JAIRO ALFONSO MENDOZA ROLDAN

**Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários
em ácaros (Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de
São Paulo**

São Paulo

2015

JAIRO ALFONSO MENDOZA ROLDAN

**Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros
(Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo**

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

Departamento:

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

Área de concentração:

Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses

Orientador:

Prof. Dr. Darci Moraes Barros Battesti

De acordo: _____

Orientador(a)

São Paulo

2015

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.3153
FMVZ

Mendoza-Roldan, Jairo Alfonso

Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo / Jairo Alfonso Mendoza Roldan. -- 2015.
198 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, São Paulo, 2015.

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

Área de concentração: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Darci Moraes Barros Battesti.

1. Taxonomia. 2. Trombidiformes. 3. Répteis. 4. Anfíbios. 5. Filogenia. 6. Patógenos. I. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Comissão de Ética no Uso de Animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (*Trombidiformes*), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo", protocolado sob o nº 3069/2013, utilizando ácaros da família Trombiculidae, sob a responsabilidade Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, foi aprovado em reunião de 4/12/2013 e está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

We certify that the Research "Morphological studies and investigation of the presence of bacteria and protozoes in mites (*Trombidiformes*), that parasite reptile and amphibian in the São Paulo State", protocol number 3069/2013, utilizing mites Trombiculidae's family, under the responsibility Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, was approved in the meeting of day 12/4/2013 and agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Ethic Committee in the Use of Animals of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo.

São Paulo, 4 de junho de 2014.

Denise Tabacchi Fantoni
Presidente

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: MENDOZA-ROLDAN, Jairo Alfonso

Título: Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo

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

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

Prof Dr. _____

Instituição: _____ Julgamento _____

**Dedicado a mi madre Luz Mery,
Por tu apoyo incondicional y tus palabras
siempre llenas de sabiduría.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha orientadora Dra. Darci Moraes Barros Battesti, que sempre acreditou em mim, que sem importar a situação sempre foi um apoio incondicional e cujas palavras e conselhos me ajudaram a crescer como profissional e como pessoa.

Aos colegas do laboratório de Biologia Celular (Instituto Butantan), Dra. Marta Antoniazzi, Dr. Carlos Jared e em especial Beatriz Mauricio, pela valiosa ajuda na obtenção das imagens de MEV, pela amizade e bons momentos.

A todos os colegas e amigos do laboratório de Parasitologia (Instituto Butantan), em especial Valeria Castilho, Simone Simons, Felipe Gomes, Natalia Isola, Polianni Carmozini, Taisy Mazur e Leonor que são como minha família. Muito obrigado!

A Juliana Cuoco Badari, e sua família por me acolher como um filho no Brasil. Obrigado por me ensinar tanto e pela amizade.

A Livia Corrêa, e sua família por permitir conhecer parte deste país e por estar comigo nos momentos bons e não tão bons;

A Mercedes Reyes por ser como minha mãe, pelas palavras e pelo valioso conhecimento em acarologia que me transmitiu.

A todos os colegas, amigos e pesquisadores do Laboratório Especial de Coleções Zoológicas (Instituto Butantan) em especial a Leidiane Duarte, Maria Cristina Rosário. Gabi Andrade, Diego Ramirez, Gabriel Alves, Dalton Giovanni, Ricardo Silva, Fernando Jacinavicius, Marcia Fugiwara, Daniella Franze e Angelina Cirelli Moraes, por sua amizade incondicional, pelos conselhos e pela ajuda em cada passo do desenvolvimento deste projeto. Ao diretor Roberto H. Pinto Moraes, por permitir que concluísse o mestrado.

A Fernanda F. Santos, pela valiosa ajuda na coleta e montagem do material, pelos momentos e pela amizade.

A todos os colegas do Laboratório de Herpetologia do LECZ (Instituto Butantan), em especial a Flora, Betinha, Priscila Pisanelli, Priscila Oliveira, Bruno, Valdir, Gileno e Marcelo pela enorme contribuição em conhecimento e pela amizade e parceria.

A Francisco Franco, pela enorme contribuição de conhecimento herpetológico e pela parceria e ajuda.

A Bruno Ferreto pela ajuda tanto com material de coleta, como a oportunidade de coletar e conhecer o sul do estado de São Paulo e pelos bons momentos e parceria.

A todos os colegas do VPS (FMVZ-USP), em especial o Prof. Marcelo B. Labruna, Arlei Marcili e Fernanda Nieri, por abrir as portas do laboratório e permitir o desenvolvimento das técnicas moleculares, bem como a ampliação do meu conhecimento.

A Markéta Nováková, pela ajuda no aprimoramento da técnica de GT que permitiu a extração de DNA de ácaros Trombidiformes, pela amizade e bons momentos.

A Marcos Gomes Lopes, Herbert Soares e Solange Oliveira por serem excelentes amigos e companheiros de casa, que contribuíram em cada passo do desenvolvimento deste projeto.

Aos amigos Yuri, Caro, Pedro, Sebas, Gonza, Cathe, Vane, Xime, Blanca, Anabella, Margarita, Paula e Dave por serem parte especial da minha vida.

A minha família, minha mãe Luz Mery, Meu Pai Hugo meus irmãos Juan e Miguel, por acreditarem em mim e me apoiarem desde o início desta viagem e pelo amor incondicional.

A meu irmão gêmeo Miguel Angel, por ser um companheiro desde o início da minha vida, por estar comigo em todos os momentos e me dar ânimos sempre que precisei. Obrigado Hermanito.

As agências de fomentos FAPESP, CNPq e CAPES pelo apoio financeiro em projetos e bolsas que contribuíram para execução deste trabalho.

Por fim, agradeço a todos que contribuíram neste trabalho, e aqueles que indiretamente, sabendo ou não, estiveram presentes em momentos da minha vida.

“Reptiles and amphibians are sometimes thought of as primitive, dull and dimwitted. In fact, of course, they can be lethally fast, spectacularly beautiful, surprisingly affectionate and very sophisticated”

(Sir David Frederick Attenborough, 2008)

RESUMO

MENDOZA-ROLDAN, J. A. **Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (Trombidiformes), parasitos de répteis e anfíbios, no estado de São Paulo.** [Morphological studies and presence research of bacteria and protozoa in mites (Trombidiformes), parasites of reptiles and amphibians from the state of São Paulo]. 2015. 198 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015

O Brasil é um país megadiverso em herpetofauna, e do total da diversidade brasileira, aproximadamente 30% das espécies de répteis e 27% das espécies de anfíbios ocorrem no estado de São Paulo. A grande urbanização e o desmatamento acentuado têm ocasionado o aumento de encontros entre a herpetofauna e a população da capital e das outras cidades do estado. Esse fato faz com que algumas espécies, antes florestais, sejam atualmente consideradas sinântropicas. Répteis e anfíbios são amplificadores e reservatórios conhecidos de vários patógenos, mas o papel destes animais no ciclo de doenças e o potencial vetorial dos ácaros ectoparasitas desses vertebrados são ainda pouco conhecidos. Répteis e anfíbios são parasitados por ácaros da ordem Trombidiformes, pertencentes a 5 famílias (Cloacaridae, Pterygosomatidae, Harpirhynchidae, Trombiculidae e Leeuwenhoekiidae). Com exceção de Cloacaridae, as outras ocorrem na América do Sul. Dessa forma, a situação fragmentária dos registros de Trombidiformes no estado de São Paulo, sua complexidade taxonômica e a escassez de informações sobre sua participação na epidemiologia de doenças, foram os principais motivos que levaram à proposição do presente estudo. Os ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios, que estão depositados na coleção acarológica de Instituto Butantan (IBSP) foram revisados e alguns identificados. Igualmente, aqueles ácaros obtidos na recepção de animais do Instituto Butantan e de coletas em campo foram também identificados. Parte do material foi preparada para estudos moleculares e inferência filogenética, usando genes ribossomais e mitocondriais, e parte foi investigada para a presença de *Rickettsia* spp., *Coxiella* spp. e *Hepatozoon* spp. As seguintes espécies de ácaros foram identificadas, *Geckobia hemidactyli*, *Ophioptes parkeri*, *O. brevipilis*, *O. longipilis*, *Eutrombicula alfreddugesi*, *Fonsecia ewingi*, *Hannemania hepatica*, *H. minor* e *H. yungicola*. Foi descrita uma espécie nova de *Ophioptes*, sendo a primeira deste gênero parasitando viperídeos. Todos os registros de hospedeiro são novos, assim como, algumas localidades são novos registros de ocorrência para as espécies *G. hemidactyli*, *H. minor* e *H. yungicola*. Foi proposta uma filogenia utilizando-se o gene 18S V4 rRNA da ordem Trombidiformes. As

sequências obtidas foram analisadas juntamente com aquelas depositadas no GenBank. Não foi detectada a presença de patógenos nos ácaros e nem nos hospedeiros investigados.

Palavras-chave: Taxonomia. Trombidiformes. Répteis. Anfíbios. Filogenia. Patógenos.

ABSTRACT

MENDOZA-ROLDAN, J. A. **Morphological studies and presence research of bacteria and protozoa in mites (Trombidiformes), parasites of reptiles and amphibians from the state of São Paulo.** [Estudos morfológicos e investigação da presença de bactérias e protozoários em ácaros (Trombidiformes), parasitos de reptéis e anfíbios, no estado de São Paulo]. 2015. 198 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2015

Brazil is a megadiverse country in herpetofauna, and approximately 30% of the reptile species, and 27% of the amphibian species occur in the state of São Paulo. The high urbanization and the marked deforestation have increased the amount of human-herpetofauna encounters in the capital city and in the environment. This fact made some species to be considered currently as synanthropic. Reptiles and amphibians are known amplifiers and reservoirs of several pathogens, yet the role of these animals in the cycle of diseases and the vector potential of the ectoparasitic mites of these vertebrates are poorly known. Reptiles and amphibians are parasitized by mites of the Trombidiformes order of 5 families (Cloacaridae, Pterygosomatidae, Harpirhynchidae, Trombiculidae e Leeuwenhoekiidae). These families occur in South America, except for Cloacaridae. Thereby, the fragmentary records of Trombidiformes in the state of São Paulo, their taxonomic complexity and the scarce information regarding their role in the epidemiology of diseases, were the main reasons to pursue the proposition of the present study. Trombidiformes mites of reptiles and amphibians deposited in the acarological collection of the Instituto Butantan (IBSP) were reviewed and some of them were identified. In the same way, mites obtained at the animal reception site of the Instituto Butantan, and from field collections were also identified. Part of this material was prepared for molecular studies and phylogenetic inference using ribosomal and mitochondrial genes, and another part of the material was used to assess the presence of *Rickettsia* spp., *Coxiella* spp. and *Hepatozoon* spp. The following species were identified: *Geckobia hemidactyli*, *Ophioptes parkeri*, *O. brevipilis*, *O. longipilis*, *Eutrombicula alfreddugesi*, *Fonsecia ewingi*, *Hannemania hepatica*, *H. minor* and *H. yungicola*. A new species of *Ophioptes* was described, being the first of this genus parasitizing viper snakes. All the hosts records are new, as well as, some of the localities are new records in the state for *G. hemidactyli*, *H. minor* e *H. yungicola*. A phylogeny using the 18S V4 rRNA gene was proposed. The obtained sequences and the sequences retrieved from the Genbank database were analyzed together. Pathogens were not detected in the mites nor in their hosts.

Key Words: Taxonomy. Trombidiformes. Reptiles. Amphibians. Phylogeny. Pathogens.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Sistema de Grandjean para a segmentação do histerossoma de um ácaro (=Opistossoma).....	30
Figura 2 -	Mapa da distribuição dos gêneros de Pterygosomatidae na América do Sul, obtido com o programa DIVA-GIS.....	35
Figura 3 -	Mapa da distribuição dos gêneros de Harpirhynchidae, obtido com o programa DIVA-GIS.....	42
Figura 4 -	Locais onde comumente encontram-se os “mite pockets” (bolsos de ácaros) em sáurios. Em geral, cada hospedeiro possui apenas 1 “bolso de ácaro”, no máximo 2, variando apenas a posição.....	42
Figura 5 -	Mapa da distribuição dos gêneros de Trombiculidae, obtido com o programa DIVA-GIS.....	48
Figura 6 -	Mapa da distribuição das espécies de <i>Hannemania</i> , obtido com o programa DIVA-GIS.....	51
Figura 7 -	Localização geográfica da Fazenda Etá, município de Sete Barras São Paulo, obtido pelo Google Maps.....	59
Figura 8 -	Localização geográfica do local da coleta perto do município de São Jose do Barreiro, São Paulo.....	60
Figura 9 -	Locais de fixação de <i>Geckobia hemidactyli</i> no hospedeiro <i>H. mabouia</i> . Os ácaros são vermelhos.....	78
Figura 10 -	Locais de fixação de ácaros do gênero <i>Ophioptes</i> nos hospedeiros ofídios.....	79
Figura 11 -	Locais de fixação dos ácaros <i>E. alfreddugesi</i> nos hospedeiros.....	79
Figura 12 -	Locais de fixação dos ácaros <i>F. ewingi</i> no anfíbio <i>R. ornata</i>	80
Figura 13 -	Locais de fixação dos ácaros <i>H. hepatica</i> no hospedeiro <i>P. spiniger</i> ...	81
Figura 14 -	Locais de fixação dos ácaros <i>H. minor</i> no hospedeiro <i>L. latrans</i>	82
Figura 15 -	Locais de fixação dos ácaros <i>H. yungicola</i> no hospedeiro <i>F. fissilis</i>	82
Figura 16 -	Imagem de microscopia eletrônica de varredura de <i>G. hemidactyli</i> , fêmea, vista frontal.....	87
Figura 17 -	Imagens de microscopia eletrônica de varredura de fêmea <i>G. hemidactyli</i>	88

Figura 18 -	Fêmea de <i>O. brevipilis</i> , vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura, em destaque as cerdas natualae.....	93
Figura 19 -	Fêmea de <i>O. brevipilis</i> , vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura.....	94
Figura 20 -	Desenhos com detalhes morfológicos de <i>O. brevipilis</i>	95
Figura 21 -	Desenhos com detalhes morfológicos de <i>O. brevipilis</i>	96
Figura 22 -	Fêmea de <i>O. longipilis</i> , vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas natualae.....	101
Figura 23 -	Fêmea <i>O. longipilis</i> , vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura.....	102
Figura 24 -	Desenhos com detalhes morfológicos de <i>Ophiotes longipilis</i>	103
Figura 25 -	Desenhos com detalhes morfológicos de <i>Ophiotes longipilis</i>	104
Figura 26 -	Fêmea de <i>Ophiotes faini</i> sp. n. Vista dorsal em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas ventro-basais do gnatossoma	109
Figura 27 -	Fêmea de <i>Ophiotes faini</i> sp. n., em microscopia eletrônica de varredura.....	110
Figura 28 -	Desenhos de <i>Ophiotes faini</i> sp. n.	111
Figura 29 -	Desenhos de idiossoma dorsal de macho e fêmea de <i>Ophiotes faini</i> sp. n.....	112
Figura 30 -	Tritoninfa e deutoninfas de <i>Ophiotes faini</i> sp. n. em microscopia óptica.....	113
Figura 31 -	Fêmea de <i>O. parkeri</i> , vista ventral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas natualae.....	114
Figura 32 -	Fêmea de <i>O. parkeri</i> , gnatossoma ventral, perna ventral e placa genital, em microscopia eletrônica de varredura.....	115
Figura 33 -	Cerda do fêmur III de 4 espécies de <i>Ophiotes</i> , vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura.....	116
Figura 34 -	Larva de <i>E. alfreddugesi</i> , vista dorsal em de microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal.....	120
Figura 35 -	Larva <i>Eutrombicula alfreddugesi</i> em microscopia eletrônica de	

	varredura.....	121
Figura 36 –	Larva <i>F. ewingi</i> , vista lateral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal.....	123
Figura 37 –	Larva <i>F. ewingi</i> em microscopia eletrônica de varredura.....	124
Figura 38 –	Desenhos com detalhes morfológicos da larva de <i>F. ewingi</i>	125
Figura 39 –	Larva de <i>H. hepatica</i> , vista lateral em microscopia eletrônica de varredura vista ventral. Em destaque o escudo dorsal.....	127
Figura 40 -	Larva de <i>H. hepatica</i> em microscopia eletrônica de varredura.....	128
Figura 41 –	Desenhos com detalhes morfológicos da larva de <i>H. hepatica</i>	129
Figura 42 –	Larva de <i>H. minor</i> em microscopia eletrônica de varredura.....	131
Figura 43 –	Desenhos com detalhes morfológicos da larva de <i>H. minor</i>	132
Figura 44 –	Larva <i>H. yungicola</i> , vista lateral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal.....	134
Figura 45 –	Larva de <i>H. yungicola</i> em microscopia eletrônica de varredura.....	135
Figura 46 –	Distribuição geográfica de <i>G. hemidactyli</i> . Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	137
Figura 47 –	Distribuição geográfica de <i>O. parkeri</i> e <i>O. faini</i> sp.n. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis na América do Sul.....	138
Figura 48 -	Distribuição geográfica de <i>E. alfreddugesi</i> . Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	138
Figura 49 –	Distribuição geográfica de <i>F. ewingi</i> . Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	139
Figura 50 –	Distribuição geográfica de <i>H. hepatica</i> . Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	139
Figura 51 –	Distribuição geográfica de <i>H. minor</i> . Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	140
Figura 52 –	Distribuição geográfica de <i>H. yungicola</i> . Em destaque a área de	

	ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.....	141
Figura 53 –	Imagem do gel de Agarose 1.5% da PCR para o gene 18S, região V4 dos ácaros.....	143
Figura 54 –	Árvore consenso obtida da análise do gene 18S rRNA V4 para 15 espécies de ácaros Prostigmata.....	147
Figura 55 –	Cladogramas baseados em morfologia dos ácaros Trombidiformes.....	148
Figura 56 -	Árvore filogenética das espécies de ácaros baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima verossimilhança (MV).....	149
Figura 57 -	Árvore filogenética das espécies de ácaros baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima parcimônia (MP).....	150
Figura 58-	Árvore filogenética das espécies de ácaros baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pela análise Bayesiana (BA).....	151
Figura 59 -	Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima verossimilhança (MV).....	154
Figura 60 -	Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima parcimônia (MP).....	155
Figura 61 -	Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pela análise Bayesiana (BA).....	156
Quadro 1 -	Espécies de ácaros Pterygosomatidae registrados para a América do Sul, com informações sobre hospedeiros e localidades.....	33
Quadro 2 -	Espécies de ácaros Harpinrynychidae registrados para a América do Sul, com informações sobre hospedeiros e localidades.....	38
Quadro 3 -	Espécies de ácaros Trombiculidae registrados para a América do Sul, com informações de hospedeiros e localidades.....	44

Quadro 4 -	Espécies de ácaros Leeuwenhoekiidae registrados para a América do Sul.....	49
Quadro 5 -	Lista dos <i>primers</i> utilizados nas Reações em Cadeia pela Polimerase (PCR) para pesquisa de patógenos e filogenia dos ácaros.....	71
Quadro 6 -	Espécies de Chelicerata, cujas sequências foram utilizadas nas análises filogenéticas do gene 18S rRNA, região V4.....	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Espécies de répteis examinadas e infestadas (material coletado e de animais que chegaram à Recepção do LECZ).....	76
Tabela 2 –	Espécies de anfíbios examinados e infestados (material coletado e de animais que chegaram à Recepção do LECZ).....	77
Tabela 3 –	Quantidade de ácaros por espécie e hospedeiros.....	77
Tabela 4 –	Índice de prevalência, intensidade média e abundância média de cada espécie de ácaro coletada.....	78
Tabela 5 –	Morfometria de <i>Ophiotes parkeri</i>	114
Tabela 6 –	Morfometria de 6 larvas de <i>Eutrombicula alfreddugesi</i>	119
Tabela 7 –	Morfometria de 4 larvas de <i>Fonnesia ewingi</i>	123
Tabela 8 –	Morfometria de 10 larvas de <i>H. hepatica</i>	126
Tabela 9 -	Morfometria de 2 larvas de <i>H. minor</i>	130
Tabela 10 –	Morfometria de 6 larvas de <i>H. yungicola</i>	133
Tabela 11 –	Espécies de ácaros Trombidiformes investigadas e quantificação de DNA segundo os protocolos utilizados na extração.....	142
Tabela 12 -	Espécies de ácaros Trombidiformes investigadas e quantificação de DNA nas amostras segundo o protocolo GT, e resultados das PCRs dos genes utilizados para os ácaros. A: amplificado; NA: não amplificado.....	143
Tabela 13 -	Resultados das PCRs dos genes para a presença de patógenos nos ácaros amostrados. A: amplificado; NA: não amplificado.....	157
Tabela 14 -	Espécies de répteis e anfíbios infestados com ácaros, que tiveram seus tecidos investigados para a presença de patógenos, no período de agosto de 2013 a janeiro de 2015.....	158

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μga: microcerda do genu da perna I

μta: microcerda da tíbia da perna I

A: amplificado

Ab: Antebraço

ACV: área Celomatica Ventral

aCl: área cervical lateral

AD: segmento adanal

AL: cerda Anterolateral do escudo dorsal

AM: cerda Anteromediana do escudo dorsal ou abundância média

AN: segmento anal

AP: distância entre a cerda anterolateral (AL) e a cerda posterolateral (PL) do mesmo lado

aPo: área peri ocular

ASB: maior distância entre as bases das Sensilas e a margem anterior do escudo dorsal

aTI: área tibial

aTr: área tarsal

AW: largura anterior do escudo dorsal

B: cerda barbeada (inglês *branched*)

B: braço

Bf: bafifêmur

B.M.: Departamento de Arachnida, British Museum, Reino Unido

BMNH: British Museum of Natural History, Londres, Inglaterra

C: segmento anterior

c: garra do palpo

C+1: controle positivo 1

C+2: controle positivo 2

C-: controle negativo

Ca: cauda

CAPI: capsular polysaccharide biosynthesis protein

Cb: lâmina da quelícera

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

ch: quelíceras

CM: controle do mix

CNPq: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Co: coxa

CS: cerdas posteroanais

CSAV: Institute of Parasitology Academy of Sciences of the Czech Republic, República Checa

Cx: coxa

D: segunda região do histerossoma

Di: Dígitos

DF: Distrito Federal

Dmax: maior comprimento das cerdas dorsais idiossomais

Dmin: menor comprimento das cerdas dorsais idiossomais

DNA: ácido desoxirribonucleico

dNTP: bases de nucleotídeos

DP: desvio padrão

DoM: porção dorso medial

DS: quantidade de cerdas dorsais do idiossoma

DSF: fórmula do arranjo das fileiras das cerdas dorsais

E: terceira região do histerossoma

e: cerda escapular

F: fêmur ou quarta região do histerossoma

f': microtarsala do tarso da perna I

f'': microtarsala do tarso da perna II

FAPESP: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

fCx: fórmula das cerdas da coxa

fD: fórmula das cerdas dorsais

FMB: febre maculosa brasileira

FMV: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

fPp: fórmula das cerdas do palpo

fSc: relação entre comprimentos das cerdas do escudo dorsal (AL, AM e PL)

fsP: fórmula de segmentação das pernas

fSt: fórmula das cerdas esternais

FVC: Face Ventral da Cabeça

G: guanina

g: cerdas genitais

ga: genciala da perna I

Ga: cerda genciala

Ge: genu

glTA: gene citrato sintase

gm: genciala do genu da perna II

GO: Goiás (Estado)

gp: genciala do genu da perna III

H: cerda humeral ou quinta região do histerossoma

IBSP: Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil

ICMBio: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade

IM: intensidade média

inP: *mite Pocket* inguinal

IP: índice de prevalência

k: Cerda diminuta especializada

L: comprimento total do ácaro incluindo gnatossoma

l: ladder

l-b: cerda látero-basal

LECZ: Laboratório Especial de Coleções Zoológicas

Lld: largura do idiossoma.

LG: largura do gnatossoma ventral. O limite posterior é formado pela borda posterior da pequena ampola transparente do gnatossoma. O limite anterior é a extremidade apical da cerda folheada apical.

M: molaridade

MEV: microscopia eletrônica de varredura

MG: Minas gerais (Estado)

MP: máxima parcimônia

MT: Mato Grosso (Estado)

m-t: razão entre a distância da mastitarsala até a base do tarso da perna III e comprimento do tarso da perna III

MTa: mastitarsala

MV: máxima verossimilhança

N: cerda lisa (inglês *nude*)

Na: naturalae ou Não amplificado

NMNH: National Museum of Natural History/ Smithsonian Institution, Washington D.C., USA

nPl: nugal Pocket lateral

PA: Pará (Estado)

Pax: *mite Pocket* auxiliar

Pb: pares de bases

PCR: reação em cadeia da polimerase

pg: placa genital

PL: cerda posterolateral do escudo dorsal

P-PL: maior distância entre a base da PL até a margem posteir do escudo dorsal

PSB: maior distância entre as bases das Sensilas e a margem posterior do escudo dorsal

PS: segmento pseudoanal.

pST: parasubterminala

PT₁: pretarsala do tarso da perna I

PT₂: pretarsala do tarso da perna II

PW: largura posterior do escudo dorsal

RJ: Rio de Janeiro (Estado)

RM: Rijks-Museum, Leiden, Holanda

RML: Rocky Mountain Laboratory, National Institute of Health, Hamilton, Montana, USA

S: Sensila ou Cerda subterminala do tarso do palpo

S: Sul

S₁: tarsala do tarso da perna I

S₂: tarsala do tarso da perna II

SB: Distância entre as bases das Sensilas

SD: somatória de ASB e PSB

Sisbio: Sistema de autorização e informação em Biodiversidade

So: tarsala do palpo

SP: São Paulo (Estado)

spp.: várias espécies

ST: subterminala

t: espículos do órgão nidificador

Ta: tarso

ta: tibiala da tibia da perna I ou cerda tarsal anterior

Tf: telofêmur

Ti: tíbia

tid: cerda tíbial dorsal

tiv: cerda tíbial ventral

tm: tibiala da tíbia da perna II

tp: tibiala da tíbia da perna III ou cerda tarsal posterior

Tr: trocânter

USNM: United State National Museum

USP: Universidade de São Paulo

V: cerdas ventrais ou ventral

v-b: cerda ventro-basal

Vmax: maior comprimento das cerdas idiossomais

Vmin: menor comprimento das cerdas idiossomais

W: Oeste

ω : solenidia no tarso I – II.

Wld: comprimento do idiossoma

WG: comprimento máximo do gnatossoma

ZISP: Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia

ZMUC: Zoological Museum, University of Copenhagen, Dinamarca

ZMH: Zoologisches Institut und Zoologisches Museum der Universität, Hamburg, Germany

LISTA DE SÍMBOLOS

%: por cento

/: por

': minuto

": segundo

=: igual

±: desvio padrão

° C: graus Celsius

½: meia

CO₂: dióxido de carbono

MgCl₂: cloreto de magnésio

mL: mililitro

n: tamanho da amostra

ng: nanograma

nm: nanômetro

Nº: número

°: grau

pH: potencial hidrogênico

rpm: rotações por minuto

µl: microlitro

µm: micromêtro

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	29
1.1	HERPETOFAUNA BRASILEIRA.....	29
1.2	ÁCAROS TROMBIDIFORMES DE RÉPTEIS E ANFÍBIOS.....	30
1.2.1	Família Cloacaridae.....	31
1.2.2	Família Pterygosomatidae.....	32
1.2.3	Família Harpirhynchidae, gênero <i>Ophioptes</i>.....	36
1.2.4	Famílias Trombiculidae e Leewuenhoeekiidae.....	37
1.2.5	Patógenos associados a répteis e anfíbios e seus ectoparasitos.....	51
1.2.5.1	Gênero <i>Rickettsia</i>	53
1.2.5.2	Gênero <i>Coxiella</i>	54
1.2.5.3	Gênero <i>Hepatozoon</i>	55
1.3	JUSTIFICATIVA.....	56
2	OBJETIVOS.....	57
2.1	GERAL.....	57
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	57
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.1	MATERIAL DEPOSITADO NA COLEÇÃO IBSP.....	58
3.2	RECEPÇÃO DE ANIMAIS PEÇONHENTOS DO INSTITUTO BUTANTAN (IBSP).....	58
3.3	MATERIAL DE CAMPO.....	59
3.4	ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO DOS ÁCAROS E TECIDOS DOS HOSPEDEIROS.....	61
3.5	ESTUDOS TAXONÔMICOS.....	61
3.5.1	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	62
3.5.2	Ilustrações.....	63
3.5.3	Terminologia.....	63
3.6	PREVALÊNCIA E INTENSIDADE DE INFESTAÇÃO.....	65
3.7	EXTRAÇÃO DE DNA.....	65
3.7.1	Ácaros.....	66
3.7.2	Tecidos.....	67
3.8	QUANTIFICAÇÃO DO DNA EXTRAÍDO.....	68
3.9	REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR).....	68
3.9.1	PCR para o gene ribossômico rRNA 18S, e os genes mitocondriais COI-1, COI-2 – ácaros.....	68

3.9.2	PCR para os diferentes patógenos.....	69
3.9.3	Leitura e análise dos produtos das PCRs.....	70
3.9.4	Purificação e sequenciamento de nucleotídeos.....	71
3.10	ANÁLISES DAS SEQUÊNCIAS.....	72
3.11	ANÁLISE FILOGENÉTICA.....	73
4	RESULTADOS.....	74
4.1	HOSPEDEIROS E ÁCAROS.....	74
4.1.1	Material de campo e da Recepção de Animais.....	75
4.2	ÍNDICES DE INFESTAÇÃO E LOCAL DE FIXAÇÃO DOS ÁCAROS NOS HOSPEDEIROS.....	75
4.3	CATÁLOGO DOS ESPÉCIMES EXAMINADOS.....	83
4.4	DETALHAMENTO MORFOLÓGICO.....	86
4.4.1	<i>Geckobia hemidactyli</i> Lawrence, 1936 (Pterygosomatidae).....	86
4.4.2	<i>Ophiotes brevipilis</i> Lizaso, 1981, pág 380 (Harpirhynchidae).....	89
4.4.2.1	Redescrição de <i>O. brevipilis</i> (IBSP 6327).....	89
4.4.3	4.4.3 <i>Ophiotes longipilis</i> Lizaso, 1981, Pág 378 (Harpirhynchidae).....	97
4.4.3.1	Redescrição de <i>Ophiotes longipilis</i> (IBSP 6070, Holótipo).....	97
4.4.4	Descrição de <i>Ophiotes faini</i> sp. n. (Harpirhynchidae).....	105
4.4.5	<i>Ophiotes parkeri</i> Sambon, 1928, Pág. 141 (Harpirhynchidae).....	113
4.4.6	Chaves de identificação das espécies do gênero <i>Ophiotes</i> de América do Sul.....	117
4.4.7	<i>Eutrombicula alfreddugesi</i> (Trombiculidae) (Oudemans, 1910).....	117
4.4.8	<i>Foncesia ewingi</i> (Fonseca, 1932), Pág 153 (Trombiculidae).....	122
4.4.9	<i>Hannemania hepatica</i> Fonseca 1935, Pág. 49 (Leeuwenhoekiidae).....	126
4.4.10	<i>Hannemania minor</i> Alzuet & Mauri, 1987, Pág 112 (Leeuwenhoekiidae).....	130
4.4.11	<i>Hannemania yungicola</i> Wohltmann, Kohler & Martin, 2006, Pág. 142 (Leeuwenhoekiidae).....	133
4.5	DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	136
4.6	EXTRAÇÃO DE DNA.....	141
4.6.1	Controle endógeno.....	141
4.7	FILOGENIA DOS ÁCAROS.....	144
4.7.1	Árvores filogenéticas da ordem Trombidiformes.....	147
4.7.2	Árvores filogenéticas da ordem Trombidiformes em relação aos outros grupos de Acari.....	153
4.8	EPIDEMIOLOGIA INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE PATÓGENOS.....	157

5	DISCUSSÃO	159
5.1	IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE TROMBIDIFORMES E ÍNDICES DE INFESTAÇÃO.....	159
5.2	FILOGENIAS MOLECULARES.....	169
5.3	INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE PATÓGENOS.....	172
6	CONCLUSÕES/ CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	174
	REFERÊNCIAS.....	176
	APÊNDICES	194

1 INTRODUÇÃO

1.1 HERPETOFAUNA BRASILEIRA

No Brasil 760 espécies de répteis e 1026 espécies de anfíbios foram registradas até o momento (RODRIGUES, 2005, BÉRNILS; COSTA, 2012; SEGALLA et al., 2012). Desses números estão assinaladas 212 espécies de répteis no estado de São Paulo, distribuídas em 23 famílias, incluindo 12 quelônios, três crocodilianos e 197 Squamata (142 serpentes, 44 saurios e 11 anfisbenas). Esses dados representam 30% da diversidade de répteis que ocorrem no território brasileiro (ZAHER et al., 2011), e onze espécies são endêmicas para o estado de São Paulo. Quanto aos anfíbios, no estado ocorrem 236 espécies, das quais 230 são anuros e seis são Gymnophiona. Esses números representam 27% da riqueza de espécies do país (DE CERQUEIRA et al., 2011). No entanto, o estado de São Paulo, com alta riqueza de anfíbios e répteis, possui apenas 13,9% da sua área total, com remanescentes de vegetação natural de Cerrado e Mata Atlântica (MARQUES et al., 2010). A fragmentação do habitat predispõe a um maior número de ocorrências de encontros de humanos e a herpetofauna, tanto que o número de acidentes com ofídios peçonhentos aumentou muito nos últimos 20 anos (BOCHNER et al., 2003). Por tanto, a grande urbanização fez com que muitas espécies da herpetofauna fossem consideradas sinantrópicas, aumentando o risco de transmissão de doenças e parasitas aos humanos. Exemplo deste fenômeno é o registro de parasitismo de carrapatos da espécie *Amblyomma fuscum* Neumann, 1907 em humanos, como consequência da sinantropia dos hospedeiros (répteis e anfíbios) (MARQUES et al., 2006).

Répteis e anfíbios são considerados reservatórios naturais de doenças bacterianas, virais e parasitárias (KRUSE et al., 2004; KRAUS et al., 2005). Essas doenças podem ser zoonoses e, em vários casos, sua transmissão envolve artrópodes hematófagos que atuam como vetores. Dentre eles destacam-se ácaros Parasitiformes da ordem Mesostigmata e Acariformes da ordem Trombidiformes (BURRIDGE, 2001). O ácaro mais estudado de répteis e anfíbios é *Ophionyssus natricis* Gervais, 1844. Esta espécie pertence à família Macronyssidae (Mesostigmata), que está registrada como potencial vetor de agentes patogênicos nos hospedeiros (principalmente doença de corpos de inclusão em boídeos) (BECK; PFISTER, 2005). Porém, o conhecimento dos ácaros Trombidiformes que parasitam

répteis e anfíbios, assim como o papel que eles desempenham na transmissão de doenças, são ainda muito escassos na literatura.

1.2 ÁCAROS TROMBIDIFORMES DE RÉPTEIS E ANFÍBIOS

Trombidiformes compreende uma grande e diversa ordem, com cerca de 130 famílias e mais de 22.000 espécies (REZENDE et al., 2012). Por causa dessa diversidade a ordem possui poucas sinapomorfias, que são caracteres homólogos apomórficos compartilhados por dois ou mais táxons (LINDQUIST, 1996). Os Trombidiformes possuem as subordens Sphaerolichida e Prostigmata, segundo a revisão de Krantz e Walker (2009). Os ácaros deste último tem como característica principal a presença da abertura do sistema traqueal no prosoma dorsal (parte anterior, atrás do gnatosoma) (GRIFFITHS; BOWMAN, 1984). Outros caracteres que agrupam a subordem Prostigmata (a maioria do grupo) estão apresentados a seguir (Figura 1), porém, não são caracteres únicos que definem a ordem. O segmento histerossomal (= Idiossoma) (C) com quatro pares de cerdas e os segmentos histerossomais (D e E) com dois pares de cerdas, são algumas dessas sinapomorfias. A ausência de “segmentação primária”, que na Figura 1 está representada por uma linha tracejada, é a principal particularidade dos Trombidiformes (O’CONNOR, 1984).

Figura 1 - Sistema de Grandjean para a segmentação do histerossoma de um ácaro (=Opistossoma)

Fonte: (Adaptado de WALTER, 2006).

Legenda: segmentos do histerossoma. (AD) segmento adanal; (AN) segmento anal; (C) segmento anterior; (D) segunda região do histerossoma; (E) terceira região do histerossoma; (F) quarta região do histerossoma; (H) quinta região do histerossoma; (PA) segmento preanal; (PS) segmento pseudoanal.

Os Trombidiformes também podem ser diferenciados (a maioria) da ordem Sarcoptiformes por ter quelíceras com dígitos móveis em forma de gancho ou estilete, empódio almofadado ou raiado nas pernas e abertura estigmática anterior no prosoma dorsal. Nos Sarcoptiformes, as quelíceras são queladas como nos ancestrais, e tanto o empódio quanto os estigmas respiratórios estão ausentes (LINDQUIST, 1996).

Os ácaros Trombidiformes que parasitam répteis e anfíbios estão agrupados na subordem Prostigmata, em 5 famílias: Cloacaridae, Pterygosomatidae, Harpirynchidae, Trombiculidae e Leeuwenhoekiidae. Todas estas famílias têm registros no neotrópico.

1.2.1 Família Cloacaridae

A família Cloacaridae possui 2 subfamílias, Cloacarinae e Pneumophaginae, com 6 gêneros e 15 espécies. Membros da subfamília Cloacarinae parasitam exclusivamente répteis e todas as espécies distribuídas em 5 gêneros são endoparasitos altamente especializados. Vivem exclusivamente na cloaca e em músculos de quelônios (das subordens Cryptodira e Pleurodira), como jabutis, tartarugas e cágados (CAMIN et al., 1967). Há registros para América do Norte (FAIN, 1968; PENCE; CASTO, 1975,) Ásia, Australia (FAIN, 1968) e África (FAIN, 1968; PENCE; CASTO, 1975; PENCE; WRIGHT, 1998; BOCHKOV; O'CONNOR, 2008). A subfamília Pneumophaginae é representada por apenas um gênero e uma única espécie, *Pneumophagus* (*P. bubonis* Fain & Smiley, 1989). Ocorre somente em pulmões de aves, sendo mais comum em coruja da espécie *Bubo virginianus* (FAIN; SMILEY, 1989).

Os cloacaríneos dos gêneros *Cloacarus* Camin e Singer (1967), *Caminacarus* Fain (1968), *Emyduracarus* Fain (1968), *Theodoracarus* Fain (1968) e *Chelonodacarus* Pence e Wright (1998), são transmitidos entre os hospedeiros provavelmente pela forma venérea (FAJFER, 2012). Há sugestões de que os ácaros se reproduzem por partenogênese em que ovos não fertilizados se desenvolvem em machos (arrenotoquia) (PENCE; CASTO, 1975). A alta especialização entre os Cloacarinae, bem como sua especificidade em parasitar quelônios, sugere que essa relação parasito-hospedeiro tenha origens ancestrais. Possivelmente esse grupo de ácaros monofiléticos tenha se originado antes da divergência de Pleurodira e Cryptodira, no período Jurássico ou Cretáceo (BOCHKOV; O'CONNOR, 2008). Espécies de *Emyduracarus* e *Theodoracarus* são asiáticas e africanas, respectivamente e não ocorrem em

outras regiões. Espécies de *Cloacarus* e *Caminacarus* ocorrem nos Estados Unidos enquanto que as espécies de *Chelonodacarus* estão presentes no Panamá, não havendo registros para América do Sul (FAJFER, 2012).

1.2.2 Família Pterygosomatidae

Esta família inclui 10 gêneros e 156 espécies descritas no mundo, sendo que dois gêneros são monotípicos e parasitam besouro e ave, enquanto que os outros oito são ectoparasitos de saurios (PAREDES-LEON et al., 2012).

Os gêneros *Pterygosoma* Peters (1849); *Geckobia* Megnin (1878); *Geckobiella* Hirst (1917); *Zanurobia* Lawrence (1935); *Hirstiella* Berlese (1920); *Ixoderma* Lawrence (1935); *Scaphothrix* Lawrence (1935) e *Tequisistlana* Hoffmann e Sanchez (1980), são altamente especializados e parasitam a subordem Sauria, cujos representantes pertencem às famílias Gekkonidae, Agamidae, Cordylidae e Gerrhosauridae (BERTRAND et al., 1999). Com exceção de um registro de *Geckobia enigmatica* Bertrand e Pedroño (1999), no quelônio *Astrochelys yniphora* Vaillant (1885), as outras espécies de ácaros são específicas de saurios. O parasitismo nestes animais provavelmente se desenvolveu como resultado dos hábitos dos répteis em se alimentar de artrópodes, que são hospedeiros originais da família Pterygosomatidae (BOCHKOV; O'CONNOR, 2006).

O ciclo biológico dos Pterygosomatidae é realizado em sua totalidade no hospedeiro, e a grande maioria das espécies é partenogenética. Os ácaros vivem entre o tecido conjuntivo embaixo das escamas dos répteis. A morfologia das espécies é variada, mas em geral, o corpo assemelha-se às escamas dos saurios; exemplo claro disso é o gênero *Geckobia* (BERTRAND, 2002). Os pterigosomatídeos distribuem-se pelo mundo todo, embora a maioria das espécies tenha sido descrita do continente africano. Os gêneros *Geckobia*, *Geckobiella*, *Hirstiella*, *Pterygosoma*, *Tequisistlana*, (este último no subgênero *Pterygosoma*) ocorrem nas regiões Neotropical e Neártica (DE LA CRUZ et al., 2004; FAJFER, 2012; 2015; FAJFER; GONZÁLEZ-ACUÑA, 2014). *Hirstiella* se distribui da América do Norte ao norte da América Central e *Tequisistlana* está restrita ao México (PAREDES-LEON et al., 2012; FAJFER, 2012). Informações sobre as espécies que ocorrem na América do Sul que parasitam répteis e anfíbios podem ser observadas no quadro 1 e a distribuição dos gêneros está demonstrada na figura 2.

