

**RICARDO RAMOS CABRERA**

**Influência do fotoperíodo e da temperatura na  
diapausa comportamental em larvas não-  
alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari:  
Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São  
Paulo, Brasil.**

São Paulo  
2008

**RICARDO RAMOS CABRERA**

**Influência do fotoperíodo e da temperatura na diapausa comportamental em larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São Paulo, Brasil.**

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

**Departamento:**

Medicina Preventiva e Saúde Animal

**Área de concentração:**

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

**Orientador:**

Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna

São Paulo  
2008

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.1960  
FMVZ

Cabrera, Ricardo Ramos

Influência do fotoperíodo e da temperatura na diáspausa comportamental em larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São Paulo, Brasil / Ricardo Ramos Cabrera. – São Paulo: R. R. Cabrera, 2008.

78 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2008.

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

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna.

1. Carrapatos. 2. Diáspausa. 3. *Amblyomma cajennense*. 4. Acari. 5. Ixodidae.  
I. Título.

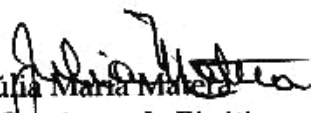
**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**  
**Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"**  
*Comissão Bioética*

**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto intitulado "Influência do fotoperíodo e da temperatura na regulação da diapausa comportamental em larvas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae)", protocolo nº568/2004, utilizando 2 cavalos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendum".

(We certify that the Research "Influence of photoperiod and temperature on the regulation behavioral diapause in *Amblyomma cajennense* larvae (Acari: Ixodidae)", protocol number 568/2004, utilizing 2 horses, under the responsibility of Prof. Dr. Marcelo Bahia Labruna, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendum", meeting).

São Paulo, 13 de dezembro de 2004

  
Prof.ª Dr.ª Júlia Maria Malera  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

CABRERA, Ricardo Ramos

Influência do fotoperíodo e da temperatura na diapausa comportamental em larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São Paulo, Brasil.

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

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Julgamento: \_\_\_\_\_

À Adelaide, aos meus pais (Clóvis e Yedda)  
e aos meus irmãos (Eduardo e Maurício)

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Marcelo B. Labruna, pela orientação, amizade e confiança durante todo o percurso;

À Profa. Dra. Mirian D. Marques, pelo direcionamento de todo o trabalho, mostrando ser uma pessoal essencial desde a etapa de projeto até a finalização da tese;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo financiamento do projeto de pesquisa (Reserva Técnica);

Ao Prof. Dr. Fernando Ferreira e ao Prof. Dr. Marcos Amaku pelo auxílio na análise dos resultados;

À Profa. Dra. Solange Maria Gennari, ao Prof. Dr. Sílvio A. Vasconcellos e ao Prof. Dr. Rodrigo M. Soares, pela contribuição técnica e incentivo;

Aos colegas de laboratório dos carrapatos (Richard Pacheco, Maurício Horta, Adriano Pinter, Alexandre Ataliba, Daniel Aguiar, Maria Ogrzewalska, Iara Silveira, Jonas M. Filho, Thiago Martins, Simone Rosa, Guilherme Sabatini e Marcello Nardi), pela amizade, discussões de artigos científicos e pelo auxílio na manutenção dos carrapatos das incubadoras durante momentos de ausência;

Aos funcionários do VPS-Pirassununga (João, Ni e Seu Antônio), pelo auxílio nos experimentos de campo;

À Sra. Elza Maria Rosa B. Faquim, funcionária da biblioteca da USP/FMVZ pela revisão do texto e normatização da tese;

Às amigas do Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan (Valéria Onofrio, Flávia Giacomini e Fernanda Nieri-Bastos), pela amizade e congressos;

Aos pós-graduandos e funcionários do VPS (em especial Ivan, Renata, Letticie, Sílvio, Mikaela, Patrícia, Cristina, Leandro, Aline, Daniela, Guacyara, Pancho, Danival, Pedrinho, Renatinho, Hilda, Bispo, Fininho, Sandra e Tonhão), pelos momentos de confraternização;

Aos pesquisadores do Laboratório de Entomologia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (Antonio T. de Lelis, Gonzalo C. Lopez, Sérgio Brazolin, Raquel Amaral, Lígia Ferrari e Décio K. Sukanuma), pela minha formação na área da pesquisa. Seus ensinamentos foram e continuam sendo muito importantes na minha profissão;

À todos os professores do Centro Universitário Metropolitano de São Paulo;

Ao meu pai, Clóvis Cabrera, pelo incentivo e revisão da parte escrita;

À Adelaide A. J. Cabrera, pelo companheirismo, apoio incondicional, dedicação, revisão da parte escrita e auxílio no laboratório durante os finais de semana (mesmo algumas vezes voltando com carrapato para casa);

À Lana e a Honey, pelas corridas que servem de válvula de escape e para encarar o dia; e pelas longas tardes deitadas ao meu lado durante o desenvolvimento da parte escrita;

À todos os animais (carrapatos, eqüinos e frangos) envolvidos nos experimentos.



## RESUMO

CABRERA, R.R. **Influência do fotoperíodo e da temperatura na diapausa comportamental de larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São Paulo, Brasil.** <Effect of photoperiod and temperature on the behavioral diapause of *Amblyomma cajennense* unfed larvae from Pirassununga, São Paulo, Brazil.> São Paulo, 2008. 78 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

A diapausa comportamental em carrapatos é caracterizada pela perda temporária da agressividade do indivíduo, tendo como consequência o prolongamento do período sem alimentação, sendo detectada em larvas de *Amblyomma cajennense*. Esta espécie destaca-se como principal vetor da Febre Maculosa no Sudeste brasileiro. Este estudo objetivou avaliar os efeitos do fotoperíodo e da temperatura na regulação da diapausa comportamental em larvas não-alimentadas de *A. cajennense*. Para isso, fêmeas ingurgitadas foram obtidas de eqüinos naturalmente infestados de Janeiro à Fevereiro de 2005 e 2006. No laboratório, cada grupo experimental foi composto por oito fêmeas ingurgitadas colocadas em vaso contendo capim braquiária (*Brachiaria decumbens*). Cada vaso foi exposto a uma condição de temperatura e fotoperíodo dentro de incubadoras B.O.D. (Marconi MA 402). A fotofase foi estabelecida por 4 lâmpadas (Philips TLT 75RS Extra luz do dia 20w) e a escotofase pela ausência total de luz. Os parâmetros biológicos observados foram período de pré-postura, incubação dos ovos, de permanência das larvas debaixo do capim e de presença de larvas na ponta do capim (comportamento de busca pelo hospedeiro). Paralelamente, verificou-se o poder infestante de larvas em diapausa para frangos (*Gallus gallus*), em comparação com larvas em não diapausa. Os resultados obtidos demonstram que, sob variação de fotoperíodo com temperatura constante de 25°C, a duração do intervalo de pré-postura e de incubação dos ovos foi semelhante em todos os grupos experimentais (1 a 2 semanas para período de pré-postura e 5 semanas para período de incubação dos ovos). Observou-se que a combinação de fotoperíodo 14:10 (claro:escuro) induziu a diapausa, sendo que o fotoperíodo de 12:12 ou 10:14 determinaram o término da diapausa. Em outras combinações de fotoperíodo, onde larvas estiveram no fotoperíodo de 12:12 ou 10:14 desde a eclosão, a aglomeração nas pontas do capim ocorreu dentro das primeiras semanas de vida das larvas. Larvas mantidas em fotoperíodo 12:12 e 10:14 não entraram em dormência e larvas mantidas em condição de fotoperíodo de 14:10 permaneceram no solo por tempo maior que as outras. No entanto, a diminuição da temperatura de 25

para 15°C, no fotoperíodo constante de 14:10, induziu o término da diapausa. Em todos os experimentos realizados sob fotoperíodo de 10:14, nenhum dos regimes de temperatura foi eficiente para induzir a diapausa. Houve diferença no intervalo de incubação dos ovos entre grupos experimentais com temperatura de 25 e 20°C. Não houve diferenças significantes ( $P > 0,05$ ) entre proporções de larvas em diapausa e em não diapausa que se ingurgitaram nos frangos, embora larvas em diapausa apresentaram período parasitário significativamente mais longo ( $P < 0,05$ ). Conclui-se que a diapausa em larvas de *A. cajennense* é induzida somente se a condição de fotoperíodo estiver com maior número de horas de claro (14:10) durante a eclosão das larvas. Temperaturas de 20 ou 25°C não são capazes de induzir a diapausa, quando mantidas em fotoperíodo 12:12 ou 10:14. O término da diapausa é desencadeado tanto pela mudança de fotoperíodo (14:10 para 12:12 ou 10:14) como pela diminuição da temperatura de 25 para 15°C.

Palavras-chaves: Diapausa, Carrapatos, *Amblyomma cajennense*, Acari e Ixodidae

## ABSTRACT

CABRERA, R.R. **Effect of photoperiod and temperature on the behavioral diapause of *Amblyomma cajennense* unfed larvae from Pirassununga, São Paulo, Brazil** < Influência do fotoperíodo e da temperatura na diapausa comportamental de larvas não-alimentadas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga, São Paulo, Brasil > São Paulo, 2008. 78 p. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.

Behavioral diapause in ticks is characterized by the temporary loss of aggressiveness, and consequently, to the extension of the starvation period, as recently detected in *Amblyomma cajennense* larvae. This species is the main vector of spotted fever in southeastern Brazil. The present study aimed to evaluate the effect of photoperiod and temperature on the regulation of behavioral diapause of *A. cajennense* unfed larvae. For this purpose, engorged females were obtained from horses naturally infested from January to February in each of the years 2005 and 2006. In the laboratory, each experimental group was composed by eight engorged females, which were placed in a grass plot composed by the grass *Brachiaria decumbens*, held in a small basket (40 cm diameter). Each plot was exposed to a particular condition of temperature and photoperiod within a BOD incubator (Marconi MA 402). Photoperiod was provided by 4 lamps (Philips TLT 75RS 20w) and scotophase by total darkness. Evaluated tick biological parameters were preoviposition and incubation periods, as well as the period of time the larvae remained under the grass after hatching, and the period of time that larvae were seen questing on the top of the grass leaves (host questing). The infestation capacity of diapause larvae to feed on chickens (*Gallus gallus*) was compared to larvae without being in diapause. The results showed that under variation of photoperiod and constant temperature of 25°C, the duration of preoviposition and incubation periods were similar in all the experimental groups (1 to 2 weeks to preoviposition and 5 weeks for egg incubation). Photoperiod 14:10 (light: dark) induced recently hatched larvae to enter diapause, whereas photoperiod 12:12 or 10:14 determined the end of diapause. In other combinations of photoperiod, where larvae were in photoperiod 12:12 or 10:14 from the eclosion, formation of larval clusters on the top of grass leaves occurred within the first weeks after larval eclosion. Larvae kept in photoperiod 12:12 and 10:14 did not enter in dormancy, whereas larvae maintained in photoperiod 14:10 since eclosion remained in the soil under the grass for longer periods. However, the decrease in temperature from 25 to 15°C under constant photoperiod of 14:10 triggered the end of diapause. In all experiments

performed under photoperiod of 10:14, none of the temperature regimes was effective to induce diapause. There were different incubation periods between experimental groups held at 25 and 20°C. There were no significant differences ( $P > 0.05$ ) between the proportions of diapause and non-diapause larvae that engorged on chickens, although the period of parasitism of larvae in diapause was significantly longer ( $P < 0.05$ ). As conclusions for the present study, diapause in *A. cajennense* larvae is induced only if the condition of photoperiod is with more hours of light (14:10) during larval eclosion. Temperatures of 20 or 25°C are not able to induce diapause, when kept in photoperiod 12:12 or 10:14. The end of diapause is triggered both by the change in photoperiod (14:10 to 12:12 or 10:14) and the decrease in temperature from 25 to 15° C.

Key words: Diapause, Ticks, *Amblyomma cajennense*, Acari and Ixodidae

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Éguas e potros naturalmente infestados com carrapatos da espécie *Amblyomma cajennense* nos piquetes do Setor de Eqüinos da PCAPS/USP.....025
- Figura 2 - Detalhe de carrapatos da espécie *Amblyomma cajennense* fixados no corpo das éguas do Setor de Eqüinos da PCAPS/USP.....025
- Figura 3 - Setor de Eqüinos da PCAPS/USP em Pirassununga, SP.....026
- Figura 4 - Pesagem das fêmeas de *Amblyomma cajennense* trazidas ao Laboratório de Doenças Parasitárias (FMVZ/USP).....028
- Figura 5 - Vaso contendo uma pequena plantação de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em incubadoras do tipo B.O.D.....028
- Figura 6 - Incubadoras do tipo B.O.D. (MARCA – Marconi) utilizadas no experimento.....029
- Figura 7 - Dados climáticos e de fotoperíodo em Pirassununga, SP, de 1997 a 1999 (Labruna et al., 2002).....030
- Figura 8 - Larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa comportamental debaixo da vegetação em vaso contendo uma pequena plantação de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em incubadoras do tipo B.O.D.....036
- Figura 9 - Larvas de *Amblyomma cajennense* dispersas na ponta do capim (*Brachiaria decumbens*) mantidas em vaso na incubadora do tipo B.O.D. ....037
- Figura 10 - Larvas de *Amblyomma cajennense* aglomeradas na ponta do capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em vaso na incubadora do tipo B.O.D. A: Larvas em pequenos grupos (<100 indivíduos) e B: Larvas em grandes grupos (>100 indivíduos).....037

|   |     |
|---|-----|
| Figura 11-Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (1A e 1B) na incubadora B.O.D 1.....  | 041 |
| Figura 12 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (2A e 2B) na incubadora B.O.D 2..... | 042 |
| Figura 13 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (3A e 3B) na incubadora B.O.D 3..... | 043 |
| Figura 14 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (4A e 4B) na incubadora B.O.D 4..... | 044 |
| Figura 15 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (5A e 5B) na incubadora B.O.D 5..... | 045 |
| Figura 16 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (6A e 6B) na incubadora B.O.D 6..... | 046 |
| Figura 17 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (7A e 7B) na incubadora B.O.D 7..... | 047 |
| Figura 18 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (8A e 8B) na incubadora B.O.D 8..... | 048 |
| Figura 19 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (1A e 1B) na incubadora B.O.D 1..... | 053 |
| Figura 20 -Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (2A e 2B) na incubadora B.O.D 2..... | 054 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 21 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (3A e 3B) na incubadora B.O.D 3.....       | 055 |
| Figura 22 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (4A e 4B) na incubadora B.O.D 4.....       | 056 |
| Figura 23 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (5A e 5B) na incubadora B.O.D 5.....       | 057 |
| Figura 24 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (6A e 6B) na incubadora B.O.D 6.....       | 058 |
| Figura 25 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (7A e 7B) na incubadora B.O.D 7.....       | 059 |
| Figura 26 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de <i>Amblyomma cajennense</i> mantidas em dois vasos (8A e 8B) na incubadora B.O.D 8.....       | 060 |
| Figura 27 - Unidade experimental do teste de comparação da capacidade de parasitismo de larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> em diapausa e larvas desta espécie sem diapausa..... | 065 |
| Figura 28 - Frango infestado por larvas de <i>Amblyomma cajennense</i> em diapausa sob condições laboratoriais.....  | 065 |

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Condições experimentais de fotoperíodo em que foram expostas as fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* e seus respectivos ovos e larvas, em temperatura constante de 25°C.....035
- Tabela 2 - Condições experimentais de temperatura e fotoperíodo em que foram expostas as fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*, e seus respectivos ovos e larvas.....052
- Tabela 3 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em canteiros de capim *Brachiaria decumbens* no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – USP/Pirassununga durante o ano de 2005. O símbolo (\*) representa morte dos indivíduos. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas nos canteiros em 19 de janeiro de 2005.....062
- Tabela 4 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em canteiros de capim *Brachiaria decumbens* no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – USP/Pirassununga durante o ano de 2006. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas nos canteiros em 30 de janeiro de 2006.....063
- Tabela 5 - Comparação do período parasitário e na recuperação de larvas ingurgitadas (com ou sem diapausa) de *Amblyomma cajennense* expostas a frangos, em condições laboratoriais.....064
- Tabela 6 - Resultados obtidos no Experimento 1 em número de semanas, decorrentes de parâmetros biológicos observados em *Amblyomma cajennense* mantidos à 25°C em incubadoras do tipo B.O.D. As combinações de fotoperíodo por BOD estão relacionadas na Tabela 1.....068
- Tabela 7 - Resultados obtidos no Experimento 2 em número de semanas decorrentes para ocorrência de parâmetros biológicos de *Amblyomma cajennense*, mantidos à 25°C em incubadoras do tipo B.O.D. As combinações de fotoperíodo e de temperatura por BOD estão relacionadas na Tabela 3.....071



## SUMÁRIO

|            |   |     |
|------------|---|-----|
| <b>1.0</b> | <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | 017 |
| <b>2.0</b> | <b>OBJETIVOS</b> .....  | 023 |
| 2.1        | Objetivo Geral.....   | 023 |
| 2.2        | Objetivos Específicos. ....   | 023 |
| <b>3.0</b> | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....   | 024 |
| 3.1        | Carrapatos .....  | 024 |
| 3.2        | Grupos experimentais.....   | 026 |
| 3.3        | Parâmetros biológicos dos carrapatos nos vasos. ....  | 031 |
| 3.4        | Experimento em campo.....   | 031 |
| 3.5        | Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de <i>A. cajennense</i><br>em diapausa .....   | 032 |
| <b>4.0</b> | <b>RESULTADOS</b> .....   | 034 |
| 4.1        | Efeito do fotoperíodo na indução, manutenção e término da diapausa<br>comportamental de larvas não alimentadas de <i>A. cajennense</i> .....  | 034 |
| 4.2        | Efeito da temperatura na indução, manutenção e término da diapausa<br>comportamental de larvas não alimentadas de <i>A. cajennense</i> .....  | 049 |
| 4.3        | Experimento em campo – Canteiros.....   | 061 |
| 4.4        | Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de <i>A. cajennense</i><br>em diapausa .....   | 063 |
| <b>5.0</b> | <b>DISCUSSÃO</b> .....  | 066 |
| 5.1        | Efeito do fotoperíodo na indução, manutenção e término da diapausa<br>comportamental de larvas não alimentadas de <i>A. cajennense</i> . .... | 067 |
| 5.2        | Efeito da temperatura na indução, manutenção e término da diapausa<br>comportamental de larvas não alimentadas de <i>A. cajennense</i> . .... | 069 |
| 5.3        | Experimento em campo – Canteiros.....   | 071 |
| 5.4        | Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de <i>Amblyomma</i><br><i>cajennense</i> em diapausa.....                                  | 072 |
| <b>6.0</b> | <b>CONCLUSÕES</b> .....   | 073 |
|            | <b>REFERÊNCIAS</b> .....  | 074 |

## 1 INTRODUÇÃO

Os artrópodos são animais poiquilotérmicos (ectotérmicos), ou seja, variam a sua temperatura corpórea de acordo com as condições do meio ambiente. Estas influências externas regulam o desenvolvimento destes invertebrados. A resposta à adversidade do ambiente para os artrópodos pode ser dada principalmente por duas formas: migração e dormência. O estado de dormência é caracterizado principalmente pela supressão do metabolismo e pode ser dividido em quiescência, que são modificações no comportamento desencadeadas pelas condições adversas do ambiente, e diapausa, que são modificações no comportamento desencadeadas por fatores ambientais que antecedem a chegada de condições adversas (BELOZEROV, 1999; BRADSHAW; HOLZAPFEL, 2007).

A diapausa promove duas distintas vantagens para o indivíduo. A primeira vantagem é sincronizar o seu ciclo-de-vida com estações do ano favoráveis ao seu desenvolvimento. A segunda vantagem é aumentar a resistência do indivíduo em condições desfavoráveis, como extremos de temperatura ou falta de alimento disponível. (BELOZEROV, 1982)

A inserção da diapausa no ciclo de vida de um artrópode requer mecanismos para monitoramento dos sinais do meio ambiente (DELINGER, 2002). O fotoperíodo, associado à temperatura, é essencial para a regulação (indução, manutenção e o término) da diapausa dos artrópodes (FOURIE; HORAK, 1994; DELINGER, 2002). No Hemisfério Norte, por exemplo, a diminuição do intervalo de luminosidade diária a partir do início da estação de verão é o principal fator na indução da diapausa nas estações de outono e inverno seguintes, em várias espécies de artrópodes (DELINGER, 2002).

