

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA & EVOLUÇÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**ESTUDO SOBRE O COMPORTAMENTO DE APETÊNCIA DE DIFERENTES
ESTÁGIOS DO CARRAPATO *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae)**

Flávio Ezzeddine EL Assal

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lígia Miranda F. Borges

Co-orientador: Professor Dr. Paulo De Marco Jr.

GOIÂNIA

2008

FLÁVIO EZZEDDINE EL ASSAL

**ESTUDO SOBRE O COMPORTAMENTO DE APETÊNCIA DE
DIFERENTES ESTÁGIOS DO CARRAPATO *Amblyomma cajennense* (Acari:
Ixodidae)**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Curso de Mestrado em Ecologia &
Evolução do Instituto de Ciências
Biológicas da Universidade Federal de
Goiás

Área de concentração:

Biologia

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Lígia Miranda F. Borges.-IPTSP/UFG

Co-orientador:

Professor Dr. Paulo De Marco Júnior.-ICB/UFG

GOIÂNIA

2008

RESUMO

O presente trabalho visou estudar o comportamento de apetência expresso pelos diferentes estágios de carrapatos da espécie *Amblyomma cajennense* testando a hipótese de que as ninfas e os adultos desta espécie apresentam estratégia de caça enquanto as larvas desempenham emboscada. Para tal, através de observações, procurou-se descrever e propor uma classificação da apetência expressa por estes diferentes estágios comparando as estratégias de apetência apresentadas pelos diferentes instares da referida espécie com a expressa por adultos da espécie *Rhipicephalus sanguineus* nas mesmas condições ambientais. Experimentalmente, as expressões destes comportamentos diante de diferentes estímulos (CO_2 , odor de eqüino, sombreamento, calor irradiado, e no 'ar-controle') foram avaliadas. Para isto, foram coletados carrapatos das referidas espécies em eqüinos e cães naturalmente infestados no Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia-GO, os quais foram criados e multiplicados em coelhos no biotério do Centro de Parasitologia Veterinária da Universidade Federal de Goiás (CPV/UFG). As avaliações dos comportamentos, que ocorreram numa sala climatizada do referido Centro – CPV/UFG, foram realizadas numa caixa de vidro com tampa removível, dotada de doze hastes plásticas para a expressão de estratégias de busca. Esta câmara de vidro apresentava condições de temperatura ($25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$), umidade relativa do ar ($80\% < \text{UR} < 98\%$) e luminosidade (12 horas de luz / 12 horas de escuro) conhecidas e padronizadas em todos os ensaios. Neste ambiente ocorreram as sessões de observação, cada uma com 40 minutos de duração, iniciadas sempre após um período de 29 horas de ambientação dos carrapatos em estudo. Em cada sessão avaliou-se um grupo de dez carrapatos (de mesma idade e espécie) pela metodologia de varredura - 'scan sampling' - a cada minuto, registrando-se as atitudes e posições dos indivíduos numa planilha apropriada. Para cada estímulo foram avaliados dez grupos de dez indivíduos. Para efeito de registro foram consideradas quatro atitudes possíveis: inatividade completa (primeiro par de patas recolhido); apenas movimentos de busca levantando o primeiro par de patas; parado ou inatividade parcial (primeiro

par de patas exposto apesar da imobilidade do carrapato); e deslocamento pela caixa de vidro (andando). As possíveis posições foram as doze hastes, a base, as paredes e a tampa da caixa. Foi utilizada a Análise de Variância fatorial para a avaliação dos resultados os quais, conjuntamente com outros elementos oriundos das observações, permitiram a conclusão de que, sob as condições aplicadas, larvas de *A.cajennense* realizam emboscada enquanto ninfas e adultos desta espécie são caçadores de seus potenciais hospedeiros.

Este projeto foi apoiado, também, pelo CNPq.

AGRADECIMENTOS

À minha família – meus pais e irmãos - pelo carinho, apoio e respeito.

À minha matilha pelos ensinamentos de lealdade e compreensão.

Aos meus inseparáveis amigos André, Cândido, Cleiton e Carolina pelo afeto fraterno nas mais diversas situações.

À Prof. Dr^a. Lígia Miranda F. Borges por todos os ensinamentos e pela paciente e dedicada orientação na realização deste trabalho.

Ao Centro de Parasitologia Veterinária – CPV/UFG – pelas instalações, materiais de consumo e suporte técnico fornecidos durante a confecção do experimento.

Ao Prof. Dr. Paulo De Marco Jr. pela co-orientação, sugestões e lições estatísticas, ecológicas e de Ciência.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução - ICB/UFG (em especial aos Professores Doutores Rogério Pereira Bastos e Luís Mauricio Bini e a secretária Gleizilene Braz P. dos Santos) pelo profissionalismo e respeito às diferenças de pensamentos e concepções científicas.

Ao Prof. Dr. Divino Brandão e aos membros do Laboratório de Ecologia de Isópteras - Thiago Santos, Mayra, Delano, Danilo, Diogo, Tiago Carrijo, Leonardo, Luciano e Frederico – pelo acolhimento, ensinamentos e exemplos.

Aos colegas que se tornaram amigos João Henrique B. Miatelo, Thiago Santos e Dilermando Lima Jr. pelos conhecimentos e ‘delírios’ compartilhados.

Aos Professores Doutores que aceitaram o convite para a avaliação de uma das expressões desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos específicos	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS	16
3.1 Local	16
3.2 Carrapatos em estudo	16
3.3 Arena experimental	17
3.4 Procedimentos	19
3.4.1 Características e apresentação dos estímulos	21
3.4.2 Método de observação e registros	23
3.5 Análise Estatística	24
4.RESULTADOS	26
4.1 A Constatação de Apetência	31
4.2 A Expressão de Apetência	38
5.DISSCUSSÃO	41
5.1 Considerações sobre comportamento e experimentação	44
6.CONCLUSÕES	46
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXO 1	52

1 INTRODUÇÃO

Carrapatos são artrópodes de distribuição mundial, pertencentes à classe Arachnida, parasitas de vertebrados (SUCEN, 2004). Atualmente, são conhecidas aproximadamente 899 espécies divididas em três famílias: Argasidae (com cerca de 185 espécies), Ixodidae (aproximadamente 713 espécies) e Nuttalliellidae (uma espécie) (BARKER & MURRELL, 2004). No Brasil já foram identificadas 61 espécies, distribuídas em oito gêneros, sendo cinco na família Ixodidae - compreendendo 48 espécies - e três na família Argasidae –perfazendo 13 espécies- (BARROS-BATTESTI et al. 2006).

O estudo científico dos carrapatos intensificou-se a partir do final do século XIX quando foram percebidos os efeitos do parasitismo destes ácaros sobre seus hospedeiros, principalmente, em mamíferos e aves domésticos (FLECHTMANN, 1975). Desde então, a biologia dos carrapatos passou a ser considerada importante sobre dois aspectos principais: os efeitos diretos da exanguição como anemia, letargia e lesão cutânea; e os efeitos indiretos da inoculação de toxinas no hospedeiro que causam alterações metabólicas, e a transmissão de patógenos – vírus, bactérias e protozoários (FLECHTMANN, 1990; SUCEN, 2004).

No que concerne à transmissão de doenças, os carrapatos superam todos os artrópodes em número e variedade de patógenos veiculados aos animais domésticos e ficam em segundo lugar (atrás apenas dos mosquitos) como vetores de doenças para os seres humanos (OBENCHAIN & GALUN, 1982). Diante disto,

as tentativas de controle dos carrapatos impulsionaram as pesquisas e os estudos com estes ácaros.

Ao longo da primeira metade do século XX a principal forma de controle, se não a única considerada, era o uso de acaricidas. Porém, o “aparecimento” crescente de resistência nas populações de carrapatos resultou no desenvolvimento de pesticidas cada vez mais tóxicos, inclusive para os hospedeiros tratados, e de eficácia transitória (OBENCHAIN & GALUN, 1982). Então, novas perspectivas de controle surgiram quando diferentes abordagens passaram a ser consideradas: pesquisas mesclando os aspectos fisiológicos, etológicos e ecológicos trouxeram preciosos conhecimentos que estruturaram uma vertente multidisciplinar na Parasitologia Animal. Nuances deste contexto histórico-científico podem ser percebidas no trabalho de LEES (1948), que apesar de ser uma pesquisa de fisiologia sensorial de um ixodídeo, apresenta considerações etológicas e ecológicas que influenciaram trabalhos posteriores, como: HARLAN & FOSTER (1990), NEEDHAM & TEEL (1991), FOURIE et al. (1993) e TSUNODA & TATSUZAWA (2004).

Outro aspecto que contribuiu para a consubstanciação dessa vertente ‘eco-fisiológica’ na acarologia foi a constatação de fenômenos que estavam sendo relatados na entomologia também em carrapatos. Entre estes podem ser citadas as existências de comunicação química através de feromônios e cairomônios (SONENSHINE et al., 1982), e de ritmos biológicos (BELOZEROV, 1982).

Considerando, assim, esta perspectiva da acarologia, pesquisas sobre a biologia – seja de aspectos fisiológicos, etológicos e/ou ecológicos - dos

carrapatos adquirem maior importância. Isto porque, novas informações poderão, direta ou indiretamente, ser utilizadas no desenvolvimento de técnicas de controle destes parasitos e, conseqüentemente, das doenças que os mesmos são transmissores, tanto para os animais quanto para o ser humano.

No Brasil, a febre maculosa, uma zoonose bacteriana transmitida por carrapatos, vem adquirindo maior destaque devido ao aumento do número de casos humanos e animais nas áreas endêmicas – região Sudeste, principalmente nos estados de São Paulo e Minas Gerais (SUCEN, 2004; SANGIONI et al., 2005); e também pelo risco potencial da ocorrência da doença em outras regiões. Oficialmente, no Brasil, três espécies de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Koch, 1844) – *A. cajennense* (Fabricius, 1787), *A. aureolatum* (Pallas, 1772) e *A. cooperi* – Nuttall & Warburton, 1908 (atualmente *A. dubitatum* – Neumann, 1899) - são reconhecidas como transmissores da bactéria *Rickettsia rickettsii*, agente etiológico da febre maculosa (SUCEN, 2004).

A espécie *A. cajennense* é incriminada como a principal transmissora da febre maculosa no Brasil (SUCEN, 2004; SANGIONI et al., 2005). A área de distribuição desta espécie se estende entre os paralelos 30° N e 30° S, ao longo das Américas do Norte, Central e Sul - até o início do sul da Argentina, excetuando o Chile (STREY et al., 1996; OLIVEIRA et al., 2000; SUCEN, 2004; BARROS-BATTESTI et al. 2006). No Brasil, já foram registrados espécimes do *A. cajennense* em todas as regiões e em quase todos os estados, incluindo Goiás (BORGES & SILVA, 1994; SUCEN, 2004).

O carrapato *A. cajennense* apresenta pouca especificidade parasitária tendo sido encontrado parasitando uma grande diversidade de vertebrados: eqüinos, capivaras, antas, bovinos, pequenos ruminantes, cães, carnívoros silvestres, seres humanos, tatus, tamanduás, coelhos, aves (domésticas e silvestres) e até répteis (ofídios) (FLECHTMANN, 1990). Entretanto, eqüinos, capivaras e antas são considerados hospedeiros primários (SUCEN, 2004). Provavelmente, o parentesco filogenético entre antas e eqüinos (Perissodátilos) explique em parte esta predileção de parasitismo, apesar dos eqüinos serem animais exóticos ao continente americano. Em condições ambientais favoráveis, a presença de pelo menos uma espécie de hospedeiros primários é importante para o pleno desenvolvimento dos carrapatos, principalmente dos estágios adultos, que, assim, podem se reproduzir intensamente (SUCEN, 2004). Os estágios imaturos (larvas e ninfas) apresentam ainda menor especificidade parasitária, logo, numa área altamente infestada, várias espécies tornam-se possíveis hospedeiras, principalmente os seres humanos (FLECHTMANN, 1990; SUCEN, 2004).