Quadro 1 - Espécies de ácaros Pterygosomatidae registrados para a América do Sul, com informações sobre hospedeiros e localidades

No.	Espécie	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
1	<i>Geckobia hemidactyli</i> Lawrence, 1936	Museu Iziko de Cape Town (antes Museu da África do Sul) ou Museu Natal da África do Sul	<i>Hemidactylus tasmani</i> Hewitt	Zimbabwe	Lawrence (1936)
			<i>Hemidactylus mabouia</i> Moreau De Jonnès	Leticia, Colômbia	Martínez-Rivera (2003)
			<i>H. mabouia</i> Moreau De Jonnès	Brasil (sem localidade específica)	Martínez-Rivera (2003)
2	<i>Geckobia nitida</i> Fajfer, 2015	ZISP (Reg. No. ZISP AVB 14-2710-001) ♀	<i>Liolaemus nitida</i> Wiegmann	Parque Nacional Pão de Açúcar, Chile	Fajfer (2015)
3	<i>Geckobia zapallarensis</i> Fajfer, 2015		<i>Liolaemus zapallarensis zapallarensis</i> Müller & Hellmich	Llanos de Challe, Chile	Fajfer (2015)
4	<i>Geckobia gerrhopygus</i> Fajfer, 2015		<i>Phyllodactylus gerrhopygus</i> Wiegmann	Ilha Santa Maria, Chile	Fajfer (2015)
5	<i>Geckobiella harrisi</i> Davidson, 1958	USNM 1860, ♀	<i>Plica plica</i> Linnaeus	Santarem, Pará, Brasil	Davidson (1958)
6	<i>Pterygosoma patagonica</i> Dittmar de la Cruz, Morando and Avila, 2004	(Holótipo perdido)	<i>Liolaemus buergeri</i> Werner	Paso de Indios, Chubut, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus bibroni</i> Bell	Paso de Indios, Chubut, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus petrophilus</i> Donoso-Barros & Clei	Paso de Indios, Chubut, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus austromendocinus</i> Cei	Catamarca, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus elongatus</i> Koslowsky	Catamarca, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus gracilis</i> Bell	Catamarca, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)
			<i>Liolaemus rothi</i> Koslowsky	Telsen, Chubut, Argentina	Dittmar de la Cruz et al. (2004)

(Conclusão)

No.	Espécie	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
6			<i>L. austromendocinus</i>	San Rafael, Mendoza, Argentina	Fajfer (2014)
7	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) ligare</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZISP T-Pt-4	<i>Liolaemus pictus</i> (Duméril & Bibron)	Isla Mocha, Tirúa, Arauco, Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)
8	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) formosus</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZISP T-Pt-5	<i>L. pictus</i>	Isla Mocha, Tirúa, Arauco, Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)
9	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) ovata</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZISP T-Pt-6	<i>L. pictus</i>	Isla Mocha, Tirúa, Arauco, Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)
10	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) levissima</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZISP T-Pt-7	<i>L. pictus</i>	Isla Mocha, Tirúa, Arauco, Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)
11	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) chilensis</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZISP T-Pt-8	<i>Liolaemus chilensis</i> (Lesson)	Rio Ñuble, Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)
12	<i>Pterygosoma (Pterygosoma) cyanogasteri</i> Fajfer & González-Acuña, 2013	ZMUC (ZMUC-R37901)	<i>Liolaemus cyanogaster</i> (Duméril & Bibron)	Chile	Fajfer & González-Acuña (2013)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: ZISP (Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia), USNM (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20560, U.S.A), ZMUC (Zoological Museum, University of Copenhagen, Dinamarca).

Figura 2 - Mapa da distribuição dos gêneros de Pterygosomatidae na América do Sul, obtido com o programa DIVA-GIS

Fonte: Literatura citada no quadro 1 (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: (círculo vermelho) gênero *Geckobia*, (círculo verde) gênero *Geckobiella*, (círculo azul) gênero *Pterygosoma*.

O gênero *Geckobia* parasita lagartos da família Gekkonidae (PAREDES-LEON et al., 2012). Os espécimes possuem escudo dorsal, olhos, aparelho bucal exposto parcialmente e presença de espinhos nas coxas. A espécie *G. hemidactyli* tem registro de ocorrência para África, Ásia e América. O ácaro parece ter viajado junto com seu hospedeiro (*H. mabouia*) e dispersou-se pelo continente americano. Existem relatos para o território brasileiro em Belém, Manaus e Rio de Janeiro (RIVERA et al., 2003).

Foram descritas recentemente 3 novas espécies que ocorrem no Chile (*G. nitidus*, *G. zapallarrensis* e *G. gerrophygus*) parasitando lagartos das famílias Liolaemidae e Phyllodactylidae (FAJFER, 2015). Os autores comentaram que *G. hemidactyli* também ocorre no Brasil. Esta espécie parasita especificamente lagartixas do gênero *Hemidactylus*.

O gênero *Geckobiella* contém duas espécies, *Geckobiella texana* (BANKS, 1905) que ocorre no México e sul dos Estados Unidos e está associada a lagartos da família

Phrynosomatidae (GOODWIN, 1954), e *Geckobiella harrisi* Davidson, 1958 registrada na América do Sul infestando lagartos da família Tropiduridae (PAREDES-LEON et al., 2012).

O gênero *Pterygosoma* contém 56 espécies distribuídas na Ásia e África e 6 espécies descritas na América do Sul (BERTRAND et al., 1999; FAJFER; GONZÁLES-ACUÑA, 2013).

1.2.3 Família Harpirhynchidae, gênero *Ophioptes*

A família Harpirhynchidae compreende três subfamílias (Harpirhynchinae, Harpypalpinae e Ophioptinae) e 14 gêneros amplamente distribuídos. Os ácaros são altamente especializados, alimentando-se de restos celulares e linfa, vivendo na pele, escamas répteis ou penas de aves (BOCHKOV, 2002). As primeiras duas subfamílias parasitam os folículos plumosos e epidermes de aves.

A subfamília Ophioptinae inclui 2 gêneros, *Ophioptes* (SAMBON, 1928) e *Afrophiotes* (FAIN, 1962), e 17 espécies que parasitam exclusivamente serpentes das famílias Colubridae, Elapidae e Lamprophiidae (FAIN, 1964; 1965; BERON, 1974; LIZASO, 1980; BOCHKOV et al., 1999). Nos anos 80, a subfamília Ophioptinae era considerada uma família válida (LOMBERT; MOSS 1983). Porém, no final dos anos 90 ela foi categorizada como sendo uma subfamília dentro de Harpirhynchidae (BOCHKOV et al., 1999).

Os ácaros Ophioptinae são chamados de “pit mites” por penetrarem as escamas ou pele dos hospedeiros, onde realizam todo seu ciclo de vida que compreende ovo, larva, ninfa (ambos estados ápodos) e adultos. Estes possuem 4 pares de pernas e se movimentam livremente pelo hospedeiro. O ânus está ausente em todos os estágios biológicos. Os dejetos são depositados em cápsula de guanina que fica na porção dorsal posterior do idiossoma (FAIN, 1964).

Os ácaros do gênero *Ophioptes* foram registrados nas regiões neotropical, paleártica australiana e etiópica, enquanto que o gênero *Afrophiotes* só ocorre na região etiópica (FAIN, 1964). Na região neotropical têm registros de 5 espécies de *Ophioptes*, e com exceção de *Ophioptes dromicus* Allred (1958), que ocorre em Cuba, as outras espécies estão distribuídas na América do Sul (FAIN, 1964; LISAZO, 1980). Informações sobre as espécies sul-americanas podem ser observadas no quadro 2 e figura 3.

1.2.4 Famílias Trombiculidae e Leewuenhoekiidae

Alguns taxonomistas (RADFORD, 1946; AUDY, 1954; VERCAMMEN-GRANDJEAN, 1968; VERCAMMEN-GRANDJEAN; LANGSTON, 1976; KOLEBINOVA, 1992) consideraram Leeuwenhoekiidae como uma família com duas subfamílias, Leeuwenhoekiinae e Apoloniinae. Porém, outros especialistas mantiveram essas duas subfamílias como pertencentes à Trombiculidae (WHARTON et al., 1951; WHARTON; FULLER, 1952; HOFFMANN, 1970; LAKSHANA, 1973; GOFF et al., 1982; DOMROW; LESTER, 1985). A principal diferença morfológica entre as duas famílias está na segmentação das pernas. Os Trombiculidae apresentam segmentação 7-7-7 ou 7-6-6 enquanto que Leeuwenhoekiidae é 6-6-6. Porém existe uma exceção para gênero *Comatacarus* Ewing, 1942, que apesar de pertencer a esta última família, possui segmentação 7-6-6. (KOLEBINOVA, 1992). No presente estudo, ambas as famílias foram consideradas válidas.

Os ácaros representantes dessas famílias são chamados de “chiggers”, “ácaros rojos” ou “tlazahuatl” (sarna da terra), dentre outros nomes. São parasitas de artrópodes e vertebrados incluindo os répteis e anfíbios. O estágio larval representa a fase parasitária, e a maioria das espécies conhecidas foi descrita deste estágio (cerca de 3000 espécies). As outras fases são de vida livres e com hábitos predatórios (WHARTON; FULLER 1952; BRENNAN; GOFF 1977; FAJFER, 2012).

Embora muitas espécies de trombiculídeos sejam encontradas em habitats específicos ou particulares (ninhos, tocas, áreas modificadas para plantio ou urbanizadas, etc.), apresentam baixa especificidade parasitária (O’CALLAGHAN et al., 1994). No caso de répteis e anfíbios como hospedeiros, os ácaros geralmente encontram-se fixados nos tecidos brandos da pele e também nos conhecidos microhabitats “mite pockets” (axila, virilha, e estruturas parecidas com bolsos em algumas espécies de sáurios), ilustrados na Figura 4 (AUDY, 1954; ARNOLD, 1986). Algumas espécies de trombiculídeos fixam-se aos hospedeiros imitando o sentido de inserção das escamas.

Quadro 2 - Espécies de ácaros Harpinrynychidae registrados para a América do Sul, com informações sobre hospedeiros e localidades

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
1	<i>Ophiopetes parkeri</i> Sambon, 1928	Não especificado	<i>Erythrolamprus aesculapii</i> Linnaeus	Buenavista, Bolívia	Sambon (1928)
			<i>Erythrolamprus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>Liophis poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Norte, Paraguai	Fain (1964)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Centro-Oeste, Brasil	Fain (1964)
			<i>Lygophis anomalus</i> (Günther)	Brasil	Fain (1964)
			<i>Spilotes pullatus</i> L.	Bélem, Pará, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Itumbara, Goiás, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Xenodon merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Waglerophis merremii</i> , sin.)	Uberlândia, Minas Gerais, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil	Lizaso (1981)

(Continuação)

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
	<i>O. parkeri</i>		<i>Erythrolamprus aesculapii</i> L.	Lambari, Minas Gerais, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Spilotes pullatus</i> L.	Sapucai, Minas Gerais, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. aesculapii</i>	Três Corações, Minas Gerais, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Leptodeira annulata annulata</i> L.	Colatina, Espírito Santo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Presidente Venceslau, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Chironius foveatus</i> Bailey	Arujá, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. aesculapii</i>	Biritiba-Mirim, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. aesculapii</i>	Itúbia Paulista, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Xenodon merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Waglerophis merremii</i> , sin.)	Jau, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>X. merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Waglerophis merremii</i> , sin.)	São Carlos, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil	Lizaso (1981)

(Continuação)

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
	<i>O. parkeri</i> (citado como <i>Ophioides oudemansi</i> , sin.)	B.M. Coll 19552.9.24-123	<i>Clelia rustica</i> Cope	Ajo, Este, Argentina	Fain (1964)
2	<i>Ophioides Tropicalis</i> Ewing, 1933	USNM 1080 ♀	<i>Erpetodryas carinatus</i> Wagler <i>Chironius carinatus</i> Wallach	Guiana Inglesa	Ewing (1933)
3	<i>Ophioides longipilis</i> Lizaso, 1981	IBSP 6070 ♀	<i>Oxyrhopus trigeminus</i> trigeninus Duméril, Bibron & Duméril	Itú, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>O. trigeminus trigeminus</i>	Guararapes, Pernambuco, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>O. trigeminus trigeminus</i>	Itumbara, Goiás, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrrus poecilogyrrus</i> Wied-Neuwied (citada como <i>L. poecilogyrrus poecilogyrrus</i> , sin.)	Domingos Martins, Espírito Santo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>O. trigeminus trigeminus</i>	Itú, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
4	<i>Ophioides brevipilis</i> Lizaso, 1981	IBSP 3627 ♀	<i>Oxyrhopus petola</i> Lönnberg <i>Oxyrhopus petolaris petolaris</i> L.	Foz do Areia, Paraná	Lizaso (1981)
			<i>C. flavolineatus</i>	Goiânia, Goiás, Brasil	Lizaso (1981)

(Conclusão)

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referências
<i>O. brevipilis</i>			<i>Philodryas olfersii olfersii</i> Lichtenstein	Itumbara, Goiás, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>Mastigodryas bifossatus bifossatus</i> Raddi	Três Lagoas, Mato Grosso Sul, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>E. poecilogyrus poecilogyrus</i> Wied-Neuwied (citado como <i>L. poecilogyrus poecilogyrus</i> , sin.)	Colatina, Espírito Santo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>M. bifossatus bifossatus</i>	Tupã, São Paulo, Brasil	Lizaso (1981)
			<i>P. olfersii olfersii</i>	Uraí, Paraná, Brasil	Lizaso (1981)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: IBSP (Coleção Acarologica do Instituto Butantan, Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil), USNM (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20560, U.S.A), B.M (Departamento de Arachnida, British Museum, Reino Unido).

Figura 3 - Mapa da distribuição dos gêneros de Harpirhynchidae, obtido com o programa DIVA-GIS

Fonte: Literatura citada no quadro 1 (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: (círculos e triângulos vermelhos) *O. parkeri*, (círculos verdes) *O. brevipilis*, (círculos azuis) *O. longipilis*, (círculos lilás) *O. tropicalis*.
Fonte: Literatura citada no Quadro 2.

Figura 4 - Locais onde comumente encontram-se os “mite pockets” (bolsos de ácaros) em sáurios. Em geral, cada hospedeiro possui apenas 1 “bolso de ácaro”, no máximo 2, variando apenas a posição

Fonte: (Adaptado de ARNOLD, 1986).

Legenda: região axilar (a), pós-axilar (pa), nucal (n), inguinal (i), pós-femoral (pf).

Esse comportamento parece ser uma adaptação evolutiva do ácaro que se assemelha às partes anatômicas do hospedeiro para ficar camuflado (BERTRAND, 2002). Os ácaros trombiculídeos, de maneira geral, são ectoparasitos, embora existam algumas exceções de endoparasitismo temporal, como as espécies dos gêneros *Vatacarus* e *Iguanacarus*. Estes ácaros ocorrem no trato respiratório de serpentes marinhas (*Laticauda* sp.) e de iguanas marinhas (*Amblyrhynchus* sp.) (NADCHATRAM, 1980, 2006).

As larvas de trombiculídeos, em sua fase parasitária, podem ter efeitos diretos no tecido dérmico do hospedeiro. Em répteis há registros de dermatite, resposta imune, e perdas de sangue que podem causar anemia em estados avançados (GOLDBERG; BURSEY, 1991). Os gêneros de Trombiculidae que parasitam répteis e anfíbios nas Américas são: *Paratrombicula* Goff e Whitaker (1984); *Hyponeocula* Vercammen-Grandjean (1967); *Parasecia* Loomis (1966); *Neotrombicula* Hirst (1925); *Vatacarus* Southcott (1957) [subgêneros *Vatacarus* (*Vatacarus*) Southcott (1957); *Vatacarus* (*Iguanacarus*) Vercammen-Grandjean (1965); *Fonsecia* Radford (1942); *Kayella* Vercammen-Grandjean, (1960); *Microtrombicula* Ewing (1950) e *Hexidionis* Vercammen-Grandjean (1967). Na América do Sul *Paratrombicula* está representado por 5 espécies, *Parasecia* por 12, *Eutrombicula* por 80, *Vatacarus* (*Vatacarus*) por 1, *Vatacarus* (*Iguanacarus*) por 5 e *Fonsecia* por 7. Informações sobre as espécies que parasitam répteis e anfíbios na América do Sul podem ser observadas no Quadro 3 e a distribuição dos gêneros na figura 5.

Os ácaros da família Leeuwenhoekiidae que parasitam répteis e anfíbios na região Neotropical são 4: *Hannemania* Oudemans (1911); *Morelacarus* Vercammen-Grandjean (1974); *Acamatacarus* Ewing (1942) e *Odontacarus* Ewing (1929). Na América do Sul ocorre somente o gênero *Hannemania* e as espécies possuem grande especificidade com anfíbios. Os ácaros penetram na epiderme do hospedeiro, que por sua vez, reage produzindo um tipo de cápsula envolvendo o parasito. Este consegue se alimentar da lise da epiderme, podendo ficar de semanas a meses dentro da cápsula, que nada mais é do que uma lesão inflamatória. O parasitismo também provoca cistos e pústulas (WOHLTMANN; KOHLER; MATIN, 2006; XUE; ZHANG, 2008).

A distribuição das espécies sul-americanas de *Hannemania* está apresentada no quadro 4 e figura 6.

Quadro 3 - Espécies de ácaros Trombiculidae registrados para a América do Sul, com informações de hospedeiros e localidades

No.	Espécie	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
1	<i>Parasecia manueli</i> Brennan & Jones, 1960	Desconhecido	Répteis	Perú	Brennan (1969)
2	<i>Parasecia longicalcar</i> Brennan & Jones, 1960	Desconhecido	Répteis	Colômbia	Brennan (1969)
3	<i>Paratrombicula chillensis</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2012	ZISP Lâmina no. 7728, T-Tr.-54	Serpentes	Trindade e Tobago	Brennan (1969)
4	<i>Paratrombicula goffi</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2012	ZISP Lâmina no. 7696, T-Tr.-55	<i>Liolaemus chillanensis</i> Muller & Hellmich	Nevados de Chillán Mts, Biobío, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2012)
5	<i>Vatacarus (Vatacarus) ipoides</i> Southcott, 1957	NMHH	<i>Liolaemus lemniscatus</i> Gravenhorst	Sierras de Bellavista, O'Higgins, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2012)
6	<i>Vatacarus (Iguanacarus) alexfaini</i> Nadchatram, 1980	NMHH	<i>Liolaemus chillanensis</i> Muller & Hellmich	Shangri-la, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2012)
7	<i>Vatacarus (Iguanacarus) amblyrhynchus</i> Vercammen-Grandjean, 1965	NMHH	<i>Laticauda</i> sp.	Galápagos, Equador	Southcott (1957)
8	<i>Vatacarus (Iguanacarus) amersoni</i> (Brennan, 1965) (citada como <i>Blankaartia amersoni</i> , sin.)	NMHH	<i>Amblyrhynchus</i> sp.	Galápagos, Equador	Nadchatram (1980)
			<i>Amblyrhynchus</i> sp.	Galápagos, Equador	Vercammen-Grandjean (1965)
			<i>Amblyrhynchus</i> sp.	Galápagos, Equador	Brennan (1965) Syn. Nadchatram (1980)

(Continuação)

No.	Espécie	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
9	<i>Vatacarus (Iguanacarus) danieli</i> Dusbabek & Cerny, 1970 Syn. Nadchatram 1980	PU CSAV Acarol.Coll. N – 1642	<i>Amblyrhynchus</i> sp.	Galápagos, Equador	Dusbabek & Cerny (1970) sin. Nadchatram (1980)
10	<i>Fonsecia ewingi</i> Fonseca, 1932	Cótipos IBSP 27	<i>X. merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Ophis merremii</i> , sin.)	Correntes, Mato Grosso, Brasil	Brennan & Loomis (1959)
11	<i>Fonsecia travassosi</i> Fonseca, 1936	IBSP 30	<i>Spilotes pullatus</i> L.	Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil	Brennan & Loomis (1959)
12	<i>Fonsecia lachesis</i> Brennan, 1974	RML No. 50193	<i>Lachesis muta</i> Schinz	Guayaramerin, Rio Mamore, Beni, Bolívia	Brennan (1970)
13	<i>Eutrombicula ophidica</i> Fonseca, 1932	IBSP 86	<i>X. merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Ophis merremii</i> , sin.)	Promissão, São Paulo, Brasil	Radford (1942)
			<i>X. merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Ophis merremii</i> , sin.)	Matão, São Paulo, Brasil	Radford (1942)
14	<i>Eutrombicula butantanensis</i> Fonseca, 1932	IBSP 83	<i>Homo sapiens</i> L.	Instituto Butantan, São Paulo, Brasil	Radford (1942)

(Continuação)

No.	Espécie	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
	<i>E. butantanensis</i>	IBSP 83	<i>X. merremi</i> (Romano & Hoge) (citada como <i>Ophis merremii</i> , sin.)	Instituto Butantan, São Paulo, Brasil	Brennan & Reed (1974)
15	<i>Eutrombicula batatas</i> Linnaeus, 1758	NMHH	Lagartos	Merida, Venezuela	Brennan & Reed (1974)
16	<i>Eutrombicula goeldii</i> Oudemans, 1910	Desconhecido	Lagartos	Amazonas, Venezuela	Brennan & Reed (1974)
17	<i>Eutrombicula tropica</i> Ewing, 1925	Desconhecido	Lagartos	Carabobo, Venezuela	Brennan & Reed (1974)
18	<i>Eutrombicula chillanensis</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2010	ZISP 7711, T-Tr.-41	<i>Liolaemus chillanensis</i> Müller et Hellmich	Nevados de Chillán, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2010)
29	<i>Eutrombicula araucanensis</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2010	ZISP 685, T-Tr.-42	<i>Liolaemus pictus</i> Dumeril & Bibron	Ilha Mocha, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2010)
20	<i>Eutrombicula liolaemi</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2010	ZISP 7717, T-Tr.-43	<i>L. chillanensis</i>	Nevados de Chillán, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2010)
21	<i>Eutrombicula paula</i> Stekolnikov & González-Acuña, 2010	ZISP 7694, T-Tr.-44	<i>Liolaemus monticola</i> Müller & Hellmich	Sierra de Bellavista, Chile	Stekolnikov & González-Acuña (2010)
22	<i>Eutrombicula alfreddugesi</i> Oudemans, 1910	RM	Lagartos	Venezuela	Brennan & Reed (1974)
			<i>Tropidurus torquatus</i> Wied	Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil	Cunha-Barros et al. (2003)

(Conclusão)

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referências
22	<i>E. alfredugesi</i>	RM	<i>Ameivula littoralis</i> (Rocha, Araújo, Vrcibradic & Costa) (citada como <i>C. littoralis</i> , sin.)	Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil	Cunha-Barros et al. (2003)
			<i>Mabuya agilis</i> (Raddi)	Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil	Cunha-Barros et al. (2003)
			<i>Psychosaura macrorhyncha</i> (Hoge, 1946) (citada como <i>Mabuya macrorhyncha</i> , sin.)	Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil	Cunha-Barros et al. (2003)
			<i>Tropidurus hispidus</i> (Spix)	Chapada do Araripe, Ceará, Brasil	Delfino et al. (2011)
			<i>Tropidurus cocorobensis</i> Rodrigues	Morro do Chapéu, Bahia, Brasil	Menezes et al. (2011)
			<i>Tropidurus erythrocephalus</i> Rodrigues		
			<i>Tropidurus semitaeniatus</i> Spix <i>T. hispidus</i>		
			<i>T. torquatus</i> <i>Copeoglossum nigropunctatum</i> (Spix) (citada como <i>Mabuya agilis</i> , sin.)	Brasília, Brasil	De Carvalho et al. (2006)
			<i>P. macrorhyncha</i> (citada como <i>Mabuya macrorhyncha</i> , sin.)		
			<i>A. littoralis</i> (Rocha, Araújo, Vrcibradic & Costa) (citada como <i>C. littoralis</i> , sin.)		
			<i>Mabuya</i> (2 espécies)	Barra de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil	Cunha-Barros et al. (2003)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda:

RM (Rijks Museum, Leiden, Holanda), RML (Rocky Mountain Laboratories, Hamilton, Montana, USA), NMNH (National Museum of Natural History, Smithsonian Institution, Washington, D.C. 20560, U.S.A), ZISP (Acarological collection of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia), PU CSAV (Institute of Parasitology Academy of Sciences of the Czech Republic, República Checa), IBSP (Coleção Acarológica do Instituto Butantan, Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil).

Figura 5 – Mapa da distribuição dos gêneros de Trombiculidae, obtido com o programa DIVA-GIS

Fonte: Literatura citada no quadro 1 (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda- (círculos vermelhos) gênero *Eutrombicula*, (triângulos azuis) gênero *Parasecia*, (triângulos amarelos) gênero *Paratrombicula*, (quadrados verdes) gênero *Fonsecia*, (quadrados lilá) gênero *Vatacarus*.

Quadro 4 - Espécies de ácaros Leeuwenhoeikiidae registrados para a América do Sul

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
1	<i>Hannemania hepatica</i> Fonseca, 1935	IBSP 31	<i>Leptodactylus ocellatus</i> Girard <i>Leptodactylus latrans</i>	Bairro Butantã, São Paulo, Brasil	Fonseca (1935)
2	<i>Hannemania minor</i> Alzuet & Mauri, 1985	FCNyM UP	<i>L. ocellatus</i>	Buenos Aires, Benavídez, Argentina	Alzuet & Mauri (1985)
3	<i>Hannemania achalai</i> Alzuet & Mauri, 1987	FCNyM UP	<i>Pleurodema kriegi</i> Müller	Córdoba, Pampa de Achala, Argentina	Alzuet & Mauri (1985)
			<i>Odontophrynus</i> <i>occidentalis</i> Berg	Córdoba, Pampa de Achala, Argentina	Alzuet & Mauri (1985)
4	<i>Hannemania edwardsi</i> Sambon, 1928	Desconhecido	<i>Bufo variegatus</i> (Günther) (citada como <i>Nannophryne variegata</i> , sin.)	Lago Nahuel Huapi, Puerto Blest, Argentina	Sambon (1928)
5	<i>Hannemania hobdayi</i> Sambon, 1928	Desconhecido	<i>Pleurodenna hufonina</i> Schudi	Rio Negro, Argentina	Sambon (1928)
6	<i>Hannemania hylodeus</i> Oudemans, 1910	Desconhecido	<i>Hylodes</i> sp.	Brasil	Oudemans (1911)
7	<i>Hannemania newsteadi</i> Sambon, 1928	Desconhecido	<i>Hyla rubra</i> Laurenti	Urucum, Mato Grosso, Brasil	Sambon (1928)
8	<i>Hannemania pattoni</i> Sambon, 1928	Desconhecido	<i>Barhorocoetes</i> <i>taeniatus</i>	Temuco, Chile	Sambon (1928)

(Conclusão)

No.	Gênero	Holótipo	Hospedeiro	Localidade	Referência
9	<i>Hannemania. samboni</i> Ewing, 1931 (citada como <i>Hannemania argentina</i> Sambon, 1928, non <i>Hannemania argentina</i> Lahille, 1927)	FCNyM UP	<i>Pleurodema bibroni</i> Tshudi	Rio Negro, Argentina	Alzuet & Mauri (1985)
10	<i>Hannemania stephensi</i> Sambon, 1928	Desconhecido	<i>Eleutherodactylus gohlneri</i>	Tombador, Mato Grosso, Brasil	Sambon (1928)
11	<i>Hannemania yungicola</i> Wohltmann & Köhler, 2006	ZMH A7/05	<i>Yunganastes bisignatus</i> (Stejeneger) (citada como <i>Eleutherodactylus gollmeri</i> , sin.)	Cochabamba, Carrasco, Bolívia	Wohltmann & Köhler (2006)
12	<i>Hannemania chaparensis</i> Wohltmann & Köhler, 2006	ZMH A5/05	<i>Rhinella quechua</i> (Gallardo, 1961) (citada como <i>Bufo quechua</i> , sin.)	Paractito, Cochabamba, Chapare, Bolívia	Wohltmann & Köhler (2006)
13	<i>Hannemania argentina</i> Lahille, 1927	Desconhecido	Anuros	Argentina	Lahille (1927)
14	<i>Hannemania</i> sp.		<i>Hylodes phyllodes</i> Heyer & Cocroft	Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil	Attademo et al. (2012)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: IBSP (Coleção Acarológica Instituto Butantan, Laboratório Especial de Coleções Zoológicas, Instituto Butantan, São Paulo, Brasil), FCNyN UP (Facultad de ciencias naturales y Museo de la Universidad de la Plata, Argentina), ZMH (Zoologisches Institut und Zoologisches Museum der Universität, Hamburg, Germany).

Figura 6 – Mapa da distribuição das espécies de *Hannemania*, obtido com o programa DIVA-GIS

Fonte: Literatura citada no Quadro 1 (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: (círculo vermelho) *H. achalai*, (círculo amarelo) *H. chaparensis*, (círculo verde) *H. edwardsi*, (círculo azul) *H. hepatica*, (círculo preto) *H. hobdayi*, (quadrado vermelho) *H. Hylodeus*, (quadrado amarelo) *H. minor*, (quadrado verde) *H. newsteadi*, (triângulo vermelho) *H. samboni*, (triângulo amarelo) *H. stephensi*, (triângulo verde) *H. yungicola* (triângulo azul) *H. argentina*.

1.2.5 Patógenos associados a répteis e anfíbios e seus ectoparasitos

Os répteis e anfíbios possuem respostas inflamatórias, imunológicas e metabólicas diferentes daquelas vistas em mamíferos, aves e outros animais considerados endotérmicos. Por tal motivo a forma como as doenças ocorrem e se desenvolvem nos animais de sangue frio varia bastante dos padrões observados para animais de sangue quente. Os répteis e anfíbios são conhecidos por serem reservatórios de várias agentes patogênicos, podendo servir de amplificadores no ciclo de alguns microrganismos (FLAJNIK, 1996). Nesse sentido, os ácaros podem desempenhar importante papel na transmissão dos patógenos para esses hospedeiros. No entanto, o conhecimento da relação parasito-hospedeiro e o ciclo das doenças entre ácaros e animais ectotérmicos, ainda é escasso (KUO et al., 2000).

As principais famílias de Acari registradas como vetores de agentes patogênicos para répteis e anfíbios são: Macronyssidae, Pterygosomatidae, Ixodidae e Argasidae.

O macronissídeo mais comum em serpentes é *Ophionyssus natricis* (GERVAIS, 1844). Esta espécie é considerada vetora da bactéria *Aeromonas hydrophila* (citada como *Proteus hydrophilus*) (BERGEY et al., 1923). Este patógeno produz uma doença hemorrágica em ofídios, e em anfíbios ela é conhecida como “Red leg disease” (KULP; BORDEN, 1942). A espécie *O. natricis*, tal como outros ácaros de serpentes, é suspeito de ser vetor da doença de corpos de inclusão em boídeos (Arenavirus) (LI-WEN; JACOBSON, 2010). A espécie *Ophionyssus gallotocolus* Fain e Barnnet, 2000 é vetora do protozoário *Karyolysus* sp. que ocorre em lagartos da família Lacertidae (BANNERT et al., 2000). Não se sabe ao certo se este protozoário causa danos nos hospedeiros.

Da família Pterygosomatidae o gênero *Hirstiella* foi registrado como o vetor de hemogregarinas e do protozoário *Plasmodium* sp. (NEWELL; RYCKMAN, 1964). Por outro lado, *Geckobiella texana* (BANKS, 1904) foi encontrada naturalmente infectada pelo protozoário *Schellackia occidentalis*, embora não tenha sido comprovada sua capacidade vetorial (BONORRIS; BALL, 1955).

O conhecimento da participação dos carrapatos das famílias Ixodidae e Argasidae é mais atualizado do que o papel dos ácaros na transmissão de agentes causadores de doenças. Neste caso, algumas pesquisas na América do Norte mostraram que os sáurios podem ser reservatórios da bactéria *Borrelia burgdorferi*. Os carrapatos da espécie *Ixodes pacificus* Cooley e Kohls (1943) agem como vetores e reservatórios desta borrelia (LANE, 1990; LEVIN et al., 1996; KUO et al., 2000). Os répteis também podem contribuir no ciclo das rickettsioses e outras doenças bacterianas que podem ser transmitidas por vetores como carrapatos e ácaros. Uma doença relacionada com a infestação de ectoparasitos em serpentes é a “viper plague” causada por uma Rickettsia (*Erlichia ruminatum*) nos viperídeos. Esta doença foi introduzida nos Estados Unidos pela importação de uma serpente *Bitis gabonica* (Duméril, Bibron & Duméril), importada de Ghana (KIEL et al., 2008). Estudos evidenciaram que os carrapatos podem ser introduzidos em diferentes áreas (principalmente pelo comércio internacional de répteis e anfíbios como animais de estimação), porém nem sempre ocorre adaptação (BURRIDGE, 2011). Uma espécie bem adaptada é *Amblyomma dissimile* Koch (1844) que foi importada junto com iguanas provenientes do México, e possivelmente da América do Sul, ao estado da Flórida, e estabeleceu-se no século passado (BEQUAERT, 1932). Outro exemplo é a espécie *Amblyomma rotundatum* que se estabeleceu na Flórida pela

exportação de jabutis (OLIVER et al., 1993). Dessa forma, as adaptações podem promover a propagação de agentes patogênicos causadores de doenças tanto para outros animais como para os humanos (BURRIDGE; SIMMONS, 2003).

Os ácaros também podem ser transportados de suas áreas naturais para outras áreas, e se adaptarem a novos climas e ambientes. Tal é o caso de diferentes espécies de *Geckobia* (*G. hemidactyli* em *Hemidactylus mabouia* na América do Sul e *G. bataviensis* e *G. keegani* em *Hemidactylus frenatus* na Austrália), que viajaram com seus hospedeiros e invadiram novos continentes (RIVERA et al., 2003; HOSKIN, 2011).

Por outro lado, pouco se conhece sobre o impacto direto e indireto da presença de ácaros invasores na ecologia das doenças e na saúde das populações endêmicas de répteis e anfíbios em relação às populações invasoras. Destacam-se três grupos de patógenos que podem estar presentes nos ácaros que parasitam esses hospedeiros: *Rickettsia* spp., *Coxiella* spp. e hemogregarinas do gênero *Hepatozoon* spp.

1.2.5.1 Gênero *Rickettsia*

A família Rickettsiaceae é composta por bactérias gram-negativas, aeróbicas e intracelulares obrigatórias (OLANO, 2005; SAHNI; RYDKINA, 2009), que se multiplicam por fissão binária e estão associadas a vetores invertebrados (BIBERSTEIN; HIRSH, 2003; RAOULT et al., 2005). As espécies do gênero *Rickettsia* estão distribuídas em todas as partes do mundo, infectando vertebrados, sendo mantidas na natureza através de vetores artrópodes (carrapatos, piolhos, pulgas e ácaros) (PAROLA et al., 2005). Os répteis e anfíbios participam diretamente na epidemiologia de alguns patógenos tanto da ordem Rickettsiales como da família Rickettsiaceae. Isto devido à longa vida útil, natureza sazonal da imunidade, modos de reprodução únicos e à resposta imune desses hospedeiros (TRYPHONAS et al., 2014). Exemplo claro é o caso da riquetsia *Ehrlichia (Cowdria) ruminantium*, agente etiológico da Cowdriose ou “Heartwater”, uma doença de ruminantes da África subsaariana e do Caribe. Os vetores desta bactéria são carrapatos das espécies *Amblyomma variegatum* (FABRICIUS, 1794) (WALKER; OLWAGE, 1987), *Amblyomma sparsum* Neumann, 1899 (NORVAL; MACKENZIE, 198), *Amblyomma marmoreum* Koch, 1844 (PETER et al., 2000) e *A.*

dissimile Koch, 1844 (JONGEJAN, 1992). Porém, estas três últimas espécies parasitam também répteis e anfíbios.

Uma doença rickettsial em humanos, conhecida como a Febre Africana por picada de carrapato, é causada pela *Rickettsia africae* transmitida por *A. variegatum* (PAROLA et al., 1999). Essa riquetsiose, originalmente da África, foi relatada de carrapatos parasitando répteis importados para a América do Norte, comercialmente (BURRIDGE; SIMMONS, 2003). Outra riquetsia descoberta em répteis, que tem como vetor o carrapato australiano *Bothriocroton hydrosauri* (DENNY, 1843) (citada como *Aponomma hydrosauri*) é a *Rickettsia Honei*. Esta bactéria foi isolada tanto dos hospedeiros saurios da família Scincidae como também do carrapato e causa a doença chamada Febre Maculosa da ilha de Flinder na Austrália (STENOS et al., 2003).

Assim como os carrapatos, os ácaros também podem participar como vetores de alguns agentes Rickettsiales. Caso concreto é da *Rickettsia akari* que produz a “Rickettsialpox”, uma doença transmitida aos humanos pela picada do ácaro dermanissídeo *Liponyssoides sanguineus* (HIRST, 1913), que é ectoparasito de camundongo doméstico (*Mus musculus*) (RADULOVIC, 1996). No Japão, Miyajima & Okimura, 1917 e Takahashi et al. 2004, relataram que as larvas de algumas espécies de *Leptotrombidium* Nagayo, 1916 (Trombiculidae) disseminam a doença tsutsugamushi em humanos (Scrub typhus), causada pela bactéria *Orientia tsusugamushi*. No Brasil, Fonseca (1932) ressaltou a importância de outros ácaros hematófagos como potenciais vetores da Febre Maculosa (*Rickettsia rickettsi*). Naquela época houve um surto e 60 pessoas apresentaram sintomas da doença, embora apenas um carrapato tenha sido encontrado fixado à pele de um dos pacientes. Porém houve suspeita da participação de ácaros macronissídeos e trombiculídeos na transmissão do patógeno, porque não ficou claro qual teria sido o vetor para os demais casos.

1.2.5.2 Gênero *Coxiella*

Coxiella é um gênero de bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias (SCOLA, 2002), pertencentes à ordem Rickettsiales, família Rickettsiaceae, considerado agente causador da doença zoonótica conhecida como Febre Q (MAURIN; RAOULT, 1999). A única espécie descrita é *Coxiella burnetii*, amplamente distribuída, com exceção da Antártica (KAZAR, 2005). Répteis são reservatórios para esta bactéria. O carrapato *Hyalomma aegyptium* Linnaeus, 1758, que parasita quelônios do mediterrâneo, é um vetor potencial (ŠIROKÝ, 2010). Outros carrapatos foram registrados como vetores de *C. burnetii*, como *Amblyomma nuttalli* Dönitz, 1909 na Guiné Bissau (ARTHUR, 1962) e *A. variegatum* na

África equatorial francesa (GIROUD, 1951). Porém, Burridge (2001) demonstrou que não existe evidência científica da participação destes carrapatos na transmissão de *Coxiella* para répteis. Balashov (1973) e Stoenner (1980) encontraram ácaros naturalmente infectados, mas não mencionaram as espécies. Embora não esteja comprovado o papel dos ácaros na transmissão da *Coxiella*, o conhecimento da capacidade vetorial das espécies naturalmente infectadas e o ciclo da doença nos ácaros, ainda é escasso.

1.2.5.3 Gênero *Hepatozoon*

O gênero *Hepatozoon* compreende mais de 300 espécies de protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa, acometendo grande variedade de animais domésticos e silvestres (O'DWYER, 2003). Membros deste gênero são protozoários intracelulares comuns em répteis e anfíbios (TELFORD, 1984). Ácaros e carrapatos, assim como dípteros hematófagos participam na transmissão de *Hepatozoon* spp. O mecanismo de transmissão é a ingestão de um hospedeiro intermediário vertebrado infectado (por exemplo, uma serpente pode se alimentar de uma lagartixa que tenha *Hepatozoon*) ou a ingestão dos artrópodes vetores infectados (WOZNIAK; TELFORD, 1991). As espécies de *Hepatozoon* que afetam répteis e anfíbios parecem bem adaptadas aos seus hospedeiros, já que são poucas as mudanças patológicas provocadas por eles (TELFORD, 2008). Porém, em condições de cativeiro, a transmissão é facilitada (HULL; CAMIN, 1960). Os sintomas inflamatórios são mais evidentes nos hospedeiros que não são naturais, e, em casos de alto grau de parasitemia, acontece uma anemia hemolítica (DIVER; MADER, 2005). Ácaros Pterygosomatidae do gênero *Hirstiella* podem ser possíveis vetores do *Hepatozoon sauromali* por terem sido encontrados naturalmente infectados (LEWIS; WAGNER, 1964). Foi ainda comprovada a infecção causada por *Hepatozoon lygosomarum* em lagarto da espécie *Oligosoma nigriplantare* (Peters) (citado como *Leiolopisma nigriplantare*). Este hospedeiro adquiriu o protozoário ao ingerir o ácaro *Ophionyssus scincorum* Domrow, Heath & Kennedy, 1980, que estava infectado (ALLISON; DESSER, 1981). Os carrapatos *A. rotundatum* e *A. dissimile* são vetores conhecidos de *Hepatozoon* no Brasil (FACCINI; LUZ, 2013).

1.3 JUSTIFICATIVA

Desde a publicação da lista de gêneros de trombiculídeos para o neotrópico nos anos 70, os táxons não foram mais revisados e os registros de espécies que parasitam répteis e anfíbios no Brasil são escassos, sendo a maioria documentada somente até gênero. Com relação aos outros grupos de ácaros, praticamente os únicos relatos de Harpirhynchidae e Pterygosomatidae conhecidos para o país datam até os anos 80. No caso de ácaros Pterygosomatidae, várias espécies foram descritas para o Chile recentemente, mas o papel desses ácaros na transmissão de algum agente patogênico é desconhecido na América do Sul, com exceção da Venezuela. Considerando que os Trombidiformes possuem poucas sinapomorfias para agrupar a ordem, e a filogenia cladística ainda não respondeu esta questão, o presente estudo teve a finalidade de contribuir ao conhecimento taxonômico e molecular desses ácaros que parasitam répteis e anfíbios no Estado de São Paulo, bem como investigar sua participação na transmissão de patógenos aos seus hospedeiros.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Estudar ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios do estado de São Paulo, e avaliar molecularmente a infecção desses ácaros e de seus hospedeiros por *Rickettsia*, *Coxiella* e *Hepatozoon*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar os tipos e material de ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios priorizando no Estado de São Paulo, que foram depositados na coleção acarológica do Instituto Butantan (IBSP)
- Identificar as espécies de ácaros Trombidiformes coletadas de répteis e anfíbios que chegaram à Recepção de Animais do Instituto Butantan, trazidas pela população.
- Identificar as espécies de ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios, obtidas em campo (por meio de projeto financiado).
- Calcular o índice de prevalência, intensidade média e a abundância média de cada espécie de ácaro Trombidiforme com relação a seus hospedeiros.
- Detalhar e ilustrar a morfologia dos ácaros examinados, propondo novas espécies.
- Atualizar a distribuição geográfica dos táxons da ordem Trombidiforme.
- Propor uma análise filogenética molecular dos ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios.
- Investigar a presença de agentes patogênicos nos ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios obtidos na Recepção do LECZ e no campo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL DEPOSITADO NA COLEÇÃO IBSP

Foram vistoriados todos os tipos e material de ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios, depositados na Coleção Aracológica do Instituto Butantan (IBSP). Os espécimes depositados em meio líquido e em lâminas foram revisados. Algumas lâminas tiveram que ser desmontadas e remontadas segundo Jacinavicius et al. (2013).

3.2 RECEPÇÃO DE ANIMAIS PEÇONHENTOS DO INSTITUTO BUTANTAN (IBSP)

O Laboratório Especial de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan (LECZ) possui uma recepção de animais peçonhentos, recebendo diariamente vários exemplares de serpentes, anfíbios, aranhas, escorpiões, carrapatos, insetos, entre outros animais, provenientes de diferentes localidades do Brasil e do Mundo. Répteis e anfíbios vivos são encaminhados para o Laboratório de Herpetologia e de Biologia Celular, respectivamente, enquanto que os aracnídeos vivos são destinados ao Laboratório de Artrópodes. Os animais peçonhentos vivos são utilizados primeiramente para extração de venenos e reprodução. Se os animais morrerem, estes são encaminhados diretamente para depósito coleções do LECZ que abrange principalmente 4 grandes acervos (Herpetológico, Aracnológico, Acarológico e Entomológico). Os ácaros Trombidiformes provenientes de répteis e anfíbios do estado de São Paulo foram coletados de animais recentemente mortos e destinados às coleções. Inicialmente foi feito um exame físico no hospedeiro e, no caso dos répteis, quando os ácaros foram visualizados dentro ou sob as escamas, estes foram coletados por meio de escarificação (retirada do ácaro, com auxílio de agulha). Nos anfíbios, os ácaros são principalmente encontrados dentro de cápsulas sob a pele, e, portanto, eles também são removidos por escarificação.

Amostras de tecido (sangue, pulmão, fígado) foram eventualmente obtidas para fins de estudos genéticos e moleculares por parte da equipe de herpetologia do laboratório LECZ.

Quando se tratava de hospedeiro parasitado por ácaros, essas amostras foram investigadas para a presença de agentes patogênicos.

