

MÁRCIA ARZUA

**BIOECOLOGIA DO PARASITISMO DE CARRAPATOS (ACARI:
IXODIDAE) EM AVES DO BOSQUE REINHARD MAACK,
CURITIBA, PARANÁ E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR,
DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E DESCRIÇÃO DA
LARVA DE *Amblyomma aureolatum* (PALLAS, 1772).**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, área de concentração em
Entomologia, da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial para a
obtenção do Título de Mestre em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antonio
Navarro da Silva

Co-orientadora: Dr.^a Darci Moraes Barros
Battesti

CURITIBA

2002

MÁRCIA ARZUA

**BIOECOLOGIA DO PARASITISMO DE CARRAPATOS (ACARI:
IXODIDAE) EM AVES DO BOSQUE REINHARD MAACK,
CURITIBA, PARANÁ E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR,
DIAGNÓSTICO MORFOLÓGICO E DESCRIÇÃO DA
LARVA DE *Amblyomma aureolatum* (PALLAS, 1772).**

Dissertação apresentada à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, área de concentração em
Entomologia, da Universidade Federal do
Paraná, como requisito parcial para a
obtenção do Título de Mestre em Ciências
Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Mário Antonio
Navarro da Silva

Co-orientadora: Dr.^ª Darci Moraes Barros
Battesti

CURITIBA

2002

MÁRCIA ARZUA

BIOECOLOGIA DO PARASITISMO DE CARRAPATOS (ACARI:
IXODIDAE) EM AVES DO BOSQUE REINHARD MAACK, CURITIBA,
PARANÁ E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR, DIAGNÓSTICO
MORFOLÓGICO E DESCRIÇÃO DA LARVA DE *Amblyomma*
aureolatum (PALLAS, 1772).

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas, no Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Área de Concentração em Entomologia, da Universidade Federal do Paraná, pela banca examinadora:



Prof. Dr. Mário Antonio Navarro da Silva
(Orientador)



Dra. Darci Moraes Barros Battesti

Dra. Kátia Maria Famadas

Curitiba, 04 de março de 2002

Aos meus filhos, Eduardo e César, pela paciência e compreensão nos momentos de minha ausência.

Ao Arzua, pelo amor, carinho, compreensão e apoio na realização desta etapa de minha vida.

Ao Victor, pelo incentivo e à minha mãe, pela sua coragem, determinismo e amor.

Aos meus irmãos Edécio, Edener e Edílson; cunhadas e sobrinhos, pelo estímulo recebido.

À José e Maria (*in memoriam*), pelo acolhimento e apoio incondicional em um dos momentos mais difíceis de minha vida.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Mário Antonio Navarro da Silva pela confiança e orientação da dissertação.

À minha amiga Darci Moraes Barros Battesti, pelo apoio, incentivo e revisão deste trabalho.

Ao Dr. Pedro Martinez Arbizu, pelo apoio durante as medições das formas imaturas de carrapatos.

Ao Prof. Dr. Cláudio José Barros de Carvalho pela confiança e apoio.

À Diretoria do Departamento de Zoológico, pelo apoio e incentivo.

Ao Museu de História Natural Capão da Imbuia, em especial à Gilda Maria Siqueira Tebet, pelo incentivo e liberdade de ação.

Ao Departamento de Parques e Praças da Secretaria Municipal do Meio Ambiente, pela autorização de uso do Bosque Reinhard Maack.

Aos assistentes Luiz Fernando Franco de Macedo, Iziole Schroeder, Izaura Caetano Camargo, João Donizete dos Santos e Adão Schroeder, pela contribuição nas fases de campo e laboratório.

Aos amigos e estagiários Daniele Simone Cardoso, Sônia Maris Czelusniaki, Alexandre Mitroszewski, José Adailton Caetano, Andréia do Rocio Ribeiro, Tânia Cabral, Fabíola Zicarelli do Prado, Josué Edgar Nassar e Denis Mañez Kerber pelas inúmeras contribuições e companheirismo durante as coletas.

Ao Pedro Scherer Neto, pelo auxílio na identificação de aves.

Ao Vinícius Abilhoa, pelas fotografias das fases de campo e pelo auxílio na organização de parte dos dados estatísticos.

Ao Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, pelo apoio na preparação dos espécimes, pela doação de carrapatos para biologia molecular, bem como pelas fotomicrografias eletrônicas de varredura da fêmea de *Ixodes auritulus*.

Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade Estadual do Rio de Janeiro, pelas fotomicrografias eletrônicas de varredura da larva de *Amblyomma aureolatum*.

Ao Laboratório de Entomologia da FIOCRUZ, em especial a Dra. Marinete Amorim, na orientação da montagem de lâminas de carrapatos.

À Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, em especial ao Dr. Marcelo Bahia Labruna, pela doação de carrapatos.

Ao Dr. Manuel Venzal, professor da Faculdade de Veterinária da Universidade de Montevideu, Uruguai, pela doação de carrapatos, utilizados nos estudos de biologia molecular.

Ao Laboratório de Ecologia de Vetores, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da Escola de Medicina, Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, Estados Unidos, em especial à Dra. Lorenza Beati, pela análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial, dos carrapatos.

À Universidade Federal do Paraná, Departamento de Zoologia, pós-graduação em Entomologia, na figura de todos os professores, pela agradável convivência.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xiii
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Aspectos Gerais.....	01
1.2. Carrapatos no Brasil.....	03
1.2.1. Situação taxonômica para as espécies de <i>Amblyomma</i> e <i>Ixodes</i>	06
1.2.2. Espécies de carrapatos que ocorrem no Estado do Paraná.....	08
2. OBJETIVOS	09
2.1. Objetivo Geral.....	09
2.2. Objetivos específicos.....	09
CAPÍTULO 1. Bioecologia de carrapatos (Acari: Ixodidae) que parasitam aves silvestres no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR	10
1. INTRODUÇÃO	11
2. MATERIAIS E MÉTODOS	12
2.1. Área de estudo.....	12
2.2. Captura das aves.....	15
2.3. Colheita de carrapatos em fase parasitária.....	15
2.4. Colheita de carrapatos em fase não parasitária.....	16
2.5. Identificação taxonômica de carrapatos.....	19
2.6. Procedimentos Estatísticos.....	19
2.6.1. Aplicação dos Coeficientes de Correlação de Spearman = r_s , Pearson = r , Teste de Friedman e Teste de Fisher.....	19
3. RESULTADOS	21
3.1. Carrapatos em fase de parasitismo nas aves: relação parasitos/hospedeiros/fatores ambientais.....	21
3.2. Prevalência de infestação nos três ambientes investigados.....	31
3.3. Carrapatos em fase de não parasitismo.....	36
4. DISCUSSÃO	39

CAPÍTULO 2. Caracterização taxonômica dos estágios imaturos de <i>Amblyomma aureolatum</i> (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae), pela análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial e descrição da larva utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura.....	43
1. INTRODUÇÃO.....	44
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
2.1. Procedimento para biologia molecular.....	45
2.1.1. Protocolo de extração de DNA ribossômico mitocondrial para carrapatos, utilizando-se o Kit (DNAsy™ QIAGEN).....	46
2.1.2. Protocolo para amplificação dos fragmentos moleculares das amostras através do PCR, utilizando o Kit (PCR-QIAGEN).....	48
2.1.3. Programa usado na máquina de PCR para amplificação.....	49
2.1.4. Protocolo de preparação do gel para as 22 amostras (última fase do PCR).....	49
2.1.5. Protocolo para purificação das amostras, utilizando Kit (Qiagen de purificação).....	50
2.1.6. Protocolo para o seqüenciamento.....	51
2.2. Procedimentos para microscopia óptica das larvas de <i>A. aureolatum</i> ..	52
2.3. Procedimentos para microscopia eletrônica de varredura.....	53
3. RESULTADOS.....	53
3.1. Análise molecular de <i>A. aureolatum</i>	51
3.2. Descrição da larva de <i>A. aureolatum</i>	55
3.3. Comparação morfológica da larva de <i>A. aureolatum</i> com outras espécies.....	57
4. DISCUSSÃO.....	57
CONCLUSÕES.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
ANEXOS.....	80