O fotoperíodo tem sido considerado o mais importante sinal que controla a diapausa nos carrapatos (BELOZEROV, 1999). A regulação da diapausa em insetos, e provavelmente em carrapatos, é iniciada pela percepção do fotoperíodo, mais especificamente pela somatória do período de claro (fotofase) e do período de escuro (escotofase) em um ciclo de 24 horas, e esta informação é transformada em respostas fisiológicas (MADDER et al., 2002). Esta percepção dos sinais extrínsecos é realizada por fotorreceptores cerebrais (BELOZEROV, 1982). As condições

ambientais que mais influenciam ao término da diapausa são: fotoperíodo, temperatura, umidade e chuvas (MADDER et al., 2002).

Os carrapatos manifestam grande diversidade de reações para a duração do dia. Existem dois tipos básicos de reações: **Efeitos em dias longos** onde o indivíduo desenvolve as atividades biológicas em resposta à dias longos (mais horas de claro do que de escuro em um ciclo de 24 horas) e a diapausa ocorre em períodos de menor luminosidade; e **Efeitos em dias curtos** onde as atividades do indivíduo se concentram em dias curtos (menos horas de claro do que de escuro em um ciclo de 24 horas) e a diapausa ocorre em períodos de maior luminosidade. (BELOZEROV, 1982)

Segundo BelozeroV (1999), os carrapatos apresentam a maior diversidade de tipos de diapausa, podendo ser dividida em obrigatória, aparecendo em todas as gerações, sem depender das condições ambientais ou geográficas; e facultativa, estimulada apenas pelas adversidades climáticas específicas sofridas por uma geração em uma determinada região geográfica. A diapausa facultativa pode ser agrupada em comportamental e morfogenética. A diapausa comportamental é caracterizada pela inibição da procura por hospedeiro em larvas recém eclodidas ou ninfas e adultos na fase de pós-ecdise, ou pela parada do processo de ingurgitamento em carrapatos em parasitismo. A diapausa morfogenética, também chamada diapausa de desenvolvimento, é caracterizada pela parada da oogênese, embriogênese ou processo de ecdise.

A diapausa comportamental ocorre em diferentes espécies de animais de várias regiões zoogeográficas (BELOZEROV, 1999). Esta diapausa é caracterizada em carrapatos pela perda temporária da agressividade do indivíduo, tendo como consequência o prolongamento do período sem alimentação (BELOZEROV, 1999). Este fenômeno pode ser observado em vários estágios pós-embrionários do ácaro. No gênero *Amblyomma* foram relatadas em larvas de *Amblyomma cajennense* (LABRUNA et al., 2003); ninfas de *Amblyomma maculatum*, *Amblyomma americanum* (BELOZEROV, 1982) e *Amblyomma hebrueum* (NORVAL, 1977<sup>1</sup> apud BELOZEROV, 1999); e adultos de *Amblyomma americanum* (BELOZEROV, 1982) e *Amblyomma hebrueum* (NORVAL, 1977 apud BELOZEROV, 1999). Entretanto outros gêneros de ixodídeos também apresentam diapausa comportamental.

---

<sup>1</sup> NORVAL, R. A. I. Ecology of the tick *Amblyomma hebrueum* in the Eastern Cape province of South Africa. Distribution and seasonal activity. **J. Parasitol.** v. 63, p. 734-739, 1977.

Poucos trabalhos sobre diapausa comportamental em carrapatos são encontrados na literatura. As pesquisas em carrapatos têm se concentrado nas espécies que habitam os Estados Unidos, Europa, África e Ásia. Belozarov (1982) relatou uma lista de espécies de carrapatos de diferentes continentes, que possuem diapausa comportamental: *Ixodes crenulatus*, *Ixodes hexagonus*, *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes trianguliceps*, *Ixodes uriae* (*Ixodes putus*), *Ixodes laguri*, *Ixodes redikorzevi*, *Ixodes celylonensis*, *Ixodes lividus*, *Haemaphysalis concinna*, *Haemaphysalis inermis*, *Haemaphysalis japonica*, *Haemaphysalis longicornis*, *Haemaphysalis bispinosa*, *A. americanum*, *A. maculatum*, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma dromedarii*, *Hyalomma marginatum*, *Hyalomma scupense*, *Rhipicephalus turanicus*, *Rhipicephalus schulzei*, *Dermacentor andersoni*, *Dermacentor variabilis*, *Dermacentor marginatus*, *Dermacentor nuttalli*, *Dermacentor pictus*, *Dermacentor silvarum* e *Dermacentor albipictus*. Nenhuma destas espécies ocorre na América do Sul. Somente recentemente, o fenômeno de diapausa foi relatado pela primeira vez na América do Sul, através da constatação da diapausa comportamental em larvas não alimentadas de *A. cajennense* no Estado de São Paulo, Brasil (LABRUNA et al., 2003).

O gênero *Amblyomma* apresenta uma ampla distribuição geográfica, abrangendo todos os continentes (exceto Antártida), e possuindo aproximadamente 53 espécies descritas no Continente Americano (ONOFRIO et al., 2006). Atualmente o Brasil possui 33 espécies descritas neste gênero (ARAGÃO; FONSECA, 1961; ONOFRIO et al., 2006).

A espécie *A. cajennense* (popularmente conhecido como Carrapato-Estrela) é originária da Região Neotropical, tendo sido primeiramente encontrada na cidade de Cayena (Guiana Francesa) de onde deriva seu nome específico (GUGLIELMONE et al., 2006). Seu ciclo-de-vida trioxeno é caracterizado pela necessidade de completar seu desenvolvimento em três hospedeiros diferentes. A larva (denominação técnica para ninfa hexápoda) eclode do ovo embaixo da vegetação e deve obrigatoriamente se fixar em um hospedeiro para exercer a hematofagia. Após o parasitismo ela se desprende do hospedeiro com o sistema digestório repleto de sangue, diferenciando-se em larva ingurgitada. Esta larva ingurgitada realiza a mudança de exoesqueleto (muda) se diferenciando em ninfa (denominação técnica para ninfa octópoda) no solo. A ninfa se fixa em outro hospedeiro, se alimenta de sangue e se desprende caindo no solo, onde sofre o processo de muda, agora se diferenciando

em adulto. Os adultos procuram um terceiro hospedeiro, ocorrendo a alimentação e o acasalamento. Cada fêmea ingurgitada irá fazer uma única postura dos ovos embaixo da vegetação, reiniciando o ciclo. Os hospedeiros naturais deste carrapato são principalmente grandes mamíferos como equino, capivara e anta; entretanto pode ser encontrado em uma grande quantidade de espécies de mamíferos e aves (GUIMARÃES et al., 2001).

Os prejuízos econômicos decorrentes da presença de *A. cajennense* são inúmeros. Esta espécie destaca-se como um dos principais ectoparasitas de eqüídeos (LABRUNA et al., 2002), causando danos ao animal parasitado (espoliação sangüínea, dermatites, transmissão de patógenos) e gastos excessivos com produtos acaricidas. Também podem ser acusados de ser um fator desvalorizador de terras no meio rural, já que as pessoas tendem a refutar áreas onde estariam expostas à infestação por carrapatos.

Em relação à saúde pública, o *A. cajennense* é a principal espécie de carrapato a parasitar humanos no Sudeste e Centro-Oeste brasileiro. Além disso, é o principal vetor da Febre Maculosa, doença severa, altamente letal, causada pela bactéria *Rickettsia rickettsii*. Esta doença tem sido registrada nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo (SEXTON et al., 1993; LEMOS et al., 1994, 2001, 2002; GALVÃO et al., 2002).

Estudos pioneiros no estado do Rio de Janeiro demonstraram que o *A. cajennense* completa apenas uma geração por ano, em condições naturais (SERRA-FREIRE, 1982; SOUZA, 1990). Posteriormente, este padrão foi também verificado nos Estados de Minas Gerais (OLIVEIRA et al., 2000, 2003) e São Paulo (LEMOS et al., 1997; LABRUNA et al., 2002). Nestes três Estados da região Sudeste, os padrões sazonais observados foram semelhantes, sendo caracterizados pela predominância de larvas no outono, ninfas no inverno, e adultos nos meses de primavera-verão. A partir daí, surgia uma grande questão: quais fatores estariam controlando este padrão de uma geração por ano, se em condições de laboratório, podia-se completar mais de duas gerações por ano?

No município de Pirassununga, Labruna et al. (2002) observaram que as larvas de *A. cajennense* predominavam sobre os eqüinos de abril a julho, seguida pelas ninfas de julho a setembro. De outubro a fevereiro, quando predominavam os adultos, nenhuma larva era encontrada parasitando os eqüinos. Baseado neste padrão, Labruna et al. (2003) estudaram o comportamento de fêmeas ingurgitadas

de *A. cajennense* em condições naturais, em canteiros de capim braquiária em Pirassununga - SP. Nesse estudo foi verificado que as fêmeas ingurgitadas, desprendidas de eqüinos naturalmente infestados, de outubro a março, tinham normalmente os períodos de pré-postura e postura de ovos nos canteiros de braquiária em poucas semanas, conforme era também observado em condições laboratoriais. Da mesma forma, a incubação destes ovos também seguia o padrão observado em laboratório, com larvas eclodindo após 5-6 semanas do início da postura. No entanto, foi verificado nestes canteiros, que uma vez eclodidas as larvas de *A. cajennense*, estas permaneciam ao solo, debaixo do capim, até pelo menos o mês de abril, quando então subiam para a ponta do capim (busca pelo hospedeiro) pela primeira vez. Desta forma, foi verificado que larvas eclodidas no final de novembro (originadas de fêmeas ingurgitadas desprendidas do eqüino no início de outubro), permaneceram no solo, sob a vegetação, por um período de mais de 18 semanas (dezembro, janeiro, fevereiro, março, início de abril), quando então subiam para a ponta do capim pela primeira vez, na segunda metade de abril. Como em todos os canteiros as larvas subiram pela primeira vez na ponta do capim entre abril e maio, o intervalo mínimo passado integralmente no solo, pelas larvas oriundas de fêmeas ingurgitadas desprendidas em outubro, novembro, dezembro, janeiro, fevereiro e março foram, respectivamente, de 18, 16, 13, 11, 5 e 4 semanas. Este comportamento de não exercer a busca pelo hospedeiro, pelas larvas de *A. cajennense* durante os meses de primavera-verão foi caracterizado como diapausa comportamental, sendo considerado o principal fator regulador do padrão de uma geração por ano na área estudada (LABRUNA et al., 2003).

No estudo de Labruna et al. (2003) foi verificado que larvas de *A. cajennense* entravam em diapausa comportamental quando as temperaturas médias eram mais altas, maior luminosidade diária, e maior pluviosidade (estação chuvosa). Essas larvas saíam do estado de diapausa entre abril e maio, quando as temperaturas médias, luminosidade diária (<12 horas de luz por dia) e pluviosidade diminuía. Embora saiba-se que o fotoperíodo é o fator primário na regulação de diapausa em artrópodes, alguns estudos em carrapatos têm mostrado um efeito significativo da temperatura (FOURIE ; HORAK, 1994).

Sendo assim, o presente estudo objetivou investigar o papel do fotoperíodo e da temperatura na indução, manutenção e término da diapausa comportamental de larvas de *A. cajennense*. Também investigou-se em qual estágio do carrapato (ovo

e/ou larva) ocorre a indução para a diapausa no estágio de larva não alimentada. Tal investigação poderá fornecer subsídios para um maior entendimento do ciclo-de-vida de *A. cajennense* em condições naturais. Além disso, uma vez conhecidos os mecanismos reguladores de diapausa nesta espécie, poderá extrapolar-se sobre o comportamento deste carrapato em outras áreas de sua distribuição geográfica, que vai do sul dos Estados Unidos ao Norte da Argentina.

## 2 OBJETIVOS

Os objetivos geral e específicos são apresentados a seguir.

### 2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos do fotoperíodo e da temperatura na regulação da diapausa comportamental em larvas de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) provenientes de Pirassununga - SP.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o papel do fotoperíodo e da temperatura como fatores de indução à diapausa comportamental em larvas de *A. cajennense*.
- Avaliar o papel do fotoperíodo e da temperatura como fatores de manutenção da diapausa comportamental em larvas de *A. cajennense*.
- Avaliar o papel do fotoperíodo e da temperatura como fatores de término da diapausa comportamental em larvas de *A. cajennense*.



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais e métodos são apresentados a seguir.

#### 3.1 Carrapatos

Fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* foram obtidas de eqüinos naturalmente infestados no campus da Universidade de São Paulo (USP) em Pirassununga, SP. Nesta mesma área foram realizados os trabalhos de Labruna et al. (2002, 2003), que verificaram a ocorrência de uma geração por ano de *A. cajennense* e a diapausa comportamental de larvas deste carrapato. Sendo assim, o trabalho foi realizado com uma população de carrapatos que sabidamente realiza diapausa em condições naturais. De Janeiro à Fevereiro de 2005, e de Janeiro à Fevereiro de 2006, fêmeas ingurgitadas desprendidas de eqüinos naturalmente infestados foram obtidas em coletas diárias nos piquetes (Figuras 1 e 2) do setor de Eqüinos da Prefeitura do Campus da USP em Pirassununga (PCAPS) (Figura 3). Estas fêmeas foram trazidas para o laboratório de Doenças Parasitárias na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da USP na Cidade de São Paulo, dentro de no máximo de 72 horas do desprendimento do eqüino, e foram divididas em diferentes grupos experimentais.



Figura 1 - Éguas e potros naturalmente infestados com carrapatos da espécie *Amblyomma cajennense* dos piquetes do Setor de Eqüinos da PCAPS/USP

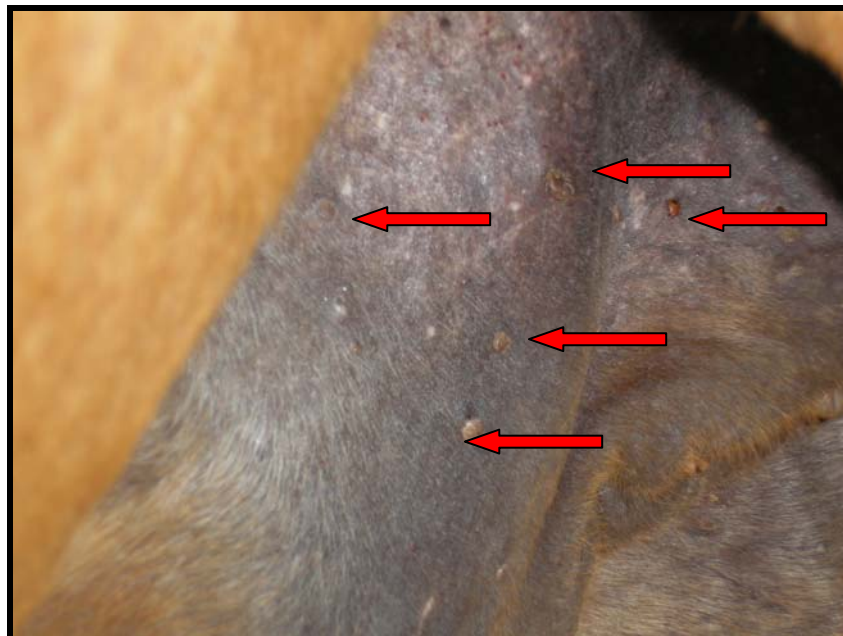


Figura 2 - Detalhe de carrapatos da espécie *Amblyomma cajennense* fixados no corpo das éguas do Setor de Eqüinos da PCAPS/USP



Figura 3 - Setor de Equinos da PCAPS/USP em Pirassununga, SP

### 3.2 Grupos experimentais

Cada grupo experimental foi composto por oito fêmeas ingurgitadas sadias (Figura 4), as quais foram pesadas individualmente e colocadas em um vaso contendo uma pequena plantação de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*). Este vaso tinha 40 cm de circunferência e o capim foi mantido com uma altura máxima de 30 cm da terra do vaso, no momento de colocação dos carrapatos (Figura 5). Um prato de plástico foi colocado sob cada vaso para evitar o derrame de água e terra no interior da incubadora. A pesagem foi importante para identificar de qual dos dois vasos pertenciam as fêmeas que eventualmente escaparam em virtude da procura do local de postura. Estes indivíduos eram identificados pelo peso, ao serem pesados novamente, e reintroduzidos no vaso de origem.

Cada vaso foi uma simulação do canteiro de braquiária realizado no estudo de campo por Labruna et al. (2003). Diferentemente daquela pesquisa, este estudo laboratorial teve as condições de temperatura e de fotoperíodo manipuladas, conforme o objetivo de determinar as influências destas condições na diapausa comportamental de larvas de *A. cajennense*. Cada vaso foi exposto a uma condição de temperatura e de fotoperíodo dentro de incubadoras do tipo B.O.D. (Biological

Oxygen Demand, Câmara de Germinação Marconi MA 402) (Figura 6). A umidade relativa de cada incubadora foi fixada em  $90 \pm 5\%$ .

Segundo observações preliminares, cada incubadora B.O.D. poderia abrigar no máximo dois vasos com capim (um grupo experimental com duas repetições). Com o intuito de minimizar o número de incubadoras B.O.D. necessárias para execução do presente estudo, metade dos grupos experimentais foi formada por fêmeas ingurgitadas colhidas em janeiro e fevereiro de 2005, e a outra metade por fêmeas ingurgitadas colhidas em janeiro e fevereiro de 2006. Não houve sobreposição de experimentos.

Um grupo de oito fêmeas ingurgitadas foi colocado dentro de uma placa-de-petri em cada incubadora para acompanhar o período de postura e incubação dos ovos. Estes grupos foram denominados de Controle. As fêmeas de *A. cajennense* têm o hábito de se esconder no solo durante a oviposição, tornando difícil a visualização no interior dos vasos. Como eles estavam sobre as mesmas condições de fotoperíodo e temperatura e as placas foram colocadas simultaneamente nas incubadoras, o início da postura e a eclosão das larvas ocorria ao mesmo tempo nas placas-de-petri e no interior dos vasos em cada grupo experimental.

As faixas de temperatura e fotoperíodo adotadas neste estudo foram baseadas nas condições naturais observadas em um estudo anterior realizado no campus da USP em Pirassununga (Figura 7). A pesquisa foi dividida em duas etapas. A primeira etapa (realizada no primeiro ano) teve como objetivo avaliar o efeito do fotoperíodo sobre a diapausa dos carrapatos. Para tal, os grupos experimentais foram submetidos a diferentes combinações de fotoperíodo, com temperatura constante de 25°C. A segunda etapa (realizada no segundo ano) teve como objetivo avaliar o efeito da temperatura sobre a diapausa dos carrapatos. Para tal, os grupos experimentais foram submetidos a diferentes faixas de temperatura, mantendo-se o fotoperíodo constante. A fotofase foi caracterizada pela presença de 4 lâmpadas fluorescentes (Philips TLT 75RS Extra luz do dia) de intensidade de luz de 20w e a escotofase foi caracterizada pela ausência total de luz no interior da incubadora.

Os parâmetros biológicos dos carrapatos observados no interior das incubadoras foram computados semanalmente, às 10:00h da manhã, levando aproximadamente dez minutos de observação por incubadora. O dia da semana escolhido para se fazer a observação foi segunda-feira. Nunca as portas das



incubadoras foram abertas durante a escotofase. Essas medidas foram tomadas para minimizar a interferência do pesquisador no experimento.



Figura 4 - Pesagem das fêmeas de *Amblyomma cajennense* trazidas ao Laboratório de Doenças Parasitárias (FMVZ/USP)



Figura 5 - Vaso contendo uma pequena plantação de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em incubadoras do tipo B.O.D.