Existem também, implicações econômicas importantes relacionadas ao parasitismo pelo *A. cajennense*. Em haras, hípicas, hipódromos entre outros locais relacionados à eqüinocultura a presença destes artrópodes causa problemas clínicos aos animais, como anemias, lesões cutâneas e estresse por desconforto. Além disto, representam um incômodo às pessoas que entram em contato com os animais, com as instalações ou campos freqüentados pelos eqüinos, pois estes carrapatos parasitam também os seres humanos. Em fazendas nas quais os

eqüinos compartilham as pastagens com outras espécies de produção, como bovinos, caprinos e ovinos, a presença de carrapatos *A. cajennense* pode resultar em significativas reduções nos ganhos dos pecuaristas; tanto através dos efeitos metabólicos do parasitismo na produtividade dos animais, quanto nos gastos com carrapaticidas e mão-de-obra para tentar controlar estes ixodídeos (FLECHTMANN, 1990; SUCEN, 2004).

Os indivíduos da espécie *A. cajennense* são carrapatos trioxenos, ou seja, de três hospedeiros (FLECHTMANN, 1990; NEEDHAM & TEEL, 1991; OLIVEIRA et al., 2000; SUCEN, 2004). Segue-se no próximo parágrafo a descrição do ciclo biológico desta espécie com informações de FLECHTMANN (1990) e de GUIMARÃES et al. (2001) - citado por SUCEN, 2004.

Após a eclosão dos ovos incubados no solo saem as larvas que encontrando o primeiro hospedeiro, se fixam e se alimentam de sangue, linfa e/ou fluidos tissulares por cerca de três a seis dias. Ao final deste processo as larvas ingurgitadas se desprendem do hospedeiro e procuram um local protegido no solo, onde ocorrerá a ecdise. As ninfas surgem depois de 18 a 26 dias e irão procurar o segundo hospedeiro. Encontrado o hospedeiro, as ninfas se fixam e alimentam-se por aproximadamente cinco a sete dias, quando estarão repletas de alimento e se desprendem. No solo, ocorrerá o segundo processo de muda ao longo de 23 a 25 dias, originando adultos, machos e fêmeas. Estes, após sete dias, estarão prontos para parasitar o terceiro hospedeiro, no qual ocorrerá a cópula. A fêmea fertilizada se ingurgita em dez dias e se desprende do hospedeiro. No solo a ovoposição se inicia cerca de 12 dias após o desprendimento, se estendendo por mais 25 dias

aproximadamente. Ao longo deste período uma única fêmea é capaz de ovipor cerca de cinco mil ovos (há registros de mais de sete mil) morrendo ao final do processo. Em média, o período de incubação dos ovos a 25° C é de 30 dias com 95% de eclodibilidade.

Popularmente, no Brasil, os representantes da espécie *A. cajennense* são conhecidos como ‘carrapato estrela’ (os indivíduos adultos), ‘carrapatinho’ ou ‘vermelhinho’ (as ninfas) e ‘micuins’ (as larvas); sendo estes estágios, não raro, considerados ‘espécies’ diferentes de carrapatos pela população (SUCEN, 2004). Este fato é decorrente da dinâmica populacional sazonal desta espécie. No sudeste brasileiro pesquisas demonstram que o *A. cajennense* apresenta apenas uma geração por ano, com uma distribuição marcada dos diferentes estágios ao longo dos meses: larvas prevalecendo de março a junho; ninfas de julho a novembro; e adultos de novembro a março (OLIVEIRA et al., 2000; SUCEN, 2004). Apesar de serem encontrados exemplares dos diferentes estágios ao longo de todo ano, há a prevalência numérica de indivíduos de determinado estágio em distintos períodos do ano. OLIVEIRA et al. (2000) se referem a esta dinâmica populacional sazonal como uma estratégia da espécie diante das condições ambientais, citando outras pesquisas que mostram o mesmo padrão: estágios imaturos (larvas e ninfas) nos períodos de clima mais seco e frio, enquanto os espécimes adultos prevalecem nos períodos de clima mais quente e úmido.

Outra característica biológica relevante dos carrapatos da espécie *A. cajennense* é a grande capacidade de resistência ambiental dos estágios em vida livre. É conhecida a capacidade de muitas espécies de carrapatos em sobreviver

por longos períodos – de várias semanas a alguns meses, e em casos particulares até anos - em jejum, desde que as condições de temperatura e umidade relativa do ar (UR) não impliquem em gasto energético para a manutenção do equilíbrio hídrico (KAUFMANN & SAUER, 1982; FLECHTMANN, 1990). KNULLE & RUDOLPH (1982) explicam que a longevidade em jejum de um ixodídeo pode ser reduzida a poucos dias quando este é mantido em ambientes muito quentes e/ou secos – nos quais a umidade relativa do ar estiver abaixo de um valor crítico, variável entre as espécies - , uma vez que o carrapato terá de consumir suas reservas energéticas ativando mecanismos fisiológicos para absorver água do ambiente e manter a homeostasia. O valor da umidade relativa do ar abaixo do qual a manutenção do equilíbrio hídrico depende de gasto energético é chamado de umidade crítica de equilíbrio (KNULLE & RUDOLPH, 1982).

NEEDHAM & TEEL (1991) e STREY et al. (1996) relatam a grande resistência dos carrapatos *A. cajennense* à dessecação e suas implicações ecológicas, atribuindo esta capacidade à reduzida permeabilidade cuticular associada a adaptações comportamentais. STREY et al. (1996) ainda sugerem que os limites da distribuição ‘zoogeográfica’ da espécie *A. cajennense* seja resultado de sua intolerância ao frio, a despeito de sua baixa especificidade parasitária e da extensa capacidade de suportar outras adversidades ambientais. FLECHTMANN (1990) cita os seguintes valores para longevidade em jejum nesta espécie: larvas de 57 a 386 dias, ninfas 400 dias e adultos 450 dias. NEEDHAM & TEEL (1991) citam, também, que num teste de resistência (a 22-23°C; 14 horas de luz por 10 horas de escuro; 75% UR) algumas fêmeas sobreviveram mais de 457

dias quando mantidas em uma umidade relativa do ar abaixo da umidade crítica de equilíbrio desta espécie (entre 80% a 85% UR na temperatura supracitada).

Logo, considerando a ampla distribuição da espécie *A. cajennense* no Brasil, sua baixa especificidade parasitária, sua resistência às adversidades climáticas tropicais e sua capacidade de veicular a *Rickettsia rickettsii* entre seus hospedeiros mamíferos, fica fácil compreender o fato deste carrapato ser o principal vetor da febre maculosa brasileira e o risco potencial da propagação desta enfermidade em outras regiões do país. Em Goiás o carrapato *A. cajennense* está presente (BORGES & SILVA, 1994), e em algumas regiões é um representante de destaque da fauna acarológica.

Apesar da presença do carrapato *A. cajennense* e de hospedeiros primários naturais (capivaras e antas) e domésticos (eqüinos), Goiás não apresenta nenhum caso autóctone de febre maculosa registrado na literatura científica.

Independentemente de qual seja o real motivo para que ainda não tenha sido registrada febre maculosa em Goiás, estudos sobre os carrapatos da espécie *A. cajennense* presentes neste estado são de grande relevância, principalmente quando apresentam o enfoque 'eco-eto-fisiológico'. Isto porque a melhor compreensão destes ixodídeos permitirá o desenvolvimento de estratégias mais eficientes de controle dos mesmos e, conseqüentemente, de prevenção desta zoonose.

Sobre o *A. cajennense* no Brasil vem crescendo o número de estudos e pesquisas (LOPES et al., 1998; OLIVEIRA et al., 2000; LABRUNA et al., 2002a; SUCEN, 2004), entretanto muito ainda há para ser conhecido e compreendido. Em

termos comportamentais, há uma lacuna na literatura sobre o comportamento de apetência expresso por estes ixodídeos.

WALADDE & RICE (1982) consideram a apetência como sendo a fase inicial da seqüência do comportamento alimentar e a definem como a procura ativa por um hospedeiro ou o posicionamento estratégico do carrapato para entrar em contato com o hospedeiro. Assim, neste trabalho estes autores apresentam um modelo que classifica o comportamento de apetência expresso pelos carrapatos em dois tipos básicos de estratégia: a de caça e a de emboscada. Ainda, segundo estes pesquisadores, estímulos próximos ou distantes originados do hospedeiro evocam a apetência ativa ou passiva do carrapato.

Na estratégia de caça o carrapato ao perceber sinais do hospedeiro à distância, como odor e vibração; ou nas proximidades, como odor, vibração, calor irradiado e imagem (direta, ou indireta como a sombra do animal), localiza-o e se desloca ativamente para entrar em contato com o mesmo (WALADDE & RICE, 1982; FOURIE & KOK, 1992; FOURIE et al., 1993).

Já na estratégia de emboscada o carrapato ao ser estimulado por sinais originados do hospedeiro (distantes ou próximos) se posiciona em um local vantajoso (haste de capim, trilha de gordura cutânea em um tronco de árvore, etc.) descrevendo movimentos verticais sobre o substrato e/ou movimentos de busca levantando o primeiro par de patas na direção do estímulo (LEES, 1948; WALADDE & RICE, 1982; FOURIE & KOK, 1992; FOURIE et al., 1993).

Observações laboratoriais e de campo, tanto em experimentos descritivos quanto em manipulativos, permitem a identificação da estratégia de apetência

expressa por uma espécie de carrapato e sua conseqüente classificação como espécie caçadora ou de emboscada (LEES, 1948; LEES, 1969; WALADDE & RICE, 1982; BARNARD, 1991; FOURIE & KOK, 1992; FOURIE et al., 1993).

Em espécies de carrapatos monoxenos (que apresentam apenas um hospedeiro) somente um estágio apresenta comportamento de apetência, visto que após localizar e se fixar a um hospedeiro o artrópode tende a permanecer no mesmo até completar sua fase parasitária. Nestes casos apenas as larvas apresentam comportamento de apetência. Já nas espécies heteroxenas (que apresentam dois ou mais hospedeiros) diferentes estágios apresentam comportamento de apetência. Nestas espécies, para se conhecer o comportamento alimentar todos os estágios que apresentam apetência devem ser estudados para se definir o tipo de estratégia apresentado pela espécie. A espécie será classificada como de caça ou de emboscada se todos os estágios expressarem o mesmo tipo de estratégia; porém caso haja alguma discrepância, cada fase deve ser independentemente classificada.

Por exemplo, duas espécies de carrapatos monoxenos presentes no Brasil são ambos de emboscada: o *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1887) – carrapato sul-americano do boi - e o *Dermacentor nitens* (Neumann, 1897) – carrapato da orelha de eqüinos (WALADDE & RICE, 1982; FLECTHMANN, 1990). Nestas duas espécies apenas as larvas apresentam comportamento de apetência, e em ambas a percepção de sinais de um possível hospedeiro resulta em preparação de uma emboscada. Geralmente, ocorrem deslocamentos verticais das larvas nas hastes de gramíneas procurando posicionar-se numa altura

suficiente para entrar em contato com o bovino ou o eqüino que esteja pastando por ali.

Outro exemplo de espécie de carrapato classificada como de emboscada é o *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758) que é conhecido como carrapato das ovelhas e está presente na Inglaterra e na Escócia. Nesta espécie trioxena (apresenta três hospedeiros ou três fases parasitárias) larvas, ninfas e adultos apresentam comportamento de apetência, sendo que em todas, as estratégias expressas são do tipo emboscada (LEES, 1969).

Algumas espécies de ixodídeos que apresentam expressões comportamentais de apetência condizentes com a estratégia de caça são nidícolas. Isto é, permanecem em tocas ou esconderijos de seus hospedeiros principais durante os estágios de vida livre. LEES (1969) desenvolveu uma comparação entre um carrapato nidícola trioxeno, o *Ixodes canisuga* (Johnston, 1849), com o *I. ricinus*, demonstrando a importância de aspectos comportamentais para a compreensão de peculiaridades ecológicas destas duas espécies. No Brasil, o popularmente conhecido carrapato vermelho do cão, o *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1829), destaca-se como uma espécie trioxena nidícola de grande importância médico veterinária (FLECTHMANN, 1990; BECHARA et al. 1995; LABRUNA, 2004). Nesta espécie, os instares não alimentados, ao perceberem sinais de uma provável fonte de alimento, saem de seus refúgios (frestas, ranhuras, etc., nos quais ocorreram a eclosão de ovos ou a ecdise), localizados no interior do abrigo de seus hospedeiros (LABRUNA, 2004), buscando a fonte dos estímulos. USPENSKY (2002) apresenta observações

gerais comparando espécies de emboscada e de caça citando a atividade caçadora de *R. sanguineus*.