3.3 MATERIAL DE CAMPO

Para tanto, répteis e anfíbios foram capturados de várias localidades do estado de São Paulo, durante o projeto desenvolvido sob a coordenação do Dr. Francisco L. Franco (FAPESP Proc/n 2011/50313-0), e em parceria com outros projetos na mesma área, de acordo com a autorização do ICMBio/SISBio (protocolos nº 23225-1, nº 21526-1 e nº 37820). Foram realizadas 3 campanhas (agosto, novembro e dezembro 2013) na Fazenda Etá, Sete Barras (Altitude 300mts, temperatura média 23.4°C) (24°19' S, 48°07' W), São Paulo (Figura 7).

Figura 7 - Localização geográfica da Fazenda Etá, município de Sete Barras São Paulo, obtido pelo Google Maps

Fonte: site (<https://www.google.com.br/maps>)

Legenda: (vermelho) local exato da Fazenda Etá.

Foi realizada uma campanha nas proximidades da Serra da Bocaina (Altitude 1700 m, temperatura média 18 °C), município de São José do Barreiro, São Paulo, (22°44'00.4844"N, - 044°35'03.9343"S) (Figura 8), (Licença permanente, Sisbio 11216. Registro IBAMA: 1838377.), no mês de fevereiro, 2014, onde foram capturados anuros.

Figura 8 - Localização geográfica do local da coleta perto do município de São Jose do Barreiro - São Paulo

Fonte: site (<https://www.google.com.br/maps>)

Legenda: (ponto vermelho) local exato de coleta no município de São José do Barreiro, SP.

Os ácaros foram coletados dos hospedeiros mediante a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP), protocolo nº 3069/2013. Nos ofídios, os ácaros foram inspecionados na região anterior do corpo, entre as escamas, e nos anfíbios, na zona inguinal. Muitas espécies de lagartos têm cavidades em diferentes partes do corpo, como nas laterais da nuca, nas axilas ou na área pós-femoral, onde os ectoparasitos podem estar fixados (GARCIA-DE LA PEÑA, 2004).

Os hospedeiros infestados foram vistoriados e escarificados para a colheita dos ácaros Trombidiformes que foram preparados para identificação morfológica e por técnicas moleculares.

Amostras de tecido eventualmente coletadas dos hospedeiros infestados foram disponibilizadas para investigação da presença de agentes patogênicos.

3.4 ARMAZENAMENTO E CONSERVAÇÃO DOS ÁCAROS E TECIDOS DOS HOSPEDEIROS

Os ácaros foram coletados e armazenados em microtubos, contendo etanol absoluto, para posterior identificação e extração de DNA, descritos mais adiante. Os fragmentos de fígado dos hospedeiros, dos quais foram coletadas amostras de tecido, foram armazenados em microtubos contendo etanol absoluto, e congelados a -20 °C até o processamento. Dessas amostras foram retirados fragmentos menores (200 mg) para extração de DNA, e o restante do material foi congelado a -20°C para serem utilizados (*backup*), caso necessário.

3.5 ESTUDOS TAXONÔMICOS

Para a identificação taxonômica dos ácaros pertencentes à família Pterygosomatidae utilizou-se a chave para gêneros proposta por Montgomery (1996). As espécies de *Geckobia* foram identificadas segundo a chave dicotômica de Paredes-León (2013). No caso da família Harpirhynchidae foram usadas as chaves dicotômicas propostas por Fain (1964) e Southcott (1956), bem como as descrições originais das espécies do gênero *Ophiotes* (LIZASO, 1981).

Para os estudos morfológicos dos Trombiculidae e Leeuwenhoekiidae foi utilizada a terminologia proposta por Wharton et al. (1951); Goff et al. (1982) e Kudryashova (1998). Os gêneros dessas duas famílias foram identificados segundo Brennan e Goff (1977). Para as espécies do gênero *Fonsecia* utilizou-se a chave taxonômica de Brennan e Loomis (1959) e também as descrições originais. As espécies do gênero *Eutrombicula* foram identificadas seguindo Brennan e Reed (1974).

Os ácaros, cujas espécies não possuem uma chave atualizada, foram comparados com as descrições originais e com os tipos depositados na Coleção IBSP, especialmente do gênero *Hannemania*. Os mapas de distribuição das espécies foram preparados pelo programa DIVA-GIS 7.5. (HIJMANS et al., 2004).

Para as diagnoses, as medidas (média, desvio padrão e amplitude) foram apresentadas em µm. As medidas dos holótipos estão apresentadas dentro de chaves.

Parte dos ácaros provenientes das coletas foi clarificada e montada em lâminas. A clarificação foi feita em ácido láctico, em temperatura de 55°C, acompanhando-se o processo até o grau de clareamento. Após clarificação, o material foi preparado em lâmina

semipermanente, utilizando-se meio de Berlese modificado (meio de Hoyer) conforme Krantz e Walter (2009). Para ácaros que apresentavam aglutinações de guanina no idiossoma (*Ophiotes* spp.) foi utilizado o protocolo de clarificação relatado por Fain (1964) descrito a seguir.

Os ácaros foram colocados numa placa de Petri contendo 1 – 2 ml de Hidróxido de potássio (KOH) 5%, e mantidos em estufa de cultura da marca Fanen Ltda modelo 002CB, à 50 °C, sendo visotirados a cada 3 minutos para avaliar a desintegração da guanina. Uma vez desintegrada a guanina em sua totalidade, os ácaros foram transferidos, com auxílio de um pincel, para ácido acético a 10% por dez minutos. Os espécimes foram colocados em ácido láctico até total clarificação, sendo preparados entre lâmina e lamínula. Após a secagem, a lamínula foi vedada (lutada) com esmalte e/ou resina ISOQUID-4571 (Glyptal) e as lâminas foram devidamente etiquetadas e depositadas na coleção IBSP.

A identificação dos répteis e anfíbios (nomes, ordens e famílias) usados no estudo, foi realizada pela equipe de herpetólogos do Laboratório Especial de Coleções Zoológicas do Instituto Butantan (LECZ). A nomenclatura dos hospedeiros foi atualizada consultando a base de dados “TIGR/JCVI Reptile Database” (<http://www.reptile-database.org>) (UETZ, 2010) assim como a base de dados da Sociedade Herpetologica Brasileira (BÉRNILS; COSTA, 2012).

3.5.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

Foram utilizados de 1 a 4 exemplares de cada espécie para a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os ácaros foram fixados em Karnowsky (glutaraldeído 5% e paraformaldeído 4% em tampão cacodilato 0,1 M, pH 7,2), e lavados 3 vezes em tampão Cacodilato de Sódio pH 7,2 3 (lavagens de 15 min). Em seguida os espécimes foram transferidos para Tetróxido de Ósmio a 1% em tampão Cacodilato 0,1 M, por 1 hora. Foram lavados em tampão Cacodilato de Sódio pH 7,2 (3 lavagens de 15 min) e em detergente (Veja Limpeza Pesada). A seguir foram lavados com água destilada em ultrassom (4 vezes), e posteriormente desidratados em etanol em série crescente (50% até o etanol absoluto). Os espécimes desidratados foram então secos utilizando ponto crítico, e recobertos com uma fina camada de ouro. As imagens foram realizadas no Laboratório de Biologia Celular do Instituto Butantan, em microscópio digital de varredura “Digital Scanning Microscope”, da marca FEI modelom Quanta 250.

3.5.2 Ilustrações

As partes anatômicas dos ácaros de importância diagnóstica foram desenhadas, para ilustrar melhor as diferenças entre as espécies. Ácaros previamente ilustrados na literatura não foram desenhados, com exceção de *F. ewingii*, *O. brevipilis* e *O. longipilis*, cujos desenhos estavam incompletos. As ilustrações foram realizadas com o microscópio da marca Leica, modelo DM 400B. Tanto as fotomicrografias eletrônicas de varredura quanto as ópticas foram digitalizadas e compiladas pelo programa Photoshop CS6, e as pranchas preparadas em Corel Draw X7.

3.5.3 Terminologia

Para o detalhamento morfológico dos ácaros da família Pterygosomatidae, foram utilizadas as fórmulas de quetotaxia segundo a nomenclatura de Granjean (1939, 1944, 1946), implementada para Pterygosomatidae por Bochkov e Connor (2006) e Paredes-León, Cuervo-Pineda e Pérez (2013).

(ω): solenidia no tarso I – II.

k: Cerda diminuta especializada.

Para o detalhamento morfológico dos ácaros da família Harpirhynchidae foi utilizada a nomenclatura e terminologia proposta por Fain (1964) e adaptada por Bochkov, Mironov e Fain (2000). Foram usadas as seguintes medições e abreviaturas.

Lld: largura do idiossoma.

Wld: comprimento do idiossoma.

LG: largura do gnatossoma ventral. O limite posterior é formado pela borda posterior da pequena ampola transparente do gnatossoma. O limite anterior é a extremidade apical da cerda folheada apical.

WG: comprimento máximo do gnatossoma.

L: comprimento total do ácaro incluindo gnatossoma.

A nomenclatura das pernas foi adaptada segundo o trabalho do Fain (1964).

Trocânter: cerda ventral (V), cerda dorsal (V).

Fêmur: cerda ventral (V), cerda dorsal (V).

Genu: cerda ventral (V), cerda dorsais (D1 – D2).

Tíbia: espinho (A1), cerda lateral ou ventral (A2), cerda dorsal (D).

Tarso: cerda lateral em forma de chicote (A), cerda ventrais (V1 – V2 – V3), cerdas mediais (DF 1 – DF2), cerda dorsal em forma de chicote (D1), cerdas laterais (P1 – P2).

Para os estudos morfológicos dos Trombiculidae e Leeuwnhoeekiidae foi utilizada a terminologia proposta por Wharton et al. (1951); Goff et al. (1982) e Kudryashova (1998), com algumas adaptações propostas por Stekolnikov (2008) e Stekolnikov e Daniel (2012).

Para a diagnose das espécies destas duas famílias foram utilizadas as fórmulas diagnósticas (SIF, fPp, fSc, fD, fsp, fCx e fSt) e os caracteres mensuráveis (AW, PW, SB, ASB, PSB, SD, AP, AM AL PL, S, H, pa, pm, P-PL, TAIH). As medições foram comparadas para a diagnose seguindo as recomendações de Espino-Del-Castillo, Paredes-León e Morales-Malacara (2011). As especificações das fórmulas e caracteres citados estão abaixo.

SIF: fórmula proposta por Vercammen-Granjean (1960), que apresenta características diagnósticas do palpo e pernas. Está representada como: a-b-c-d-e.f.g-h.i.j.k, onde “a” representa a quantidade de cerdas barbeadas (B) do tarso do palpo e a presença ou ausência de subterminala (S); “b” a condição B ou N da galeala (N = lisa); “c” o número de prolongamentos da unha do palpo; “d”, “e”, e “f” o número de genualas das pernas I, II e III, respectivamente; “g” o número de tíbiae da perna III; “h”, o número de mastitarsalae da perna III; “i”, o número de mastitibialae da perna III; “j” o número de mastigenualae da perna III ou genualae adicionais da perna III; e “k” número de mastifemoralae da perna III.

fPp: fórmula da quantidade de cerdas que constituem o palpo e suas condições (N ou B), na sequência, sendo: cerda femoral do palpo, cerda do genu do palpo e as três cerdas tíbiais do palpo (dorsal, lateral e ventral).

fSc: fórmula que expressa a relação entre as cerdas AM, AL e PL do escudo, e a posição da base das sensilas em relação a PL.

fD: fórmula do número de cerdas humerais e dorsais dispostas em fileiras, as humerais são indicadas na primeira fila. As cerdas póstero-anais estão na região ventral do idiossoma.

fSp: fórmula da segmentação das pernas, que varia de 7-7-7, 7-7-6 ou 6-6-6, diferindo no fêmur que pode ser unido ou subdividido em telofêmur e basifêmur.

fCx: fórmula da quantidade de cerdas das coxas das pernas I – III.

AW: largura anterior do escudo dorsal.

PW: largura posterior do escudo dorsal.

SB: distância entre as bases das sensilas e a margem anterior do escudo dorsal.

PSB: maior distância entre as bases das sensilas e a margem posterior do escudo dorsal.

SD: somatória de ASB e PSB.

AP: distância entre a cerda anterolateral (AL) e a cerda posterolateral (PL) do mesmo lado.

AM: cerda anteromediana do escudo dorsal.

AL: cerda anterolateral do escudo dorsal.

PL: cerda posterolateral do escudo dorsal.

S: comprimento da sensila.

H: comprimento da cerda humeral.

pa: comprimento da perna I.

pm: comprimento da perna II.

pp: comprimento da perna III.

P-PL: maior distância entre a base da PL até a margem posterior do escudo dorsal.

3.6 PREVALÊNCIA E INTENSIDADE DE INFESTAÇÃO

Nos animais coletados em campo e também naqueles que chegaram à recepção de animais, foram avaliados e contabilizados os locais de preferência de infestação dos ácaros no corpo de cada hospedeiro. A prevalência e a intensidade média de infestação foram calculadas com o programa Quantitative Parasitology 3.0 (REICZIGEL; RÓZSA, 2005).

3.7 EXTRAÇÃO DE DNA

3.7.1 Ácaros

Foram testados 4 protocolos de extração para avaliar qual o melhor procedimento de extração de DNA dos ácaros Trombidiformes, devido ao seu tamanho.

- Protocolo de extração de DNA utilizando o kit “DNEasy Tissue Kit” (Qiagen®), seguindo o protocolo do fabricante com as modificações propostas por Desloire et al. (2006). Foram utilizados 8 lotes de ácaros das diferentes espécies para os procedimentos. Os ácaros foram triturados e colocados em 25 µl de PBS autoclavado. Adicionou-se 10 µl de Proteinase K e 100µl de buffer ATL e homogeneizados. As amostras foram incubadas por uma noite “overnight” no termobloco à 56 °C. Após a incubação as amostras foram novamente homogeneizadas (durante 15 segundos), sendo adicionado etanol 100% e homogeneizadas mais uma vez. O volume total foi pipetado para uma coluna e centrifugado a 8000 rpm por 1 minuto. Descartou-se o sobrenadante e foram adicionados 260 µl de tampão AW1. As amostras foram centrifugadas novamente e o sobrenadante foi descartado, adicionando-se 260 µl de tampão AW2. Centrifugou-se na velocidade máxima por 3 minutos e retirou-se a coluna que foi colocada em um microtubo de 1,5 ml. As amostras foram diluídas em 70 µl de AE, centrifugadas a 8000 rpm por 1’ e congeladas.

- Protocolo extração de DNA utilizando o kit “DNEasy Tissue Kit” (Qiagen®), seguindo o protocolo do fabricante, com algumas modificações (JACINAVICIUS, 2015). Foram usados 8 lotes das diferentes espécies de ácaros para avaliação. Neste protocolo, parecido com o primeiro, os tempos foram mantidos assim como a velocidade das centrifugações, porém os volumes dos reagentes foram modificados: 180 µl de buffer ATL; 20 µl de proteinase K; 200 µl de tampão ATL; 200 µl de etanol 100%; 500 µl de tampão AW1 e 500 µl de tampão AW2. No final foram realizadas duas eluições com 200 µl de H₂O (Milli-Q). As amostras eluidas foram concentradas até o volume de 50 µl em aparelho de vácuo, marca Eppendorf, modelo Concentrator Plus, seguindo as especificações do fabricante.

- Protocolo de fervura. Sete lotes das diferentes espécies de ácaros foram usados para testar este protocolo. Os espécimes foram colocados em tampão TE (pH 8) com um volume de 20 µl por amostra (3 vezes menos volume do que aquele usado para carrapatos). Os exemplares foram triturados e incubados a 100 °C no termobloco por 20 – 30 minutos. Os tubos foram esfriados à temperatura ambiente e foram centrifugados na maior velocidade (aproximadamente 17000 rpm).

- Protocolo de lise com Isotiocianato de Guaninida (GT). Para este procedimento foram usados 8 lotes de ácaros. Os espécimes foram avaliados individualmente. Cada exemplar foi colocado em microtubo marca Eppendorf, sendo puncionado na região do idiossoma com uma agulha estéril (1.20 * 40 – 18G). Após a punção, o ácaro foi triturado adicionando-se 30 µl de tampão TE e 120 µl de tampão TE estéril, para obter um volume final de 150 µl, sendo então homogeneizado por 15 segundos. Foram adicionados 450 µl de GT e a amostra homogeneizada por 15 segundos. Os tubos foram mantidos à temperatura ambiente sendo homogeneizados a cada 2.5 minutos. Foi adicionado cloroformio aos microtubos, em seguida, homogeneizados por 15 segundos com um tempo de descanso de 2 minutos. Os tubos foram centrifugados a 12000 rpm por 5 minutos e o sobrenadante foi colocado em um tubo estéril (1.5ml). A camada inferior foi armazenada para tentar recuperar os restos do ácaro para servir de “voucher”. Foram adicionados 600 µl de álcool isopropílico e os microtubos foram incubados por 24 horas a -20 °C. Após incubação, as amostras foram centrifugadas a 4 °C (12000 rpm por 15 minutos). O sobrenadante foi descartado e 800 µl de etanol 70% foram adicionados. As amostras foram centrifugadas mais uma vez a 4 °C por 5 minutos e o sobrenadante foi descartado. O “pellet” foi mantido a 56 °C por 10 minutos até a secagem completa, sendo resuspendido em 25 – 50 µl de TE estéril e homogeneizado. Finalmente, as amostras foram incubadas por 15 minutos a 56 °C e congeladas a -20 °C.

O *Voucher* (testemunho) do material extraído foi obtido do sobrenadante final extraíndo os restos dos ácaros delicadamente. Partes do material foram recuperadas em estereomicroscópio e montadas em lâminas (item 3.5).

3.7.2 Tecidos

Amostras de tecidos dos hospedeiros foram usadas para extrair DNA através de kit comercial (DNeasy Tissue and Blood Kit, Qiagen, Chatsworth, CA), conforme as instruções do fabricante. Foi utilizado um controle negativo (água Milli-Q autoclavada e livre de DNA).

3.8 QUANTIFICAÇÃO DO DNA EXTRAÍDO

Foi realizada a quantificação do DNA extraído em Espectrofotômetro (Nanodrop 2000 Spectrophotometer® UV-Vis, ThermoScientific, USA), com comprimento de onda de 260 nm.

3.9 REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE (PCR)

As espécies de ácaros preparadas foram testadas segundo protocolo descrito no item 3.9.1 como controle endógeno e posterior sequenciamento. Tanto os ácaros como os tecidos dos hospedeiros foram testados para a presença de DNA dos patógenos conforme os protocolos descritos a seguir.

3.9.1 PCR para o gene ribossômico rRNA 18S, e os genes mitocondriais COI-1, COI-2 - ácaros

Para as PCRs dos ácaros estudados foram utilizados os *primers* 18S+ e 18S- (18S RNA ribossomal ou rRNA), que amplificam um fragmento da região V-4 (OTTO; WILSON, 2001); e *primers* do gene citocromo oxidase mitocondrial das subunidades 1 (COI 1: CI-J-1571 e CI-N-2191) (SIMON et al., 1999), que amplificam parte da região 5' do gene e a região UEA5/UEA8 (COI-2F e COI-2R) (OTTO; WILSON, 2001). Para cada reação foram utilizados controles negativo (água Milli-Q autoclavada e livre de DNA) e positivo (pool de ácaros Trombiculidae). As condições dos ciclos da PCR foram descritas por Otto e Wilson (2001). A reação foi realizada em termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf® California, USA), desnaturação inicial a 94 °C por 1 minuto, seguidas de 30 ciclos de 20 segundos a 94 °C, 50 °C por 30 segundos e 72 °C por 1 minuto e 30 segundos, com um ciclo final baixando a temperatura até 25 °C.

3.9.2 PCR para os diferentes patógenos

Rickettsia - Para pesquisa de riquetsias, cada amostra de DNA foi testada por PCR utilizando-se um par de *primers* (CS-62F senso e CS-462R anti-senso), que amplificam um fragmento de 401 pares de base (pb) do gene citrato sintase (*gltA*), presente em todas as espécies de *Rickettsia* (LABRUNA et al., 2004). Para cada reação foram utilizados controles negativo (água Milli-Q autoclavada e livre de DNA) e positivo (DNA de *Rickettsia parkeri*, cepa NOD). A reação de amplificação foi realizada em microtubos de 20 µl adicionando-se 2,5 µl de DNA extraído acrescido de 22,5 µl de Mix [12,6 µl de água de Milli-Q; 4 µl de Buffer (200 mM Tris pH 8.4, 500 mM KCl, Invitrogen® Carlsbad, CA); 2,5 µl de dNTP (Invitrogen® Carlsbad, CA); 1,25 µl de cada primer; 0,75 µl de Cloreto de Magnésio (50 mM, Invitrogen® Carlsbad, CA); e 0,15 µl de Taq polimerase (Invitrogen® Carlsbad, CA)], para um volume total de 25 µl de solução. As condições de temperatura da PCR, realizada em termociclador Mastercycler Gradient (Eppendorf® California, USA), para o gene *gltA* foram: 1 ciclo à 95 °C por 5 minutos, seguidos por 40 ciclos de 30 segundos à 95 °C, 30 segundos à 58 °C, 40 segundos à 72 °C e 7 minutos à 72 °C.

Coxiella - Todas as amostras foram testadas para a presença de *Coxiella*, utilizando-se um par de *primers* (CAPI-844-F senso e CAPI-844-R anti-senso), que amplificam um fragmento de 601 pb do gene CAPI (capsular polysaccharide biosynthesis protein), segundo Reeves et al. (2006). A reação de amplificação foi realizada em microtubos de 200 µl adicionando-se 2,5 µl de DNA extraído acrescido de 22,5 µl de Mix [2,5 µl de Buffer (200 mM Tris pH 8,4, 500 mM KCl, Invitrogen® Carlsbad, CA), 0,75 µl de Cloreto de Magnésio (50 mM, Invitrogen® Carlsbad, CA), 0,15 µl de Taq Polimerase (Invitrogen® Carlsbad, CA), 4,0 µl de dNTP (Invitrogen® Carlsbad, CA), 1,25 µl de cada *primer* e 12,6 µl de água Milli-Q], totalizando um volume de 25 µl de Mix por microtubo. Para cada reação, foram utilizados controle positivo (*Coxiella burnetti* de cultivo celular – COX Atg 5p) e controle negativo (água Milli-Q). As condições dos ciclos da PCR foram: desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguidas de 40 ciclos de 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 55 °C, extensão inicial a 72 °C por 40 segundos e extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Hepatozoon - Para detecção de DNA de *Hepatozoon* spp. foram utilizados os *primers* HEP-1 senso e HEP-4 anti-senso que amplificam um fragmento de cerca de 670pb do gene 18S rRNA de *Hepatozoon* spp. (CRIADO-FORNELIO et al., 2006). Para todas as reações foram utilizados controles positivo (DNA de *H. canis* obtido de cão doméstico do Rio Grande do

Norte) e negativo (água Milli-Q). As reações de PCR foram realizadas em solução total de 25 µl contendo 2,5 µl de DNA extraído acrescido de 22,5 µl de Mix [1X PCR Buffer desprovido de Mg, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de dNTPs, 1U de Platinum TaqDNA Polymerase (Invitrogen®, Carlsbad, CA), e 0,2 mM de cada *primer*]. Os ciclos da PCR foram: desnaturação inicial por 3 minutos a 95 °C e 40 ciclos repetitivos de 15 segundos a 95 °C, 40 segundos a 53 °C, 40 segundos a 72 °C, seguidos por 57 minutos de extensão final a 72 °C. Nas amostras positivas, para um controle do amplificado, foi realizada nova análise de PCR (*primer* HEP 2) com os pares de *primers* denominados HEP2-144-169 senso e HEP2-743-718 anti-senso, que amplificam um fragmento de aproximadamente 574-pb do gene 18S rRNA (ALMEIDA et al., 2013). Para essa segunda PCR (Hep2), utilizou-se uma desnaturização inicial por 5 minutos a 95 °C, 30 segundos a 50 °C, 1 minuto a 72 °C, seguidos por 7 minutos de extensão final a 72 °C. Todos os *primers* usados estão descritos no quadro 5.

3.9.3 Leitura e análise dos produtos das PCRs

Todos os produtos das PCRs [o volume de cada amostra foi de 5 µl DNA amplificado acrescido de 2 µl de corante Gel Loading Buffer (Invitrogen® Carlsbad, CA)] foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5% [1,5 mg de Agarose Ultra-Pure Invitrogen® Carlsbad, CA; 100 ml TAE 1X (121g Tris Base; 28,5 ml de ácido acético glacial; 50 ml de EDTA 0,5M pH 8,0 H₂O milli-Q q.s.p.) acrescido de SYBR® Safe DNA Gel Stain (0,1 µl/ml)] e tampão de corrida TAE 1X pH 8,0 à 100V/80mA.

Quadro 5 - Lista dos *primers* utilizados nas Reações em Cadeia pela Polimerase (PCR) para pesquisa de patógenos e filogenia dos ácaros

Gene/ primers	Agente	Sequencia dos primers (5' - 3')	Referência
18s rRNA	Ácaros		
Mite18S-1F Mite18S-1R		ATATTGGAGGGCAAGTCTGG TGGCATCGTTTATGGTTAG	(OTTO; WILSON, 2001)
COI-1	Ácaros		
CI-J-175I CI-N-219I		GGWGCWCCWGAYATRGCWTTYCC GGWARAATTAAAATATAWACTTC	(SIMON et. al, 1999)
COI-2	Ácaros		
Mite COI-2F Mite COI-2R		TTYGAYCCIDYIGGRGGAGGAGATCC GGRTARTCWGARTAWCGNCGWGGTAT	(OTTO; WILSON, 2001)
<i>gltA</i>	<i>Rickettsia</i>		
CS-62F CS-462R		GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT GCTTCCTTAAAATTCAATAAATCAGGAT	(LABRUNA et al., 2004)
<i>cap</i>	<i>Coxiella</i>		
CAPI-844F CAPI-844R		ATTTAGTGGGTTTCGCGCAT CATCAGCATACGTTTCGGGAA	(REEVES et al., 2006)
18s Rrna	<i>Hepatozoon</i>		
HEP-1 HEP-4 HEP2 144-196 F HEP2 743-718		CGCGAAATTACCCAATTCTA TAAGGTGCTGAAGGAGTCGTTTAT GGTAATTCTAGAGCTAATACATGAGC ACAATAAAGTAAAAACAYTTCAAAG	(CRIADO- FORNELIO et al., 2006). (ALMEIDA et al., 2013)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

O gel foi visualizado em luz ultravioleta (UV) em câmara escura (Alphamager®). As amostras que revelavam bandas de DNA na altura do controle positivo, confirmando a amplificação de nucleotídeos, foram consideradas positivas para a reação da PCR utilizada.

3.9.4 Purificação e sequenciamento de nucleotídeos

Foram selecionadas amostras de produtos amplificados das PCRs que tiveram concentrações acima de 20 ng/μl. A purificação dessas amostras foi feita com o Kit comercial marca Qiagen® MinElute® “For gel extraction of DNA fragments (70 bp to 4 kb) in low elution volumes” seguindo o protocolo do fabricante exposto a seguir. Cada amostra de produto amplificado foi cortada do gel de agarose (1,5%) com uma lâmina de bisturi estéril. As amostras cortadas foram pesadas em microtubos, sendo adicionados 3 volumes de buffer QG a 1 volume de gel (100 mg - 100 μl). Cada amostra foi incubada por 10 minutos a 5 °C até que a dissolução completa do gel, homogeneizando a amostra a cada 2 - 3 minutos.

Adicionou-se 1 volume de isopropanol às amostras as quais foram misturadas invertendo os microtubos várias vezes. O volume total foi transferido para uma coluna e centrifugado a 13000 rpm por 1 minuto, descartando o filtrado (*Flow-through*). Foram adicionados 500 µl de buffer QG na coluna e centrifugando 1 minuto e descartando o filtrado novamente. Foram adicionados 750 µl de buffer PE na coluna e centrifugado por 1 minuto, sendo descartado o filtrado. As amostras foram centrifugadas novamente para remover o etanol residual. As colunas foram colocadas em microtubos limpos de 1.5 ml. Para diluir o DNA foram adicionados 10 µl de água MilliQ deixando as amostras descansarem por 1 minuto e posteriormente centrifugando por 1 minuto. Após este procedimento foi quantificado o DNA de cada amostra e estas foram congeladas. O sequenciamento das amostras purificadas foi realizado no Centro de pesquisa sobre Genoma Humano e Células Tronco do Instituto de Biociências da USP. Foi realizado sequenciamento do tipo “Sanger”, que é o sequenciamento de DNA a partir de produtos de PCR e plasmídios utilizando o ABI 3730 *DNA Analyser*. Este é um sistema de análise de DNA de 48 capilares com a tecnologia *Life Technologies – Applied Biosystems*. As reações de sequenciamento foram feitas utilizando o *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit*. As corridas foram feitas em capilares de 36 cm utilizando o polímero POP7. As sequências foram analisadas pelo software *Sequencing Analysis 5.3.1* utilizando o programa *Base Caller KB*. As reações desse tipo de sequenciamento alcançam em média 600 a 650 bases.

3.10 ANÁLISES DAS SEQUÊNCIAS

As sequências obtidas foram editadas utilizando o programa SeqMan (Lasergene, DNASTar, Madison, Wis.) e submetidas a análise de similaridade através do programa Basic Local Alignment Search Tool (BLAST two sequences analysis) (ALTSCHUL et al., 1990), para verificar homologia com sequências correspondentes disponíveis no GenBank.

3.11 ANÁLISE FILOGENÉTICA

As sequências obtidas para as diferentes espécies de ácaros no presente estudo foram alinhadas com diversas sequências disponíveis no GenBank. O alinhamento foi realizado com o programa ClustalW (LARKIN et al., 2007) e foi ajustado manualmente no programa GeneDoc v. 2.6.01 (NICHOLAS et al., 1997). As análises filogenéticas foram inferidas pelo método de Máxima Parcimônia (MP) máxima verossimilhança (MV) e análise bayesiana. As árvores de MP foram construídas utilizando o programa MEGA 6.06 (TAMURA et al., 2013). Devido ao número de taxa, a análise foi feita utilizando-se algoritmos heurísticos para a busca da árvore mais parcimoniosa. Os métodos de Parcimônia procuram a árvore que minimize o número de passos (substituição de nucleotídeos ou aminoácidos) para explicar os padrões observados nos dados. Os alinhamentos também foram submetidos às análises de MV utilizando o programa MEGA 6.06 (TAMURA et al., 2013), dentre os 56 modelos de evolução de sequência disponíveis, aquele que melhor explicar o alinhamento das sequências obtidas foi utilizado. Este método permite estimar a probabilidade relativa dos dados obtidos se ajustarem a uma determinada árvore e também a um modelo que descreva o processo da evolução em estudo. A probabilidade é calculada para todas as topologias possíveis, variando o tamanho dos ramos. Assim, a árvore que apresentar a maior verossimilhança (probabilidade relativa) é considerada a melhor estimativa da filogenia.

A fim de determinar os valores que apoiam cada braço da árvore filogenética utilizamos o método estatístico “bootstrap” (FELSENSTEIN, 1985). Assim, quanto maior o número de vezes que um determinado braço ocorre na estimativa, maior é a confiança da existência deste braço.

As análises bayesianas foram realizadas com o programa MrBayes v3.1.2 (HUELSENBECK; RONQUIST, 2001) com 2,000,000 gerações. O primeiro 25% destas árvores representou o “Burn in” e o restante das árvores foram utilizadas para calcular as análises bayesianas.

4 RESULTADOS

Na coleção IBSP e nos animais investigados (répteis e anfíbios), foram identificadas 4 famílias, 5 gêneros e 10 espécies de ácaros Trombidiformes: Pterygosomatidae - *Geckobia hemidactyli* Lawrence, 1936; Harpirhynchidae - *Ophioptes brevipilis* Lizaso (1981); *Ophioptes longipilis* Lizaso (1981) e *Ophioptes parkeri* Sambon (1928) e uma espécie nova de *Ophioptes* (descrita mais adiante no item 4.4); Trombiculidae - *Eutrombicula alfreddugesi* Oudemans (1920); *Fonsecia ewingi* Fonseca (1932); Leeuwenhoekiidae - *Hannemania hepatica* Fonseca (1935); *Hannemania Yungicola* Wohltmann e Kohler (2006) e *Hannemania minor* Alzuet e Mauri (1985).

A coleção de Acari do Instituto Butantan (IBSP) é um dos acervos mais antigos de ácaros da América Latina. Esta coleção possui 380 lotes ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios do Brasil, sendo: 6 lotes da família Perygosomatidae, 69 lotes da família Harpirhynchidae e 306 lotes da família Trombiculidae. Além desses, há 9 lotes da família Leeuwenhoekiidae parasitas de anfíbios. Os dados dos hospedeiros (répteis e anfíbios) e dos ácaros examinados podem ser observados nas tabelas 1-3 (item 4.1). A prevalência, a intensidade média de infestação e a abundância média, estão detalhadas para cada espécie, no item 4.2. As espécies de Trombidiformes de répteis e anfíbios do estado de São Paulo coletadas durante o presente estudo foram incorporadas à Coleção IBSP e essas informações foram somadas às aquelas já existentes. Todos esses dados estão apresentados no Catálogo mais adiante (item 4.3) que também inclui informações sobre espécimes que tiveram DNA extraído. O detalhamento morfológico de cada espécie de ácaro está contemplado no item 4.4. As análises filogenéticas bem como as árvores filogenéticas estão contempladas no item 4.5, e os resultados das PCRs para os patógenos estudados podem ser observados no item 4.6.

4.1 HOSPEDEIROS E ÁCAROS

4.1.1 Material de campo e da Recepção de Animais

De agosto de 2013 a fevereiro de 2015, foram vistoriados 1198 animais, sendo: 744 répteis das ordens Squamata (subordens Ophidia e Sauria), Crocodylia e Quelonia, e 454 anfíbios (ordem Anura). Dos répteis da ordem Squamata, foram examinados 686 exemplares de 17 gêneros e 24 espécies de Ofídios, e 46 exemplares de 4 gêneros e 4 espécies de sáurios. Para cada uma das ordens Crocodylia e Quelonia, foram vistoriados 7 e 5 exemplares, respectivamente, sendo apenas 1 espécie de cada. Foram ainda vistoriados 454 anfíbios anuros distribuídos em 13 gêneros e 16 espécies. Essas informações podem ser observadas nas tabelas 1 – 2. Dentre os animais investigados, estavam infestados: 3 ofídios (Colubridae e Viperidae), 15 sáurios (Gekkonidae) e 18 anuros, totalizando 1887 espécimes de ácaros. Deste número, a família Pterygosomatidae foi representada por *G. hemidactyli* (n = 1389); a família Harpirhynchidae foi representada pelas espécies *Ophiotes* sp. n. (n = 25) e *O. parkeri* (n = 2); a família Trombiculidae pelas espécies *E. alfreddugesi* (n = 17) e *F. ewingi* (n = 156); e a família Leeuwenhoekiidae por *H. hepatica* (n = 183), *H. minor* (n = 8) e *H. yungicola* (n = 107) (Tabela 3).

4.2 ÍNDICES DE INFESTAÇÃO E LOCAL DE FIXAÇÃO DOS ÁCAROS NOS HOSPEDEIROS

O índice de prevalência (IP) para os animais infestados em relação ao número de vistoriados foi de 3.1 % (37/1198), sendo *H. mabouia* o mais prevalente. Para répteis e anfíbios, o IP foi de 2.55 % (19/747) e de 3,9 % (18/454), respectivamente. Considerando cada uma das espécies de ácaros separadamente os índices de prevalência (IPs), intensidade média (IM) e abundância média (AM), estão apresentados na tabela 4. A espécie mais abundante foi *G. hemydactyli* (AM = 51.67 ± 5.5) que ocorreu em 15 hospedeiros *H. mabouia* dentre 27 vistoriados (IP = 57.2 %) e a intensidade média desse ácaro foi de 93 ± 12.4 . Segundo o local de preferência no corpo do hospedeiro, para *G. hemydactyli* foi encontrada nos seguintes microhabitats: **aPo** (área peri ocular) 1.65 % (n = 23); **nPl** (nucal Pocket lateral) 10.43 % (n = 145); **Ab** (Antebraço) 9.79 % (n = 136); **Co** (Coxa) 11.8 % (n = 165); **ACV**

(área Celomática ventral) 18.86 % (n = 262); **Ca** (Cauda) 10.94 % (n = 152); **inP** (mite Pocket inguinal) 16.77 % (n = 233); e **Pax** (mite Pocket auxiliar) 19.65 % (n = 273) (figura 9). Para os 3 ofídios infestados (2 animais parasitados por *O. parkeri* e 1 por *Ophiotes* sp. n.), o IP foi de 0.43 %. A espécie *O. parkeri* foi sempre encontrada nas escamas da porção dorso medial (**DoM**) (figura 10). A espécie nova de *Ophiotes* foi coletada sempre de dentro das escamas da face ventral da cabeça (**FVC**) 44 % (n = 11) e da área cervical lateral (**aCl**) 56 % (n = 14).

Tabela 1 – Espécies de répteis examinadas e infestadas (material coletado e de animais que chegaram à Recepção do LECZ)

Ordem (subordem)	Hospedeiro	Quantidade	Quantidade infestada
Squamata (Ophidia)	<i>Atractus pantosticus</i> Fernandes & Puerto 1993	10	0
	<i>Boa constrictor amarali</i> Stull, 1932	30	0
	<i>Boa constrictor constrictor</i> Linnaeus, 1758	50	0
	<i>Bothrops jararaca</i> Wied, 1824	115	0
	<i>Bothrops Jararacussu</i> Lacerda, 1884	30	0
	<i>Bothrops moojeni</i> Hoge, 1966	17	0
	<i>Chironius bicarinatus</i> Hollis, 2006	20	0
	<i>Chironius exoletus</i> Linnaeus, 1758	7	0
	<i>Crotalus durissus terrificus</i> Laurenti, 1768	133	1
	<i>Epicrates cenchria</i> Linnaeus, 1758	7	0
	<i>Erythrolamprus miliaris</i> Linnaeus, 1758	36	0
	<i>Helicops carinicaudus</i> Pontes et al., 2008	12	0
	<i>Liophis typhlus</i> Dixon, 1987	3	0
	<i>Oxyrhopus guibei</i> Hoge & Romano, 1977	33	0
	<i>Pantherophis guttatus</i> Linnaeus, 1766	4	0
	<i>Philodryas olfersii</i> Lichtenstein, 1823	5	0
	<i>Philodryas patagoniensis</i> Grazziotin et al., 2012	23	1
	<i>Sibynomorphus mikanii</i> Schlegel, 1837	10	0
	<i>Sibynomorphus newwiedi</i> Ihering, 1911	42	0
	<i>Spilotes pullatus</i> Linnaeus, 1758	14	0
	<i>Thamnodynastes strigatus</i> Gunther, 1858	2	0
	<i>Tomodon dorsatus</i> Starace, 1998	67	0
	<i>Tropidodryas striaticeps</i> Vrcibradic et al., 2011	3	0
	<i>Xenodon merremi</i> Boulenger, 1894	13	1
	<i>Enyalius iheringii</i> Boulenger 1885	6	0
Squamata (Sauria)	<i>Hemidactylus mabouia</i> Moreau De Jonnés 1818	27	15
	<i>Ophiodes fragilis</i> Raddi, 1820	10	0
	<i>Placosoma glabellum</i> Peters 1870	3	1
Crocodylia	<i>Caiman latirostris</i> Daudin, 1802	7	0
Quelonia (Haplorrhini)	<i>Hydromedusa tectifera</i> Cope, 1869	5	0

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Tabela 2 – Espécies de anfíbios examinados e infestados (material coletado e de animais que chegaram à Recepção do LECZ)

Ordem	Hospedeiro	Quantidade	Quantidade infestada
Anura	<i>Chiasmocleis carvalhoi</i> Peloso et al., 2014	3	0
	<i>Dendropsophus minutus</i> Faivovich, 2005	10	0
	<i>Fritziana fissilis</i> Miranda-Ribeiro, 1920	1	1
	<i>Hylodes lateristrigatus</i> Myers, 1962	2	0
	<i>Hypsiboas polytaenius</i> Faivovich, 2005	1	0
	<i>Ischnocnema guentheri</i> Heinicke et al., 2007	4	0
	<i>Itapotihyla langsdorffii</i> Duméril & Bibron, 1841	1	0
	<i>Leptodactylus latrans</i> Steffen, 1815	45	1
	<i>leptodactylus notoaktites</i> Heyer, 1978	33	0
	<i>Phylomedusa distincta</i> Heyer, 1978	5	0
	<i>Physalaemus spiniger</i> Miranda-Ribeiro, 1926	255	15
	<i>Proceratophrys melanopogon</i> Heyer et al. 1990	3	0
	<i>Rhinella hoogmoedi</i> Caramaschi & Pombal, 2006	18	0
	<i>Rhinella Icterica</i> Spix, 1824	42	1
	<i>Rhinella ornata</i> Spix, 1824	11	1
	<i>Scinax duartei</i> Duellman & Wiens, 1992	20	0
	Total	454	18

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Tabela 3 – Quantidade de ácaros por espécie e hospedeiros

Classe	Hospedeiro	<i>G. hemidactily</i>	<i>Ophiotes sp n</i>	<i>O. parkeri</i>	<i>E. alfreddugesi</i>	<i>F. ewingi</i>	<i>H. Hepatica</i>	<i>H. minor</i>	<i>H. yungicola</i>
Ophidia	<i>Crotalus durissus terrificus</i>		X						
	<i>Philodryas patagoniensis</i>			X					
	<i>Tomodon dorsatus</i>			X					
Sauria	<i>Hemidactylus mabouia</i>	X							
	<i>Placosoma glabellum</i>				X				
	<i>Fritziania fissilis</i>								X
	<i>Leptodactylus latrans</i>							X	
Anura	<i>Physalaemus spiniger</i>						X		
	<i>Rinella icterica</i>				X				
	<i>Rhinella ornata</i>					X			
Total ácaros		1389	25	2	17	156	183	8	107

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Tabela 4 – Índice de prevalência, intensidade média e abundância média de cada espécie de ácaro coletada

Espécie ácaro	IP	IM	AM
<i>G. hemydactyli</i>	57.2 %	93	51.67
<i>Ophiotes</i> spp.	0.43 %.	9	0.039
<i>E. alfreddugesi</i>	4.2%	8.5	0.36
<i>F. ewingi</i>	9%	-	14.4
<i>H. hepatica</i>	5.8%	13.3	0.78
<i>H. minor</i>	2.2 %	-	0.9
<i>H. yungicola</i>	-	-	-

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: IP: índice de prevalência; IM: intensidade média; AM: abundância média.

Figura 9 – Locais de fixação de *Geckobia hemidactyli* no hospedeiro *H. mabouia*. Os ácaros são vermelhos

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A) microhabitats no hospedeiro **aPo** (área peri ocular) 1.65 % (n = 23); **nPL** (nuchal Pocket lateral) 10.43 % (n = 145); **Ab** (Antebraço) 9.79 % (n = 136); **Co** (Coxa) 11.8 % (n = 165); **ACV** (área Celomatica Ventral) 18.86 % (n = 262); **Ca** (Cauda) 10.94 % (n = 152); **inP** (mite Pocket inguinal) 16.77 % (n = 233); **Pax** (mite Pocket auxiliar) 19.65 % (n = 273). B) ácaros no local Pax. C) ácaros assemelhando escamas no local ACV D) ácaros no local nPL. Barras de escala: B, 5000 µm; C, 2000 µm; D, 10000 µm.