Figura 6 - Incubadoras do tipo B.O.D. (MARCA – Marconi) utilizadas no experimento

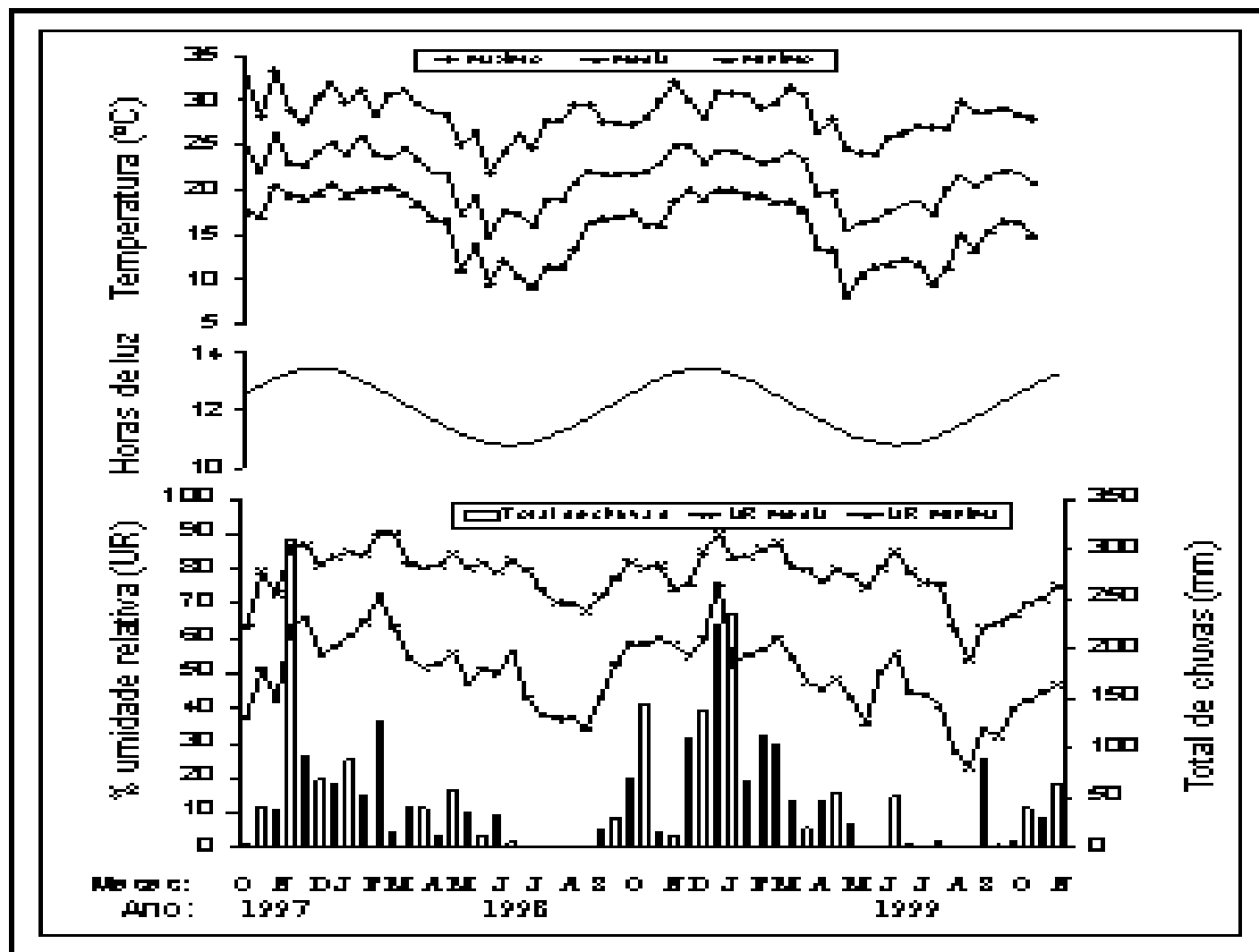


Figura 7 - Dados climáticos e de fotoperíodo em Pirassununga, São Paulo, de 1997 à 1999 (LABRUNA et al., 2002)

### 3.3 Parâmetros biológicos dos carrapatos nos vasos

Os parâmetros biológicos observados nos carrapatos nos vasos foram os mesmos que observados por Labruna et al. (2003) em condições de campo, para fêmeas soltas em canteiros de capim braquiária:

- 1- período de pré-postura (compreendido entre o número de semanas entre a coleta das fêmeas ingurgitadas nos eqüinos e o início da postura de ovos por pelo menos uma fêmea em cada vaso);
- 2- período de incubação dos ovos (compreendido entre o número de semanas entre o início da postura de ovos e a eclosão da primeira larva em cada vaso);
- 3- período de permanência das larvas debaixo do capim, após a eclosão (compreendido entre o número de semanas entre o início da eclosão e a subida de larvas para ponta do capim pela primeira vez);
- 4- período de permanência das larvas na ponta do capim (compreende o número de semanas em que as larvas foram observadas na ponta do capim, em comportamento de busca pelo hospedeiro).

Vale salientar que estes diferentes padrões de combinações de fotoperíodo e/ou da temperatura são comumente utilizados em trabalhos experimentais, que visam determinar os fatores reguladores na diapausa de diferentes espécies de carrapatos (MADDER et al., 1999, FOURIE et al., 2001, BELOZEROV; NAUMOV, 2002; BELOZEROV et al., 2002).

### 3.4 Experimento em campo

A fim de comparar o comportamento de fêmeas adultas, ovos e larvas de *A. cajennense* nas incubadoras, amostras de fêmeas ingurgitadas foram observadas sob condições naturais de clima e fotoperíodo, simultaneamente com a pesquisa de laboratório. Para tal, foram formados canteiros de capim *Brachiaria decumbens* em



piquete isolado no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (USP/FMVZ/VPS) do campus de Pirassununga, de acordo com estudo de Labruna et al. (2003), seguindo-se a mesma metodologia e população de carrapatos utilizados por Labruna et al. (2003). Foram formados quatro canteiros de capim braquiária, sendo que em um deles, foram colocadas 10 fêmeas adultas ingurgitadas contidas individualmente em tubos telados em malha fina de aço e tampados com rolha de silicone. Nos outros três canteiros, foram colocadas, em cada um, 10 fêmeas soltas no capim. Os dados das fêmeas presas foram importantes para o acompanhamento do período de pré-postura e incubação dos ovos, e por razões óbvias, não foi registrada a presença de larvas na ponta do capim. Os parâmetros biológicos observados semanalmente nos canteiros de fêmeas soltas foram semelhantes aos descritos para os Experimentos 1 e 2 no laboratório, tendo maior destaque a primeira observação de larvas na ponta do capim. Entretanto neste experimento à campo quando não era mais possível a visualização de larvas na ponta do capim, era passado um bastão revestido de pano de algodão com coloração branca por todo o capim. Caso alguma larva fosse visualizada no pano do bastão, estes indivíduos eram devolvidos ao canteiro e o experimento continuava em procedimento. As observações no canteiro eram encerradas no caso de não se visualizar larvas no bastão por três semanas consecutivas.

### **3.5 Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa**

Com o objetivo de verificar se as larvas de *A. cajennense* em diapausa teriam o reflexo de se alimentar quando em contato com algum hospedeiro foi realizado experimento de comparação de poder infestante de larvas em diapausa e larvas que não estavam em diapausa, para frangos (*Gallus gallus*) de 45 dias de idade, sem infestação prévia por carrapatos, obtidos no Laboratório de Ornitopatologia da FMVZ/USP. Para isso, foram utilizadas larvas em diapausa (oriundas das fêmeas Controle da BOD2 – 2006 mantidas em 14:10 claro-escuro à 25° C) e larvas sem diapausa (oriundas das fêmeas Controle da BOD8 – 2006 mantidas em 00:24 claro-escuro à 25° C). Cada unidade de experimento consistiu em um frango

acondiçionado em uma gaiola com fundo vazado no interior de uma bandeja de plástico com fita dupla-face em sua borda interna, com o intuito de impedir a fuga das larvas ingurgitadas do interior do recipiente. Na base de cada bandeja foi adicionado papel-toalha. As aves foram tratadas com água e ração comercial *ad libitum*. Cada ave recebeu no dorso e embaixo das asas uma carga parasitária de aproximadamente 500 larvas (com 35 dias de idade). Durante todo o experimento cada unidade foi examinada duas vezes ao dia (manhã e noite) para limpeza e coleta das larvas ingurgitadas desprendidas naturalmente dos frangos.

## **4 RESULTADOS**

Os resultados dos experimentos realizados durante os anos de 2005 e 2006 são apresentados a seguir.

### **4.1 Efeito do fotoperíodo na indução, manutenção e término da diapausa comportamental de larvas não alimentadas de *A. cajennense***

Os diferentes esquemas de fotoperíodo descritos na tabela 1 serviram para avaliar o efeito de dias longos ou curtos sobre os ovos e as larvas eclodidas de *A. cajennense*. Buscou-se determinar qual(is) o(s) estágio(s) do carrapato (ovo ou larva) sofreu(ram) as maiores influências externas para a indução da diapausa comportamental nas larvas eclodidas. Também buscou-se quais fatores determinaram a manutenção e término da diapausa observada nas larvas.

Tabela 1 - Condições experimentais de fotoperíodo em que foram expostas as fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense* e seus respectivos ovos e larvas, em temperatura constante de 25°C

| Grupos experimentais** | Condições de fotoperíodo*, conforme os parâmetros biológicos |  |   |  |
|------------------------|--|--|---|--|
|                        | Período de pré-postura, postura e incubação dos ovos         | Seis semanas a contar do início da eclosão | Larvas eclodidas 7 <sup>a</sup> Semana à 10 <sup>a</sup> Semana | Período restante, até a morte de todas as larvas |
| BOD 1                  | 12:12  | 12:12                                      | 12:12   | 12:12  |
| BOD 2                  | 12:12  | 14:10                                      | 14:10   | 14:10  |
| BOD 3                  | 10:14  | 10:14                                      | 14:10   | 14:10  |
| BOD 4                  | 14:10  | 14:10                                      | 12:12   | 10:14  |
| BOD 5                  | 12:12  | 12:12                                      | 14:10   | 14:10  |
| BOD 6                  | 12:12  | 12:12                                      | 10:14   | 10:14  |
| BOD 7                  | 12:12  | 10:14                                      | 10:14   | 14:10  |
| BOD 8                  | 14:10  | 12:12                                      | 10:14   | 10:14  |

\* valores expressos em: Número de horas de claro: Número de horas de escuro, para um ciclo de 24 horas.

\*\* cada grupo experimental foi composto por dois vasos de capim braquiária colocados dentro de uma mesma incubadora tipo B.O.D. Em cada vaso foram inicialmente colocadas 8 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense*.

Conforme descrito nas legendas das figuras 8-10, o comportamento dos carrapatos no diferentes grupos experimentais foi tecnicamente dividido em quatro tipos:

- 1- **larvas restritas ao solo:** larvas observadas no vaso sobre a terra do vaso, debaixo da vegetação (Figura 8);
- 2- **poucas larvas dispersas na ponta do capim:** embora a maioria das larvas ainda continuassem na solo, algumas poucas larvas foram visualizadas de forma individual nas pontas do capim, sem formar aglomerações (Figura 9);
- 3- **larvas em pequenos grupos (<100 indivíduos) na ponta do capim:** pequenas aglomerações de larvas observadas na ponta do capim, sem formar mais de 100 larvas por aglomeração (Figura 10 A).;
- 4- **larvas em grandes grupos (>100 indivíduos) na ponta do capim:** vários grupos de grandes aglomerações observados, com mais de 100 larvas (Figura 10 B). Este último parâmetro foi considerado até a morte de todas as larvas do vaso.



Figura 8 - Larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa comportamental debaixo da vegetação em vaso contendo uma pequena plantação de capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em incubadoras do tipo B.O.D.



Figura 9 - Larvas de *Amblyomma cajennense* dispersas na ponta do capim (*Brachiaria decumbens*) mantidas em vaso na incubadora do tipo B.O.D.

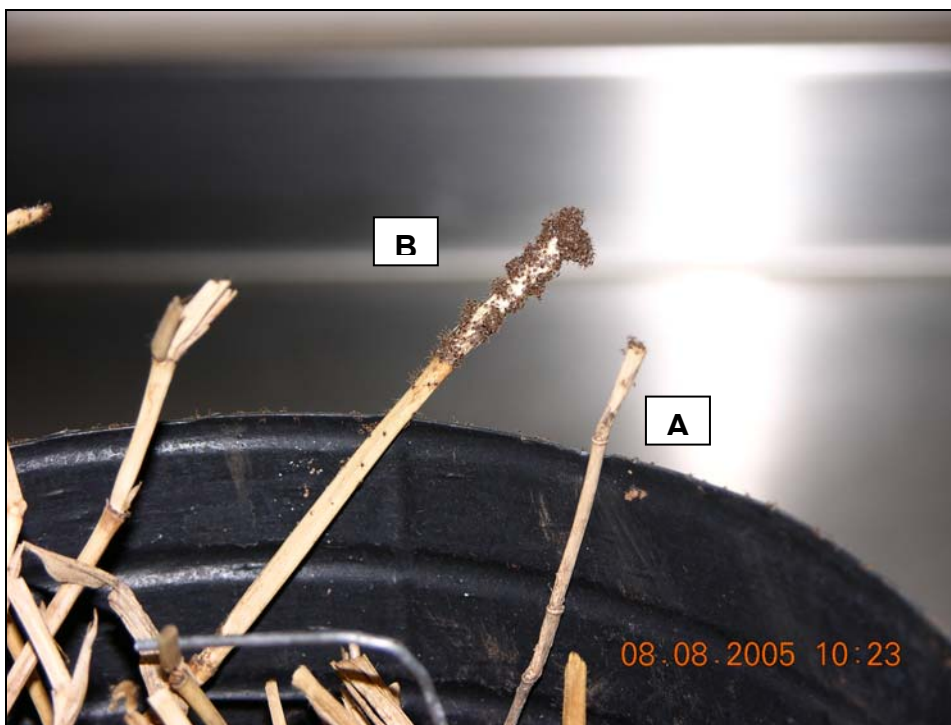


Figura 10 - Larvas de *Amblyomma cajennense* aglomeradas na ponta do capim braquiária (*Brachiaria decumbens*) mantidas em vaso na incubadora do tipo B.O.D. A: Larvas em pequenos grupos (<100 indivíduos) e B: Larvas em grandes grupos (>100 indivíduos)

Os parâmetros biológicos observados em cada um dos vasos estão representados nas figuras 11-18. Os dados obtidos nos dois vasos denominados BOD1 A e BOD1 B (Figura 11) em condição constante de fotoperíodo 12:12 (claro:escuro) demonstram que a postura dos ovos iniciou-se após 1 semana de exposição das fêmeas ingurgitadas às condições da incubadora. A eclosão das larvas ocorreu após 5 semanas do início da postura e estes carrapatos permaneceram debaixo da vegetação no decorrer das 2 semanas seguintes. Após este período ficaram dispersos na ponta do capim por 1 semana quando formaram pequenos grupos por 16 semanas. Entretanto o período de formação de grandes grupos na ponta do capim foi de 14 semanas para larvas no vaso 1A e de 20 semanas para larvas no vaso 1B. Portanto a sobrevivência máxima das larvas em 1B foi superior (total de 39 semanas) ao de 1A (total de 33 semanas).

Os dados obtidos nos vasos denominados BOD2 A e BOD2 B (Figura 12) em condição de fotoperíodo 12:12 até a eclosão das larvas e de fotoperíodo 14:10 até a morte de todos os indivíduos demonstram que a postura dos ovos iniciou-se após 1 semana de exposição das fêmeas ingurgitadas às condições laboratoriais. A eclosão das larvas ocorreu após 5 semanas de incubação dos ovos. Entretanto estes carrapatos permaneceram debaixo da vegetação no decorrer das 16 semanas seguintes. Após este período ficaram dispersos na ponta do capim por 1 semana quando formaram pequenos grupos nas pontas do capim por 8-9 semanas (respectivamente 2B e 2A). O período de formação de grandes grupos de larvas foi de 21 semanas nos dois vasos. A sobrevivência das larvas de 2B foi inferior (total de 46 semanas) ao de 1A (total de 47 semanas).

Os dados obtidos nos vasos denominados BOD3 A e BOD3 B (Figura 13), com combinação de fotoperíodo de 10:14 do início do experimento até a 6<sup>a</sup> semana de vida das larvas e 14:10 até a morte dos indivíduos, demonstram que o período de pré-postura dos ovos foi de 1 semana e as larvas eclodiram no final da 6<sup>a</sup> semana do experimento. Após a eclosão os carrapatos permaneceram debaixo da vegetação por 2 semanas e ficaram dispersos nas pontas do capim por 1 semana. Pequenos grupos de larvas nas pontas do capim permaneceram por 14 semanas e grandes grupos por 27 semanas. Portanto a sobrevivência máxima das larvas nos dois vasos foi de 44 semanas.

Os carrapatos dos vasos BOD4 A e BOD4 B (Figura 14) foram submetidos ao fotoperíodo de 14:10 do início do experimento até a 6<sup>a</sup> semana de vida das larvas,

ao fotoperíodo de 12:12 entre a 7<sup>a</sup> e a 10<sup>a</sup> semana e ao fotoperíodo de 10:14 no período restante. Os dados obtidos mostram que a postura iniciou-se em uma semana do início do experimento e o período de incubação dos ovos foi de 5 semanas. As larvas permaneceram no solo após a eclosão durante 7 semanas, ficaram dispersas no capim durante 1 semana e formaram pequenos grupos nas pontas do capim durante 8 semanas (4A) e 7 semanas (4B). Grandes grupos de larvas permaneceram nas pontas do capim durante 17 semanas e a sobrevivência dos indivíduos foi de 33 semanas em 4A e 32 semanas em 4B.

Os dados obtidos nos vasos BOD5 A e BOD5 B (Figura 15) em fotoperíodo 12:12 do início do experimento até a 6<sup>a</sup> semana de vida das larvas e 14:10 da 6<sup>a</sup> semana até a morte dos carrapatos demonstram que o período de pré-postura foi de 1 semana e o tempo de incubação dos ovos foi de 5 semanas. Em relação às larvas, o tempo de permanência debaixo da vegetação foi de 2 semanas, ficaram dispersas na vegetação durante 1 semana e em pequenos grupos nas pontas do capim durante 11 semanas. Entretanto o período de permanência de grandes grupos nas pontas do capim foi de 22 semanas para os indivíduos do vaso 5B e de 29 semanas para 5A. Portanto a sobrevivência das larvas foi de 36 semanas para 5B e de 43 semanas para 5A.

Os resultados obtidos nos vasos BOD6 A e BOD6 B (Figura 16) com fotoperíodo 12:12 do início do experimento até a 6<sup>a</sup> semana de vida das larvas e de fotoperíodo de 10:14 deste período em diante mostram que a postura dos ovos iniciou-se em 1 semana e a eclosão dos ovos ocorreu na sexta semana do início do experimento. As larvas permaneceram no solo durante 2 semanas, dispersas no capim durante 1 semana, em pequenos grupos nas pontas do capim durante 5 semanas e em grandes grupos durante 12 semanas. Portanto a sobrevivência nos dois vasos foi de 20 semanas.

Os indivíduos contidos nos vasos denominados BOD7 A e BOD7 B (Figura 17) ficaram expostos ao fotoperíodo de 12:12 durante o período de pré-postura até a eclosão das larvas, ao fotoperíodo de 10:14 entre a eclosão e a 10<sup>a</sup> semana de vida das larvas e ao fotoperíodo de 14:10 até o término do experimento. Os resultados obtidos demonstram 1 semana para início da postura dos ovos, 5 semanas para o período de incubação, 3 semanas de permanência das larvas debaixo da vegetação, 1 semana dispersas no capim e 4 semanas formando pequenos grupos nas pontas do capim. A duração de grandes grupos nas pontas do capim foi de 17 semanas



para 7B e de 18 semanas para 7A. A sobrevivência das larvas foi de 25 semanas para 7B e de 26 semanas para 7A.

Os dados obtidos nos vasos denominados BOD8 A e BOD8 B (Figura 18); com fotoperíodo de 14:10 do início do experimento até a eclosão das larvas, fotoperíodo de 12:12 durante as primeiras 6 semanas de vida da larva e fotoperíodo de 10:14 da 6<sup>a</sup> semana até a morte dos carrapatos; demonstram que o período de postura iniciou-se durante a primeira semana do experimento e a na 6<sup>a</sup> semana ocorreu a eclosão das larvas. Estas larvas permaneceram debaixo da vegetação durante 3 semanas, ficaram dispersas no capim durante 1 semana e formaram pequenos grupos nas pontas do capim durante 4 semanas. O período de permanência das larvas em grandes grupos nas pontas do capim foi de 22 semanas para 8B e de 13 semanas para 8A. A sobrevivência foi de 30 semanas para 8B e de 21 semanas para 8A.