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1.	Desenho esquemático (esc. 1:2000) do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, incluindo os três ambientes de estudo.....	14
Figura 2.	Aspecto geral do ambiente de capoeira com uma rede de neblina Instalada.....	17
Figura 3.	Vistoria de aves para carrapatos.....	18
Figura 4.	Armadilhas de solo.....	18
Figura 5.	Arrastão na vegetação.....	18
Figura 6.	Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com o total de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.....	22
Figura 7.	Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com larvas de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.....	23
Figura 8.	Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com ninfas de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.....	24
Figura 9.	Diagrama de dispersão e reta de regressão linear (95% de confiança) em relação à umidade máxima semanal e à prevalência total de carrapatos (%) coletados nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000 ($r = -0,4490$; $p < 0,05$).....	27
Figura 10.	Diagrama de dispersão e reta de regressão linear (95% de confiança) em relação à umidade média semanal e à prevalência de larvas de <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>Ixodes auritulus</i> coletados nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000 ($r = -0,4123$; $p < 0,05$).....	28
Figura 11.	Proporções de larvas e ninfas de <i>Amblyomma aureolatum</i> em parasitismo nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, em relação aos períodos seco/frio e chuvoso/quente, durante os anos de 1999 e 2000, analisadas pelo Teste de Fisher.....	32
Figura 12.	Variação das prevalências de aves infestadas com carrapatos das espécies <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>Ixodes auritulus</i> , conforme os ambientes de capoeira, mata e área limítrofe do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR ($X^2 = 9,571428$; $p < 0,05$; $p = 0,00835$; $r = 0,23661$). DP, desvio padrão e EP, erro padrão.....	35

Figura 13. Macho de *Amblyomma aureolatum*, vista dorsal (15X)..... 37

Figura 14. Fêmea de *Amblyomma aureolatum*, vista dorsal (15X)..... 38

CAPÍTULO 2

Figura 1. Larva de *Amblyomma aureolatum* em vista dorsal (400X)..... 58

Figura 2. Larva de *Amblyomma aureolatum* em vista dorsal (400X)..... 59

Figura 3. Larva de *Amblyomma aureolatum*, gnatossoma em vista dorsal (1000X)..... 60

Figura 4. Larva de *Amblyomma aureolatum*, gnatossoma em vista ventral (1000X)..... 61

Figura 5. Larva de *Amblyomma aureolatum*, tarso da perna I em vista lateral (1000X)..... 62

Figura 6. Idiossoma dorsal da larva de *Amblyomma aureolatum*. Escudo com ornamentação hexagonal; P, poro. a) olho plano; b) sensillum campaniforme (Scd)..... 63

Figura 7. Idiossoma ventral da larva de *Amblyomma aureolatum*. Sc1, Sc2, Sc3, sensillum campaniforme..... 64

Figura 8. Gnatossoma dorsal de *Amblyomma aureolatum*. Sc, sensillum do capítulo. Cerdas do palpo: Fêmur (Fa1-Fa2); Fp1; Fd1). Genu (Gd1-Gd3; Gp1; Ga1)..... 65

Figura 9. Tarso I da larva de *Amblyomma aureolatum*. A) vista laterodorsal; dl, cerdas dorsais do grupo I; PV, pulvilo. B) vista lateroventral. VI, VII, VIII, cerdas ventrais; dII, dIII, dIV, dVI, cerdas dorsais..... 66

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela I.	Coeficiente de Correlação de Spearman (= rs) do teste de hipótese nula de associação entre as variáveis meteorológicas e os números absolutos de aves e carrapatos coletados no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, de janeiro de 1999 a dezembro de 2000.....	26
Tabela II.	Número, porcentagem e intensidade média e relativa de carrapatos coletados em aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, segundo as estações sazonais, entre janeiro e dezembro 1999	29
Tabela III.	Número, porcentagem e intensidade média e relativa de carrapatos coletados em aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, segundo as estações sazonais, entre janeiro e dezembro 2000.....	30
Tabela IV.	Prevalência, intensidade média e relativa de infestação de carrapatos das espécies <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>Ixodes auritulus</i> , segundo as espécies de aves coletadas por ambiente, de janeiro de 1999 a dezembro de 2000, no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR.....	33
Tabela V.	Comparação entre as prevalências de aves infestadas segundo os ambientes de capoeira, mata e área limítrofe, do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, através do Teste de Friedman.....	34

CAPÍTULO 2

Tabela I.	Distância das seqüências dos pares de bases para larvas, ninfas e adultos de <i>Amblyomma aureolatum</i> coletados no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, e outras espécies de <i>Amblyomma</i> spp., através da análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial, utilizando-se o teste de Clustal.....	54
Tabela II.	Comparação morfológica entre larvas de <i>Amblyomma aureolatum</i> e <i>A. longirostre</i> , com outras espécies descritas na literatura.....	67

RESUMO

Entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, foi estudada a bioecologia de carrapatos que parasitam aves de três ambientes distintos do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR (25°29'18"S, 49°15'34"W). Foram examinadas 876 aves de quatro ordens, 14 famílias e 52 espécies, das quais, 142 (16%) estavam parasitadas com 717 carrapatos das espécies *Amblyomma aureolatum* e *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae). No chão e na vegetação foram coletadas somente duas ninfas e cinco adultos de *A. aureolatum* em fase não parasitária, onde a presença de *I. auritulus* não foi observada. Todos os *A. aureolatum* (N=699) colhidos nas aves eram larvas (70%) e ninfas (30%). *I. auritulus* (N=18) foi encontrado nos três estágios biológicos, ocorrendo apenas em *Turdus rufiventris* e em *Synallaxis ruficapilla*, sendo este último, primeiro registro de hospedeiro. As prevalências mensais de aves infestadas para o total de carrapatos coletados foram mais altas em julho/99 e em junho/00, meses em que as larvas foram mais abundantes. Em relação às infestações com ninfas, as mais altas prevalências foram obtidas em dezembro de 1999 e em outubro de 2000. As maiores intensidades médias de infestação de larvas por hospedeiro ocorreram em março e abril de 1999. Para as ninfas as maiores intensidades ocorreram em novembro de 2000. As correlações de aves infestadas e de carrapatos em relação às variáveis climáticas foram significativas e inversas para a umidade relativa do ar e a pluviosidade. As prevalências de aves infestadas segundo as estações sazonais, comportaram-se similarmente para os dois anos de estudos. Considerando apenas dois períodos climáticos, as associações foram significativas para as larvas de *A. aureolatum* no período seco/frio e ninfas no chuvoso/quente. O ambiente de capoeira mostrou-se significativamente mais favorável às infestações de carrapatos nas aves do que os outros dois ambientes. É assinalado pela primeira vez o parasitismo de *A. aureolatum* em aves com 17 registros novos de hospedeiros para os estágios imaturos e o primeiro registro de saí-canário *Thlypopsis sordida* para Curitiba, embora esta ave não tenha apresentado infestação com carrapatos. A larva de *A. aureolatum* é descrita pela primeira

vez, utilizando-se microscopia óptica e eletrônica de varredura e realizado o seqüenciamento de genes do fragmento 12S rDNA mitocondrial, para os três estágios biológicos. Considerando que poucas larvas de *Amblyomma* foram descritas, a quetotaxia do idiossoma, palpo e tarso I, não é suficiente para identificar a espécie. No entanto, a presença de sensillum campaniforme no festão IV pode ser um caráter exclusivo de *A. aureolatum*.

ABSTRACT

The bioecology of ticks, infesting birds in three different environments of the "Bosque Reinhard Maack", Curitiba, State of Paraná, was studied between January 1999 and December 2000. Eight hundred and seventy-six bird specimens, belonging to four orders, 14 families and 52 species, were examined. Of these, 142 (16%) were infested with 717 ticks *Amblyomma aureolatum* and *Ixodes auritulus* (Acari: Ixodidae). In the soil and vegetation, two nymphs and five adults of *A. aureolatum*, in non-parasitic stages, were collected, where the presence of *I. auritulus* was not observed. All of *A. aureolatum* ticks (N=699), collected on birds, were larvae (70%) and nymphs (30%). *I. auritulus* (N=18) was collected in all three biological stages, just occurring on *Turdus rufiventris* and on *Synallaxis ruficapilla*, the later being the first record of the species as host. The highest monthly prevalences on infested birds for the total number of collected ticks were observed in July 1999 and June 2000, months during which larvae were most abundant. For nymph infestation, the highest monthly prevalences were observed in December 1999 and October 2000. The highest average intensities of host infestation by larvae were observed in March and April 1999. For nymphs, the highest average intensities were observed in November 2000. The correlation of infested birds and ticks with environment factors were significant and inverse for relative air humidity and raininess. The prevalence of infested birds according to seasons, behaved similarly during both years of this study. Considering only two climatic periods, the association was significant for *A. aureolatum* larvae during the dry/cold period and for nymphs during the rainy/warm period. The "capoeira" environment was significantly more favorable for the infestation of birds by ticks than other environment. The present study records for the first time the infestation of birds by *A. aureolatum*, with 17 new records of hosts for the immature stages. In addition, this study also enabled the first record of "saí-canário" *Thlypopsis sordida* for Curitiba, although this species was not infested with ticks. The *A. aureolatum* larva is newly described, using optical and electronic microscopes, and the gene sequence of the 12S rDNA mitochondrial

fragment, is carried out for the three biological stages. Considering that few *Amblyomma* larvae have been described, the setotaxy of the idiossoma, palpi and tarsus I is not enough to identify the species. Nevertheless the presence of sensillum campaniforme in the festoon IV can be an exclusive character for *A. aureolatum*.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Aspectos Gerais