Figura 10 – Locais de fixação de ácaros do gênero *Ophioptes* nos hospedeiros ofídios

Fonte: A, B, C imagens copiadas do site (<http://users.dickinson.edu/~nicholsa/Romnat/animacole.htm>); D: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015); E: Adaptado de Fonseca (1928).

Legenda: microhabitats no hospedeiro *Crotalus durissus terrificus* infestado com *Ophioptes* sp. n. A) **FVC** (face ventral da cabeça) 44 % (n = 11). B) **aCl** (área cervical lateral) 56 % (n = 14). C) **DoM** (porção dorso medial) dos hospedeiros colubrídeos infestados com *O. parkeri*. D) *Ophioptes* sp. n. entre as escamas na **FVC** (Barra 1800 µm). E) ilustração (Sambon, 1928) mostrando os ácaros dentro das escamas.

Dois animais estavam infestados com *E. alfreddugesi*, sendo um lagarto *P. glabellum* (6 ácaros na zona **Pax**, figura 11-A) e *R. ictérica* (11 ácaros distribuídos na zona **a** e **Pa** figura 11-B).

Figura 11 – Locais de fixação dos ácaros *E. alfreddugesi* nos hospedeiros

Fonte: A: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015); B: adaptado de Duellman (2014).

Legenda: microhabitats no hospedeiro. A) *Placossoma glabellum*, **ACV** (área celomática ventral); **Pax** (Pocket auxiliar) (n = 6). B) *Rhinella ictérica*, **a** (Axilar) (n = 11); **Pa** (área Peri-axilar).

Dos 18 anfíbios infestados, um espécime da espécie *Rhinella ornata* estava infestado por *F. ewingi*. Os ácaros estavam fixados na axila (**a**) 85.98 % (n = 134) e na área peri-axilar (**Pa**) 14.10% (n = 22) do lado direito do animal (Figura 12).

Quinze espécimes do anfíbio *P. spiniger* encontraram-se infestados por ácaros *H. hepatica* (IP = 5.8%). A intensidade média de ácaros por hospedeiro foi de 13.3 e a abundância media foi de 0.78 . Foram contabilizados os ácaros por local de preferência ou microhabitats no hospedeiro (Figura 13). Todos os ácaros estavam fixados na superfície ventral dos hospedeiros dentro de cápsulas dispostas nas seguintes partes do corpo do animal: **Ab** (antebraço) 13.11 % (n = 24); **ACV** (área Celomática Ventral) 10.9 % (n = 20); **b** (braço) 10.9 % (n = 20); **Co** (Coxa) 16.9 % (n = 31); **FVC** (Face ventral da cabeça) 7.10 % (n = 13); **aTI** (área tíbia) 6.55 % (n = 12); **aTr** (área tarsal) 15.8 % (n = 29); **Di** (dígitos) 18.5 % (n = 34).

Figura 12 – Locais de fixação dos ácaros *F. ewingi* no anfíbio *R. ornata*

Fonte: A: adaptado de Duellman (2014); B, C, D: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: microhabitats no hospedeiro *R. ornata* infestado com *F. ewingi*. A) **a** (axila) 85,98% (n = 134); **Pa** (peri-axilar) 14.10 % (n = 22). B) ácaros fixados na zona **a** C) ácaro sob a área **Pa**. D) ácaros assemelhando a pele do hospedeiro (seta vermelha). Barra de escala: B, 2000 µm; C, 100 µm.

Figura 13 – Locais de fixação dos ácaros *H. hepatica* no hospedeiro *P. spiniger*

Fonte: A: adaptado de Duellman (2014); B, C, D1, D2: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: A) microhabitats no hospedeiro, **Ab** (antebraço) 13.11% (n = 24); **aCV** (área Celomática Ventral) 10.9 % (n = 20); **b** (braço) 10.9 % (n = 20); **Co** (Coxa) 16.9 % (n = 31); **FVC** (Face ventral da cabeça) 7.10 % (n = 13); **aTI** (área tíbia) 6,55 (n=12); **aTr** (área tarsal) 15,8% (n=29); **Di** (Digitos) 18,5% (n=34). B – C) ácaros dentro da pele do hospedeiro. D1 – D2) *H. hepatica* fora da cápsula e dentro da cápsula formada no hospedeiro na aTi. Barra de escala: D1 400µm; D2, 1000 µm .

Dos 18 anfíbios infestados, um anuro *Leptodactylus latrans* estava parasitado com *H. minor*. Os ácaros estavam fixados na área inguinal (**in**) 75 % (n = 6) e na área coxal ventral (**Co**) 25 % (n = 2) (Figura 14).

A espécie *H. yungicola* foi encontrada em *F. fissilis*. Foram contabilizados os ácaros por local de preferência ou microhabitats no hospedeiro (Figura 15). Todos estavam fixados na superfície ventral dentro de cápsulas, distribuídas nas seguintes partes do corpo do animal: **Ab** (antebraço) 13.11 % (n = 24); **aCV** (área celomática ventral) 9.34 % (n = 20); **b** (braço) 11.2 % (n = 12); **Co** (Coxa) 14 % (n = 15); **FVC** (Face ventral da cabeça) 1.8 % (n = 2); **aTI** (área tíbia) 19.6 % (n = 21); **aTr** (área tarsal) 13 % (n = 14); **Di** (dígitos) 21.4 % (n = 23).

Figura 14 – Locais de fixação dos ácaros *H. minor* no hospedeiro *L. latrans*

Fonte: A: adaptado de Duellman (2014).

Legenda: microhabitats no hospedeiro *L. latrans* infestado com *H. minor*. (**in**) (Área inguinal) 75 % (n = 6); (**Co**) (área coxal) 25 % (n = 2).

Figura 15 – Locais de fixação dos ácaros *H. yungicola* no hospedeiro *F. fissilis*

Fonte: A: adaptado de Duellman (2014); B, C, D: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

Legenda: A) microhabitats no hospedeiro. **Ab** (antebraço) 13.11 % (n = 24); **aCV** (área celomática ventral) 9.34 % (n = 20); **b** (braço) 11.2 % (n = 12); **Co** (Coxa) 14 % (n = 15); **FVC** (Face ventral da cabeça) 1.8 % (n = 2); **aTi** (área tibial) 19.6 % (n = 21); **aTr** (área tarsal) 13 % (n = 14); **Di** (dígitos) 21.4 % (n = 23). B – C) ácaros dentro da pele do hospedeiro. D) *H. minor* fora da cápsula na **aTr**. Barra de escala: C, 600µm; D, 400µm.

4.3 CATÁLOGO DOS ESPÉCIMES EXAMINADOS

Algumas espécies que estavam como “sp.” foram identificadas e estão incluídas no catálogo a seguir. As coordenadas geográficas das localidades mencionadas no catálogo estão apresentadas mais adiante no item 4.5.

Família Pterygosomatidae

Geckobia hemidactyli Lawrence, 1936

Região Norte: Estado do Pará - Tucuruí, PA - IBSP 6784, 1 fêmea, *Thecadactylus rapicauda*, VII 1984.

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Assis, SP - IBSP 4788, 1 fêmea, 1 deutoninfa, *H. mabouia*, 20.XI.1951. **Ilha do Bom abrigo, SP** - IBSP 2117, 6 fêmeas, *H. mabouia*, data de coleta não identificada. **São Paulo, SP** - IBSP 1938, 2 fêmeas, *Mabuya mabouya*, 14.VI.1940; IBSP 3852, 2 fêmeas, lagartixa, 2.VI.1956; IBSP 12087, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 15.VIII.2013*; IBSP 12047, 1 fêmea, *H. mabouia*, 11.XI.2013*; IBSP 12048, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 11.XI.2013*; IBSP 12077, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 15.VIII.2013*; IBSP 12081, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 15.III.2014*; IBSP 12082, 3 fêmeas, *H. mabouia*, 15.VI.2014*; IBSP 12083, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 11.IX.2014*; IBSP 12084, 1 fêmea, *H. mabouia*, SP, 22.IX.2014*; IBSP 12085, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 15.XII.2014*; IBSP 12086, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 23.XII.2014*; IBSP 12097, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 12.III.2015; IBSP 12098, 2 fêmeas, *H. mabouia*, 7.IV.2015. **Sete Barras, SP** - IBSP 12045, 3 fêmeas, *H. mabouia*, 7.VIII.2013*; IBSP 12072, 4 fêmeas, *H. mabouia*, 13.XII.2013*, **.

Família Harpirhynchidae

Ophioptes brevipilis Lizaso, 1981

Região Centro-Oeste: Estado de Goiás - Goiânia, GO - IBSP 6327, 1 fêmea holótipo, *C. flavolineatus*, 30.III.1979.

Região Sudeste: Estado do Espírito Santo - Colatina, ES - IBSP 6202, 1 fêmea, 4 machos parátipos, *L. poecilogyrus*, 17.II.1978. **Estado de São Paulo - Tupã, SP** - IBSP 6299, 9 fêmeas, 4 machos parátipos, *Mastigodryas bifossatus*, 1.XII.1978.

Região Sul: Estado do Paraná - Uraí, PR - IBSP 6351 1 macho parátipo, *Philodryas olfresii*, 11.IX.1979.

***Ophioptes longipilis* Lizaso, 1981**

Região Sul: Estado do Paraná - Foz do Areia, PR - IBSP 6418, 2 machos parátipos, *Oxyrophus pelota*, 25.IV.1980.

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Itú, SP - IBSP 6070, 1 fêmea holótipo, *O. trigeminus*, 7.I.1977; IBSP 6111, 3 fêmeas, 4 machos parátipos, *O. trigeminus*, 25.IX.1978; IBSP 6267, 2 fêmeas, 2 machos parátipos, *O. trigeminus*, 25.IX.1978.

***Ophioptes parkeri* Sambon, 1928**

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Araçoiaba da Serra, SP - IBSP 6205, 2 machos, *C. foveatus*, 27.II.1978. **Arujá, SP** - IBSP 6037, 5 fêmeas, 2 machos, *C. foveatus*, 22.XI.1976. **Birita-Mirim, SP** - IBSP 6204, 18 fêmeas, 9 machos, *Erythrolamprus aesculapii*, 20.II.1978. **Inúiba Paulista, SP** - IBSP 6266, 7 fêmeas, 9 machos, *E. aesculapii*, 22.IX.1978. **Itapecerica da Serra, SP** - IBSP 12044, 1 fêmea, *P. patagoniensis*, 12.XI.2013. **Morro Agudo, SP** - IBSP 6468, 5 fêmeas, 2 machos, *E. aesculapii*, 7.XII.1981. **Presidente Wenceslau, SP** - IBSP 5981, 5 fêmeas, 2 machos, *Lemiadophis poecilogyrus*, 14.IV.1976. **Rancharia, SP** - IBSP 6222, 7 fêmeas, 2 machos, *E. aesculapii*, 22.V.1978. **São Carlos, SP** - IBSP 6480, 1 macho, *X. merremi*, 7.XII.1981. **São Paulo, SP** - IBSP 12043, 1 fêmea, *T. dorsatus*, 13.XI.2013.

***Ophioptes* sp. n. (descrita mais adiante)**

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Campo Limpo Paulista, SP - IBSP 12078, 1 fêmea holótipo, *C. durissus terrificus*, 6.I.2014*; IBSP 12079, 2 machos, 2 deutoninfas parátipos, *C. durissus terrificus*, 6.I.2014*, **.

Família Trombiculidae

***Eutrombicula alfreddugesi* (Oudemans, 1910)**

Região Centro-Oeste: Estado do Mato Grosso - IBSP 11666, 2 larvas, *Ameivula* sp., 24.III.2013; IBSP 11667, 4 larvas, *Tropidurus oreadicus*, 24.III.2013; IBSP 11668, 2 larvas, *Micrablepharus atticolus*, 24.III.2013; IBSP 11669, 1 larva, *Kentropyx paulensis*, 28. III.

2013; IBSP 11678, 1 larva, *Norops meridionalis*, 28.III.2013; IBSP 11682, 4 larvas, *M. atticolu*, 2.III.2013; IBSP 11684, 2 larvas, *M. atticolus*, 1.IV.2013; IBSP 11687, 5 larvas, *Micrablepharus atticolus*, 31.III.2013.

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Sete Barras, SP - IBSP 12067, 1 larva, *P. glabellum*, 12.XII.2013*; IBSP 12072, 2 larvas, *R. icterica*. 14.XII.2013*, **.

***Eutrombicula butantanensis* (Fonseca, 1932)**

Região Sudeste: Estado de São Paulo – São Paulo, SP (Bairro do Butantã) - IBSP 28, 1 larva holótipo – (sin. *T. butantanensis*), *Homo sapiens*, 17.II.1932; IBSP 83 e IBSP 84, 3 larvas de *O. merremi* (*X. merremi*), 26.III.1932.

***Eutrombicula ophidica* (Fonseca, 1932)**

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Promissão, SP - IBSP 29, 1 larva holótipo – (sin. *T. ophidica*), *Xenodon merremi*, 18.V.1932; IBSP 88, 2 larvas, *X. merremi*, 19.V.1932. **São Paulo, SP** - IBSP 86, 3 larvas de *X. merremi*, 3.IV.1932; IBSP 87, 3 larvas de *X. merremi*, 3.IV.1932.

***Foncesia ewingi* (Fonseca, 1932)**

Região Centro-Oeste: Estado do Mato Grosso - Correntes, MT - IBSP 27, 1 larva holótipo – (sin. *T. ewingi*), *X. merremi*, 13.IV.1932. **Estado do Mato Grosso** - IBSP 392, 3 Larvas, *Xenodon merremi*, 30.IV.1932.

Região Sudeste: Estado de São Paulo - Birigui, SP - IBSP 378, 3 larvas, *X. merremi*, 19.V.1932. **Penápolis, SP** - IBSP 335, 1 larva, *X. merremi*, 13.IV.1932. **Promissão, SP** - IBSP 331, 3 larvas, *E. aesculapii*, 30.VIII.1933; IBSP 4683, 3 larvas, *X. merremi*, 19.V.1932. **São Paulo, SP** - IBSP 329, 3 larvas parátipos, *X. merremi*, 03.VI.1932. **Sete Barras, SP** - IBSP 12071, 2 larvas, *R. ornata*, 12.XII.2013*, **.

***Fonsecia travassosi* (Fonseca, 1936)**

Região Sudeste: Estado do Rio de Janeiro - Angra dos Reis, RJ - IBSP 30, 1 larva holótipo – (sin. *T. travassosi*), *S. pullatus*, 13.II.1932.

Família Leeuwenhoekiidae

***Hannemania hepatica* Fonseca, 1935**

Região Sudeste: Estado de São Paulo – São Paulo, SP (Bairro Butantã) - IBSP 31, 1 larva holótipo, *L. latrans*, 28.X.1933. **Sete Barras, SP** - IBSP 12050, 1 larva, *P. spiniger*, 12.XII.2013*; IBSP 12051, 1 larva, *P. spiniger*, 12.XII.2013*; IBSP 12058, 2 larvas, *P. spiniger*, 13.XII.2013*; IBSP 12059, 1 larva, *P. spiniger* 13.XII.2013*; IBSP 12060, 1 larva, *P. spiniger*, 14.XII.2013*; IBSP 12060, 2 larvas, *P. spiniger*, 16.XII.2013*; IBSP 12061, 1 larva, *P. spiniger*, XII.2013*; IBSP 12062, 1 larva, *P. spiniger*, 12.XII.2013*; IBSP 12063, 1 larva, *P. spiniger*; 16.XII.2013*; IBSP 12066, 1 larva, *P. spiniger*; *, IBSP 12064, 1 larva, *P. spiniger*, 16.XII.2013*; IBSP 12069, 2 larvas, *P. spiniger*, 17.XII.2013*; IBSP 12073, 1 larva, *P. spiniger*, 19.XII.2013*; IBSP 12074, 1 larva, *P. spiniger*, 17.XII.2013*, **; IBSP 12075, 1 larva, *P. spiniger*, 19.XII.2013*; IBSP 12076, 1 larva, *P. spiniger*, 19.XII.2013.

***Hannemania minor* Alzuet & Mauri, 1985**

Região Sudeste: Estado de São Paulo – Sete Barras, SP - IBSP 12065, 2 larvas, *L. latrans*, 14.XII.2013*.

***Hannemania yungicola* Wohltmann & Köhler, 2006**

Região Sudeste: Estado de São Paulo – São Jose do Barreiro, SP - IBSP 12049, 6 larvas, *F. fissilis*, 1.XII.2013*, **.

4.4 DETALHAMENTO MORFOLÓGICO

4.4.1 *Geckobia hemidactyli* Lawrence, 1936, pág. 14 (Pterygosomatidae)

G. hemidactyli Lawrence, 1936; Jack, 1961

Tipo: Dados do holótipo (perdido) - hospedeiro *Hemidactylus tasmani* Hewitt 1932, Driefontein, Rhodesia (Zimbawe na atualidade). O tipo parece ter sido depositado

primeiramente no Museu Iziko, Cape Town, África do Sul (tipo procurado, mas não encontrado).

Diagnose. Fêmea com idiosoma hipertrico (= muitas cerdas) (Figura 16), escudo prodorsal presente com cutícula pouco estriada, 15 – 17 pares de cerdas curtas e periepectinadas (em forma de vassoura) no escudo, 1 par de olhos nas margens antero-laterais do escudo prodorsal (Figura 17- 4). Quetotaxia dos trocânteres e tíbias das pernas I-IV correspondendo ao grupo 1 ou grupo *haplodactyli* (*G. haplodactyli* Womersley, 1941): 1-1-1-1, 3-2-2-2, 1(k)-0-0-1, 55-5-5; quetotaxia tarsal das pernas I-IV correspondendo ao grupo A: 14(ω)-10(ω)-10-10; quetotaxia das coxas I-IV: 2-2-2-3. Presença de uma cerda (v') (Figura 17- 1) no genu da perna IV. Presença de estigma respiratório exposto entre o gnatossoma e a coxa 1 (Figura 17 – 2, 3).

Figura 16 – Imagem de microscopia eletrônica de varredura de *G. hemidactyli*, fêmea, vista frontal

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Idiossoma hipertrico. Barra de escala 200µm

Figura 17 – Imagens de microscopia eletrônica de varredura de fêmea *G. hemidactyli*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Vista ventral: Genu da perna IV com presença cerda v'. B. Estigmas respiratórios expostos entre gnatossoma e coxa I. C. Gnatossoma vista frontal. D. Cerdas curtas e periplectinadas no escudo e 1 par de olhos nos margens anterolaterais do escudo prodorsal. Barra de escala: 1, 100µm; 2, 50µm; 3, 40µm; 4, 50µm.

4.4.2 *Ophioptes brevipilis* Lizaso, 1981, pág 380 (Harpirhynchidae)

Tipo - Holótipo fêmea, *Chironius flavolineatus* Jan, 1863, Goiânia, GO. Parátipos 10 fêmeas e 8 machos, *Liophis poecilogyrus* Wied, 1824 e *Mastigodryas bifossatus* Raddi, 1820, Tupã, SP.

4.4.2.1 Redescrição de *O. brevipilis* (IBSP 6327)

Diagnose. Macho e fêmea pequenos em comparação com outras espécies americanas; fêmea maior que o macho, cerda D1 do genu das pernas I e II ausente e cerda ventral do genu da perna I com formato de espinho. Fêmea com um par de cerdas genitais dentro da placa genital. Macho com ausência das cerdas dorsais posteriores (Figura 21 – A). Esta espécie pertence ao grupo “*parkeri*” (figura 33-C) por apresentar cerda lisa ventral (V) no fêmur III. Medidas nos Apêncides A e B

Fêmea (holótipo e 6 parátipos). Lld 258.20 ± 33.10 (238.00 -235.00) [258.20]; Wld 278.16 ± 14.00 (270.00 – 291.00) [278.16]; LG 99.30 ± 1.33 (97.98 - 100.63) [99.30]; WG 96.40 ± 2.56 (93.84 - 98.96) [96.40], L 315.00 ± 8.45 (312.30 - 325.54) [312.50] (Figuras 18 -19).

Gnatossoma. Tarso do palpo - um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 10.96 ± 0.04 (10.90 – 11.00) [10.61], um par de cerdas tarsais anteriores, comprimento 15.48 ± 0.34 (15.00 -16.00) [16.00], um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 9.56 ± 0.32 (9.00 – 10.00) [9.96]; tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 10.70 ± 0.40 (10.00 -11.00) [10.96], um par de cerdas dorsais, comprimento 16.70 ± 0.29 (16.26 – 17.00) [16.36]; base do gnatossoma - um par de cerdas látero-basais, comprimento 6.70 ± 0.40 (6.00 – 7.00) [7.00], um par de cerdas ventro-basais, comprimento 9.40 ± 0.32 (9.00 – 9.70) [9.058] (Figura 19-1) (Figura 20-B).

Idiossoma. Ventral – um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 9.62 ± 0.56 (9.10 – 10.50) [9.10]; 2 pares de cerdas natualae, comprimento, 14.06 ± 1.70 (14.00 – 15.00) [14.78]; cerdas genitais - 4 pares de cerdas, comprimento 17.80 ± 0.62 (17.00– 19.00) [18.60]; placa genital, largura 50.00 ± 3.00 (47.00 – 53.00) [47.00], comprimento 49.00 ± 4.30 (44.86 - 53.32) [53.00] (figura 19-C); cerdas coxais - 3 pares (1-1-1-0), comprimento

8.54 ± 0.62 (8.00 – 9.00) [8.76], cerdas da coxa IV ausentes (Figura 18 e Figura 20-A). Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 12.44 ± 0.32 (12.00 – 13.00) [12.34]; 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 22.8 ± 4.11 (18.00 – 29.00) [24.38]; 4 pares de cerdas dorsais posteriores distribuídas irregularmente, comprimento 8.12 ± 1.37 (6.00 – 10.00) [7.30] (Figura 21-B).

Pernas. Tíbia (3-3-2-2); genu (2-2-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0) (figura 19-2) (figura 20-C). **Perna I, tarso I** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 61.60 ± 0.39 (61.00 – 62.00) [61.00]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 18.00 – 22.00 [20.00]; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 19.00 -20.00 [19.00]; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 42.52 ± 0.44 (42.00 – 43.00) [43.00]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 14.90 ± 0.64 (14.00 – 16.00) [14.00]; **tíbia I** - espinho (A1), comprimento 21.22 ± 0.71 (20.00 – 22.00) [21.00]; cerda lisa (A2), comprimento 17.08 ± 0.66 (16.00 – 18.00) [17.00]; cerda lisa longa dorsal em forma de chicote (D), comprimento 74.20 ± 1.16 (73.00 – 76.00) [73.89]; **genu I** – cerdas dorsais (D1 – D2) D1 ausente, comprimento D2 167 ± 0.63 (166.00- 168.00) [168.00]; cerda ventral (V), comprimento 145.80 ± 0.74 (145.00 – 147.00) [145.78]; **fêmur I** - cerda dorsal barbada (D), comprimento 68 ± 0.89 (67.00 – 69.00) [69.00]; cerda ventral lisa (V), comprimento 41.32 ± 0.18 (41.00 – 41.56) [41.34]; **trocânter I**– cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 12.56 ± 0.46 (12.00 -13.00) [12.00]. **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 61.776 ± 0.38 (61.00 – 62.00) [61.00]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 17.00 – 27.00 [22.00]; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 17.00 – 39.00 [38.00]; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 54.82 ± 0.49 (54.00 - 55.00) [55.00]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 16.63 ± 0.41 (16.00 - 17.00) [17.00]; **tíbia II** - espinho (A1), comprimento 16.58 ± 0.37 (16.00 – 17.00) [17.00]; cerda lisa (A2), comprimento 13.66 ± 0.39 (13.00 – 14.00) [13.01]; cerda lisa longa dorsal em forma de chicote (D), comprimento 73.4 ± 0.42 (73.00 – 74.00) [73.65]; **genu II** - cerdas dorsais (D1 – D2) D1 ausente, D2 comprimento 145.25 ± 0.43 (145.00 – 146.00) [145.77]; cerda ventral (V), comprimento 15.50 ± 0.50 (15.00 – 16.00) [15.45]; **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 62.92 ± 0.71 (62 – 64) [62.33]; **trocânter II** – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 19.17 ± 0.76 (18.00 – 20.00) [18.66]. **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 101.93 ± 0.721 (101.00 – 103.00) [103.00]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 23.00 – 28.00 [24.98]; cerda lateral (P1), comprimento 15.25 ± 0.43 (15.00 – 16.00) [15.67]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 15.41 ± 0.43

(15.00 -16.00) [15.22]; **tíbia III** - espinho (A1), comprimento 18.67 ± 0.40 (18.00 – 19.00) [19.00]; cerda dorsal longa e lisa em forma de chicote (D), comprimento 93.71 ± 0.41 (93.00 – 94.00) [93.54]; **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento $79.88 \pm 0,75$ (79.00 – 80,98); **trocânter III** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 25.52 ± 0.30 (25.10 – 25.90) [25.44]; cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 63.61 ± 0.33 (63.00 – 64.00) [63.78]. **Perna IV, tarso IV** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 111.25 ± 0.43 (111.00 – 112.00) [111.98]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 26.00 - 45.00 [36.87]; cerda lateral (P1), comprimento 62.66 ± 1.34 (60.00 - 64.00) [62.11]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 18.25 ± 0.42 (18.00 – 19.00) [18.43]; **tíbia IV** - espinho (A1), comprimento 22.45 ± 0.26 (22.00 – 22.70) [22.67]; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 136.84 ± 0.56 (136.00 – 137.00) [137.00]; **trocânter IV** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 23.37 ± 0.92 (22.50 – 24.00) [22.89]; cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 54.46 ± 0.30 (54.00 – 54.76) [54.00].

Macho (Parátipos =6 IBSP 6202, IBSP 6299). Lld 246.00 ± 6.80 9239.20 – 252.80); Wld 243.00 ± 5.00 (238.00 – 248.00); LG 90.50 ± 13.60 (16.90 – 104.10); WG 97.00 ± 6.21 (90.79 – 103.21), L 304.00 ± 18.70 (285.30 – 322.78) (Figura 21).

Gnatossoma. Tarso do palpo - um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 11.57 ± 0.36 (11.00- 12.00); um par de cerdas tarsais anteriores, comprimento 22.12 ± 0.21 (22.00 – 22.50); um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 16.50 ± 0.50 (16.00 – 17.00); tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 13.58 ± 0.30 (13.30 – 14.00); um par de cerdas dorsais, comprimento 18.82 ± 0.17 (18.60 – 19.00); base do gnatossoma – um par de cerdas látero-basais, comprimento 15.27 ± 0.27 (15.00 – 15.50); um par de cerdas ventro-basais, comprimento 11.57 ± 0.37 (11.00 – 12.00).

Idiossoma. Ventral - um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 17.61 ± 0.26 (17.30 -18.00); 2 pares de natualae, comprimento 14.62 ± 0.33 (14.20 – 15.00); 3 pares de cerdas coxais (1-1-1-0), comprimento 8.50 ± 0.43 (8.00 – 9.00), coxa IV não possui cerda. Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 13.89 ± 0.64 (13.00 – 15.00); 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 23.44 ± 2.94 (18.44 – 27.80); 4 pares de cerdas genitais, curtas lisas, ao redor do orifício genital, comprimento 7.90 ± 1.24 (6.60 – 10.00); cerdas dorsais posteriores ausentes.

Pernas. Tíbia (3-3-2-2); genu (3-3-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0).

Perna I, tarso I - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento $50.65 \pm$ (50.00 –

51.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 18.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 7.00 – 23.00, cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 38.60 ± 0.30 (38.00 – 38.90); cerda ventral lisa (V1), comprimento 9.70 ± 0.42 (9.00 – 10.00); **tíbia I** - espinho (A1), comprimento 15.57 ± 0.36 (15.00 – 16.00); cerda lisa (A2), comprimento 11.40 ± 0.42 (11 – 12); cerda dorsal lisa e longa, em forma de chicote (D), comprimento 34.67 ± 0.40 (34.00 – 35.00); **genu I** - cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 12.00 – 88.00; cerda ventral (V), comprimento 13.67 ± 0.39 (13.00 – 14.00); **fêmur I** - cerda dorsal barbada (D), comprimento $43.65 \pm (4.00 - 44.00)$, cerda ventral lisa (V), comprimento 17.50 ± 1.11 (16.00 – 19.00); **trocânter I** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento $11.40 \pm (11.00 - 12.00)$. **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 66.46 ± 0.45 (66.00 – 67.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 15.00 – 18.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 17.00 – 42.00, cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 35.70 ± 0.41 (35.00 – 36.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 15.67 ± 0.39 (15.00 – 0.39); **tíbia II** - espinho (A1), comprimento 12.97 ± 0.70 (12.00 – 14.00); cerda lisa (A2), comprimento 14.75 ± 0.43 (14.00 – 15.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 34.72 ± 0.42 (34.00 – 35.00); **genu II** - cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 10.00 – 140.00; cerda ventral (V), comprimento $15.76 \pm (15.00 - 16.00)$; **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 11.42 ± 0.36 (11.00 12.00); trocânter – cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 15.70 ± 0.40 (15.00 – 16.00). **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 51.75 ± 0.82 (51.00 – 52.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 29.00; cerda lateral (P1), comprimento 38 ± 0.70 (37.00 – 39.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 10.66 ± 0.48 (10.00 – 11.00); **tíbia III** - espinho (A1), comprimento 12.35 ± 0.39 (12.00 – 13.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 34.60 ± 0.37 (34.00 – 37.00); **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento 34.85 ± 0.16 (34.60 – 35.00); **trocânter III** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 15.62 ± 0.37 (15.00 – 16.00); cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 48.42 ± 0.43 (48.00 – 49.00). **Perna IV, tarso IV** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 67.75 ± 0.82 (67.00 – 69.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 19.00 – 20.00; cerda lateral (P1), comprimento 67.50 ± 1.11 (66.00 – 69.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 11.07 ± 0.71 (10.00 - 12.00); **tíbia IV** - espinho (A1), comprimento 19.95 ± 0.71 (19.00 – 21.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 79.75 ± 0.42 (79 – 80); **trocânter IV** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 17.16 ± 1.46 (16.00 -20.00); cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 40 ± 2.58 (37.00 – 45.00).

Figura 18 – Fêmea de *O. brevipilis*, vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura, em destaque as cerdas natualae

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μ m

Figura 19 – Fêmea de *O. brevipilis*, vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. cerdas do gnatossoma; B. perna I; C. placa genital. Abreviações: l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tp: cerda tarsal posterior; v-b: cerda ventro-basal; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, 50 μ m; B, 50 μ m; C, 40 μ m.

Figura 20 – Desenhos com detalhes morfológicos de *O. brevipilis*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Vista ventral: Fêmea com detalhamento das cerdas do idiossoma; B. gnatossoma vista ventral com detalhamento das cerdas; C. Detalhamento das cerdas da perna I. Abreviações: af: cerda apical folheada; c: garra do palpo; ch: quelíceras; e: cerda escapular; Na: natualae; g: cerdas genitais; pg: placa genital; l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tid: cerda tíbia dorsal; tiv: cerda tíbia ventral; v-b: cerda ventro-basal I; t: espículos do órgão nidificador; tp: cerda tarsal posterior. Barra de escala: A, 100 µm; B, 40 µm; C, 50 µm.

Figura 21 – Desenhos com detalhes morfológicos de *O. brevipilis*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Vista dorsal: Macho com detalhamento das cerdas do idiossoma; B. vista dorsal: fêmea detalhamento das cerdas do idiossoma; Abreviações: d-a: cerdas dorsais anteriores; d-p: cerdas dorsais posteriores; es: cerdas escapulares; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, B, 100 μ m.

4.4.3 *Ophiotes longipilis* Lizaso, 1981, Pág 378 (Harpirhynchidae)

Tipo - Holótipo fêmea, *Oxyrohpus trigeminus* Duméril, Bibron e Duméril, 1854, Itú, SP. Parátipos 5 fêmeas e 7 machos, *Oxyrohpus trigeminus* Duméril, Bibron e Duméril, 1854, Itú, SP.

4.4.3.1 Redescrição de *Ophiotes longipilis* (IBSP 6070, Holótipo)

Diagnose. Macho e fêmea de tamanho médio em comparação com outras espécies americanas, como *O. tropicalis* e *O. parkeri*. Fêmea maior que macho, com D1 do genu da perna II e P1 do tarso da perna II ausentes. Macho com D1 do genu da perna I ausente. Cerda látero-basal piliforme e longa. Em geral as cerdas das pernas, corpo e gnatossoma são de comprimento maior do que o *O. brevipilis* e *O. parkeri*. A placa genital da fêmea é pequena e de aspecto regular, sem cerdas. Espécie pertencente ao grupo “*parkeri*” por ter presença de cerda lisa ventral (V) no fêmur III (Figura 33-D). Medidas nos Apêncides A e B.

Fêmea. (Medida do Holótipo e Parátipos). Lld 225.30 ± 13.10 (212.20 – 238.40) [236.69]; Wld 326.00 ± 23.00 (303.00 – 349.00) [329.18]; LG 135.00 ± 3.40 (131.60 – 138.40) [134.04]; WG 105.00 ± 5.60 (99.40 – 110.60) [107.66]; L 360.00 ± 5.00 (355.00 - 365.00) [349.00] (Figuras 22-23).

Idiossoma. Ventral – um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 18.25 ± 1.47 (16.00 – 20.00) [16.60]; dois pares de cerdas natualae, comprimento 13.42 ± 0.43 (13.00 – 14.00) [13.44]; 4 pares de cerdas genitais, comprimento 13.45 ± 1.14 (12.00 – 15.00) [13.38]; placa genital, largura 38.00 ± 8.00 (30.00 – 46.00) [46.00], comprimento 30.00 ± 3.00 (27.00 -33.00) [32.00](figura 31-C); 3 pares de cerdas coxais (1-1-1-0), comprimento 17 ± 1.87 (15.00 – 20.00) [12.98], coxa IV não possui cerda (Figura 24-A). Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 18.47 ± 0.47 (18.00 – 19.00) [18.61]; 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 27.33 ± 3.09 (22.00 – 31.00) [26.30]; 4 pares de cerdas dorsais posteriores, comprimento 10.25 ± 0.82 (9.00 -11.00) [9.33] (Figura 25-B).

Gnatossoma. Tarso do palpo - um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 14.70 ± 0.41 (14.00 -15.00) [14.21]; cerdas tarsais anteriores, comprimento 18.70 ± 0.39 (18.00 – 19.00) [18.57]; um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 8.43 ± 0.38 (8.00 – 9.00) [8.20]; tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 13.57 ± 0.37 (13.00 -14.00) [14.21]; um par de cerdas dorsais, comprimento 18.75 ± 0.43 (18.00 – 19.00) [18.90]; base do gnatossoma – um par de cerdas látero-basais, comprimento 17.26 ± 0.73 (16.80 – 18.00) [16.89]; um par de cerdas ventro-basais, comprimento 13.13 ± 0.66 (12.23 – 14.00) [12.23] (Figura 23-A e Figura 24-B).

Pernas. Tíbia (3-3-2-2); genu (3-2-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0).

Perna I, tarso I - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 68.53 ± 0.42 (68.00 – 69.00) [68.87]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 15.00 – 18.00 [18.00]; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 20.00 – 31.00 [23.56]; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 33.55 ± 0.31 (33.00 – 34.00) [33.78]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 15.81 ± 0.70 (15.00 – 17.00) [15.45]; **tíbia I** - espinho (A1), comprimento 18.60 ± 0.30 (18.00 – 19.00) [18.23]; cerda lisa (A2), comprimento 18.70 ± 0.41 (18.00 – 19.00) [19.00]; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 60.28 ± 0.30 (60.00 – 61.00) [60.67]; genu – cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 32.00 – 116.00 [78.90]; cerda ventral (V), comprimento 14.56 ± 0.41 (14.00 – 15.00) [14.87]; fêmur - cerda dorsal barbeada (D), comprimento 73.33 ± 0.83 (72.00 – 74.00) [72.13]; cerda ventral lisa (V), comprimento 26.57 ± 0.44 (26.00 – 27.00) [27.00]; trocânter – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 116.60 ± 0.46 (16.00 – 17.00) [16.45] (figura 23-C). **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 66.50 ± 0.5 (66.00 – 67.00) [66.67], cerdas mediais (DF1 – DF2) 16.00 – 20.00 [17.88]; cerdas laterais (P1 – P2), P2 comprimento 34.60 ± 0.80 (34.00 – 36.00) [34.67], P1 ausente; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 57.64 ± 0.34 (57.00 – 58.00) [58.00]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 12.32 ± 0.32 (12.00 – 13.00) [12.01]; **tíbia II** - espinho (A1), comprimento 24.48 ± 0.40 (24.00 – 25.00) [24.34]; cerda lisa (A2), comprimento 15.78 ± 0.36 (15.00 – 16.00) [15.77]; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 60.78 ± 0.39 (60.00 – 61.00) [60.89]; **genu II** – cerdas dorsais (D1 – D2) D2, comprimento 173.20 ± 1.93 (170.00 - 175.00) [170.32], D1 ausente; cerda ventral (V), comprimento 13.60 ± 0.37 (13.00 – 14.00) [13.55]; **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 40.40 ± 0.45 (40.00 – 41.00) [40.32]; **trocânter II** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 24.68 ± 0.36 (24.00 – 25.00) [24.70]. **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento $88.62 \pm$

0.78 (88.00 – 90.00) [88.88]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 22.00 – 26.00 [25.76]; cerda lateral (P1), comprimento 72.60 ± 0.47 (72.00 – 73.00) [72.12]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 25.32 ± 0.41 (25.00 – 26.00) [25.44]; **tíbia III** - espinho (A1), comprimento 29.56 ± 0.46 (29.00 – 30.00) [30.00]; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 89.60 ± 0.80 (89.00 – 90.00) [89.56]; **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento 66.80 ± 0.74 (66.00 – 80.00) [78.94]; **trocânter III** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 16.70 ± 0.35 (16.00 – 17.00) [16.00]; cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 57.78 ± 0.39 (57.00 – 58.00) [57.43]. **Perna IV, tarso IV** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 112.88 ± 0.67 (112.00 – 114.00) [112.89]; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 22.00 [18.11]; cerda lateral (P1), comprimento 98.18 ± 0.57 (97.00 – 99.00) [97.23]; cerda ventral lisa (V1), comprimento 16.40 ± 0.48 (16.00 – 17.00) [16.11]; **tíbia IV** - espinho (A1), comprimento 34.80 ± 0.74 (34.00 – 35.00) [35.00]; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 97.80 ± 0.74 (97.00 – 99.00) [97.34]; **trocânter IV** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 16.48 ± 0.27 (16.00 – 16.80) [16.34]; cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 57.60 ± 0.80 (57.00 – 59.00) [57.67] (Figura 23-C).

Macho (Parátipo =7 IBSP 6111; IBSP 6267). Lld 286.00 ± 2.08 (283.92 – 288.08); Wld 329.00 ± 12.00 (317.00 – 341.00); LG 108.00 ± 3.30 (104.70 – 111.30); WG 111.20 ± 5.60 (11.60 – 122.80), L 334.00 ± 8.60 (325.40 – 342.60) (Figura 25- A)

Gnatossoma. Tarso do palpo - um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 9.90 ± 0.08 (9.80 – 10.00); um par de cerdas tarsais anteriores, comprimento 18.60 ± 0.48 (18.00 – 19.00); um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 14.60 ± 0.80 (14.00 – 16.00); tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 10.20 ± 0.60 (9.49 – 11.00); um par de cerdas dorsais, comprimento 14.96 (14.00 – 15.00); base do gnatossoma - um par de cerdas látero-basais, comprimento 13.20 ± 0.97 (12.00 – 14.00); um par de cerdas ventro-basais, comprimento 11.40 ± 0.48 (11.00 – 12.00).

Idiossoma. Ventral - um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 17.77 ± 0.22 (17.30 -18.00); um par de cerdas natualae, comprimento 14.78 ± 0.31 (14.20 – 15.00); 3 pares de cerdas coxais (1-1-1-0), comprimento 14.40 ± 2.05 (12.00 – 17.00), coxa IV não possui cerda. Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 18.82 ± 0.22 (18.50-19.00); 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 32.075 ± 09.3 (18.60 – 41.00); 4 pares de cerdas genitais curtas e lisas ao redor do orifício genital, comprimento 15.26 ± 0.61 (14.60 -

16.00); 2 pares de cerdas dorsais posteriores distribuídas no terço posterior após as pernas IV, comprimento 14.44 ± 0.68 (13.50 – 15.00).

Pernas. Tíbia (3-3-2-2); genu (2-3-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0).

Perna I, tarso I - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 68.56 ± 0.43 (68.00 – 69.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 15.00 – 17.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 13.00 -48.00; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 45.80 ± 0.74 (45.00 – 47.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 10.16 ± 0.76 (9.00 -11.00); **tíbia I**- espinho (A1), comprimento 16 ± 0.89 (15.00 -17.00); cerda lisa (A2); comprimento 12.66 ± 0.36 (12.00 -13.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D); comprimento 55 ± 0.89 (54.00 – 56.00); **genu I** – cerdas dorsais (D1 – D2) D2, comprimento 118.16 ± 0.76 (117.00 -119.00), D1 ausente; cerda ventral (V), comprimento $14.60 \pm 0,48$ (14.00 – 15.00); **fêmur I** - cerda dorsal barbeada (D), comprimento 54.40 ± 0.80 (53.00 – 55.00), cerda ventral lisa (V), comprimento 147.80 ± 0.97 (146.00 – 149.00); **trocânter I** – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 18.20 ± 0.40 (18.00 – 19.00). **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 85.40 ± 3.78 (81.00 -90.00), cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 22.00 – 25.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 19.00 – 36.00; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 15.60 ± 1.35 (14.00 – 17.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 9.63 ± 0.45 (9.00 – 10.00); **tíbia II**- espinho (A1), comprimento 20 ± 0.81 (19.00 – 21.00); cerda lisa (A2), comprimento 13.60 ± 0.44 (13.00 – 14.00); cerda lisa longa dorsal em forma de chicote (D), comprimento 51.60 ± 0.48 (51.00 – 52.00); **genu II** – cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 13.00 - 146.00; cerda ventral (V), comprimento 14.60 ± 0.80 (14.00 – 16.00); **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 29.40 ± 0.87 (28.00 – 30.00); **trocânter II** – cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 19.56 ± 0.46 (19.00 – 20.00). **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 116.40 ± 0.48 (116.00 – 117.00); cerdas mediais (DF1 – DF2); comprimento 18.00 – 20.00; cerda lateral (P1), comprimento 87 ± 1.26 (86.00 – 89.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 13.60 ± 0.48 (13.00 – 14.00); **tíbia III**- espinho (A1), comprimento 23.60 ± 0.48 (23.00 – 24.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 95.60 ± 4.64 (90.00 – 100.00); **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento 45.60 ± 0.58 (45.00 – 46.00); **trocânter III** – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 15.10 ± 0.78 (14.00 – 16.00), cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 60.02 ± 0.40 (60.00 – 61.00). **Perna IV, tarso IV**- cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 119.24 ± 0.38 (119.00 - 120.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 11.00- 13.00, cerda lateral (P1),

comprimento 71.60 ± 0.48 (71.00- 72.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 23.40 ± 0.80 (23.00- 25.00); **tíbia IV**- espinho (A1), comprimento 29.30 ± 0.42 (29.00 – 30.00), cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 116.60 ± 0.80 (115.00 -117.00); **trocânter** – cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 23.80 ± 0.97 (23.00 -25.00), cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 57 ± 1.89 (55.00 – 60.00).