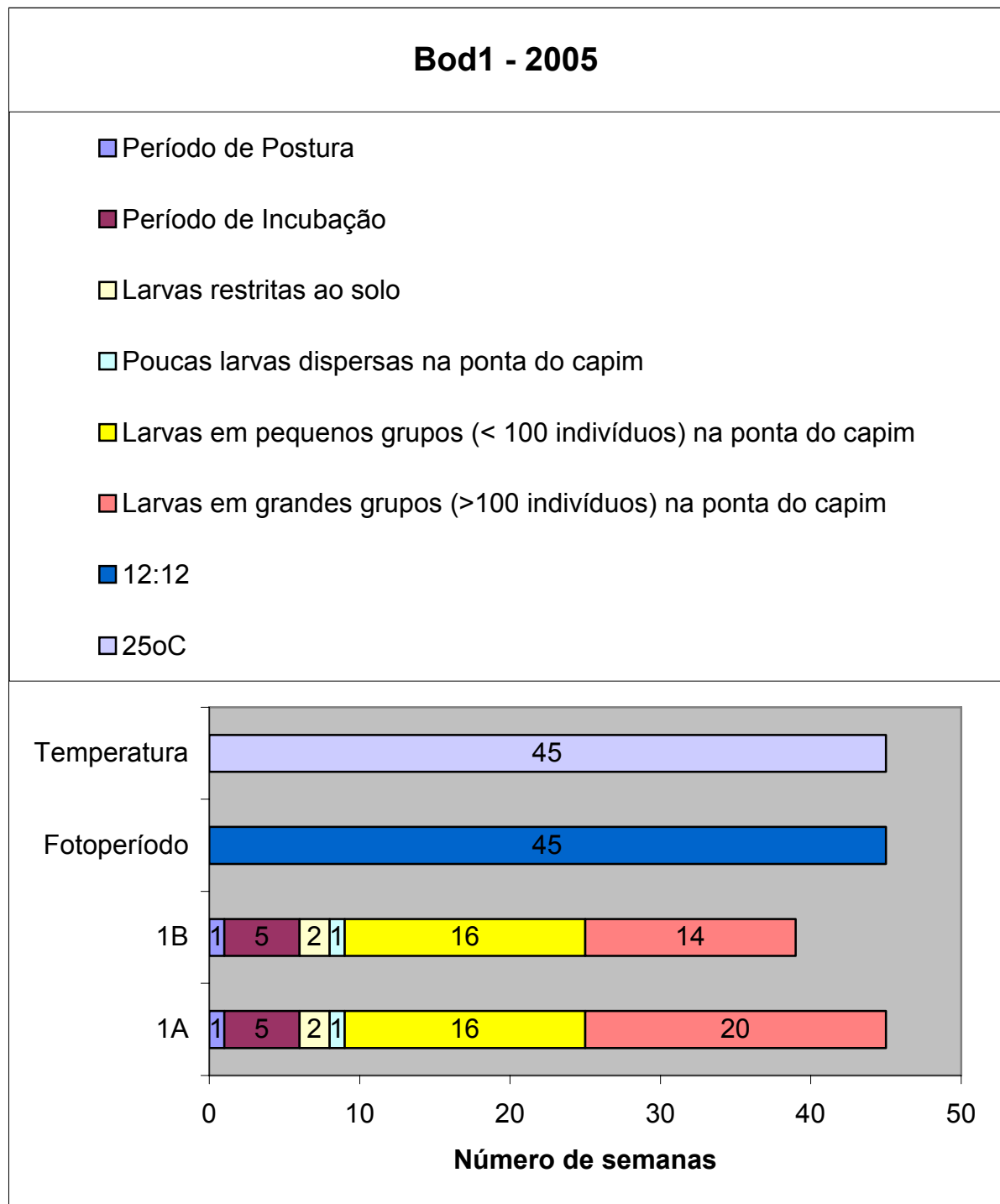


Figura 11 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (1A e 1B) na incubadora B.O.D 1

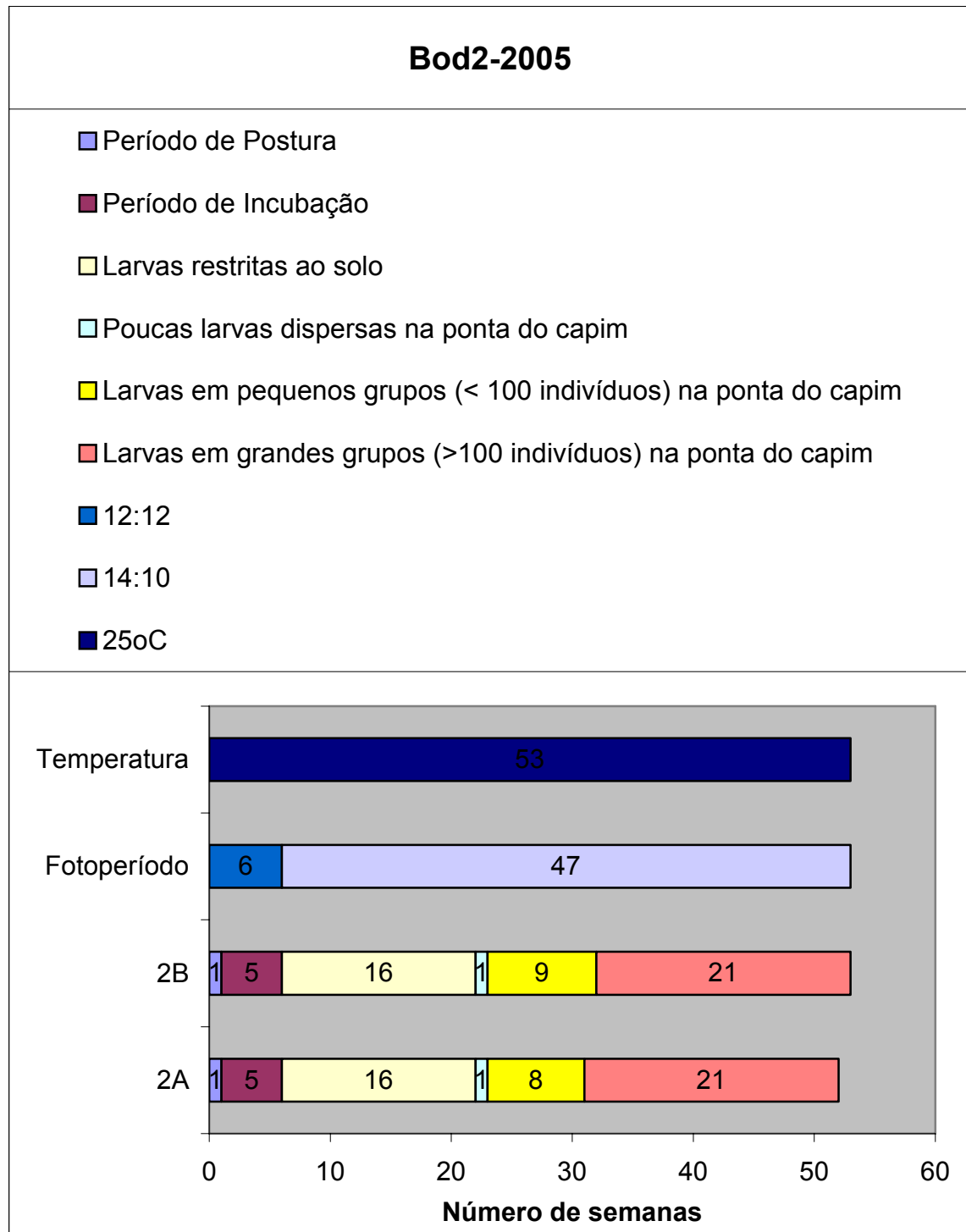


Figura 12 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (2A e 2B) na incubadora B.O.D 2

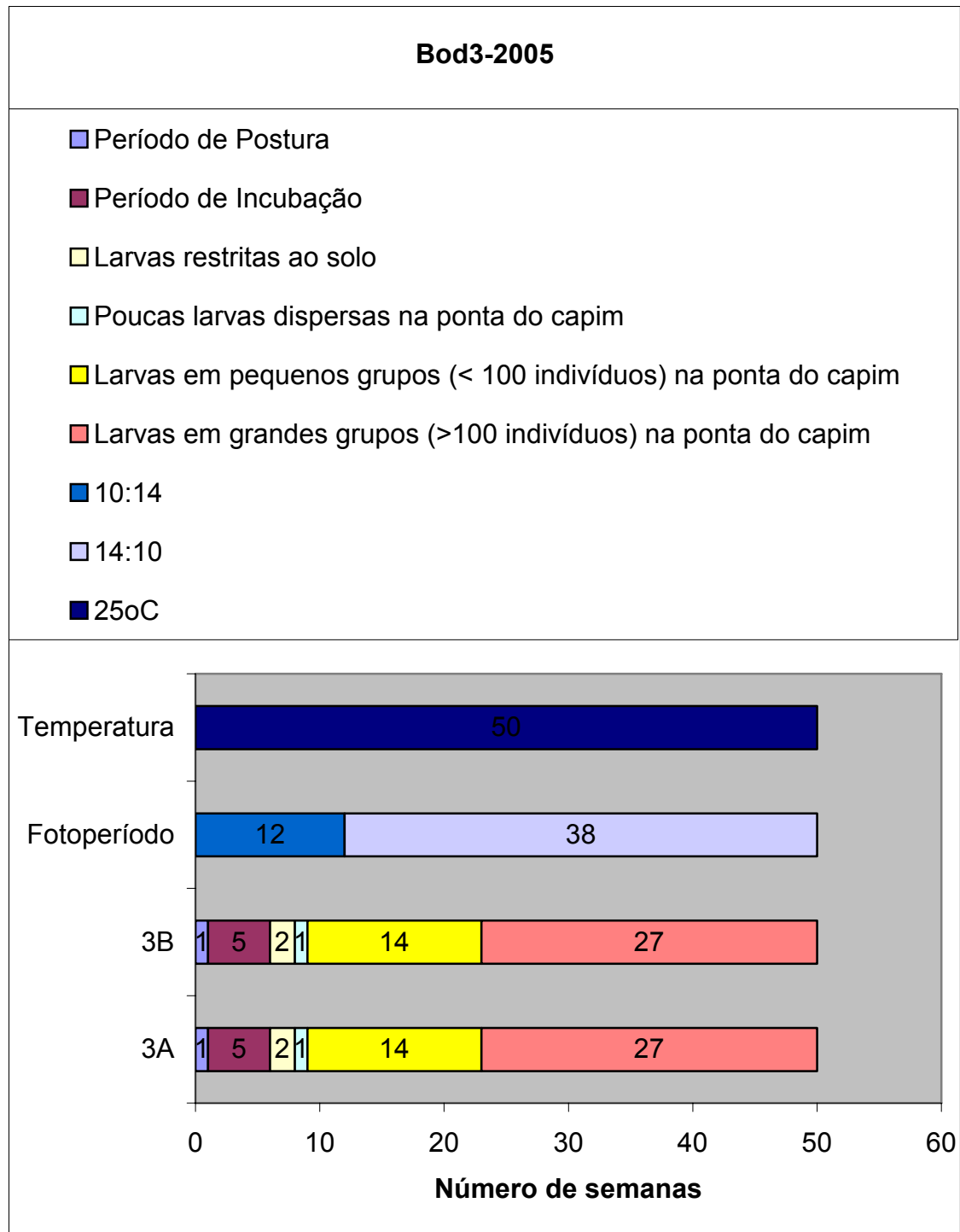


Figura 13 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (3A e 3B) na incubadora B.O.D 3

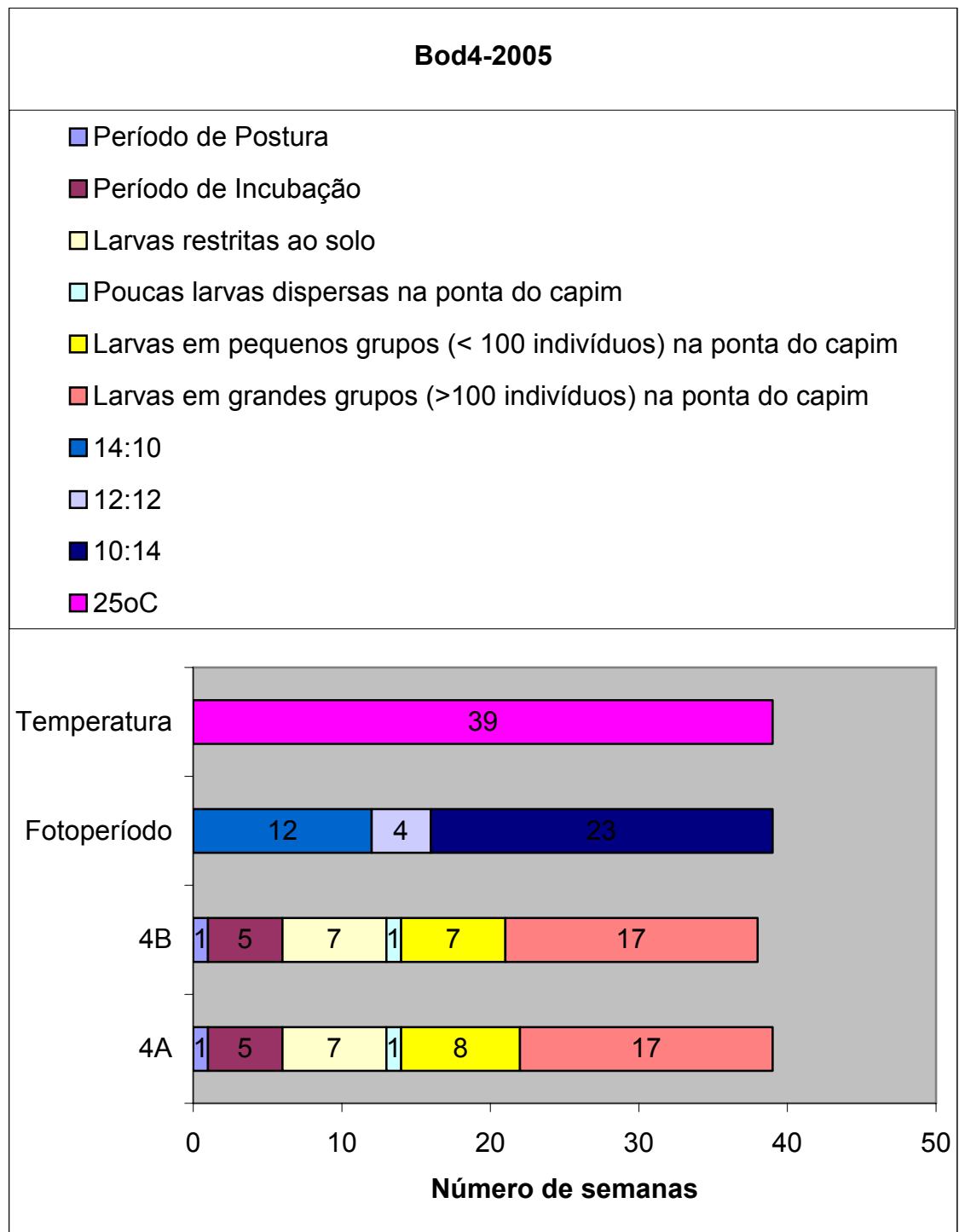


Figura 14 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (4A e 4B) na incubadora B.O.D 4

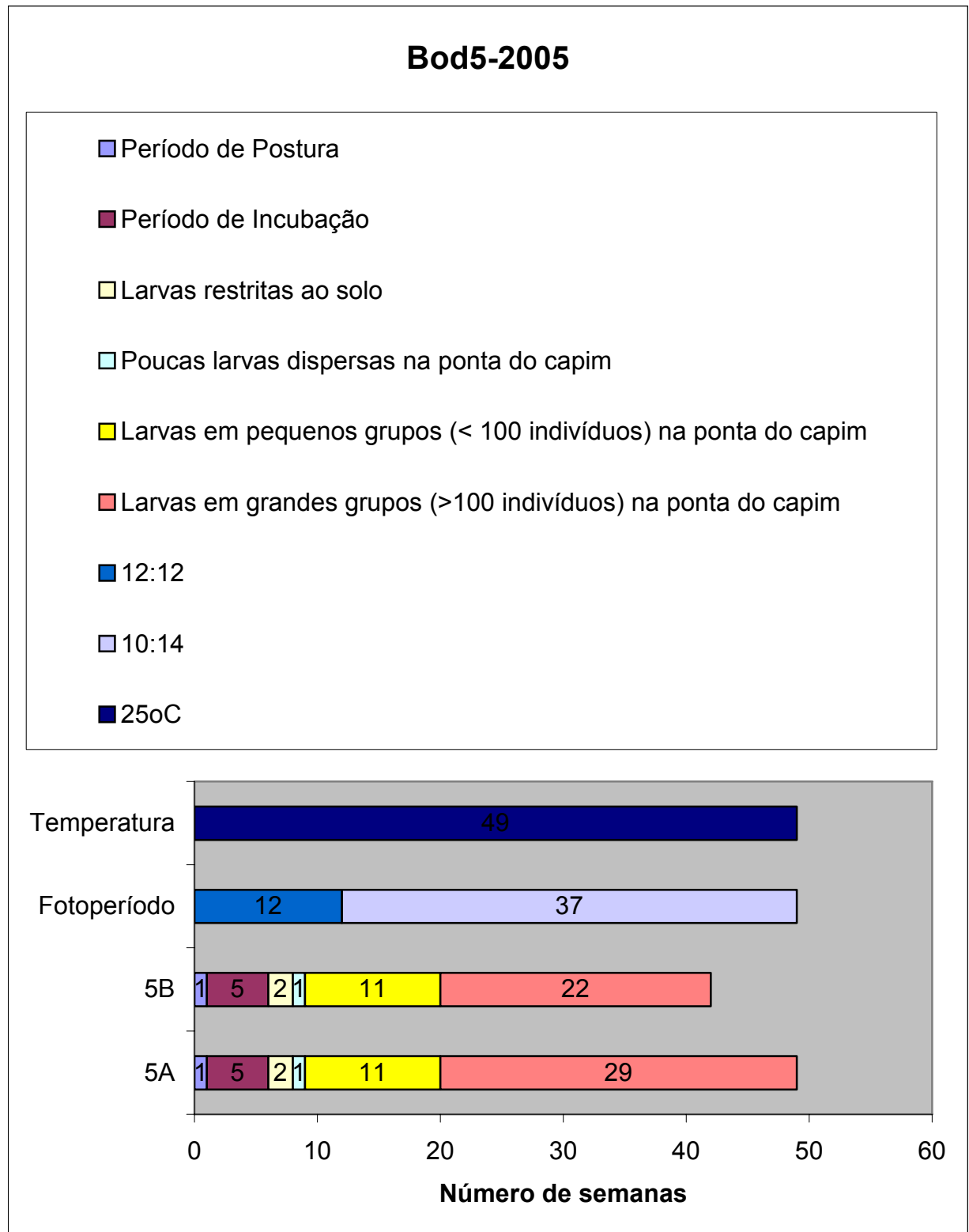


Figura 15 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (5A e 5B) na incubadora B.O.D 5