Os carrapatos estão compreendidos na subclasse Acari da classe Arachnida, ordem Parasitiformes, subordem Ixodida, superfamília Ixodoidea. Segundo Woolley (1988) há 35.000 espécies de ácaros descritas no mundo e cerca de um milhão por descrever. Keirans (1992) referiu-se a aproximadamente 850 espécies de carrapatos distribuídas em três famílias (Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae) e 19 gêneros, no entanto, considerou como válidas 838 espécies. Klompen et al. (1996) reconheceram 820 espécies de Ixodoidea baseando-se em filogenia molecular.

A nomenclatura mais atual de carrapatos apresenta 869 espécies válidas distribuídas em 4 famílias (Ixodidae, Amblyommidae, Argasidae e Nuttalliellidae), 31 gêneros e 71 subgêneros (Camicas et al. 1998). Nessa nomenclatura alguns subgêneros foram elevados à categoria de gêneros e muitas espécies foram validadas e/ou sinonimizadas, mas por ser muito recente, não está totalmente aceita pela maioria dos taxonomistas.

A superfamília Ixodoidea compreende três famílias: Argasidae, Ixodidae e Nuttalliellidae (Oliver 1989, Keirans 1992). As famílias Argasidae e Ixodidae são cosmopolitas, enquanto que Nuttalliellidae tem distribuição restrita à África do Sul e Tanzânia (Bedford 1934, Keirans et al. 1976).

A família Argasidae contém duas subfamílias, Argasinae e Ornithodorinae. Segundo Keirans (1992) esta família possui cerca de 170 espécies distribuídas em cinco gêneros: *Antricola* Cooley & Kohls, 1942; *Argas* Latreille, 1795; *Nothoaspis* Keirans & Clifford, 1975; *Ornithodoros* Koch, 1844 e *Otobius* Banks, 1912.

Os argasídeos contemporâneos são conhecidos como “carrapatos moles” por não possuírem escudo nos estágios ninfais e adultos, sendo vestigial nas larvas de alguns grupos. São abundantes em locais de clima áridos e semi-áridos, vivendo em ninhos e tocas de hospedeiros, nos quais se alimentam múltiplas vezes. O ciclo de vida dos argasídeos compreende: ovo, vários estágios ninfais e adultos. Para a maioria das espécies, ninfas e adultos

alimentam-se rapidamente (cerca e 30 a 40 minutos em média) enquanto as larvas permanecem fixas aos hospedeiros por sete a 10 dias. Cada estágio imaturo faz uma refeição antes de cada ecdise, salvo raras exceções com dois repastos sangüíneos antes da muda em ninfas de primeiro estágio. Em geral os adultos alimentam-se múltiplas vezes, principalmente antes da cópula e oviposição (Hoogstraal 1985, Woolley 1988).

A família Ixodidae é a maior em número de espécies. Os ixodídeos estão arranjados em dois grandes grupos com 13 gêneros distribuídos em cinco subfamílias (Hoogstraal & Aeschlimann 1982): grupo Prostriata, subfamília Ixodinae (1 gênero, 240 espécies); e Metastriata com as subfamílias Amblyomminae (2 gêneros, 125 espécies), Haemaphysalinae (1gênero, 147 espécies), Hyalomminae (1 gênero, 22 espécies) e Rhipicephalinae (8 gêneros, 119 espécies), totalizando aproximadamente 650 espécies conhecidas. Segundo Filippova (1984) há apenas duas subfamílias: Ixodinae (Prostriata) e Amblyomminae (Metastriata).

Os Ixodidae são conhecidos como “carrapatos duros” por apresentarem escudo em todas as fases do ciclo biológico. Tem ampla distribuição como parasitos de vertebrados. O ciclo de vida compreende: ovo, larva, apenas um estagio ninfal e adultos. Cada estágio requer longos repastos sangüíneos, fixando-se vários dias ao hospedeiro. Há necessariamente uma alimentação antes de cada muda. As fêmeas sugam apenas uma vez, ingerindo grande quantidade de sangue para a produção de milhares de ovos postos numa única oviposição, morrendo em seguida. Geralmente, os machos alimentam-se intermitentemente, permanecendo no hospedeiro por semanas ou meses (Oliver 1989). Quando em fase não parasitaria (entre mudas), são encontrados nos mais variados ambientes.

Os hospedeiros para muitas espécies de Ixodidae são as aves, os répteis e os anfíbios, mas em geral, os carrapatos alimentam-se em mamíferos, dos quais, os roedores são os mais parasitados (Woolley 1988, Oliver 1989).

Poucas espécies de Ixodidae realizam seu ciclo em um ou dois hospedeiros. Porém, a maioria tem três hospedeiros sendo que,

freqüentemente, as fases imaturas alimentam-se em animais de pequeno porte, enquanto os adultos ingurgitam e realizam cópula em animais de médio e grande porte. Neste caso, todas as mudas e oviposição ocorrem fora dos hospedeiros (Oliver 1989).

Em fase de não-parasitismo, os carrapatos utilizam habitats especializados para o seu desenvolvimento, bem como, oportunidade de encontrar seus hospedeiros e realizarem as próximas refeições. No caso de espécies nidícolas, tais como muitos argasídeos e várias espécies de *Ixodes*, as condições de especialização do habitat são estratégicas para completar seu ciclo biológico que é regulado sazonalmente (Beloserov 1982).

Para a maioria das espécies de carrapatos que se distribuem nas regiões subtropicais de climas temperados, ocorre uma geração anual. Entretanto, espécies que vivem em regiões com climas rigorosos, podem levar anos para completar uma geração (Oliver 1989).

1.2. Carrapatos no Brasil

Cerca de 56 espécies de carrapatos foram assinalados para o Brasil, distribuídas entre as famílias: Ixodidae - com os gêneros *Amblyomma* (N=32), *Ixodes* (N=9), *Haemaphysalis* Koch, 1844 (N=3), *Rhipicephalus* Koch, 1844 (N=1), *Boophilus* Curtice, 1891 (N=1), *Anocentor* Schulze, 1937 (N=1); e Argasidae - com os gêneros *Ornithodoros* (N=5), *Argas* (N=1), *Otobius* (N=1) (Aragão & Fonseca 1961, Kohls et al. 1969, Jones et al. 1972, Labruna et al. 1997, Borges et al. 1998, Barros-Battesti & Knysak 1999, Guimarães et al. 2001).

O gênero *Antricola* (Argasidae) foi encontrado pela primeira vez no Brasil em cavernas do Município de Itabaiana, Estado de Sergipe, e segundo Guimarães et al. (2001), trata-se possivelmente de uma nova espécie. Uma espécie de *Ixodes* próxima a *I. (Haemixodes) longiscutatum* Boero, 1944 foi coletada recentemente em morcego do Parque Nacional de Superagüi, litoral Norte do Estado do Paraná (M. Arzua, comunicação pessoal).

As maiores contribuições sobre a fauna ixodológica brasileira estão registradas principalmente nas obras de Fonseca (1935), Aragão (1936) e Aragão & Fonseca (1952, 1961).

Estudos de carrapatos em ambientes silvestres, relacionados a mamíferos e aves foram ainda realizados por Guimarães (1945), Ribeiro (1966/1967), Oba & Baggio (1977), Barros & Baggio (1992), Arzua et al. (1994), Castro & Serra-Freire (1996), Marini et al. (1996), Arzua & Barros-Battesti (1999), Rojas et al. (1999), Barros-Battesti et al. (2000a) e Labruna et al. (2000a,b).