O caso da espécie *A. cajennense*, todavia, é mais complexo. Tradicionalmente, esta espécie trioxena é considerada como caçadora. Isto se deve em grande parte pela resposta dos diferentes estágios as armadilhas com dióxido de carbono (CO_2). O CO_2 é um potente cairomônio; ou seja, é uma substância liberada por uma espécie que altera o comportamento de outra espécie (SONENSHINE et al., 1982). Liberado pela expiração dos vertebrados, este cairomônio estimula as ações de apetência dos carrapatos. O deslocamento lateral de um carrapato em direção a uma fonte de CO_2 é considerado como uma expressão de comportamento de apetência do tipo caça (WALADDE & RICE, 1982), visto que as espécies de emboscada apresentam, em situações semelhantes, apenas deslocamento vertical em um substrato (FOURIE & KOK, 1992). Entretanto, em estudos e atividades de vigilância acarológica envolvendo indivíduos da espécie *A. cajennense*, armadilhas com CO_2 conseguem capturar mais indivíduos adultos e ninfas do que larvas, mesmo considerando os aspectos de dinâmica populacional sazonal (OLIVEIRA, 2000; SUCEN, 2004). Nestes estudos as larvas são mais bem coletadas utilizando-se a técnica de arrasto de flanela branca pelo campo ou área em análise (SUCEN, 2004). Isto é, as larvas são capturadas eficientemente por uma técnica que utiliza contato físico (seria a flanela passando pela vegetação 'atacada' pelas larvas, provavelmente, em emboscada?).

Além disso, a observação do aspecto dos aglomerados de larvas de *A. cajennense* no campo se assemelha, em muito, com o aspecto das larvas de *Dermacentor nitens* ou de *R. (B.) microplus*, principalmente nos movimentos de busca com o primeiro par de patas com a aproximação do observador (LABRUNA et al., 2002b; BORGES, L.M.F. comunicação pessoal).

BARRÉ et al. (1997) estudaram a capacidade de recuperação de amostras conhecidas de larvas, ninfas e adultos da espécie *Amblyomma variegatum* (Fabricius, 1794) liberadas em vários pontos de pastagens em Guadalupe, utilizando-se diferentes tipos de armadilhas de atração química. Estes pesquisadores conseguiram recuperar consideráveis porcentagens dos adultos e ninfas liberados, porém poucas larvas foram recapturadas. Eles atribuíram os resultados a pequena capacidade de deslocamento lateral das larvas. Dados de observações laboratoriais mostraram diferenças expressivas nas velocidades das larvas quando comparadas com as velocidades das ninfas e dos adultos. Poderia algo semelhante ocorrer com as larvas de *A. cajennense*, o que explicaria a menor eficácia das armadilhas de CO₂ para a captura das mesmas?

FOURIE et al. (1993) consideram outros fatores que poderiam interferir no tipo de comportamento de apetência expresso pelos carrapatos, como idade, variação de temperatura ambiente, variedade e intensidade dos estímulos originados do hospedeiro e a capacidade e sensibilidade dos carrapatos em perceber e responder aos mesmos. Estes pesquisadores ainda mostram que carrapatos de emboscada terão mais êxito se apresentarem pronunciadas migrações verticais no substrato e quanto mais sensíveis forem aos estímulos de

sombreamento, calor irradiado e vibração. Enquanto que os carrapatos caçadores terão maior sucesso quanto mais rápido perceberem, localizarem e se deslocarem para uma fonte de CO₂ e/ou odor (sendo a velocidade de deslocamento um importante elemento). O conhecimento do tipo de comportamento expresso por um estágio e/ou por uma espécie de carrapatos é de grande relevância na estruturação e desenvolvimento de programas de controle destes artrópodes (FOURIE & KOK, 1992; FOURIE et al., 1993).

Assim, diante do que foi exposto, provavelmente, há diferença na apetência expressa pelas larvas de *A. cajennense*, quando comparada com as estratégias apresentadas por ninfas e adultos. Há a suspeita de que as larvas desempenhem estratégia de emboscada, enquanto ninfas e adultos desempenhem caça. Também, pode ser que todos os estágios desempenhem caça, mas a estratégia das larvas seja diferenciada e limitada, quando comparada com as estratégias expressas pelos outros estágios desta espécie.

Considerando a escassez de informações mais precisas sobre o comportamento de apetência do carrapato *A. cajennense*, o presente estudo visa poder contribuir com novas informações sobre a expressão deste comportamento nos diferentes estágios de vida deste ixodídeo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Comparar, experimentalmente, o comportamento de apetência de diferentes estágios da espécie *Amblyomma cajennense* diante de determinados estímulos visando definir os tipos de estratégias expressos.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever e comparar os comportamentos de apetência expressos por larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* nas condições do experimento.
- Verificar as estratégias de apetência utilizadas por larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense*.
- Propor a classificação dos tipos de estratégias de apetência expressos pelas larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* nas condições praticadas no experimento em comparação com os comportamentos de apetência expressos por adultos de *Rhipicephalus sanguineus* (espécie sabidamente caçadora utilizada como parâmetro para a definição da estratégia de caça diante da metodologia aplicada).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local

As avaliações das expressões do comportamento de apetência foram realizadas no Laboratório de Artrópodes de Importância Médico-Veterinária localizado no Centro de Parasitologia Veterinária da UFG, Campus Samambaia, Goiânia-GO.

3.2 Carrapatos em estudo

No Centro de Controle de Zoonoses de Goiânia, foram coletadas fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* de eqüinos, e de *R. sanguineus* de cães naturalmente infestados.

Para a ovoposição as fêmeas ingurgitadas foram fixadas em decúbito dorsal, por meio de fita adesiva, em placas de Petri e acondicionadas em uma incubadora elétrica sob as condições de 27°C (+/-1°C) de temperatura e umidade relativa do ar superior a 80%, por cerca de 25 dias para *A. cajennense* e 21 dias para *R. sanguineus*.

As massas de ovos resultantes foram acondicionadas em seringas plásticas descartáveis adaptadas para este procedimento (extremidades superiores cortadas tornando-as semelhantes a tubos plásticos). Estas seringas, tampadas com chumaços de algodão, foram mantidas em estufas, sob as condições de temperatura e umidade relativa do ar supracitadas, até a eclosão dos ovos. Desta maneira, foram obtidas as larvas das espécies de ixodídeos em estudo.

Para a obtenção de ninfas e adultos não alimentados de *A. cajennense* e de *R. sanguineus*, larvas e ninfas foram alimentadas em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) por, aproximadamente, cinco dias para ambos os estágios (BECHARA et al. 1995; SANAVRIA & PRATA, 1996).

Os coelhos, que atuaram como fonte de alimento para os diferentes estágios dos carrapatos nas fases de vida parasitária, foram criados seguindo os protocolos já praticados no biotério do Centro de Parasitologia Veterinária /UFG, de forma a respeitar suas necessidades biológicas e possibilitar boas condições de bem-estar animal, tais como: fornecimento de ração balanceada e água potável; ambiente e gaiolas constantemente limpos; limite do número de parasitas por hospedeiro; avaliações sobre as condições fisiológicas de cada indivíduo através de exames clínicos criteriosos e periódicos, com tratamento se necessário.

Nos experimentos foram avaliados adultos de *R. sanguineus* e larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* com idades de 7 a 30 dias após a muda .

3.3 Arena experimental

Os experimentos foram realizados numa câmara de vidro com as seguintes dimensões: 15 cm de comprimento X 10,5 cm de largura X 30 cm de altura (FIGURAS 1 e 2). Na base desta foram fixadas doze hastes plásticas brancas de 25 cm de altura para a expressão de comportamentos de busca. As doze hastes foram dispostas em três fileiras com quatro hastes cada (distantes aproximadamente 2,6 cm entre as fileiras e 2,3 cm dentro de uma mesma fileira).



FIGURA 1 – Foto da Arena experimental utilizada.

Essa arena apresentava duas perfurações (com 0,8 cm de diâmetro cada) em paredes laterais opostas para a entrada e saída de gases sendo parcialmente vedadas, para impedir a fuga dos carrapatos em estudo, por pedaços de mangueiras de silicone com os orifícios cobertos por uma tela adesiva plástica. Outra perfuração com 1 cm de diâmetro, também parcialmente vedada pela tela adesiva plástica, estava localizada na tampa, auxiliando na circulação de ar na caixa.

A tampa era removível e apresentava uma 'borda-selante' de silicone que garantia uma dinâmica e constituição particular aos gases presentes na câmara -

ou seja, permitia a formação e manutenção de um microambiente distinto no interior da caixa - além de manter os carrapatos em estudo contidos dentro da arena.

Na caixa, estava posicionado um termo-higrômetro digital (ETI 810-155) para aferição das condições de temperatura e umidade relativa do ar. Além destes parâmetros, a luminosidade proporcionada por uma lâmpada fluorescente de 15W (equivalente em luminosidade a uma lâmpada incandescente de 75W), devidamente posicionada sobre a extremidade superior da caixa, também foi padronizada em todos os ensaios por um 'timer' que mantinha um ciclo de 12 horas de luz e 12 horas de escuro.

3.4 Procedimentos

A metodologia para o estudo das expressões comportamentais foi desenvolvida seguindo-se princípios e aspectos das metodologias citadas por FOURIE et al. (1993) e ANDERSON et al. (1998).

Os testes foram realizados à temperatura de 25°C (+/- 3°C) mantida por um aparelho de ar condicionado, que aclimatava a sala do laboratório e, conseqüentemente, a arena de observação. Já a umidade relativa do ar da caixa (UR) foi modulada, no intervalo 80%<UR<98% por dois 'chumaços' de algodão embebidos em água destilada colocados entre a base e as paredes laterais da arena. Os carrapatos foram liberados sempre da mesma forma: pela abertura superior da caixa, soltos do alto da arena individualmente. Em seguida, colocava-se a tampa, registravam-se o momento da liberação (hora e minuto) e as

condições da câmara - temperatura e umidade relativa do ar. Posteriormente, a caixa de vidro era coberta com papel fosco e papelão (para minimizar possíveis efeitos de luminosidade externa).

As avaliações das expressões comportamentais foram realizadas após 24 horas de aclimação dos carrapatos às condições de umidade e temperatura da câmara e ao ciclo de luminosidade (12 horas de luz/12 horas de escuro). Precisamente, em cada dia de observação, a primeira sessão iniciava-se 29 horas após a liberação dos ácaros (24 horas de ambientação mais cinco horas de luz). Assim, a observação de um grupo de dez ixodídeos, um dia de observação ou cinco sessões, ocorria do quinto ao décimo fotoperíodo.

Cada sessão de observação compreendeu a avaliação de um grupo de dez indivíduos da mesma espécie e idade. Para cada estímulo avaliavam-se dez grupos de dez indivíduos na câmara, registrando-se as posições e atitudes iniciais dos carrapatos em estudo – isto é, na ausência dos estímulos em análise (tempo 00) -, bem como as condições de temperatura e UR da arena. Posteriormente, liberava-se ou apresentava-se o estímulo por 10 minutos; tendo cada sessão de observação duração total de 40 minutos. A ordem de apresentação dos estímulos foi aleatória, porém, não repetitiva (cada dia de observação para um estágio apresentou uma seqüência distinta de cinco sessões), sendo que houve sempre um intervalo mínimo de vinte minutos entre cada sessão.

