; SOUSA, R.; SANTOS, A. S.; MELO, P.; ENCARNÇÃO, V.; BACELLAR, F. Ticks parasiting wild birds in Portugal: detection of *Rickettsia aeschlimanii*, *R. helvetica* and *R. massiliae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 39, p. 331-338, 2006.

SCOTT, J. D.; FERNANDO, K.; BANERJEE, S. N.; DURDEN, L. A.; BYRNA, S. K.; BANERJEE, M.; MANN, R. B.; MORSHED, M. G. Birds disperse ixodid (Acari: Ixodidae) and *Borrelia burgdorferi* – infected ticks in Canada. **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n. 4, p. 493-500, 2001.

SERVICE, M. W. Agricultural development and arthropod-borne diseases: a review. **Revista de Saúde Pública**, v. 25, n. 3, p. 165-178, 1991.

SEXTON, D. J.; MUNIZ, M.; COREY, G. R.; BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; DUMLER, S.; WALKER, D. H.; PECANHA, P. M.; DIETZE, R. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 2, p. 222-226, 1993.

SHAW, J. H.; MACHADO-NETO, J.; CARTER, T. S. Behavior of free-living giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Biotropica**, v. 19, p. 255–259, 1987.

SICK, H. **Ornitologia brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira. 1997. 912 p.

SILVEIRA, I.; PACHECO, R. C.; SZABÓ, M. P. J.; RAMOS, H. G. C.; LABRUNA, M. B. *Rickettsia parkeri* in Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, n. 7, p. 1111-1113, 2007.

SONENSHINE, D. E. *Biology of Ticks*. New York: Oxford University Press, 1993. v. 2.

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. 407-502, 1973.

SONENSHINE, D. E.; MATHER, T. N. **Ecological dynamics of tick-borne zoonoses**. Oxford: Oxford University Press, 1994.

SCHMIDT, K. A.; OSTFELD, R. S. Biodiversity and dilution effect in disease ecology. **Ecology**, v. 83, n. 3, p. 609-619, 2001.

SCHULZE, T. L.; JORDAN, R. A. Meteorologically mediated diurnal questing of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) nymphs. **Journal of Medical Entomology**, v. 40, p. 395-402, 2003.

SUMNER, J. W.; DURDEN, L. A.; GODDARD, J.; STROMDAHL, E. Y.; CLARK, K. L.; REEVES, W. K.; PADDOCK, C. D. Gulf Coast Ticks (*Amblyomma maculatum*) and *Rickettsia parkeri*, United States. **Emerging Infectious Diseases**, v. 13, p. 751-753, 2007.

SUTHERST, R. W. Global Change and human vulnerability to vector-borne diseases. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 17, n. 1, p. 136–173, 2004.

SZABÓ, M. P. J.; CASTRO, M. B.; RAMOS, H. G. C.; GARCIA, M. V.; CASTAGNOLLI, K. C.; PINTER, A.; VERONEZ, V. A.; MAGALHAES, G. M.; DUARTE, J. M. B.; LABRUNA, M. B. Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p.147–154, 2007a.

SZABÓ, M. P. J.; LABRUNA, M. B.; GARCIA, M. V.; PINTER, A.; CASTAGNOLLI, K. C.; PACHECO, R. C.; CASTRO, M. B.; VERONEZ, V. A.; MAGALHAES, G. M.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J. M. B. Ecological aspects of the free living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in south-eastern Brazil. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 103, n. 1, p. 57–72, 2009.

SZABÓ, M. P. J.; LABRUNA, M. B.; VOGLIOTTI, A.; DUARTE, J. M. B. Ticks (Acari: Ixodidae) on Small Red Brocket Deer (*Mazama bororo* Duarte) along deer trails in the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 11, p. 41-45, 2006.

SZABÓ, M. P. J.; MARTINS, M. M.; SANTOS O. A. L. Q. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. **Experimental and Applied Acarology**, v. 43, p. 73–84, 2007b.

SZABÓ, M. P. J.; PASCOLI, G. V. T.; MARÇAL, O. JÚNIOR; ALEXANDRE GABRIEL FRANCHIN, A. G.; TORGA, K. Brown dog tick *Rhipicephalus sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. *sanguineus* parasitizing the bird *Coereba flaveola* in the Brazilian cerrado. **Ciência Rural**, v. 38, n. 2, p. 543-545, 2008.

TAMURA, K.; DUDLEY, J.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 24, p. 1596-1599, 2007.