A biologia em laboratório de algumas espécies que ocorrem em animais silvestres foi estudada por Davis (1952), Oba & Schumaker (1983), Schumaker & Barros (1994, 1995), Schumaker et al. (2000), Labruna et al. (2000c).

Em geral os carrapatos são mais estudados pela sua importância médico-veterinária ou importância econômica, principalmente aquelas espécies que atacam humanos e animais domésticos. São ectoparasitos potencialmente transmissores de agentes patogênicos aos seus hospedeiros, tais como vírus, bactérias, protozoários e fungos.

Segundo Hoogstraal (1985), os carrapatos transmitem maior variedade de agentes infecciosos do que qualquer outro grupo de artrópodes hematófagos.

Algumas espécies podem ainda secretar toxinas tão potentes que apenas um único carrapato pode causar paralisia flácida ascendente (tetraplegia) (Piesman & Gage 1996).

Poucas espécies de carrapatos que ocorrem no país foram citadas como transmissoras de patógenos entre animais silvestres e o homem (Aragão 1936, Davis 1952, Flechtmann 1977, Abel et al. 2000, Guimarães et al. 2001).

Dentre as espécies do gênero *Amblyomma*, *A. aureolatum* (Pallas, 1772) (= *A. striatum* Koch, 1844) já foi encontrada naturalmente infectada pela bactéria *Rickettsia rickettsi*, causadora da Febre Maculosa e pode experimentalmente ser transmissora desse agente etiológico (Pessoa &

Martins 1978). Outro carrapato comum em animais domésticos e silvestres é *A. cajennense* (Fabricius, 1787) conhecido como carrapato-estrela. Esta espécie é uma praga nos campos e pastagens no período de inverno quando estão em fase imatura (micuins), sendo também a principal vetora de *R. rickettsi* em áreas endêmicas de Febre Maculosa no Brasil (Guimarães et al. 2001). Nas áreas endêmicas dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, Lemos et al. (1997a,b) encontraram vários ixodídeos infectados com microrganismos semelhantes às riquetsias, onde casos clínicos de riquetsiose em humanos foram confirmados por necropsias.

Estudos realizados numa área com casos de doença de Lyme-Simile no Município de Itapevi, SP (Yoshinari et al. 1995, 1997, 1999, Barros-Battesti et al. 2000a,b), mostraram que carrapatos das espécies *A. cajennense*, *A. aureolatum* e *Ixodes loricatus* Neumann, 1899, podem apresentar infecção natural com espiroquetídeos e parecem desempenhar um papel importante na manutenção do ciclo silvestre dessa doença. A presença de espiroquetídeos em carrapatos da espécie *I. loricatus* e em pequenos mamíferos silvestres, foi também registrada por Abel et al. (2000) para a região de Cotia, SP, através de reação de imunofluorescência indireta. *A. aureolatum* e *A. cajennense* picam animais silvestres e domésticos, sendo possivelmente responsáveis pela transmissão do patógeno no ambiente peridomiciliar (Guimarães et al. 2001).

A espécie *A. aureolatum*, por apresentar escudo amarelado e ter sido sempre encontrada na fase adulta parasitando cães, ficou popularmente conhecida como “carrapato-amarelo-do-cão”. Porém, pode parasitar cabra, boi, veado, gambá, quati, carnívoros silvestres e o homem (Guimarães et al. 2001). Distribuiu-se na região Neotropical, ocorrendo na Argentina, Uruguai, Colômbia, Guiana Francesa, Paraguai, Suriname e Brasil (RJ, SP, PR, SC, RS). Aragão (1936) referiu-se também ao parasitismo em cavalo, porco e capivara. Este autor ainda apontou os estados de MG, PE, BA, PI e SE como área de distribuição. O único registro de hospedeiro para os estágios imaturos refere-se ao roedor *Euryzomatomys spinosus* (Guimarães et al. 2001). Portanto, até o presente momento, *A. aureolatum* sempre foi citada como

parasito de mamíferos. Ainda que tenha sido registrado em áreas quentes do Brasil, este carrapato ocorre principalmente nos cães que freqüentam áreas rurais das regiões Sul e Sudeste, juntamente com *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodidae) e outras espécies de *Amblyomma* (Labruna et al. 2002b).

1.2.1. Situação taxonômica para as espécies de *Amblyomma* e *Ixodes*

As espécies de *Amblyomma* listadas por Aragão & Fonseca (1961) eram 33. Destas, *A. mantiquirense* Aragão, 1908, caiu em sinonímia com *A. naponense* (Packard, 1869) e *A. tasquei* (Floch & Abonnenc, 1940) foi sinonimizada com *A. extraoculatum* Neumann, 1899 (Keirans 1992). Não se sabe ao certo se *A. fulvum* Neumann, 1899, ocorre no Brasil (Keirans 1972).

As seguintes espécies de *Amblyomma* são válidas para o país (Guimarães et al. 2001):

A. albopictum Neumann, 1899; *A. aureolatum*; *A. auricularium* (Conil, 1878); *A. brasiliense* Aragão, 1908; *A. cajennense*; *A. calcaratum* Neumann, 1899; *A. coelebs* Neumann, 1899; *A. cooperi* Nuttall & Warburton, 1908; *A. dissimile* Koch, 1844; *A. extraoculatum* Neumann, 1899; *A. fuscum* Neumann, 1907; *A. geayi* Neumann, 1899; *A. goeldii* Neumann, 1899; *A. humerale* Koch, 1844; *A. incisum* Neumann, 1906; *A. longirostre* (Koch, 1844); *A. multipunctum* Neumann, 1899; *A. naponense* (Packard, 1869); *A. nodosum* Neumann, 1899; *A. oblongoguttatum* Koch, 1844; *A. ovale* Koch, 1844; *A. pacae* Aragão, 1911; *A. parkeri* Fonseca & Aragão, 1952; *A. parvum* Aragão, 1908; *A. pictum* Neumann, 1906; *A. pseudoconcolor* Aragão, 1908; *A. rotundatum* Koch, 1844; *A. scalpturatum* Neumann, 1906; *A. scutatum* Neumann, 1899; *A. tigrinum* Koch, 1844; *A. triste* Koch, 1844 e *A. varium* Koch, 1844.

Camicas et al. (1998) consideram *A. geayi* sinonímia de *A. perpunctatum* (Packard, 1869); *A. dissimile* sinonímia de *A. bibroni* (Gervais, 1842); *A. pseudoconcolor* sinonímia de *A. auricularium*, e *A. concolor* Neumann, 1899, uma espécie válida. Na verdade, esses autores cometeram um equívoco, pois *A. concolor* é uma sinonímia de *A. auricularium* e *A.*

pseudoconcolor é uma espécie válida (Jones et al. 1972, Keirans 1992, Guimarães et al. 2001). Por outro lado, há controvérsias na aceitação das sinonímias propostas para *A. geayi* e para *A. dissimile*.

Com relação ao gênero *Ixodes*, Aragão & Fonseca (1961) listaram nove espécies para o Brasil: *I. amarali* Fonseca, 1935; *I. aragaoi* (Fonseca, 1935); *I. cooleyi* Aragão & Fonseca, 1954; *I. coxaefurcatus* Neumann, 1899; *I. didelphidis* Fonseca & Aragão, 1951; *I. fuscipes* Koch, 1844; *I. loricatus*; *I. luciae* Senevet, 1940 e *I. schulzei* Aragão & Fonseca, 1951. Todas elas foram incluídas no subgênero *Ixodes* por Clifford et al. (1973).

Morel & Perez (1978) sinonimizaram *I. didelphidis* e *I. coxaefurcatus* com *I. loricatus*, porém, Barros-Battesti et al. (2000a) mantiveram *I. didelphidis* e *I. loricatus* como espécies distintas até que os estudos moleculares fossem concluídos. Recentemente, após obtenção dos resultados de biologia tradicional e molecular, confirmou-se a sinonímia (Labruna et al. 2002a).

Cooley & Kohls (1945) e Fairchild et al. (1966), consideraram *I. aragaoi* sinonímia de *I. affinis*. Camicas et al. (1998) validaram *I. aragaoi*, sugerindo que *I. pararicinus* é uma sinonímia de *I. aragaoi* e dividiram o gênero *Ixodes* em seis gêneros: *Ceratixodes*, *Eschatocephalus*, *Lepidixodes*, *Pholeoixodes*, *Scaphixodes* e *Ixodes*. Para estes autores, com exceção das espécies *I. aragaoi* e *I. auritulus*, todas as demais espécies brasileiras do gênero *Ixodes*, consideradas válidas, foram incluídas no subgênero *Amerixodes*. A espécie *I. auritulus* Neumann, 1904, pertencente ao subgênero *Multidentatus* (Clifford et al. 1973) foi transferida para o gênero *Scaphixodes* por Camicas et al. (1998). No entanto, esta nova nomenclatura não tem sido bem aceita entre os taxonomistas.