3.4.1 Características e apresentação dos estímulos

Visando simular a liberação natural de dióxido de carbono (CO₂) pela expiração de um mamífero terrestre foi utilizada uma mistura gasosa de CO₂ a 5% em ar comprimido (White Martins PRAXAIR INC). Durante os testes este gás, liberado a um fluxo de 1 litro por minuto, ao sair do cilindro, era conduzido por uma mangueira de silicone (com 0,8 cm de diâmetro) até um kitasato (de 500 mL de capacidade) com 275 mL de água destilada, sendo em seguida, liberado na câmara por outra mangueira de silicone (com 0,3 cm de diâmetro) acoplada no orifício da parede lateral esquerda (parede 4 – P4 na FIGURA 2). Esta conduta, determinada durante o período de pré-experimentação, garantiu a umidificação do gás em teste, preservando os parâmetros preconizados de umidade relativa do ar no interior da arena. Logo, a utilização do kitasato com 275 mL de água destilada foi mantida em todas as avaliações que envolveram estímulos gasosos; como o ‘ar-controle’ e o odor de equino.

O odor de equino utilizado foi obtido pela infusão, em ‘banho-maria’ até 37,5°C, de 1 g de pêlos de crina de uma mesma égua em 275 mL de água destilada no kitasato. Os pêlos utilizados eram coletados no dia ou até quinze dias antes da data do teste, sendo acondicionados em sacos plásticos herméticos, conservados em freezer (aproximadamente -18°C). Posteriormente, direcionava-se um fluxo de ar (oriundo do mesmo compressor utilizado para a prova ‘ar-controle’) através da mistura que, assim, carregava o odor do kitasato para a arena.

O ‘ar-controle’, procedimento que visou representar a não apresentação de um estímulo químico, consistiu na liberação de ar ambiente por meio de um

compressor de aquário (BIG AIR – A 230) com fluxo final (volume e velocidade do gás deslocado após passagem pelo kitasato e por mangueiras de 0,3 cm de diâmetro) semelhante ao fluxo dos demais gases em teste (aproximadamente 0,50 m/s +/- 0,1 m/s).

Para cada estímulo gasoso apresentado utilizou-se um grupo particular de mangueiras, visando evitar interferências por eventuais resíduos. Ainda com este intuito foram utilizados dois kitasatos; um exclusivamente para os testes com odor e outro para os testes controle e de CO₂, higienizados, sempre, entre uma prova e outra (lavados com água e sabão, enxaguados com água destilada e secados em estufa).

O sombreamento foi proporcionado por um anteparo plástico (20 cm X 28 cm) preto, fosco e inodoro colocado entre a fonte de luz e a caixa de vidro por dez minutos. Com esta conduta tentava-se reproduzir o efeito do sombreamento resultante da presença de um suposto hospedeiro próximo ao local de permanência dos carrapatos.

Para avaliar a percepção de calor irradiado de uma 'provável fonte de alimento' e seus possíveis efeitos sobre a apetência dos ixodídeos foi utilizada uma lâmpada de luz infravermelha de 250W a 35 cm de distância da câmara. Esta era acionada no tempo 00 (após o registro das atitudes e posições iniciais) e permanecia acesa pelos dez minutos do período de estímulo, resultando num crescente aumento da temperatura no interior da caixa chegando até 33,2°C no décimo minuto.

3.4.2 Método de observação e registros

O método de observação utilizado foi o de varredura ('scan sampling'), a cada minuto, definindo atitude e posição dos carrapatos (MARTIN & BATESON, 2000). Considerando os objetivos do estudo não era necessário definir as expressões de cada indivíduo, mas sim se o grupo apresentava apetência pelo estímulo em questão e qual tipo de apetência era expresso. Desta forma não foi preciso identificar cada indivíduo.

Para efeito de registro foram consideradas quatro atitudes possíveis: 'inatividade' (o carrapato ficava parado com o primeiro par de patas recolhido); 'parado' (o ácaro ficava imóvel com o primeiro par de patas exposto ou apoiado, mas não erguido); 'questing' (apenas movimentos de busca com o primeiro par de patas suspenso); e 'andando' (deslocamento vertical e horizontal no substrato – hastes - pelo assoalho da caixa de vidro, tampa ou sobre as paredes da arena). As possíveis posições eram as 12 hastes dispostas na base como substratos, as paredes da caixa de vidro (identificadas na FIGURA 2), as áreas da base e a tampa. Estes dados, atitudes e posições, foram registrados numa planilha (ANEXO 1) para, posteriormente, serem processados.

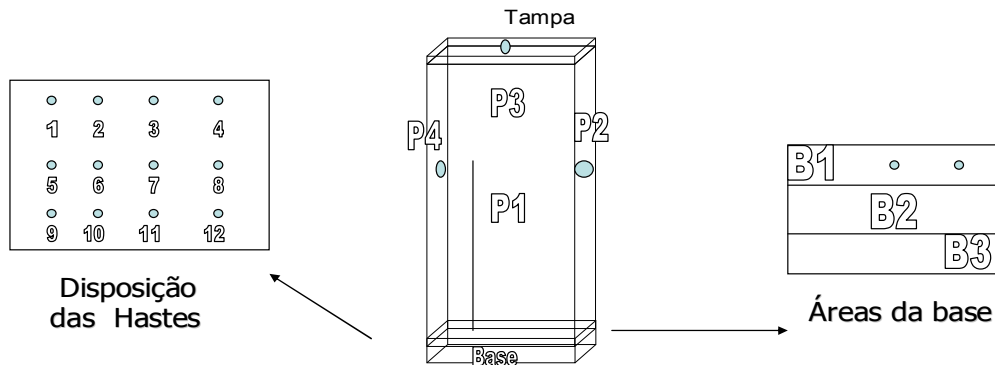


FIGURA 2 – Esquema da Arena identificando a disposição das hastes, a denominação das paredes (P1 a P4), a tampa, a base e as áreas desta última.

3.5 Análise Estatística

Os testes para avaliar o efeito dos tratamentos sobre as expressões comportamentais dos carrapatos neste estudo foram feitos utilizando Análise de Variância fatorial. Os efeitos analisados foram espécie (e/ou grau de desenvolvimento – estágio - quando cabível), tratamento e tempo de acordo com SOKAL & ROLF (1981) e UNDERWOOD (1998). Os grupos experimentais foram considerados réplicas verdadeiras para essas análises com nível de significância menor que 0,05.

Os efeitos avaliados apresentam diferentes graus de liberdade (g.l.) de acordo com o desenho experimental e as particularidades da análise estatística. Como o tempo foi categorizado como intervalos de cinco minutos, logo cada sessão de observação de 40 minutos apresenta oito intervalos de cinco minutos cada e, portanto, este efeito apresenta sete graus de liberdade. Como foram

utilizados cinco estímulos – CO₂, odor de eqüino, ‘ar-controle’, sombreamento e calor irradiado - o efeito tratamento apresenta quatro graus de liberdade. O efeito espécie_tipo apresenta três graus de liberdade, pois foram avaliados quatro grupos: larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* e adultos de *R. sanguineus*.

Já os demais efeitos decorrentes das interações entre esses efeitos supracitados apresentam graus de liberdade distintos iguais ao produto dos respectivos graus de liberdade dos efeitos conjuntamente considerados. Assim, a interação tempo x espécie_tipo apresenta 21 graus de liberdade (resultantes da multiplicação dos sete graus de liberdade do efeito tempo pelos três graus de liberdade do efeito dos grupos avaliados). Repetindo este raciocínio têm-se 28 graus de liberdade para a interação tempo x tratamento (sete vezes quatro); 12 g.l. para a interação espécie_tipo x tratamento (três multiplicado por quatro); e 84 g.l. para a interação tempo x espécie_tipo x tratamento (resultado da multiplicação de três por sete por quatro).

4 RESULTADOS

Considerando os objetivos do presente trabalho, os resultados obtidos podem ser agrupados e analisados sob duas perspectivas distintas e complementares. A primeira, mais quantitativa, é obtida pela avaliação dos resultados advindos das análises estatísticas. Já a segunda é obtida pelas descrições das particularidades percebidas durante as sessões de observação, sendo, portanto, mais qualitativa.

Enquanto os testes estatísticos mostram se os carrapatos em estudo demonstraram apetência aos estímulos apresentados, se existiram diferenças significativas entre os tratamentos e/ou entre os diferentes grupos de carrapatos, estes resultados, por si sós, não permitem definir qual a estratégia de apetência expressa nos contextos avaliados. Todavia, aliados às informações observadas durante o experimento pode-se propor a identificação e distinção entre as diferentes expressões comportamentais registradas e compará-las a elementos presentes na literatura científica.

Um sumário quantitativo dos testes estatísticos pode ser depreendido através das tabelas e figuras a seguir. As tabelas 1 a 8 apresentam os resultados das Análises de Variância considerando as quatro atitudes e as quatro posições em questão no presente estudo. Sendo que a atitude de “questing” se mostrou mais expressiva para a verificação da apetência apresentada pelos diferentes grupos de carrapatos.

TABELA 1 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* que expressaram 'questing' em uma arena experimental submetidos a diferentes estímulos. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F _{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	46,939	7	0,000
Tratamento	260,637	4	0,000
Espécie_tipo	137,506	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	2,621	21	<0,001
TempoXTratamento	2,637	28	<0,001
Espécie_tipoXTratamento	18,182	12	0,000
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,556	84	1,000

TABELA 2 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* que expressaram a atitude 'andando' em uma arena experimental submetidos a diferentes estímulos. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F _{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	1,255	7	0,269
Tratamento	62,290	4	0,000
Espécie_tipo	371,545	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,671	21	0,865
TempoXTratamento	0,252	28	1,000
Espécie_tipoXTratamento	6,517	12	0,000
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,477	84	1,000

TABELA 3 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* 'inativos' em uma arena experimental submetidos a diferentes estímulos. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F _{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	35,650	7	0,000
Tratamento	345,720	4	0,000
Espécie_tipo	397,050	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	1,300	21	0,162
TempoXTratamento	1,520	28	0,042
Espécie_tipoXTratamento	16,280	12	0,000
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,480	84	1,000

TABELA 4 - Resultados do Teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* considerados 'parados' em uma arena experimental submetidos a diferentes estímulos. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F_{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	3,154	7	<0,001
Tratamento	6,350	4	<0,001
Espécie_tipo	53,072	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,535	21	0,958
TempoXTratamento	3,305	28	0,000
Espécie_tipoXTratamento	8,311	12	0,000
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,880	84	0,772

TABELA 5 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* submetidos a diferentes estímulos e presentes nas hastes durante as observações em uma arena experimental. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F_{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	0,093	7	0,999
Tratamento	6,046	4	<0,001
Espécie_tipo	625,318	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,054	21	1,000
TempoXTratamento	0,067	28	1,000
Espécie_tipoXTratamento	0,985	12	0,461
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,067	84	1,000

TABELA 6 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* submetidos a diferentes estímulos e presentes nas paredes durante as observações em uma arena experimental. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F_{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	0,015	7	1,000
Tratamento	3,115	4	0,015
Espécie_tipo	422,245	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,032	21	1,000
TempoXTratamento	0,056	28	1,000
Espécie_tipoXTratamento	2,974	12	<0,001
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,108	84	1,000

TABELA 7 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* submetidos a diferentes estímulos e presentes na base durante as observações em uma arena experimental. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F_{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	0,039	7	1,000
Tratamento	1,068	4	0,371
Espécie_tipo	288,707	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,077	21	1,000
TempoXTratamento	0,066	28	1,000
Espécie_tipoXTratamento	0,614	12	0,832
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,049	84	1,000

TABELA 8 - Resultados do teste de significância para a porcentagem média total de carrapatos das espécies *Amblyomma cajennense* e *Rhipicephalus sanguineus* submetidos a diferentes estímulos e presentes na tampa durante as observações em uma arena experimental. Em negrito estão destacados os efeitos estatisticamente significativos.

Efeito	F_{calculado}	g.l.	p-valor
Tempo	0,038	7	1,000
Tratamento	6,552	4	<0,001
Espécie_tipo	456,394	3	0,000
TempoXEspécie_tipo	0,161	21	0,999
TempoXTratamento	0,157	28	1,000
Espécie_tipoXTratamento	2,499	12	<0,001
TempoXEspécie_tipoXTratamento	0,089	84	1,000

Através dessas tabelas pode-se depreender a relevância quantitativa detectada pela análise estatística dos efeitos considerados, isoladamente e/ou em combinações (interações), na expressão das atitudes e posições registradas neste estudo.