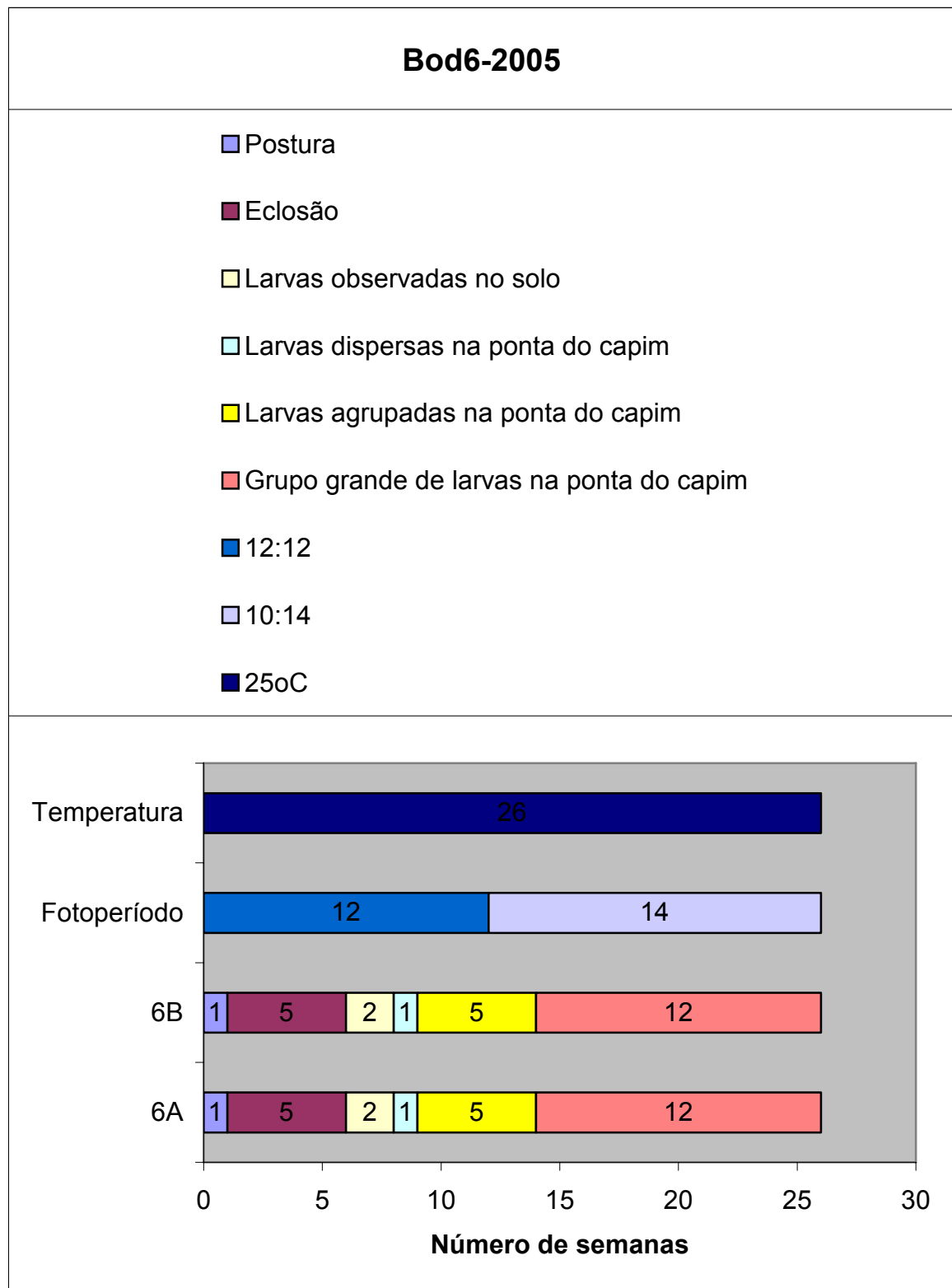


Figura 16 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (6A e 6B) na incubadora B.O.D 6

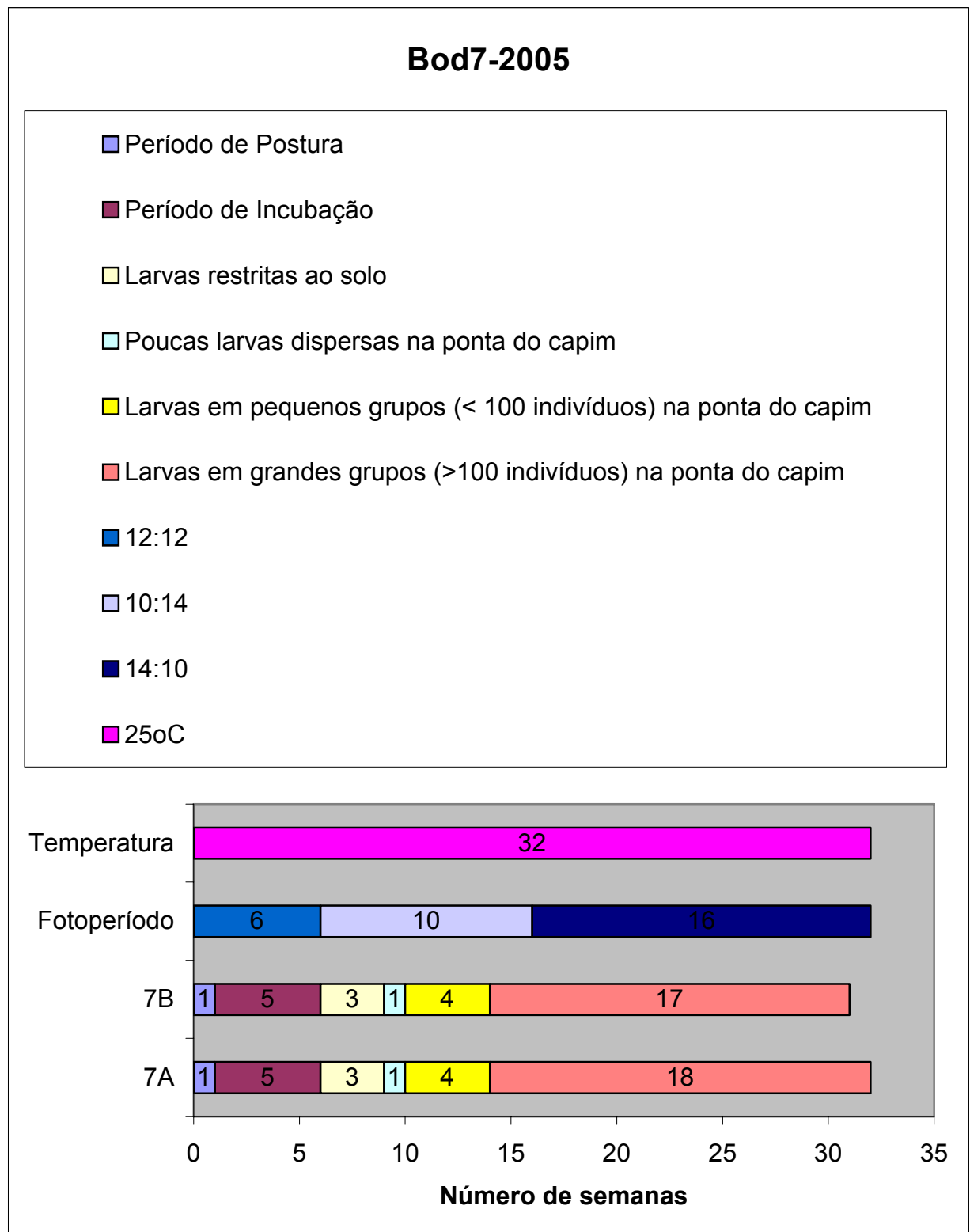


Figura 17 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (7A e 7B) na incubadora B.O.D 7



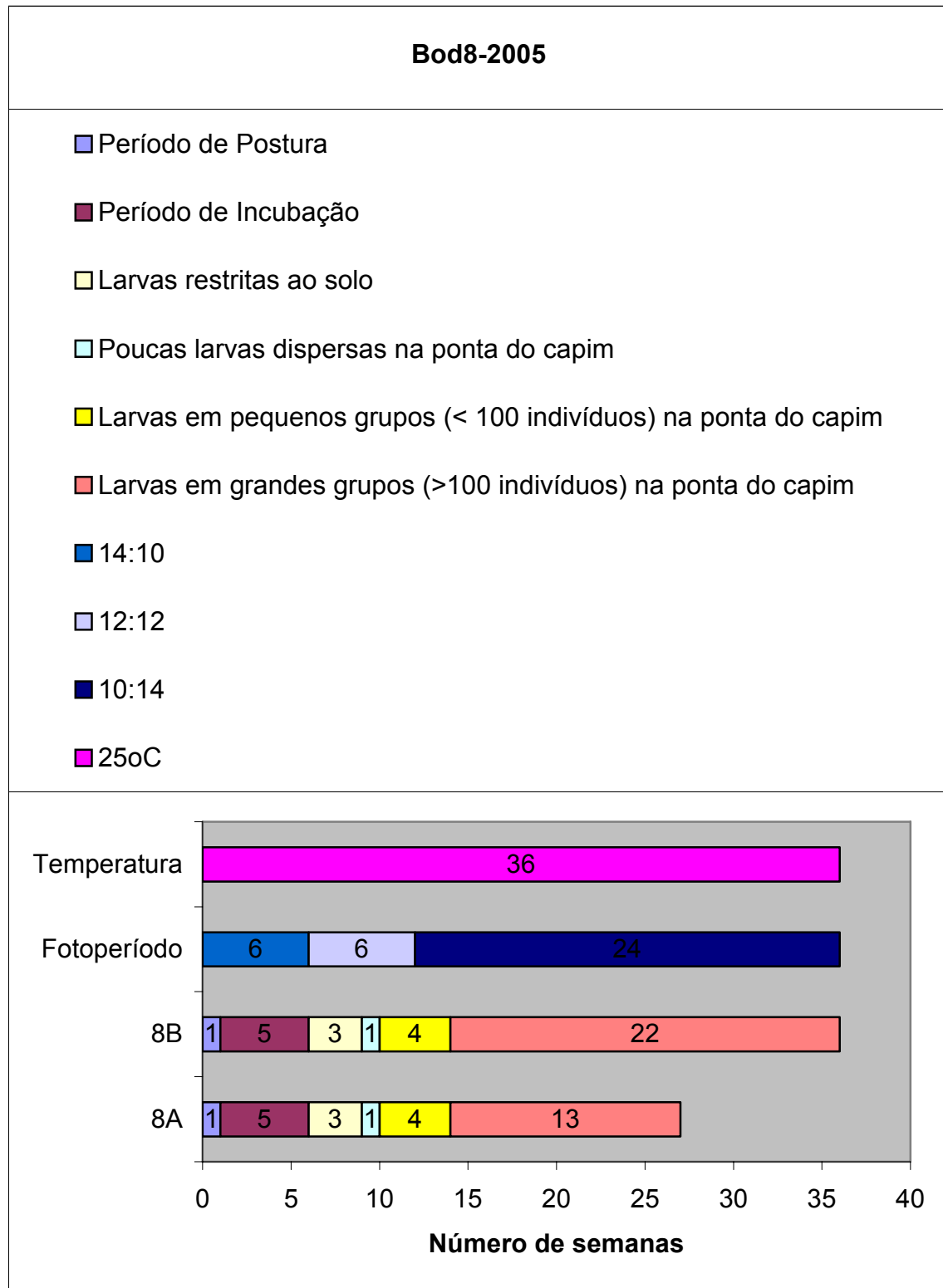


Figura 18 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (8A e 8B) na incubadora B.O.D 8

#### **4.2 Efeito da temperatura na indução, manutenção e término da diapausa comportamental de larvas não alimentadas de *A. cajennense***

Os grupos experimentais foram formados em vasos de capim braquiária, conforme descrito no Material e Métodos, utilizando-se 8 fêmeas ingurgitadas por vaso. Para cada combinação de fotoperíodo e temperatura, utilizaram-se dois vasos (duas repetições), que foram mantidos na mesma incubadora B.O.D., totalizando 8 incubadoras.

Nesta segunda etapa, os grupos experimentais foram submetidos a diferentes combinações de temperatura (15°C, 20°C e 25°C), entretanto mantendo-se o fotoperíodo constante (14:10, 10:14, 24:00 ou 00:24), conforme descrito na tabela 2. Os parâmetros biológicos observados em cada um dos vasos estão representados nas Figuras 19-26. Conforme descrito nas legendas destas figuras, o comportamento das larvas foi dividido conforme previamente descrito no item 4.1.

Os dados obtidos nos dois vasos denominados BOD1 A e BOD1 B (Figura 19) em condição constante de fotoperíodo 14:10 (claro:escuro) e temperatura de 25°C do início do experimento até a 6ª semana de vida das larvas e 15°C da 6ª semana ao término do experimento demonstram que a postura dos ovos iniciou-se após 1 semana de exposição das fêmeas ingurgitadas às condições da incubadora. A eclosão das larvas ocorreu após 5 semanas do início da postura e estes carrapatos permaneceram debaixo da vegetação no decorrer das 14 semanas subseqüentes. Após este período ficaram dispersos na ponta do capim por 1 semana quando formaram pequenos grupos nas pontas do capim por 1 semana. Entretanto o período de formação de grandes grupos de larvas foi diferente nos dois vasos. As larvas contidas no vaso 1B ficaram durante 44 semanas na ponta do capim e as larvas do vaso 1A permaneceram durante 49 semanas. Portanto a sobrevivência das larvas de 1A foi superior (total de 65 semanas) ao 1B (total de 60 semanas).

Os dados obtidos nos dois vasos denominados BOD2 A e BOD2 B (Figura 20) em condição constante de fotoperíodo (14:10) e temperatura (25°C) mostram que a postura iniciou-se na primeira semana do experimento e as larvas eclodiram no final da 6ª semana. As larvas permaneceram no solo, debaixo da vegetação, por 23 semanas, quando então ficaram nas pontas do capim por 1 semana e também

pelo mesmo período de tempo em pequenos grupos. Já grandes grupos de larvas nas pontas do capim somente tiveram início na 31<sup>a</sup> semana do experimento e permaneceram com este comportamento durante 28 semanas (2B) e 29 semanas (2A). A sobrevivência das larvas nestas condições foi de 53 semanas em 2B e 54 semanas em 2A.

Os vasos denominados BOD3 A e BOD3 B (Figura 21) foram submetidos ao fotoperíodo constante de 14:10 e temperatura de 25°C durante o período de pré-postura e incubação dos ovos e 15°C da eclosão à morte das larvas. O período de postura foi de 2 semanas e o período de incubação dos ovos foi de 5 semanas. Entretanto as larvas permaneceram debaixo da vegetação durante 3 semanas, dispersas no capim durante 5 semanas e formando pequenos grupos nas pontas do capim durante 2 semanas. Larvas em grandes grupos nas pontas do capim foram observadas durante 37 semanas em 3B e 41 semanas na 3A. A sobrevivência em 3A foi superior (51 semanas) ao 3B (47 semanas).

Os vasos da BOD4 A e BOD4 B (Figura 22) foram submetidos às condições constantes de fotoperíodo (10:14) e de temperatura (25°C) e obteve-se os seguintes resultados. O período de postura dos ovos foi de 1 semana e de incubação foi de 5 semanas. As larvas eclodidas permaneceram debaixo da vegetação por 3 semanas, quando então foram para o capim ficando dispersas por 1 semana, formaram pequenos grupos nas pontas durante 5 semanas e formaram grandes grupos durante 36 semanas. A sobrevivência das larvas foi de 45 semanas em ambos os vasos.

Os dados obtidos nos vasos da BOD5 A e BOD5 B (Figura 23), com fotoperíodo e temperatura constante (10:14 e 20°C respectivamente) demonstram que o período de pré-postura foi de 1 semana e de incubação dos ovos foi de 9 semanas. As larvas recém-eclodidas ficaram no solo por 4 semanas e dispersas no capim por 1 semana. Porém permaneceram em pequenos grupos nas pontas do capim durante 2 semanas e em grandes grupos durante 37 semanas em 5B, e em pequenos grupos nas pontas do capim durante 1 semana e em grandes grupos durante 38 semanas em 5A. A sobrevivência das larvas foi de 44 semanas em ambos os vasos.

Os dados obtidos nos dois vasos da BOD6 A e BOD6 B (Figura 24), com fotoperíodo de 10:14 e temperatura de 20°C do início do experimento à 6<sup>a</sup> semana de vida das larvas e 25°C da 6<sup>a</sup> semana ao término do experimento, demonstraram

que a postura dos ovos ocorreu em 1 semana e o período de incubação foi de 9 semanas. As larvas depois de eclodidas permaneceram no solo durante 4 semanas e durante 1 semana dispersas e em pequenos grupos nas pontas do capim. Entretanto grandes grupos de larvas nas pontas do capim permaneceram durante 35 semanas nas pontas do capim (6B) e 36 semanas (6A). Portanto a sobrevivência foi de 41 semanas para 6B e de 42 semanas para 6A.

Os grupos experimentais a seguir foram formados para avaliar o comportamento dos carrapatos às condições de claro constante e escuro constante em 25°C. Estes testes de fotoperíodo foram realizados neste segundo experimento pelo número restrito de incubadoras, não sendo possível de ser feito no primeiro ano da pesquisa.

Os resultados obtidos na BOD7 A e BOD7 B (Figura 25), com fotoperíodo de 24:00 à 25°C demonstram que nestas condições o período de pré-postura foi de 2 semanas e de incubação dos ovos foi de 5 semanas. As larvas permaneceram debaixo da vegetação durante 10 semanas (7B) e 11 semanas (7A). O período que as larvas permaneceram dispersas no capim foi semelhante nos dois vasos (1 semana). O período que as larvas permaneceram em pequenos grupos e em grandes grupos nas pontas do capim foi de respectivamente 1 e 21 semanas para 7B e 2 e 18 semanas para 7A. Portanto a sobrevivência das larvas foi de 33 semanas para 7B e de 32 semanas para 7A.

Os resultados obtidos na BOD8 A e BOD8 B (Figura 26), com fotoperíodo de 00:24 à 25°C demonstram que nestas condições o período de pré-postura foi de 1 semana e de incubação dos ovos foi de 5 semanas. As larvas permaneceram debaixo da vegetação durante 2 semanas e o período de que as larvas permaneceram dispersas no capim foi de 1 semana. Pequenos grupos de larvas permaneceram nas pontas do capim durante 3 semanas e grandes grupos permaneceram durante 29 semanas. Com isso a sobrevivência das larvas foi de 35 semanas para os indivíduos contidos nos dois vasos.

Tabela 2 - Condições experimentais de temperatura e fotoperíodo em que foram expostas as fêmeas ingurgitadas de *Amblyomma cajennense*, e seus respectivos ovos e larvas

| Grupos experimentais* | Fotoperíodo** | Condições de Temperatura (°C), conforme os parâmetros biológicos avaliados |  |  |  |
|-----------------------|---------------|--|--|--|--|
|                       |               | Período de pré-postura, postura e incubação dos ovos                       | Seis semanas a contar do início da eclosão | Larvas eclodidas<br>7 <sup>a</sup> Semana à 10 <sup>a</sup> Semana | Período restante, até a morte de todas as larvas |
| BOD 1                 | 14:10         | 25   | 25   | 15   | 15   |
| BOD 2                 | 14:10         | 25   | 25   | 25   | 25   |
| BOD 3                 | 14:10         | 25   | 15   | 15   | 15   |
| BOD 4                 | 10:14         | 25   | 25   | 25   | 25   |
| BOD 5                 | 10:14         | 20   | 20   | 20   | 20   |
| BOD 6                 | 10:14         | 20   | 20   | 25   | 25   |
| BOD 7                 | 24:00         | 25   | 25   | 25   | 25   |
| BOD 8                 | 00:24         | 25   | 25   | 25   | 25   |

\* cada grupo experimental foi composto por dois vasos de capim braquiária colocados dentro de uma mesma incubadora do tipo B.O.D. Em cada vaso foram inicialmente colocadas 8 fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense*.

\*\* valores expressos em: Número de horas de claro: Número de horas de escuro, para um ciclo de 24 horas.