Figura 22 – Fêmea de *O. longipilis*, vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas natualae

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100µm

Figura 23 – Fêmea *O. longipilis*, vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. cerdas do Gnatossoma; B. perna I; C. placa genital. Abreviações: l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tp: cerda tarsal posterior; v-b: cerda ventro-basal; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, 50 μ m; B, 50 μ m; C, 30 μ m.

Figura 24 – Desenhos com detalhes morfológicos de *Ophioptes longipilis*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Vista dorsal: Fêmea com detalhamento das cerdas do idiossoma; B. gnathosoma vista ventral com detalhamento das cerdas; C. Detalhamento das cerdas da perna I. Abreviações: af: cerda apical folheada; c: garra do palpo; ch: quelíceras; e: cerda escapular; Na: natualae; g: cerda genital; pg: placa genital; l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tid: cerda tíbia dorsal; tiv: cerda tíbia ventral; v-b: cerda ventro-basal I; t: espículas do órgão nidificador; tp: cerda tarsal posterior. Barra de escala: A, 100 µm; B, 40 µm; C, 50 µm.

Figura 25 – Desenhos com detalhes morfológicos de *Ophioptes longipilis*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Vista dorsal: Macho com detalhamento das cerdas do idiossoma; B. vista dorsal: fêmea detalhamento das cerdas do idiossoma; Abreviações: d-a: cerdas dorsais anteriores; d-p: cerdas dorsais posteriores; es: cerdas escapulares; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, B 100 μ m.

4.4.4 Descrição de *Ophiotes faini* sp. n. (Harpirhynchidae)¹

Tipo - Holótipo fêmea, *Crotalus durissus terrificus* (IBSP 85008, fêmea) Laurenti 1768, Campo Limpo Paulista, SP, 6.I.2014 Parátipos 2 machos, 2 deutoninfas, *Crotalus durissus terrificus* Laurenti, (1768), Campo Limpo Paulista, SP 6.I.2014.

Diagnose: Macho e fêmea com cerda lisa (A2) da tíbia da perna II ausente; cerda lisa (A2) da tíbia da perna I ausente em macho; a maioria das cerdas é longa, em comparação com outras espécies, principalmente as cerdas dorsais anteriores do idiossoma e as cerdas ventro-basais do gnatossoma (as últimas são 2 – 3 vezes maiores que as de outras espécies). Fêmea de tamanho maior que o macho e também é maior que as outras fêmeas das espécies neotropicais; órgão nidificador apresenta 3 pares de espículas. A espécie pertence ao grupo “*parkeri*” (figura 33-A) por ter presença de cerda lisa ventral (V) no fêmur III em ambos os sexos. Medidas nos Apêncides A e B.

Nome em honor ao pesquisador Dr. Prof. Alex Fain, que contribuiu enormemente com o conhecimento de ácaros de reptéis.

Fêmea (Holótipo IBSP 12078). Lld 355.70; Wld 438.80; LG 123.34; WG 122.57; L 370.00 (Figuras 26–29).

Gnatossoma. Tarso do palpo – um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 22.00 – 22.30; um par de cerdas tarsais anteriores, comprimento 27.00 – 27.60; um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 16.00 – 17.00. Tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 18.00 – 18.30; um par de cerdas dorsais, comprimento, 17.00 – 17.55. Base do gnatossoma – um par de cerdas látero-basais, comprimento 13.00- 14.00; um par de cerdas ventro-basais (3 vezes o tamanho da cerda látero-basal), comprimento 39.00 - 40.00 (Figura 26- A, B, C e Figura 28- B).

Idiossoma. Ventral - um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 16.00 – 16.50; dois pares de cerdas natualae, comprimento 16.32 ± 0.08 (16.20 – 16.50); 4 pares de cerdas genitais, comprimento 22.71 ± 0.31 (22.00 – 23.00); placa genital, largura 63.20,

¹ MENDOZA-ROLDAN, J.A; BARROS-BATTESTI. D.M. *Ophiotes faini* sp.n.: A new species of pitmite (Harpirhynchidae: Trombidiformes) from the South American rattlesnake (Viperidae) (manuscrito em preparação).

comprimento 33.60 (Figura 27- E); 3 pares de cerdas coxais (1-1-1-0), comprimento 19.45 ± 0.25 (19 – 19.8) (Figura 28- A). Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 11.00 – 11.40; 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 46.92 ± 2.54 (43.00 – 50.00) (todas as cerdas são longas em comparação com outras espécies); 4 pares de cerdas dorsais posteriores, comprimento 12.47 ± 0.35 (12.00 – 13.00) (Figura 29- B).

Pernas. Tíbia (3-2-2-2); genu (3-3-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0).

Perna I, tarso II - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 93.00; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 24.00 – 25.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 15.00 – 38.00, cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 52.00; cerda ventral lisa (V1), comprimento 20.00; tíbia - espinho (A1), comprimento 20.00; cerda lisa (A2), comprimento 21.70; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), 97.50; **genu I** - cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 22.00 – 175.00; cerda ventral (V), comprimento 15.30; **fêmur I** - cerda dorsal barbada (D), comprimento 72.20, cerda ventral lisa (V), comprimento 69.70; **trocânter I** – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 33.70. **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 98.50; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 19.00 – 25; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 27.00 – 39.00; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 38.00; cerda ventral lisa (V1), comprimento 22.00; **tíbia II**- espinho (A1), comprimento 22.40; cerda lisa (A2) ausente; cerda dorsal lisa E longa em forma de chicote (D), comprimento 90.00; **genu II** – cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 40.00 – 120.00; cerda ventral (V), comprimento 18.60; **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 86.60; **trocânter II** – cerda ventral pequena e lisa (V) 27.00; **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 92.00; cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 19.00 – 25.00; cerda lateral (P1), comprimento 43.00; cerda ventral lisa (V1), comprimento 42.00; **tíbia III** - espinho (A1), comprimento 20.00, cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 247.00; **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento 96.00; **trocânter III** - cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 22.60; cerda dorsal longa e barbeada (D) comprimento 82.00. **Perna IV, tarso IV** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 94.00, cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 30.00 – 32.00; cerda lateral (P1), comprimento 110.00; cerda ventral lisa (V1), comprimento 39.00; **tíbia IV** - espinho (A1), comprimento, comprimento 32.00; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 193.00; **trocânter IV** – cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 29.00; cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 83.00 (Figura 26-D e Figura 28-C).

Macho (Parátipo = 2, IBSP 12079). Lld 298.00 – 230.00; Wld 324.00 – 330.00; LG 81.00 – 90.00; WG 108.00 – 110; L 357.00 – 359.00 (Figura 29-A).

Gnatossoma. Tarso do palpo - um par de cerdas apicais folheadas, comprimento 19.25 ± 0.82 (18.00 – 20.00); um par de cerdas tarsais anteriores, comprimento 18.62 ± 0.41 (18.00 – 19.00); um par de cerdas tarsais posteriores, comprimento 15.2 ± 0.78 (14.00 – 16.00). Tíbia do palpo – um par de cerdas ventrais, comprimento 10.45 ± 0.51 (10.00 – 11.30); um par de cerdas dorsais, comprimento 13.57 ± 0.37 (13.00 – 14.00). Base do gnatossoma - um par de cerdas látero-basais, comprimento 13.10 ± 0.12 (13.00-13.30); um par de cerdas ventro-basais (duas vezes mais longas que a cerda látero-basal), comprimento 24.50 ± 0.38 (24.00 – 25.00).

Idiossoma. Ventral - um par de cerdas esternais anteriores às natualae, comprimento 17.9 ± 0.07 (17.900 – 18.00); 2 pares de cerdas natualae, comprimento 13.33 ± 0.47 (13.00 – 14.00); 2 pares de cerdas ventrais posteriores, comprimento 10.23 ± 0.25 (10.00 – 10.50); 3 pares de cerdas coxais (1-1-1-0), comprimento 12.55 ± 0.39 (24.00 – 24.30), coxa IV não possui cerda (figura 28-A). Dorsal - um par de cerdas escapulares, comprimento 12.45 ± 0.36 (12.00 – 13.00); 7 pares de cerdas dorsais anteriores, comprimento 26.71 ± 2.28 (24.00 -30.00) (todas as cerdas são 2 vezes mais longas em comparação com outras espécies); 4 pares de cerdas genitais curtas e lisas ao redor do orifício genital, comprimento 12.57 ± 0.37 (12.00 -13.00); 2 pares cerdas dorsais posteriores, comprimento 10.30 ± 0.25 (10.00 -10.70).

Pernas: Tíbia (2-2-2-2); genu (3-3-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxa (1-1-1-0);

Perna I, tarso I - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 94.12 ± 1.13 (93.00 – 96.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 19.00; cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 12.00 – 27.00; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 46.75 ± 0.82 (46.00 – 48.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 14.75 ± 1.2 (13.00 – 16.00); **tíbia I**- espinho (A1), comprimento 15.92 ± 0.12 (15.70 -16.00); cerda lisa (A2) ausente; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 68 ± 0.70 (67.00 – 69.00); **genu I** - cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 42.00 – 158.00; cerda ventral (V), comprimento 13.30 ± 0.42 (13.00 – 14.00); **fêmur I** - cerda dorsal barbada (D), comprimento 54 ± 0.81 (53.00 – 55.00); cerda ventral lisa (V), comprimento 38.55 ± 0.41 (38.00 – 39.00); **trocânter I** – cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 20.45 ± 0.36 (20.00 – 20.50). **Perna II, tarso II** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 105.20 ± 0.43 (105.00 – 106.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 17.00, cerdas laterais (P1 – P2), comprimento 16.00 – 48.00; cerda lateral lisa em forma de chicote (A), comprimento 48.42 ± 0.21 (48.00 –

48.70), cerda ventral lisa (V1), comprimento 22.10 ± 0.17 (22.00 – 22.40); **tíbia II** - espinho (A1), comprimento 21.35 ± 0.60 (21.00- 22.40); cerda lisa (A2) Ausente; cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 82.85 ± 0.51 (82.00 – 83.40); **genu II** - cerdas dorsais (D1 – D2), comprimento 20.00 -178.00; cerda ventral (V), comprimento 13.07 ± 0.12 (13 – 13.30); **fêmur II** - cerda ventral lisa (V), comprimento 54.65 ± 0.40 (54.00 - 55.00); **trocânter II** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 21.30 ± 0.18 (21.00 – 21.50). **Perna III, tarso III** - cerda fina e em forma de chicote (D1), comprimento 105.31 ± 0.31 (105.00 – 105.56); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 17.00 – 19.00; cerda lateral (P1), comprimento 75.25 ± 0.82 (74.00 – 76.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 29.15 ± 0.87 (28.00 – 30.00); **tíbia III** - espinho (A1), comprimento 20.32 ± 0.40 (20 – 21); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 182.36 ± 2.17 (180.00 -185.00); **fêmur III** - cerda ventral lisa (V), comprimento 55.62 ± 0.37 (55.00 -56.00); **trocânter III** - cerda pequena e lisa ventral (V), comprimento 18.50 ± 0.50 (18.00 -19.00); cerda longa e barbeada dorsal (D), comprimento 73.37 ± 0.41 (73.00 – 74.00). **Perna IV, tarso IV** - cerda lisa e em forma de chicote (D1), comprimento 99.10 ± 0.72 (98.00 – 100.00); cerdas mediais (DF1 – DF2), comprimento 16.00 – 17.00; cerda lateral (P1), comprimento 87.25 ± 0.82 (86.00 – 88.00); cerda ventral lisa (V1), comprimento 28.15 ± 0.75 (27.00 – 29.00); **tíbia IV**- espinho (A1), comprimento 20.92 ± 0.71 (20.00 -22.00); cerda dorsal lisa e longa em forma de chicote (D), comprimento 185.47 ± 0.36 (185.00 – 186.00); **trocânter IV** - cerda ventral pequena e lisa (V), comprimento 21.92 ± 0.71 (21.00 – 23.00), cerda dorsal longa e barbeada (D), comprimento 66.05 ± 0.71 (65.00 – 67.00).

Ninfas (Parátipo = 2, IBSP 12079)

Ovos e ninfas (ínstares ninfais) foram encontrados no hospedeiro *C. durissus terrificus* dentro do tecido conjuntivo ou em cápsulas no interior das escamas. O estado larval não tem pernas, mas não foi observado. Porém, foram observados 2 ínstares dentro da membrana envolta pela cápsula (Figura 30). O estado denominado protoninfa não possui pernas, no entanto tem um gnatossoma aparente. O estado denominado tritoninfa tem gnatossoma aparente, pernas vestigiais, mas não tem diferenciação sexual (Figura 30 A). A deutoninfa apresenta diferenciação sexual, pernas desenvolvidas, gnatossoma e idiossoma arredondado, mas ainda permanece dentro da membrana (semelhante a um casulo). As medidas desses estágios são maiores do que os próprios adultos. No presente estudo só foram observadas as tritoninfas (sem diferenciação sexual) e deutoninfas que mudaram para macho (Figura 30-B).

As medidas da tritoinfa foram: Wld 462.00; L 455.90. Cerda ventro-basal do gnatossoma presente, comprimento 41.00 – 41.76. Medidas do casulo - Wld 485.60; L 475.60. As medidas de deutoninfas que se diferenciaram para machos foram: Wld 411.00; L 394.00. Cerda ventro-basal do gnatossoma presente, comprimento 26.44 – 27.00 μ m. Medidas do casulo - Wld 449.00; L 443.00.

Figura 26 – Fêmea de *Ophioptes faini* sp. n. Vista dorsal em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas ventro-basais do gnatossoma

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μ m

Figura 27 – Fêmea de *Ophioptes faini* sp. n., em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. cerdas do gnatossoma, vista dorsal; B. gnatossoma, vista frontal; C. gnatossoma, vista lateral; D. cerdas do tarso da perna I; E. placa genital. Abreviações: l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tid: cerda tibial dorsal; tiv: cerda tibial ventral; tp: cerda tarsal posterior; v-b: cerda ventro-basal. Barra de escala: A, 50 μ m; B, 50 μ m; C, 40 μ m; D, 40 μ m.

Figura 28 – Desenhos de *Ophioptes faini* sp. n.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. Idiossoma vista ventral da fêmea; B. gnathossoma, vista ventral e dorsal de macho e fêmea; C. perna I de macho e fêmea. Abreviações: af: cerda apical folheada; c: garra do palpo; ch: quelíceras; e: cerda escapular; Na: natualae; g: cerda genital; pg: placa genital; l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tid: cerda tibial dorsal; tiv: cerda tibial ventral; v-b: cerda ventro-basal; t: espículas do órgão nidificador; tp: cerda tarsal posterior. Barra de escala: A, 100 µm; B, 50 µm; C, 50 µm.

Figura 29 – Desenhos de idiossoma dorsal de macho e fêmea de *Ophioptes faini* sp. n.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. macho com detalhamento das cerdas do idiossoma; B. fêmea detalhamento das cerdas do idiossoma. Abreviações: d-a: cerdas dorsais anteriores; d-p: cerdas dorsais posteriores; es: cerdas escapulares; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, B, 100 μ m.

Figura 30 – Tritoninfa e deutoninfas de *Ophioptes faini* sp. n. em microscopia óptica.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. tritoninfa em vista ventral dentro do casulo, e as pernas vestigiais em destaque (setas). B. deutoninfa em vista dorsal dentro do casulo, com pernas desenvolvidas (setas pretas), em destaque o pênis (seta vermelha). Barra de escala: A, B 100 μ m.

4.4.5 *Ophioptes parkeri* Sambon, 1928, Pág. 141 (Harpirhynchidae)

Tipo - Holótipo macho, *Erythrolamprus aesculapii* Linnaeus 1766, Buena Vista, Bolivia. Parátipos 2 fêmeas, *Erythrolamprus poecilogyrus* (Wied-Neuwied, 1825) e *Liophis anomalus* Günther, 1858, Brasil.

Sinonímia: *Ophioptes oudemansi* Sambon, 1928: pág. 141; Fain 1964, pág. 31; hospedeiro *Paraphimophis rusticus* (COPE, 1878), Ajo, Argentina.

Diagnose. Espécie tipo do gênero (Figura 33-B) por ter presença de cerda lisa ventral (V) no fêmur III, comum a todas as espécies do grupo “*parkeri*” (Figura 32-C). Adultos possuem todas as cerdas descritas para o gênero. Quetotaxia das pernas: tíbia (3-3-2-2); genu (3-3-0-0); fêmur (2-1-1-0); trocânter (1-1-2-2); coxas (1-1-1-0). Tíbias I – IV com uma cerda barbeada anterior e as outras lisas. 3 ou 4 pares de cerdas dorsais posteriores na fêmea. Pulvilo no macho com 12 - 14 pares de bárbulas (Figuras 31-32) (Tabela 5). Medidas nos Apêncides A e B.

Tabela 5 – Morfometria de *Ophioptes parkeri*

Tipo	Gnatossoma				Idiossoma				
	Cerda ventro-basal	Cerda látero-basal	Cerda tarsal anterior	Cerda tarsal posterior	Cerdas escapulares	Cerdas dorsais anteriores	Cerdas dorsais posteriores	Cerdas genitais	Cerdas coxais
Holótipo ♂	15 - 18	12 - 15	18	9 - 11	13 - 15	18 - 30	8 - 10	-	18 - 20
Parátipo ♂	18	18	10	15 - 18	10 - 12	15	8 - 10	11 - 18	18 - 20
n = 2 ♀	17 - 18	18	9 - 11	15 - 17	10 - 12	14 - 16	8 - 10	10 - 15	17 - 20
M.E. ♀ = 6 exemp.	16 - 18	18	10.5 - 11	16 - 17	10 - 12	15 - 16	8 - 10	10 - 18	15 - 19

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Hólotipo e parátipo, descritos por Fain (1964); M.E, material usado no presente estudo.

Figura 31 – Fêmea de *O. parkeri*, vista ventral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque as cerdas natualae

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 µm.

Figura 32 – Fêmea de *O. parkeri*, gnatossoma ventral, perna ventral e placa genital, em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. gnatossoma; B. perna I; C. placa genital. Abreviações: l-b: cerda látero-basal; ta: cerda tarsal anterior; tp: cerda tarsal posterior; v-b: cerda ventro-basal; g: cerdas genitais. Barra de escala: A, 50 μ m; B, 50 μ m; C, 40 μ m.

Figura 33 – Cerda do fêmur III de 4 espécies de *Ophiopetes*, vista ventral, em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. cerda (V) do fêmur III de *O. faini* sp.n.; B. cerda (V) do fêmur III de *O. parkeri*; C. cerda (V) do fêmur III de *O. brevipilis*; D.: cerda (V) do fêmur III de *O. longipilis*. Barra de escala: A, 30 μ m; B, 50 μ m; C, 40 μ m; D, 50 μ m.

4.4.6 Chaves de identificação das espécies do gênero *Ophiopetes* de América do Sul

Fêmeas

- 1(0). • Placa genital próxima às coxas I e II.....gênero *Afrophioptes*, Fain
 • Placa genital próxima às coxas IV.....gênero *Ophiopetes*, Sambon (2)
- 2(1). • Cerda ventral barbeada no fêmur da perna III, presente.....grupo *parkeri* (3)
 • Cerda ventral barbeada no fêmur da perna III, ausente. grupo *schoutedeni*
- 3(2). • Cerda D1 do genu da perna II, ausente. Cerda (V) do genu da perna II, em forma de espinho. Um par de cerdas genitais no interior da placa genital.....*Ophiopetes brevipilis* Lizaso
 • Cerda D1 do genu da perna II, presente. Cerda (V) do genu da perna II, piliforme. Cerdas genitais ao redor da placa genital..... (4)
- 4(3). • Cerda D1 do genu da perna I, ausente. Cerdas P1 do tarso da perna II ausentes. Cerdas látero-basais piliformes.....*Ophiopetes longipilis* Lizaso
 • Cerdas D1 do genu da perna I, presente. Cerdas P1 do tarso da perna II, presentes. Cerdas látero-basais robustas e espinosas.....(5)
- 5(4) • Comprimento da cerda ventro-basal do gnatossoma (> 39 µm), 3 pares de espículas no órgão nidificador. Cerda A2 da tibia da perna II, ausente. Hospedeiros viperídeos.....*Ophiopetes faini* sp.n. Mendoza-Roldan & Barros-Battesti
 • Comprimento da cerda ventro-basal do gnatossoma (< 25 µm), 4 pares de espículas no órgão nidificador. Cerda A2 da tibia da perna II, presente. Hospedeiros colubrídeos.....(6)
- 6(5) • 4 pares de cerdas dorsais posteriores. Cerda (V) do fêmur III, (<60 µm) Comprimento do gnatossoma (> 126 µm). Cerda (D) da tibia da perna IV, (>220 µm). Distribuição na Guiana Britânica.....*Ophiopetes tropicalis* Ewing
 • Pares de cerdas dorsais posteriores, podendo ser 4 pares ou lados assimétricos (4 – 3). Comprimento do gnatossoma (< 105 µm). Cerda (V) do fêmur III, (>85 µm). Cerda (D) da tibia da perna IV, (<2180 µm). Distribuição na Argentina, Bolívia and Brasil.....*Ophiopetes parkeri* Sambon

Machos

- 1(0). • Cerdas ventrais barbeadas no fêmur da perna III, presentes.....grupo *parkeri* (2)
 • Cerdas ventrais barbeadas no fêmur da perna III, ausentesgrupo *Schoutedeni*
- 2(1). • Cerdas dorsais posteriores, ausentes. Espécie muito pequena, comprimento total menor que 304 µm.....*Ophiopetes brevipilis* Lizaso
 • Cerdas dorsais posteriores, presentes. Comprimento maior que 304 µm.....(3)
- 3(2). • Cerda D1 do genu da perna I, ausente. Cerdas látero-basais piliformes.....*Ophiopetes longipilis* Lizaso
 • Cerda D1 do genu da perna I, presente. Cerdas látero-basais robustas e espinosas spur..(4)
- 4(3) • Cerdas A2 da tibia da perna II, ausente. Cerdas ventro-basais do gnatossoma (> 25 µm), hospedeiros viperídeos.....*Ophiopetes faini* sp.n. Mendoza-Roldan & Barros-Battesti.
 • Cerdas A2 da tibia da perna II, presentes. Cerdas ventro-basais do gnatossoma (< 18 µm), hospedeiros colubrídeos.....*Ophiopetes parkeri* Sambon

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

4.4.7 *Eutrombicula alfreddugesi* (Oudemans, 1910) (Trombiculidae)

Tipo - *Leptus irritans* Riley (1873), *Homo sapiens sapiens*, em Estados unidos.

Sinonímias: *Tretanychus tlalsahuatl* Murray (1877); *Microthombidium alfreddugesi* Oudemans (1910): 84; *Microthombidium tlalzahuatl* Oudemans (1912): 18; *Trombicula cinnabaris* Ewing (1920); *Trombicula tlalzahuatl* Ewing (1923); *Trombicula irritans* André (1930); *Trombicula vanomereni* Shierbeck (1937); *Leptus rileyi* Oudemans (1939): 80; *Trombicula alfreddugesi* Fitch (1954); *Eutrombicula alfreddugesi* Ewing (1939); Hoffman (1949); Brennan e Yunker (1966); Vercammen-Granjean (1968); Loomis (1969); Brennan (1970); Brennan e Goff (1977); *Eutrombicula alfreddugesi alfreddugesi* Brennan e Jones (1960).

Diagnose. **SIF:** 7BS-N-2-3311.1000; **fPp:** B/N(B)/NNB; **fCx:** 1.1.1; **fSc:** PL>AL>AM; **fD:** 2-6-6-4-2-2; **fV:** 2-2-2-2-2-2. 22 cerdas dorsais, 14 cerdas ventrais. Esporão no tarso I, medindo do 13 – 20 µm. Tíbia III com uma tibiala; Tarso III com mastitarsala (Figuras 34–35 e Tabela 6).

Tabela 6 – Morfometria de 6 larvas de *Eutrombicula alfreddugesi*

	AW	PW	SB	ASB	PSB	SD	P-PL	AP	AM	AL	PL	H		pa	pm	pp	lp	Tall	TaW
MIN	73	87	42	22	30	56	22	25	32	26	33	35	MIN	289	256	288	840	72	11
MAX	79	90	46	26	34	59	23	32	33	33	39	41	MAX	300	270	290	900	78	18
Média	76	88.5	44	24	32	57.5	22,5	28.5	32.5	29.5	36	38	Média	294.5	263	289	870	75	14.5
DP	3	1.5	2	2	2	1.5	0.5	3,5	0.5	3.5	3	3	DP	7.775	9.89	1.44	42.42	4.24	4.94
(Jenkins, 1949)													Daniel &						
Wolfenbarger	81	90	43	23	26	42	-	27	28	29	49	-	Stekolniko	298	261	288	847	73	14
(1952)	77	88	43	23	26	-	-	27	28	29	40	-	v (2004)						
Daniel &																			
Stekolnikov (2004)	77	90	43	25	32	57	21	28	31	32	37	39							

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Figura 34 – Larva de *E. alfreddugesi*, vista dorsal em de microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μ m

Figura 35 – Larva *Eutrombicula alfreddugesi* em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas; B. tarso do palpo 7BS e garra do palpo bifurcada; C. perna vista lateral. Abreviações: AM: Cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; Ge: genu; PL: cerda posterolateral; S: sensila; Ti: tibia; Ta: tarso. Barra de escala: A, 30 μ m; B, 30 μ m; C, 50 μ m.

4.4.8 *Foncesia ewingi* (Fonseca, 1932), Pág 153 (Trombiculidae)

Tipo - *Trombicula ewingi* Fonseca, 1932: 153; 1936; Radford (1942): 56; Rao e Hiregaudar (1956): 210. Holótipo larva (IBSP), *Ophis Merremii* Wagler (1824), Correntes, Mato Grosso, Brasil 13.IV.1932.

Sinonímias. *Eutrombicula ewingi*, Ewing (1938): 294; *Trombicula (Eutrombicula) ewingi* Sig Thor e Willmann (1947): 292; Fuller (1948): 106; *Trombicula (Fonsecia) ewingi*, Wharton e Fuller (1952): 51; *Fonsecia ewingi* Torres e Braga (1939): 38; Radford (1942): 56; 76; 78; 1946: 247; 1954: 262; Fuller (1948): 106; Audy (1954): 148; 1957: 51; Rao e Hiregaudar (1956): 212; Brennan e Loomis (1959).

Diagnose. **SIF:** 6BS-N-3-4111.0000; **fPp:** B/N/NNN; **fCx:** 1.1.1; **fSc:** PL>AM>AL; **fD:** 2-6-6-4-2-2; **fV:** 2-2-4-2-2-2-2. Pode ser separada das outras espécies do gênero pela cerda ventrotibial do palpo que é lisa (Figura 37-C e Tabela 7).

Gnatossoma. (Figura 38-D e Figura 39-A) bases das quelíceras e do capitulo esternal com pontuações; quelíceras com ápice tricúspide; tarso do palpo 6B; Garra do palpo com ápice tricúspide; formula das setas do palpo B/N/NNN.

Idiossoma. Elipsoidal (Figura 36); olhos 2/2; um par de cerdas humerais; ânus na mesma altura da 4ª. fileira de cerdas ventrais. Escudo pontuado, subretangular, 5 cerdas flageliformes e AM em forma de raquete (Figura 38- A, B e Figura 39-B).

Pernas. (Figura 38-D, E e Figura 39-D) 7-7-7; coxas unisetosas; 4 genualae I, genuala II, tibiala III; subterminala e parasubterminala I. **Perna I** - coxa, trocânter e basifêmur com uma cerda barbeada; telofêmur com 5 cerdas barbeadas; genu com 4 cerdas barbeadas; 3 genualas e uma migrogenuala; tibia com 2 cerdas barbeadas e uma microtibiala; tarso com 16 cerdas barbeadas; tarsala cumprida, microtarsala, subterminala e para subterminala lisa e pretarsala. **Perna II** - coxa e trocânter com uma cerda barbeada; basifêmur com duas cerdas barbeadas; telofêmur com 4 cerdas barbeadas; genu com 3 cerdas barbeadas e uma genuala; tibia com 6 cerdas barbeadas e duas tibialas; tarso com 14 cerdas barbeadas e tarsala, microtarsala e pretarsala. **Perna III** - coxa e trocânter com uma cerda barbeada; basifêmur com 2 cerdas barbeadas; telofêmur com 3 cerdas barbeadas; genu com 3 cerdas barbeadas e uma genuala; tibia com 6 cerdas barbeadas e uma tibiala; tarso com 13 cerdas barbeadas.

Tabela 7 – Morfometria de 4 larvas de *Foncesia ewingi*

	AW	PW	SB	ASB	PSB	SD	P-PL	AP	AM	AL	PL	S	H
MIN	46	69	28	16	11	39	10	17	46	13	50	48	30
MAX	55	70	30	28	13	41	11	18	47	12	50	50	32
Média	50.5	69.5	29	22	12	40	10.5	17.5	46.5	12.5	50	49	31
DP	4.5	0.5	1	6	1	1	0.5	0.5	0.5	0.5	0	1	1
Holótipo	50	68	29	26	16	39	11	18	47	13	50	47	30
Parátipo	47	66	26	24	16	41	11	15	42	14	46	50	31

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Figura 36 – Larva *F. ewingi*, vista lateral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μ m.

Figura 37 – Larva *F. ewingi* em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas e olhos; B. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas; C. tarso do palpo 6BS, em destaque a cerda lisa ventrotibial do palpo; D. perna I, vista lateral; E. perna I, vista dorsal. Abreviações: AM: cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; Ge: genu; PL: cerda posterolateral; S: sensila; Ti: tibia; Ta: tarso. Barra de escala: A, 30 μ m; B, 30 μ m; C, 40 μ m; D, 40 μ m; E, 50 μ m.

Figura 38 – Desenhos com detalhes morfológicos da larva de *F. ewingi*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. gnathosoma vista dorsal de uma das simetrias e detalhamento do tarso do palpo vista ventral; B. escudo; C. perna I; D. perna II; E. perna III. Abreviações: AM: cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; ga: genciala da perna I; gm: genciala da perna II; F: fêmur; f': microtarsala da perna I; Ga: galeala; Ge: genu PL: cerda posterolateral; S: sensila; S1: tarsala da perna I; S2: tarsala da perna II; ST: subterminala; Ta: tarso; ta: tarsala da perna III; tm: tarsala da perna II; tp: tarsala da perna III; Ti: tibia. Barra de escala: A, B, C, 50 µm.

4.4.9 *Hannemania hepatica* Fonseca 1935, Pág. 49 (Leewuenhoeekiidae)

Tipo – Holótipo 1 larva, *Leptodactylus latrans*, Instituto Butantan, SP, 28.X.1933

Diagnose. **SIF:** 5BS-N-3-4111.0000; **fPp:** B/B/BBN; **fCx:** 1.1.1; **fSc:** PL>AL>AM. Pode ser separada das outras espécies do gênero pelo número de genualas no genu da perna I (4 – 5) (Figura 39-40 E Tabela 8).

Gnatossoma. (Figura 40-B e Figura 42-A) quelíceras com ápice tricúspide; tarso do palpo 5BS; garra do palpo com ápice tricúspide; fórmula das cerdas do palpo B/B/BBN.

Idiossoma. Elipsoidal; olhos 2/2; um par de cerdas humerais; ânus na mesma altura da 4^a. fileira de cerdas ventrais. Escudo pontuado, subtriangular, 8 cerdas flageliformes, com nasus (Figura 40-1 e Figura 41-B).

Pernas. 6-6-6. (Figura 40-C e Figura 41-C,D,E)

Tabela 8 – Morfometria de 10 larvas de *H. hepatica*

	AW	PW	SB	AS B	PSB	SD	P-PL	AP	AM	AL	PL	H
MIN	49	60	24	16	6	22	9	10	19	15	34	40
MAX	58	66	27	29	12	35	29	12	22	36	62	42
Média	53.5	63	25.5	22.5	9	28.5	19	11	20.5	25.5	48	41
DP	4.5	3	1.5	6.5	3	6.5	10	1	1.5	10.5	14	1
Holótipo	53.11	67.95	28.13	36.53	8.07	44.6	23.3	15.98	15.5	25.94	41.32	42.27

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Figura 39 – Larva de *H. hepatica*, vista lateral em microscopia eletrônica de varredura vista ventral. Em destaque o escudo dorsal

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μm

Figura 40 – Larva de *H. hepatica* em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas; B. tarso do palpo 5BS e garra do palpo tricurvada; C. perna I, vista ventral. Abreviações: AM: cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; ga: genua; Ge: genu; N: nasus; PL: cerda posterolateral; S: sensila. Barra de escala: A, 30 μ m; B, 40 μ m; C, 40 μ m.

Figura 41 – Desenhos com detalhes morfológicos da larva de *H.hepatica*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. gnatossoma (uma das simetrias), vista dorsal e detalhamento do tarso do palpo, vista ventral; B. escudo; C. perna I; D. perna II; E. perna III. Abreviações: AM: cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; Cb: quelícera; ga: genuala da perna I; gm: genuala da perna II; F: fêmur; f': microtarsala da perna I; Ga: galeala; Ge: genu; gp: genuala da perna III; N: nasus; PL: cerda posterolateral; S1: tarsala da perna I; S2: tarsala da perna II; ST: subterminala da perna I; uta: micotibiala da perna I; Ta: tarso; ta: tibiala da perna I; tm: tibiala da perna II; tp: tibiala da perna III; Ti: tíbia. Barra de escala: A, 50 µm; B, 30 µm; C, 50 µm.

4.4.10 *Hannemania minor* Alzuet & Mauri, 1987, Pág 112 (Leeuwenhoekiidae)

Tipo - Holótipo 1 larva, hospedeiro *Leptodactylus latrans* Steffen (1815), Benavidez, Buenos Aires, Argentina.

Diagnose. **SIF:** 5BS-N-3-8111.0000; **fPp:** B/B/BBN; **fCx:** 2.1.1; **fSc:** PL>AM>AL; **fD:** 2-4-8-2-8 (total 50). Pode ser separada das outras espécies do gênero por apresentar de (8 -10) genualas no genu da perna I (Figura 42-43 e Tabela 9).

Gnatossoma. (Figura 42-B e Figura 45-A) quelíceras com ápice tricúspide e com dentes recurvos; tarso do palpo 5BS; garra do palpo com ápice tricúspide; fórmula das cerdas do palpo B/B/BBN; base do capítulo e esterno, liso.

Idiossoma. Elipsoidal; olhos 2/2 em placa ocular; um par de cerdas humerais; ânus na mesma altura da 3ª. fileira de cerdas ventrais. Escudo pontuado, subretangular, com nasus, 8 cerdas flageliformes (Figura 42-A e Figura 43-B).

Pernas. (Figura 42- C, D e Figura 43-C, D, E) 6-6-6; coxas unissetosas, com exceção da coxa I que apresenta 2 cerdas; 8 genualas na perna I, 1 genuala na perna II, 1 tibiala na perna III; 1 subterminala e 1 parasubterminala na perna I. **Perna I** - coxa com 2 cerdas barbeadas; trocânter com uma cerda barbeada; genu com 8 - 10 genualas e uma microgenuala; tarso com 1 tarsala longa, 1 microtarsala, 1 subterminala e 1 parasubterminala lisa e 1pretarsala. **Perna II** - coxa e trocânter com uma cerda barbeada; genu com 1 genuala e 1 microgenuala; tíbia com 2 tibialas; tarso com 1 tarsala, 1 microtarsala e 1 pretarsala. **Perna III** - coxa e trocânter com 1 cerda barbeada; genu com 1 genuala; tíbia com uma tibiala.

Tabela 9 – Morfometria de 2 larvas de *H. minor*

	AW	PW	SB	ASB	PSB	SD	P-PL	AP	AM	AL	PL	S	H
MIN	47	60	22.51	26.08	13.39	39.47	27.75	9.41	17.31	27	53.73	65	44
MAX	49.97	61.51	25.6	35	23	58	28.9	11	21	32	55	68	49
Média	48	61	24	31	18	49	28	10	19	30	54	67	47
DP	1.485	0.755	1.545	4.46	4.805	9.265	0.575	0.795	1.845	2.5	0.635	1.5	2.5
Alzuet & Mauri, 1987	48	60	24	32.2	21.6	53.8	-	-	20.4	30	54	66	45.6

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Figura 42 – Larva de *H. minor* em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas e olhos; B. tarso do palpo 5BS com garra trifurcada; C. perna I, vista ventral; 2. genu da perna I, vista ventral. Abreviações: AM: Cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; ga: genua; Ge: genu; PL: cerda posterolateral; S: sensila; Ta: tarso; Ti: tibia. Barra de escala: A, 30 μ m; B, 40 μ m; C, 50 μ m; D. 30 μ m.

Figura 43 – Desenhos com detalhes morfológicos da larva de *H. minor*

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. gnatossoma, vista dorsal (de uma das simetrias) e detalhamento do tarso do palpo, vista ventral; B. escudo; C. perna I; D. perna II; E. perna III. Abreviações: AM: cerda anteromediana; AL: cerda anterolateral; Cb: quelícera; ga: genuala da perna I; gm: genuala da perna II; F: fêmur; f': microtarsala da perna I; Ga: galeala; Ge: genu; gp: genuala da perna III; N: nasus; PL: cerda posteroateral; S1: tarsala da perna I; S2: tarsala da perna II; ST: subterminala da perna I; μ ta: micotibiala perna I; Ta: tarso; tm: tibiala da perna II; tp: tibiala da perna III; Ti: tibia. Barra de escala: A, 50 μ m; B, 30 μ m; C, 50 μ m.

4.4.11 *Hannemania yungicola* Wohltmann, Kohler & Martin, 2006, Pág. 142 (Leewuenhoeekiidae)

Tipo - Holótipo larva (ZMHA7/05) em ZMH, *Bufo quéchua*, Cochabamba, Bolívia.

Diagnose. SIF: 5BS-N-3-210.1000; fPp: B/N/NNN; fCx: 2.1.1; fSc: PL>AL>AM. Pode ser separada das outras espécies do gênero pelo número de gennualas no genu da perna I (2) (Figura 44–45 e tTabela 10).

Gnatossoma. (Figura 45-B) quelíceras com ápice tricuspid; tarso do palpo 5BS; garra do palpo com ápice tricúspide; fórmula das cerdas do palpo B/N/NNN. O dígito móvel (*digitus mobilis*) com filera de 12 dentes na margem interna.

Idiossoma. Elipsoidal; olhos 2/2; 1 par de cerdas humerais; ânus na mesma altura da 3ª. fileira de cerdas ventrais. Abertura anal com cerca de 40 cerdas distribuídas ao redor. Escudo pontuado, pentagonal, 8 cerdas flageliformes, com nasus (Figura 45- A).

Pernas. (Figura 46 – C) 6-6-6. Pretarsos das pernas I-III com garras pareadas e empodium semelhante a uma garra. Garras laterais com dentes diminutos (denominados de onicotríquias).

Tabela 10 – Morfometria de 6 larvas de *H. yungicola*

	AW	PW	SB	AS B	PSB	SD	P-PL	AP	AM	AL	PL	S
MIN	45	77	24	67	28	95	14	17	28	46	67	75
MAX	57	80	35	68	28	66	14	20	37	47	69	89
Média	51	79	30	68	28	81	14	18	33	47	68	82
DP	6.0	1.5	5.5	0.6	0.0	14.5	0.0	1.5	4.5	0.6	1.0	7.0
Wohltmann, Kohler & Martin, 2006	52	79	32	-	-	96	-	-	36	52	75	86

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Figura 44 – Larva *H. yungicola*, vista lateral em microscopia eletrônica de varredura. Em destaque o escudo dorsal

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Barra de escala 100 μm

Figura 45 – Larva de *H. yungicola* em microscopia eletrônica de varredura

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: A. vista dorsal do escudo com detalhamento de cerdas e olhos; B. tarso do palpo 5BS com garra tricurcada; C. genu da perna I, vista ventral. Abreviações: AM: Cerdas anteromediana; AL: cerda anterolateral; ga: genuala; Ge: genu; PL: cerda posterolateral; S: sensila; Ta: tarso; Ti: tibia. Barra de escala: A, 40 μ m; B, 20 μ m; C, 30 μ m.

4.5 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Os mapas de distribuição geográfica das espécies de ácaros Trombidiformes avaliadas no presente trabalho estão ilustrados nas figuras 46 - 52. As coordenadas geográficas de cada localidade para cada espécie estão mostradas a seguir, incluindo também as informações da literatura.

***Geckobia hemidactyli*:** Colômbia – **Leticia** (3° 56' 42" S e 70° 9' 31" W). Brasil- **São Paulo:** Assis (22° 39' 37" S e 50° 25' 7" W); Ilha do Bom Abrigo (25° 7' 19" S e 47° 51' 22" W); Sete Barras (24° 24' 58" S e 47° 55' 10" W); São José do Barreiro (22° 39' 5" S e 44° 33' 33" W); Bairro do Butantã, São Paulo (23° 33' 52" S e 46° 43' 15" W) (Figura 46).

***Ophioptes faini*:** Brasil – **Campo Limpo Paulista** (23° 33' 52" S e 46° 43' 15" W) (Figura 47).

***Ophioptes parkeri*:** Brasil – **Pará:** Belém (23° 33' 52" S e 46° 43' 15" W); **Goiás:** Itumbara (18° 20' 32" S e 49° 9' 29" W); **Minas Gerais:** Uberlândia (18° 57' 15" S e 48° 18' 54" W); Juiz de Fora (21° 43' 44" S e 43° 22' 57" W); Lambari (21° 57' 57" S e 45° 23' 13" W); Sapucaí (22° 13' 1" S e 45° 43' 4" W); Três Corações (21° 41' 6" S e 45° 15' 6" W); **Espírito Santo:** Colatina (19° 27' 51" S e 40° 34' 22" W); **São Paulo:** Presidente Venceslau (21° 52' 7" S e 51° 49' 49" W); Arujá (23° 22' 16" S e 46° 19' 36" W); Biritiba-Mirim (23° 33' 51" S e 46° 3' 10" W); Inuíba (23° 40' 18" S e 47° 12' 44" W); Jaú (22° 18' 7" S e 48° 32' 22" W); São Carlos (22° 0' 13" S e 47° 53' 24" W); São Paulo (23° 40' 56" S e 46° 35' 43" W); Itapecerica da Serra (23° 44' 3" S e 46° 51' 4" W); **Rio Grande Do Sul:** Pelotas (31° 38' 58" S e 52° 21' 26" W). Paraguai – **Alto Paraguai** (19° 43' 56" S e 60° 43' 1" W). Bolívia – **Buena Vista** (17° 27' 18" S e 63° 39' 9" W) (Figura 47).

***Eutrombicula alfreddugesi*:** Venezuela – (6° 53' 10" N e 66° 4' 57" W); Brasil – **Rio de Janeiro:** Jurubatiba (22° 10' 23" S e 41° 26' 34" W); Barra da Marica (22° 55' 11" S e 42° 54' 12" W); **Ceará:** Chapada do Criador (7° 23' 14" S e 40° 12' 58" W); **Bahia:** Morro de Chapéu (11° 32' 43" S e 41° 9' 34" W); **Brasília:** Distrito Federal (15° 43' 18" S e 47° 56'

17" W); **Mato Grosso:** (12° 40' 54. " S 56° 55' 154" W); **São Paulo:** Sete Barras (24° 24' 58" S e 47° 55' 10" W) (Figura 48).

Fonsecia ewingi: Brasil – **Mato Grosso:** Correntes (17° 36' 59" S e 54° 58' 59" W); **São Paulo:** Sete Barras (24° 24' 58" S e 47° 55' 10" W) (Figura 49).

Hannemania hepatica: Brasil - **São Paulo:** São Paulo, Instituto Butantan (23° 33' 52" S e 46° 43' 15 " W) Sete Barras (24° 24' 58" S e 47° 55' 10" W) (Figura 50).