A maior representatividade da atitude de 'questing' para a constatação de apetência pode ser observada pela alteração da expressão dessa atitude ao longo dos diferentes tratamentos (Tabela 1). A significância estatística do efeito tempo indica que houve diferença na expressão desta atitude ao longo dos períodos de

tempo das sessões, sendo que as maiores médias de ‘questing’ ocorreram no período de apresentação dos estímulos (Figura 5). Já a demonstração de significância estatística para os efeitos tratamento e espécie_tipo (ou grupo) confirmam que houve diferenças na exibição de ‘busca’ com o primeiro par de patas pelos indivíduos em observação nos diferentes tratamentos e para os distintos grupos avaliados. Enquanto que as interações destes efeitos quando estatisticamente significantes, revelam ações sinérgicas dos mesmos na expressão da atitude de ‘questing’ no experimento.

Assim, de maneira semelhante, as Tabelas 2 (‘andando’), 3 (‘inatividade’) e 4 (‘parado’) possibilitam uma melhor compreensão de eventuais relações entre a apresentação das demais atitudes com os já mencionados efeitos (tempo, tratamento e espécie_tipo) e suas possíveis combinações sinérgicas (interações estatisticamente significantes). Logo, a Tabela 2 permite perceber a não relevância quantitativa do tempo com a apresentação da atitude ‘andando’, indicando apenas os efeitos de tratamento, espécie_tipo e a interação destes dois como relevantes para a ocorrência de alterações no deslocamento dos carrapatos em estudo. Ou seja, quantitativamente, não houve efeito do período de apresentação de estímulo para a expressão da atitude ‘andando’; como ocorreu para as demais atitudes (Tabelas 1,3 e 4).

As Tabelas 5, 6, 7 e 8 demonstram a relevância estatística dos efeitos considerados para a presença dos ácaros em estudo nas diferentes posições da arena (hastes, paredes, base e tampa respectivamente). Em termos gerais, nota-se a não significância do tempo na definição destas possíveis posições; isto é, os

carrapatos não alteraram seus sítios de localização ao longo dos períodos das sessões de observação. Porém, em todas há significância no efeito espécie_tipo (há diferença das posições ocupadas de acordo com o grupo de carrapato considerado). Nas tabelas 5, 6 e 8 também é significativo o efeito do tratamento na diferenciação da presença dos diferentes grupos de carrapatos nas possíveis posições da arena (hastes, paredes e tampa). Ainda nas tabelas 6 e 8 ocorre sinergia entre os efeitos espécie_tipo e tratamento (para parede e tampa há relação entre um estímulo e a posição ocupada por determinado grupo de carrapatos).

Contudo, todas essas percepções devem ser melhor consideradas com as visualizações das FIGURAS 4 a 9 e com as informações qualitativas para uma proveitosa compreensão.

4.1 A Constatação de Apetência

Considerou-se como expressão do comportamento de apetência a atitude de ‘busca’ com o primeiro par de patas (“questing”), acompanhada ou não de deslocamentos, durante a apresentação do estímulo em teste (primeiros dez minutos de cada sessão). Entre os quatro grupos em questão – larvas, ninfas e adultos de *A. cajennense* e adultos de *R. sanguineus* – a expressão de busca com o primeiro par de patas (o “questing”), avaliando conjuntamente todos os diferentes tratamentos, mostrou diferença significativa apenas nas larvas, enquanto os demais grupos não se revelaram diferentes (FIGURA 3 e Tabela 1).

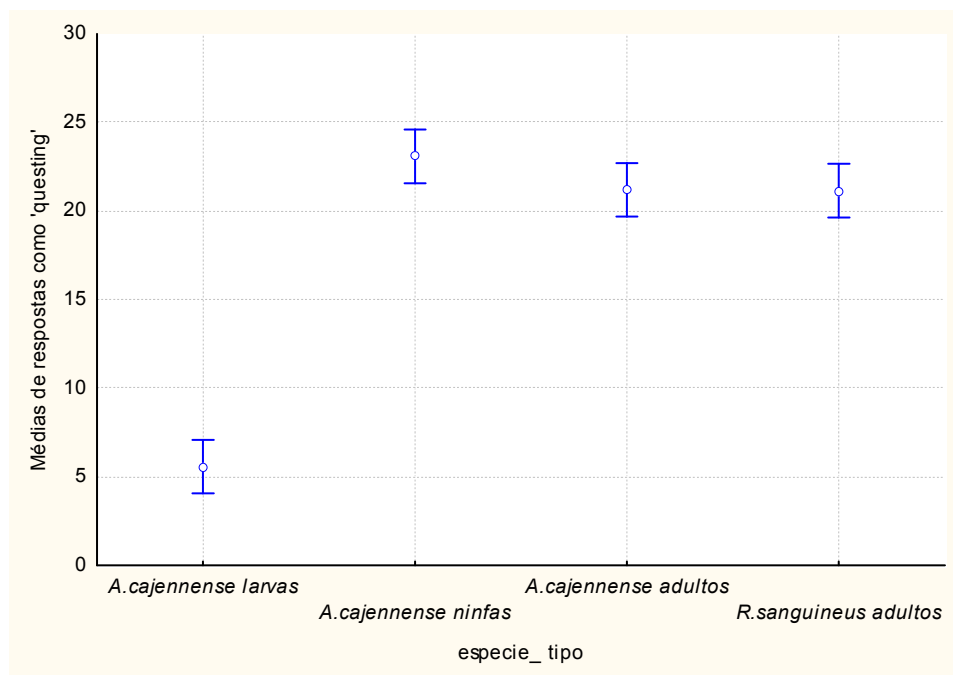


Figura 3 – Percentual total médio de indivíduos que expressaram “questing” dos diferentes grupos em estudo (espécie_tipo) considerando conjuntamente os cinco tratamentos utilizados. Apenas larvas da *A.cajennense* apresentaram diferença na expressão de ‘busca’ dentre os grupos de carrapatos avaliados.

Todavia, considerando a interação dos diferentes grupos com os tratamentos constatou-se que (FIGURAS 4 e 5 e Tabela 1):

- todos os grupos demonstraram apetência diante da mistura gasosa de dióxido de carbono a 5%, apresentando três patamares distintos e crescentes quanto a intensidade de resposta – larvas no primeiro, seguidas pelo adultos de *R. sanguineus* no segundo e, no patamar mais elevado, ninfas e adultos de *A. cajennense* sem diferenças significativas ;
- nenhum dos grupos apresentou apetência ao estímulo de calor irradiado;
- no tratamento de ‘ar-controle’ apenas os adultos de *R. sanguineus* expressaram apetência (provavelmente decorrente de uma maior

sensibilidade de mecanorreceptores localizados no primeiro par de patas), sendo as intensidades da inatividade diferentes entre os três estágios de *A. cajennense* – larvas mais inativas, adultos em seguida e ninfas num nível de menor intensidade;

- sob o sombreamento ninfas de *A. cajennense* e adultos de *R. sanguineus* apresentaram apetência;
- na presença do odor de eqüino ninfas e adultos de *A. cajennense* e adultos de *R. sanguineus* demonstraram apetência, com as intensidades de ninfas e adultos de *A. cajennense* significativamente distintas (sendo a expressão dos adultos mais intensa), porém ambas não apresentando diferenças significativas com a intensidade de expressão dos adultos de *R. sanguineus*. Todavia, não é possível afirmar claramente se os adultos de *R. sanguineus* reagiram aos constituintes do odor de eqüino testado ou ao ar em movimento decorrente da ação do compressor, visto que não se percebe diferença estatística na expressão de “questing” neste grupo de carrapatos nos tratamentos de ‘ar-controle’ e de odor.

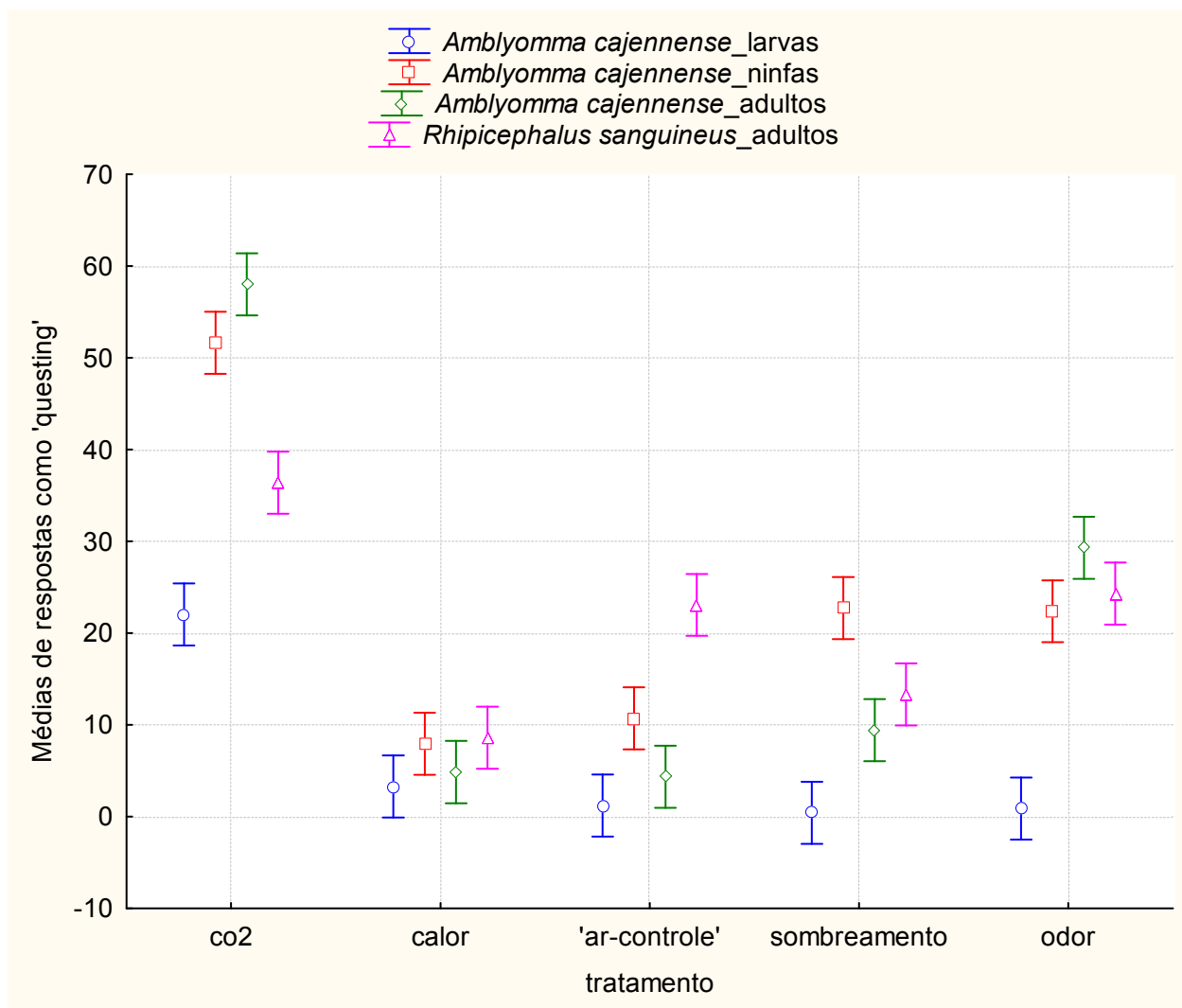


FIGURA 4 - Percentual total médio de indivíduos dos diferentes grupos que expressaram “questing” nos diferentes tratamentos. Larvas de *A.cajennense* expressando ‘busca’ apenas no tratamento com CO₂.

