

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

Capacidade de sobrevivência do embrião de *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) a diferentes períodos de exposição em temperaturas extremas em condições de laboratório

Michele da Costa Pinheiro

2011



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

**CAPACIDADE DE SOBREVIVÊNCIA DO EMBRIÃO DE *Rhipicephalus*
(*Boophilus*) *microplus* (CANESTRINI, 1887) (ACARI: IXODIDAE) A
DIFERENTES PERÍODOS DE EXPOSIÇÃO EM TEMPERATURAS
EXTREMAS EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO**

MICHELE DA COSTA PINHEIRO

Sob a Orientação da Professora
Kátia Maria Famadas

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Área de Concentração em Parasitologia Veterinária.

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2011

636.0824
P654c
T

Pinheiro, Michele da Costa, 1980-
Capacidade de sobrevivência do
embrião de Rhipicephalus
(Boophilus) microplus (Canestrini,
1887) (Acari: Ixodidae) a diferentes
períodos de exposição em
temperaturas extremas em condições
de laboratório / Michele da Costa
Pinheiro. - 2011.

41f. : il.

Orientador: Kátia Maria Famadas.
Dissertação (mestrado) -
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: p. 25-30.

1. Embriologia veterinária -
Teses. 2. Carrapato - Embrião -
Teses. 3. Rhipicephalus - Teses. I.
Famadas, Kátia Maria, 1961- . II.
Universidade Federal Rural do Rio
de Janeiro, Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias. III.
Título.

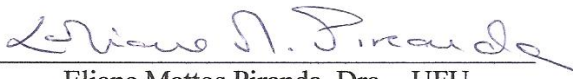
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

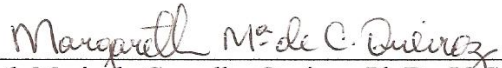
MICHELE DA COSTA PINHEIRO

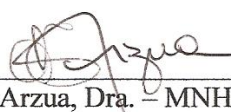
Dissertação submetida ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de Concentração em Parasitologia Veterinária, como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 25/02/2011.


Kátia Maria Famadas, Ph.D - UFRRJ


Eliane Mattos Piranda, Dra. - UFU


Margareth Maria de Carvalho Queiroz, Ph.D - IOC - Fiocruz


Márcia Arzua, Dra. - MNHCI - PR


Thaís Ribeiro Correia Azevedo, Dra. - FEDAA - RJ

A meu querido irmão Thiago, que eu tenho certeza
de onde ele estiver, está torcendo por mais essa vitória.
Saudades eternas.

“Sim te entrego ao Pai da vida,
pois sei que nos seus braços terás o paraíso”.
Irmã Miria Cohen

“Experiência é o nome que nós damos aos nossos próprios erros.”
Oscar Wilde

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho não seria possível sem o apoio, ajuda e incentivo de muitas pessoas. Muito obrigada a todos vocês que participaram dessa pesquisa, em especial:

A Deus, por me guiar em todas as escolhas de minha vida e ajudando a superar todas as pedras em meu caminho.

A minha família, que me ajudou a superar momentos difíceis apoiando e incentivando minhas decisões, especialmente minha mãe, pelo carinho, respeito e confiança em mim depositados. Amo vocês!!!

A minha orientadora, Doutora Kátia Maria Famadas, pela orientação e pela amizade. Pela sua compreensão, paciência e dedicação a mim e a todos da equipe.

Ao Professor Fabio Barbour Scott e ao mestrando Thiago Marques pelos carrapatos cedidos para a realização deste trabalho.

Aos Professores Ivan Sampaio e Wagner Tassinari pela ajuda estatística.

A doutoranda Vanessa de Almeida Raia, minha “eterna co-orientadora”, pela ajuda, paciência e pelas correções fraternas.

As minhas amigas do Laboratório de Ixodologia, Iwine Joyce, Carla Carolina, Camila Dantas, Isis Daniele e Gabriela Alcântara, pelo apoio e colaboração não importando se tinha que trabalhar nos fins de semana ou feriados.

Aos amigos da graduação, que sempre dispostos a me ajudarem em tudo, e que também estavam presentes nos momentos de descontração.

Aos grandes amigos do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ, pelos momentos de estudos compartilhados e nos momentos de festinhas.

Aos meus amigos de comunidade pastoral, que sempre entenderam e aceitaram minhas ausências e que sempre estiveram orando por mim.

Aos funcionários da Estação de Parasitologia Veterinária e do Departamento de Parasitologia Animal, pelo auxílio na manutenção dos animais e colaboração sempre que necessária.

Aos animais, que mesmo sem escolha, foram essenciais para a realização deste estudo.

A CAPES pelo apoio financeiro ao projeto e pela concessão de bolsa durante o curso de Mestrado.

A todos que, mesmos não citados aqui, sabem que, de alguma forma, colaboraram para o sucesso desta empreitada.

BIOGRAFIA

Michele da Costa Pinheiro, filha de Wilson Soares Pinheiro e Ana Maria de Jesus da Costa Pinheiro, nasceu no dia 8 de outubro de 1980, na cidade do Rio de Janeiro. Concluiu o ensino fundamental em 1995 na Escola Municipal Cecília Meireles. Em 1998 concluiu o ensino médio no Colégio Estadual Olavo Bilac.

Em 2003, ingressou na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no curso de Zootecnia onde obteve o título de Bacharel em Zootecnia em 2008. Durante o período acadêmico realizou estágios em diversos setores no Instituto de Zootecnia e no Laboratório de Morfofisiologia de Ácaros e Ixodologia pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária.

Em 2009, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias na área de concentração Parasitologia Animal, à nível de mestrado, onde foi bolsista CAPES de abril de 2009 até o presente momento.

RESUMO

PINHEIRO, Michele da Costa. **Capacidade de sobrevivência do embrião de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) a diferentes períodos de exposição em temperaturas extremas em condições de laboratório.** 2011. 30pp. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

A embriogênese é um dos eventos chave no desenvolvimento dos artrópodes, principalmente quando ela ocorre no ambiente, como é o caso dos carrapatos. Muito pouco se sabe sobre o desenvolvimento do embrião nos ixodídeos e, menos ainda, como o ambiente atua sobre esse processo. Dentre os fatores abióticos, a temperatura é sabida interferir principalmente no metabolismo, sendo muitas das vezes limitante ao desenvolvimento dos animais. Justifica-se então conhecer o papel da temperatura na embriogênese dos carrapatos, pois poderá ser mais um instrumento na formulação de estratégias para programas de controle. Visto sua importância e por desconhecimento sobre o seu desempenho frente às variações de temperatura que pode ocorrer ao longo de seu desenvolvimento embrionário, foram simulados experimentos em condições controladas de laboratório, onde se submeteu o embrião de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a diferentes tempos de exposição em temperaturas extremas. Fêmeas ingurgitadas colhidas de bovinos foram limpas, pesadas, identificadas, acondicionadas em placas de Petri e transferidas para câmara climatizada tipo BOD. Após o terceiro dia de postura foram formados, em placa de Petri, nove grupos (18, 27 e 32°C/ 6, 12 e 24 e 36 horas) de massa de ovos que permaneceram a 27°C. No 15º dia de incubação as placas foram colocadas nas suas respectivas temperaturas/horários. De cada tratamento, alíquotas diárias de oito mg de ovos foram coletadas e fixadas em etanol 70%. Posteriormente os ovos foram clarificados em lactofenol e novamente retornados para etanol 70%. Por montagem temporária em lâmina escavada coberta por lamínula e auxílio do microscópio óptico foi feito o exame para presença e percentual de ovos com saco retal, primeira estrutura resultante do desenvolvimento embrionário. As imagens dos ovos de *R. (B.) microplus* foram obtidas através de equipamento de câmara de vídeo acoplado a um microscópio de luz com aumento final de 100x, respectivamente no intuito de registrar possíveis alterações na morfologia do ovo ou embrião. O período de incubação dos ovos de *R. (B.) microplus* usados neste experimento foi de até 24 dias. Em todos os tratamentos foi possível observar a presença do saco retal através da microscopia óptica. A partir dos resultados obtidos neste experimento pode-se concluir que embriões de *R. (B.) microplus* expostos por longos períodos às temperaturas extremas não tiveram seu desenvolvimento embrionário interrompido.

Palavras - chave: saco retal, mudanças climáticas, desenvolvimento embrionário.

ABSTRACT

PINHEIRO, Michele da Costa. **Survival of embryo *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) at different periods of exposure to extreme temperatures in controlled laboratory conditions.** 2011. 30pp. Dissertation (Master in Veterinary Science, Animal Parasitology), Veterinary Institute, Department of Animal Parasitology, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Embryogenesis is one of the key events in the development of arthropods, especially when it occurs in the environment, such as ticks. Very little is known about embryo development in ticks and even less as the environment acts on this process. Among abiotic factors, temperature is known to interfere primarily in the metabolism, and to often limit the development of animals. Hence knowing the role of temperature in the embryogenesis of ticks is an important consideration, since it could be another tool in the formulation of strategies for control programs. Considering its importance and the lack of knowledge regarding its performance in relation to temperature variations which can occur during embryonic development, experiments under controlled laboratory were simulated – tests in which the embryo of *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* underwent different times of exposure in extreme temperatures. Engorged females collected from cattle were cleaned, weighed, identified, placed in Petri dishes and transferred to camera heated BOD. After the third day of laying, were formed, in the Petri dish, nine groups (18, 27 and 32°C / 6, 12, 24 and 36 hours) of mass of eggs kept at 27 °C. On the 15th day of incubation, plates were placed in their respective temperatures/times. From each treatment, daily aliquots of eight mg of eggs were collected and fixed in 70% alcohol. Subsequently, the eggs were cleared in lactophenol and again returned to 70% alcohol. Through temporary mounting on excavated slides covered with coverslips, and with the aid of optical microscope examination, the exam for the presence and percentage of eggs with rectal sac – the first resulting structure of embryonic development – will be conducted. The images of the eggs of *R. (B.) microplus* was obtained through a video camera attached to a light microscope and stereoscope with a final increase of 400 and 100x, respectively, in order to record possible changes in the morphology of the egg or embryo. The incubation period of the eggs of *R. (B.) microplus* used in this experiment was up to 24 days. In all treatments was possible to observe the presence of rectal sac by optical microscopy. From the results obtained in this experiment conclude that embryos of *R. (B.) microplus* exposed for long periods to extreme temperatures did not present their embryonic development altered.

Key words: rectal sac, climate change, embryonic development.