A espécie *I. auritulus* foi registrada pela primeira vez no Brasil por Cooley & Kohls (1945) na Serra de Itatiaia, RJ. Cinco décadas mais tarde, esta espécie foi encontrada em aves Passeriformes e Columbiformes na cidade de Curitiba, Estado do Paraná (Arzua et al. 1994, Arzua & Barros-Battesti 1999).

Barros-Battesti & Knysak (1999) estudando as espécies de *Ixodes* depositadas em coleções brasileiras, verificaram que o único material

existente de *I. cooleyi* é o lote tipo procedente de Oruro, Bolívia, não havendo, portanto, registros para o Brasil. Dentre as espécies estudadas somente *I. auritulus* e *I. fuscipes* foram coletadas em aves. Com exceção de *I. aragaoi* que se alimenta preferencialmente em cervídeos, todas as outras são comumente ectoparasitos de marsupiais e roedores silvestres.

Recentemente, duas espécies novas de *Ixodes* foram constatadas, uma parasitando aves de caverna no Estado do Paraná (Guimarães et al. 2001), e outra encontrada em morcego do Parque Nacional de Superagüi (M. Arzua, comunicação pessoal). Esta última é próxima a *I. (Haemixodes) longiscutatum* que tem distribuição restrita à Argentina e Uruguai (Venzal et al. 2001).

1.2.2. Espécies de carrapatos que ocorrem no Estado do Paraná

Há registros para 15 espécies do gênero *Amblyomma*: *A. aureolatum*, *A. cajennense*, *A. calcaratum*, *A. cooperi*, *A. geayi*, *A. incisum*, *A. longirostre*, *A. naponense*, *A. nodosum*, *A. oblongoguttatum*, *A. ovale*, *A. pseudoconcolor*, *A. rotundatum*, *A. tigrinum* e *A. triste* (Aragão 1936, Ribeiro 1970/1971, Falce 1986, Barros & Baggio 1992, Sinkoc et al. 1998, Guimarães et al. 2001).

Na literatura são citadas três espécies de *Ixodes*: *I. aragaoi*, *I. loricatus* (= *I. didelphidis*) (Ribeiro 1966/1967) e *I. auritulus* (Arzua et al. 1994, Arzua & Barros-Battesti 1999). Porém, este número será alterado para cinco após a descrição das duas novas espécies.

Outros registros referem-se a *Haemaphysalis juxtakochi* Cooley, 1946 (Barros & Baggio 1992); *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ribeiro 1966/1967); *Boophilus microplus* (Canestrini, 1888) (Falce et al. 1983); *Anocentor nitens* Neumann, 1897; *Argas miniatus* Koch, 1844 (Ribeiro 1966/1967, Barros & Baggio 1992) e *Ornithodoros* sp. (material de coleção).

Até o presente momento foram registradas somente três espécies de carrapatos que parasitam aves silvestres no Estado do Paraná: *A. longirostre* (registro na Coleção Acarológica do Museu de História Natural Capão da Imbuia), *I. auritulus* e *Ixodes* sp. n. (Arzua & Barros-Battesti 1999, Guimarães et al. 2001).

Dessa forma, o presente estudo tem a finalidade de acrescentar maiores informações aos resultados previamente obtidos, contribuindo para o conhecimento das relações carrapatos/aves/fatores ambientais de uma área urbana florestada do Município de Curitiba, PR.

2. OBJETIVOS

2.1 – Objetivo Geral

Estudar os aspectos bioecológicos e taxonômicos dos carrapatos coletados nas aves silvestres (em fase parasitária), no chão e na vegetação (em fase não parasitária) do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR.

2.2 – Objetivos específicos

Capítulo 1. Bioecologia de carrapatos (Acari: Ixodidae) que parasitam aves silvestres no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR.

Capítulo 2. Caracterização taxonômica dos estágios imaturos de *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae), pela análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial e descrição da larva utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura.

Capítulo 1

Bioecologia de carrapatos (Acari: Ixodidae) que parasitam aves silvestres no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR.

1. INTRODUÇÃO

Diversas aves endêmicas da Floresta Atlântica paranaense possuem alta prevalência de artrópodes parasitos, dentre eles larvas de carrapatos. Marini et al. 1996 colheram 120 larvas do gênero *Amblyomma* e uma única ninfa do gênero *Ixodes* durante o inverno. Entretanto, nesta mesma área, durante o verão, foram coletadas sete ninfas de *Ixodes* sp. e apenas uma única larva de *Amblyomma* sp.

Com base em registros de carrapatos depositados nas coleções acarológicas do Instituto Butantan (IBSP), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP (FMVZ-USP), Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI) e dados obtidos na literatura, as seguintes espécies foram encontradas parasitando aves: ***Ixodes fuscipes*** (Passeriformes da família Emberizidae) (Barros-Battesti & Knysak 1999); ***I. auritulus*** (*Turdus rufiventris*, *T. albicollis*, *T. amaurochalinus*, *Conopophaga lineata*, *Columbina talpacoti*, *Syndactyla rufosuperciliata*, *Clibanornis dendrocolaptoides*, *Trichotraupis melanops*, *Basileuterus leucoblepharus*, *Penelope superciliaris*, *Thamnophilus ruficapillus*, *T. caerulescens*, *Knipolegus nigerrimus*) (IBSP, MHNCI, Arzua & Barros-Battesti, 1999); ***Amblyomma cajennense*** (*T. caerulescens*, *Dysithamnus mentalis*, *Pyriglena leucoptera*, *C. lineata*, *Automolus leucophthalmus*, *Sittasomus griseicapillus*, *Mionectenes rufiventris*, *Phylloscartes ventralis*, *Tolmomyias sulphurescens*, *Platyrinchus mystaceus*, *Myiophobus fasciatus*, *Lathrotriccus euleri*, *Chiroxiphia caudata*, *Schiffornis virescens*, *T. rufiventris*, *T. leucomelas*, *T. albicollis*, *Cyclarhis gujanensis*, *B. leucoblepharus*, *Schistochlamys ruficapillus*, *Tachyphonus coronatus*, *T. melanops*, *Tangara cayana*, *Haplospiza unicolor*, *Embernagra longicauda*, *Arremon flavirostris*, *Saltator similis*) (Rojas et al. 1999); ***A. calcaratum*** (Passeriformes) (FMVZ-USP); ***A. cooperi*** (*Rhea americana*) (FMVZ-USP); ***A. longirostre*** (*Crax fasciolata*, *Rhamphastos* sp., Passeriformes) (IBSP, FMVZ-USP); *Cacicus* sp., *Turdus* sp., *Saltator* sp., *Penelope* sp., *Crotophaga* sp. (Aragão 1936); ***A. pseudoconcolor*** (*Nothura maculosa*) (IBSP); ***A. tigrinum***

(*Rhynchothus rufescens*) (Evans et al. 2000); ***Argas miniatus*** (*Gallus gallus*) (IBSP, Evans et al. 2000).

Com relação a bioecologia de carrapatos que parasitam aves silvestres no Brasil, durante os meses de março a setembro de 1997, Rojas et al. (1999) realizaram um estudo em áreas florestadas e de Cerrado do Estado de Minas Gerais, verificando a influência das variáveis ambientais na prevalência de infestação de ninfas de *A. cajennense* em Passeriformes.