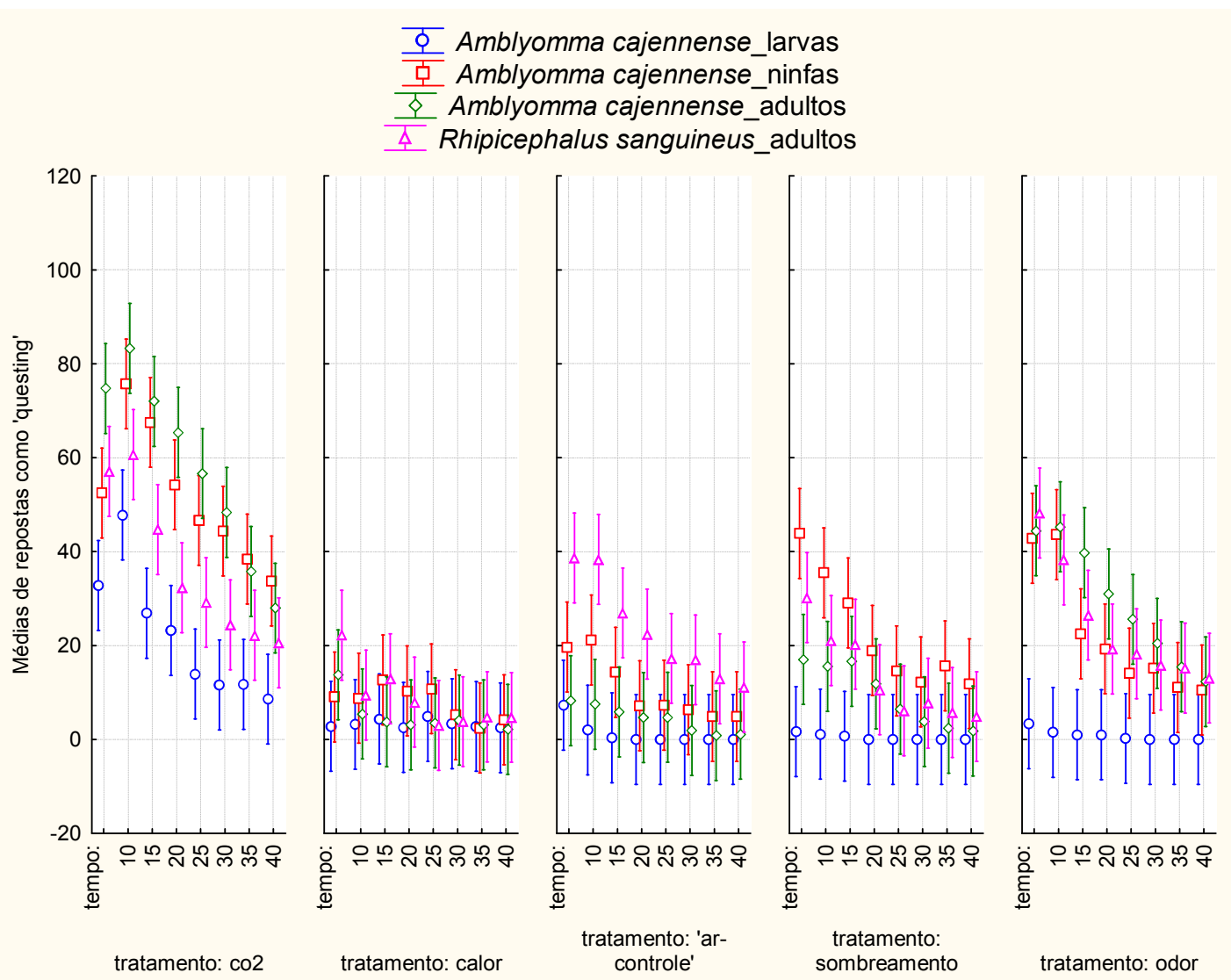


FIGURA 5 - Percentual total médio de indivíduos que expressaram “questing” dos diferentes grupos, nos diferentes tratamentos e ao longo dos distintos períodos de tempo. Nota: Apesar desta interação não ser estatisticamente significativa ($F_{84,1440}=0,556$, $p=1,000$), são significativas as interações entre tempo e espécie ($F_{21,1440}=2,621$, $p<0,001$), tempo e tratamento ($F_{28,1440}=2,637$, $p<0,001$) e espécie tratamento ($F_{12,1440}=18,182$, $p<0,001$) conforme Tabela 1.

Quanto às posições ocupadas pelos carrapatos durante as observações não houve efeito do tempo sobre os locais ocupados ao longo das sessões (Tabelas 5, 6, 7 e 8). Ou seja, apesar da expressão da apetência, e de eventuais

deslocamentos, estes não resultaram em alterações dos sítios preferenciais de ocupação pelos diferentes grupos em estudo. Porém, houve efeito da espécie_tipo (grupo) sobre os quatro 'sítios gerais' possíveis – hastes, paredes, base e tampa.

Assim, os adultos de *R. sanguineus*, embora tenham sido o grupo que mais se deslocou em todos os tratamentos, manteve-se nas paredes (FIGURA 6).

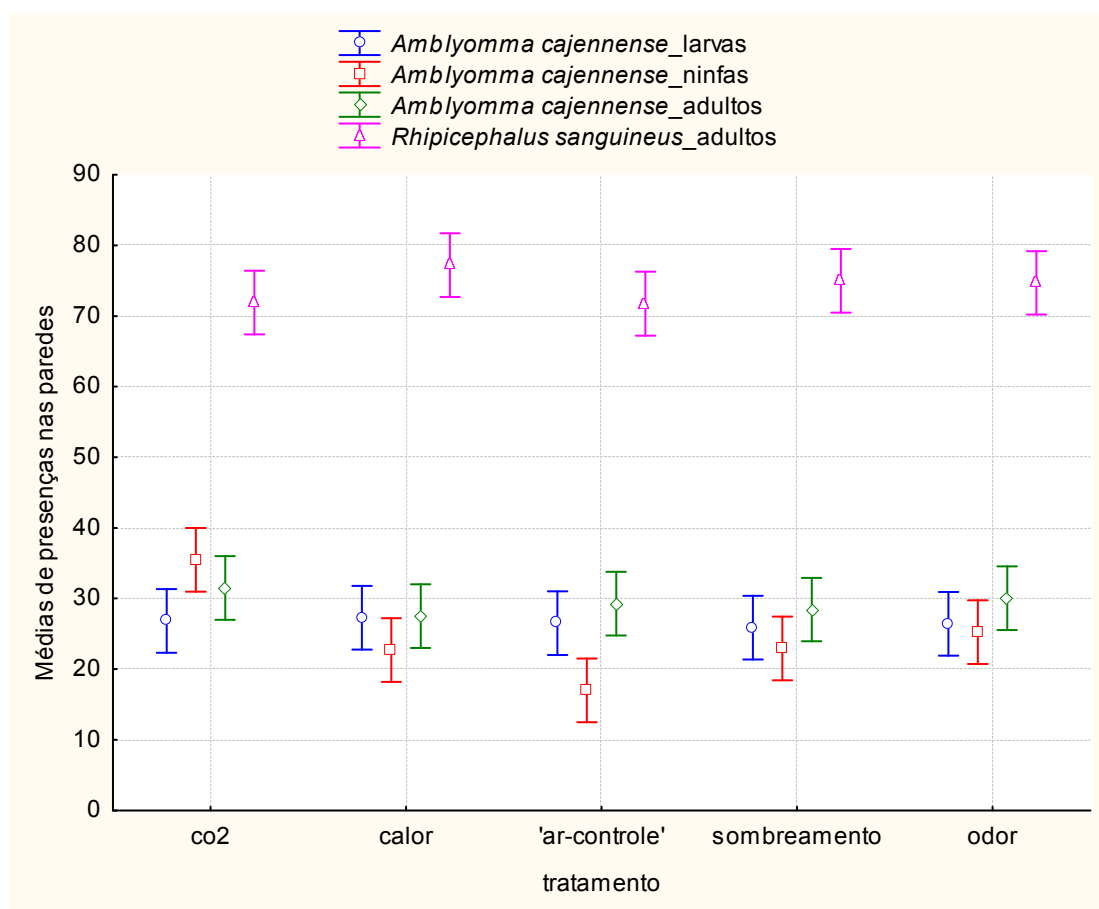


FIGURA 6 – Percentual total médio de indivíduos dos diferentes grupos presentes nas paredes nos distintos tratamentos. Maior prevalência de adultos de *R.sanguineus* nas paredes ao longo dos diferentes tratamentos.

Contudo, para os diferentes estágios de *A. cajennense* as distinções quanto as localizações apesar de presentes foram mais sutis. As larvas localizaram-se preferencialmente nas hastes, cerca de 45% (FIGURA 7), nas paredes 25%, na

tampa 18%, e na base 12%. Já as ninfas e os adultos apresentaram variações de acordo com o tratamento, utilizando, no entanto, a tampa como principal posição para a expressão dos comportamentos observados (FIGURA 8).

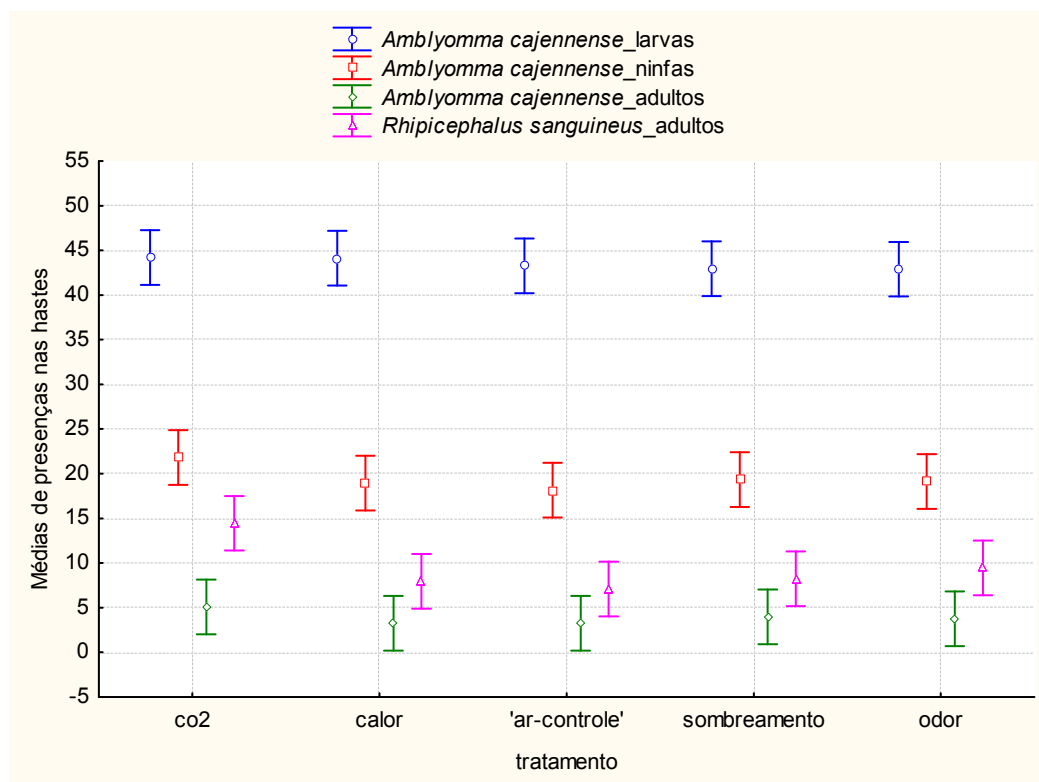


FIGURA 7 - Percentual total médio de indivíduos dos diferentes grupos presentes nas hastes nos distintos tratamentos. Nota embora esta interação não seja significativa ($F_{12,1440}=0,985$, $p=0,461$), o efeito da espécie_tipo (grupo) ($F_{3,1440}=625,318$, $p=0,001$) e o efeito do tratamento ($F_{4,1440}=6,046$, $p<0,001$) são estatisticamente relevantes separadamente conforme Tabela 5. Predominância das larvas de *A.cajennense* nas hastes.