LISTA DE TABELA

	Página
Tabela 1. Porcentagem média de saco retal nos ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> nos diferentes tempos de exposição nas temperaturas de 18, 27 e 32°C ao longo do período de incubação	18

LISTA DE FIGURAS

	Páginas
Figura 1. Infestação artificial em bovino mestiço sem contato com acaricidas	10
Figura 2. Grupos experimentais formados com pool de ovos de 3° dia de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	12
Figura 3. Fluxograma experimental para avaliação da capacidade de sobrevivência do embrião de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> a diferentes tempos de exposição em temperaturas extremas	13
Figura 4. Massas de ovos em lactofenol por 24 horas	14
Figura 5. Microscopia óptica de ovo de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> com 20 dias de incubação	19
Figura 6. Microscopia óptica de ovo de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> com 22 dias de incubação	20
Figura 7. Porcentagem de ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> contendo saco retal, mantidos a 18°C por 6, 12, 24 e 36 horas e a 27°C constante, a partir do nono dia até o surgimento da primeira larva	21
Figura 8. Porcentagem de ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i> contendo saco retal, mantidos a 32°C por 6, 12, 24 e 36 horas e a 27°C constante, a partir do nono dia até o surgimento da primeira larva	21

SUMÁRIO

	Páginas
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Aspectos Gerais sobre <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	3
2.2. Mudanças Climáticas e sua Relação com a Ecologia dos Carrapatos	4
2.2. Influência da Temperatura no Ciclo Biológico dos Carrapatos	5
2.2.1. Aspectos gerais	5
2.2.2. Na fase não parasitária	7
2.3. Embriogênese em Carrapatos	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1. Local de Execução	10
3.2. Origem e Manutenção dos Ixodídeos no Laboratório	10
3.2.1. Origem das teleóginas	10
3.2.2. Manutenção das fêmeas ingurgitadas	11
3.3. Procedimento para Obtenção dos Ovos de <i>Rhipicephalus (Boophilus) microplus</i>	11
3.4. Preservação e Preparo das Amostras para Observação em Microscopia Óptica	14
3.5. Registros das Imagens	14
3.6. Análise Estatística	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÕES	24
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25

1 INTRODUÇÃO

Carrapatos são ectoparasitos obrigatórios com hábito hematofágico em todos os estágios pós-embrionários. Tais características permitiram que esses artrópodes atuassem como excelentes vetores de vários agentes infecciosos. Em se tratando dos humanos com relação à transmissão de patógenos, estes só perdem para os mosquitos (CUPP, 1991).

Dentre as várias enfermidades infecciosas transmitidas por carrapatos destacam-se a Borreliose de Lyme, Febre Maculosa, Anaplasmoze, Babesiose e Teileriose, muitas dessas acometendo não só animais como também humanos, o que reafirma que os carrapatos não são só excelentes vetores de patógenos, como têm grande importância na epidemiologia das antropozoonoses. Vale destacar que muitas dessas doenças são reemergentes ou têm demonstrado um aumento significativo nas últimas décadas, não só devido a fatores inerentes ao próprio ciclo das enfermidades, mas em parte às alterações climáticas que vem ocorrendo (RANDOLPH, 2010).

Dentre os ixodídeos que parasitam animais domésticos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) tem expressão significativa sobre a produção dos bovinos no Brasil, representada pelos prejuízos devido à espoliação sanguínea e transmissão de doenças. Somem-se a isso perdas diretas com a desvalorização do couro devido às lesões das picadas e/ou em virtude de miíases cutâneas favorecidas pelos carrapatos, comprometimento no desenvolvimento dos animais, aumento no custo da produção inerente ao controle destes ectoparasitos e talvez muito mais.

O nosso planeta vem passando por várias transformações devido às alterações no clima que tem como causa principal a ação humana. Existe uma boa abordagem e preocupação principalmente sobre questões das doenças transmitidas por artrópodes para humanos, mas é preciso também estar atentos para os sistemas de produção, pois deles advêm a principal fonte de proteínas.

Em se tratando de *R. (B.) microplus*, ao contrário da maioria das espécies de ixodídeos, a maior parte de seu ciclo se passa sobre seu hospedeiro, e somente as fases de fêmea em oviposição, embriogênese e larva recém eclodida ocorrem no ambiente e estão sujeitas a essas alterações climáticas. A temperatura é sabidamente importante para *R. (B.) microplus*, sendo os diferentes tempos de desenvolvimento desta espécie encurtados pelas altas temperaturas e prolongados pelas baixas temperaturas.

Nas áreas temperadas, temperatura e umidade são os principais fatores abióticos limitantes à distribuição e dinâmica populacional dos carrapatos. Muito se tem abordado sobre ação destes fatores sobre parâmetros biológicos da fase não parasitária de fêmeas de várias espécies de importância médica e veterinária, mas em se tratando da evolução do embrião mediante essas variações pouco se conhece.

Até pouco tempo, a principal forma de controle era o uso de acaricida. Porém, a crescente resistência das populações de carrapato resultou no desenvolvimento de pesticidas cada vez mais tóxicos, inclusive para o hospedeiro e o ambiente, sem falar que o controle químico está cada vez mais inviável economicamente, visto o custo dos acaricidas, da mão de obra e das instalações necessárias para aplicação. A vacinação pode vir a ser um método alternativo para o controle, no entanto, o desenvolvimento de uma vacina depende de conhecimentos sobre a fisiologia do carrapato, então novas abordagens passaram a serem consideradas, como pesquisas que atuam nos aspectos fisiológicos, ecológicos e etológicos.

Estudos sobre a influência de fatores abióticos na postura e na eclodibilidade larval são bem desenvolvidos, contribuindo para utilização de mecanismos de estratégia de controle.

Contudo, ainda há lacunas a serem preenchidas sobre essa influência sob o desenvolvimento embrionário.

Portanto, estudos direcionados à bioecologia do parasito com levantamentos sobre a dinâmica populacional, dos estágios parasitários e de vida livre, relacionando-os ao hospedeiro e ao ambiente são essenciais para um eficiente controle. Existe, portanto, a necessidade de serem desenvolvidas novas formas de controle das infestações de carrapatos em bovinos levando em consideração a biologia do parasito.

Assim, dando continuidade às pesquisas sobre bioecologia de carrapatos de animais domésticos e silvestres que vêm sendo desenvolvidas nos Laboratórios de Ixodologia e de Morfofisiologia de Ácaros do Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, foi realizado este estudo objetivando esclarecer como temperaturas extremas em períodos variáveis de exposição poderiam afetar o desenvolvimento do embrião de *R. (B.) microplus* com base na visualização do saco retal. Vale destacar que este estudo é um trabalho inédito, visto que na literatura não há referências sobre influência de variações de períodos de exposição sobre o desenvolvimento embrionário em carrapatos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos Gerais sobre *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Membros das famílias Argasidae e Ixodidae são comumente conhecidos como carrapatos. A família Argasidae inclui os carrapatos moles, assim denominados devido à ausência de escudo quitinoso. A família de maior importância em explorações pecuárias é a Ixodidae, cujos membros são denominados de carrapatos duros devido à presença de um rígido escudo quitinoso que cobre toda a superfície dorsal dos machos e parcialmente nas fêmeas, estendendo-se apenas em uma pequena área do idiossoma, permitindo assim a dilatação do abdômen após o repasto sanguíneo (BRITO et al., 2006)

Ectoparasitas obrigatórios de vertebrados, os carrapatos necessitam de alimentação sanguínea para completar seu desenvolvimento e possuem um ciclo de vida complexo, apresentando uma fase parasitária de alimentação sanguínea e outra de vida livre (período de oviposição e entre mudas), podendo haver ou não mudança de hospedeiro (ANDERSON; MAGNARELLI, 2008).

Pesquisas recentes sobre a taxonomia de carrapatos mostraram que a maioria (cerca de 80%) pertence à família Ixodidae, considerados carrapatos duros compreendendo 702 espécies em 14 gêneros (GUGLIELMONE et al., 2010). Murrell e Baker (2003) propuseram que as cinco espécies de *Boophilus* fossem agrupadas ao gênero *Rhipicephalus*, pois apresentam características filogenéticas relacionadas, considerando-os como gêneros monofiléticos. Os autores sugerem que *Boophilus* seja mantido como subgênero de *Rhipicephalus* sp.

Rhipicephalus (Boophilus) microplus é uma espécie originária do sudeste asiático, mas ultimamente é encontrado na Oceania, leste e sul da África, América do Sul, Central e Norte (com exceção dos Estados Unidos, onde houve uma erradicação). Atualmente é encontrado em todos os Estados da federação brasileira (LABRUNA et al., 2005).

Esse parasito pode causar grandes prejuízos através do efeito da picada e da espoliação sanguínea acarretando perda de peso do animal, redução da produção leiteira e danos ao couro. Causa prejuízos indiretamente, através de resíduos químicos causando danos ambientais decorrente do uso desses produtos. No Brasil, estima-se que as perdas causadas por este carrapato, chegam a dois bilhões de dólares por ano, valores que resultam da diminuição de ganho de peso, de gastos com ectoparasiticidas, da diminuição da produção de leite, da depreciação do couro e de lesões contaminadas predispondo a miíases (HORN, 1983; GRISI et al, 2002), porém não existem dados mais atuais sobre o impacto econômico significativo da infestação de carrapatos no nosso país.

Este extraordinário sucesso dos carrapatos de agirem como vetores de microrganismos se deve as características biológicas que apresentam, dentre as quais se destacam o hematofagismo em todas as fases do desenvolvimento; fixação profunda nos hospedeiros, o que dificulta sua remoção; ingurgitamento lento, havendo tempo para inocular patógenos; longevidade nos ambientes, propiciando tempo para multiplicação de patógenos (NUNES, 2006).

Este parasito é um artrópode hematófago, conhecido como “carrapato do boi”, é um importante vetor do complexo conhecido como “tristeza parasitária bovina”, podendo acometer a morte do animal dependendo da intensidade da infestação (HORN, 1985).

Estudo realizado com vacas leiteiras na Austrália estimou que cada fêmea de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) é responsável pela perda de um grama de peso corpóreo e reduzem a produção em 8,9 mL de leite (JONSSON et al., 1998), valores significativos,

sobretudo se considerando que na maioria das regiões brasileiras, ocorrem altas infestações durante a maior parte do ano.

O controle de *R. (B.) microplus* no Brasil se dá pela aplicação de acaricidas, e em sua maioria sem o conhecimento prévio do comportamento e aspectos bioecológicos relacionados ao ciclo de vida. A determinação do efeito do ambiente sobre o período pré-parasitário do carrapato, principalmente na produção de ovos e larvas é de grande importância para a compreensão da dinâmica e intensidade das infestações dos bovinos. O conhecimento deste efeito do ambiente sobre os carrapatos pode auxiliar no controle mais eficaz do parasito (PEREIRA et al., 2008).

Há relato de parasitismo em ser humano por *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) na região Sul do país, mas esse fato é incomum e pouco relatado na literatura (SOARES et al., 2007).

Ainda, merece ressalva que como espécie de ampla distribuição geográfica, *R. (B.) microplus* está sujeito a variações populacionais como já observadas por Famadas e Faccini (1988) para a presença de variações morfológicas e moleculares (PASSOS et al., 1999; ULLMANN et al., 2005). Assim mesmo em se tratando de parâmetro biológico, o conhecimento das características ecológicas desta espécie é fator importante para sustentar ou caracterizar populações distintas.

A fase de vida livre é bastante influenciada, principalmente pela temperatura e umidade. O clima da região Sudeste do Brasil, região do presente estudo, permite o desenvolvimento e a sobrevivência do carrapato durante o ano todo, em níveis mais que suficientes para causar perdas. Porém, o período seco, de temperaturas mais baixas, entre os meses de abril e setembro, prejudica o desenvolvimento da fase de vida livre, fazendo com que o ciclo se alongue. Pode-se concluir que na Região Sudeste há quatro gerações de carrapatos que se desenvolvem por todo ano, tendo seu ciclo de vida mais curto e maiores infestações na “época das águas”, ou seja, nos meses entre setembro e março; portanto, a época mais recomendada para proceder ao controle químico de forma estratégica (FURLONG, 1993).

2.2. Mudanças Climáticas e sua Relação com a Ecologia dos Carrapatos

Segundo o Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC) (2007), mudanças climáticas podem ser entendidas como qualquer mudança no clima ao longo dos anos, devido à variabilidade natural ou como resultado da atividade humana.