UEZU, A. **Estrutura e composição de avifauna na paisagem fragmentada do Pontal do Paranapanema**. 2007. 193 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

UEZU, A.; BEYER, D. D.; METZGER, J. P. Can agroforest woodlots work as stepping stones for birds in the Atlantic forest region? **Biodiversity and Conservation**, v. 17, n. 8, p. 1907-1922, 2008.

UEZU, A.; METZGER, J. P. W.; VIELLIARD, J. M. The effect of structural and functional connectivity and patch size on the abundance of seven Atlantic Forest bird species. **Biological**, v. 123, p. 507-519, 2005.

WEINERT, L. A.; WERREN, J. H.; AEBI, A.; STONE, G. N.; JIGGINS, F. M. Evolution and diversity of *Rickettsia* bacteria. **BMC Biology**, v. 7, n. 6, p. 1-15, 2009.

WEISBROD, A. R.; JOHNSON, R. C. Lyme disease and migrating birds in the Saint Croix River Valley. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 1921-1924, 1989.

WHITMAN, T.J.; RICHARDS, A. L.; PADDOCK, C. D.; TAMMINGA, C. L.; SNIEZEK, P. J.; JIANG, J.; BYERS, D. K.; SANDERS, J. W. *Rickettsia parkeri* infection after tick bite, Virginia. **Emerging Infectious Diseases**, v.13, p. 334-336, 2007.

WILLIS, E. O. The composition of avian communities in the remanescent woodlots in southern Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 33, p. 1-25, 1979.

VALLADARES-PADUA, C.; PADUA, S. M.; CULLEN, L. Within and surrounding the Morro do Diabo State Park: biological value, conflicts, mitigation and sustainable development alternatives. **Environmental Science and Policy**, v. 5, p. 69–78, 2002.

VELOSO, H. P.; RANGEL-FILHO, A.L.; LIMA, L. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, 1991.123 p.

VENZAL, J. M.; ARÁNZAZU, P.; ESTRADA-PEÑA, A.; CASTRO, O.; CABRERA, P. A.; OTEO, J. A. *Rickettsia parkeri* in *Amblyomma triste* from Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 10, n. 8, p. 1493-1495, 2004.

VENZAL, J. M.; FÉLIX, M. L.; OLMOS, A.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. A collection of ticks (Ixodidae) from wild birds in Uruguay. **Experimental and Applied Acarology**, v. 36, p. 325-331, 2005.

VIANNA, M. C. B.; HORTA, M. C.; SANGIONI, L. A.; CORTEZ, A.; SOARES, R. M.; MAFRA, C. L.; GALVÃO, M. A. M.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Rickettsial spotted Fever in capoeirão village, Ita Bira, Minas Gerais, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 50, n. 5, p. 297-301, 2008.

APÊNDICES

Apêndice A - Categorização das aves silvestres em relação que estrato habitam e a resposta ao fragmentação (na - não afetadas, af - afetadas, be - beneficiadas) - Pontal do Paranapanema

Ordem	Família	Nome científico	Estrato	Resposta ao fragmentação
TINAMIFORMES	TINAMIDAE	<i>Crypturellus tataupa</i>	Baixo	na
GALLIFORMES	CRACIDAE	<i>Penelope supercilialis</i>	Baixo	na
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Claravis pretiosa</i>	Baixo	be
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Leptotila rufaxilla</i>	Baixo	af
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Leptotila verreauxi</i>	Baixo	na
CUCULIFORMES	CUCULIDAE	<i>Coccyzus melacoryphus</i>	Alto	be
CUCULIFORMES	CUCULIDAE	<i>Piaya cayana</i>	Alto	be
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Otus choliba</i>	Alto	be
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Glaucidium brasilianum</i>	Alto	be
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Glaucidium minutissimum</i>	Alto	af
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Phaethornis eurynome</i>	Baixo	na
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Phaethornis pretrei</i>	Baixo	af
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Chlorostilbon aureoventris</i>	Alto	be
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Thalurania glaucopis</i>	Baixo	af
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Hylocharis chrysura</i>	Baixo	na
TROGONIFORMES	TROGONIDAE	<i>Trogon rufus</i>	Baixo	na
TROGONIFORMES	TROGONIDAE	<i>Trogon surrucura</i>	Alto	af
CORACIIFORMES	MOMOTIDAE	<i>Baryphthengus ruficapillus</i>	Baixo	af
CORACIIFORMES	MOMOTIDAE	<i>Momotus momota</i>	Baixo	af
PICIFORMES	BUCCONIDAE	<i>Malacoptila striata</i>	Baixo	af
PICIFORMES	BUCCONIDAE	<i>Nonnula rubecula</i>	Baixo	af
PICIFORMES	RAMPHASTIDAE	<i>Pteroglossus castanotis</i>	Alto	na
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Picumnus albosquamatus</i>	Alto	be
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Veniliornis passerinus</i>	Alto	be
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Colaptes melanochloros</i>	Alto	be
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Celeus flavescens</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Dendrocincla fuliginosa</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Sittasomus griseicapillus</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Xiphocolaptes albicollis</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Dendrocolaptes platyrostris</i>	Alto	af
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Lepidocolaptes fuscus</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Philydor lichtensteini</i>	Alto	af
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Xenops minutus</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Xenops rutilans</i>	Alto	af
PASSERIFORMES	THAMNOPHILIDAE	<i>Thamnophilus caerulescens</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	THAMNOPHILIDAE	<i>Thamnophilus pelzenii</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Dysithamnus mentalis</i>	Baixo	Na
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Herpsilochmus atricapillus</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Formicivora rufa</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Pyriglena leucoptera</i>	Baixo	na