No período de 1990 a 1995, durante anilhamento de aves em áreas verdes de Curitiba e Região Metropolitana, 3,5% foram encontradas infestadas por carrapatos imaturos do gênero *Amblyomma* (n=88) e 6,1% por *I. auritulus* (n=102) nos três estágios biológicos (Arzua & Barros-Battesti 1999). Dentre os parques investigados, o Bosque Reinhard Maack apresentou um dos maiores índices de infestação de carrapatos da espécie *I. auritulus*, colhidos principalmente em *Turdus rufiventris* (20,8%). Dessa forma, esta área verde foi escolhida para o desenvolvimento do presente estudo que teve os objetivos:

- Estudar a ixodofauna das aves silvestres e a bioecologia das relações carrapatos/aves/fatores ambientais em três ambientes distintos, mata, capoeira e área limítrofe do Bosque Reinhard Maack;
- Comparar a prevalência da infestação das aves em três ambientes distintos, mata, capoeira e área de limítrofe do Bosque;
- Verificar a presença de carrapatos na vegetação rasteira e no solo, em fase não parasitária.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Área de estudo

O Município de Curitiba (25°25'40"S, 49°16'23"W), com 430 km² e uma população em torno de dois milhões de habitantes, está localizado a 934,57 m acima do nível do mar (Maack 1968, IBGE 1995), onde no passado predominaram florestas subtropicais, com *Araucaria angustifolia*. Porém, atualmente estas florestas estão reduzidas a pequenas áreas com floresta primária alterada ou vegetação secundária, formando mosaicos de vegetação

preservada dentro e ao redor da cidade, incluindo outros municípios da região metropolitana. Segundo a classificação de Köppen o clima é do tipo Cfb (mesotérmico úmido com chuvas bem distribuídas e verões brandos), atingindo uma precipitação anual de 1.250 a 2.000 mm e temperaturas médias anuais variando entre 14°C e 19°C (Coelho 1990).

O bosque possui 78.000 m² e localiza-se ao sudeste do Município entre as coordenadas 25°29'18"S, 49°15'34"W. A vegetação é remanescente de Floresta Ombrófila Mista Montana, popularmente conhecida como Floresta com *Araucaria*, em que a espécie *A. angustifolia* apresenta-se abundante e, devido as suas características de porte e copa, emerge sobre o restante da vegetação arbórea (Veloso et al. 1991).

As alterações realizadas pelo homem, como a exploração seletiva e a introdução de espécies exóticas, fizeram com que o Bosque perdesse sua primitividade. Outros fatores que também influenciaram na característica da floresta foram o desenvolvimento residencial da cidade em seu entorno e o uso atual como área de lazer com trilhas, construções de apoio e educativas.

Três ambientes do Bosque foram selecionados para as coletas (Figura 1).

Capoeira - formada por um único estrato arbóreo, denominado tecnicamente como Floresta Secundária em Estágio Inicial de Regeneração. Nesta área destacam-se algumas espécies nativas como *Schinus terebinthifolius* (aroeira), *Psidium cattleianum* (araçá), *Eugenia uniflora* (pitanga), e uma exótica, *Hovenia dulcis* (uva-do-japão). As alterações feitas no local, como o desvio de águas pluviais através da abertura de dreno, mudaram as condições edáficas, tornando-o mais úmido. Isto facilitou a adaptação de algumas espécies no local, tais como, *Impatiens walleriana*, vulgarmente conhecida como maria –sem-vergonha e *Hedychium coronarium*, conhecida como lírio-branco, ambas exóticas (Lorenzi & Souza 1995).

Mata - mantém a cobertura original de Floresta com *Araucaria*, porém contém várias trilhas produzidas por transeuntes.

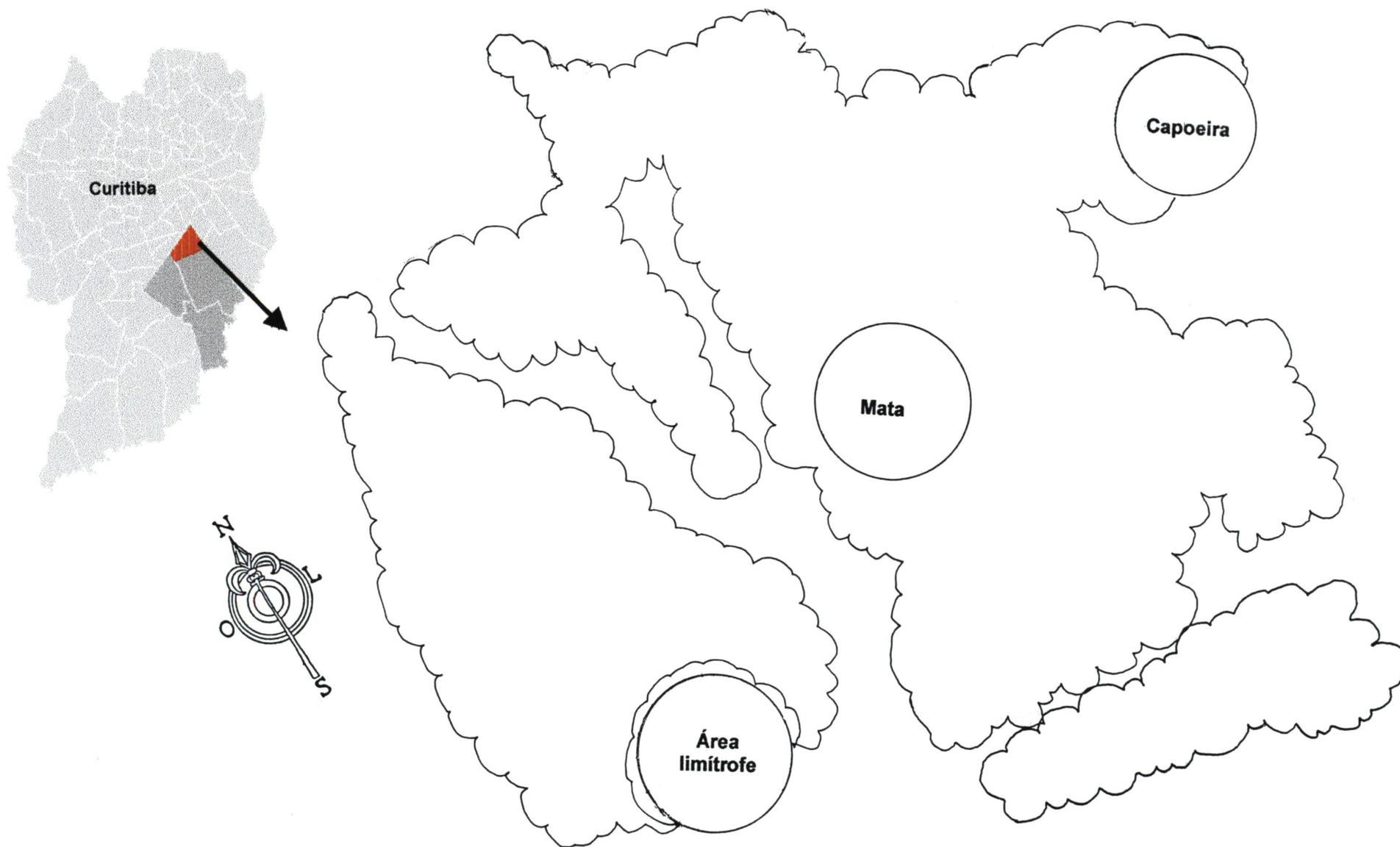


Figura 1. Desenho esquemático (esc.1:2000) do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, incluindo os três ambientes de estudo.

Área limítrofe - caracterizada pela borda da mata com área urbana, embora no início da década de 90 tenha sido uma área de banhado, cuja característica foi perdida.

2.2. Captura das aves

As coletas foram mensais, durante um dia por mês, sempre na última semana de cada mês, entre janeiro de 1999 a dezembro de 2000.

Para a captura das aves foram utilizadas 13 redes neblina do tipo “mist nets”, medindo 12 metros de comprimento por 2,5 m de largura, com malha de 36 mm. As redes foram dispostas da seguinte maneira: seis redes na mata, quatro na capoeira (Figura 2) e três na área limítrofe, sempre a 20 cm do solo entre 7:00 e 17:00 horas, nos três ambientes selecionados.

As redes eram vistoriadas a cada 40 minutos para a retirada das aves, que imediatamente eram colocadas em sacos de pano e transportadas ao local de trabalho.

Após a vistoria da pele e plumagem, as aves eram identificadas, marcadas com tinta esmalte no dedo médio do pé esquerdo para evitar recaptura no mesmo dia, e em seguida, eram libertadas no ambiente.

A identificação taxonômica das aves foi realizada de acordo com Meyer de Schauensee (1983), Narosky & Yzurieta (1993) e Sick (1997).

2.3. Colheita de carrapatos em fase parasitária

Carrapatos aderidos à pele da garganta e da cabeça das aves foram removidos por torção no sentido horário com auxílio de pinças. Aqueles encontrados soltos na plumagem foram igualmente colhidos (Figura 3). A seguir, foram transferidos vivos para frascos de vidros tampado com tecido de algodão, recebendo um rótulo contendo um número de campo. No final do dia de colheita, eram transportados ao Laboratório de Parasitologia do Museu de História Natural Capão de Imbuia (MHNCI) para posterior identificação.