O processo de mudanças climáticas e ambientais, que vem se agravando nas últimas décadas, mas que foi divulgado mais amplamente pela mídia nos últimos anos, é um desafio para a sociedade e setores do governo (BARCELOS et al., 2009).

Ao longo dos anos 80 houve uma preocupação crescente dos pesquisadores ligados a questões ambientais com o impacto dessas mudanças sobre os ecossistemas. Na década de 90 foram desenvolvidos modelos que permitiram de um lado explicar a variabilidade do clima ocorrida ao longo do século e de outro lado, avaliar a contribuição de componentes naturais (vulcanismo, alterações da órbita da Terra, explosões solares etc.) e antropogênicos (emissão de gases do efeito estufa, desmatamento e queimadas, destruição de ecossistemas etc.) sobre estas variações. No entanto, o tema das mudanças climáticas se tornou preocupante com maior intensidade com a divulgação do 4º relatório de avaliação do IPCC em fevereiro de 2007. Neste relatório foi divulgado que há 90% de chance do aquecimento global observado nos últimos 50 anos ter sido causado pela atividade humana, através do aumento das emissões de gases de efeito estufa. Este aumento poderá induzir um aquecimento da atmosfera, o que pode resultar em uma mudança no clima mundial em longo prazo (IPCC, 2007).

Ainda, segundo o IPCC (2007), caso essa tendência seja confirmada, alguns dos efeitos do aquecimento global poderá ser o aumento da temperatura na Terra em até 6,4 °C, aumento no nível dos oceanos entre 18 e 59 centímetros, e das chuvas em cerca de 20%; o aquecimento da Terra não será homogêneo e será mais percebido nos continentes que no oceano; ainda, o hemisfério norte será mais afetado do que o sul até o fim deste século.

Mudanças na temperatura, umidade, precipitação e a ascensão do nível do mar podem influenciar na incidência de doenças infecciosas transmitidas por artrópodes. Os mosquitos, carrapatos e pulgas são sensíveis às baixas e altas temperaturas e às mudanças de umidade. Mas doenças carreadas por vetores são igualmente dependente de muitos outros fatores de interação, tais como movimento das populações humanas e animais, a precariedade da infraestrutura da saúde pública, as mudanças na utilização da terra, e a emergência da resistência às drogas (PATZ et al., 2000; GRAY et al., 2009).

O aquecimento global do planeta tem gerado ainda uma preocupação sobre a possível expansão da área atual de incidência de algumas doenças transmitidas por insetos (TAUIL, 2002). Diversas doenças, principalmente as transmitidas por agentes patogênicos, são limitadas por variáveis ambientais como temperatura, e umidade dentre outras. As doenças transmitidas por vetores constituem, ainda hoje, importante causa de morbidade e mortalidade no Brasil e no mundo. O ciclo de vida dos vetores, assim como dos reservatórios e hospedeiros que participam da cadeia de transmissão de doenças, está fortemente relacionado à dinâmica ambiental dos ecossistemas onde estes vivem (HAY et al., 2004). O risco de transmissão aumenta porque, embora os artrópodes possam regular sua temperatura interna mudando seu comportamento são altamente dependentes do ambiente para sua sobrevivência e desenvolvimento (LINDSAY; BIRLEY, 1996).

O clima influencia diretamente e indiretamente no ciclo de vida dos carrapatos, seus habitats, como também seus hospedeiros. E essa mudança no clima conseqüentemente é relacionada às mudanças nas doenças transmitidas por esses artrópodes para seres humanos e animais (GRAY, 2002).

Houve um considerável interesse sobre o potencial impacto da mudança de clima em um número de doenças transmitidas por carrapatos em particular Doença de Lyme, Febre das Montanhas Rochosas e encefalite causada por carrapatos. A temperatura e a umidade são causas definitivamente importantes na distribuição do carrapato (LINDGREN et al., 2000).

Segundo Gray (1991), carrapatos da espécie *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) e *Ixodes persulcatus* (Schulze, 1930) gastam a maioria do seu tempo no ambiente e, mudanças no clima provavelmente afetam sua distribuição e abundância e, conseqüentemente, a incidência de doenças por eles transmitidas. O mesmo autor em 2008 pode confirmar que a mudança de clima impacta todos os estágios do ciclo biológico e suas interações. Para o autor embora as mudanças no clima e o comprimento das diferentes estações do ano afetem diretamente a sobrevivência, a atividade e o desenvolvimento do carrapato, não há nenhuma boa evidência que o aumento das temperaturas conduzirá a uma abundância maior de carrapatos (GRAY, 2008).

2.3. Influência da Temperatura no Ciclo Biológico dos Carrapatos

2.3.1. Aspectos gerais

A temperatura é um importante fator do ambiente que tem influência sobre a biologia dos animais. As respostas às temperaturas são complexas, mas na sua forma mais simples a temperatura afeta a taxas de crescimento, metabolismo e reprodução.

Alguns parasitos respondem às baixas temperaturas como estratégias de sincronizar seus ciclos de vida com as estações favoráveis e disponibilidade dos hospedeiros (WHARTON, 1999).

Nas regiões próximas ao paralelo 32° Norte e 32° Sul, ditas marginais, o principal fator do ecossistema que interfere e, às vezes, anula completamente a população de carrapatos é a distribuição geográfica associada diretamente aos fatores climáticos. E o principal componente desse fator é a temperatura (GONZÁLES, 2002).

Garris et al. (1990) e Davey et al. (1991) propuseram que a manutenção da umidade em índices anuais médios superiores a 75% propicia que a temperatura seja definida como o fator climático determinante do maior ou menor grau de sucesso de desenvolvimento e sobrevivência da fase não parasitária.

Pequenos organismos, de acordo com Knulle e Wharton (1964), onde se inclui os carrapatos, têm grande possibilidade de sofrer dessecação porque a evaporação pela superfície é grande em comparação ao seu volume e estes muitas vezes utilizam substâncias higroscópicas para manter este equilíbrio hídrico. Os autores ainda destacam que este equilíbrio, assim como os níveis críticos de temperatura e umidade, difere entre as espécies e seus estágios, sendo importantes na distribuição geográfica e ecológica dos artrópodes terrestres.

Clark (1995) ao trabalhar com limites mínimos de temperaturas para atividade de *Amblyomma americanum* (Linnaeus, 1758) e *Dermacentor variabilis* (Say, 1821) relatou que a resposta que os carrapatos de clima frio apresentam às baixas temperaturas pode estar relacionada com diversas adaptações fisiológicas e comportamentais que facilitam a manutenção da atividade nestas condições. Baixas temperaturas também influenciam no comportamento de diapausa morfológica, ou seja, no atraso da embriogênese, eclosão das larvas e ecdise das ninfas após o ingurgitamento ou na oviposição (LEE; BAUST, 1987).

Londt (1977) concluiu que altas temperaturas acarretam encurtamento dos períodos de desenvolvimento de *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844), porque elevam a taxa metabólica e a eficiência na utilização de nutrientes. Fato confirmado por Davey e Cooksey (1989) que estudando o efeito de baixas temperaturas sobre *Boophilus microplus* (= *R.(B.) microplus*), relataram que a exposição prolongada das fêmeas ingurgitadas a temperaturas de 12 °C por 90 dias levou a uma diminuição do número de fêmeas que realizaram postura; e que quando as larvas finalmente eclodiram, estas tinham uma longevidade diminuída já que a prolongada exposição a esta temperatura durante a fase de ovo esgotou as suas reservas de nutrientes.

Em temperaturas elevadas, Chilton et al. (2000) verificaram que as enzimas que atuam na digestão intracelular do sangue ingerido por *Amblyomma limbatum* (Neumann, 1899) e *Aponomma hydrosauri* (Denny, 1843) funcionam em uma taxa maior, o que explica o menor período de pré-ecdise em altas temperaturas. Estes autores também relataram que a resposta a diferentes temperaturas pode também representar adaptações às diferentes condições climáticas que cada espécie experimenta na sua área de distribuição.

Estrada-Peña (1993) estudando a espécie de carrapato *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806), afirmou que com o aumento da temperatura ocorre um aumento na transpiração através da cutícula. Temperatura crítica por volta de 30 °C promove uma perda da camada lipídica e conseqüentemente um aumento da permeabilidade da cutícula. O mesmo autor justificou que altas temperaturas podem levar a uma mudança nas cadeias de hidrocarbonetos que levam a um aumento do espaço entre as moléculas que formam a cutícula, e assim alterando a permeabilidade desta.

2.3.2 Na fase não parasitária

Segundo Buczek (2000), a temperatura é um fator crucial na duração do desenvolvimento embrionário. A fase de ovo necessita de uma relação estreita entre temperatura e umidade relativa adequada para seu desenvolvimento. Altas umidades e temperaturas são necessárias para elevadas percentagens de eclosão. O desenvolvimento do embrião varia muito com a temperatura, sendo em torno de 14 a 116 dias.

A variação da temperatura é o fator climático que mais influencia a taxa e a duração da oviposição do *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*), sendo a temperatura ideal entre 26,7 °C a 29,4 °C e o limite mínimo de 15 °C e o máximo de 40,6 °C (HITCHCOCK, 1955; BENNETT, 1974).

Hitchcock (1955) trabalhando com flutuações de temperaturas no período de incubação dos ovos de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*), manteve os mesmos a 5 horas por 15 °C seguido por um aumento de 12 horas por 36 °C. Após 5 horas a 36 °C houve uma queda para 2 horas a 15 °C. Este ciclo foi realizado até que ocorresse eclosão. Para o grupo controle o autor usou temperatura constante de 25 °C. O período mínimo de início de eclosão no grupo controle foi de 25 dias. Os ovos que sofreram a flutuação de temperatura teve o período de incubação de no mínimo 23 dias. O autor afirma que mesmo com uma flutuação extrema deste tipo, a temperatura controle oferece uma temperatura favorável para o período de incubação e que essa flutuação é excelente para acelerar o desenvolvimento. Em outro estudo, ao avaliar o efeito da temperatura e da umidade no período de desenvolvimento dos ovos ele pode observar que ovos mantidos em temperaturas próximas a 15 °C teve seu desenvolvimento embrionário completo, mas as larvas eram incapazes de romper o córion. Uma pequena emergência das larvas pode ser garantida, mesmo a baixas temperaturas, se a maior parte do desenvolvimento ocorrer a uma temperatura favorável. Para isso, o autor submeteu ovos por 60 dias a 15 °C, e não foi detectado desenvolvimento, mas ao serem transferidos para uma temperatura favorável se tornaram viáveis e se desenvolveram.

Moraes et al. (1987) verificaram taxas de embriogênese e de eclosão larval significativamente mais baixas do que no grupo controle em ovos de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) submetidos durante cinco dias à temperatura igual ou inferior a 8 °C.

Glória et al. (1993) estudando a biologia de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) observaram que a 17 °C a porcentagem do desenvolvimento embrionário foi de 84,57% e o restante correspondeu a ovos inférteis (sem desenvolvimento embrionário), ressecados e escurecidos e que o percentual de eclosão foi menor que o percentual de ovos embrionários. Este fato indica que nem todas as larvas formadas conseguiram romper o córion e sair do ovo, e nas outras temperaturas estudadas os ovos que não eclodiram não apresentaram desenvolvimento embrionário.