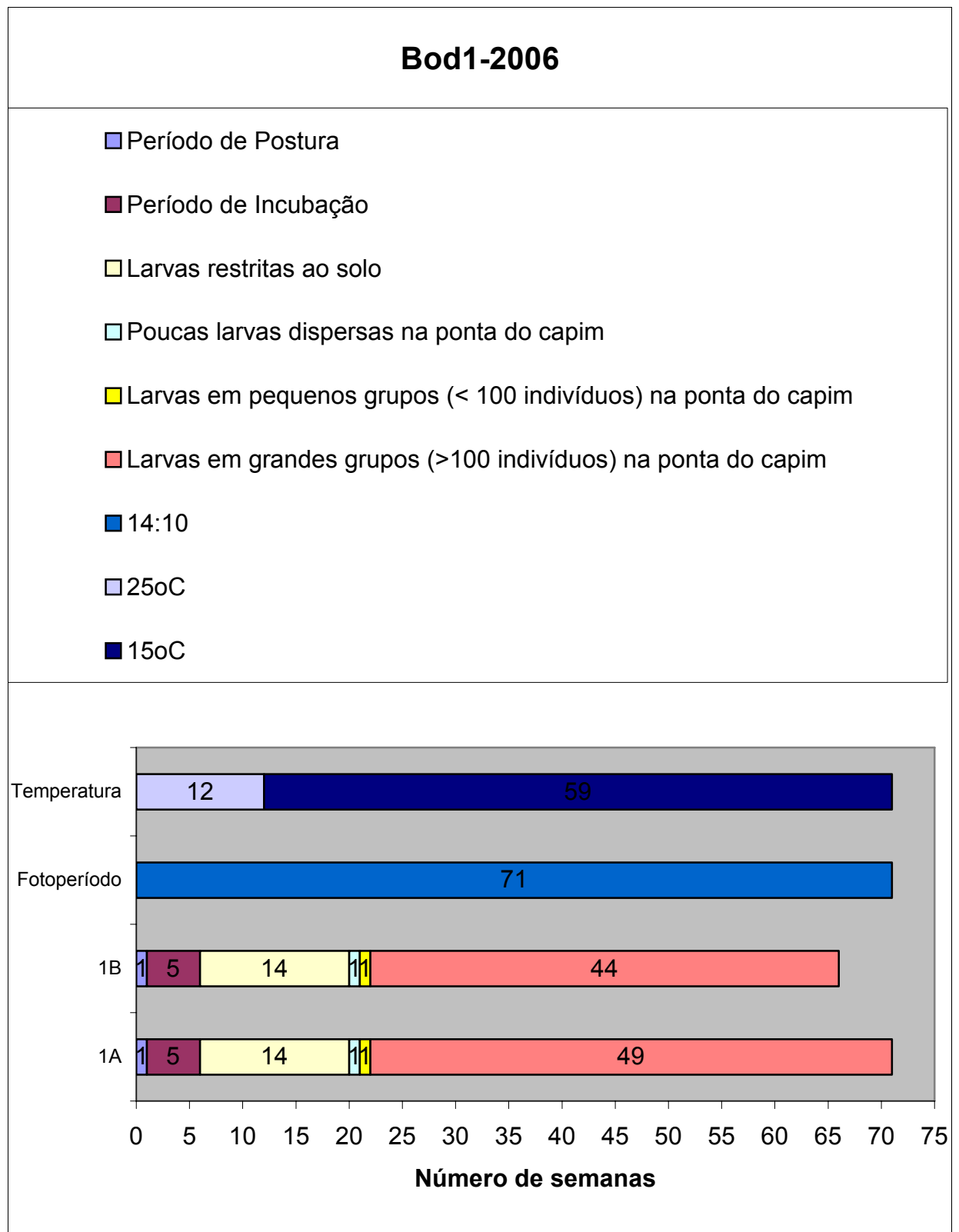


Figura 19 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (1A e 1B) na incubadora B.O.D 1

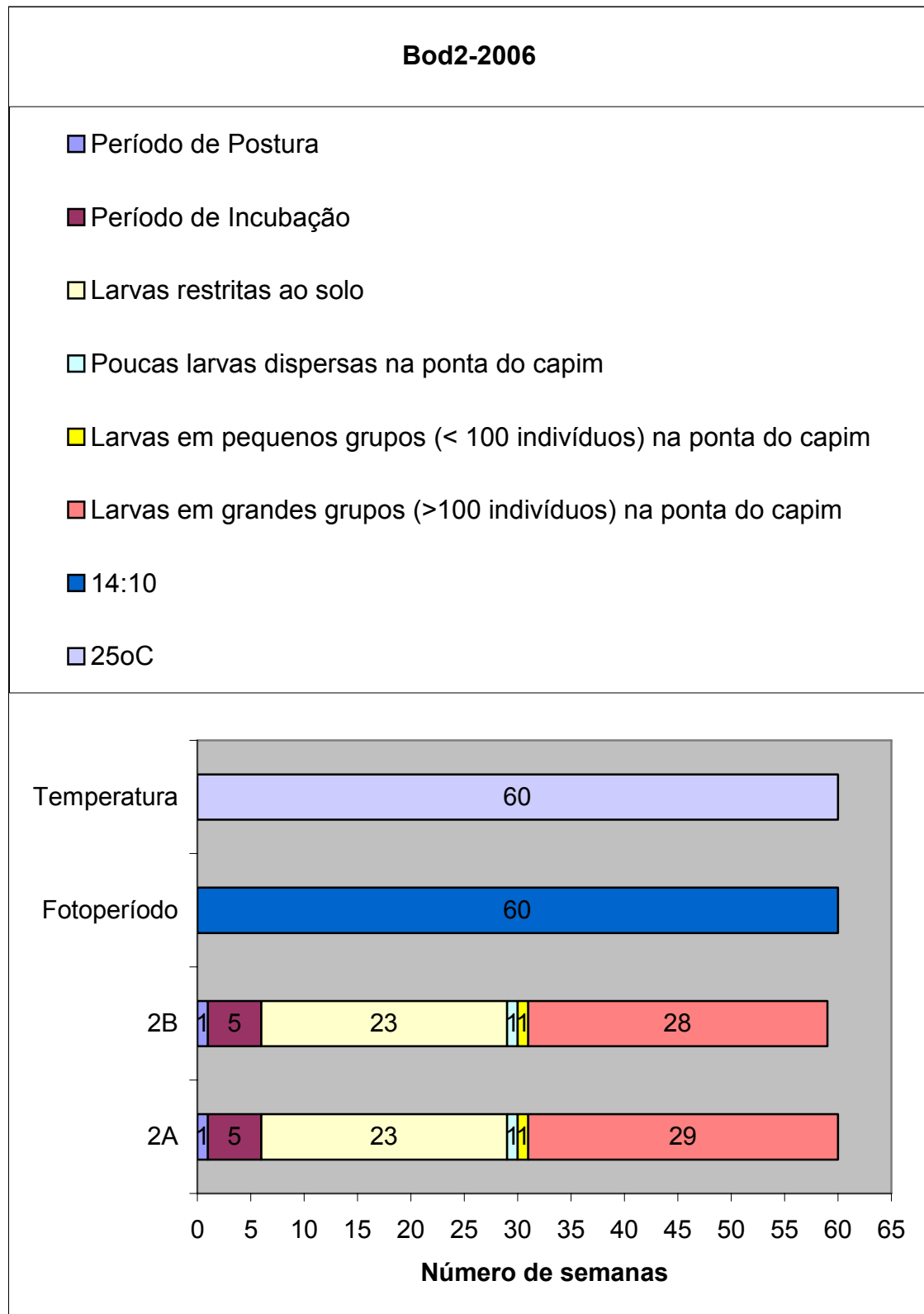


Figura 20 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (2A e 2B) na incubadora B.O.D 2

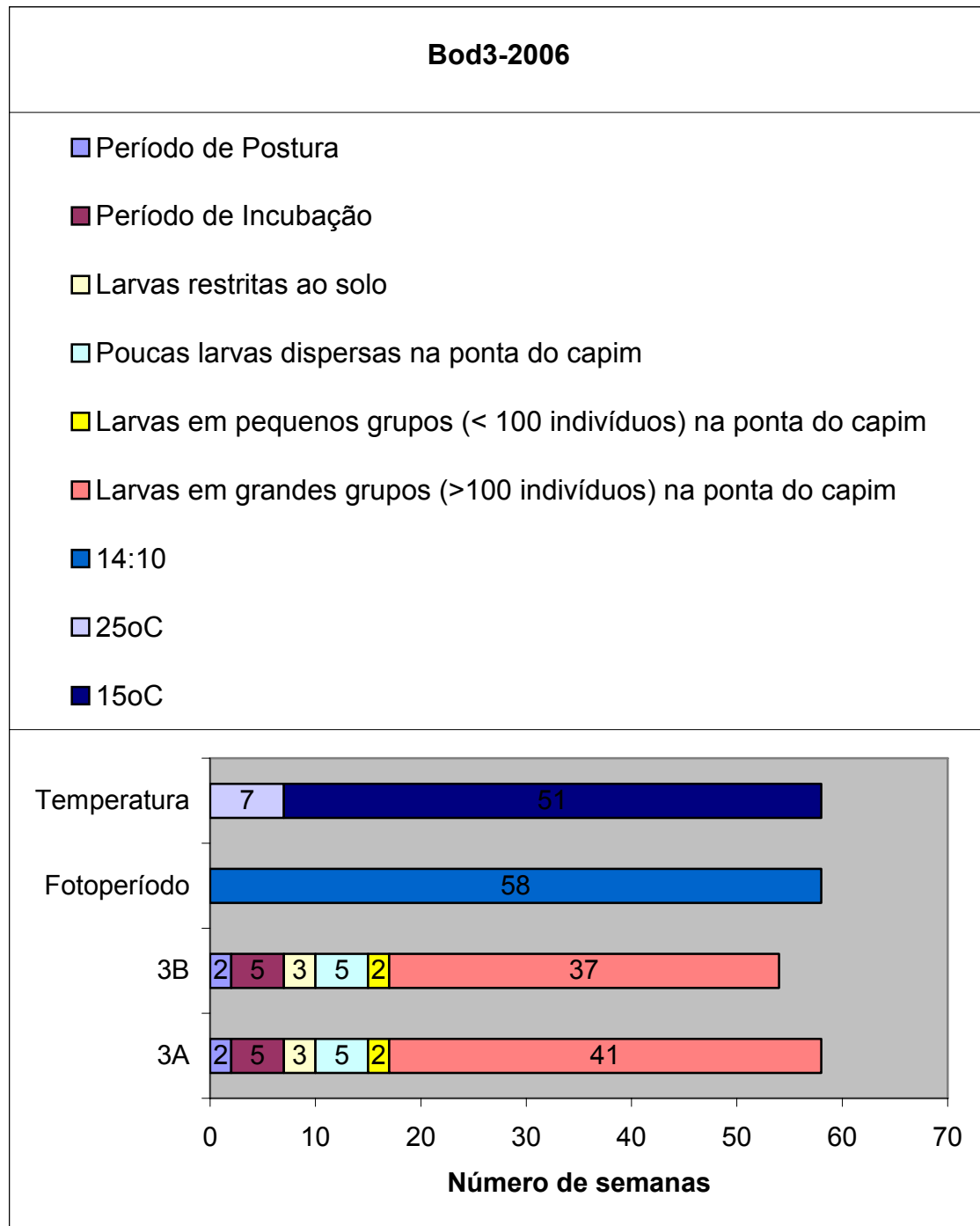


Figura 21 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (3A e 3B) na incubadora B.O.D 3



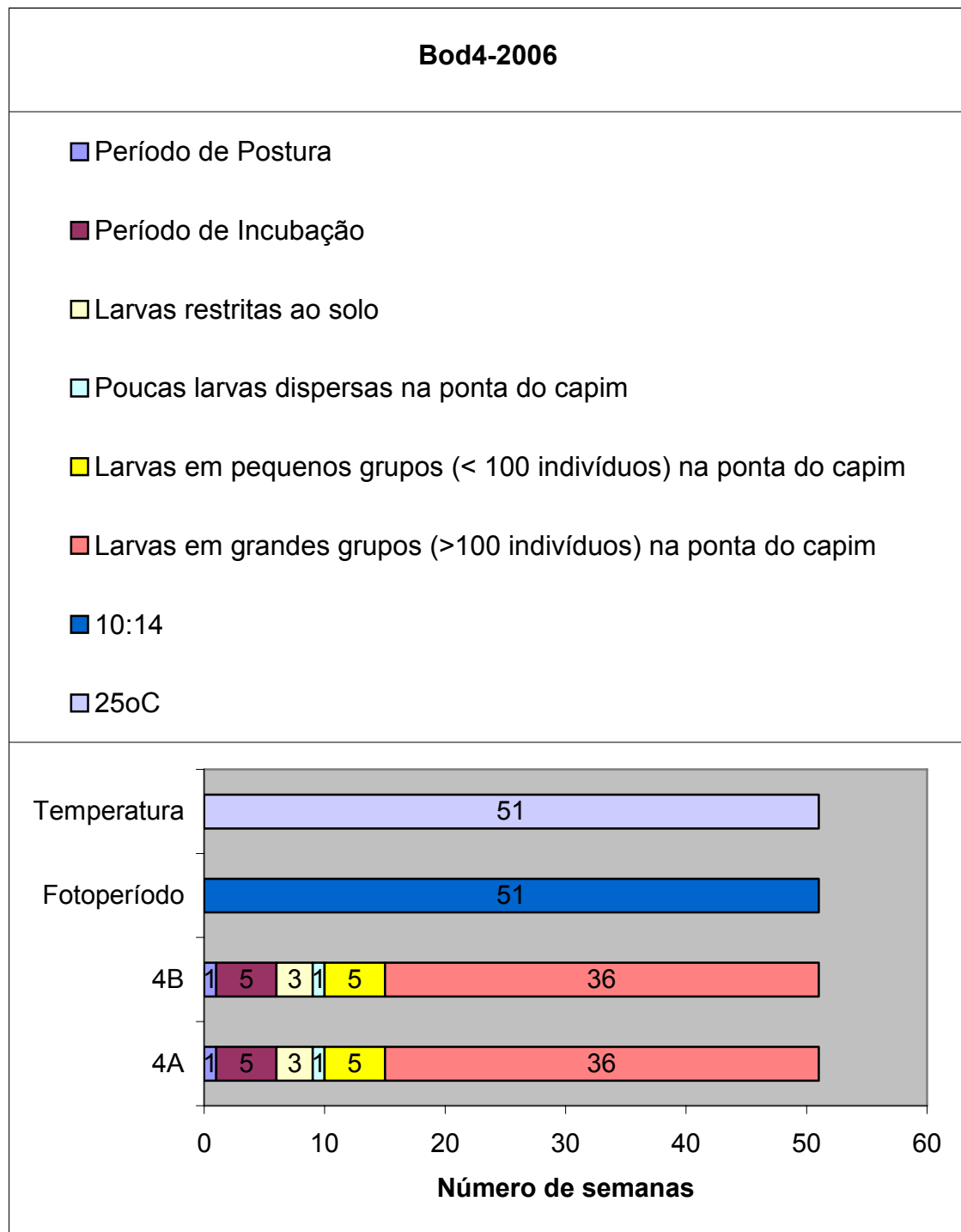


Figura 22: Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (4A e 4B) na incubadora B.O.D 4

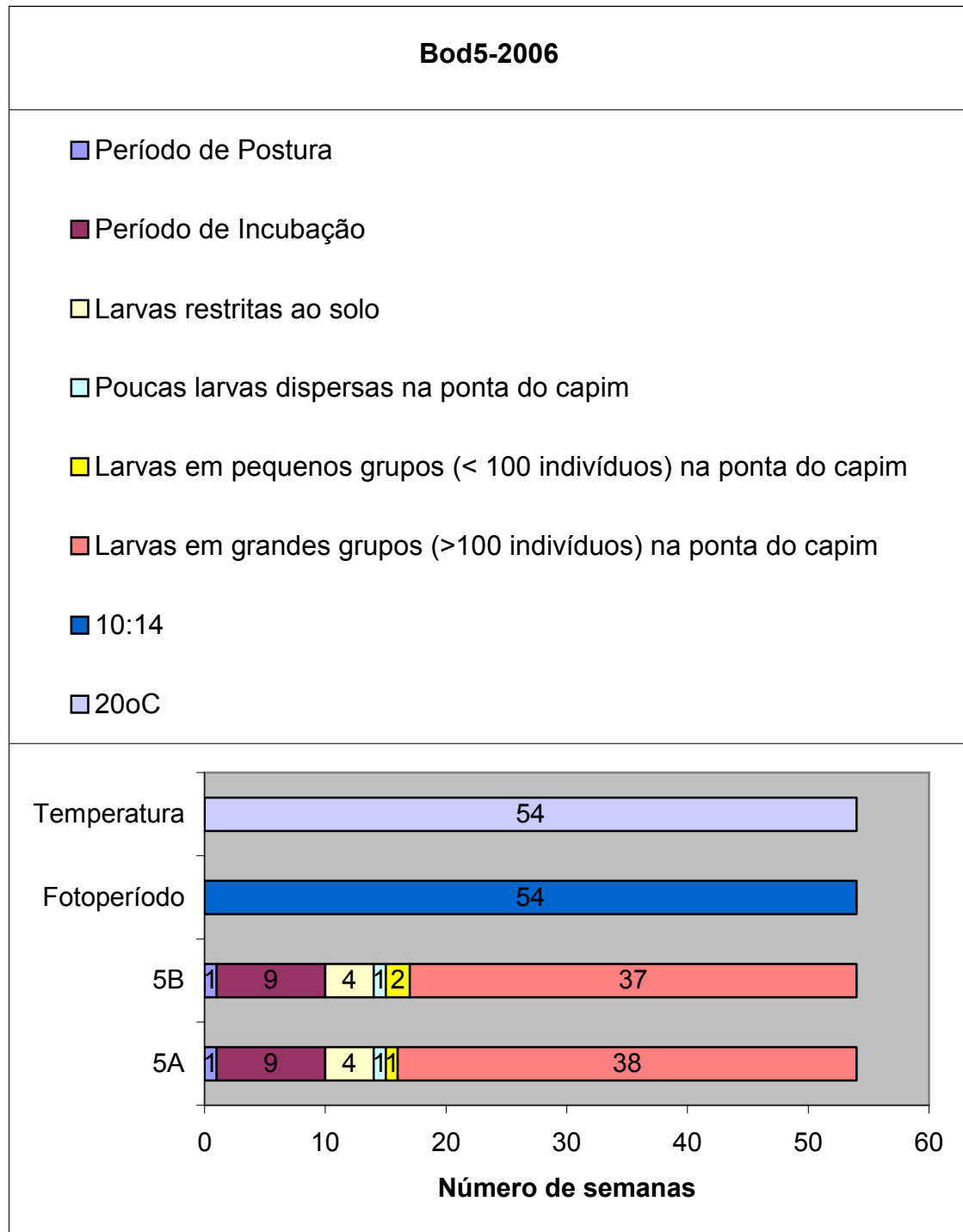


Figura 23 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (5A e 5B) na incubadora B.O.D 5

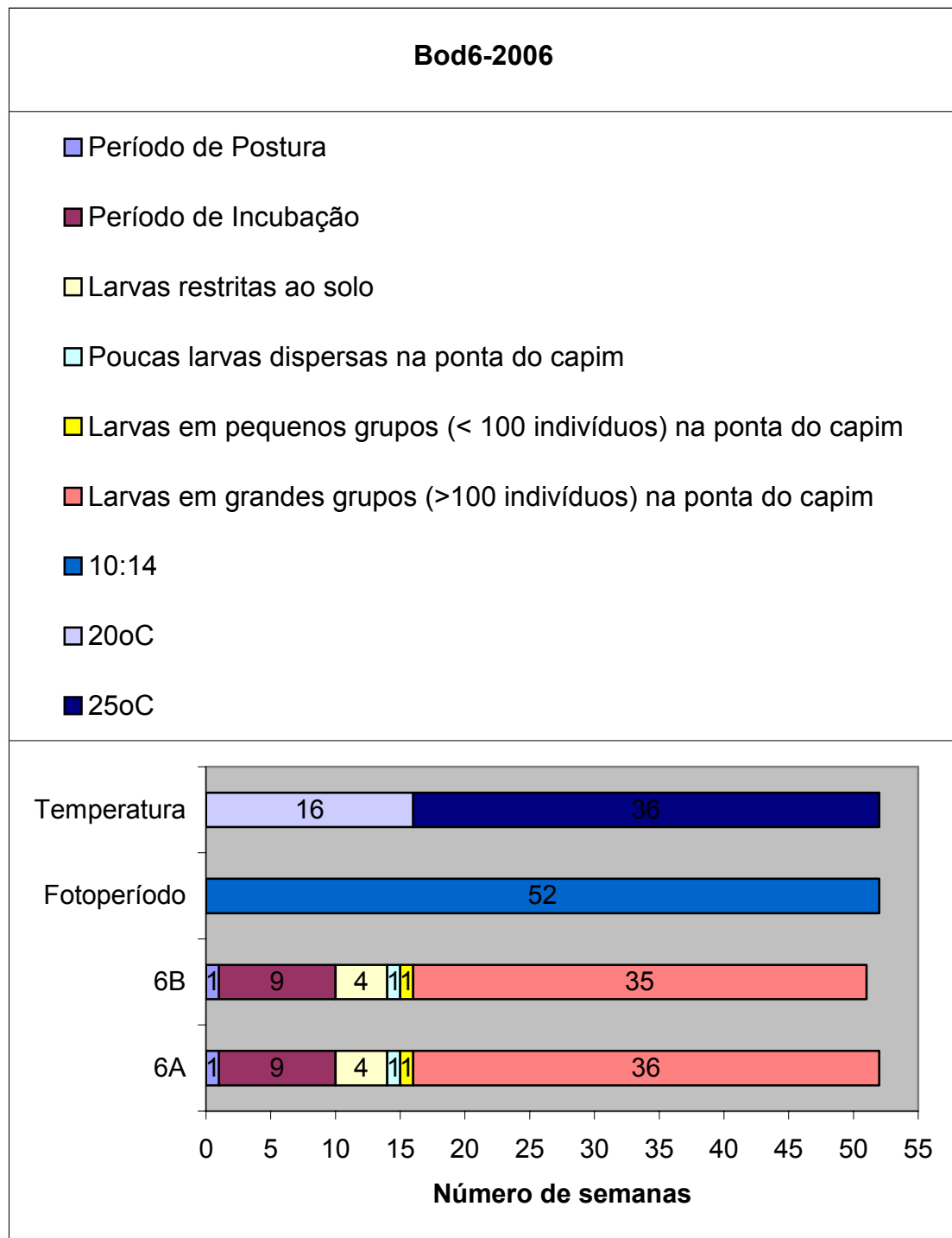


Figura 24 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (6A e 6B) na incubadora B.O.D 6