2.4. Colheita de carrapatos em fase não parasitária

Para as colheitas de carrapatos no chão e na vegetação, foram utilizadas armadilhas de solo (Figura 4), arrastão (Figura 5) e gelo-seco.

Durante os 24 meses de trabalho em campo, 30 armadilhas de solo do tipo "pitfall" medindo 15 cm de altura por 10 cm de diâmetro, contendo 50 ml de álcool 70%, foram instaladas no chão. Para cada ambiente, foram selecionadas 10 armadilhas que permaneceram enterradas cinco dias consecutivos/mês.

Diariamente as armadilhas de solo foram vistoriadas para a coleta de carrapatos e reposição do álcool.

Para a obtenção de carrapatos da vegetação rasteira, utilizou-se o método de arrastão, que consiste na aplicação manual de uma flanela de 1,5 m de comprimento por 80 cm de largura, presa num suporte de madeira. O arrastão sobre a vegetação foi realizado sempre no mesmo dia de captura das aves. Os carrapatos aderidos à flanela foram colocados vivos em frascos de vidro com tampa de tecido e transportados ao laboratório para identificação. Paralelamente, recolheu-se 1 m² de folhiço em pontos aleatórios do Bosque, sendo acondicionado em saco plástico de 50 litros, para posterior triagem.

Nos meses de fevereiro, maio, agosto e novembro de 2000, introduziu-se mais uma técnica de coleta de carrapatos em fase não parasitária, armadilhas de gelo seco para a liberação de gás carbônico, conforme modelo de Falco & Fish (1989). No final da tarde do dia anterior à captura das aves, nos meses supracitados, dois kg de gelo seco foram colocados em um buraco de 50 cm² com 15 cm de profundidade escavado, aleatoriamente, no chão do Bosque. Um tecido de algodão branco contendo fita dupla face nas laterais, foi colocado sobre o buraco.

Na manhã seguinte, aqueles carrapatos atraídos pelo gás carbônico, que permaneciam aderidos à fita, eram recolhidos e acondicionados para posterior identificação em laboratório.

Trinta ninhos de aves, principalmente da espécie *T. rufiventris*, foram vistoriados para obtenção de carrapatos.



Figura 2. Aspecto geral do ambiente de capoeira com uma rede de neblina instalada.

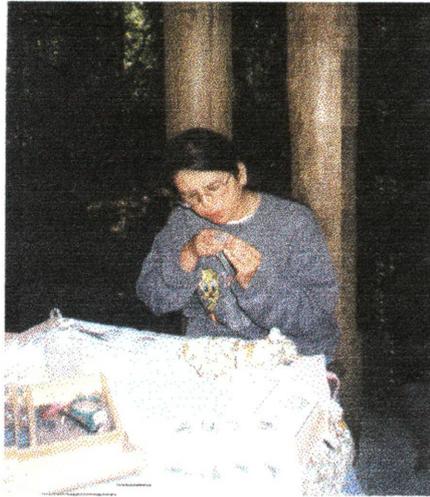


Figura 3. Vistoria de aves para carrapatos.



Figura 4. Armadilhas de solo.



Figura 5. Arrastão na vegetação.

2.5. Identificação taxonômica de carrapatos

Os carrapatos adultos foram identificados através das chaves de Mendez-Arocha & Ortiz (1958), Aragão & Fonseca (1961), Fairchild et al. (1966), Jones et al. (1972) e Guimarães et al. (2001). A nomenclatura utilizada foi baseada em Clifford et al. (1973), Keirans (1992), Klompen et al. (1996), nas quais *Ixodes* é mantida como gênero único.

Os carrapatos imaturos do gênero *Amblyomma*, quando ingurgitados, foram mantidos à 25°C e 90% de umidade, em estufa com demanda de oxigênio (B.O.D.), para sofrerem muda para o estágio seguinte. Aqueles que morreram antes da muda, ou ainda, que não estavam ingurgitados, foram fixados em álcool 70% e posteriormente preparados para identificação.

A identificação taxonômica das larvas de *Amblyomma* foi baseada em quetotaxia, conforme Clifford & Anastos (1960), Famadas et al. (1997) e Amorim & Serra-Freire (1999). A identificação das ninfas, bem como a confirmação do táxon, foram obtidos pelo seqüenciamento de genes do fragmento 12S rDNA mitocondrial, realizado para os três estágios biológicos, na Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, Estados Unidos. A identificação taxonômica das larvas e ninfas de *Ixodes* foi baseada em Nuttall (1916), Arthur (1960), Clifford et al. (1973) e Durden & Keirans (1996).

Todos os carrapatos coletados foram tombados na coleção Parasitológica do Museu de História Natural Capão da Imbuia.

2.6. Procedimentos Estatísticos

Devido à não homogeneidade e à grande variabilidade dos dados utilizou-se análises não paramétricas.

2.6.1. Aplicação dos Coeficientes de Correlação de Spearman = r_s , Pearson = r , Teste de Friedman e Teste de Fisher

Os números absolutos de aves e carrapatos coletados mensalmente em parasitismo foram correlacionados às variáveis meteorológicas de temperatura, umidade relativa do ar e pluviometria. Por serem variáveis discretas (número de aves e carrapatos) e variáveis contínuas (dados

meteorológicos), as correlações foram obtidas pelo coeficiente de Spearman = r_s (Siegel 1981).

Para verificar as correlações entre as variáveis meteorológicas e as prevalências mensais de carrapatos coletados nas aves (variáveis contínuas), utilizou-se o Coeficiente de Pearson = r .

As prevalências mensais de infestação foram calculadas para estipular o grau de infestação mensal de carrapatos nas aves, durante os 24 meses de estudo, correspondendo à razão entre o número de aves infestadas (AI) e o número de aves examinadas (AE).

O Teste de Friedman foi utilizado para comparar as prevalências de infestação das aves, entre as quatro estações sazonais nos dois anos de coleta, bem como, entre as prevalências de infestação das aves capturadas nos três ambientes de estudo.

As diferenças entre as proporções de larvas e ninfas de carrapatos do gênero *Amblyomma* em relação aos períodos seco/frio (outono e inverno) e chuvoso/quente (primavera e verão), durante os dois anos, foram analisadas pelo Teste de Fisher. Este teste é útil para análise de dados discretos nominais ou ordinais, quando as amostras independentes são pequenas (Siegel 1981).

A intensidade média de infestação (IM) correspondeu ao número de carrapatos obtidos, dividido pelo total de aves infestadas e a intensidade relativa de infestação (IR) correspondeu ao número de carrapatos obtidos, dividido pelo total de aves examinadas.

Os dados meteorológicos semanais e mensais (umidade do ar, temperatura e pluviometria) (Anexos 1 e 2) foram fornecidos pelo Sistema Meteorológico do Paraná (SIMEPAR).

As análises estatísticas foram efetuadas pelo programa StatGraf (Statistical Graphics System 1998).

3. RESULTADOS

3.1. Carrapatos em fase de parasitismo nas aves: relação parasitos/hospedeiros/fatores ambientais

Foram examinadas 876 aves pertencentes a 52 espécies distribuídas entre 14 famílias das ordens Passeriformes (N=11), Piciformes (N=01), Columbiformes (N=01) e Trochiliformes (N=01). Do total, 32 indivíduos de onze espécies, anilhados em 1993 e 1994, foram recapturados (Anexo 3).

Dentre as aves examinadas, 142 (16,21%) exemplares de 17 espécies estavam parasitados por 117 carrapatos das espécies *Amblyomma aureolatum* (489 larvas e 210 ninfas) e *Ixodes auritulus* (7 larvas, 7 ninfas e 4 fêmeas).

As prevalências mensais de aves examinadas e infestadas, bem como, as intensidades médias e relativas de infestação mensal, foram calculadas para o total de carrapatos e, separadamente, para larvas e ninfas (Figuras 6, 7 e 8).

As prevalências mais altas de infestação para o total de carrapatos coletados foram observadas em julho de 1999 (38,71%) e em junho de 2000 (36,00%). Da mesma forma, as prevalências de aves infestadas com larvas foram mais altas naqueles meses, apresentando 35,48% e 32,00%, respectivamente. Em relação às infestações com ninfas, as mais altas prevalências de aves infestadas foram obtidas em dezembro de 1999 (23,33%) e em outubro de 2000 (26,92%). Por outro lado, as maiores intensidades médias de infestação para o total de carrapatos por hospedeiro, foram verificadas em março (39,00) e abril (33,17) de 1999. Nestes meses também foram registradas as maiores intensidades médias de infestação por hospedeiro para larvas, sendo 37,00 e 31,67, respectivamente. Para as ninfas, a intensidade média de infestação foi mais alta no mês de novembro de 2000 (7,00), variando nos outros meses entre 1,00 e 4,71 por hospedeiro.