Ovos de *B. decoloratus* mantidos a baixas temperaturas tiveram baixa taxa de eclodibilidade, isto se deve à influência da temperatura na duração do período de incubação, sendo este prolongado, os ovos tem maior tempo de perder a água através da evaporação antes de ocorrer a eclosão (LONDT, 1977).

Chacón et al. (2003) objetivando averiguar a influência de três temperaturas sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787), observaram que a 32 °C não houve desenvolvimento embrionário, enquanto a 18 °C o percentual de eclosão foi de apenas 3%, e esta temperatura ainda prolongou todos os períodos da fase não parasitária dos três estágios do ciclo biológico. Para os autores, os efeitos a 18 °C são menos prejudiciais do que a 32 °C, podendo ainda ser utilizada estrategicamente para retardar algumas fases do ciclo.

Dantas-Torres et al. (2010) avaliaram o efeito da exposição prolongada a baixas temperaturas em diversos períodos em ovos de *R. sanguineus*. Os autores não observaram eclodibilidade larval nos ovos mantidos a 8 ± 2 °C. E quando os mesmos foram transferidos a uma temperatura favorável ao desenvolvimento (26 ± 1 °C), houve desenvolvimento, porém a taxa de eclodibilidade larval apresentou uma tendência decrescente nos grupos que permaneceram de 15 a 60 dias. Além disso, não houve eclosão nos grupos que permaneceram por mais de 90 dias a baixas temperaturas. Ao avaliarem a longevidade larval, eles observaram que quanto maior o tempo que o ovo teve exposto a baixas temperatura, menor foi a longevidade. Eles afirmaram que exposição ao frio apresenta uma forte correlação positiva com o período de incubação, porém também uma forte correlação negativa com a taxa de eclosão e longevidade larval.

Brovini et al. (2003) ao estudarem o desenvolvimento de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) a campo, observaram que as variáveis biológicas (período de pré-postura, postura, incubação dos ovos, e o deslocamento das fêmeas) foram relacionadas a parâmetros ambientais. Observaram que o deslocamento das fêmeas ingurgitadas, assim como o período de pré-postura e incubação, é diretamente influenciado pela temperatura. As fêmeas ingurgitadas se deslocaram mais no inverno durante o período de pré-postura, mas tal comportamento não provocou perdas significativas de peso, nem provocou diminuição na produção de ovos.

A viabilidade das larvas conforme relatado na literatura é influenciado pelas condições de temperatura e umidade relativa às quais o embrião é submetido. Existe uma relação entre a desidratação e perda de peso dos ovos de *R. (B.) microplus* com a viabilidade dos ovos e das larvas, pois tanto altas temperaturas quanto baixas são prejudiciais aos ovos e larvas do parasito, porém a baixa temperatura e baixa umidade são mais prejudiciais para os ovos, sendo que o estresse experimentado por ovos é refletido na subsequente viabilidade das larvas emergentes (SUTHERST; BOURNE, 2006).

Larvas provenientes de ovos que se desenvolveram em 35 °C têm metade da expectativa de vida das larvas que derivaram de ovos que se desenvolvem em 30 °C em condições controladas de laboratório, no entanto baixas temperaturas e baixa umidade, também, foram notificadas como desfavoráveis para os ovos e larvas (HITCHCOCK, 1955; CORSON et al., 2004).

Em condições de laboratório, para a maioria dos ixodídeos a temperatura de 27 °C foi considerada como sendo ideal, pois nessa temperatura é possível obter os períodos de oviposição e incubação mais curtos com um alto percentual de eclosão de larvas (GLÓRIA et al., 1993; BASTOS et al., 1996; BELLATO e DAEMON, 1997; BARROS-BATTESTI et al., 2000; CHACÓN et al., 2003).

2.3. Embriogênese em Carrapatos

Considerando a fase não parasitária, um dos momentos mais importantes diz respeito ao período em que a fêmea deixa o hospedeiro e inicia o processo de oviposição. A embriogênese se inicia quando o ovo é posto no ambiente. Após a fertilização e oviposição, inicia-se a fase de segmentação. Essa segmentação é superficial, como acontece com outros artrópodes. Logo após ocorre a formação das camadas endo-mesodérmica e ectoderme embrionária, em seguida, o embrião torna-se uma nova gástrula com o aparecimento do disco germinativo. Após a gastrulação, ocorre a metamerização com o aparecimento dos três primeiros metâmeros, uma característica dos aracnídeos. O passo seguinte no desenvolvimento é chamado de blastoquinese, que ocorre após a contração longitudinal da banda germinativa. Esta contração

elimina o sulco ventral e ocorre a diferenciação do capitulum com o aparecimento das quelíceras, pedipalpos e os três primeiros pares de pernas e o desenvolvimento é completo. O quarto par de pernas permanece como botão que fica retraído dentro do corpo durante a embriogênese. O desenvolvimento completo do quarto par aparecerá durante a ecdise da larva hexápoda em ninfa octópoda. Outro resultado importante nesta fase nos carrapatos é o total desaparecimento da metamerização externa e primitiva. Ao final da blastoquinese é formado o idiossoma que é compreendido pelo podossoma e opistosoma e o gnatossoma quando há a junção dos metâmeros anteriores com o acron. O saco retal desenvolve a partir da invaginação do proctodeo dentro do telson e os túbulos de Malpighi originam como uma evaginação lateral dupla do saco retal. Tanto os túbulos quanto ao saco retal são ativos no embrião a partir do aparecimento de cristais de guanina, caracterizando o ponto de embrionamento o qual pode ser visto a microscopia óptica ou até mesmo a olho desarmado, como uma massa esbranquiçada (AESCHLIMANN; HESS, 1984, SONESHINE, 1991).

Rocha (1998) estabeleceu as etapas da embriogênese de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) com cronologia aproximada em dias pós-postura onde no 1º dia há formação da periblástula, seu arranjo bilaminar e a disposição central dos vitelófagos; a partir do 4º dia, formação do pólo animal, com o aparecimento do epiblasto e a diferenciação de blastômeros; no 7º dia há o estabelecimento do disco germinativo, no 8º há a formação da banda germinativa com o surgimento dos pólos caudal (telson) e cefálico (acron); no 9º dia ocorre a fase de metamerização, no 10º dia ocorre o aparecimento dos botões germinativos dos apêndices articulados e entre o 16º e 19º dia já se observava embriões na fase de organogênese.

Em um trabalho mais recente, Campos et al. (2006) observaram que o desenvolvimento embrionário de *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) é completado em 21 dias quando as amostras são mantidas a 28 °C. Até o 5º dia após a oviposição, o embrião é um sincício. No 6º dia ocorre a celularização do blastoderme, no 7º dia uma banda germinativa segmentada já pode ser distinguida.

A estrutura que sustenta a hipótese de que a embriogênese teve seu curso normal, é o saco retal. Esta estrutura somada aos Túbulos de Malpighi se destaca na figura do ovo devido ao seu tamanho e coloração branco leitoso que são grânulos de guanina, ou melhor, o sinal da plena atividade metabólica do embrião e esta estrutura é um análogo funcional do intestino em insetos (JASIK; BUCZEK, 2005).

Segundo Balashov (1958), a composição básica da excreção dos carrapatos ixodídeos é formada por guanina, um produto branco cristalino, que é o produto final do metabolismo nitrogenado e foi caracterizado mais tarde como ponto de embrionamento (DIPEOLU, 1984).

Shiraishi et al. (1990) ao estudarem a embriogênese de *Haemaphysalis longicornis* (Neumann, 1901) observaram no oitavo dia de incubação, acúmulo de guanina no saco retal. Já Rocha (1998) observou esse acúmulo em *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) a partir do 28º dia de incubação. Entre estes dois valores encontramos registros em *A. cajennense*, que foi observado ao 18º dia (OLIVEIRA; SERRA-FREIRE, 1994).

Trabalhando com temperatura controle a 27 °C, Carvalho (2005) encontrou a presença de saco retal em *B. microplus* (= *R. (B.) microplus*) a partir do 12º dia com uma porcentagem de 3,14%, chegando a 100% no 25º dia ao trabalhar com 70% de umidade relativa. A primeira aparição foi mais precoce quando o mesmo autor trabalhou com 95% de umidade relativa. Ele encontrou a primeira aparição no 9º dia de embriogênese e no 21º dia foram constatados 100% de presença de saco retal. Ele afirma que 70 e 95% são umidades ótimas para o desenvolvimento embrionário desta espécie.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Local de Execução

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Ixodologia da Estação para Pesquisas Parasitológicas W. O. Neitz e no Laboratório de Morfofisiologia de Ácaros, ambos pertencentes ao Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada na Rodovia BR 465, Km 47, Rio de Janeiro – Brasil, durante o período de abril de 2009 a julho de 2010.

3.2 - Origem e Manutenção dos Ixodídeos no Laboratório

3.2.1 Origem das teleóginas

Quinhentas teleóginas de *R. (B.) microplus*, obtidas através de infestações artificiais em bovinos mestiços sem contato com acaricidas (**Figura 1**), foram cedidas pelo Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. O peso médio dos espécimes utilizados foi de $265,7 \pm 41,6$ mg.



Figura 1. Infestação artificial em bovino mestiço sem contato com acaricidas.
Fonte: Bahiense, 2005

3.2.2 Manutenção das fêmeas ingurgitadas

As fêmeas ingurgitadas foram lavadas em solução de hipoclorito a 1%, enxaguadas em água corrente e secas em papel toalha. Após a limpeza foram pesadas em balança digital e posteriormente identificadas e fixadas com esparadrapos em decúbito dorsal em placas de Petri (150 x 200 mm) que foram mantidas em estufa biológica tipo BOD (*Biological Oxygen Demand*) regulada a 27 ± 1 °C, $80 \pm 5\%$ UR, escotofase. A temperatura de 27 °C é comumente usada como padrão nos estudos com carrapatos de regiões neotropicais (GLÓRIA et al., 1993; BASTOS et al., 1996; BELLATO e DAEMON, 1997; BARROS-BATTESTI et al., 2000; CHACÓN et al., 2003).

3.3 Procedimento para Obtenção dos Ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*

Dez grupos, contendo 50 fêmeas ingurgitadas que compunham as unidades experimentais foram mantidos nas condições acima descritas. Em virtude do objetivo proposto, foi necessário que houvesse um sincronismo do início da oviposição das fêmeas. A utilização das fêmeas que iniciaram postura na mesma data garantiu que os ovos do pool coletado diariamente correspondessem ao mesmo dia de postura de cada teleóquina, com esse objetivo foi formado um grupo reserva de teleóquinas. Nos dois primeiros dias de oviposição todos os ovos foram descartados, sendo utilizados somente ovos do terceiro dia de postura, pois segundo a literatura, o terceiro dia de postura é relatado como dia de pico de postura em espécies de ixodídeos, e com percentual de eclodibilidade em torno de 100% (PRATA, 2002; LOUZADA; DAEMON, 2003).

De cada grupo experimental, uma massa de ovos com 110 mg foi coletada e acondicionada em placas de Petri, formando dez grupos para os nove tratamentos (**Figura 2**). No 9º dia de desenvolvimento, em nível de comparação, foram coletados de cada grupo/tratamento 8 mg de massa de ovos que foram colocados em tubos tipo Eppendorf® com etanol 70%. No 15º dia de postura, as placas que se encontravam na estufa tipo BOD de 27 ± 1 °C foram para suas respectivas temperaturas e horários como descrito na **Figura 3**. Após o período de estudo, as amostras retornaram para a estufa tipo BOD de origem. A cada dia subsequente, foi coletada a mesma alíquota de ovos de cada grupo/tratamento até a eclosão da primeira larva ou até que fosse constatada a inviabilidade dos ovos, por seu aspecto escuro e desagregado.