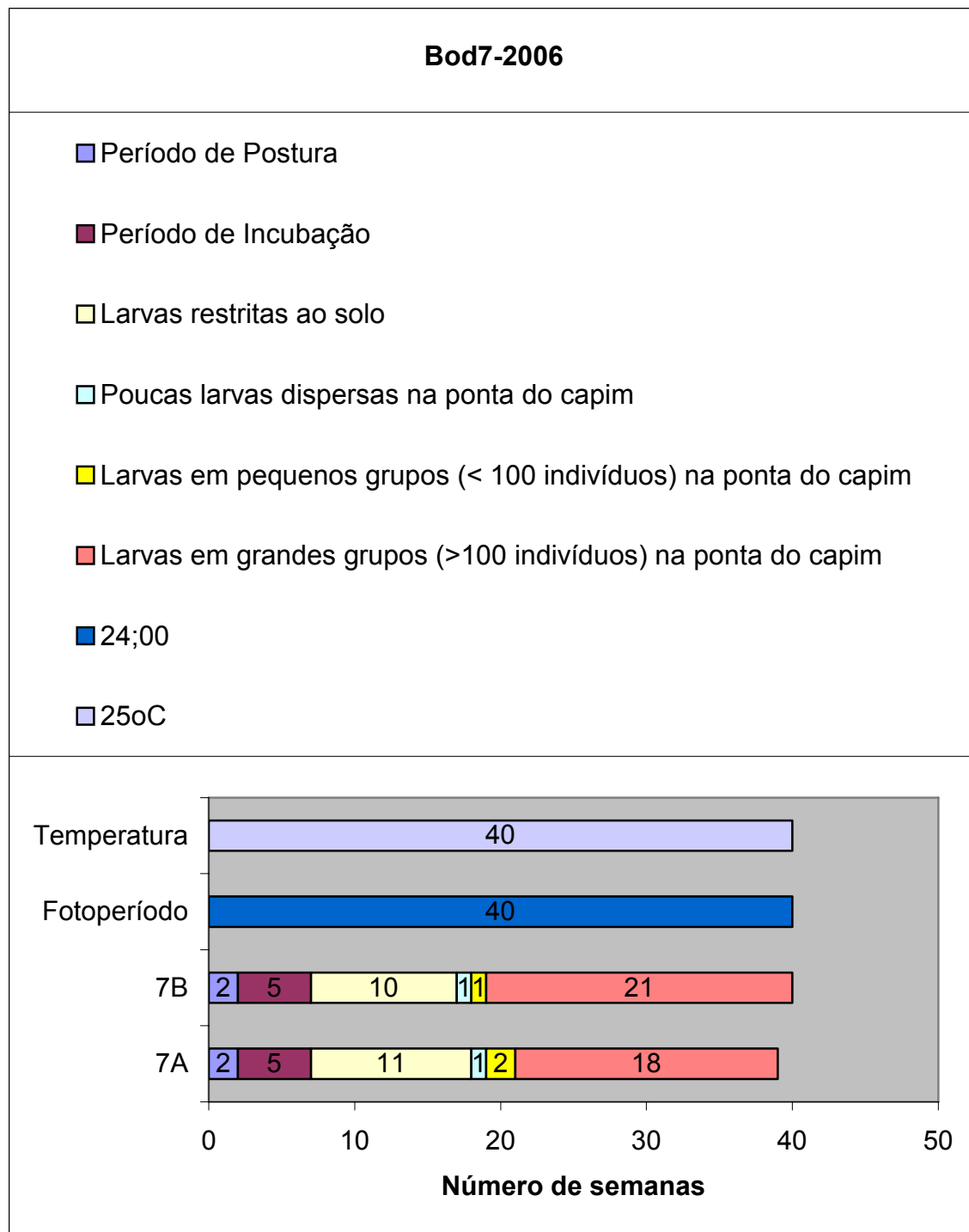


Figura 25 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (7A e 7B) na incubadora B.O.D 7

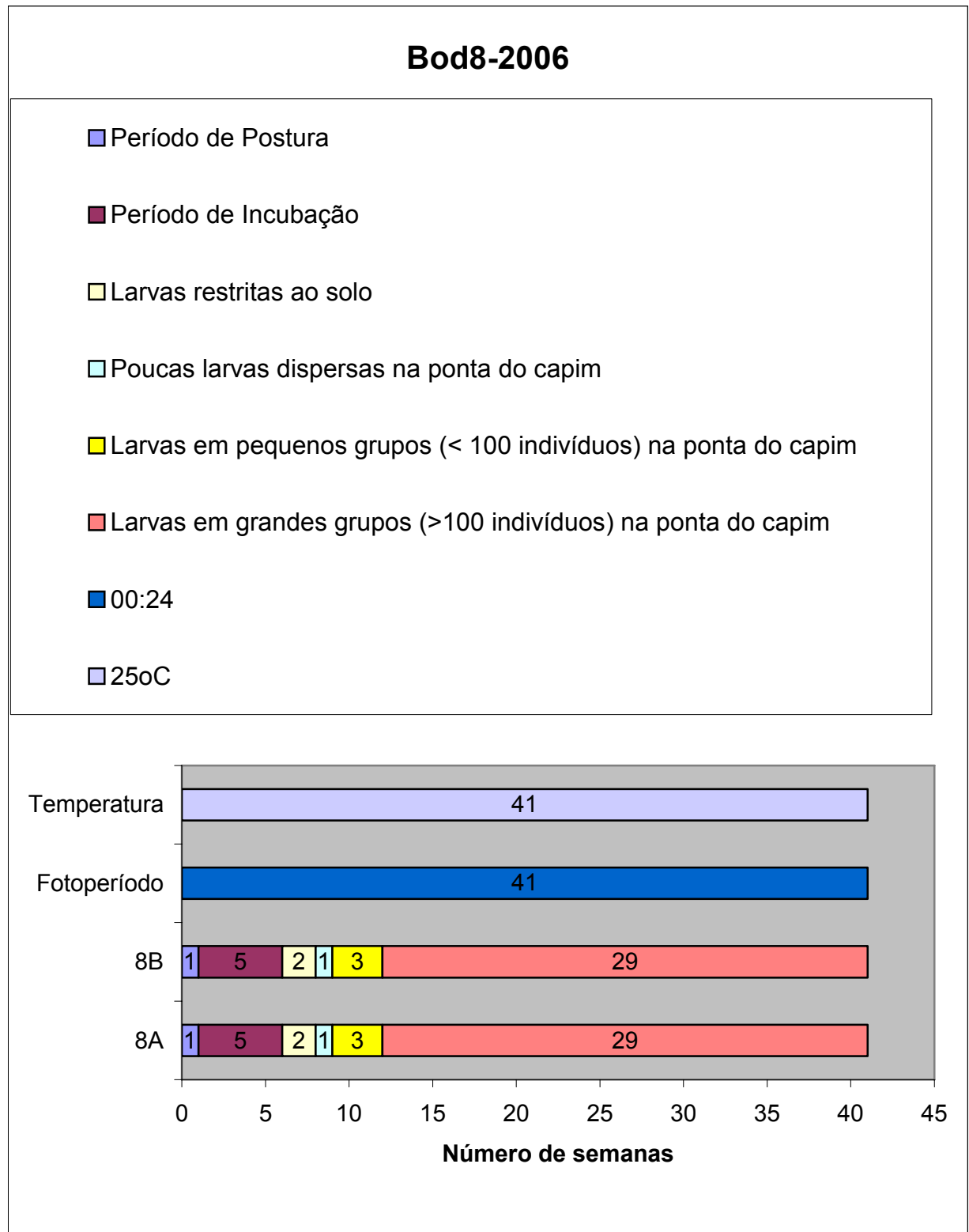


Figura 26 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em dois vasos (8A e 8B) na incubadora B.O.D 8

### 4.3 Experimento em campo – Canteiros

Os dados obtidos no experimento de campo de 2005 (Tabela 3), realizado em piquetes de capim da espécie *Brachiaria decumbens* no campus de Pirassununga da Universidade de São Paulo, demonstram que algumas fêmeas ingurgitadas que estavam presas em tubos morreram no início do experimento (Tubos 1, 2, 7, 8 e 10). As larvas eclodidas no interior dos tubos permaneceram durante todo o experimento aprisionadas nesta estrutura, não indo para o solo ou para a ponta do capim. Entretanto elas foram importantes para determinar o período de pré-postura (1 semana) e incubação dos ovos (5-6 semanas) em todos os grupos experimentais de fêmeas soltas nos canteiros 1, 2 e 3.

As larvas que eclodiram de ovos postos por fêmeas soltas nos três canteiros permaneceram durante 7 semanas no solo e formaram os primeiros grupos de larvas nas pontas do capim ao redor de 10 semanas (Canteiro 1), 15 semanas (Canteiro 2) e 11 semanas (Canteiro 3). A sobrevivência máxima das larvas foi de 8 semanas (Tubo 9), 13 semanas (Tubos 4 e 5), 16 semanas (Tubo 6), 17 semanas (Canteiro 1), 18 semanas (Canteiro 3), 20 semanas (Tubo 3) e 22 semanas (Canteiro 2).

Os dados obtidos no experimento de campo de 2006 (Tabela 4) demonstram que o período de pré-postura foi de 1 semana e incubação dos ovos ocorreu no término das seguintes 6 semanas. As larvas que eclodiram de ovos postos por fêmeas soltas nos Canteiros 1 a 3 permaneceram durante 9 a 10 semanas restritas ao solo, debaixo da vegetação. Após esse período, grupos de larvas permaneceram durante 14 semanas (Canteiros 2 e 3) e 15 semanas (Canteiro 1) nas pontas do capim. Portanto a sobrevivência máxima para cada grupo experimental foi de 21 semanas (Tubo 2), 24 semanas (Canteiros 1, 2 e 3), 29 semanas (Tubo 3), 30 semanas (Tubos 1, 4 e 9), 33 semanas (Tubos 7 e 8), 34 semanas (Tubo 5), 36 semanas (Tubo 10) e 38 semanas (Tubo 6).

Tabela 3 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em canteiros de capim *Brachiaria decumbens* no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – USP/Pirassununga durante o ano de 2005. O símbolo (\*) representa morte dos indivíduos. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas nos canteiros em 19 de janeiro de 2005

| Grupos experimentais    | Parâmetros biológicos (dados em número de semanas) |                    |                                     |                                    |                                 |
|-------------------------|--|--------------------|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|                         | Pré-Postura  | Incubação dos ovos | Larvas observadas restritas ao solo | Larvas agrupadas na ponta do capim | Sobrevivência máxima das larvas |
| Fêmea presa Tubo 1      | *  | *                  | *                                   | *                                  | *                               |
| Fêmea presa Tubo 2      | *  | *                  | *                                   | *                                  | *                               |
| Fêmea presa Tubo 3      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 20                              |
| Fêmea presa Tubo 4      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 13                              |
| Fêmea presa Tubo 5      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 13                              |
| Fêmea presa Tubo 6      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 16                              |
| Fêmea presa Tubo 7      | *  | *                  | *                                   | *                                  | *                               |
| Fêmea presa Tubo 8      | *  | *                  | *                                   | *                                  | *                               |
| Fêmea presa Tubo 9      | 1  | 5                  | -                                   | -                                  | 8                               |
| Fêmea presa Tubo 10     | *  | *                  | *                                   | *                                  | *                               |
| 10 Fêmeas em canteiro 1 | 1  | 6                  | 7                                   | 10                                 | 17                              |
| 10 Fêmeas em canteiro 2 | 1  | 6                  | 7                                   | 15                                 | 22                              |
| 10 Fêmeas em canteiro 3 | 1  | 6                  | 7                                   | 11                                 | 18                              |

Tabela 4 - Parâmetros biológicos de fêmeas ingurgitadas, ovos e larvas eclodidas de *Amblyomma cajennense* mantidas em canteiros de capim *Brachiaria decumbens* no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal – USP/Pirassununga durante o ano de 2006. As fêmeas ingurgitadas foram colocadas nos canteiros em 30 de janeiro de 2006

| Grupos experimentais    | Parâmetros biológicos (dados em número de semanas) |                    |                                     |                                    |                                 |
|-------------------------|--|--------------------|-------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|
|                         | Pré-Postura  | Incubação dos ovos | Larvas observadas restritas ao solo | Larvas agrupadas na ponta do capim | Sobrevivência máxima das larvas |
| Fêmea presa Tubo 1      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 30                              |
| Fêmea presa Tubo 2      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 21                              |
| Fêmea presa Tubo 3      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 29                              |
| Fêmea presa Tubo 4      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 30                              |
| Fêmea presa Tubo 5      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 34                              |
| Fêmea presa Tubo 6      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 38                              |
| Fêmea presa Tubo 7      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 33                              |
| Fêmea presa Tubo 8      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 33                              |
| Fêmea presa Tubo 9      | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 30                              |
| Fêmea presa Tubo 10     | 1  | 6                  | -                                   | -                                  | 36                              |
| 10 Fêmeas em canteiro 1 | 1  | 6                  | 9                                   | 15                                 | 24                              |
| 10 Fêmeas em canteiro 2 | 1  | 6                  | 10                                  | 14                                 | 24                              |
| 10 Fêmeas em canteiro 3 | 1  | 6                  | 10                                  | 14                                 | 24                              |

#### 4.4 Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa

Como mencionado no item Materiais e Métodos, cada unidade de experimento (Figura 27) consistiu de um frango acondicionado em uma gaiola com fundo vazado no interior de uma bandeja de plástico. Cada frango recebeu no dorso e embaixo das asas uma carga parasitária de aproximadamente 500 larvas (Figura 28). Os resultados obtidos (Tabela 5) demonstram que no grupo de larvas em diapausa foram recuperadas um total de 636 larvas ingurgitadas e no grupo de larvas sem diapausa foram recuperadas 490 larvas. A diapausa não interferiu significativamente na quantidade de larvas ingurgitadas recuperadas entre os dois grupos ( $P > 0,05$ ). No entanto, observou-se diferença estatística no período de



parasitismo entre os dois grupos ( $P < 0,05$ ), que variou de 3 a 5 (moda=4) dias no grupo diapausa e 2 a 5 (moda=3) dias no grupo sem diapausa.

Tabela 5 - Comparação no período parasitário e na recuperação de larvas ingurgitadas (com ou sem diapausa) de *Amblyomma cajennense* expostas à frangos, em condições laboratoriais

| LARVAS EM DIAPAUSA |  |    |     |    |   |       |
|--------------------|--|----|-----|----|---|-------|
| Número do frango   | Número de larvas ingurgitadas recuperadas segundo o período parasitário (dias) |    |     |    |   | Total |
|                    | 2  | 3  | 4   | 5  | 6 |       |
| 1                  | 0  | 6  | 47  | 16 | 0 | 69    |
| 2                  | 0  | 16 | 195 | 13 | 0 | 224   |
| 3                  | 0  | 13 | 74  | 0  | 0 | 87    |
| 4                  | 0  | 5  | 22  | 0  | 0 | 27    |
| 5                  | 0  | 29 | 184 | 16 | 0 | 229   |
| Total              | 0  | 69 | 522 | 45 | 0 | 636   |

| LARVAS EM NÃO-DIAPAUSA |  |     |     |    |   |       |
|------------------------|--|-----|-----|----|---|-------|
| Número do frango       | Número de larvas ingurgitadas recuperadas segundo o período parasitário (dias) |     |     |    |   | Total |
|                        | 2  | 3   | 4   | 5  | 6 |       |
| 1                      | 3  | 57  | 32  | 0  | 0 | 92    |
| 2                      | 7  | 45  | 85  | 12 | 0 | 149   |
| 3                      | 5  | 36  | 9   | 0  | 0 | 50    |
| 4                      | 6  | 70  | 27  | 0  | 0 | 103   |
| 5                      | 8  | 59  | 29  | 0  | 0 | 96    |
| Total                  | 29   | 267 | 182 | 12 | 0 | 490   |



Figura 27 - Unidade experimental do teste de comparação da capacidade de parasitismo de larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa e larvas desta espécie sem diapausa



Figura 28 - Frango infestado por larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa sob condições laboratoriais

## 5 DISCUSSÃO

Muitos autores acreditam que em regiões próximas ao Equador, com temperatura e umidade relativamente constante ao longo do ano, nenhuma sincronização do ciclo-de-vida do indivíduo com as condições ambientais é necessária (MADDER et al., 2002). Entretanto esta informação vem se tornando falsa em decorrência de inúmeras pesquisas com espécies tropicais que mostram tal fenômeno de sincronização (DENLINGER, 1986; ROCKEY et al., 1987).

Outro fator importante para ser discutido inicialmente é a diferença no padrão de comportamento de indivíduos em ambiente natural com indivíduos mantidos em laboratório. Kingsolver e Nagle (2007) demonstraram haver diferentes respostas ao fotoperíodo e a temperatura em populações de laboratório em relação a populações de ambientes naturais. Populações de *Manduca sexta* (Insecta: Coleóptera) mantidas à 35 anos em laboratório tornaram-se menos susceptíveis ao fotoperíodo (redução na entrada de diapausa em condições de dias curtos) e menos tolerantes à altas temperaturas (35°C).

A sincronização do ciclo-de-vida de indivíduos coletados de áreas naturais com as condições ambientais de Pirassununga-SP para *A. cajennense* foi verificada por Labruna et al. (2003) e confirmada neste trabalho. O principal fator dessa sincronização para esta espécie de carrapato foi a diapausa comportamental estival verificada em larvas não-alimentadas, sendo caracterizada pela permanência desses indivíduos embaixo da vegetação sem o estímulo de busca pelo hospedeiro em condições de dias longos.

De acordo com Madder et al. (2002), adultos de *Rhipicephalus appendiculatus* do sudeste e centro da África entram em diapausa (supressão da alimentação em carrapatos não-alimentados para sincronizar os estágios mais susceptíveis de ovos e larvas com as estações das chuvas. Estes autores analisaram a influência da latitude em relação à diapausa em três populações diferentes. As combinações de fotoperíodo estudadas foram 12:12, 13:11 e 14:10. Carrapatos coletados no Kênia não entraram em diapausa, carrapatos da Zâmbia apresentaram diferentes comportamentos em relação ao fotoperíodo e os carrapatos do Zimbábue apresentaram grande incidência de diapausa para todos os fotoperíodos estudados (diapausa obrigatória). Rockey et al. (1987) também verificou diferentes efeitos do

fotoperíodo e da temperatura em populações de borboletas da espécie *Papilio glaucus* (Lepidoptera: Papilionidae) de diferentes latitudes. Dada a essas diferenças inter-populacionais observadas para outros artrópodos, os resultados obtidos no trabalho podem ser aplicados, de forma explícita, somente à população de carrapatos da espécie *A. cajennense* do município de Pirassununga. No entanto, é sabido que diferentes populações de *A. cajennense* da região Sudeste (Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro) apresentam o mesmo padrão de dinâmica populacional, com larvas ativas de abril a agosto, ninfas de julho a novembro, e adultos de outubro a março (SOUZA, 1990; LEMOS et al., 1997; LABRUNA et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2003). Possivelmente, o principal fator regulador deste padrão de uma geração por ano nessas diferentes regiões é o mesmo de Pirassununga, ou seja, a diapausa comportamental de larvas não alimentadas.