Ordem	Família	Nome científico	Estrato	Resposta ao fragmentação
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Chamaeza campanisona</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	CONOPOPHAGIDAE	<i>Conopophaga lineata</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiopagis viridicata</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Elaenia mesoleuca</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Euscarthmus meloryphus</i>	Baixo	be
		<i>Leptopogon</i>		
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>amaurocephalus</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Corythopsis delalandi</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiornis auricularis</i>	Alto	na
		<i>Hemitriccus</i>		
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>margaritaceiventris</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Hemitriccus orbitatus</i>	Alto	af
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Todirostrum plumbeiceps</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Platyrinchus mystaceus</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Lathrotriccus euleuri</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Casiornis rufa</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiarchus ferox</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiarchus tyrannulus</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Pitangus sulphuratus</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiodynastes maculatus</i>	Alto	na
		<i>Pachyrhamphus</i>		
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>polychopterus</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Schiffornis virescens</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Neopelma pallescens</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Manacus manacus</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Chiroxiphia caudata</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Pipra fasciicauda</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus amaurochalinus</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus leucomelas</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus subalaris</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Volatinia jacarina</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Arremon flavirostris</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	Baixo	be
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Tachyphonus coronatus</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Trichothraupis melanops</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Habia rubica</i>	Baixo	af
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Parula pitiayumi</i>	Alto	na
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Basileuterus culicivorus</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Basileuterus flaveolus</i>	Baixo	na
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Conirostrum speciosum</i>	Alto	be
PASSERIFORMES	ICTERIDAE	<i>Cacicus haemorrhous</i>	Alto	af
PASSERIFORMES	CORVIDAE	<i>Cyanocorax chrysops</i>	Alto	be

APÊNDICE B - Número das aves com carrapatos por número das aves total por cada área esudada - Pontal do Paranapanema

Aves			Fragemento florestal											
Ordem	Família	Nome científico	C1	C2	C3	C4	G1	G2	G3	G4	P1	P2	P3	P4
TINAMIFORMES	TINAMIDAE	<i>Crypturellus tataupa</i>	-	-	1	1	-	-	-	2	-	-	1	-
GALLIFORMES	CRACIDAE	<i>Penelope superciliaris</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Claravis pretiosa</i>	-	-	-	-	1	1	-	1	-	1	-	-
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Leptotila (rufaxilla) rufaxilla</i>	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
COLUMBIFORMES	COLUMBIDAE	<i>Leptotila verreauxi</i>	1/2	-	1	2	1	4	-	-	4	3	4	-
CUCULIFORMES	CUCULIDAE	<i>Coccyzus melacoryphus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
CUCULIFORMES	CUCULIDAE	<i>Piaya cayana</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	1	-
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Otus choliba</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Glaucidium brasilianum</i>	-	-	-	-	2	1/2	-	1	1	-	1	4
STRIGIFORMES	STRIGIDAE	<i>Glaucidium minutissimum</i>	-	1	-	1	-	-	1/1	-	-	-	-	-
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Phaethornis eurynome</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Phaethornis pretrei</i>	3	8	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Chlorostilbon aureoventris</i>	-	-	-	-	1	2	-	1	2	-	-	1
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Thalurania glaucopis</i>	6	9	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-
APODIFORMES	TROCHILIDAE	<i>Hylocharis chrysura</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
TROGONIFORMES	TROGONIDAE	<i>Trogon rufus</i>	1	-	-	-	-	-	-	2	-	-	1	-
TROGONIFORMES	TROGONIDAE	<i>Trogon surrucura</i>	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CORACIIFORMES	MOMOTIDAE	<i>Baryphthengus ruficapillus</i>	5/9	3/15	1/14	16	2	1	2/10	1	8	-	-	-
CORACIIFORMES	MOMOTIDAE	<i>Momotus momota</i>	1/4	-	1/2	-	-	-	-	-	-	-	-	3
PICIFORMES	BUCCONIDAE	<i>Malacoptila striata</i>	1	4	1/5	9	-	-	-	-	-	-	-	-
PICIFORMES	BUCCONIDAE	<i>Nonnula rubecula</i>	7	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PICIFORMES	RAMPHASTIDAE	<i>Pteroglossus castanotis</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Picumnus albosquamatus</i>	-	-	-	-	-	3	2	-	8	1	5	-
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Veniliornis passerinus</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	1	-
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Colaptes melanochloros</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
PICIFORMES	PICIDAE	<i>Celeus flavescens</i>	-	2	1	1	-	2	-	-	5	1	-	-