Hannemania minor: Brasil - **São Paulo:** Sete Barras (24° 24' 58" S e 47° 55' 10" W). Argentina – **Buenos Aires:** Benavídez (34° 24' 21 " S 58° 41' 26 " W) (Figura 51).

Hannemania yungicola: Brasil - **São Paulo:** São José do Barreiro (22° 39' 5" S e 44° 33' 33" W). Bolívia – **Cochabamba:** Parque Nacional Carrasco (16° 56' 23" S e 64° 53' 16" W) (Figura 52).

Figura 46 – Distribuição geográfica de *G. hemidactyli*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Os círculos azuis representam o material examinado no presente trabalho (Estado de São Paulo). Os círculos verdes representam o material examinado na coleção IBSP (Estado de São Paulo e Estado do Pará). Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (Letícia, Colômbia e Estado do Mato Grosso, Brasil).

Figura 47 – Distribuição geográfica de *O. parkeri* e *O. faini* sp.n. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em répteis na América do Sul.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Os quadrados azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo) (azul escuro *O. parkeri* e azul claro *O. faini* sp.n). Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura da espécie *O. parkeri* (Buena Vista, Bolívia; Alto Paragua, Paraguai e Rio Grande do Sul, São Paulo, Minas Gerais, Espírito Santo, Mato Grosso, Pará Brasil).

Figura 48 – Distribuição geográfica de *E. alfreddugesi*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em répteis e anfíbios na América do Sul.

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Os círculos azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo). Os círculos verdes representam o material examinado na coleção IBSP (Mato Grosso). Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (Mérida, Venezuela, Rio de Janeiro, DF, Bahia e Ceará, Brasil).

Figura 49 – Distribuição geográfica de *F. ewingi*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em répteis e anfíbios na América do Sul

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, 2015)

Legenda: Os quadrados azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo). Os círculos verdes representam o material examinado na coleção IBSP (Mato Grosso e São Paulo). Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (Mato grosso, Brasil).

Figura 50 – Distribuição geográfica de *H. hepatica*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em répteis e anfíbios na América do Sul

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Os quadrados azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo). Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (São Paulo, Brasil).

Figura 51 – Distribuição geográfica de *H. minor*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, 2015)

Legenda: Os quadrados azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo).
Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (Benavídez, Buenos Aires, Argentina).

Figura 52 – Distribuição geográfica de *H. yungicola*. Em destaque a área de ocorrência dos registros da espécie em reptéis e anfíbios na América do Sul

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, 2015)

Legenda: Os quadrados azuis representam as espécies examinadas no presente trabalho (Estado de São Paulo).
Os círculos vermelhos evidenciam os dados da literatura (Cochabamba, Bolívia).

4.6 EXTRAÇÃO DE DNA

O método de extração de DNA dos ácaros com melhores resultados (quantidade de DNA em ng/ μ L) foi o protocolo de lise com Isotiocianato de Guaninida (GT). Este tipo de extração permitiu obter uma quantidade satisfatória de DNA individualmente, e ao mesmo tempo, preservando o espécime testemunho (*voucher*).

Nos outros protocolos testados foi preciso esmagar *pools* de ácaros para obter quantidades de DNA suficientes, limitando a identificação após a extração. O GT, por sua vez, contribuiu para a clarificação dos ácaros testemunhos (*vouchers*), que ao serem preparados em lâminas, não necessitaram de outros protocolos de clarificação. Outra vantagem foi a extração de DNA individual e a preservação do espécime inteiro para os estudos morfológicos.

Foram utilizadas 35 amostras de diferentes espécies de ácaros Trombidiformes totalizando 718 exemplares, analisados individualmente ou em *pools* de 3 ou 5 espécimes, sendo 54 de *G. hemidactyli*, 4 de *O. faini* sp.n., 3 de *E. alfreddugesi*, 5 de *F. ewingi*, 22 de *H. hepatica*, 3 de *H. minor* e 4 de *H. yungicola* (Tabela 11).

4.6.1 Controle endógeno

O controle endógeno foi feito com as amostras extraídas pelo método de GT diluídas em 50 μ L de TE, que deram boas quantidades de DNA. Foram amplificadas 28 amostras (6 das 7 espécies) para o gene MITE 18S V4 (Figura 53); 18 amostras (2 das 7 espécies) para o gene COI 1 e 28 amostras (6 das 7 espécies) para o COI 2 (Tabela 12).

Tabela 11 – Espécies de ácaros Trombidiformes investigadas e quantificação de DNA segundo os protocolos utilizados na extração

Amostra IBSP	Quantidade de ácaros	Espécie	(Continuação)				
			Quantidade de DNA(ng/ul)				
			Qiagen® 1	Qiagen® 2	Fervura	GT (1 teste)	GT
12084	5	<i>G.hemydactyli</i>			7.6	550	33
12087	5	<i>G. hemydactyli</i>		5.7			25.7
12045	5	<i>G. hemydactyli</i>					25.5
12047	1	<i>G.hemydactyli</i>	4.5				84.4
12048	1	<i>G. hemydactyli</i>					26.1
12072	1	<i>G. hemydactyli</i>		5.9			14.5
12077	1	<i>G.hemydactyli</i>			8.8		14
12081	1	<i>G. hemydactyli</i>	5.7				14
12082	1	<i>G. hemydactyli</i>		1.5			49
12083	1	<i>G. hemydactyli</i>					39.9
12085	1	<i>G.hemydactyli</i>					13
12086	1	<i>G. hemydactyli</i>					155
12079	1	<i>Ophiopetes faini</i> sp.n.	2.3	6.6	17.1	Perdido	46.1
12067	1	<i>E. alfreddugesi</i>			3.8	456	42.8
12070	1	<i>E. alfreddugesi</i>					167
12071	1	<i>F. ewingi</i>	4.5	6.7	4.7	374	35
12050	3	<i>H. hepatica</i>					312
12051	3	<i>H. hepatica</i>					182
12058	3	<i>H. hepatica</i>					229
12059	1	<i>H. hepatica</i>					82.9
12060	1	<i>H. hepatica</i>					221.2
12061	1	<i>H. hepatica</i>	4.5	8.7	6.1	178	109
12062	1	<i>H. hepatica</i>					8.9
12063	1	<i>H. hepatica</i>					151
12066	1	<i>H. hepatica</i>		7.5			36
12064	1	<i>H. hepatica</i>					197
12069	1	<i>H. hepatica</i>					146
12073	1	<i>H. hepatica</i>					18.1
12075	1	<i>H. hepatica</i>					409
12076	1	<i>H. hepatica</i>					29.5
12065	1	<i>H. minor</i>				54	14.5
12049	1	<i>H. yungicola</i>	5.6	8.8	7.2	463	32.4

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: GT (1 teste): teste preliminar feito com 8 amostras de diferentes espécies de ácaros; GT: extração de todas as amostras com o método GT.

Figura 53 – Imagem do gel de Agarose 1.5% da PCR para o gene 18S, região V4 dos ácaros

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: l: ladder; C+1: controle positivo 1; C+2: controle positivo 2; C-: controle negativo; CM: controle do mix.

Tabela 12 - Espécies de ácaros Trombidiformes investigadas e quantificação de DNA nas amostras segundo o protocolo GT, e resultados das PCRs dos genes utilizados para os ácaros. A: amplificado; NA: não amplificado

(Continuação)

Amostra IBSP	Especie	GT (ng/ul)	Genes		
			18S V4	COI 1	COI 2
12084	<i>G. hemydactyli</i>	33	A	NA	A
12087	<i>G. hemydactyli</i>	25.7	A	NA	NA
12045	<i>G. hemydactyli</i>	25.5	A	A	A
12047	<i>G. hemydactyli</i>	84.4	A	NA	A
12048	<i>G. hemydactyli</i>	26.1	NA	NA	NA
12072	<i>G. hemydactyli</i>	14.5	A	NA	A
12077	<i>G. hemydactyli</i>	14	A	NA	A
12081	<i>G. hemydactyli</i>	14	A	A	A
12082	<i>G. hemydactyli</i>	49	A	NA	A
12083	<i>G. hemydactyli</i>	39.9	A	A	A
12085	<i>G. hemydactyli</i>	13	A	A	A
12086	<i>G. hemydactyli</i>	155	A	NA	A
12079	<i>Ophiotes faini</i> sp.n.	46.1	A	NA	A
12067	<i>E. alfreddugesi</i>	42.8	NA	NA	A
12070	<i>E. alfreddugesi</i>	167	A	NA	NA
12071	<i>F. ewingi</i>	35	A	NA	A

(Conclusão)					
Amostra IBSP	Especie	Genes			
		GT (ng/ul)	18S V4	COI 1	COI 2
12050	<i>H. hepatica</i>	31.2	A	A	A
12051	<i>H. hepatica</i>	182	A	A	A
12058	<i>H. hepatica</i>	229	A	A	A
12059	<i>H. hepatica</i>	82.9	A	A	A
12060	<i>H. hepatica</i>	221.2	A	A	A
12061	<i>H. hepatica</i>	109	A	A	A
12062	<i>H. hepatica</i>	8.9	NA	A	A
12063	<i>H. hepatica</i>	151	A	A	A
12066	<i>H. hepatica</i>	36	NA	A	A
12064	<i>H. hepatica</i>	197	A	A	A
12069	<i>H. hepatica</i>	146	A	NA	NA
12073	<i>H. hepatica</i>	18.1	A	A	A
12074	<i>H. hepatica</i>	602	A	A	A
12075	<i>H. hepatica</i>	409	A	A	A
12076	<i>H. hepatica</i>	29.5	A	A	A
12065	<i>H. minor</i>	14.5	NA	NA	NA
12049	<i>H. yungicola</i>	32.4	A	NA	A

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

4.7 FILOGENIA DOS ÁCAROS

Para as análises filogenéticas, foram utilizadas as sequências obtidas no presente estudo, assim como sequências de outros ácaros e alguns aracnídeos, que estão depositadas no genbank (Quadro 6).

Quadro 6 – Espécies de Chelicerata, cujas sequências foram utilizadas nas análises filogenéticas do gene 18S rRNA, região V4

(Continuação)

Chelicerata				Código Genbank
Acari	Subordem	Família	Espécie	
Trombidiformes	Prostigmata	Anystidae	<i>Erythrocarus</i>	AF142109
		Bdellidae	<i>Bdellodes A</i>	AF142118
		Bdellidae	<i>Bdellodes B</i>	AF142119
		Caeculidae	<i>Microcaeculus</i>	AF142110

(Continuação)

Chelicerata				Código Genbank
Acari	Subordem	Família	Espécie	
		Caeculidae	<i>Neocaeculus</i>	AF142111
		Demodicidae	<i>Demodex brevis</i>	HQ727999
		Demodicidae	<i>Demodex canis</i>	HQ727998
		Eriorhynchidae	<i>Eriorhynchus</i>	AF142116
		Erythraeidae	<i>Erythrites</i>	AF142105
		Erythraeidae	<i>Erythrroides</i>	AF142106
		Halacaridae	<i>Aguae</i>	AF142107
		Halacaridae	<i>Halacaropsis</i>	AF142108
		Harpirhynchidae	<i>O. faini</i> sp.n. 1	
		Harpirhynchidae	<i>O. faini</i> sp.n. 2	
		Harpirhynchidae	<i>O. faini</i> sp.n. 3	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. hepatica</i> 1	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. hepatica</i> 2	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. hepatica</i> 3	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. yungicola</i> 1	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. yungicola</i> 2	
		Leeuwenhoekiidae	<i>H. yungicola</i> 3	
		Pterygosomatidae	<i>Geckobia</i> A	AF142113
		Pterygosomatidae	<i>Geckobia</i> B	AF142114
		Pterygosomatidae	<i>G. hemidactyli</i> 1	
		Pterygosomatidae	<i>G. hemidactyli</i> 2	
		Pterygosomatidae	<i>G. hemidactyli</i> 3	
		Rhagidiidae	Gênero não determinado	AF142117
		Teneriffidae	<i>Austoteneriffia</i>	AF142115
		Trombidiidae	Gênero não determinado	AF142123
		Trombidiidae	Gênero não determinado	GQ864280
		Trombiculidae	<i>F. ewingi</i> 1	
		Trombiculidae	<i>F. ewingi</i> 2	
		Trombiculidae	<i>F. ewingi</i> 3	
		Trombiculidae	<i>Hoffmaniella</i>	HM070354
Sarcoptiformes	Astigmata	Gastronyssidae	<i>Yunkeracarus</i>	EU152600
		Psoroptidae	<i>Psoroptes cuniculi</i>	EU152574
			<i>Psoroptes ovis</i>	JQ000241
	Oribatida	Oribatulidae	<i>Oribatula tibialis</i>	EU433990
Mesostigmata		Heterozetidae	<i>Narceoheterozetcon ohioensi</i>	AY620928
		Macronyssidae	<i>O. natricis</i>	FJ911853
		Megisthanidae	<i>Megisthanus floridanus</i>	MGU18SR

Chelicerata				(Conclusão)
Acari	Subordem	Família	Espécie	Código Genbank
Ixodida		Ixodidae	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	L76342
		Ixodidae	<i>Hyalomma rufipes</i>	L76349
		Ixodidae	<i>Amblyomma maculatum</i>	L76344
		Ixodidae	<i>Aponoma latum</i>	L76347
		Ixodidae	<i>Amblyomma tuberculatum</i>	L76345
		Ixodidae	<i>A. variegatum</i>	L76346
		Ixodidae	<i>Ixodes affinis</i>	L76350
		Ixodidae	<i>Ixodes cookei</i>	L76351
		Ixodidae	<i>Ixodes kopsteini</i>	L76352
		Ixodidae	<i>Haemaphysalis inermis</i>	L76338
		Ixodidae	<i>Dermacentor andersoni</i>	L76340
		Ixodidae	<i>Haemaphysalis lesporispalustris</i>	L76348
		Argasidae	<i>Hyalomma dromedarii</i>	L76339
		Argasidae	<i>Argas persicus</i>	L76353
		Argasidae	<i>Argas lahorensis</i>	L76354
		Argasidae	<i>Ornithodoros moubata</i>	L76355
		Argasidae	<i>Otobius megnini</i>	L76356
Arachnida				
Scorpiones		Buthidae	<i>Androctonus australis</i>	X74761
Merostomata				
Xiphosura		Limulidae	<i>Limulus polyphenus</i>	X90467

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015).

As análises filogenéticas foram baseadas nas árvores publicadas em estudos anteriores com o gene 18S V4 de Chelicerata. A árvore de distância por *Neighbour joining* (OTTO; WILSON, 2001) foi reprodutível quando comparada as outras geradas no presente estudo (Figura 54).

Figura 54 – Árvore consenso obtida da análise do gene 18S rRNA V4 para 15 espécies de ácaros Prostigmata

Fonte: [MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015; Adaptada de Otto e Wilson (2001)]

Legenda: Árvore obtida de 15 espécies de ácaros Prostigmata, e o escorpião *Androctonus australis* como “Outgroup”. Análise de distância (distância Jukes-Cantor com Neighbour joining).

A figura 55 representa uma filogenia baseada em caracteres morfológicos, reproduzida das hipóteses filogenéticas previamente publicadas (NORTON et al., 1993; LINDQUIST, 1996). Ela foi utilizada para validar as relações de parentesco entre as famílias e superfamílias dos ácaros encontrados no presente estudo (Figuras 56 a 61).

4.7.1 Árvores filogenéticas da ordem Trombidiformes

As árvores construídas foram obtidas pelo método de máxima verossimilhança (figura 56), máxima parcimônia (figura 57) e análise bayesiana (figura 58). Em todas elas foi usado como “Outgroup” o escorpião *A. australis*. As duas primeiras análises apresentaram ramos fracamente suportados entre as famílias e superfamílias da ordem Trombidiformes.

Figura 55 – Cladogramas baseados em morfologia dos ácaros Trombidiformes

Fonte: A. Adaptado de Otto e Wilson (2001); B Adaptado de “Tree of Life **Trombidiformes** (<http://tolweb.org/Trombidiformes>)”.

Legenda: A. Cladograma de Norton et al. (1993) usado por Otto e Wilson (2001) ressaltando as espécies sequenciadas por eles; B. cladograma de Linquist (1996) baseado na morfologia dos ácaros Trombidiformes.

Figura 58- Árvore filogenética das espécies de ácaros baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pela análise Bayesiana (BA)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Árvore filogenética baseada no gene 18S rRNA V4, pela análise bayesiana (BA) com 38 seqüências de ácaros, utilizando como grupo externo *A. australis*. Números dos nós e ramos correspondem ao valor de probabilidade das árvores com 2.000.000 de gerações.

As amostras dos ácaros sequenciadas no presente trabalho foram agrupadas pelas três análises na superfamília Cheyletoidea [*O. faini* (Harpirhynchidae) e *G. hemidactyli* (Pterygosomatidae)] e na coorte Parasitengona [*H. hepatica* e *H. yungicola* (Leeuwenhoekiidae) e *F. ewingi* (Trombiculidae)]. Porém, as outras famílias ou superfamílias não foram suportadas de acordo com os cladogramas. Em nenhuma das análises foram observadas as relações cladísticas que suportam as supercoortes Anystina, Eleutherengona ou Eupodina (Trombidiformes). As ordens Astigmata e Mesostigmata separaram-se da ordem Trombidiformes (árvores MV e MP), porém os ramos não foram fortemente suportados para esta separação. A análise de MV mostrou os mais fracos suportes de ramos para a superfamília Cheyletoidea (Bootstrap < 50%), mas teve um suporte de ramos satisfatório para a coorte Parasitengona (70% de *Bootstrap*). O gênero *Hoffmaniella* não se agrupou com a família trombiculidae nem mesmo com Leeuwenhoekiidae. A superfamília Cheyletoidea agrupou três famílias: Pterygosomatidae, Harpirhynchidae, Demodecidae. Estas duas últimas foram relacionadas com um suporte de ramos também satisfatório (77% de *Bootstrap*) (Figura 56).

As topologias obtidas pelo método de máxima parcimônia (MP) evidenciaram a separação em dois clados, das sequências obtidas no presente estudo, sendo: coorte Parasitengona, com um fraco suporte de ramos (53% de *bootstrap*), e o gênero *Hoffmaniella* fracamente relacionado com a família Leeuwenhoekiidae (*Hannemania*) (<50% de *bootstrap*) (Figura 57); e na superfamília Cheyletoidea, com suporte muito fraco de ramos, mas com suporte satisfatório para a relação entre as famílias Demodecidae e Harpirhynchidae (79% de *bootstrap*). Diferente da análise de MV, a MP relacionou Astigmata com Mesostigmata, mas o suporte de ramos não foi evidenciado por ser muito fraco (Figura 57).

A análise Bayesiana foi a que demonstrou ter suportes e probabilidades de nós e de ramos mais altas e confiáveis (acima de 0.66). Parasitengona e Cheyletoidea tiveram probabilidades de ramos e nós altas (0.92 e 0.9, respectivamente), sendo que *Hoffmaniella*, nesta análise, ficou no mesmo clado da família Trombiculidae e Trombidiidae. Dessa forma, com base na análise Bayesiana a ordem Trombidiformes parece ser monofilética (suporte de ramos e de nós 0.86) (Figura 58).

4.7.2 Árvores filogenéticas da ordem Trombidiformes em relação aos outros grupos de Acari

Para confirmar a monofilia de Trombidiformes, foram feitas análises de máxima verossimilhança (MV), máxima parcimônia (MP) e análise bayesiana (BA) com as sequências obtidas no presente estudo e aquelas de outras ordens obtidas no GenBank (Quadro 6). O crustáceo da espécie *L. polyphemus* foi utilizado como “*Outgroup*”. Em todas as análises, o grupo Pseudoscorpiones (Arachnida) agrupou-se com ácaros da ordem Mesostigmata.

As topologias obtidas pelo método de MV e MP evidenciaram a separação da superordem Acariformes como grupo monofilético (92% e 94% de *bootstrap*, respectivamente). Nessa superordem permaneceram Trombidiformes (sem suporte de ramos) e Sarcoptiformes (com suporte de ramo satisfatório de 82%). Os Mesostigmata agruparam em Parasitiformes com Ixodida, apresentando suporte de ramos satisfatórios (71%).

A coorte Parasitengona, onde se agruparam os ácaros Trombiculidae e Leewuenhoeikiidae do presente estudo, não apresentou suporte de ramos na análise de MV (valor muito baixo). O gênero *Hoffmaniella* agrupando-se com a família Leeuwenhoeikiidae sem suporte de ramos (figura 59). Por outro lado, a superfamília Cheyletoidea teve um fraco mas visível suporte de ramos (56% de *bootstrap*). No entanto, a relação entre Demodecidae e Harpirhynchidae teve suporte alto (87% de *bootstrap*).

Na análise de MP, a coorte Parasitengona teve um suporte baixo (50% de *bootstrap*) e a superfamília Cheyletoidea não teve suporte, mas a relação entre as famílias Demodecidae e Harpirhynchidae foi fortemente suportada (95% de *bootstrap*). Nesta análise o gênero *Hoffmaniella* ficou fora da superfamília Trombiculoidea e da coorte Parasitengona (Figura 60).

A análise Bayesiana, mais uma vez, foi a que demonstrou ter suportes e probabilidades mais altas e confiáveis (acima de 0.60), evidenciando a monofilia da ordem Trombidiformes, com fortes suportes de ramos e nós (0.99 e 1.00, respectivamente). Parasitengona teve uma probabilidade satisfatória de ramos e nós (0.73 e 0.74, respectivamente) sendo que *Hoffmaniella*, nesta análise, ficou no mesmo clado (Figura 61).

Figura 59 - Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima verossimilhança (MV)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Árvore filogenética baseada no gene 18S rRNA V4, pelo método de máxima verossimilhança (MV), de 47 sequências de ácaros, utilizando como grupo externo o crustáceo *L. polyphemus* (437 caracteres, na base de dados final). Números dos nós correspondem ao valor de suporte (*Bootstrap*) de 500 replicatas. Em destaque o gênero *Hoffmaniella* fora da coorte Parasitengona.

Figura 60 - Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas sequências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pelo método de máxima parcimônia (MP)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Árvore filogenética baseada no gene 18S rRNA V4, pelo método de máxima parcimônia (MP) de 47 sequências de ácaros, utilizando como grupo externo o crustáceo *L. polyphemus* (437 caracteres, na base de dados final). Números dos nós correspondem ao valor de suporte (*Bootstrap*) de 500 replicatas.

Figura 61- Árvore filogenética das espécies de ácaros Trombidiformes e outros Acari, baseada nas seqüências parciais do gene ribossômico 18S rRNA V4, pela análise Bayesiana (BA)

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: Árvore filogenética baseada no gene 18S rRNA V4, pela análise Bayesiana (BA) de 47 seqüências de ácaros, utilizando como grupo externo o crustáceo *L. polyphemus*. Números dos nós e ramos correspondem ao valor de probabilidade das árvores com 2.000.000 de gerações.

Cheyletoidea também teve alta probabilidade de ramos e nós (0.99 e 1 respectivamente). Todos os grupos de ácaros (os analisados no presente estudo e aqueles com sequências no GenBank) mantiveram as relações taxonômicas de superordens e ordens. Mas as relações entre algumas famílias de Trombidiformes dentro das coortes e clados não corroboraram as hipóteses cladísticas baseadas somente em estudos morfológicos.

4.8 EPIDEMIOLOGIA (INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE PATÓGENOS)

Os ácaros investigados para a presença de agentes patogênicos estão apresentados na quadro 13. *Rickettsia* e *Coxiella* não foram detectadas em nenhuma das amostras investigadas. Inicialmente as quatro PCRs realizadas com os *primers* Hep1 e Hep 4 foram positivas para *Hepatozoon*. Para confirmar essa positividade foi feita outra PCR com o *primer* Hep 2, que é mais específico, porém o resultado foi negativo para este patógeno. Não foi detectada a presença de nenhum dos agentes patogênicos nos tecidos dos hospedeiros infestados com os ácaros avaliados (Quadro 14).

Tabela 13 – Resultados das PCRs dos genes para a presença de patógenos nos ácaros amostrados. A: amplificado; NA: não amplificado

(Continuação)

Amostra IBSP	Espécie de ácaro	Genes dos patógenos			
		<i>gltA</i> <i>Rickettsia</i>	<i>cap</i> <i>Coxiella</i>	18s Rrna <i>Hepatozoon</i> (Hep 1 – Hep 4)	18s Rrna <i>Hepatozoon</i> (Hep2)
12084	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12087	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12045	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12047	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12048	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	NA	NA
12072	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	NA	NA
12077	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	NA	NA
12081	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	NA	NA
12082	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12083	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12085	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	NA	NA
12086	<i>G. hemydactyli</i>	NA	NA	A	NA
12079	<i>O. faini</i> sp.n.	NA	NA	NA	NA

(Conclusão)

Amostra IBSP	Espécie de ácaro	Genes dos patógenos			
		<i>gltA</i> <i>Rickettsia</i>	<i>cap</i> <i>Coxiella</i>	18s Rrna <i>Hepatozoon</i> (Hep 1 – Hep 4)	18s Rrna <i>Hepatozoon</i> (Hep2)
12067	<i>E. alfreddugesi</i>	NA	NA	NA	NA
12070	<i>E. alfreddugesi</i>	NA	NA	NA	NA
12071	<i>F. ewingi</i>	NA	NA	NA	NA
12050	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12051	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12058	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12059	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12060	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12061	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12062	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12063	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12066	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12064	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12069	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12073	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12074	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12075	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12076	<i>H. hepatica</i>	NA	NA	NA	NA
12065	<i>H. minor</i>	NA	NA	NA	NA
12049	<i>H. yungicola</i>	NA	NA	NA	NA

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Tabela 14– Espécies de répteis e anfíbios infestados com ácaros, que tiveram seus tecidos investigados para a presença de patógenos, no período de agosto de 2013 a janeiro de 2015

Ordem	Espécie	N	Tecido
Squamata:			
Sauria	<i>H. mabouia</i>	9	F/P
Squamata:			
Ophidia	<i>C. durissis terrificus</i>	1	S
	<i>P. spiniger</i>	15	F
Anura	<i>F. fissilis</i>	1	F
	<i>R. ornata</i>	1	F
Total		27	

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

Legenda: N: número de animais; F: fígado; P: pulmão; S: sangue.

5 DISCUSSÃO

5.1 IDENTIFICAÇÃO DAS ESPÉCIES DE TROMBIDIFORMES E ÍNDICES DE INFESTAÇÃO

Foi possível identificar a maioria dos ácaros de répteis e anfíbios que estava depositada na coleção IBSP. Juntando as informações desse acervo com o material coletado, bem como aquele proveniente da recepção do LECZ, observou-se alta diversidade da acarofauna que parasita vertebrados ectotérmicos e baixa prevalência de infestação. O índice de prevalência de ácaros foi mais baixo para os ofídios do que para os outros hospedeiros investigados.

Estudos prévios mostraram que a herpetofauna em seu estado silvestre tem realmente um baixo índice de prevalência de parasitas em geral (SCHUMACHER, 2006; CORN et al., 2011; FAJFER, 2012), devido ao equilíbrio das relações parasito/hospedeiro. No entanto, normalmente as cargas parasitárias são mais altas em animais de cativeiro, e isto ocorre pelo estresse que compromete a imunidade do animal (PASMANS et al., 2010). A baixa prevalência de hospedeiros infestados no presente estudo, mesmo naqueles mantidos em condições de cativeiro, pode ser explicada pelo fato de que o animal sofre várias interferências antes da vistoria autorizada. Ou seja, os répteis e anfíbios das diferentes origens que chegam à Recepção do LECZ são trocados de recipientes, e os peçonhentos são encaminhados para a produção de soro ou para a pesquisa em outros laboratórios. Em sua maioria, retornam ao LECZ vermifugados e muito manuseados. Portanto, os ectoparasitas se perdem nesse processo mesmo para aquelas espécies de ácaros que parasitam permanentemente os hospedeiros (famílias Pterygosomatidae e Harpirhynchidae).

Na década dos anos 80, no Instituto Butantan, estudos já mostravam alta diversidade de espécies de ácaros nos colubrídeos do Sudeste brasileiro, especialmente em serpentes de vida livre, com baixa carga parasitária (LIZASO, 1983, 1984). Baixos índices de prevalência foram também observados por Fain (1961, 1962) para ácaros Mesostigmata das famílias Entonyssidae e Ixodorhynchidae em serpentes de diferentes origens, depositadas na coleção do Instituto de Ciências Naturais da Bélgica. De qualquer forma o parasitismo não ultrapassou a 3% em nenhum desses estudos.

No caso de animais que ficam em cativeiro, os índices de infestação podem aumentar pelo confinamento, estresse ou pelas condições de higiene durante a quarentena, porém, geralmente, altas cargas parasitárias indicam animais doentes, que sem tratamento vão a óbito (ASHLEY; BURCHFIELD, 1968; JACOBSON, 1993; CAMIN, 1964). Grandes infestações podem modificar o comportamento do hospedeiro. Exemplo disto é o parasitismo pelo ácaro macronissídeo *O. natricis* que causa anemia e debilidade nas serpentes, além do incômodo. Os ofídios parasitados se tornam irritados, agressivos e podem passar longos períodos de tempo dentro da água (WOZNIAK; DENARDO, 2000), interferindo nas atividades de manejo.

No caso dos Saurios, os resultados obtidos mostraram ser distintos. Embora com baixo índice de prevalência nos hospedeiros, todas as lagartixas adultas da família Gekkonidae inspecionadas, estavam infestadas por ácaros pterygosomatídeos. Estudos prévios com parasitas de sáurios mostraram que, tanto em vida livre como em cativeiro, a carga parasitária é alta sem ter danos evidentes no hospedeiro (REARDON; NORBURY, 2004). No entanto, esses autores comentaram que os ácaros podem causar doenças e debilidade em répteis. O impacto direto dos ácaros na saúde dos répteis ainda é pouco claro e as opiniões são ambíguas. Nos poucos estudos histológicos realizados não ficou demonstrado dano significativo nos locais da picada (GOLDBERG; BURSEY, 1991). Porém, Klukowski e Nelson (2001) mostraram que sáurios com uma alta infestação têm um ganho de peso menor, evidenciando danos metabólicos para o hospedeiro. Esses autores observaram ainda que os animais infestados apresentaram atividade reduzida, inflamação local da pele e inchaço ao redor do local de fixação do ácaro.

Os ácaros da família Leeuwenhoekiidae (*Hannemania*) e alguns trombiculídeos foram os principais trombidiformes encontrados nos anfíbios estudados. Apesar da prevalência baixa, a intensidade média de infestação dos ácaros (excetuando *H. minor* em *L. latrans*) foi alta. Essa intensidade de parasitismo e o grau de ingurgitamento dos ácaros produzem lesões nos hospedeiros, como as que foram observadas no presente estudo. As de maior gravidade são aquelas causadas pelas cápsulas que ficam no interior da derme do animal. Em geral, as cápsulas se formam nas áreas dos dedos ou nas pernas, levando à perda dos membros ou dígitos devido à necrose avascular do tecido (BROWN et al., 2006; MENDEZ, 2010).

A espécie de pterigosomatídeo mais frequente foi *G. hemidactyli*. Não se conhece com certeza onde está depositado holótipo desta espécie. É possível que esteja no Museu Iziko em Cape Town (antes conhecido como Museu da África do Sul) ou no Museu Natal, também em

Cape Town (PAREDES-LEÓN et al., 2013). Ambos os museus foram contatados, porém o curador do Museu Iziko confirmou que o tipo não está depositado lá. O curador do Museu Natal não respondeu.

Trata-se de um ácaro hematófago que se caracteriza por sua coloração laranja, escudo dorsal quase imperceptível e dorso coberto de cerdas de diferentes tamanhos. Como ocorre com a maioria dos Pterygosomatidae, *G. hemidactyli* pode se reproduzir partenogeneticamente, por várias gerações em que fêmeas originam fêmeas, e eventualmente pode surgir macho. Os machos são considerados deutoninfas neotênicas, ou seja, são sexualmente maduros e ativos, mas com características de estágios imaturos, como por exemplo, a mobilidade que é exclusiva de deutoninfas, porque as fêmeas não se movimentam (JACK, 1961). O ciclo biológico ocorre na sua totalidade no hospedeiro, onde se diferenciam estágios quiescentes (que não se movimentam) - protoninfas, tritoninfas e fêmeas; e estágio ativo – deutoninfas, que são as formas infestantes. Por causa desse comportamento, para a transmissão do ácaro há necessidade de contato físico direto e prolongado entre os hospedeiros. Alguns autores sugeriram que o principal momento de transmissão é durante a cópula, já que o ácaro só foi encontrado em hospedeiros adultos sexualmente ativos. No presente estudo todos os animais infestados (*H. mabouia*) eram adultos (GIROT 1969; RIVERA et al., 2003).

A prevalência e a intensidade média foram altas para *G. hemidactyli*, sendo que o micro-habitats de preferência foi o *mite Pocket auxiliar* (19.65 %) seguido do *mite Pocket inguinal* 16.77 %. Portanto, essas estruturas são importantes e demonstram adaptações por parte dos hospedeiros para minimizar o efeito de uma carga parasitária alta (ARNOLD, 1986; 1993; BENTON, 1987; BERTRAND; MODRY, 2004). Alguns estudos não encontraram nenhum suporte para essa teoria (BAUER et. al., 1990, 1993). O presente estudo descreve pela primeira vez a existência de *mite pockets* em *H. mabouia* infestados com *G. hemidactyli*, porém, mais estudos são necessários para entender a evolução e função dessas estruturas em sáurios.

O local de preferência de algumas espécies de Pterygosomatidae em gekkonídeos é a região ocular, pela ausência de pálpebras nesses hospedeiros. Os ácaros são encontrados na área periocular e na invaginação entre as escamas perioculares e a uma escama modificada que protege o olho (BERTRAND; INEICH, 1989; BOCHKOV; MIRONOV, 2000; BARRY et al., 2011). Mas os espécimes de *H. mabouia* do presente estudo apresentaram baixa infestação nessas áreas, sendo que as infestações mais altas ocorreram nos *mite pockets*.

Pouco se conhece sobre o impacto tanto do hospedeiro (*H. mabouia*) quanto do ácaro *G. hemidactyli* (os dois exóticos para América do Sul) nas populações de geckos endêmicos do continente Americano. Há registros da presença de pterigosomatídeos em gekkonídeos exóticos em algumas áreas do neártico e da região Australiana (HOFFMANN; MORALES MALACARA, 1985; MESHAKA, 2000; HOSKIN, 2011). Segundo Rivera et al. (2003) *G. hemidactyli* é um parasito estenoxeno pela preferência em parasitar gekos do gênero *Hemidactylus*. No entanto, foi encontrado um lote de *G. hemidactyli* (IBSP 6784) no gekkonídeo *Thecadactylus rapicauda* (Houttuyn) coletado em Tucuruí, PA, mostrando que o parasitismo pode não ser tão específico. Na América do Sul ocorrem 5 espécies de *Geckobia* e no Brasil apenas *G. hemidactyli*. Rivera et al. (2003) relataram que esta espécie de ácaro se distribui em toda América latina sem definir com certeza os locais. Paredes-León et al. (2013) registraram para o Caribe (Cuba) e no presente estudo, foi confirmada a presença em diferentes locais do Brasil, incluindo o estado de São Paulo, sendo todos novos registros de distribuição geográfica e de novo hospedeiro para *T. rapicauda*.

A família Harpirhynchidae foi representada neste trabalho por ácaros do gênero *Ophiotes*. Na América do Sul foram descritas 4 espécies, sendo *O. parkeri* a espécie tipo. No presente estudo foram encontradas 3 espécies na coleção IBSP (*O. brevipilis*, *O. longipilis* e *O. parkeri*) e 2 na recepção de animais do Instituto Butantan (*O. parkeri* e *O. faini* sp. n.). Portanto, o número atual é de 5 espécies para a América do Sul e 4 para o Brasil. O desenvolvimento dos estágios imaturos se dá nos tecidos conjuntivos da pele e escamas. Por causa deste hábito e pela morfologia semelhante aos ácaros Sarcoptiformes, Sambon (1928) nomeou esse gênero como “a sarna das serpentes”, pensando se tratar de sarcoptiformes. No entanto, essa posição taxonômica foi descartada, uma vez que são ácaros da subordem Prostigmata (SOUTHCOTT, 1956).

As espécies *O. brevipilis* e *O. longipilis* foram descritas de vários colubrídeos (LIZASO, 1981), mas as descrições estavam incompletas, ou seja, faltando a quetotaxia e alguns detalhes morfológicos. Por tal motivo, Bochkov et al. (1999) consideraram estas duas espécies como “*incertae sedis*”. Esta condição fez com que as espécies não fossem agrupadas em nenhum dos grupos taxonômicos do gênero (grupos *parkeri* e *schoutedeni*). Sendo assim, as duas espécies foram redescritas e agrupadas no grupo *parkeri*. Este grupo se caracteriza por apresentar uma cerda (V) no fêmur da perna III. A espécie *O. faini* sp. n. também foi incluída nesse grupo, que agora contém 6 espécies, todas da região neártica: *O. brevipilis*, *O. dromicus* Allerd (1958) (Cuba), *O. faini* sp. n. *O. longipilis*, *O. parkeri* e *O. tropicalis* Ewing (1933)

(Guiana Britânica). O grupo *parkeri* é composto então, por ácaros muito próximos em sua morfologia, mas diferenciando-se principalmente pela quetotaxia das pernas, tamanho de algumas cerdas especializadas, tamanho do ácaro e outros caracteres morfológicos únicos de cada espécie. A chave dicotômica preparada para fêmeas e machos de *Ophiotes* da América do Sul inclui 3 espécies que não foram contempladas anteriormente (FAIN, 1964). O tipo de *O. tropicalis* não foi examinado, porém, a espécie foi contemplada na chave de fêmeas, com base na descrição original e redescrição. O macho é desconhecido (EWING, 1933; ALLRED, 1958).

A primeira espécie do gênero *Ophiotes* que parasita serpentes da família Viperidae (*C. durissis terrificus*) é *O. faini* sp. n. no entanto, pouco se conhece sobre a especificidade deste gênero, embora existam relatos da associação das outras espécies de *Ophiotes* com serpentes Colubridae em 4 países da região Neotropical, como Bolívia (SAMBON, 1928), Guiana Britânica (EWING, 1933); Cuba (ALLRED, 1958), Brasil (LIZASO, 1981). De qualquer forma, o parasitismo é raro tanto em Colubridae quanto em Viperidae. É possível que *O. faini* sp. n. seja específica de viperídeos, mas ainda assim não se pode afirmar com certeza, porque dentre centenas de animais vistoriados apenas 1 estava parasitado e com poucos parasitos. Com exceção de *O. tropicalis* que é conhecido da Guiana Britânica, todas as outras espécies ocorrem no Brasil, com *O. faini* sp.n. apenas no estado de São Paulo.

A prevalência de parasitismo de *O. parkeri* foi baixa e poucos ácaros foram encontrados andando livres nos hospedeiros, sendo a maioria, escarificada (raspada) dos tecidos da face ventral da cabeça das serpentes. As serpentes *P. patagoniensis* e *X. merremii* são novos registros de hospedeiro para *O. parkeri*, e as localidades de Itapequerica da Serra e São Paulo são novas localidade de ocorrência no estado. Esta espécie é também a mais amplamente distribuída na América do Sul, sendo registrada parasitando unicamente colubrídeos. No Brasil, distribui-se nas regiões Norte, Centro-Oeste, Sudeste e Sul (SAMBON, 1928; FAIN, 1964; LIZASO, 1981, 1983, 1984).

Não há relatos do impacto que as lesões causadas por *O. parkeri* produzem nos hospedeiros. Mas acredita-se que as cavidades (*pits*) deixadas na pele do animal podem ser porta de entrada para bactérias e outros patógenos. A perda da integridade do tecido conjuntivo do hospedeiro acaba produzindo uma doença conhecida como Disecdise, que não permite a realização de muda apropriada. Dessa forma, a pele retida pode levar às infecções secundárias, que se não tratadas, levam ao óbito (HOPPMANN; BARRON, 2007; WHITE et al., 2011; RAZVI et al., 2012).

O ciclo de vida dos ácaros *Ophioptes* foi relatado de forma sucinta para *O. parkeri*, por Sambon (1928) e Fain (1964). A biologia inclui ovo (colocado dentro da pele do hospedeiro), larva, ninfa e adulto. Larva e ninfa foram descritas como estágios ápodos. No entanto, no presente estudo, foi possível diferenciar 3 ínstares ninfais, sendo que pelo menos dois deles apresentam desenvolvimento de pernas. Os diferentes estágios de *O. faini* sp. n. encontrados na pele do hospedeiro, sugerem 1 protoninfa [instar ápode descrito (SAMBON, 1928; FAIN, 1964), 1 tritoninfa (instar com pernas vestigiais, sem diferenciação sexual, dentro de uma membrana formada pela muda da protoninfa, que denominamos de casúlo) e 1 deutoninfa (instar com pernas desenvolvidas, com diferenciação sexual, ainda dentro do casúlo). Neste sentido, pressupõe-se que a maioria do ciclo de vida destes ácaros acontece dentro da cápsula (que contém todas as fases imaturas, incluindo os casúlos), na pele das serpentes. A fase de vida livre compreende formas adultas e ocorre sobre a pele do hospedeiro por curto período de tempo, ou seja, apenas para o processo reprodutivo e oviposição. Estes ácaros não apresentam ânus, e este pode ser um dos motivos que contribuem para uma sobrevivência curta de adultos após saírem da cápsula. Ácaros da família Demodecidae também não possuem ânus e também são de vida curta no estágio adulto (em média 120 horas) (SPICKETT, 1961; BUKVA, 1984; WALL; SHEARER, 2008; FRANK; POWELL, 2011). Ainda assim, são necessários mais estudos sobre o ciclo de vida dos Ophioptinae para entender os diferentes estágios e conseguir realizar técnicas eficazes de controle por meio desse conhecimento.

O encontro de *O. faini* sp. n. parasitando viperídeos (que geralmente não se alimentam de aves) levanta questionamentos sobre a origem da subfamília Ophioptinae e a relação com a família Harpirhynchidae, que é, primordialmente, uma família de ácaros parasitos de aves. Existe evidência cladística da proximidade entre as subfamílias Ophioptinae e Harpypalpinae (Parasitas de passeriformes). Pensa-se que Ophioptinae originou-se de um ancestral que era parasito de pássaros, e destes migrou para as serpentes (FAIN et al., 1999; BOCHKOV, 2002). Entretanto, o achado de *O. faini* sp. n. em serpente que não inclui aves na sua dieta, pode ser sugestivo que a origem do ancestral tenha ocorrido na divergência dessas duas classes de animais. Mas essas questões necessitam de estudos mais aprofundados (datação molecular, em andamento) para serem respondidas.

Trabalhos prévios ressaltaram a importância da utilização de estudos morfométricos para identificação de ácaros da superfamília Trombiculoidea (STEKOLNIKOV, 2008, 2013; STEKOL'NIKOV; GONZÁLEZ-ACUÑA, 2010), devido à complexidade do grupo. Duas

espécies de Trombiculidae foram obtidas no material de campo e da recepção, *E. alfreddugesi* (Parasitando *P. glabellum* e *R. ictérica*) e *F. ewingi* (parasitando *R. ornata*). Além dessas, outras 3 foram encontradas na coleção IBSP (*E. butantanensis*, *E. ophidica* e *F. travassosi*), totalizando 5 espécies de trombiculídeos obtidas no presente estudo.