Vale esclarecer que o 15º dia foi escolhido, pois segundo Carvalho (2005), cerca de 50% dos ovos desta espécie em condições de 27 ± 1 °C e $80 \pm 10\%$ UR, apresentam seu saco retal desenvolvido e as temperaturas extremas escolhidas de 18°C e 32°C são consideradas a média mínima e a média máxima registradas no município de Seropédica, região do estudo.

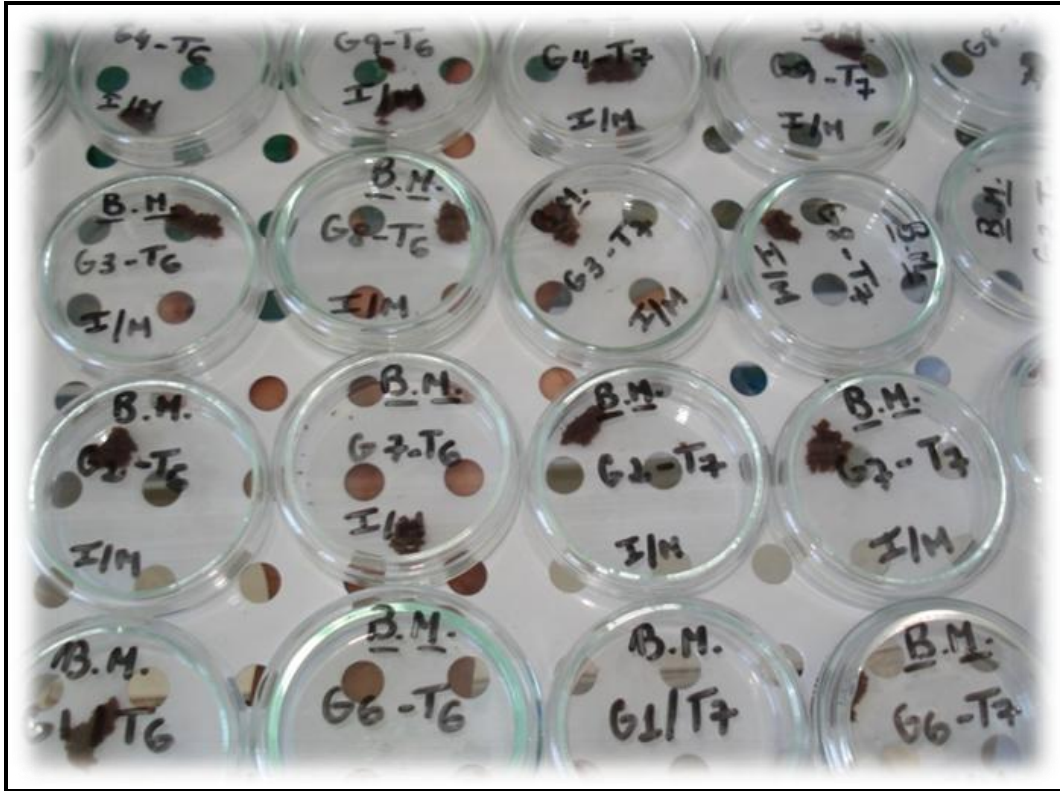


Figura 2. Grupos experimentais formados com pool de ovos de 3° dia de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*.

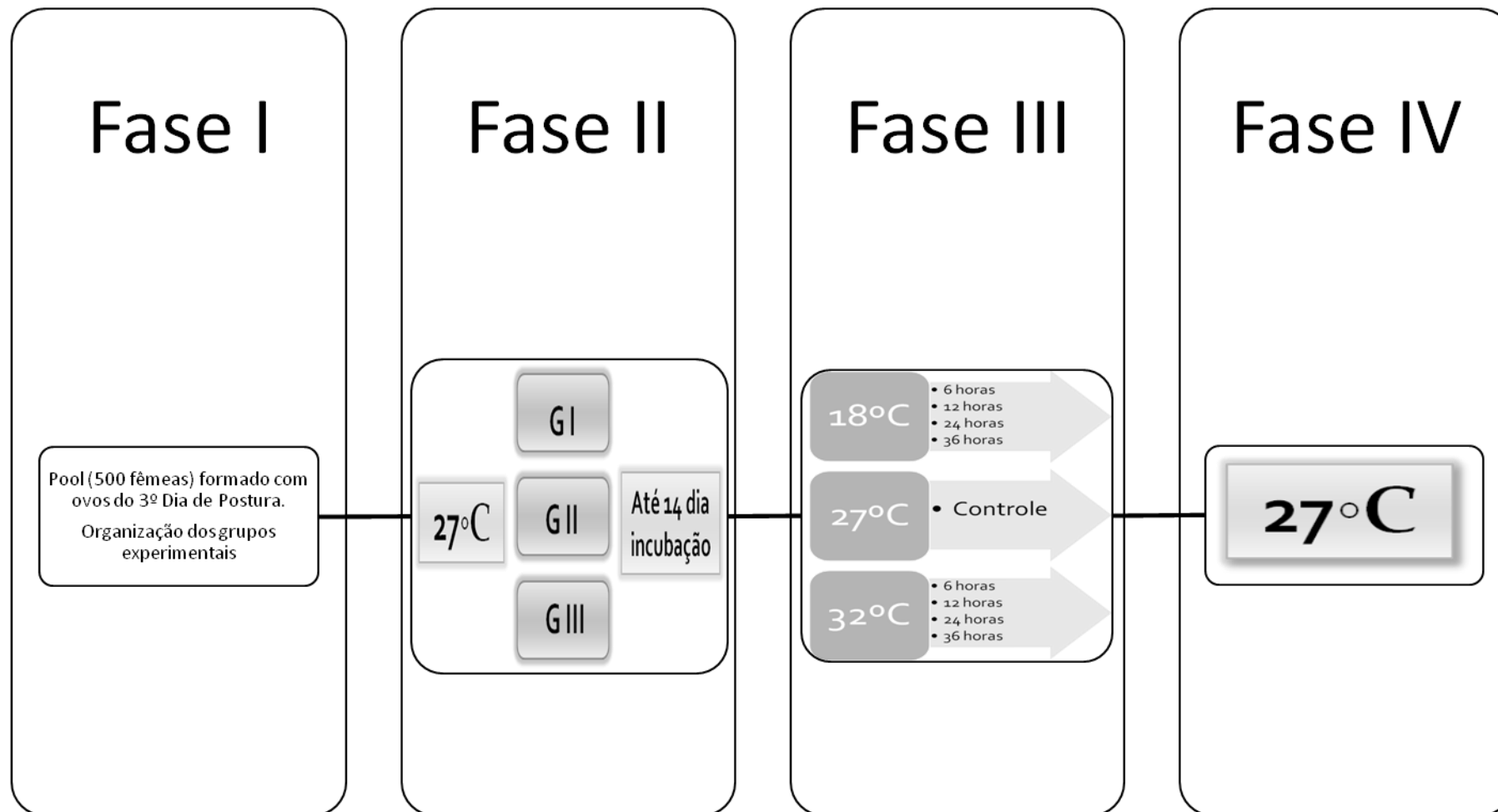


Figura 3. Fluxograma experimental para avaliação da capacidade de sobrevivência do embrião de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* a diferentes tempos de exposição em temperaturas extremas.

3.4 Preservação e Preparo das Amostras para Observação em Microscopia Óptica

As massas de ovos de *R. (B.) microplus* dos diferentes tratamentos foram imediatamente fixadas em etanol 70% após a coleta. Posteriormente estes ovos, foram transferidos para lactofenol por 24 horas a fim de tornar a casca translúcida para melhor observação do saco retal em microscópio óptico (**Figura 4**). Após a clarificação os ovos retornaram para seus recipientes de origem, permanecendo em solução etanólica a 70%.

Utilizou-se como ponto-chave de observação, a estrutura do saco retal, primeira estrutura resultante do desenvolvimento embrionário visível à microscopia óptica (TRAVASSOS; VALLEJO-FREIRE, 1944; DIPEOLU, 1984). Para o exame do saco retal ao microscópio óptico, os ovos foram montados temporariamente com etanol 70%, em lâmina escavada coberta por lamínula.



Figura 4. Massas de ovos em lactofenol por 24 horas.

3.5 Registros das Imagens

As imagens dos ovos foram obtidas através de equipamento de câmara de vídeo acoplado a um microscópio de luz com aumento final de 100x.

3.6 Análise Estatística

A partir dos resultados obtidos através da observação da presença do saco retal dos embriões nos ovos de *R. (B.) microplus*, foi feita análise estatística dos percentuais de aparecimento do saco retal para a comparação entre as temperaturas e tempos. A comparação entre tratamentos foi realizada pelos testes Anova seguido por Tukey- Kramer quando necessário com o programa computacional R ao nível de 5% de significância.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando todos os tratamentos, o período de incubação de *R. (B.) microplus* observado foi de 24 ± 1 dia (**Tabela 1**).

Em todos os tratamentos foi possível detectar a presença do saco retal durante todo o período experimental (**Figuras 5 e 6**).

Ovos mantidos a 27 °C tiveram seu período de incubação de 23 dias com 94,41% de observação do saco retal antes da eclosão da primeira larva. Carvalho (2005) trabalhando nas mesmas condições experimentais com a mesma espécie obteve a primeira eclosão larval ao 23° dia. Podemos concluir que o controle está de acordo com o encontrado na literatura.

Ovos mantidos a 18 °C / 6, 24 e 36 h, tiveram seu período de incubação de 24 dias com 94,35; 95,89 e 94,67% dos ovos com saco retal, respectivamente. No tratamento 18 °C / 12 h, encontramos 96,06% dos ovos com saco retal ao final do período de incubação, que foi de 23 dias (**Figura 7**).

Embora considerada relativamente baixa na região dos trópicos, na temperatura mínima de 18 °C foi observado que a embriogênese foi completada em todos os tempos de exposição, embora tenha havido um prolongamento no período de incubação. A eclodibilidade larval de uma população de *R. (B.) microplus* da Austrália foi avaliada por Hitchcock (1955). O autor verificou que ovos mantidos em temperaturas próximas a 15 °C teve seu desenvolvimento embrionário completo, mas as larvas eram incapazes de romper o córion. O autor também afirmou que uma pequena emergência de larvas pode ser garantida, mesmo a baixas temperaturas se a maior parte do desenvolvimento ocorrer a uma temperatura favorável. Para isso, o autor submeteu ovos por 60 dias a 15 °C, e não foi detectado desenvolvimento, mas ao serem transferidos para uma temperatura favorável de 25 °C se tornaram viáveis e se desenvolveram. Vale ressaltar que o autor só se baseou na observação ou não da eclodibilidade larval durante o período experimental. E ainda, que os espécimes eram oriundos da Austrália, onde os invernos são rigorosamente frios, chegando a temperaturas abaixo de 0 °C por longos períodos.