Aves			Fragmento											
Ordem	Família	Nome científico	C1	C2	C3	C4	G1	G2	G3	G4	P1	P2	P3	P4
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Dendrocincla fuliginosa</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Sittasomus griseicapillus</i>	13	14	10	5	2	-	2	1/10	-	-	10	-
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Xiphocolaptes albicollis</i>	-	-	4	-	1	1	-	1	-	-	1	4
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Dendrocolaptes platyrostris</i>	2	1	3	1	1	½	-	3	-	-	-	-
PASSERIFORMES	DENDROCOLAPTIDAE	<i>Lepidocolaptes fuscus</i>	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Philydor lichtensteini</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Xenops minutus</i>	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	FURNARIIDAE	<i>Xenops rutilans</i>	3	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	THAMNOPHILIDAE	<i>Thamnophilus caerulescens</i>	-	-	1	-	1	-	1/5	3	-	7/7	1	-
PASSERIFORMES	THAMNOPHILIDAE	<i>Thamnophilus pelzei</i>	7/18	1/4	2/18	3	11/40	19/31	11/43	13	20/56	2	14/43	13/46
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Dysithamnus mentalis</i>	7	3	-	-	3/11	1/3	1/14	3	1/1	-	-	1
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Herpsilochmus atricapillus</i>	-	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	-
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Formicivora rufa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1/1	-
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Pyriglena leucoptera</i>	5	8	1	1	2	1	2	-	-	-	1	-
PASSERIFORMES	FORMICARIIDAE	<i>Chamaeza campanisona</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	CONOPOPHAGIDAE	<i>Conopophaga lineata</i>	3/13	6	-	-	1/12	5/7	1/27	1	1/7	30/49	1/4	1/24
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiopagis viridicata</i>	-	2	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Elaenia mesoleuca</i>	-	-	-	-	1	1/2	1	-	2	-	2	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Euscarthmus meloryphus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	2	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	-	7	6	7	1	-	-	-	-	1/2	1	1/3
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Corythopsis delalandi</i>	21	23	4	16	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiornis auricularis</i>	-	1	-	1	-	-	-	1	4	3	3	2
		<i>Hemitriccus</i>												
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>margaritaceiventris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1/6	-	4	1
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Hemitriccus orbitatus</i>	2	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Todirostrum plumbeiceps</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Platyrinchus mystaceus</i>	22	18	4	18	3	2/6	1/17	1/6	-	-	-	-