A espécie *E. alfreddugesi* forma um complexo de espécies, com baixa especificidade, podendo parasitar anfíbios, répteis, aves e mamíferos, incluindo humanos (DANIEL; STEKOLNIKOV, 2004). A espécie *E. alfreddugesi* encontra-se amplamente distribuída pela América do Sul. Porém, suspeita-se que as identificações, em sua maioria, podem ser de outras espécies (MENEZES et al., 2011), e, por isso deveriam ser citadas como *sensu lato* (JENKINS, 1949). Por conseguinte, é preciso diferenciar este conjunto de espécies por meio de marcadores moleculares que permitam elucidar a posição dos táxons.

No Brasil, há registros de *E. alfreddugesi* parasitando sáurios das regiões Nordeste (DELFINO et al. 2011; MENEZES et al., 2011), Centro-Oeste (CARVALHO et al., 2006) e Sudeste (CUNHA-BARROS et al., 2003), com padrões de altas infestações para sáurios da família Tropiduridae. No entanto, no presente estudo, a prevalência e a intensidade de infestação foram muito baixas nos animais coletados, embora com taxas semelhantes de parasitismo em répteis e anfíbios. Na coleção IBSP foram identificados lotes de *E. alfreddugesi* em sáurios do estado de Mato Grosso. Todos são novos registros de hospedeiros e de ocorrência para os estados do São Paulo e Mato Grosso. O sáurio *P. glabellum* é o primeiro registro da família Gymnophthalmidae como hospedeiro para *E. alfreddugesi*, e o anfíbio *R. ictérica* é primeiro registro de hospedeiro para este ácaro no Brasil. Comparando os achados de *E. alfreddugesi* nos animais coletados e na Coleção IBSP com os dados da literatura, observamos que, apesar da baixa especificidade parasitária, este ácaro é mais frequente em ectorémicos da subordem Sauria, no país.

Algumas espécies do gênero *Trombicula* que parasitam répteis e anfíbios, foram transferidas para *Eutrombicula* por Radford (1942). No entanto, outras espécies como *Trombicula ewingi* Fonseca, 1932 e *T. travassosi* Fonseca, 1936; foram transferidas para *Fonsecia* (RADFORD, 1942; BRENNAN, 1959).

No caso de *Eutrombicula*, embora Radford (1942) tenha transferido a espécie *T. butantanensis* para *E. butantanensis*, a maioria dos trabalhos posteriores continuaram a considerar a revisão de Ewing (1939), na qual este autor sinonimizou esta espécie com *E. alfredugesi* (HOFFMANN, 1990).

Jacinavicius (2015) demonstrou que *E. butantanensis* é uma espécie distinta a *E. alfreddugesi*, com base em estudos morfológicos. No presente estudo, constatamos que realmente os táxons são diferentes. Sendo assim, a espécie é considerada aqui como uma nova combinação (no prelo) ².

Fonseca (1932a) descreveu *E. butantanensis* (descrita como *Trombicula butantanensis*) de um espécime infestando um trabalhador do Instituto Butantan. Fonseca (1932b) descreveu ainda outras duas espécies, *E. ophidica* (descrita como *Trombicula ophidica*) e *F. ewingi* (descrita como *Trombicula ewingi*). Este autor comentou que *E. butantanensis* foi encontrada em *X. merremii*, repetidas vezes, e constatou que o trabalhador citado acima, possivelmente foi picado durante o manuseio dessa serpente. Durante o presente estudo, apesar da vistoria de 13 serpentes desta espécie, nenhuma apresentou infestação por *E. butantanensis*. Este ácaro também não foi encontrado em nenhum outro hospedeiro estudado. Assim os únicos registros são os da coleção IBSP (o tipo e o lote obtido de *X. merremii*), com distribuição geográfica restrita.

A espécie *E. ophidica*, também registrada em *X. merremii* de São Paulo, igualmente parecer ser rara. Embora espécimes deste ofidíio tenham sido vistoriados, nenhum ácaro desta espécie foi observado no material coletado. É provável que o parasitismo seja mais comum em serpentes que vivem em cativeiro, posto que os achados de Fonseca (1932 a,b), referiram-se às serpentes mantidas nessas condições, após chegarem da natureza. Os únicos registros são os dois lotes depositados na Coleção IBSP, um proveniente de Matão, SP e outro de Promissão, SP.

O gênero *Fonsecia* até então era conhecido somente como parasito de répteis. A espécie *F. ewingi* só havia sido relatada para a serpente *X. merremii* (BRENNAN; LOOMIS, 1959). A espécie *F. ewingi* é endêmica do Brasil e foi descrita por Fonseca (1932b) de espécimes coletados em *X. merremii* proveniente do estado do Mato Grosso. Na coleção IBSP, além dos tipos, foi identificado 1 lote de *F. ewingi* obtido do colubrídeo *E. aesculapii* do estado de São Paulo. No material coligido em campo, esse ácaro não foi encontrado em *X. merremii*, mas foi coletado de anfíbios (*R. ornata*), com intensidade alta de infestação, embora com baixa prevalência. Portanto, no presente estudo, este ácaro é registrado pela

² JACINAVICIUS F. C; BASSINI-SILVA, R.; MENDOZA-ROLDAN, J.A.; STEKOLNIKOV, A. A.; BARROS-BATTESTI, D. M. Reinstatement of *Eutrombicula butantanensis* (n. comb.) (Fonseca, 1932) (Trombidiformes: Trombiculidae), and review of *Eutrombicula alfreddugessi* sensu lato (manuscrito em preparação).

primeira vez em anfíbios, e também em *E. aesculapii*, sendo ambos considerados novos registros de hospedeiros. A área de distribuição foi ampliada, incluindo a região Sudeste.

A espécie *F. travassosi* (descrita como *Trombicula travassosi*) é conhecida somente do tipo depositado na coleção IBSP. A larva foi coletada em *S. pullatus* proveniente do estado do Rio de Janeiro (FONSECA, 1936). No presente estudo 14 exemplares de *S. pullatus* foram examinados e nenhum estava parasitado. Brennan e Loomis (1959) dividiram as 7 espécies conhecidas para o gênero *Fonsecaia* em dois grupos (3 espécies asiáticas no grupo *coluberina* e 3 americanas no grupo *ewingi*). A espécie *F. travassosi* foi denominada como um membro aberrante dentro grupo *ewingi* por apresentar caracteres morfológicos diferentes (escudo pentagonal e cerda AM robusta e em formato de raquete). Os autores comentaram ainda, que a espécie é muito rara. Portanto, no presente estudo, o número de Trombiculídeos de répteis e anfíbios foi atualizado para 4 espécies no estado de São Paulo e 5 para o Brasil.

O fato de algumas espécies de trombiculídeos parasitarem duas ou mais classes de animais, sugere menor especificidade fisiológica do que ecológica, como já relatado, previamente na literatura (NADCHATRAM, 1970; CLOPTON; GOLD, 1993 BITTENCOURT; ROCHA, 2003). Segundo Vercammen-Grandjean (1966) há dois tipos de especificidade, fisiológica e ecológica para os ácaros parasitas. A primeira depende do hospedeiro e a segunda depende do biótopo ou habitat em que o ácaro se desenvolve quando não está em parasitismo. Este fato é importante para o entendimento do papel desses ácaros na ecologia das doenças, uma vez que, por serem mais dependentes do ambiente do que propriamente dos hospedeiros, os riscos de zoonoses são maiores (ZHAN et al., 2013).

A família Leeuwenhoekiidae compreende um grupo de ácaros de hábito penetrante, vivendo em cápsulas formadas pela reação inflamatória na pele do hospedeiro. Apesar de serem larvas penetrantes, elas são morfológicamente próximas às larvas dos trombiculídeos. No presente estudo, os ácaros Leeuwenhoekiidae foram encontrados somente nos anuros das famílias Leptodactylidae (*L. latrans* e *P. spiniger*) e Hemiphractidae (*F. fissilis*), enquanto que os trombiculídeos foram obtidos de sapos da família Bufonidae. Todos os Leeuwenhoekiidae encontrados são novos registros de hospedeiros e de ocorrência, com 2 espécies registradas no país pela primeira vez (*H. minor* e *H. yungicola*), totalizando 3 espécies para o estado de São Paulo e 6 para o Brasil. Há relatos de Leeuwenhoekiidae também em bufonídeos de outras regiões (WOHLTMANN et al., 2006).

O gênero *Hannemania* está associado a anfíbios sendo registrado inclusive nas salamandras (família Caudata) (WESTFALL et al., 2008). Foram encontradas 3 espécies no

estado de São Paulo (*H. hepatica*, *H. minor* e *H. yungicola*) cada uma em um hospedeiro diferente e em ambientes diferentes. Portanto, este gênero pode usar os mesmos parasítos (hospedeiros) ou diferentes, mas habitar determinados biótopos. Este comportamento foi relatado para outros ácaros da coorte Parasitengona (WOHLTMANN, 2001; WOHLTMANN et al., 2006).

As espécies de *Hannemania* têm alta especificidade ecológica e baixa especificidade fisiológica. Podem parasitar o mesmo hospedeiro que utiliza estratos diferentes do ambiente, mas também podem parasitar diferentes hospedeiros que usam o mesmo biótopo, evitando competição entre elas. Estas duas alternativas de parasitismo foram observadas no presente estudo.

A espécie *H. yungicola* foi registrada pela primeira vez nos Andes bolivianos (entre 1200 e 1700 metros) com alta precipitação (WOHLTMANN et al., 2006), em um hospedeiro arborícola, *Yunganastes mercedesae* (LYNCH; MCDIARMID, 1987) (citada como *Eleutherodactylus mercedesae*). No presente estudo, as larvas de *H. yungicola* foram encontradas em pererecas, também de hábitos arborícolas, em altitudes superiores a 1700 m. É provável que *H. yungicola* seja específica de hospedeiros de hábitos arborícolas e de ambientes montanhosos com altas precipitações.

Por outro lado, larvas de *H. hepatica* e *H. minor* foram encontradas na mesma localidade (município de Sete Barras, SP), porém, em hospedeiros e biótopos diferentes. Larvas de *H. hepatica* foram coletadas de rãs (*P. spiniger*), em área de Mata Atlântica preservada com alta precipitação e umidade. Por outro lado, as larvas de *H. minor* foram coletadas de dentro da pele de rãs (*L. latrans*), no entorno da área preservada, mas em locais de intervenção agrícola. Estas duas espécies de *Hannemania* compartilham ambientes diferentes dentro da mesma localidade (porque as mesmas espécies hospedeiras utilizam os mesmos ambientes).

A ocorrência destas espécies também parece ser influenciada pela sazonalidade. Foram encontradas mais larvas no mês de dezembro, que marca a temporada ou estação chuvosa com temperaturas quentes. Portanto, embora não se conheça com certeza o ciclo de vida de *H. minor* e *H. hepatica*, presume-se que elas tenham ciclos semelhantes a outros Parasitengona parasitas. Segundo Wohltmann (2000) o ciclo biológico desse grupo inclui 3 estágios ativos pós embrionários. A larva (única fase parasita) pode fazer hipobiose (hibernação dentro da pele do hospedeiro, antes ou após o ingurgitamento). Após completar a alimentação e quando as condições climáticas forem favoráveis, elas emergem da pele para continuar seu ciclo

como ninfa no período seco e frio (que é a temporada onde não foram encontradas larvas nos mesmos hospedeiros). Por tanto para o estado de São Paulo a melhor data de coleta destes ácaros esta no período entre dezembro até fevereiro. A larva de *H. hepatica* foi originalmente descrita de *L. latrans* por Fonseca (1935), que colocou o nome *hepatica* por ter encontrado as larvas, segundo ele “dentro do fígado”. No presente estudo, foi retirado tecido dos hospedeiros como parte da rotina da equipe de herpetologia do IBSP que coleta esse material para estudos genéticos. Não foi observado nenhum ácaro dentro do fígado e nem na cavidade celomática dos hospedeiros. Portanto, é provável que a larva utilizada na descrição da espécie, não tenha sido removida propriamente do fígado, mas sim de camadas mais profundas do tecido adjacente da pele, no terço torácico-celomático.

Até o início do presente estudo eram conhecidas 14 espécies de ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios para todo o território brasileiro (Quadros 1 – 4). Seis delas já tinham sido registradas para o estado de São Paulo. Com base no material e tipos depositados na coleção IBSP e nos ácaros coletados nos animais vistoriados (recepção e campo), esse número aumentou para 12 espécies no estado de São Paulo e 17 para o país. Uma espécie nova foi descrita e 2 foram relatadas pela primeira vez no Brasil. Todos os ácaros coletados representam novos registros de ocorrência e de hospedeiros.

5.2 FILOGENIAS MOLECULARES

Os *primers* (COI 1) só amplificaram a metade das espécies avaliadas, assim como ocorreu no trabalho de Otto e Wilson (2001), possivelmente pela sua inespecificidade. Os outros *primers* (COI 2), mostraram-se filogeneticamente não informativos para avaliação das famílias e superfamílias de Trombidiformes. Das famílias investigadas, há poucas sequências disponíveis, portanto ainda não foi possível obter informações nesse nível taxonômico, nem mesmo para os gêneros e espécies.

Nas análises feitas com o gene 18S V4 rRNA, as árvores filogenéticas baseadas em MV e MP apresentaram pouco suporte de ramos, e dentro da ordem Trombidiformes a maioria das relações entre coortes e famílias não corroboraram as últimas análises cladísticas morfológicas (NORTON et al., 1993; LINDQUIST, 1996). O mesmo foi observado no trabalho de Otto e Wilson (2001) e Pepato et al. (2010). No entanto, as árvores baseadas nas

três análises (MV, MP, BA), sugerem a monofilia da ordem Trombidiformes e o agrupamento das famílias Trombiculidae, Leeuwenhoekiidae, Trombidiidae e Erythraeidae na coorte Parasitengona. Porém, as relações entre essas famílias permanecem extremamente confusas.

Os trombiculídeos, *Hoffmaniella* e *Fonsecia*, que deveriam estar fortemente relacionados nessas análises, só apresentaram relacionamento altamente suportado pela análise Bayesiana. O gênero *Hoffmaniella*, cuja sequência foi depositada no Genbank por Pepato et al. (2010), provavelmente seja de alguma espécie dentro de parasitengona, mas não necessariamente de Trombiculidae. Esses autores comentaram essa possibilidade, uma vez que, as ninfas identificadas por eles podem ser facilmente confundidas com outros membros de Parasitengona, inclusive com outros Trombidiformes. Além disso, a família Leewuenhoekiidae, que deveria ter uma relação mais próxima com Trombiculidae e Trombidiidae, não agrupou com essas famílias, nas três análises realizadas.

As outras duas famílias (Harpirhyinchidae e Pterygosomatidae) agruparam-se na supercoorte Eleutherengona, quando as análises foram comparadas com a cladística morfológica proposta por Norton et al. (1993). Na comparação com a cladística morfológica de Lindquist (1996), essas famílias agruparam-se na superfamília Cheyletoidea.

Como os ácaros do gênero *Ophioptes* (Harpirhyinchidae) não apresentam ânus e não há sequências dessa família no GenBank, foram utilizadas nas análises as sequências de Demodicidae (*Demodex*) que é uma família próxima dentro de Cheyletoidea. O relacionamento de Harpirhyinchidae e Demodicidae foi fortemente suportado. Isso pode significar que estas famílias de ácaros sem ânus formem um clado dentro de Cheyletoidea. Nos estudos de Otto e Wilson (2001) a posição de Pterygosomatidae ficou pouco clara, mas, no presente estudo, esta família agrupou em Cheyletoidea, corroborando a filogenia morfológica de Lindquist (1996).

A análise Bayesiana mostrou ter mais sentido com a filogenia cladística de Lindquist (1996). As relações entre a maioria das famílias de ácaros não ficou muito clara, como visto em estudos anteriores (OTTO; WILSON, 2001; PEPATO et al., 2010; DABERT et al., 2010), porém, as famílias estudadas no presente estudo corroboraram seu posicionamento taxonômico.

A região do gene ribossomal estudada no presente estudo mostrou ser muito conservada, tanto que a maioria dos fragmentos das sequências é idêntica nos ácaros e no escorpião utilizado como grupo externo. Otto e Wilson (2001) relataram esta homologia também. Portanto, é importante em futuros estudos analisar outras regiões do gene 18S rRNA

para determinar qual seria a região mais informativa. Apesar disso, o presente estudo contribuiu com 15 sequências que permitiram incluir outras famílias na filogenia molecular de Trombidiformes.

Ao comparar os Trombidiformes com outros grupos de Chelicerata, as análises de MV e MP mostraram ramos fortemente suportados para a superordem Acariformes, indicando que esse grupo é monofilético. Dentro dessa superordem, a ordem Trombidiformes não teve suporte de ramos e as posições interordinais da ordem não confirmaram a filogenia cladística de Norton et al. (1993) e Lindquist (1996).

Na análise MV, o gênero *Hoffmaniella*, não se agrupou nem mesmo dentro da coorte Parasitengona, indicando novamente que pode não se tratar de um trombiculídeo. Os táxons superiores (ordens e superordens) agruparam similarmente às análises moleculares propostas em outros estudos (OTTO; WILSON, 2001; PEPATO et al., 2010; DABERT et al., 2010). As relações entre Astigmata e Oribatida (ambos da superordem Sarcoptiformes) foram fortemente suportadas. Segundo Maraun et al. (2004) e Dabert et al. (2010) os oribatídeos deram origem aos Astigmata e isso fica evidente em todas as árvores construídas.

A coorte Parasitengona, quando analisada por MP, e a superfamília Cheyletoidea, por MV, mostraram ramos fracamente suportados dentro dos Trombidiformes. A análise Bayesiana, por outro lado, evidenciou concordância com a filogenia morfológica de Norton et al. (1993) e Lindquist (1996), suportando fortemente as relações intraordinais.

Foi observada uma forte relação entre Pseudoscorpiones (Arachnida) e Mesostigmata (Acari), tanto no presente estudo como naqueles realizados anteriormente com o gene 18S rRNA (OTTO; WILSON, 2001, 2004; DABERT et al., 2010; PEPATO et al., 2010). Nesse caso, a monofilia da subclasse Acari não é suportada.

Na sistemática molecular, a avaliação das homologies entre caracteres é feita através do alinhamento de sequências, que é especialmente importante no caso de genes ribossomais que podem variar no número de nucleotídeos. O alinhamento dessas sequências moleculares é a uma questão mais computacional do que biológica. Os esforços são focados na padronização de fórmulas que permitam avaliar nucleotídeos por critérios de similaridade. No entanto, seria ideal padronizar métodos de alinhamento de nucleotídeos que compartilhem a descendência evolutiva (MORRISON, 2006).

Como foi ressaltado por Otto e Wilson (2001), a região do gene 18S rRNA, usado no presente estudo, é um fragmento de mais ou menos 450 pares de bases. A maioria desse fragmento é altamente conservada, ou seja, várias partes das sequências são idênticas nos

ácaros e nos outros táxons usados como grupos externos. Assim os locais mais informativos desse fragmento estão restritos a poucas regiões. Fragmentos maiores do mesmo gene, que permitem descartar partes pouco informativas, têm sido avaliados por Dabert et al. (2010) e Pepato et al. (2010). É importante ressaltar que a região V4, embora seja muito pequena e conservada, deve continuar sendo utilizada porque é informativa. Por outro lado, se os resultados puderem ser comparados com aqueles obtidos de fragmentos maiores, certamente as informações serão mais completas.

As análises filogenéticas feitas no presente estudo, embora utilizando um fragmento muito conservado da região V4, permitiram agrupar os ácaros estudados nos grupos correspondentes aos já posicionados pela cladística morfológica, com suportes de ramos satisfatórios e alta probabilidade Bayesiana.

Ainda assim, as relações intraordinais entre ácaros Parasitengona não ficou clara e requer mais sequências dentro da coorte para confirmar a exclusão de *Leeuwenhoekiidae* da superfamília *Trombiculoidea*.

Dessa forma, para poder diferenciar melhor essas relações intraordinais, seria necessário comparar um número maior de sequências de fragmentos menos conservados, e utilizar os conhecimentos taxonômicos e biológicos dos diferentes grupos para construir uma filogenia mais concisa.

5.3 INVESTIGAÇÃO DA PRESENÇA DE PATÓGENOS

As PCRs das amostras dos ácaros e dos hospedeiros, utilizadas para avaliar a presença de duas bactérias (*Rickettsia* spp. e *Coxiella* spp.) e um protozoário (*Hepatozoon* spp.), foram negativas. Portanto, é sugestivo que nas áreas estudadas, os trombidiformes e seus hospedeiros não participam da cadeia epidemiológica destes patógenos. Porém, também não se pode descartar totalmente a participação desses grupos na epidemiologia das doenças causadas por esses microrganismos, porque poucas amostras puderam ser analisadas.

Há relatos de detecção de *Rickettsia* em *pools* de ácaros trombiculídeos para a Turquia e Japão, mas os ácaros não puderam ser identificados após extração (CHOI et al., 2007; MIŤKOVÁ et al., 2015). No presente estudo foi possível padronizar um protocolo eficiente,

econômico e que permitiu recuperar o material testemunho para posterior identificação, mas todos foram negativos para a presença de patógenos.

No caso de *Coxiella*, alguns trabalhos assinalaram 12 espécies de ácaros, a maioria Mesostigmata, como possíveis participantes do ciclo de transmissão da bactéria (STOENNER et al., 1980; MORO et al., 2005). *Coxiella* ainda não foi isolada em répteis ou anfíbios no Brasil e nem tampouco nos ácaros, mas já foi detectada em animais ectotermos e em carrapatos na Ásia e África (STEPHEN; RAO, 1979; YADAV; SETHI, 1979). Na América do Sul já foi identificada a presença de *Coxiella* em carrapatos da espécie *Amblyomma parvum* (PACHECO et al., 2013).

O protozoário *Hepatozoon* já foi detectado tanto em ácaros Pterygosomatídeos (*Hirstiella* sp.) como em lagartos da família Gekkonidae, em áreas da América Central (LEWIS; WAGNER, 1964), mas em prevalência muito baixa. No presente estudo, a presença de *Hepatozoon* sp. foi detectada pelo par de *primers* HEP-1 e HEP-4. Mas, posteriormente a infecção foi descartada quando os testes foram repetidos com os *primers* HEP-2 que são mais específicos. Existe um relato de infecção por *Hepatozoon* em gekkonídeos, incluindo *H. mabouia* para o Brasil (HARRIS et al., 2014), mas somente 7 de 230 exemplares (3%) estavam infectados. De fato, a taxa de infecção é baixa, mas em nenhum daqueles trabalhos foi utilizada uma análise molecular como a que foi realizada no presente estudo.

É possível ainda que os patógenos investigados sejam encontrados em outras áreas, ou nas mesmas, com amostragens maiores, uma vez que já foram relatados em espécies de répteis e anfíbios e seus ácaros, nos anos 30 e 80 (FONSECA, 1932; ÁVILA-PIRES, 1989).

6 CONCLUSÕES/ CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Foram catalogadas 13 espécies de ácaros Trombidiformes parasitando répteis e anfíbios no estado de São Paulo, com base no material e tipos depositados na coleção IBSP e em coletas de campo.
2. Os bolsos de ácaros “*mite pockets*” são os locais de maior concentração de ácaros em hospedeiros saúrios, e a presença desses bolsos foi constatada no gekonídeo *H. mabouia* pela primeira vez.
3. Registra-se pela primeira vez a presença de *G. hemidactyli* para o estado de São Paulo e *T. rapicauda* é registrado como hospedeiro pela primeira vez no estado do Pará.
4. As espécies *O. brevipilis* e *O. longipilis* foram redescritas e validadas, e foi descrita uma nova espécie de *Ophiotes* (*O. faini* sp. n.) que é a primeira espécie registrada deste gênero em vipérideo (*C. durissus terrificus*). As 3 espécies foram incluídas no grupo *parkeri*.
5. *O. parkeri* foi assinalada em *P. patagoniensis* e *X. merremii*, ambos novos registros de hospedeiros e de localidade no estado de São paulo.
6. Foi proposta a primeira chave dicotômica para adultos do gênero *Ophiotes* da América do Sul.
7. O ciclo biológico do gênero *Ophiotes* possui 3 instares ninfais e foi constatado pela primeira vez que os dois últimos instares apresentam desenvolvimento de pernas.
8. A espécie *E. alfreddugesi* foi assinalada pela primeira vez em *T. oreadicus*, *M. atticulus* e *K. paulensis*, no estado de Mato Grosso. Também foi registrada pela primeira vez em *P. glabellum* no estado de São Paulo.
9. A espécie *R. ictérica* é o primeiro hospedeiro anfíbio assinalado no Brasil para *E. alfreddugesi*.
10. A espécie *T. butantanensis* foi considerada válida e diferente de *E. alfreddugesi* que forma um complexo de espécies.
11. Os tipos depositados na coleção IBSP de *E. ophidica* em *X. merremi* para o estado de São Paulo e de *F. travassosi* em *S. pullatus* para o estado do Rio de Janeiro, são os únicos registros conhecidos destas espécies.

12. A espécie *F. ewingi* é assinalada pela primeira vez parasitando a classe Amphibia (*R. ornata*) e a serpente *E. aesculapii* é primeiro registro de hospedeiro. A área de distribuição de *F. ewingi* foi ampliada, incluindo a região sudeste.
13. A espécie *H. hepatica* foi assinalada pela primeira vez no anuro *P. spiniger* da família Leptodactylidae, sendo endêmica do estado de São Paulo.
14. As espécies *H. minor* e *H. yungicola* são registradas pela primeira vez no Brasil e *F. fissilis* e *L. latrans* são novos registros de hospedeiros.
15. Até o início do presente estudo eram conhecidas 14 espécies de ácaros Trombidiformes de répteis e anfíbios para todo o território nacional. Seis delas já tinham sido registradas para o estado de São Paulo. Com base no material e tipos depositados na coleção IBSP, e nos ácaros coletados nos animais vistoriados (recepção e campo), esse número aumentou para 12 espécies no estado de São Paulo e 17 para o país.
16. O protocolo de extração de DNA com isotocianato de Guanidina (GT) permitiu extrair quantidades satisfatórias de DNA dos ácaros, e permitiu a clarificação e conservação do material testemunho em ótimas condições para posterior identificação.
17. As análises com o gene 18S V4 rRNA suportam a hipótese de que a ordem Trombidiformes é monofilética e que a subclasse Acari é polifilética.
18. As sequências utilizadas nas análises realizadas com o gene 18S V4 rRNA não resolveram as relações entre famílias e superfamílias dentro da ordem Trombidiformes.
19. As famílias Harpirhynchidae e Pterygosomatidae agruparam com a família Demodecidae na superfamília Cheyletoidea, sendo que há uma forte relação entre Harpirhynchidae e Demodecidae.
20. A coorte Parasitengona agrupou as famílias Trombiculidae e Leeuwenhoekiidae, junto com Trombidiidae e Erythraeidae, mas as relações intracoortes não foram resolvidas.
21. Nas amostras de ácaros e de tecidos dos hospedeiros nenhum patógeno foi detectado, sugerindo que, nas áreas estudadas, os trombidiformes de répteis e anfíbios não participam da cadeia epidemiológica de *Rickettsia*, *Coxiella* e *Hepatozoon*.

REFERÊNCIAS

- ALLISON, B.; DESSER, S. S. Developmental stages of *Hepatozoon lygosomarum* (Doré 1919) comb. n. (Protozoa: Haemogregarinidae), a parasite of a New Zealand skink, *Leiopisma nigriplantare*. **The Journal of Parasitology**, Vol. 67, No. 6, p. 852-858, 1981.
- ALLRED, D. M. A new species of pit mite (Acarina: Ophioptidae) infesting snakes. **Herpetologica**, v. 14, n. 2, p. 107-112, 1958.
- ALLRED, D. M. Redescription of *Ophioptes tropicalis* Ewing, 1933 (Acarina, Ophioptidae). **Proceedings of the Entomological Society of Washington**. v. 60, n. 6, p. 287-288, 1958
- ALMEIDA, A. P. **Pesquisa de Rickettsia, Ehrlichia, Anaplasma, Babesia, Hepatozoon e Leishmania em Cachorro-do-mato (Cerdocyon thous) de vida livre do Estado do Espírito Santo**. 2011. 88 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- ALMEIDA, A. P.; SOUZA, T. D.; MARCILI, A.; LABRUNA, M. B. Novel *Ehrlichia* and *Hepatozoon* agents infecting the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in southeastern Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 3, p. 640-646, 2013.
- 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.
- ÁVILA-PIRES, F. D. de. Zoonoses: hospedeiros e reservatórios. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 5, n. 1, p. 82-97, 1989.
- ALZUET, A. D. B.; MAURI, R. A. Ácaros Trombiculidae del género *Hannemania* Oudemans, endoparásitos de anfibios. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v. 44, n. 2, p. 111-116, 1987.
- ASHLEY, B. D.; BURCHFIELD, P. M. Maintenance of a snake colony for the purpose of venom extraction. **Toxicon**, v. 5, n. 4, p. 267-275, 1968.
- ARNOLD, E. N. Mite pockets of lizards, a possible means of reducing damage by ectoparasites. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 29, n. 1, p. 1-21, 1986.
- ARNOLD, E. N. Comment-Function of the mite pockets of lizards: an assessment of a recent attempted test. **Canadian journal of zoology**, v. 71, n. 4, p. 862-864, 1993.
- ARTHUR, D. R. Ticks and diseases. **International Series of Monographs on Pure and Applied Biology**, v. 9, p. 445, 1962.
- ATTADEMO, A. M.; PELTZER, P. M.; LAJMANOVICH, R. C.; JUNGES, C., BASSÓ, A.; CABAGNA-ZENKLUSEN. M. Trombiculid mites (*Hannemania* sp.) in *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura) inhabiting selected soybean and rice agroecosystems of Argentina. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**: official publication of the American Association of Zoo Veterinarians, v. 43, n. 3, p. 579, 2012.

AUDY, J. R.; HARRISON, J. L. Malaysian parasites. I. Collections made in Malaya by the Colonial Office Scrub Typhus Unit. **Studies from the Institute for Medical Research, Federated Malay States**, V. 26, P. 1-22, 1954.

AUDY, J. R. Note on the taxonomy of Trombiculid Mites with description of a new subgenus. **Malaysian Parasites IX, Kuala Lumpur, by Smith**, p. 123-170, 1954.

BANNERT, B.; KARACA, H. Y.; WOHLTMANN, A. Life cycle and parasitic interaction of the lizard-parasitizing mite *Ophionyssus gallotocolus* (Acari: Gamasida: Macronyssidae), with remarks about the evolutionary consequences of parasitism in mites. **Experimental & applied acarology**, v. 24, n. 8, p. 597-613, 2000.

BARRY, M.; PEIRCE, M. A.; HEATH, A. C.; BRUNTON, D. H.; BARRACLOUGH, R. K. A new blood parasite within the relict endemic New Zealand gecko *Hoplodactylus duvaucelii*. **Veterinary Parasitology**, v. 179, n. 1, p. 199-202, 2011.

BAUER, A. M.; RUSSELL, A. P.; DOLLAHON, N. R. Skin folds in the gekkonid lizard genus *Rhacodactylus*: a natural test of the damage limitation hypothesis of mite pocket function. **Canadian Journal of Zoology**, v. 68, n. 6, p. 1196-1201, 1990.

BAUER, A. M.; RUSSELL, A. P.; DOLLAHON, N. R. Function of the mite pockets of lizards: a reply to EN Arnold. **Canadian journal of zoology**, v. 71, n. 4, p. 865-868, 1993.

BECK, W.; PFISTER, K. [Mites as a cause of zoonoses in human beings]. **Wiener klinische Wochenschrift**, v. 118, n. 19-20, p. 27-32, 2005. Supplement, 3.

BEQUAERT, J. *Amblyomma dissimile* Koch, a tick indigenous to the United States (Acarina: Ixodidae). **Psyche: a journal of entomology**, v. 39, n. 1-2, p. 45-47, 1932.

BENTON, M. J. The mite pockets of lizards. **Nature**, v. 325, p. 391-392, 1987.

BÉRNILS, R. S.; COSTA, H. C. Répteis brasileiros: Lista de espécies. versão 2012.1. **Sociedade Brasileira de Herpetologia**: <http://www.sbherpetologia.org.br/>.(último acesso em 02/05/2013).[Links], 2012.

BERON, P. Deuxieme contribution a l'étude des acariens parasites des reptiles: *Ophioptes beshkovi* sp. n.(Ophioptidae) et *Hemilaelops piger* (Berl.)(Ixodorhynchidae) de Bulgarie. **Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences**, v. 27, p. 689-692, 1974.

BERTRAND, M.; INEICH, I. Repartition des Pterygosomatidae du genre *Geckobia* megnin, 1878, Ectoparasites du gecko *Gehyra oceanica* (Lesson, 1826), en Polynesie Francaise. **Acarologia**, 1989.

BERTRAND, M.; PEDRONO, M. Euryxénie et sténoxénie du genre *Geckobia* Mégnin (Actinedida: Pterygosomatidae): Récolte de *Geckobia enigmatica* n. sp. sur une tortue terrestre malgache (*Geochelone yniphora*). **Acarologia**, v. 40, n. 2, p. 147-153, 1999.

BERTRAND, M.; PAPERNA, I.; FINKELMAN, S. Pterygosomatidae: descriptions et observations sur les genres Pterygosoma, Geckobia, Zonurobia et Hirstiella (Acari: Actinedida). **Acarologia**, v. 40, n. 3, p. 275-304, 1999.

BERTRAND, M. Morphologic adaptations to parasitism on reptiles: Pterygosomatidae (Prostigmata: Raphignathina). In: BERNINI F. **Acarid phylogeny and evolution: adaptation in mites and ticks**. Springer Netherlands, 2002. p. 233-240.

BERTRAND, M.; MODRY, D. The role of mite pocket-like structures on Agama caudospinosa (Agamidae) infested by Pterygosoma livingstonei sp. n. (Acari: Prostigmata: Pterygosomatidae). **Folia parasitologica**, v. 51, n. 1, p. 61-66, 2004.

BIBERSTEIN, E. L.; HIRSH, D. C. Agentes Rickettsiais de doenças animais; as Riquétsias. In: HIRSH, D. C.; ZEE, Y. C. (Ed.). **Microbiologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003. p. 273-275.

BITTENCOURT, E. B.; ROCHA, C. F. D. Host-ectoparasite specificity in a small mammal community in an area of Atlantic Rain Forest (Ilha Grande, State of Rio de Janeiro), Southeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 793-798, 2003.

BOCHNER, R.; STRUCHINER, C. J. Epidemiologia dos acidentes ofídicos nos últimos 100 anos no Brasil: uma revisão Snake bite epidemiology in the last 100 years in Brazil: a review. **Cad. Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 7-16, 2003.

BOCHKOV, A. V.; MIRONOV, S. V.; FAIN, A. Phylogeny and host parasite relationships of the mite family Harpirhynchidae (Acari: Prostigmata). **Acarina**, v. 7, p. 69-87, 1999.

BOCHKOV, A. V.; MIRONOV, S. V. Two new species of the genu Geckobia (Acari: Pterygosomatidae) from geckons (Lacertilia: Gekkonomorpha) with a brief review of host-parasite associations of the genu. **Russian Journal of Herpetology**, v. 7, n. 1, p. 51-58, 2000.

BOCHKOV, A. V. The classification and phylogeny of the mite superfamily Cheyletoidea (Acari, Prostigmata). **Entomological Review**, v. 82, n. 6, p. 643-664, 2002.

BOCHKOV, A. V.; O'CONNOR, B. M. [A review of the external morphology of the family pterygosomatidae and its systematic position within the Prostigmata (Acari: Acariformes)]. **Parazitologiya**, v. 40, n. 3, p. 201-214, 2006.

BOCHKOV, A.V.; OCONNOR, B. M. A new mite superfamily Cloacaroidea and its position within the Prostigmata (Acariformes). **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 2, p. 335-344, 2008.

BONORRIS, J. S.; BALL, GORDON H. *Schellackia occidentalis* n. sp., a Blood-inhabiting Coccidian Found in Lizards in Southern California. **The Journal of Protozoology**, v. 2, n. 1, p. 31-34, 1955.

BRENNAN, J. M.; LOOMIS, R. B. A review of the reptile chiggers, genu *Fonsecia* (Acarina, Trombiculidae), with descriptions of two new American species. **The Journal of parasitology**, v. 45, n. 1 p. 53-64, 1959.

BRENNAN, J. M. Three new species of subgenus *Parasecia* Loomis (genus *Fonsecia*) from northeastern Brazil and a key to the included species (Acarina: Trombiculidae). **The Journal of Parasitology**, v. 55, n. 3, p. 662-666, 1969.

BRENNAN, J. M. Chiggers from the Bolivian-Brazilian border (Acarina: Trombiculidae). **The Journal of Parasitology**, v. 56, n. 4, p. 807-812, 1970.

BRENNAN, J. M.; REED, Jack T. The genus *Eutrombicula* in Venezuela (Acarina: Trombiculidae). **The Journal of parasitology**, v. 60, n. 4, p. 699-711, 1974.

BRENNAN, J. M.; GOFF, M. LEE. Keys to the genera of chiggers of the western hemisphere (Acarina: Trombiculidae). **The Journal of parasitology**, v. 63, n. 3, p. 554-566, 1977.

BROWN, J. D.; KEEL, M. K.; YABSLEY, M. J.; THIGPEN, T.; MAERZ, J. C. Clinical challenge. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 37, n. 4, p. 571-573, 2006.

BUKVA, V. *Demodex foveolator* sp. n. (Acari: Demodicidae), a new epidermis-dwelling parasite of *Crocodylus suaveolens* (Pallas, 1821). **Folia Parasitologica (Praha)**, v. 31, p. 42-52, 1984.

BURRIDGE, M. J. Ticks (Acari: Ixodidae) spread by the international trade in reptiles and their potential roles in dissemination of diseases. **Bulletin of entomological research**, v. 91, n. 01, p. 3-23, 2001.

BURRIDGE, M. J.; SIMMONS, L. A. Exotic ticks introduced into the United States on imported reptiles from 1962 to 2001 and their potential roles in international dissemination of diseases. **Veterinary parasitology**, v. 113, n. 3, p. 289-320, 2003.

CAMIN, J. H. Mite transmission of a hemorrhagic septicemia in snakes. **The Journal of parasitology**, v. 34, n. 4, p. 345-354, 1948.

CAMIN, J. H.; CLARKE, G. K.; GOODSON, L. H.; SHUYLER, H. R. Control of the snake mite, *Ophionyssus natricis* (Gervais) in captive reptile collections. **Zoologica**, v. 49, n. 2, p. 65-79, 1964.

CAMIN, J. H.; MOSS, W. W.; OLIVER JR, J. H.; SINGER, G. Cloacaridae, a new family of Cheyletoid mites from the cloaca of aquatic turtles (Acari: Acariformes: Eleutherengona). **Journal of Medical Entomology**, v. 4, n. 3, p. 261, 1967.

CHANG, L.; JACOBSON, E. R. Inclusion body disease, a worldwide infectious disease of boid snakes: a review. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 19, n. 3, p. 216-225, 2010.

CHOI, Y. J., LEE, E. M., PARK, J. M., LEE, K. M., HAN, S. H., KIM, J. K.; JANG, W. J. Molecular detection of various rickettsiae in mites (Acari: Trombiculidae) in southern Jeolla Province, Korea. **Microbiology and immunology**, v. 51, n. 3, p. 307-312, 2007.

CLOPTON, R. E.; GOLD, R. E. Distribution and seasonal and diurnal activity patterns of *Eutrombicula alfreddugesi* (Acari: Trombiculidae) in a forest edge ecosystem. **Journal of medical entomology**, v. 30, n. 1, p. 47-53, 1993.

- CORN, J. L.; MERTINS, J. W.; HANSON, B.; SNOW, S. First reports of ectoparasites collected from wild-caught exotic reptiles in Florida. **Journal of medical entomology**, v. 48, n. 1, p. 94-100, 2011.
- CUNHA-BARROS, M.; VAN SLUYS, M.; VRCIBRADIC, D.; GALDINO, C. A. B.; HATANO, F. H.; ROCHA, C. F. D. Patterns of infestation by chigger mites in four diurnal lizard species from a restinga habitat (Jurubatiba) of Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 63, n. 3, p. 393-399, 2003.
- CUNHA-BARROS, M.; ROCHA, C. F. D. Parasitism By Mites *Eutrombicula Alfredugesi* (Trombiculidae) On Two Sympatric Species Of Mabuya (Sauria: Scincidae): The Effect Of Habitat On Prevalence And Intensity Of The Parasites. **Oecologia Australis**, v. 1, n. 01, p. 307-316, 2010.
- CRIADO-FORNELIO, A., RUAS, J., CASADO, N., FARIAS, N., SOARES, M., MIILLERT, G., & BARBA-CARRETERO, J. C. New molecular data on mammalian *Hepatozoon* species (Apicomplexa: Adeleorina) from Brazil and Spain. **The Journal of parasitology**, v. 92 n.1, p. 93-99, 2006
- DANIEL, M.; STEKOL'NIKOV, A. A. Chigger mites of the genu *Eutrombicula* Ewing, 1938 (Acari: Trombiculidae) from Cuba, with the description of three new species. **Folia parasitologica**, v. 51, n. 4, p. 359-366, 2004.
- DA SILVA, F. R.; ROSSA-FERES, D. C. Influence of terrestrial habitat isolation on the diversity and temporal distribution of anurans in an agricultural landscape. **Journal of Tropical Ecology**, v. 27, n. 03, p. 327-331, 2011.
- DABERT, M.; WITALINSKI, W.; KAZMIERSKI, A.; OLSZANOWSKI, Z.; DABERT, J. Molecular phylogeny of acariform mites (Acari, Arachnida): strong conflict between phylogenetic signal and long-branch attraction artifacts. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 1, p. 222-241, 2010.
- DE CARVALHO, A. L. G; DE ARAÚJO, A. FB; SILVA, H. R. da. Patterns of parasitism by *Eutrombicula alfreddugesi* (Oudemans) (Acari, Trombiculidae) in three species of *Tropidurus* Wied (Squamata, Tropiduridae) from Cerrado habitat of central Brazil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 23, n. 4, p. 1010-1015, 2006.
- DE CERQUEIRA ROSSA-FERES, D.; SAWAYA, R. J.; FAIVOVICH, J.; GIOVANELLI, J. G. R.; BRASILEIRO, C. A., SCHIESARI, L.; HADDAD, C. F. B. Anfíbios do Estado de São Paulo, Brasil: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11, n. 1a, p. 1-19, 2011.
- DE LA CRUZ, K. D.; MORANDO, M; AVILA, L. Description of a new pterygosomatid mite (Acari, Actinedida: Pterygosomatidae) parasitic on *Liolaemus* spp. (Iguania: Liolaemini) from Argentina. **Magnolia Press**, v. 521, p.1-6, 2004.
- DELFINO, M. M. S.; RIBEIRO, S. C.; FURTADO, I. P., ANJOS, L. A.; ALMEIDA, W. O. Pterygosomatidae and Trombiculidae mites infesting *Tropidurus hispidus* (Spix,

1825)(Tropiduridae) lizards in northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 71, n. 2, p. 549-555, 2011.

DIVERS, S. J.; MADER, D. R. (Ed.). **Reptile medicine and surgery**. Elsevier Health Sciences, 2005.

DOMROW, R.; LESTER, L. N. Chiggers of Australia (Acari: Trombiculidae): and annotated checklist, keys and bibliography. **Australian Journal of Zoology**, v. 33, n. 114, p. 1-111, 1985.

DUELLMAN, W E. Information On Amphibians And Reptiles. **Brass Knuckles Marketing LLC**, 2014.