Segundo Randolph (2004), como uma adaptação para garantir que a emergência coincida com as condições ótimas para sobrevivência, muitas espécies de carrapatos tem incorporado algumas formas de diapausa nos seus ciclos de vida. Espécies de carrapatos de climas temperados, como os do estudo de Hitchcock (1955), têm que lidar com sazonalidade ainda mais acentuada das condições ambientais. Portanto alguns fatores, como a diminuição da temperatura, são conhecidos por aumentar a resposta à diapausa. Existe uma clara evidência que a temperatura é fundamental na quebra da diapausa morfogenética dos carrapatos.

No entanto, vale destacar que temperaturas extremamente baixas por longos períodos podem ser deletérias para a embriogênese de algumas espécies como observado para *Rhipicephalus sanguineus* por Dantas-Torres et al. (2010), que avaliaram o efeito da exposição prolongada a baixas temperaturas em diversos períodos. Eles observaram que ovos expostos por mais 90 dias a uma temperatura de 8 °C e posteriormente retornados a 26 °C, estavam encarquilhados e desidratados e não ocorreu eclosão larval, e nos grupos que permaneceram de 15 a 60 dias nesta mesma temperatura ao serem transferidos para a temperatura favorável, foi observado desenvolvimento, porém a taxa de eclodibilidade larval apresentou uma tendência decrescente nos grupos.

Vale ressaltar que como espécies de ampla distribuição geográfica, tanto *R. sanguineus* quanto *R. (B.) microplus*, podem expressar suas adaptações às adversidades

climáticas de cada região através não só da morfologia (FAMADAS; FACCINI, 1988) como também molecularmente (PASSOS et al., 1999; ULLMANN et al., 2005).

Nos tratamentos 32 °C / 6 e 12 h o período de incubação foi semelhante, 23 dias, com 96,29 e 93,57% dos ovos com saco retal, respectivamente. Esse período foi mais curto, 22 dias, nos tratamentos 32 °C / 24 h (%SR=97,29) e 32 °C / 36 h (%SR=96,63) (**Figura 8**). A 32 °C observamos eclosão em todos os períodos de exposição, sendo inversamente proporcional com o período de incubação, ou seja, quanto maior o tempo exposto, menor o período de incubação. Assim, mesmo tendo sido caracterizadas populações de *R. (B.) microplus* distintas no Brasil, podemos concluir que a população estabelecida na Baixada Fluminense tem capacidade de suportar durante pelo menos 36 horas a temperatura de 32 °C sem que esta seja deletéria, visto que foi observada eclosão larval em todos os tratamentos. Para *R. sanguineus*, Bellato e Daemon (1997), nessa temperatura encontraram apenas três larvas eclodidas, indicando que esta temperatura foi considerada limite para essa espécie.

Chacón et al. (2003) trabalhando com *A. cajennense*, não observaram desenvolvimento embrionário nos ovos mantidos a temperatura constante de 32 °C, este fato ressalta as características adaptativas de cada espécie de ixodídeo na região tropical.

Tabela 1. Porcentagem média de saco retal nos ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* nos diferentes tempos de exposição (6, 12, 24 e 36 horas) nas temperaturas de 18, 27 e 32 °C ao longo do período de incubação

Período de Incubação (dias)	18°C				27°C n(%)	32°C			
	n(%)					n(%)			
	6	12	24	36		6	12	24	36
9	143(74,19)	151(84,37)	139(77,52)	142(77,66)	149(85,80)	151(82,83)	150(78,12)	146(84,85)	162(77,86)
15	177(92,67)	199(95,14)	183(96,92)	182(93,27)	177(96,94)	178(95,29)	195(95,46)	169(96,44)	174(95,75)
16	190(95,47)	170(95,59)	165(94,54)	166(97,09)	170(95,86)	173(96,35)	180(96,14)	189(95,11)	148(95,65)
17	192(94,50)	200(95,89)	172(96,72)	201(95,41)	201(95,95)	193(96,01)	199(96,36)	186(96,10)	211(94,71)
18	190(94,32)	210(94,19)	208(97,19)	207(96,28)	188(96,25)	191(94,15)	208(97,17)	194(96,09)	197(93,64)
19	172(96,82)	195(95,67)	198(96,78)	186(94,43)	173(97,76)	194(95,45)	211(95,79)	202(96,46)	201(94,97)
20	173(93,19)	209(95,32)	193(97,16)	171(94,38)	193(96,63)	209(96,19)	203(95,59)	193(96,12)	224(96,03)
21	183(96,44)	193(96,21)	191(96,31)	197(94,99)	198(96,72)	189(96,36)	225(93,40)	190(97,29)	196(96,63)
22	199(93,82)	183(96,06)	202(97,14)	197(95,43)	195(96,41)	191(96,29)	193(93,57)	E	E
23	204(94,35)	E	166(95,89)	173(94,67)	E	E	E		
24	E		E	E					

E – Eclosão larval



Figura 5: Microscopia óptica de ovo de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* com 20 dias de incubação. SR - Saco Retal; TM - Túbulos de Malpighi.

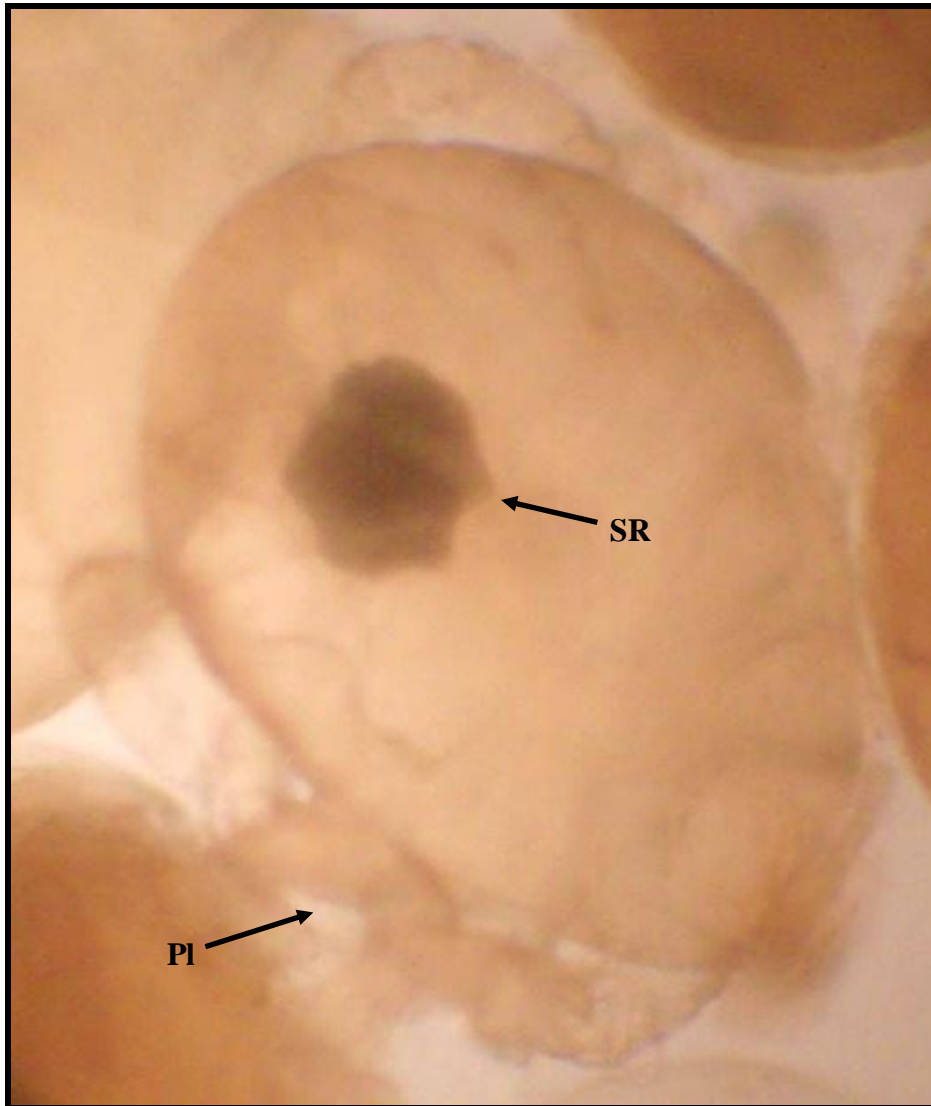


Figura 6: Microscopia óptica de ovo clarificado de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* com 22 dias de incubação. SR - Saco Retal; Pl - Pernas da larva.

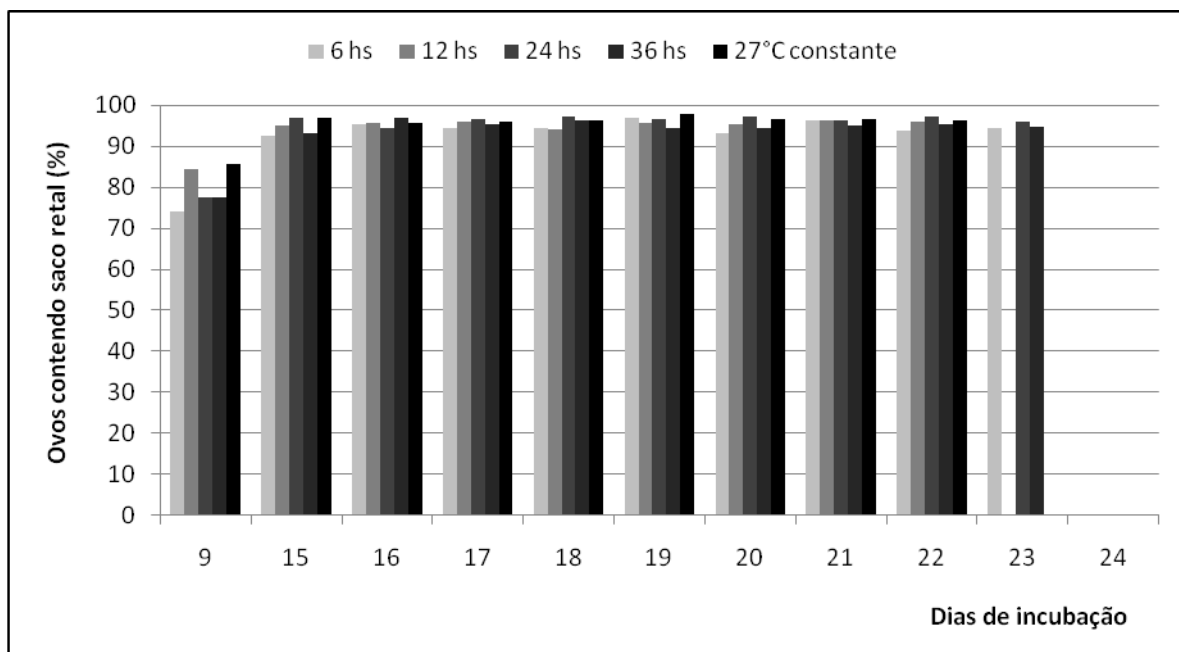


Figura 7: Porcentagem de ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* contendo saco retal, mantidos a 18 °C por 6, 12, 24 e 36 horas e a 27 °C constante, a partir do nono dia até o surgimento da primeira larva.