Aves			Fragmento											
Ordem	Família	Nome científico	C1	C2	C3	C4	G1	G2	G3	G4	P1	P2	P3	P4
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Lathrotriccus euleuri</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Casiornis rufa</i>	-	-	1	-	3	-	1	-	-	1/2	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiarchus ferox</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiarchus tyrannulus</i>	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Pitangus sulphuratus</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Myiodynastes maculatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Pachyramphus polychopterus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-
PASSERIFORMES	TYRANNIDAE	<i>Cnemotriccus bimaculatus</i>	2	-	1/5	-	6	3	2	3	3/22	3/13	3/15	7
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Schiffornis virescens</i>	6	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Neopelma pallescens</i>	-	-	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Manacus manacus</i>	-	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Chiroxiphia caudata</i>	-	4	-	3	-	-	-	1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PIPRIDAE	<i>Pipra fasciicauda</i>	16	30	1/52	1/13	3	-	4	7	10	-	7	2/3
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus amaurochalinus</i>	-	1	3	-	1	1	-	1/7	1	-	-	4
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus leucomelas</i>	1	2	1	7	-	-	-	-	1	-	-	-
PASSERIFORMES	TURDINAE	<i>Turdus subalaris</i>	-	-	-	-	-	1	-	1/1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Volatinia jacarina</i>	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Arremon flavirostris</i>	20	-	9	3	2/21	2/11	16	-	1/34	1/15	2/13	1/5
PASSERIFORMES	EMBERIZINAE	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	2	-
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Tachyphonus coronatus</i>	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Trichothraupis melanops</i>	1/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	THRAUPINAE	<i>Habia rubica</i>	1/6	3	-	2	-	-	1	1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Parula pitiayumi</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Basileuterus culicivorus</i>	23	7	-	12	2	3	8	4	2/8	-	2	-
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Basileuterus flaveolus</i>	2	-	1/2	1	1/10	-	5	2	3/21	2/3	-	1/18
PASSERIFORMES	PARULINAE	<i>Conirostrum speciosum</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
PASSERIFORMES	ICTERIDAE	<i>Cacicus haemorrhous</i>	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PASSERIFORMES	CORVIDAE	<i>Cyanocorax chrysops</i>	-	-	-	-	-	1/1	-	-	-	-	-	1

APÊNDICE C - Número dos carrapatos coletados em vida livre por fragmento – Pontal do Paranapanema

[illegible]

APÊNDICE D - Número dos carrapatos coletados das aves silvestres – Pontal do Paranapanema

[illegible]

APÊNDICE E - Número de ninfas *A. nodosum* infectados por *R.parkei* (Rp) e *R. bellii* (Rb) por número testado, por área estudada -Pontal do Paranapanema

Aves					Fragmento							
Nome científico	C1	C2	C3	C4	G1	G2	G3	G4	P1	P2	P3	P4
<i>Dendrocolaptes platyrostris</i>	-	-	-	-	-	0/1	-	-	-	-	-	-
<i>Thamnophilus pelzenii</i>	2 Rp/4	-	-	-	0/9	1Rp/7	3Rp e1Rb/ 7	-	7 Rp e 5 Rb/ 43	-	0/21	3 Rp/4
<i>Thamnophilus caeruleus</i>	-	-	-	-	-	-	2 Rp/2	-	-	3 Rp e 1 Rb/6	-	-
<i>Dysithamnus mentalis</i>	-	-	-	-	0/1	-	-	-	-	-	-	-
<i>Conopophaga lineata</i>	-	-	-	-	-	1Rb/7	-	-	3 Rp/5	13 Rp e 1 Rb/39	-	-
<i>Platyrinchus mystaceus</i>	-	-	-	-	-	1Rb/1	-	-	-	-	-	-
<i>Casiornis rufa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2Rp/2	-	-
<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0/1	-	-	-
<i>Arremon flavirostris</i>	-	-	-	-	0/1	0/1	-	-	-	1 Rp/3	0/1	-
<i>Habia rubica</i>	0/1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Basileuterus flaveolus</i>	-	-	0/1	-	0/1	-	-	-	1 Rp/1	-	-	-
<i>Basileuterus culicivorus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0/2	-	-	-

APÊNDICE F - Figuras

Figura 17- Paisagem típica para região Pontal do Paranapanema, SP

Figura 18 - Paisagem típica para região Pontal do Paranapanema, SP

Figura 19 - As ninfas de *A. nodosum* em *T. pelzenii*

Figura 20 - Ninfa de *A. coelebs* em *B. ruficapillus*

Fiigura 21 - Larva de *A. longirostre* em *S. griseicapillus*

Figura 22 - Larvas de *A. nodosum* em *C. lineata*

Figura 23 - Rede de neblina

Figura 24 - Ninfas de *A. cajennense* em *P. superciliaris*

Figura 25 - Diferentes estádios de vida de *A. nodosum*. L – larva, N – ninfa, NE- ninfa ingurgitada, M – macho, F – fêmea

Figura 26- Carrapatos encontradas na região de Pontal do Paranapanema.
1. *A. brasiliense*; 2. *A. cajennense*; 3. *A. naponense*; 4. *A. coelebs*. A - fêmea, B - macho

Figura 27- Carrapatos encontradas na região de Pontal do Paranapanema. 5A-
ninfã ingurgitada de *A.longirostre*; 5B - Macho de *A. longirostre*; 6 -
Fêmea de *A. calcaratum*; 7 - Macho de *A. ovale*; 8A - Fêmea de *H.*
juxtakochi; 8B - Macho de *H. juxtakochi*