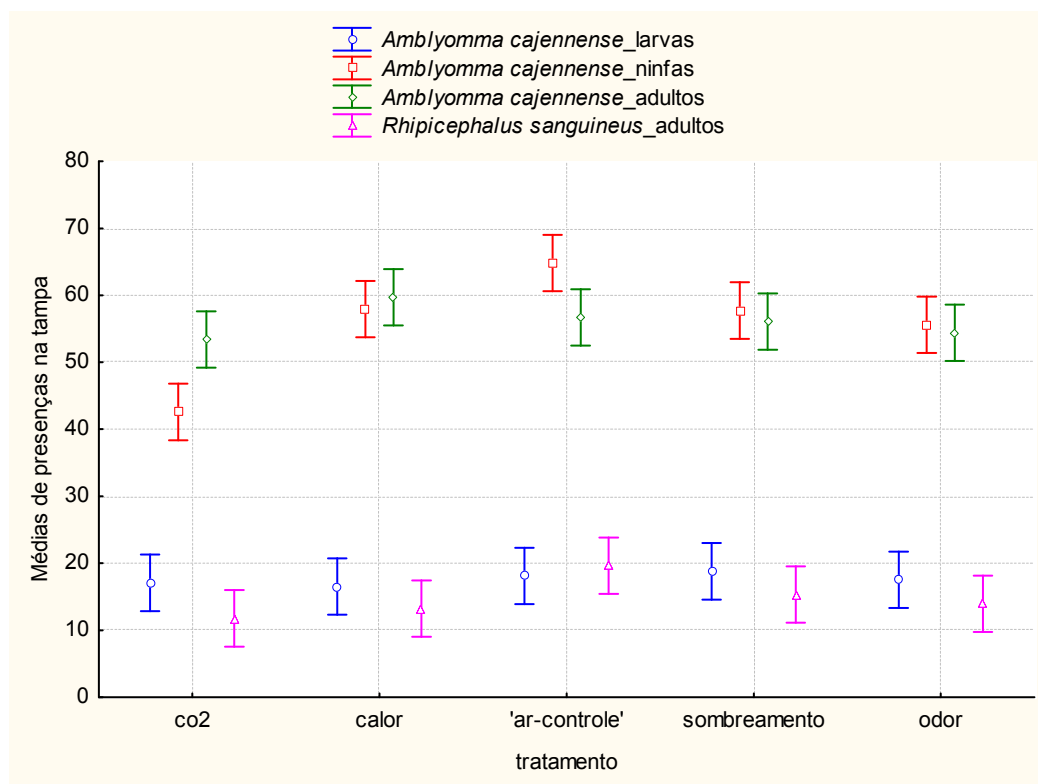


FIGURA 8 - Percentual total médio de indivíduos dos diferentes grupos presentes na Tampa nos distintos tratamentos. Dentre os grupos de carrapatos observados ninfas e adultos de *A. cajennense* utilizaram mais a tampa da arena.

4.2 A Expressão de Apetência

As maneiras como o comportamento de apetência se apresentava, quando presente, nos diferentes grupos diante dos distintos estímulos durante as sessões de observação foram registradas; porém não de forma estatisticamente utilizável.

As larvas de *A. cajennense* apresentaram apetência apenas ao estímulo de dióxido de carbono a 5% (CO₂), sendo esta expressão caracterizada apenas pelo levantamento do primeiro par de patas (a atitude de “questing”). Também as expressões de “questing” dos adultos eram semelhantes diante dos estímulos que desencadearam apetência - CO₂ e odor de equino.

Já as ninfas apresentaram um comportamento de 'busca' mais ativo e exploratório diante do dióxido de carbono, alternando momentos de "questing" com deslocamentos que sugeriam indicar que as mesmas estivessem tentando localizar a fonte do estímulo. Entretanto, nos outros tratamentos com resposta positiva – sombreamento e odor de eqüino – o "questing" expresso se resumia ao levantamento do primeiro par de patas (de forma bem semelhante as expressões das larvas e adultos de mesma espécie).

Os adultos de *R. sanguineus* apresentaram maiores eventos de deslocamentos (FIGURA 9), contudo os deslocamentos relacionados com "questing" só foram nítidos diante do CO₂; de forma semelhante a apresentada pelas ninfas de *A. cajennense*, mas com uma menor intensidade exploratória.

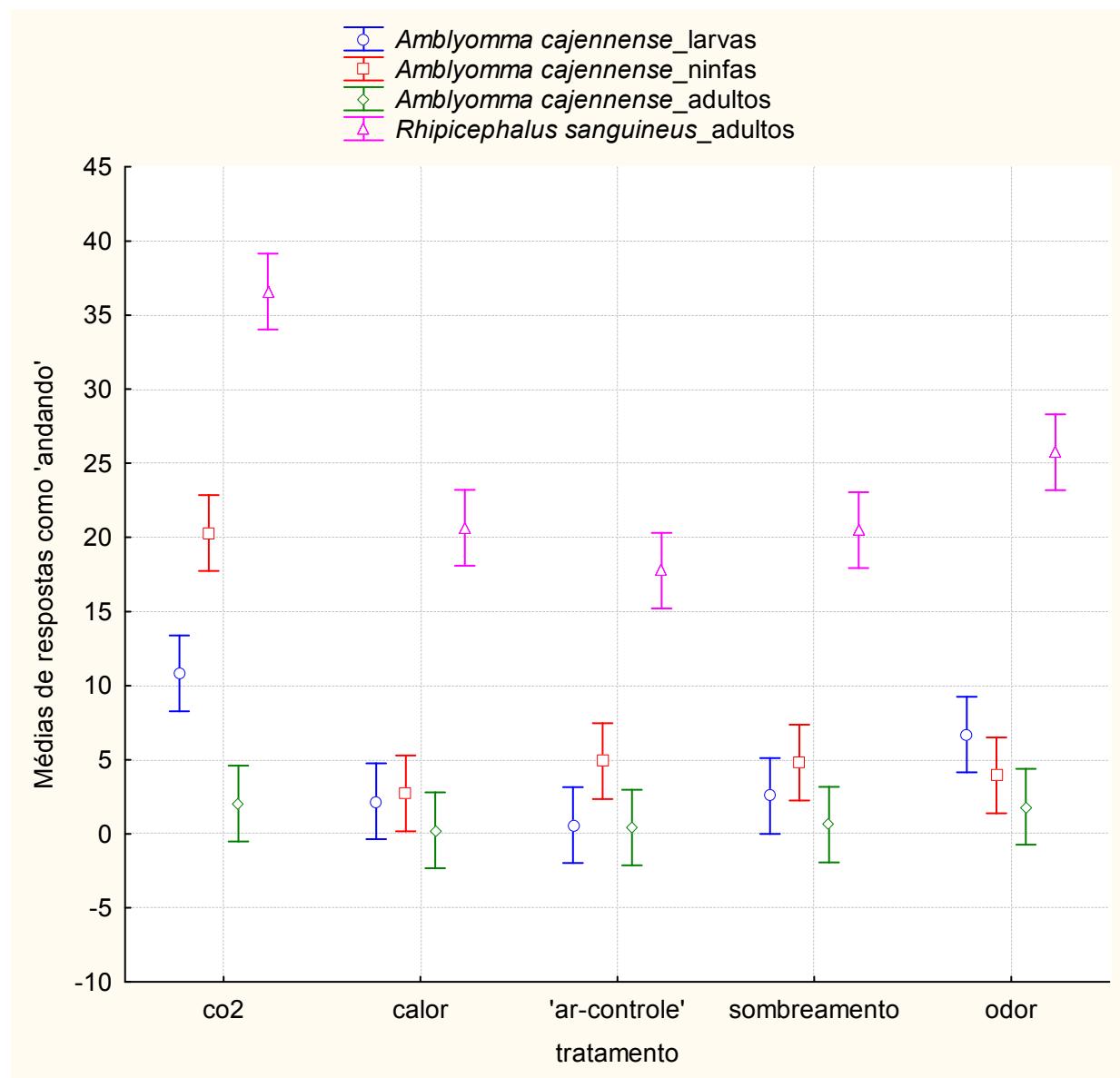


FIGURA 9 - Percentual total médio de indivíduos dos diferentes grupos que expressaram a atitude 'andando' nos distintos tratamentos em teste.

5 DISCUSSÃO

O comportamento de apetência expresso pelos carrapatos pode ser classificado em dois tipos básicos de estratégia: a de caça e a de emboscada. Estímulos próximos ou distantes originados do hospedeiro evocam a apetência ativa ou passiva do carrapato. Na estratégia de caça o carrapato ao perceber sinais do hospedeiro à distância, como odor e vibração; ou nas proximidades, como odor, vibração, calor irradiado e imagem (direta, ou indireta como a sombra do animal), localiza-o e se desloca ativamente para entrar em contato com o mesmo. Já na estratégia de emboscada o carrapato ao ser estimulado por sinais originados do hospedeiro (distantes ou próximos) se posiciona em um local vantajoso (haste de capim, trilha de gordura cutânea em um tronco de árvore, etc.) descrevendo movimentos verticais sobre o substrato e/ou movimentos de busca levantando o primeiro par de patas na direção do estímulo (LEES, 1948; WALADDE & RICE, 1982, FOURIE & KOK, 1992; FOURIE et al., 1993).

As larvas de *A. cajennense* demonstraram apetência apenas ao CO₂, preferencialmente ocupando as hastes, e eventualmente apresentando deslocamentos verticais ao longo das mesmas. Estes resultados condizem com relatos de campo e de literatura (LABRUNA et al., 2002b; BORGES, L.M.F. comunicação pessoal). Há semelhanças com as descrições da expressão da estratégia de emboscada apresentadas nos trabalhos de LEES (1969) e de FOURIE et al. (1993). A baixa resposta de apetência demonstrada por larvas de *A. cajennense*, inclusive com ausência de apetência para estímulos de proximidade com o hospedeiro como o sombreamento e o calor irradiado pode estar associada

com a temperatura durante os testes. Sabe-se que estas larvas são mais ativas nas pastagens no período de outono/inverno (OLIVEIRA, 2000). FOURIE et al. (1993) também observaram que a espécie de emboscada *I. rubicundus*, que é mais ativa durante o inverno, não apresentou resposta para o estímulo sombreamento na temperatura de 30°C, sendo que respostas para este estímulo foram as mais expressivas nas temperaturas de 12°C e 17 °C. Desta forma, com os indícios disponíveis pode-se sugerir que a estratégia das larvas seja de emboscada, principalmente ao se considerar as semelhanças nas disposições de grupos destas larvas a campo, sobre hastes de gramíneas, serem bastante semelhantes a de espécies sabidamente de emboscada como a *R. (B.) microplus*. Somado a esta forma de disposição espacial, o fato de realizarem emboscadas pode explicar a melhor captura de larvas pelo método de ‘arrasto de flanela’ quando comparada a ‘armadilha de dióxido carbono sob a forma de gelo seco’ (SUCEN, 2004). Talvez resultados semelhantes aos de FOURIE et al. (1993) possam ser obtidos se larvas de *A. cajennense* forem testadas em temperaturas mais baixas, logo futuros estudos talvez esclareçam melhor esta questão.

As ninfas de *A.cajennense* apresentaram comportamento claramente de caça sob as condições do experimento, principalmente diante do CO₂ no qual o “questing” expresso foi mais ativo e exploratório, até mais intenso do que o apresentado pelos adultos de *R. sanguineus* (espécie sabidamente caçadora utilizada como parâmetro auxiliar para a classificação). Aparentemente, as dimensões da arena e outros aspectos da metodologia utilizada possam ter favorecido a expressão comportamental das ninfas. Estes resultados indicam que,

provavelmente, o menor número de ninfas capturadas por ‘armadilhas de gelo seco’ a campo quando comparado com o de adultos seja decorrente das dificuldades de deslocamento das primeiras, considerando as diferenças de tamanho entre os instares, corroborando com as conclusões obtidas por BARRÉ et al. (1997) para *A. variegatum* em um estudo de campo no Caribe.

Os adultos de *A. cajennense* provavelmente sejam caçadores ao se considerar a intensidade de “questing” expresso diante dos tratamentos de dióxido de carbono e de odor de equino e pelas evidências de campo - ‘armadilhas de gelo seco’ conseguem capturar principalmente adultos que para atingi-las tem que perceber o estímulo, localizar a origem e deslocarem-se ativamente para as mesmas (SUCEN, 2004). Todavia, não foi observada a expressão de “questing” com deslocamento como era esperado (e que ocorreu com as ninfas de *A. cajennense* e com os adultos de *R. sanguineus* diante do CO₂). A metodologia aplicada talvez não tenha permitido toda expressão comportamental dos adultos. Contudo, há também uma outra possibilidade: diferentes tipos de estratégia de caça.