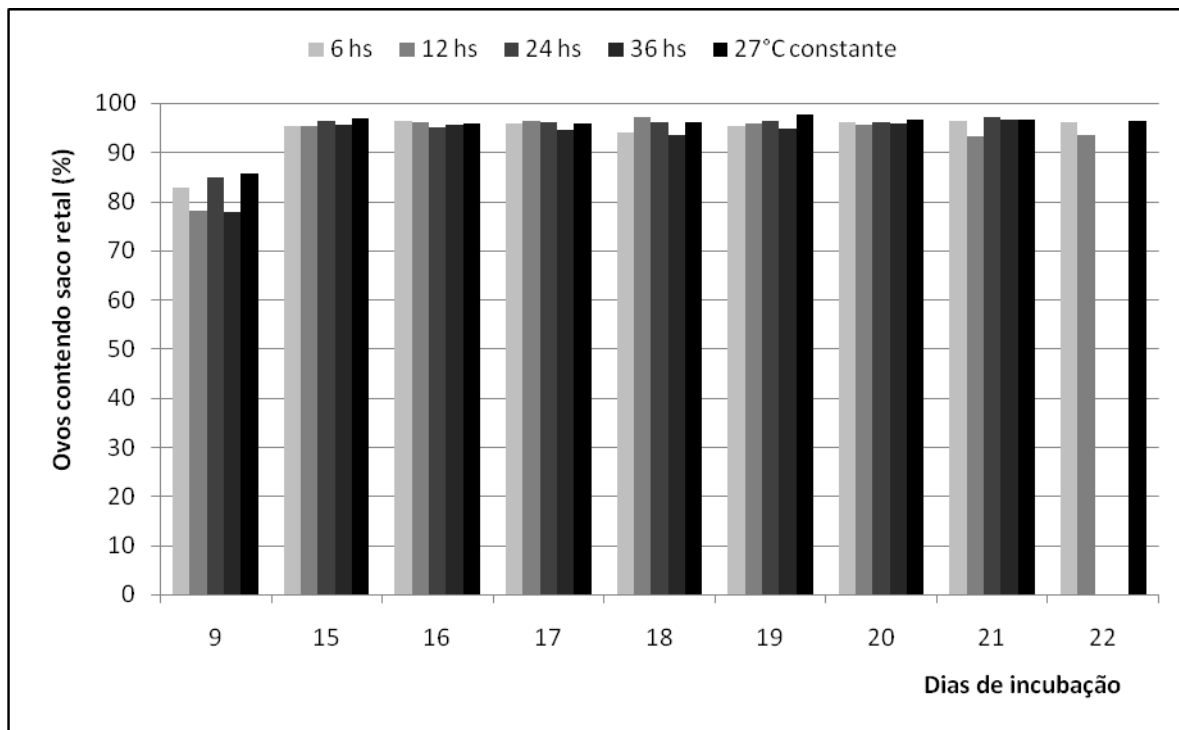


Figura 8: Porcentagem de ovos de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* contendo saco retal, mantidos a 32 °C por 6, 12, 24 e 36 horas, e a 27 °C constante, a partir do nono dia até o surgimento da primeira larva.

Quando os percentuais de positividade para saco retal nos diferentes tempos de exposição foram comparados entre as temperaturas não foram observadas diferenças ($p > 0,05$). No entanto, na comparação entre todas as temperaturas e tempos de exposição observaram-se diferenças entre os tratamentos 32 °C / 36h e 18 °C / 24h; 32 °C / 36h e 27 °C; 32 °C / 36h e 32 °C / 24h ($p < 0,05$).

O clima da região de Seropédica, RJ, segundo a classificação KÖPPEN- GEIGER é do tipo Aw ou Tropical do Brasil Central apresentando duas estações distintas, uma seca, que se estende de abril a setembro e outra quente e chuvosa (NIMER, 1989). Segundo os dados dos últimos vinte anos da estação meteorológica da PESAGRO-RJ, localizada nas suas mediações, a temperatura média anual dos últimos 20 anos é de 23,83 °C. As temperaturas médias anuais mínimas e máximas são, respectivamente, 20,1 °C e 29,8 °C, sendo estas mais altas nos meses de Janeiro, Fevereiro e Dezembro e menores nos meses de Junho, Julho e Agosto.

As características climáticas da região, embora levem a uma redução da população de carrapatos durante os meses mais frios, não chegam a impedir totalmente a eclosão, como verificado por Furlong (2005).

Os dados obtidos neste trabalho serão de grande auxílio na estratégia de controle, como aplicações estratégicas de carrapaticidas, quando o ambiente começa a tornar-se favorável ao parasito, visto que, no Brasil *R. (B.) microplus* encontra condições climáticas favoráveis ao seu desenvolvimento, do Sul em direção ao Norte ou Nordeste. Como relatado em muitos estudos sobre *R. (B.) microplus* na América do Sul, o carrapato é mais comumente encontrados em condições quentes e úmidas. E durante a fase em que o carrapato se encontra no campo é que podemos atuar com estratégias mais eficazes, onde Brovini et al. (2003) observaram que em fêmeas de *R. (B.) microplus*, parâmetros relacionados ao ingurgitamento e o período de pré-postura e incubação são diretamente influenciados pela temperatura, e também, uma vez que durante a fase parasitária, as condições de vida do carrapato são constantes e adequadas ao seu desenvolvimento (FURLONG, 2005). O conhecimento desses períodos de vida livre do parasito permite estimar a infestação dos animais durante os diferentes meses do ano. Resumindo, conhecendo-se o ciclo dos carrapatos nos diversos meses do ano e como a temperatura influencia, selecionando-se e aplicando-se corretamente o carrapaticida, é possível melhorar a eficácia no seu controle, utilizando-se o sistema estratégico.

Nenhuma alteração morfológica foi observada macroscopicamente e/ou microscopicamente na massa de ovos ou nos ovos clarificados, respectivamente. Embora não tenha sido objetivo deste trabalho, as larvas eclodidas não apresentaram deformidades. Buczek (2000) associou alterações observadas nos embriões e larvas de *Hyalomma marginatum marginatum* (Kock, 1844) com a umidade relativa e temperatura próximas a utilizadas em nosso grupo controle, 90% e 25 °C. Neste caso a temperatura não foi o fator determinante destas anomalias.

Podemos prever que o aumento da temperatura irá conduzir a um período de aumento da atividade dos carrapatos e um aumento da agressividade e propensão a atacar humanos e animais, e que o aumento da frequência das doenças transmissíveis por esse vetores será observado. No contexto das alterações climáticas, tem havido uma preocupação crescente em relação ao possível impacto que o aquecimento global pode ter na população de carrapatos em todo o mundo. O aumento da frequência de parasitismo por humanos está aumentando (DANTAS-TORRES et al., 2010).

A importância de um conhecimento adequado sobre a influência da temperatura no desenvolvimento embrionário pode ser exemplificada pela utilização de faixas térmicas na

formulação de estratégias de controle, permitindo também a formulação de modelos matemáticos, utilizados na execução de programa de controle.

Este trabalho poderá servir de subsídios para futuras investigações, como a exposição à temperaturas por diferentes períodos poderá influenciar viabilidade das larvas eclodidas que consequentemente auxiliará na formulação de novos agentes de controle.

5 CONCLUSÕES

Embriões de *R. (B.) microplus* podem sobreviver por até 36 horas em temperaturas extremas de 18°C e 32°C sem ter desenvolvimento embrionário interrompido.

Temperaturas mais elevadas não letais mesmo que durante longos períodos durante a embriogênese parece ser até favorável a essa espécie, pois acelera o metabolismo do embrião e reduz o tempo de seu desenvolvimento, enquanto as temperaturas mais baixas, porém não letais, prolongam essas fase.

A temperatura pode ser usada para otimizar a emergência das larvas de *R. (B.) microplus* na manutenção das colônias de laboratório.

Essa informação poderá servir de subsídios para aplicação no desenvolvimento de programas para controle estratégico.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AESCHLIMANN, A.; HESS, E. What is our current knowledge of acarine embryology? *In*: GRIFFITHS, D.A.; BOWMAN, C.E. *Acarology VI*. Ellis Horwood, Chichester, p.90-99, 1984.
- ANDERSON, J.F.; MAGNARELLI, L.A. Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*. v.22, p.195-215, 2008.
- BALASHOV, Y.S. The excretion processes and function of Malpighian tubules of ixodid ticks. *Parasit. Sborn. Zool*, Inst. Akad, Nauk USSR, v.18, p.120-128, 1958.
- BARCELLOS, C.; MONTEIRO, A.M.V.; CORVALÁN, C.; GURGEL, H.C.; CARVALHO, M.S.; ARTAXO, P.; HACON, S.; RAGONI, V. Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. *Epidemiologia Serviço Saúde*, Brasília, v.18, n.3, p.285-304, 2009.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ONOFRIO, V.C.; SIMONS, S.M.; BONOLDI, V.L.N.; YOSHINARI, N.H. Oviposition and Eclosion Periods of *Ixodes didelphidis* (Acari: Ixodidae) under Laboratory Conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.95, p.905-908, 2000.
- BASTOS, K.M.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H.; CUNHA, D.W. Efeitos de diferentes temperaturas sobre a fase não parasitária de *Dermacentor (Anocentor) nitens* (Neuman, 1987) (Acari: Ixodidae) em condições de laboratório. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.5, n.1, p.29-32, 1996.
- BELLATO, V.; DAEMON, E. Influência da temperatura de manutenção da fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Laterille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.6, n.1, p.15-19, 1997.
- BENNETT G.F. Oviposition of *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina: Ixodidae). II Influence of temperature, humidity and light. *Acarologia*, v.16, n.2, p.250-257, 1974.
- BRITO, L.G.; NETTO, F.G.S.; OLIVEIRA, M.C.S.; BARBIERI, F.S. Bio-ecologia, importância médico-veterinária e controle de carrapatos, com ênfase no carrapato dos bovinos, *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. Embrapa Rondônia– Porto Velho. 21 p., 2006 – (Documentos / Embrapa Rondônia, ISSN 0677-8618; 104).
- BROVINI, C.N.; FURLONG, J.; CHAGAS, A.C.S. Influência dos fatores climáticos na biologia e no comportamento de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* a campo. *Bioscience Journal*, Uberlândia, v.19, n.1, p.71-76, 2003.
- BUCZEK, A. Experimental Teratogeny in the Tick *Hyalomma marginatum marginatum* (Acari: Ixodida: Ixodidae): Effect of High Humidity on embryonic development. *Journal Medical Entomology*, v.37, n.6, p.807-814, 2000.
- CAMPOS, E.; MORAES, J.; FAÇANHA, A.R.; MOREIRA, E.; VALLE, D.; ABREU, L.; MANSO, P. P.A.; NASCIMENTO, A.; PELAJO-MACHADO, M.; LENZI, H.; MASUDA, A.; VAZ JR. I.S.; LOGULLO, C. Kinetics of energy source utilization in *Boophilus*

microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) embryonic development. *Veterinary Parasitology*, v.138 p.349–357, 2006.

CARVALHO, F.E.S. *Efeito da Umidade Relativa na embriogênese de Amblyomma cajennense, Rhipicephalus sanguineus, Boophilus microplus e Anocentor nitens* (Acari: Ixodidae). 2005, 43f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2005.

CHACÓN, S.C.; CORREIA, P.G.; BARBIERI, F.S.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H. Efeito de três temperaturas constantes sobre a fase não parasitária de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.12, n.1, p.13-20, 2003.

CHILTON, N.B.; ANDREWS, R.H.; BULL, C.M. Influence of temperature and relative humidity on the moulting success of *Amblyomma limbatum* and *Aponomma hydrosauri* (Acari: Ixodidae) larvae and nymphs. *International Journal for Parasitology*, v.30, p.973-979, 2000.