### **5.1 Efeito do fotoperíodo na indução, manutenção e término da diapausa comportamental de larvas não alimentadas de *A. cajennense***

A duração do intervalo de pré-postura e de incubação dos ovos foi semelhante em todos os grupos experimentais (1 a 2 semanas para o período de pré-postura e 5 semanas para o período de incubação dos ovos), estando de acordo com a temperatura de 25°C em que foram submetidos e independente da condição de fotoperíodo estudada. Uma vez eclodidas, as larvas mostraram comportamento diferente em relação às condições de fotoperíodo adotadas em cada BOD durante o experimento.

Com base nestes resultados (Figuras 11 a 18 e Tabela 6), pode-se observar que a combinação de fotoperíodo 14:10 (claro:escuro) foi determinante na indução e manutenção parcial de diapausa comportamental de larvas de *A. cajennense* (larvas permaneceram no solo, sem subir no capim), sendo que as combinações de fotoperíodo de 12:12 ou 10:14 determinaram o término da diapausa, através da subida simultânea das larvas para a ponta do capim. Em outras combinações de fotoperíodo, onde as larvas estiveram no fotoperíodo de 12:12 ou 10:14 desde a eclosão, a aglomeração nas pontas do capim (procura pelo hospedeiro) ocorreu dentro das primeiras semanas de vida das larvas.

Neste experimento ficou claro o efeito do fotoperíodo na indução, manutenção e término da diapausa comportamental das larvas. Estes resultados estão de acordo com as observações do carrapato *A. cajennense* em condições naturais de campo (LABRUNA et al. 2003), onde as larvas nascidas de dezembro a março permanecem no solo, em diapausa comportamental, até abril ou maio, quando o número de horas de claro já está abaixo de 12 horas, e as larvas sobem para as pontas do capim.

Com isso ficou comprovado o efeito de dias longos na falta de estímulos para procura de alimento pelas larvas, caracterizando em Diapausa Estival. O termo estivação é usado para designar dormência nas estações de verão dos trópicos (MASAKI, 1980).

Verificou-se também que a diapausa não é obrigatória para esta população de carrapato, onde larvas mantidas em fotoperíodo 12:12 e 10:14 não entraram em dormência e larvas mantidas em condição de fotoperíodo de 14:10 permaneceram no solo por muito mais tempo que as outras.

Tabela 6 - Resultados obtidos no Experimento 1 em número de semanas, decorrentes de parâmetros biológicos observados em *Amblyomma cajennense* mantidos à 25°C em incubadoras do tipo B.O.D. As combinações de fotoperíodo por BOD estão relacionadas na Tabela 1

| BOD/2005 | Parâmetros biológicos  |                    |                                     |                                    |                                    |  |                      |
|----------|------------------------|--------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|----------------------|
|          | Período de Pré-Postura | Incubação dos ovos | Larvas observadas restritas ao solo | Larvas dispersas na ponta do capim | Larvas agrupadas na ponta do capim | Grupo grande de larvas na ponta do capim | Sobrevivência máxima |
| 1A       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 16                                 | 20                                       | 39                   |
| 1B       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 16                                 | 14                                       | 33                   |
| 2A       | 1                      | 5                  | 16                                  | 1                                  | 8                                  | 21                                       | 46                   |
| 2B       | 1                      | 5                  | 16                                  | 1                                  | 9                                  | 21                                       | 47                   |
| 3A       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 14                                 | 27                                       | 44                   |
| 3B       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 14                                 | 27                                       | 44                   |
| 4A       | 1                      | 5                  | 7                                   | 1                                  | 8                                  | 17                                       | 33                   |
| 4B       | 1                      | 5                  | 7                                   | 1                                  | 7                                  | 17                                       | 32                   |
| 5A       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 11                                 | 29                                       | 43                   |
| 5B       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 11                                 | 22                                       | 36                   |
| 6A       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 5                                  | 12                                       | 20                   |
| 6B       | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 5                                  | 12                                       | 20                   |
| 7A       | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 4                                  | 18                                       | 26                   |
| 7B       | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 4                                  | 17                                       | 25                   |
| 8A       | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 4                                  | 13                                       | 21                   |
| 8B       | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 4                                  | 22                                       | 30                   |

## 5.2 Efeito da temperatura na indução, manutenção e término da diapausa comportamental de larvas não alimentadas de *Amblyomma cajennense*

Os resultados deste segundo experimento (Tabela 7) confirmaram que o efeito de dias longos (fotoperíodo 14:10) é fundamental para a indução e manutenção da diapausa comportamental de larvas (Figuras 19, 20 e 21). No entanto, pôde-se observar que a diminuição da temperatura de 25 para 15°C, em larvas submetidas ao fotoperíodo constante de 14:10, induziu o término da diapausa nas larvas (Figuras 19 e 21). De acordo com Madder et al. (2002) a diapausa pode ser terminada não apenas pela diminuição do fotoperíodo, mas também por outros fatores com temperatura, umidade ou idade dos indivíduos. Sendo assim, ficou evidenciado neste trabalho que enquanto as condições de fotoperíodo podem induzir, manter e terminar a diapausa, a temperatura é capaz apenas de terminar a diapausa.

Em todos os ensaios realizados sob fotoperíodo de 10:14 (condição de não diapausa), nenhum dos regimes de temperatura utilizado foi eficiente para induzir a diapausa (Figuras 22, 23 e 24). Deve-se salientar que a temperatura constante de 15°C não foi avaliada neste caso, uma vez que seria letal para os ovos de *A. cajennense* (LABRUNA et al., 2003).

Neste segundo ano foi também observado que a condição de escuro constante não induz a diapausa (Figura 26), ao passo que algum grau de diapausa foi observado nas larvas expostas na condição de claro constante (Figura 25). Possivelmente, a condição de claro constante induz um certo descontrole no padrão circadiano do carrapato. Wang et al. (2007) verificaram que em condições de escuro constante a diapausa pode ser influenciada pela temperatura, indicando que a temperatura funcionou como o principal fator de indução, manutenção e término para *Colaphellus bowringi* (Insecta: Coleoptera). Portanto novos trabalhos deverão ser realizados para verificar a influência da temperatura na condição de escuro para larvas não-alimentadas de *A. cajennense*.

A duração do período de pré-postura foi semelhante (1-2 semanas) em todos os grupos experimentais. Houve diferença no intervalo de incubação dos ovos entre os grupos experimentais com temperatura de 25°C e de 20°C. Ogden et al. (2004) avaliaram a duração dos períodos de desenvolvimento em *Ixodes scapularis*. Estes autores relataram diminuição significativa do desenvolvimento dos ovos com a

diminuição da temperatura. Entretanto ovos colocados por fêmeas mantidas em temperatura de 32°C não produziram larvas.

Uma vez eclodidas, as larvas mostraram comportamentos diferentes em relação às condições de temperatura e fotoperíodo adotadas em cada BOD durante o experimento. Os resultados deste segundo ano estão de acordo com as observações do carrapato *A. cajennense* em condições naturais de campo (LABRUNA et al., 2003), em que larvas nascidas de dezembro a março permanecem no solo, em diapausa comportamental, até abril ou maio, quando o número de horas de claro por dia já está abaixo de 12 e a temperatura média do solo cai para menos de 20°C. Desta forma, em condições naturais de áreas como a região Sudeste (onde é sabido que o *A. cajennense* apresenta uma geração por ano), a diminuição de ambos fotoperíodo e temperatura a partir de abril parecem ser os fatores determinantes para que as larvas saiam do estado de diapausa comportamental e passem a subir na vegetação, a espera de hospedeiro. Como o *A. cajennense* apresenta uma vasta distribuição geográfica no continente americano (dos EUA à Argentina), é possível que algumas populações estejam mais vulneráveis a condições locais de temperatura, enquanto outras ao fotoperíodo.

Tabela 7 - Resultados obtidos no Experimento 2 em número de semanas decorrentes para ocorrência de parâmetros biológicos de *Amblyomma cajennense*, mantidos à 25°C em incubadoras do tipo B.O.D. As combinações de fotoperíodo e de temperatura por BOD estão relacionadas na tabela 3

| BOD/2006       | Parâmetros biológicos  |                    |                                     |                                    |                                    |  | Sobrevivência máxima |
|----------------|------------------------|--------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|----------------------|
|                | Período de Pré-Postura | Incubação dos ovos | Larvas observadas restritas ao solo | Larvas dispersas na ponta do capim | Larvas agrupadas na ponta do capim | Grupo grande de larvas na ponta do capim |                      |
| 1 <sup>A</sup> | 1                      | 5                  | 14                                  | 1                                  | 1                                  | 49                                       | 65                   |
| 1B             | 1                      | 5                  | 14                                  | 1                                  | 1                                  | 44                                       | 60                   |
| 2 <sup>A</sup> | 1                      | 5                  | 23                                  | 1                                  | 1                                  | 29                                       | 54                   |
| 2B             | 1                      | 5                  | 23                                  | 1                                  | 1                                  | 28                                       | 53                   |
| 3 <sup>A</sup> | 2                      | 5                  | 3                                   | 5                                  | 2                                  | 41                                       | 51                   |
| 3B             | 2                      | 5                  | 3                                   | 5                                  | 2                                  | 37                                       | 47                   |
| 4 <sup>A</sup> | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 5                                  | 36                                       | 45                   |
| 4B             | 1                      | 5                  | 3                                   | 1                                  | 5                                  | 36                                       | 45                   |
| 5 <sup>A</sup> | 1                      | 9                  | 4                                   | 1                                  | 1                                  | 38                                       | 44                   |
| 5B             | 1                      | 9                  | 4                                   | 1                                  | 2                                  | 37                                       | 44                   |
| 6 <sup>A</sup> | 1                      | 9                  | 4                                   | 1                                  | 1                                  | 36                                       | 42                   |
| 6B             | 1                      | 9                  | 4                                   | 1                                  | 1                                  | 35                                       | 41                   |
| 7 <sup>A</sup> | 2                      | 5                  | 11                                  | 1                                  | 2                                  | 18                                       | 32                   |
| 7B             | 2                      | 5                  | 10                                  | 1                                  | 1                                  | 21                                       | 33                   |
| 8 <sup>A</sup> | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 3                                  | 29                                       | 35                   |
| 8B             | 1                      | 5                  | 2                                   | 1                                  | 3                                  | 29                                       | 35                   |

### 5.3 Experimento em campo – Canteiros

Os resultados deste experimento durante o ano de 2005 (Tabela 3) mostram que a primeira presença de larvas na ponta do capim se deu em 27/04/2005, após 7 semanas do início da eclosão de larvas nos canteiros de larvas soltas. Os resultados obtidos durante o ano de 2006 (Tabela 4) mostram a primeira presença de larvas na ponta do capim entre 22 e 29/05/2006, ou seja, entre 9 e 10 semanas após o início da eclosão. Esses resultados demonstram semelhança com os resultados de Labruna et al. (2003) em que a presença de larvas em busca de alimento somente foi detectada a partir do mês de abril ou maio.



#### **5.4 Verificação da capacidade de parasitismo de larvas de *Amblyomma cajennense* em diapausa**

A presença ou ausência de alimento mostrou ser de grande importância no comportamento das larvas de *A. cajennense*. Os resultados (Tabela 5) demonstram que as larvas em diapausa tiveram o comportamento de se fixar no hospedeiro para se alimentar, indicando que em condições naturais, um eventual hospedeiro poderia ser parasitado caso entrasse em contato com larvas em diapausa embaixo da vegetação. Entretanto o tempo parasitário foi diferente para os dois tipos de larvas, onde houve acréscimo de um dia no período parasitário de larvas em diapausa, possivelmente devido ao maior tempo gasto para restabelecimento do metabolismo de larvas ativas.

Trabalhos com insetos mostram esse padrão de comportamento em relação ao hospedeiro. Denlinger (1986) afirma que o hospedeiro pode regular a diapausa em insetos parasitas. Tauber e Tauber (1976) relata que esta diapausa ocorre principalmente em indivíduos de vida livre (imaturos ou adultos).

A diapausa em larvas não-alimentadas de *A. cajennense* mantidas em laboratório mostrou claramente ser influenciada (término) em contato com o hospedeiro. Entretanto o tempo de contato com o hospedeiro deve ser essencial para o estímulo da hematofagia, pois mesmo quando grupos de carrapatos em diapausa embaixo da vegetação na estufa eram visualizados e estimulados pela respiração (eliminação de CO<sub>2</sub> do pesquisador) não demonstravam alteração da sua atividade metabólica.

## 6 CONCLUSÕES

- A diapausa comportamental em larvas não alimentadas de *A. cajennense* é induzida somente se a condição de fotoperíodo estiver com maior número de horas de claro (14:10, claro:escuro) durante a eclosão das larvas, sendo esta condição de fotoperíodo necessária para manutenção da condição de diapausa.
- Temperaturas de 20 ou 25°C não são capazes de induzir a diapausa comportamental em larvas não alimentadas de *A. cajennense*, quando mantidas em fotoperíodo 12:12 ou 10:14 (claro:escuro).
- O término da diapausa comportamental em larvas não alimentadas de *A. cajennense* é desencadeado tanto pela mudança de fotoperíodo (alteração de 14:10 para 12:12 ou 10:14; claro:escuro) como pelo abaixamento da temperatura de 25 para 15°C.

## REFERÊNCIAS

ARAGÃO, H.; FONSECA, F. O. R. Notas de Ixodologia VIII. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 59, p. 115-129, 1961.

BELOZEROV, V.N. Diapause and biological rhythms in ticks. In: OBENCHAIN, F. O. & GALUN, R. (Ed). **Physiology of ticks**. Oxford: Pergamon, 1982. v. 13, p. 469-500.

BELOZEROV, V. N. Dormancy in the life cycle of ixodid ticks and their adaptations to predictable and unpredictable environmental changes. In: NEEDHAM, G. (Ed), **Acarology IX**, 1999; 2: 53-56.

BELOZEROV, V. N.; NAUMOV, R. L. Nymphal diapause and its photoperiodic control in the tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). **F. Parasitol. (Praha)**, v. 49, n. 4, p. 314-318, 2002.

BELOZEROV, V. N.; FOURIE L. J.; KOK, D. J. Photoperiodic control of developmental diapause in nymphs of prostriate ixodid ticks (Acari: Ixodidae). **Exp. Appl. Acarol.**, v. 28, n. 1-4, p. 163-168, 2002.

BRADSHAW, W. E.; HOLZAPFEL, C. M. Evolution of animal photoperiodism. **Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.**, v. 38, p. 1-25, 2007.

DELINGER, D. L. Regulation of Diapause. **Annu.Rev.Entomol.**,v. 47, p. 93-122, 2002.

DELINGER, D. L. Dormancy in tropical insects. **Ann. Rev. Entomol.**, v.31, p. 239-264, 1986.

FOURIE, L. J.; HORAK, I. G. The life cycle of *Ixodes rubicundus* (Acari: Ixodidae) and its adaptation to a hot, dry environment. **Exp. Appl. Acarol.**, v.18, p. 23-35, 1994.

FOURIE, L. J.; BELOZEROV, V. N.; NEEDHAM, G. R. *Ixodes rubicundus* nymphs are short-day diapause-induced ticks with thermolabile sensitivity and desiccation resistance. **Med. Vet. Entomol.**, v. 15, n. 3, p. 335-341, 2001.

GALVÃO, M. A.; LAMOUNIER, J. A.; BONOMO, E.; TROPIA, M. S.; REZENDE, E. G.; CALIC, S. B.; CHAMONE, C. B.; MACHADO, M. C.; OTONI, M. E.; LEITE, R. C.; CARAM, C.; MAFRA, C. L.; WALKER, D. H. Rickettsioses emergentes e reemergentes numa região endêmica do estado de Minas Gerais, Brazil. **Cad. Saúde Publica**, v. 18, p. 1593-1597, 2002.

GUGLIELMONE, A. A.; SZABÓ, M. P. R.; MARTINS, J. R. de S.; ESTRADA-PEÑA, A. Diversidade e importância de carrapatos na sanidade animal In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p 115-138.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001. 218 p.

KINGSOLVER, J. G.; NAGLE, A. Evolutionary divergence in thermal sensitivity and diapause of field and laboratory populations of *Manduca sexta*. **Physiol. Biochem. Zool.**, v.80, n. 5, p. 473-479, 2007.

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

LABRUNA, M. B.; AMAKU, M.; METZNER, A.; PINTER, A.; FERREIRA, F. Larval Behavioral Diapause Regulates Life Cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. **J. Med. Entomol.**, v. 40, n. 2, p. 171-178, 2003.

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

LEMOS, E. R. S.; MACHADO, R. D.; COURA, J. R.; GUIMARÃES, M. A. A.; SERRA-FREIRE, N. M.; AMORIM, M.; GAZETA, G. S. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: Seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, p. 181-185, 1997.

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

LEMOS, E. R.; ROZENTAL, T.; VILLELA, C. L. Brazilian spotted fever: description of a fatal clinical case in the State of Rio de Janeiro. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 523-525, 2002.

MADDER, M.; SPEYBROECK, N.; BRANDT, J.; BERKVEN, D. Diapause induction in adults of three *Rhipicephalus appendiculatus* stocks. **Exp. Appl. Acarol.**, v. 23, n. 12, p. 961-968, 1999.

MADDER, M.; SPEYBROECK, N.; BRANDT, J.; TIRRY, L.; HODEK, I.; BERKVEN, D. Geographical variation in diapause response of adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. **Exp. Appl. Acarol.**, v. 27, p. 209-221, 2002.

MASAKI, S. Summer diapause. **Ann. Rev. Entomol.**, v. 25, p. 1-25, 1980.

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

OGDEN, N. H.; LINDSAY, L. R.; BEAUCHAMP, G.; CHARRON, D.; MAAROUF, A.; O'CALLAGHAN, C. J.; WALTNER-TOEWS, D.; BARKER, I. K. Investigation of relationships between temperature and developmental rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. **J. Med. Entomol.**, v. 41, n. 4, p. 622-633, 2004.

OLIVEIRA, P. R.; BORGES, L. M. F.; LEITE, R. C.; FREITAS, C. M. Seasonal dynamics of the Cayenne tick, *Amblyomma cajennense* on horses in Brazil. **Med. Vet. Entomol.**, v. 17, n. 4, p. 412-416, 2003.

ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; PINTER, A.; SZABÓ, M. P. J. Família Ixodidae: características gerais, comentários e chave para gêneros In: BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, G. H. **Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies**. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. p. 29-39.

ROCKEY, S. J.; HAINZE, J. H.; SCRIBER, M. A latitudinal and obligatory diapause response in three subspecies of the eastern tiger swallowtail *Papilio glaucus* (Lepidoptera: Papilionidae) **Am. Midland Naturalist**, v.118, n. 1, p. 162-168, 1987.

SERRA-FREIRE, N. M. S. Epidemiologia de *Amblyomma cajennense*: ocorrência estacional e comportamento dos estádios não parasitários em pastagens do Estado do Rio de Janeiro. **Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de Janeiro**, v. 5, p. 187-193, 1982.

SEXTON, D. J.; MUNIZ, M.; COREY, G. R.; BREITSCHWERDT, E. B.; HEGARTY, B. C.; DUMLER, S.; WALKER, D. H.; PECANHA, P. M.; DIETZE, R. Brazilian spotted fever in Espírito Santo, Brazil: description of a focus of infection in a new endemic region. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 49, p. 222-226, 1993.

SOUZA, A.P. Variação populacional dos principais ixodídeos parasitas de bovinos e eqüinos em diferentes condições de manejo, nos municípios de Paracambi e Itaguaí no estado do Rio de Janeiro. 1990. 81p. Tese (Doutorado em Parasitologia Animal) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1990.

TAUBER, M. J.; TAUBER, C. A. insect seasonality: diapause maintenance, termination and postdiapause development. **Annu. Rev. Entomol.**, v. 21, p. 81-107, 1976.

WANG, X. P.; XUE, F. S.; ZHOU X. M.; LEI, C. L. Thermoperiodic response and effect of photoperiod on thermoperiodic induction of diapause in *Colaphellus bowringi*. **Entomol. Exp. et Applicata.**, v. 124, p. 299-304, 2007.