ESPINO DEL CASTILLO, A.; PAREDES-LEÓN, R.; MORALES-MALACARA, J. B. Presence of intradermal chigger mite *Hannemania hylae* (Ewing, 1925) (Acari: Leeuwenhoeikiidae) in the troglophile frog *Eleutherodactylus longipes* (Anura: Brachycephalidae) at Los Riscos Cave, Querétaro, Mexico. **International Journal of Acarology**, v. 37, n. 5, p. 427-440, 2011.

EWING, H. E. A new pit-producing mite from the scales of a South American snake. **The Journal of Parasitology**, v. 20, n. 1, p. 53-56, 1933.

FACCINI, J. L. H.; LUZ, H R. Parasitismo por carrapatos em Anuros no Brasil. Revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, p. 100-111, 2013.

FAIN, A. Les Acariens parasites endopulmonaires des Serpents (Entonyssidae: Mesostigmata). **Bulletin de l'Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique**, v. 37, p. 1-135, 1961

FAIN, A. Les Acariens Mesostigmatiques ectoparasites des Serpentes. **Institut Royal des Sciences Naturelles de Belgique**, v.38, p. 1-133, 1962

FAIN, A. **Les Ophioptidae acariens parasites des écailles des serpents, Trombidiformes**. Institut royal des Sciences Naturelles de Belgique, 1964.

FAIN, A. Ophioptidae de l'Angola (Acarina: Trombidiformes). **Services Culturels Companhia de Diamantes de Angola, Lisboa**, v. 77, p. 107-114, 1965.

FAIN, A. **Notes sur les acariens de la famille Cloacaridae camin et al: parasites du cloaque et des tissus profonds des tortues (Cheyletoidea: Trombidiformes)**. Ad. Goemaere, 1968.

FAIN, A.; SMILEY, R. L. A new cloacarid mite (Acari: Cloacaridae) from the lungs of the great horned owl, *Bubo virginianus*, from the USA. **International Journal of Acarology**, v. 15, n. 2, p. 111-115, 1989.

FAIN, A.; BOCHKOV, A. V.; MIRONOV, S. V. A contribution to the systematics of the mite family Harpirhynchidae (Acari: Cheyletoidea). **Acarologia**, v. 40, n. 1, p. 37-54, 1999.

FAJFER, M. Acari (Chelicerata)-parasites of reptiles. **Acarina**, v. 20, n. 2, p. 108-129, 2012.

FAJFER, M.; ACUÑA, DANIEL GONZÁLEZ. Pterygosomatid mites of a new species group ligare (Acariformes: Pterygosomatidae: Pterygosoma) parasitizing tree iguanas (Squamata: Liolaemidae: Liolaemus). **Zootaxa**, v. 3693, n. 3, p. 301-319, 2013.

FAJFER, M. Redescription of *Pterygosoma patagonica* (Acariformes: Pterygosomatidae) with new host and distribution data. **International Journal of Acarology**, v. 40, n. 2, p. 160-164, 2014.

FAJFER, M. Mites of the new species group nitidus (Acariformes: Pterygosomatidae: Geckobia), parasites of lizards in South America. **Systematic parasitology**, v. 90, n. 2, p. 213-220, 2015.

FLAJNIK, M. F. The immune system of ectothermic vertebrates. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 54, n. 1, p. 145-150, 1996.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, n. 4, p. 783-791, 1985.

FONSECA, FLAVIO. Notas de acarologia XXIII. Novas espécies de Trombiculinae dos gêneros *Trombicula*, *Hannemania* e *Neoshongastia* **Memórias do Instituto Butantan**, v. 10, p. 25, 1935.

FONSECA, F. Notas de acarologia I. Papel dos acarinos do gênero *trombicula* na transmissão das rickettsias patogênicas e aplicação dessa hipótese à *Rickettsia brasiliensis*. **Mem Inst Butantan**, v. 7, p. 129-133, 1932.

FONSECA, F. da. Notas de acarologia V. *Trombicula butantanensis* sp. n. (Acarina, Trombididae). **Mem. Inst. Butantan (Sao Paulo)**, v. 7, p. 147-50, 1932a.

FONSECA, F. da. Notas de acarologia VI. Duas novas espécies de larvas do gênero *Trombicula*: *Trombicula ophidica* sp n. e *Trombicula ewingi* sp. n (Acarina, Trombididae); nota sobre *Trombicula butantanensis* Fl. DA Fonseca, 1932 e sobre a inexistência de *T. akamushi* (Brumpt, 1910) entre nós. **Mem. Inst. Butantan (Sao Paulo)**, v. 7, p. 152-58, 1932b.

FONSECA, F. da. Notas de acarologia. XXIII -Novas Especies de Trombiculinae dos Generos *Trombicula*, *Hannemania* e *Neoschongastia*. **Mem. Inst. Butantan** v. 10 p . 47-50, 1935

FRANK, N. L. S.; POWELL, C. Demodex mites—commensals, parasites or mutualistic organisms?. **Dermatology**, v. 222, p. 128-130, 2011.

GARCÍA, C.; PEÑA, A. C. B.; CASTAÑEDA, G.; LAZCANO, D. Infestación y distribución corporal de la nigua *Eutrombicula alfreddugesi* (Acari: Trombiculidae) en el lacertilio de las rocas *Sceloporus couchii* (Sauria: Phrynosomatidae). **Acta Zoologica Mexicana (ns)**, v. 20, n. 2, p. 159-165, 2004.

GIROT, B. Étude du cycle de *Geckobia latastei* et *Geckobia loricata*, acariens parasites du gecko *Tarentola mauritanica*. **Vie et Milieu**, v. 19, p. 63-141, 1969.

GIROUD, P. Les rickettsioses en Afrique équatoriale. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 4, n. 4, p. 535, 1951.

GOFF, M. L.; LOOMIS, R. B.; WELBOURN, W. C.; WRENN, W. J A glossary of chigger terminology (Acarina: Trombiculidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 19, n. 3, p. 221-238, 1982.

GOLDBERG, S. R.; BURSEY, C. R. Integumental lesions caused by ectoparasites in a wild population of the side-blotched lizard (*Uta stansburiana*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 27, n. 1, p. 68-73, 1991.

GOODWIN, M. H. Observations on the biology of the lizard mite *Geckobiella texana* (Banks) 1904 (Acarina: Pterygosomatidae). **The Journal of parasitology**, p. 54-59, 1954.

GRANDJEAN, F.. Les segments post-larvaires de l'hystérosoma chez les Oribates (Acarins). **Bulletin de la Société zoologique de France**, v. 64, p. 273-284, 1939.

GRANDJEAN, F. Observations sur les acariens de la famille des Stigmaeidae. **Archives des Sciences physiques et naturelles**, v. 26, n. 5, p. 103-131, 1944.

GRANDJEAN, F. Au sujet de l'organe de Claparede, des eupathides multiples et des taenidies mandibulaires chez les Acariens actinochitineux. **Archives des Sciences physiques et naturelles**, v. 28, p. 63-87, 1946.

GRIFFITHS, D. A.; BOWMAN, C. E. (Eds.). **Acarology VI**. v. 2, 1984.

HARRIS, D. J.; BORGES-NOJOSA, D. M.; MAIA, J. P.. Prevalence and diversity of *hepatozoon* in native and exotic geckos from Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 80-85, 2014.

HIJMANS, R. J.; GUARINO, L.; BUSSINK, C.; MATHUR, P.; CRUZ, M.; BARRENTES, I.; ROJAS, E. **DIVA-GIS. Vsn. 5.0. A geographic information system for the analysis of species distribution data. Manual. International Potato Center. Lima, Perú, 2004.**

HOFFMANN, A.; MORALES MALACARA, J. B.. Una especie nueva de *Geckobia* (Acarida: Pterygosomatidae) colectada en México. **Smith VII**, 1986.

HOFFMANN A. Estudio monografico de los trombiculideos de Mexico (Acarina: Trombiculidae). **Primera parte. Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biologicas Mexico**, v. 18, p.191-263. 1970

HOFFMANN, A. **Los trombicúlidos de México (Acarida: Trombiculidae): Parte taxonómica**. UNAM, 1990.

HOPPMANN, E.; BARRON, H. W. Dermatology in reptiles. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 16, n. 4, p. 210-224, 2007.

HOSKIN, C. J. The invasion and potential impact of the Asian House Gecko (*Hemidactylus frenatus*) in Australia. **Austral Ecology**, v. 36, n. 3, p. 240-251, 2011.

HUELSENBECK, J. P.; RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. **Bioinformatics**, v. 17, n. 8, p. 754-755, 2001.

HULL, R.W.; CAMIN, J.H. Haemogregarine in snakes: the incidence and identity of the erythrocytic stages. **J. Parasitol.**, v.46, p.515-523, 1960.

JONGEJAN, F. Experimental transmission of *Cowdria ruminantium* (Rickettsiales) by the American reptile tick *Amblyomma dissimile* Koch, 1844. **Experimental & applied acarology**, v. 15, n. 2, p. 117-121, 1992.

JACINAVICIUS, F. C. **Ácaros trombiculídeos (Trombidiformes: Trombiculidae) de pequenos mamíferos dos estados de São Paulo e Paraná: estudos morfológicos e moleculares da presença de Rickettsia** 2015. 105 p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

JACK, K. M. New species of near eastern agamid scale-mites (Acarina, Pterygosomidae) with notes on the developmental stages of *Geckobia hemidactyli* Law., 1936. **Parasitology**, v. 51, n. 1-2, p. 241-256, 1961.

JACOBSON, E. R. Implications of infectious diseases for captive propagation and introduction programs of threatened/endangered reptiles. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 24, n. 3, p. 245-255, 1993.

JENKINS, D. W. A laboratory method of rearing chiggers affecting man (Acarina: Trombiculidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 40, n. 1, p. 56-68, 1947.

JENKINS, D. W. Trombiculid Mites Affecting Man Iv. Revision of *Eutrombicula* in the American Hemisphere. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 42, n. 3, p. 289-318, 1949.

KAZAR, Jan. *Coxiella burnetii* infection. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1063, n. 1, p. 105-114, 2005.

KIEL, J. L.; GONZALEZ, Y.; PARKER, J. E.; ANDREWS, C.; MARTINEZ, D.; VACHIER, N.; LEFRANCOIS, T. Viral association with the elusive rickettsia of viper plague from Ghana, West Africa. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1149, n. 1, p. 318-321, 2008.

KLUKOWSKI, M.; NELSON, C. E. Ectoparasite loads in free-ranging northern fence lizards, *Sceloporus undulatus hyacinthinus*: effects of testosterone and sex. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 49, n. 4, p. 289-295, 2001.

KOLEBINOVA M. G. Acariformes, Trombidioidea: Trombiculidae, Leeuwenhoeekiidae. The Fauna of Bulgaria. **Bulgarian Academy of Science**, Sophia v. 21. P. 172, 1992

KRAUS, F.; BRAYSHER, M.; WALTER, L.; BROWN, L. Risk assessment model for the import and keeping of exotic reptiles and amphibians. **Bureau of Rural Sciences**, 2005.

KRANTZ, G. W.; WALTER, D. E. A manual of acarology. **Lubbock**. 2009.

KRUSE, H.; KIRKEMO, A.; HANDELAND, K.. Wildlife as source of zoonotic infections. **Emerging infectious diseases**, v. 10, p. 2067-2072, 2004.

KUDRYASHOVA, N. I. Chigger mites (Acariformes, Trombiculidae) of East Palaearctics. **Sbornik Trudov Zoologicheskogo Muzeya MGU**, 1998.

KULP, W. L.; BORDEN, D. G. Further studies on *Proteus hydrophilus*, the etiological agent in "red leg" disease of frogs. **Journal of bacteriology**, v. 44, n. 6, p. 673, 1942.

KUO, M. M.; LANE, R. S.; GICLAS, P. C. A comparative study of mammalian and reptilian alternative pathway of complement-mediated killing of the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 6, p. 1223-1228, 2000.

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 Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. **Journal Clinical Microbiology**, v. 42, p. 90-98, 2004.

LANE, R. S. Susceptibility of the western fence lizard (*Sceloporus occidentalis*) to the Lyme borreliosis spirochete (*Borrelia burgdorferi*). **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 42, n. 1, p. 75-82, 1990.

LARKIN, M. A.; BLACKSHIELDS, G.; BROWN, N. P.; CHENNA, R.; MCGETTIGAN, P. A.; MCWILLIAM; HIGGINS, D. G. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**, v. 23, n. 21, p. 2947-2948, 2007.

LEVIN, M.; LEVINE, J. F.; YANG, S.; HOWARD, P.; APPERSON, C. S. Reservoir competence of the southeastern five-lined skink (*Eumeces inexpectatus*) and the green anole (*Anolis carolinensis*) for *Borrelia burgdorferi*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 54, n. 1, p. 92-97, 1996.

LINDQUIST, E. E. 1.5. 2 Phylogenetic relationships. **World Crop Pests**, v. 6, p. 301-327, 1996.

LIZASO, N. M. Acaros ectoparasitas de serpentes. Descrição de *Ophioptes longipilis* sp. n. e *Ophioptes brevipilis* sp. n. (Trombidiformes, Ophioptidae). **Memórias do Instituto Butantan**. v. 44 – 45, p. 377 -381, 1981.

LIZASO, N. M. Levantamento da fauna acarológica ectoparasita de serpentes não venenosas do Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 1, n. 3, p. 203-209, 1983.

LIZASO, N. M. Fauna acarológica ectoparasita de serpentes não venenosas da região de construção de hidrelétricas (Sudeste, Centro-Oeste e Sul) do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 2, n. 2, p. 77-84, 1984.

LOMBERT, H. A. P. M.; MOSS, W. W. Description and developmental cycle of *Harpypalpoides lukoschusi* gen. et sp. nov. (Acari: Harpyrhynchidae: Harpypalpinae) from the

Eurasian Blackbird, *Turdus merula* (Aves: Passeriformes: Turdidae). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 135, p. 163-176, 1983.

MCALLISTER, C. T., BURSEY, C. R., ROBISON, H. W.; CONNIOR, M. B. Parasites of the Ozark zig-zag salamander, *Plethodon angusticlavius* (Caudata: Plethodontidae), from northern Arkansas. **Comparative Parasitology**, v. 80 n. 1, p. 69-79, 2013.

MARAUN, M.; HEETHOFF, M.; SCHNEIDER, K.; SCHEU, S.; WEIGMANN, G.; CIANCIOLO, J.; NORTON, R. A. Molecular phylogeny of oribatid mites (Oribatida, Acari): evidence for multiple radiations of parthenogenetic lineages. **Experimental & applied acarology**, v. 33, n. 3, p. 183-201, 2004.

MARQUES, O. A. V.; NOGUEIRA, C.; MARTINS, M.; SAWAYA, R. J. Impactos potenciais das mudanças propostas no Código Florestal Brasileiro sobre os répteis brasileiros. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 39-41, 2010.

MARQUES, S.; DAL COL, R.; MATOS JÚNIOR, M. O. D.; GONÇALVES, E. F. B.; PINTER, A.; LABRUNA, M. B. Parasitism of *Amblyomma fuscum* (Acari: Ixodidae) on humans. **Ciência Rural**, v. 36 n. 4, p. 1328-1330. 2006

MARQUARDT, W H. (Ed.). **Biology of disease vectors**. Academic Press, 2004.

MAURIN, M.; RAOULT, D. Q fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 12, n. 4, p.518-553, 1999.

MENDEZ, D.; FREEMAN, A. B.; SPRATT, D. M.; SPEARE, R. Pathology of cutaneous trombidiosis caused by larval trombiculid mites in a wild Lesueur's tree frog (*Litoria wilcoxii*). **Australian veterinary journal**, v. 88, n. 8, p. 328-330, 2010.

MENEZES, V. A.; FONTES, A. F.; GETTINGER, D.; VAN SLUYS, M.; ROCHA, C. F. D. A. Morphometric study of *Eutrombicula alfreddugesi* (Acari: Trombiculidae) infesting four sympatric species of *Tropidurus* (Squamata: Tropiduridae) in northeastern Brazil. **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, v. 10, n. 1, p. 79-84, 2011.

MESHAKA, Walter E. Colonization dynamics of two exotic geckos (*Hemidactylus garnotii* and *H. mabouia*) in Everglades National Park. **Journal of Herpetology**, v. 34, n. 1 p. 163-168, 2000.

MIŤKOVÁ, K.; BERTHOVÁ, L.; KALÚZ, S.; KAZIMÍROVÁ, M.; BURDOVÁ, L.; & KOCIANOVÁ, E. First detections of *Rickettsia helvetica* and *R. monacensis* in ectoparasitic mites (Laelapidae and Trombiculidae) infesting rodents in south-western Slovakia. **Parasitology research**, v. 114, p. 1-8, 2015.

MIYAJIMA, M.; OKUMURA, T. On the life cycle of the "akamushi," carrier of Nippon river fever. **Kitasato Arch. Exper. Med**, v. 1, p. 1-14, 1917.

MONTGOMERY, D. F.. **A Taxonomic Study of the Lizard Mites (Pterygosomidae) Occurring in the Gulf of California Area**. 1966. 50p. Tese (Doutorado). Texas Tech University. USA. 1966

MORO, C. V.; CHAUVE, C.; ZENNER, L. Vectorial role of some dermanyssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanyssoidea). **Parasite**, v. 12, n. 2, p. 99-109, 2005.

MORRISON D.A. L. A. S. JOHNSON. REVIEW No. 8. Multiple sequence alignment for phylogenetic purposes. **Australian Systematic Botany** v. 19, n. 6, p. 479-539, 2006

NADCHATRAM, M. Correlation of habitat, environment and color of chiggers, and their potential significance in the epidemiology of scrub typhus in Malaya (Prostigmata: Trombiculidae). **Journal of medical entomology**, v. 7, n. 2, p. 131-144, 1970.

NADCHATRAM, M. The genu *Iguanacarus*, new status (Acari: Prostigmata: Trombiculidae), with description of a new species from the tracheae of amphibious sea snakes. **Journal of Medical Entomology**, v. 17, n. 6, p. 529-532, 1980.

NADCHATRAM, M. A review of endoparasitic acarines of Malaysia with special reference to novel endoparasitism of mites in amphibious sea snakes and supplementary notes on ecology of chiggers. **Trop. Biomed**, v. 23, n.1, p. 1-22, 2006.

Burridge M. J. Non-Native and Invasive Ticks. Threats to Human and Animal Health in the United States. **Florida Entomologist**, v. 94, n. 4, p. 1097-1097, 2011.

NEWELL, I. M.; RYCKMAN, R. E. *Hirstiella pyriformis* sp. n.(Acari, Pterygosomidae), a new parasite of lizards from Baja California. **The Journal of parasitology**, v. 50, n. 1, p. 163-171, 1964.

NORTON, R. A.; KETHLEY, J. B.; JOHNSTON, D. E.; O'CONNOR, B. M.; WRENSCH, D. L.; EBBERT, M. A. Phylogenetic perspectives on genetic systems and reproductive modes of mites. **Evolution and diversity of sex ratio in insects and mites**. p. 8-99, 1993.

NORVAL, R. A. I.; MACKENZIE, P. K. I. The transmission of *Cowdria ruminantium* by *Amblyomma sparsum*. **Veterinary Parasitology**, v. 8, n. 2, p. 189-191, 1981.

O'CALLAGHAN M. G.; CARMICHAEL, I. H.; FINNIE, J. W.; CONAGHTY, S. Lesions Associated with Infestation of a Yellow-footed Rock Wallaby (*Petrogale xanthopus xanthopus*) with Larvae of *Odontacarus* (*Leogonius*) *adelaideae* (Womersley)(Acarina: Trombiculidae) in South Australia. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 30, n. 2, p. 257-259, 1994.

O'CONNOR, B. M. Phylogenetic relationships among higher taxa in the Acariformes, with particular reference to the Astigmata. **Acarology VI/editors, DA Griffiths and CE Bowman**, 1984.

O'DWYER, L. H.; MOÇO, T. C.; BARRELLA, T. H.; VILELA, F. C.; SILVA, R. J. Prevalence of *Hepatozoon* spp.(Apicomplexa, Hepatozoidae) among recently captured Brazilian snakes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 3, p. 309-314, 2003.

OLANO, J. P. Rickettsial infections. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1063, p. 187-196, 2005.

OLIVER, J. H.; HAYES, M. P.; KEIRANS, J. E.; LAVENDER, D. R. Establishment of the foreign parthenogenetic tick *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) in Florida. **Journal of Parasitology**, 79, 786-786, 1993

OUDEMANS, Anthonie Cornelis. Acarologische Aanteekeningen CIII. **Entomologische berichten**, v. 8, p. 97-101, 1930.

OTTO, Jürgen C.; WILSON, Kate J. Assessment of the usefulness of ribosomal 18S and mitochondrial COI sequences in Prostigmata phylogeny. In: **Acarology: Proceedings of the 10th International Congress**. CSIRO PUBLISHING, p. 100-109, 2001.

PACHECO, R. C.; ECHAIDE, I. E.; ALVES, R. N.; BELETTI, M. E.; NAVA, S.; LABRUNA, M. B. *Coxiella burnetii* in ticks, Argentina. **Emerging infectious diseases**, 19(2), 344. 2013

PAREDES-LEON, R.; KLOMPEN, H.; PÉREZ, T. M. Systematic revision of the genera *Geckobiella* Hirst, 1917 and *Hirstiella* Berlese, 1920 (Acari: Prostigmata: Pterygosomatidae) with description of a new genus for American species parasites on geckos formerly placed in *Hirstiella*. **Zootaxa**, v. 3510, p. 1-40, 2012.

PAREDES-LEÓN, R.; CUERVO-PINEDA, N.; PÉREZ, T. M. Ácaros pterigosomátidos de Cuba, con la descripción de una especie nueva de *Bertrandiella* (Acari: Prostigmata: Pterygosomatidae). **Revista mexicana de biodiversidad**, v. 84, n. 4, p. 1142-1152, 2013.

PAROLA, P.; VESTRIS, G.; MARTINEZ, D.; BROCHIER, B.; ROUX, V. E. R. O. N. I. Q. U. E.; & RAOULT, D. Tick-borne rickettiosis in Guadeloupe, the French West Indies: isolation of *Rickettsia africae* from *Amblyomma variegatum* ticks and serosurvey in humans, cattle, and goats. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 60, n. 6, p. 888-893, 1999.

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

PASMANS, FRANK; BLAHAK S.; MARTEL A. ; PANTCHEV N.; Introducing reptiles into a captive collection: the role of the veterinarian. **The Veterinary Journal**, v. 175, n. 1, p. 53-68, 2008.

PENCE, D. B.; CASTO, S. D. Two new species of the genus *Caminacarus* (Acarina: Cloacaridae) from turtles in Louisiana. **The Journal of parasitology**, p. 133-138, 1975.

PENCE, D. B.; WRIGHT, Scott D. *Chelonacarus elongatus* n. gen., n. sp. (Acari: Cloacaridae) from the cloaca of the green turtle *Chelonia mydas* (Cheloniidae). **The Journal of parasitology**, p. 835-839, 1998.

PEPATO, A. R.; DA ROCHA, C. EF; DUNLOP, J. A. Phylogenetic position of the acariform mites: sensitivity to homology assessment under total evidence. **BMC Evolutionary Biology**, v. 10, n. 1, p. 235, 2010.

- PETER, T. F.; BURRIDGE, M. J.; MAHAN, S. M. Competence of the african tortoise tick, *Amblyomma marmoreum* (acari: ixodidae), as a vector of the agent of heartwater (*Cowdria ruminantium*). **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 438-441, 2000.
- PRASAD, V.. A new genu and species of pterygosomatid mite (Acarina: Pterygosomatidae) from India. **International Journal of Acarology**, v. 1, n. 2, p. 14-17, 1975.
- RADFORD, C. D. The larval Trombiculinae (Acarina, Trombididae) with descriptions of twelve new species. **Parasitology**, v. 34, n. 01, p. 55-81, 1942.
- RADFORD, C. D. Larval and nymphal mites (Acarina; Trombiculidae) from Ceylon and the Maldiv islands. **Parasitology**, v. 37, n. 1-2, p. 46-54, 1946.
- RADULOVIC, S.; FENG, H. M.; MOROVIC, M.; DJELALIJA, B.; POPOV V.; CROCQUET-VALDES, P.; WALKER, D. H Isolation of *Rickettsia akari* from a patient in a region where Mediterranean spotted fever is endemic. **Clinical infectious diseases**, v. 22, n. 2, p. 216-220, 1996.
- RAOULT, D.; FOURNIER, P. E.; EREMEEVA, M.; GRAVES, S.; KELLY, P. J.; OTEO, J. A.; SEKEYOVA, Z.; TAMURA, A.; TARASEVICH, I.; ZHANG, L. Naming of Rickettsiae and Rickettsial Diseases. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1063, p. 1-12, 2005.
- RAZVI, R.; SURI, S.; TIKOO, A. Ecdysis in snakes. **North-East Veterinarian**, v. 12, n. 3, 2012.
- REARDON, J. T.; NORBURY, G. Ectoparasite and hemoparasite infection in a diverse temperate lizard assemblage at Macraes Flat, South Island, New Zealand. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 6, p. 1274-1278, 2004.
- REICZIGEL, J.; RÓZSA, L. Quantitative Parasitology 3.0. **Budapest. Distributed by the authors**, 2005.
- REZENDE, J. M.; LOFEGO, A. C.; NÁVIA, D.; ROGGIA, S. Mites (Acari: Mesostigmata, Sarcoptiformes and Trombidiformes) associated to soybean in Brazil, including new records from the Cerrado areas. **Florida Entomologist**, v. 95, n. 3, p. 683-693, 2012.
- REEVES, W. K.; LOFITS, A. D.; SANDERS, F.; SPINKS, M. D.; WILLS, W.; DENISON, A. M.; DASCH, G. A. Borrelia, Coxiella and Rickettsia in *Carios capensis* (Acari: Argasidae) from a brown pelican (*Pelecanus occidentalis*) rookery in South Carolina, USA. **Experimental & Applied Acarology**, v. 39, p. 321-329, 2006.
- RIVERA, C. M., NEGRÓN, A. G., BERTRAND, M. I. C. H. E. L., & ACOSTA, J. A. I. M. E. Hemidactylus mabouia (Sauria: Gekkonidae), host of Geckobia hemidactyli (Actinedida: Pterygosomatidae), throughout the Caribbean and South America. **Caribbean Journal of Science**, v.39, n. 3, p. 321-326, 2003.
- RODRIGUES, M. T. The conservation of Brazilian reptiles: challenges for a megadiverse country. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 659-664, 2005.

SAMBON, L. W. *Ophiotes parkeri*. A new species and genu of Cheyletid inhabitingf the scales of reptiles. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 22, n. 1, p. 137-142, 1928.

SAHNI, S. K.; RYDKINA, E. Host-cell interactions with pathogenic Rickettsia species. **Future Microbiology**, v. 4, p. 323-339, 2000

SCHUMACHER, J. Selected infectious diseases of wild reptiles and amphibians. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 15, n. 1, p. 18-24, 2006.

SCOLA, B. Current laboratory diagnosis of Q fever. In: **Seminars in pediatric infectious diseases**. WB Saunders, 2002. p. 257-262.

SEGALLA, M. V.; CARAMASCHI, U.; CRUZ, C. A.; GARCIA, P. C. A.; GRANT, T.; HADDAD, C. F. B., LANGONE, J. (2012). Brazilian amphibians–List of species. **Sociedade Brasileira de Herpetologia**: <http://www.sbherpetologia.org.br> (último acesso em 05/07/2015).[Links].

SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; CRESPI, B.; LIU, H.; FLOOK, P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Annals of the entomological Society of America**, v. 87, n. 6, p. 651-701, 1994.

ŠIROKÝ, P.; KUBELOVÁ, M.; MODRÝ, D.; ERHART, J.; LITERÁK, I.; ŠPITALSKÁ, E.; KOCIANOVÁ E. Tortoise tick *Hyalomma aegyptium* as long term carrier of Q fever agent *Coxiella burnetii*—evidence from experimental infection. **Parasitology research**, v. 107, n. 6, p. 1515-1520, 2010.

SPICKETT, S. G. Studies on *Demodex folliculorum* Simon (1842). I. Life history. **Parasitology**, v. 51, n. 1-2, p. 181-192, 1961.

SOCOLOVSKI, C.; MEDIANNIKOV, O.; RAOULT, D.; PAROLA, P. The relationship between spotted fever group Rickettsiae and Ixodid ticks. **Veterinary research**, v. 40, n. 2, p. 1-20, 2009.

SOUTHCOTT, R. V. Description of a new genu and species of larval trombiculid mite from New Guinea. **Transactions of the Royal Society of South Australia**, v. 77, p. 98-102, 1954.

SOUTHCOTT, R. V. Notes on the Acarine genu *Ophiotes*, with a description of a new australian species. In: **Trans. Roy. Soc. South Australia**. 1956. p. 142-147.

STEKOL'NIKOV, A. A.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D. Four new species of chigger mites (Acari: Trombiculidae) of the genu *Eutrombicula* from Chile. **International Journal of Acarology**, v. 36, n. 4, p. 313-325, 2010.

STEKOLNIKOV, A. A. Two new species of chigger mites (Acari: Trombiculidae) close to *Neotrombicula minuta*, application of nonlinear multivariate statistics. Acarina. **Russian Journal of Acarology**, v. 16, p. 21-29, 2008.

- STEKOLNIKOV, A. A.; DANIEL, M.. Chigger mites (Acari: Trombiculidae) of Turkey. **Zootaxa**, v. 3216, p. 1-104, 2012.
- STEKOLNIKOV, A. A.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D. A revision of the chigger mite genus *Paratrombicula* Goff & Whitaker, 1984 (Acari: Trombiculidae), with the description of two new species. **Systematic parasitology**, v. 83, n. 2, p. 105-115, 2012.
- STEKOLNIKOV, A. A. Leptotrombidium (Acari: Trombiculidae) of the world. **Zootaxa**, v. 3728, n. 1, p. 1-173, 2013.
- STENOS, J.; GRAVES, S.; POPOV, V. L.; WALKER, D. H. *Aponomma hydrosauri*, the reptile-associated tick reservoir of Rickettsia honei on Flinders Island, Australia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 69, n. 3, p. 314-317, 2003.
- STEPHEN, S.; RAO, K. N. Coxiellosis in reptiles of South Kanara district, Karnataka. **The Indian journal of medical research**, v. 70, p. 937-941, 1979.
- STOENNER, H. G. et al. Q fever. **Steele, JH (Editor-in-Chief): CRC handbook series in zoonoses. Section A: bacterial, rickettsial, and mycotic diseases. Volume II.**, p. 337-352, 1980.
- TAKAHASHI, M.; MISUMI, H.; URAKAMI, H.; NAKAJIMA, S.; FURUI, S.; YAMAMOTO, S; MATSUMOTO, I. Mite vectors (Acari: Trombiculidae) of scrub typhus in a new endemic area in northern Kyoto, Japan. **Journal of medical entomology**, v. 41, n. 1, p. 107-114, 2004.
- TAMURA, K., STECHER, G., PETERSON, D., FILIPSKI, A., & KUMAR, S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular biology and evolution**, v. 30 n,12, p. 2725-2729, 2013.
- TRÄGÅRDH, I.; JÄGERSKIÖLD, L. Acariden aus Ägypten und dem Sudan: Zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte der Gattungen Phytoseptipalpus, Pimeliophilus, Pterygosoma und Podapolipus. **Upsala Nya Tidnings Aktiebolag** 1905.
- TELFORD Jr., S.R. Reptilian hemoparasites. In: HOFF G.L.; FRYE, F.L; JACOBSON, E.R. (Eds.). **Diseases of amphibians and reptiles**. New York: Plenum Publishing Corporation, 1984. p.385-517.
- TELFORD JR, S R. **Hemoparasites of the Reptilia: Color atlas and text**. CRC Press, 2008.
- TRYPHONAS, H.; FOURNIER, M.; BLAKLEY, B. R.; SMITS, J.; BROUSSEAU, P. (Ed.). **Investigative immunotoxicology**. CRC Press, 2014.
- UETZ, P. The original descriptions of reptiles. **Zootaxa**, v. 2334, p. 59-68, 2010.
- VERCAMMEN-GRANDJEAN, P. H. Introduction a un essai de classification rationnelle des larves de Trombiculinae Ewing 1944 (Acarina-Trombiculidae). **Acarologia**, v. 2, n. 4, p. 469-471, 1960.

VERCAMMEN-GRANDJEAN, Paul H. Evolutionary Problems of Mite-Host Specificity and Its Mteterance to Studies on Galapagos Organisms. In: **The Galápagos: Proceedings of the Symposia of the Galápagos International Scientific Project**. Univ of California Press, p. 236, 1966.

VERCAMMEN-GRANDJEAN, P. H. The chigger mites of the far east (acarina: trombiculidae and leeuwenhoekiidae). an illustrated key and a synopsis; some new tribes, genera and subgenera. **California University San Francisco Medical Center**, p. 140, 1968.

VERCAMMEN-GRANDJEAN, P.; LANGSTON, P. L.. The chigger mites of the world (Acarina, Trombiculidae & Leeuwenhoekiidae). **George Williams Hooper Foundation, University of California**, p. 197, 1976.

ZAHER, H., BARBO, F. E., MARTÍNEZ, P. S., NOGUEIRA, C., RODRIGUES, M. T.; SAWAYA, R. J. Répteis do Estado de São Paulo: conhecimento atual e perspectivas. **Biota Neotropica**, v. 11 n.1a, p. 1-15, 2011.

WALL, R.; SHEARER, D. **Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control**. John Wiley & Sons, 2008.

WALKER, JANE B.; OLWAGE, A. The tick vectors of *Cowdria ruminantium* (Ixodoidea, Ixodidae, genu Amblyomma) and their distribution. **The Onderstepoort journal of veterinary research**, v. 54, n. 3, p. 353-379, 1987.

WALTER, D. E. Glossary of acarine terms. **Walter DE (2006) Lucid**, v. 3, 2006.

WHARTON, G. W.; JENKINS, D. W.; BRENNAN, J. M.; FULLER, H. S.; KOHLS; G. M.; PHILIP, C. B. The terminology and classification of trombiculid mites (Acarina: Trombiculidae). **The Journal of parasitology**, p. 13-31, 1951.

WHARTON, G. W.; FULLER, H. S. A Manual of the Chiggers. The Biology, Classification, Distribution, and Importance to Man of the Larvae of the Family Trombiculidae (Acarina). **Memoirs of the Entomology Society of Washington**, n. 4, 1952.

WESTFALL, M. C.; CECALA, K. K.; PRICE, S. J.; DORCAS, M. E. Patterns of trombiculid mite (*Hannemania dunni*) parasitism among plethodontid salamanders in the western Piedmont of North Carolina. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 631-634, 2008.

WHITE, S. D.; BOURDEAU, P., BRUET, V.; KASS, P. H., TELL, L.; HAWKINS, M. G. Reptiles with dermatological lesions: a retrospective study of 301 cases at two university veterinary teaching hospitals (1992–2008). **Veterinary dermatology**, v. 22, n. 2, p. 150-161, 2011.

WOHLTMANN, A. Closely related species of Parasitengonae (Acari: Prostigmata) inhabiting the same areas: features facilitating. In: **Acarology: proceedings of the 10th international congress**. CSIRO PUBLISHING, p. 121. 2001.

WOHLTMANN, A. The evolution of life histories in Parasitengona (Acari: Prostigmata). **Acarologia**, v. 41, n. 1/2, p. 145-204, 2000.

WOHLTMANN, A; KÖHLER, J.; MARTIN, P. Endoparasitic mite infections of anuran amphibians from Bolivian montane rain forests, with descriptions of two new Hannemania species (Acari: Parasitengona: Trombiculidae: Leeuwenhoeikiinae). **Organisms Diversity & Evolution**, v. 6, n. 2, p. 141-150, 2006.

WOLFENBARGER, K. A. Systematic and biological studies on North American chiggers of the genu Trombicula, subgenu Eutrombicula (Acarina, Trombiculidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 45, n. 4, p. 645-677, 1952.

WOZNIAK, E.J.; TELFORD Jr., S.R. The fate of *Hepatozoon* species naturally infecting Florida Back Racers and watersnakes in potencial mosquito and soft tick vectors, and histologic evidence of pathogenicity in unnatural hostspecies. **International Journal for Parasitology** , v.21, p.511-516, 1991.

WOZNIAK, E. J.; DENARDO, D. F. The biology, clinical significance and control of the common snake mite, *Ophionyssus natricis*, in captive reptiles. **Journal of Herpetological Medicine and Surgery**, v. 10, n. 3-4, p. 4-10, 2000.

XUE, X.; ZHANG, Z. An analysis of and index to new Acari described in Systematic & Applied Acarology (1996–2007). **Systematic & Applied Acarology**, v. 13, p. 279-304, 2008.

YADAV, M. P.; SETHI, M. S. POIKILOTHERMS AS RESERVOIRS OF Q-FEVER (*Coxiella burnetii*) IN UTTAR PRADESH 1 2. **Journal of wildlife diseases**, v. 15, n. 1, p. 15-17, 1979.

ZHAN, Y. Z., GUO, X. G., S., J. R., ZUO, X. H., Wu, D., WANG, Q. H., & YANG, Z. H. Abundances and host relationships of chigger mites in Yunnan Province, China. **Medical and veterinary entomology**, v. 27 n. 2, p.194-202, 2013.

APENDICE A – Tabela de Mensurações das espécies de *Ophiopetes* examinada. Quetotaxia do gnatossoma e idiossoma

Espécies	Tipo	Gnatossoma				Idiossoma				
		Cerda ventro-basal	Cerda latero-basal	Cerda tarsal anterior	Cerda tarsal posterior	Cerdas escapulares	Cerdas dorsais anteriores	Cerdas dorsais posteriores	Cerdas genitais	Cerdas coxais
<i>Ophiopetes Parkeri</i>	Holótipo ♂	15 -18	12 -15	18	9 -11	13 -15	18 -30	8-10	-	18 - 20
<i>Ophiopetes Parkeri</i>	Parátipo ♀	18	18	10	15 -18	10 - 12	15	8 -10	11 -18	18 - 20
<i>Ophiopetes Parkeri</i>	n = 2 ♀	17 - 18	18	9 - 11	15 - 17	10 - 12	14 - 16	8 -10	10 -15	17 - 20
<i>Ophiopetes Brevipilis</i>	Holótipo ♀	9 - 9.7	6 - 7	15 - 16	9 - 10	12 - 13	18 - 29	6 -10	17 - 19	8 - 9
<i>Ophiopetes Brevipilis</i>	Parátipo ♂ (n=3)	11 -12	15 - 15,5	22 - 22,5	16 - 17	13 - 13,5	6 - 19	-	-	12 -15
<i>Ophiopetes longipilis</i>	Holótipo ♀	12 - 13	16 - 17	18 - 18,5	8 - 8,5	18 - 19	22 - 32	9 - 12	12 - 15	8 - 9
<i>Ophiopetes longipilis</i>	Parátipo ♂ (n=3)	13 - 14	10 - 11	16 - 17	9 - 10	18 - 19	14 - 42	13 - 15	-	11 - 19
<i>Ophiopetes faini</i> sp. n.	Holótipo ♀	39 - 40	13 - 14	27 -28	15 - 16	11 - 12	43 - 50	12 -13	22 - 23	8 - 9
<i>Ophiopetes faini</i> sp. n.	Parátipo ♂ (n=2)	24 - 25	13	18 - 19	14 - 16	12 - 13	11 - 34	10 - 13	-	22 - 24

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)

APENDICE B- Tabela das mensurações das espécies de *Ophiopetes* examinadas. Quetotaxia das pernas

(Continua)

		<i>Ophiopetes faini</i> sp. n.				<i>Ophiopetes brevipilis</i>				<i>Ophiopetes longipilis</i>				<i>Ophiopetes parkeri</i>			
		♂ =2	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO	♂ =3	♀ HOLO
Trocâter	I	V	20	33,7	11	12	16	18	15	18	16	15	18	15	16	15	18
	II	V	21	27	15	18	24	19	15	19	24	15	15	15	24	15	15
	III	V	18	22,6	15	25,4	33	14	15	14	33	15	18	15	33	15	18
		D	74	82	48	63	68	61	45	61	68	45	45	45	68	45	45
	IV	V	21	29	16	24	16	23	15	23	16	15	18	15	16	15	18
		D	67	83	37	54	57	55	45	55	57	45	45	45	57	45	45
	I	V	39	69,7	16	41	26	46	85	46	26	85	90	85	26	90	90
		D	53	72,2	43	67	72	53	40	53	72	40	50	40	72	50	50
Fêmur	II	V	55	86,6	11	62	40	28	90	28	40	90	85	90	40	90	85
	III	V	66	96	35	79	66	46	90	46	66	90	90	90	66	90	90
		V	13	15,38	10	16 (ESPINHO)	14	14	13	14	14	13	13	13	14	13	13
	I	D1	43	22	12	-	32	-	15	-	32	15	15	15	32	15	15
Genu	I	D2	158,5	175	88	167	116	117	80	117	116	80	108	80	116	108	108
		V	13	18,6	15	15	13	14	13	14	13	13	15	13	13	15	15
	II	D1	20	40	10	-	-	13	12	13	-	12	11	12	-	11	11
		D2	178	120	140	145	170	146	125	146	170	125	150	125	170	150	150
	II	A1	15,7	20	12	20	19	15	13	15	19	13	15	13	19	13	15
		A2	-	21,7	11	17	18	13	12	13	18	12	11	12	18	11	11
	I	D	68	97,5	34	73	60	54	35	54	60	35	45	35	60	45	45
		A1	21	22,4	12	17	24	19	16	19	24	16	16	16	24	16	16
Tíbia	II	A2	-	-	14	13	15	14	12	14	15	12	12	12	15	12	12
		D	83	90	48	87	40	51	42	51	40	42	50	42	40	50	50
	III	A1	20	20	17	19	29	23	18	23	29	18	18	18	29	18	18
		D	185	247	58	93	89	90	60	90	89	60	75	60	89	75	75
IV	IV	A1	23	32	19	22	34	29	20	29	34	20	22	20	34	20	22
		D	150	193	79	136	97	115	108	115	97	108	120	108	97	120	120

(Conclusão)											
Tarso	A	45	52	38	45	45	33	25	39		
	V1	13	20	9	14	9	15	8 - 13	8 - 15		
	DF 1										
	+ 2	16 - 19	24 - 25	16 - 18	18 - 22	15 - 17	15 - 18	15	18		
	D1	93	78,2	50	61	68	68	52	54		
	P1	12	15	7	19	13	20	12	14		
	P2	27	38	23	20	48	31	32	30		
	A	48	38	35	55	49	57	30	36		
	V1	16	22	15	17	14	12	8 - 13	8 - 15		
	DF 1										
	+ 2	11 - 18	19 - 25	15 - 18	17 - 27	22	16 - 20	16	18		
	D1	73	89,5	66	61	81	66	60	60		
	P1	16	27	17	17	19	-	13	15		
	P2	48	39	42	39	36	34	36	30		
	V1	28	42	13	15	13	25	9 - 16	10 - 16		
II	DF 1										
	+ 2	17 - 19	19 - 25	16 - 29	23 - 28	18 - 20	22 - 26	19	20		
	D1	105	92	51	101	116	88	95	110		
	P1	75	43	37	15	86	72	15	15 - 18		
	V1	27	39	10	18	23	22 - 27	9 - 16	10 - 15		
III	DF 1										
	+ 2	16 - 17	30 - 32	19 - 20	26 - 45	11 - 13	16	19	20		
	D1	98	94	67	111	119	112	120	120		
	P1	86	110	66	60	71	97	15	17		

Fonte: (MENDOZA-ROLDAN, J. A., 2015)