CLARK, D.D. Lower temperature limits for activity of several ixodid ticks (Acari: Ixodidae): Effects of body size and rate of temperature change. *Journal Medical Entomology*, v.32, n.4, p.449-452, 1995.

CORSON, M.S.; TEEL, P.D.; GRANT, W.E. Microclimate influence in a physiological model of cattle-fever tick (*Boophilus* spp.) population dynamics. *Ecological Modelling*, v.180, p.487-514, 2004.

CUPP, E.W. Biology of ticks. *Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, v.21, p.1-26, 1991.

DANTAS-TORRES, F.D.; GIANNELLI, A.; FIGUEIREDO, L.A.; OTRANTO, D. Effects of prolonged exposure to low temperature on eggs of the Brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, v.171, p.327-330, 2010.

DAVEY, R.B.; COOKSEY, L.M. Effects of prolonged exposure at low temperature on *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae). *Journal Medical Entomology*, v.26, p.407-410. 1989.

DAVEY, R.B.; COOKSEY, L.M.; DESPINS, J.L. Survival of larvae of *Boophilus annulatus*, *Boophilus microplus* and *Boophilus* hybrids (Acari: Ixodidae) in different temperature and humidity regimes in the laboratory. *Veterinary Parasitology*, v.40, n. 3-4, p. 305-313, 1991.

DIPEOLU, O.O. Studies on ticks of veterinary importance in Nigeria: X. Notes on the biology of ticks of dogs *Rhipicephalus sanguineus* and *Haemaphysalis leachi leachi*. *Bulletin of Animal Health and Production in Africa*, v.32, n.1, 1984.

ESTRADA-PEÑA, A. Climate and cuticular hydrocarbon variation in *Rhipicephalus sanguineus* ticks (Acari: Ixodidae). *Parasitology Research*, v.79, p.512-516, 1993.

FAMADAS, K.M.; FACCINI, J.L.H. Variação morfológica de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) no Brasil. *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, Itaguaí, v.12, p.73-81, 1989.

FURLONG, J. Controle do carrapato dos bovinos na região Sudeste do Brasil. Caderno Técnico da Escola de Veterinária UFMG, n.8, p.49-61, 1993.

FURLONG, J. *Carrapato: problema e soluções*. Juiz de Fora, MG. Embrapa Gado de Leite, 65pp, 2005.

GARRIS, G.I.; POPHAM, T.W.; ZIMMERMAN, R.H. *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae): oviposition, egg viability and larval longevity in grass and wooded environments on Puerto Rico. *Environmental Entomology*, v.19, n.1, p.66-75, 1990.

GLÓRIA, M.A.; DAEMON, E.; FACCINI, J.L.H.; GRISI, L. Influência de diferentes temperaturas sobre a biologia da fase não parasitária de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.2, n.2, p.85-91, 1993.

GONZÁLES, J.C. O carrapato dos bovinos *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887): revisão histórica e conceitual. *A Hora Veterinária*, v.21, n.125, p.23-28, 2002.

GRAY, J.S. The development and seasonal activity of the tick *Ixodes ricinus*: a vector of Lyme borreliosis. *Review of Medical and Veterinary Entomology*, v.79, n.6, p.323-333, 1991.

GRAY, J.S. Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. *Wien Klin Wochenschr*, v.114, n.13-14, p.473-478, 2002.

GRAY, J.S. *Ixodes ricinus* seasonal activity: implications of global warming indicated by revisiting tick and weather data. *International Journal of Medical Microbiology*, v.298, n.1, p. 19-24, 2008.

GRAY, J.S.; DAUTEL, H.; ESTRADA-PEÑA, A.; KAHL, O.; LINDGREN, E. Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. Volume 2009, Article ID 593232, doi:10.1155/2009/593232, 12pp., 2009.

GRISI, L.; MASSARD, C.L.; MOYA-BORJA, G.E.; PEREIRA, J.B. Impacto econômico das principais ectoparasitoses em bovinos no Brasil. *A Hora Veterinária*, v.21, n.125, p.8-10, 2002.

GUGLIELMONE, A.A.; ROBBINS, R.G.; APANASKEVICH, D.A.; PETNEY, T.N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I.G.; SHAO, R.; BARKER, S.C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. *Zootaxa*, n.2528, p.1-28, 2010.

HAY, S.I.; GUERRA, C.A.; TATEM, A.J.; NOOR, A.M.; SNOW, R.W. The global distribution and population at risk of malaria: past, present and future. *The Lancet infectious diseases*, v.4, n.6, p.327-336, 2004.

HITCHCOCK, L.F. Studies on the non-parasitic stages of the cattle tick, *Boophilus microplus* (Canestrini) (Acarina Ixodidae). *Australian Journal of Zoology*, v.3, n.3, p.295-311, 1955.

HORN, S.C. Prováveis prejuízos causados pelos carrapatos. *Boletim Defesa Sanitária Animal, Brasília*, n. esp., p. 1-29, 1983.

HORN, S.C.; ARTECHE, C.C.P. Situação parasitária da pecuária no Brasil. *A Hora Veterinária*, v.23, p.12-32, 1985.

IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change, Climate Change 2007, Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the IPCC, Summary for Policymakers, 2007. Disponível em < http://www.ipcc.ch/WG1_SPM_17Apr07.pdf> Acesso em 30 julho 2010.

JASIK, K.; BUCZEK, A. Origin of Alimentary Tract in Embryogenesis of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Journal Medical Entomology*, v.42, n.4, p.541-547, 2005.

JONSSON, N.N.; MAYER, D.G.; MATSCHOSS, A.L.; GREEN, P.E.; ANSELL, J. Production effects of cattle tick (*Boophilus microplus*) infestation of high yielding dairy cows. *Veterinary Parasitology*, v.78, p.65-77, 1998.

KNULLE, W.; WHARTON, G.W. Equilibrium humidities in arthropods and their ecological significance. *Acarologia*, v. 6, p. 299-306, 1964.

LABRUNA, M.B.; CAMARGO, M.A.; TERRASSINI, F.A.; FERREIRA, F.; SCHUMAKER, T.T.; CAMARGO, E.P. Ticks (Acari: Ixodidae) from the state of Rondônia, western Amazon, Brazil. *Systematic & Applied Acarology*, n.10, p.17-32, 2005.

LEE, R. E.; BAUST, J. G. Cold-hardiness the Antarctic tick, *Ixodes uriae*. *Physiological Zoology*. v.60, p.499-506, 1987.

LINDGREN, E.; TALLEKLINT, L.; POLFELDT, T. Impact of climatic change on the northern latitude limit and population density of the disease-transmitting European tick *Ixodes ricinus*. *Environmental Health Perspective*, v.108, p.119-123, 2000.

LINDSAY, S.W.; BIRLEY, M.H. Climate change and malaria transmission. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, v.90, p.573-588, 1996.

LONDT, J.G.H. Oviposition and incubation in *Boophilus decoloratus* (Koch, 1844) (Acarina: Ixodidae). *Onderstepoort Journal Veterinary Research*, v.44, n.1, p.13-20, 1977.

LOUZADA, G.L.; DAEMON, E. Efeito da imersão de fêmeas ingurgitadas de *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em água destilada sobre os parâmetros

biológicos ligados à oviposição. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.12, n.3, p.115-120, 2003.

MORAES, F.R.; SILVA, M.S.; MORAES, J.R.E.; FREITAS, J.C.M.; ROCHA, U.F. Ecologia de carrapatos XX – Influência do abaixamento brusco da temperatura, e de sua manutenção por cinco dias, sobre desenvolvimento embrionário e eclosão larval de *Boophilus microplus* (Canestrini). *Ars Veterinaria*, v.3, n.1, p.89-95, 1987.

MURRELL, A.; BARKER S.C. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Systematic Parasitology*, v.56, p.169-172, 2003.

NIMER, E. *Climatologia do Brasil*. Rio de Janeiro: IBGE, 421pp., 1989.

NUNES, E.T. *Estudo morfológico comparativo das glândulas salivares de fêmeas de carrapatos Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) em dois estágios de alimentação*. 2006. 143p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, Estado de São Paulo, 2006.

OLIVEIRA, H.H.; SERRA-FREIRE, N.M. Embriogénese de *Amblyomma cajennense*. *Entomologia y vectores*. v.5, p.139-141, 1994.

PASSOS, D.T.; FERREIRA, C.A.S.; SILVA, S.S.; RICHTER, M.F.; OZAKI, L.S. Detection of genomic variability in different populations of the cattle tick *Boophilus microplus* in southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.87, p.83-92, 1999.

PATZ, J.A.; GRACZYK, T.K.; GELLER, N.; VITTOR, A.Y. Effects of environmental change on emerging parasitic diseases. *International Journal of Parasitology*, v.30, p.1395-1405, 2000.

PEREIRA, A.A. *Aspectos da ecologia de Boophilus microplus (CANESTRINI, 1887) (ACARINA: IXODIDAE) no município de Franca, nordeste de São Paulo*. 2008, 106f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária, Patologia Animal). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2008.

PEREIRA, M.C.; LABRUNA, M.B.; SZABÓ, M.P.J.; KLAFKE, G.M. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus: biologia, controle e resistência*. São Paulo: Medvet, 169 pp., 2008.

PRATA, M.C.A. *Biologia do carrapato Amblyomma cajennense (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) sob tratamentos térmicos diferenciados*. 2002, 223f. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Seropédica, RJ, 2002.

R Development Core Team (2009). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

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

RANDOLPH, S.E. To what extent has climate change contributed to the recent epidemiology of tick-borne diseases? *Veterinary Parasitology*, v.167, p.92-94, 2010.

ROCHA, G.C. *Embriogênese de Boophilus microplus (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae)*. 1998, 135f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária). Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, RJ, 1998.

SHIRAIISHI, S.; YANO, Y.; UCHIDA, T.A. Embryogenesis in the Cattle Tick, *Haemaphysalis longicornis*. *Journal of the Faculty of Agriculture Kyushu University*, v.34, n.3, p.265-272, 1990.

SOARES, J.F.; SANGIONI, L.A.; VOGEL, F.S.F.; SILVA, C.F.B. Parasitismo em ser humano por *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) em Santa Maria, RS, Brasil. *Ciência Rural*, v.37, n.5, 2007.

SONESHINE, D.E. *Biology of ticks*. Oxford University Press, New York, 447 pp., 1991.

SUTHERST, R.W.; BOURNE, A.S. The effect of desiccation and low temperature on the viability of eggs and emerging larvae of the tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*. *International Journal Parasitology*, v.36, p.193-200, 2006.

TAUIL, P.L. Controle de doenças transmitidas por vetores no Sistema Único de Saúde. Informe Epidemiológico do SUS, v.1, n.2, p.59-60, 2002.

TRAVASSOS, J.; VALLEJO - FREIRE, A. Criação artificial de *Amblyomma cajennense* para o preparo da vacina contra a febre maculosa. *Memórias do Instituto Butantan*, v.18, p.145-235, 1944.

ULLMANN, A. J.; LIMA, C. M. R.; GUERRERO, F. D.; PIESMAN, J.; BLACK IV, W. C. Genome size and organization in the blacklegged tick, *Ixodes scapularis* and the Southern cattle tick, *Boophilus microplus*. *Insect Molecular Biology*, v.14, p.217-222, 2005.

WHARTON, D.A. Parasites and low temperatures. *Parasitology*, v.119, p.7-17, 1999.