Ao considerarmos que o carrapato *R. sanguineus* é nidícola enquanto que os adultos e ninfas de *A. cajennense* são de vegetação, parece lógico supor uma expressão diferenciada de caça. Porém, a maior proximidade dos repertórios comportamentais das ninfas de *A. cajennense* com os dos adultos de *R. sanguineus* seja, provavelmente, decorrente da ‘maior inespecificidade’ parasitária destas em relação aos adultos de *A. cajennense*. Talvez por serem um pouco mais seletivos estes últimos tenham um ‘limiar’ mais elevado de estímulos

ambientais para o desencadeamento da caça. Ao contrário dos *R. sanguineus*, que por estarem nas tocas e/ou abrigos de seus hospedeiros, em geral, apresentam uma menor área para procura, os adultos de *A. cajennense*, em geral, estão sob folhas secas no solo ou próximos as raízes de gramíneas, logo apresentam uma área de procura mais ampla necessitando de indícios mais confiáveis para uma caça melhor orientada (ao contrário das ninfas que podem parasitar uma considerável variedade de vertebrados, os adultos necessitam de hospedeiros mais adequados para conseguirem se desenvolver plenamente e se reproduzir).

5.1 Considerações sobre comportamento e experimentação

Durante a realização deste trabalho desde a ‘origem’ da(s) pergunta(s), das pesquisas bibliográficas; passando por uma crescente ‘apetência’ pelas eventuais respostas, através dos ‘insights’ de delirantes desenhos experimentais; tentando trabalhosos, prazerosos, cansativos e, às vezes, desesperantes pré-experimentos; até finalmente construir uma metodologia ‘trabalhável’ e conduzi-la; vários conceitos foram sendo apreendidos e outros reestruturados e questionados.

Mais importante do que definir o tipo de apetência expressa pelos carrapatos em estudo, passou a ser um objetivo primário simplesmente conhecer as expressões comportamentais, observar suas respostas diante da metodologia construída. Apesar de não muito simpáticos ‘uma relação mais preocupada’ começou a se desenvolver entre observador e observados, e novos questionamentos foram surgindo.

Com a obtenção dos primeiros resultados estes novos questionamentos foram se fortalecendo apesar de pouco sistematizados. O comportamento de apetência se mostrava muito mais complexo para ser simplesmente 'dicotomizado'.

Em USPENSKY (2003) uma idéia sedutora da existência de um 'continuum' entre os extremos 'emboscada' (como a estratégia mais passiva de 'busca' por um hospedeiro) e 'caça' (como a estratégia mais ativa) e de que com considerável freqüência podem-se observar expressões mistas a campo, tornou-se cada vez mais atraente, principalmente diante da constatação, não completamente inesperada, de que os resultados obtidos não poderiam ser sujeitados a análises tradicionais categoricamente objetivas. A possibilidade da existência de tipos diferentes das estratégias de emboscada e de caça foi se materializando quando no trabalho de FOURIE et al. (1993) percebeu-se a citação do trabalho de HAIR & BOWMAN (1986) apresentando a constatação de que a espécie *Amblyomma americanum* expressava ambos os comportamentos de 'busca' ativa ou passiva de acordo com a época do ano.

Entretanto, estas novas perspectivas relacionadas ao comportamento de apetência expresso por carrapatos não contradiziam os trabalhos seminais desta pesquisa apenas os complementavam.

Em suma, o estudo dos comportamentos expressos por parasitas quando em vida livre é um campo rico para novas pesquisas, receptivo a novas abordagens apesar de nem sempre apresentar resultados claros.

6 CONCLUSÕES

Considerando a metodologia praticada nessa pesquisa, os resultados obtidos e a avaliação destes com informações da literatura científica decorrentes de constatações laboratoriais e de campo pode-se concluir que: larvas de *A. cajennense* executam estratégia de emboscada, enquanto ninfas e adultos desta espécie expressam estratégia de caça.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, R.B.; SCRIMGEOUR, G.J.; KAUFMAN, W.R. Responses of the tick, *Amblyomma hebraeum* (Acari: Ixodidae), to carbon dioxide. **Experimental & Applied Acarology**, 22, p.667-681, 1998.
- BARKER, S.C.; MURRELL, A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. **Parasitology**, 129, p. S15-S36, 2004.
- BARNARD, D.R. Mechanisms of host-tick contact with special reference to *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in beef cattle forage areas. **Journal of Medical Entomology**, n.5, v.28, p.557-564, 1991.
- BARRÉ, N.; GARRIS, G.I.; LOVERLEC, O. Field sampling of the tick *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) on pastures in Guadeloupe; attraction of CO₂ and/or tick pheromones and conditions of use. **Experimental and Applied Acarology**, 21, p.95-108, 1997.
- BARROS-BATTESTI, D.M.; ARZUA, M.; BECHARA, G.H. **Carrapatos de Importância Médico-veterinária da região Neotropical: Um guia ilustrado para a identificação de espécies**. São Paulo, Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006, 223p.
- BECHARA, G.H.; SZABÓ, M.P.J.; FERREIRA, B.R.; GARCIA, M.V. *Rhipicephalus sanguineus* tick in Brazil: feeding and reproductive aspects under laboratorial conditions. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, n.4; v.2, p.61-66, 1995.

- BELOZEROV, V.N. Diapause and biological rhythms in ticks. In: F.D. Obenchain & R. Galun (eds.), **Physiology of Ticks**, New York, Pergamon Press, cap.13, p.469-500, 1982.
- BORGES, L.M.F.; SILVA, C.R.F. Ixodídeos parasitos de bovinos e eqüinos da microrregião de Goiânia, Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, n.1, v.23, p.69-74, 1994.
- FLECHTMANN, C.H.W. **Elementos de Acarologia**. 1ª ed. São Paulo, Nobel, 1975, 344p.
- FLECHTMANN, C.H.W. **Ácaros de Importância Médico-Veterinária**. 3ªed. São Paulo, Nobel, 1990, 192p.
- FOURIE, L.J.; KOK, O.B. The role of host behaviour in tick host interactions: a domestic host-paralysis tick model. **Experimental & Applied Acarology**, 13, p.213-225, 1992.
- FOURIE, L.J.; SNYMAN, A.; KOK,D.J.; HORAK, I.G.; VAN ZYL, J.M. The appetite behaviour of two South African paralysis-inducing ixodid ticks. **Experimental & Applied Acarology**, 17, p.921-930, 1993.
- HARLAN, H.J.; FOSTER, W.A. Micrometereologic factors affecting field host-seeking activity of adult *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, n.4, v.27, p.471-479, 1990.
- KAUFMAN, W.R.; SAUER, J.R. Ion and water balance in feeding ticks: mechanisms of tick excretion. In: F.D. Obenchain & R. Galun (eds.), **Physiology of Ticks**, New York, Pergamon Press, cap.7, p.213-244, 1982.

- KNULLE, W.; RUDOLPH, D. Humidity relationships and water balance of ticks. In: F.D. Obenchain & R. Galun (eds.), **Physiology of Ticks**, New York, Pergamon Press, cap.2, p.43-70, 1982.
- LABRUNA, M.B. Biologica-Ecologia de *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, suplemento 1, p.123-124, 2004.
- 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. **Veterinary Parasitology**, 105, p.65-77, 2002a.
- LABRUNA, M.B.; PINTER, A.; CASTRO, M.B. de; CASTAGNOLLI, K.C.; GARCIA, M.V.; SZABÓ, M.J.P. Relatos sobre o comportamento de larvas infestantes de *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) na natureza. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.11, n.2, p.91-93, 2002b.
- LEES, A.D. The sensory physiology of the sheep tick, *Ixodes ricinus* L. **J. Exp. Biol.**, 25, p.145-207, 1948.
- LEES, A.D. The behaviour and physiology of ticks. In: T.E. Hughes (chm.) Symposium on Physiology in Relation to Behaviour, **Acarol.** 6, p.397-410, 1969.
- LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C.; LABRUNA, M.B.; OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; RODRIGUES, Z.B.; CARVALHO, H.A.; FREITAS, C.M.V.; VIEIRA Jr., C.R. Host specificity of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) with comments on the drop-off rhythm. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.93 (3), p.347-351, 1998.

- MARTIN, P.; BATESON, P. **MEASURING BEHAVIOUR: an introductory guide**, 2^a ed., Cambridge (UK), Cambridge University Press, 2000, 222p.
- NEEDHAM, G.R.; TEEL, P.D. Off-host physiological ecology of ixodid ticks. **Annu. Rev. Entomol.**, 36, p.659-681, 1991.
- OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 92, p.295-301, 2000.
- OBENCHAIN, F. D.; GALUN, R. (eds.) **PHYSIOLOGY of TICKS**, New York, Pergamon Press, 1982, 509p.
- SANAVRIA, A; PRATA, M.C.A. Metodologia para colonização do *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, n.2, v.5, p.87-90, 1996.
- SANGIONI, L.A.; HORTA, M.C., VIANNA, M.C.B.; GENNARI, S.M.; SOARES, R.M.; GALVÃO, M.A.M.; SHUMAKER, T.T.S.; FERREIRA, F.; VIDOTO, O; LABRUNA, M.B. Rickettsial Infection in animals and brazilian spotted fever endemicity. **Emerging Infectious Diseases**, n.2, v.11, p.265-270, feb. 2005.
- SUCEN - Superintendência de Controle de Endemias. Secretaria de Estado da Saúde (São Paulo, SP). **Manual de Vigilância Acarológica**. Coordenação: Vera Lúcia Fonseca de Camargo - Neves. São Paulo, 2004.
- SONENSHINE, D.E.; SILVERSTEIN, R.M.; REHAV, Y. Tick Pheromone mechanisms. In: F.D. Obenchain & R. Galun (eds.), **Physiology of Ticks**, New York, Pergamon Press, cap. 12, p. 439-468, 1982.

- SOKAL, R.R. ; ROHLF, F.J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**, W.H. Freeman, San Francisco, 1981.
- STREY, O.F.; TEEL, P.D.; LONGNECKER, M.T.; NEEDHAM, G.R. Survival and water-balance characteristics of unfed adult *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, n.1, v.33, p.63-73, 1996.
- TSUNODA, T; TATSUZAWA, S. Questing height of nymphs of the bush tick *Haemaphysalis longicornis*, and its closely related species, *H. mageshimaensis*: correlation with body size of the host. **Parasitology**, 128, p.503-509, 2004.
- UNDERWOOD, A.J. **Experiments in ecology: their logical design and interpretation using analysis of variance**, Cambridge, Cambridge University Press, 1998, 504p.
- USPENSKY, I. Preliminary observations on specific adaptations of exophilic ixodid ticks of forests or open country habitats. **Experimental & Applied Acarology**, 28, p.147-154, 2002
- WALLADE, S.M.; RICE, M.J. The sensory basis of tick feeding behaviour In: F.D. Obenchain & R. Galun (eds.), **Physiology of Ticks**, New York, Pergamon Press, cap. 3, p.71-118, 1982.

ANEXO 1 Planilha para registro das observações

DATA: Espécie: Estágio: Estímulo: N° da repetição:

Observador: Horário de início:

Tempo	Hastes												Paredes				Áreas da base			Tampa	Quinas			
Parciais	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	P1	P2	P3	P4	B1	B2	B3	T	q1	q2	q3	q4
00	2I		2A				3Q						2Q				1A							
1																								
2																								
3																								
...																								
40																								

Códigos que estão sendo utilizados para as atitudes consideradas: I- inatividade; Q- apenas movimentos com o primeiro par de patas; A- deslocamento ; P- parado.

Códigos que serão utilizados para as posições: H1 ao H12- correspondem as 12 hastes; P1 a P4 representam as paredes da caixa nas quais os carrapatos podem estar; q1 a q4 indicam as regiões de intersecção entre as paredes – quinas; T representa a tampa da arena; e B1 a B3 denotam três áreas imaginárias na base.

Exemplo: as anotações presentes na planilha acima informam que no primeiro intervalo de observação dois carrapatos estão inativos na haste A1, dois estão descrevendo movimentos verticais na haste A3, três carrapatos estão expressando apenas movimentos de busca levantando o primeiro par de patas sobre a haste A7, dois carrapatos estão deslocando-se horizontalmente na área da base B1 e dois carrapatos estão na parede 1 expressando movimentos de busca com o primeiro par de patas.