Em 1999 as menores prevalências de aves infestadas com o número total de carrapatos foram verificadas no mês de março, sendo equivalentes tanto para larvas quanto para ninfas (1,72%).

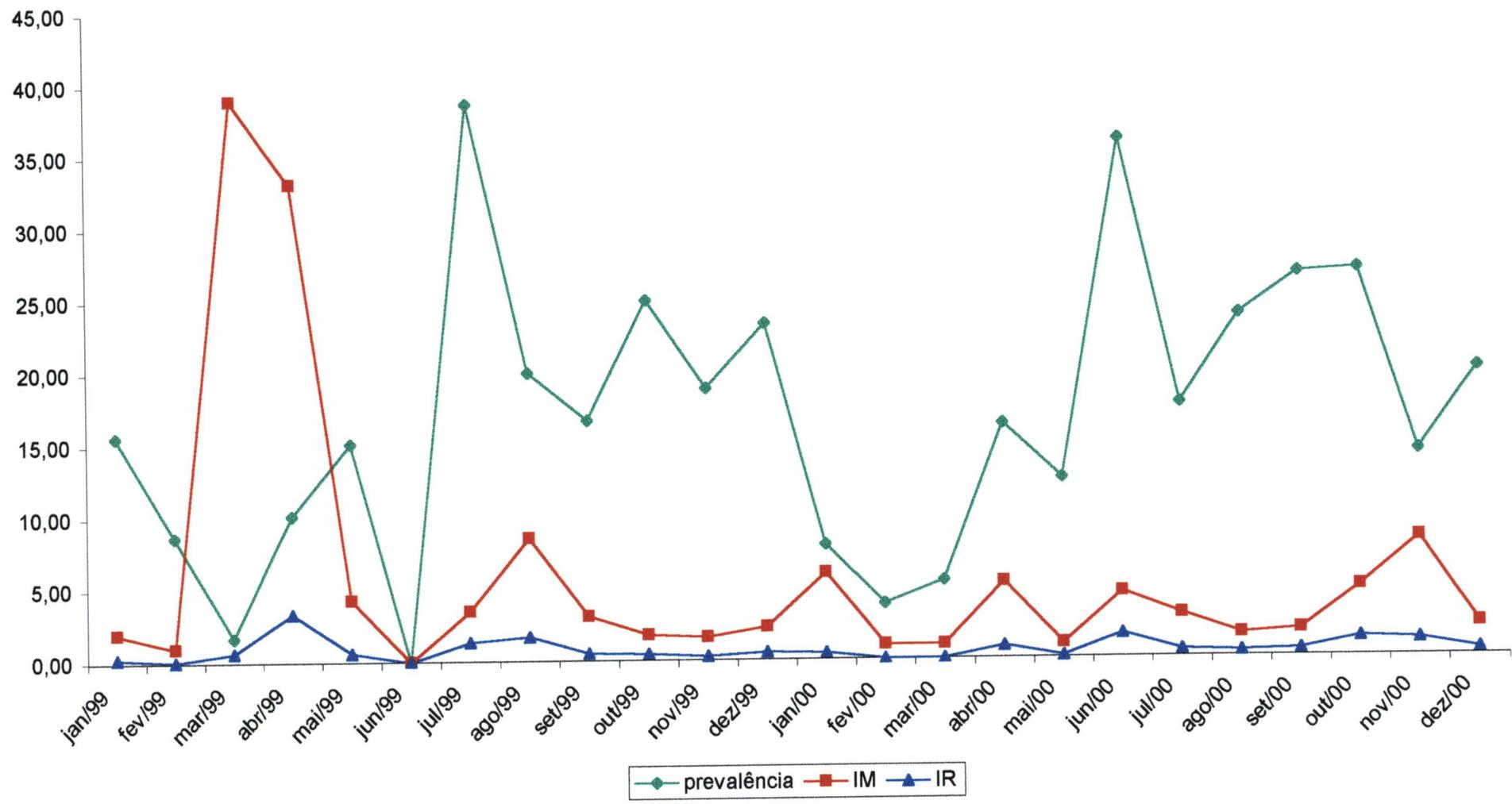


Figura 6. Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com o total de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.

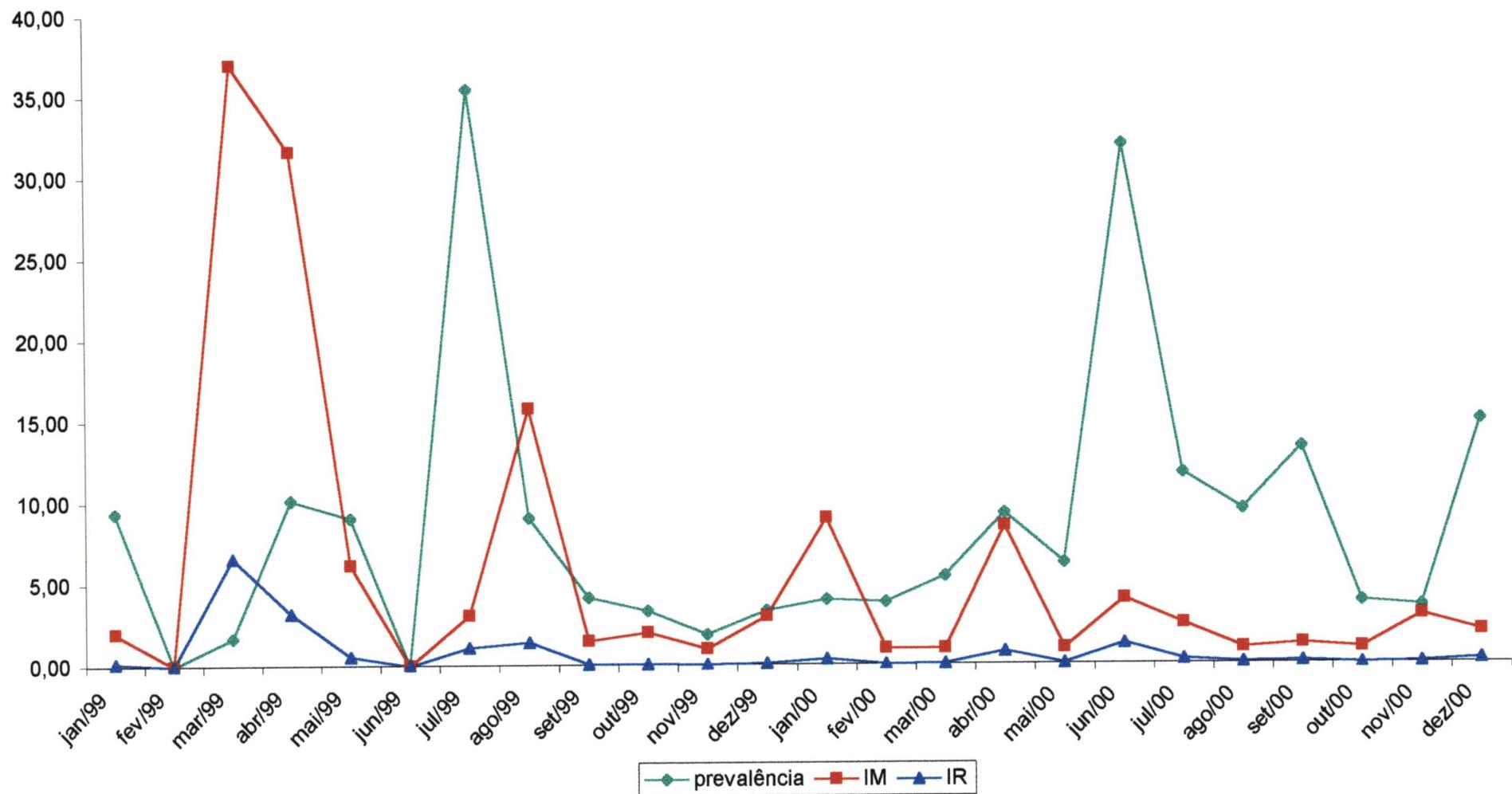


Figura 7. Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com larvas de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.

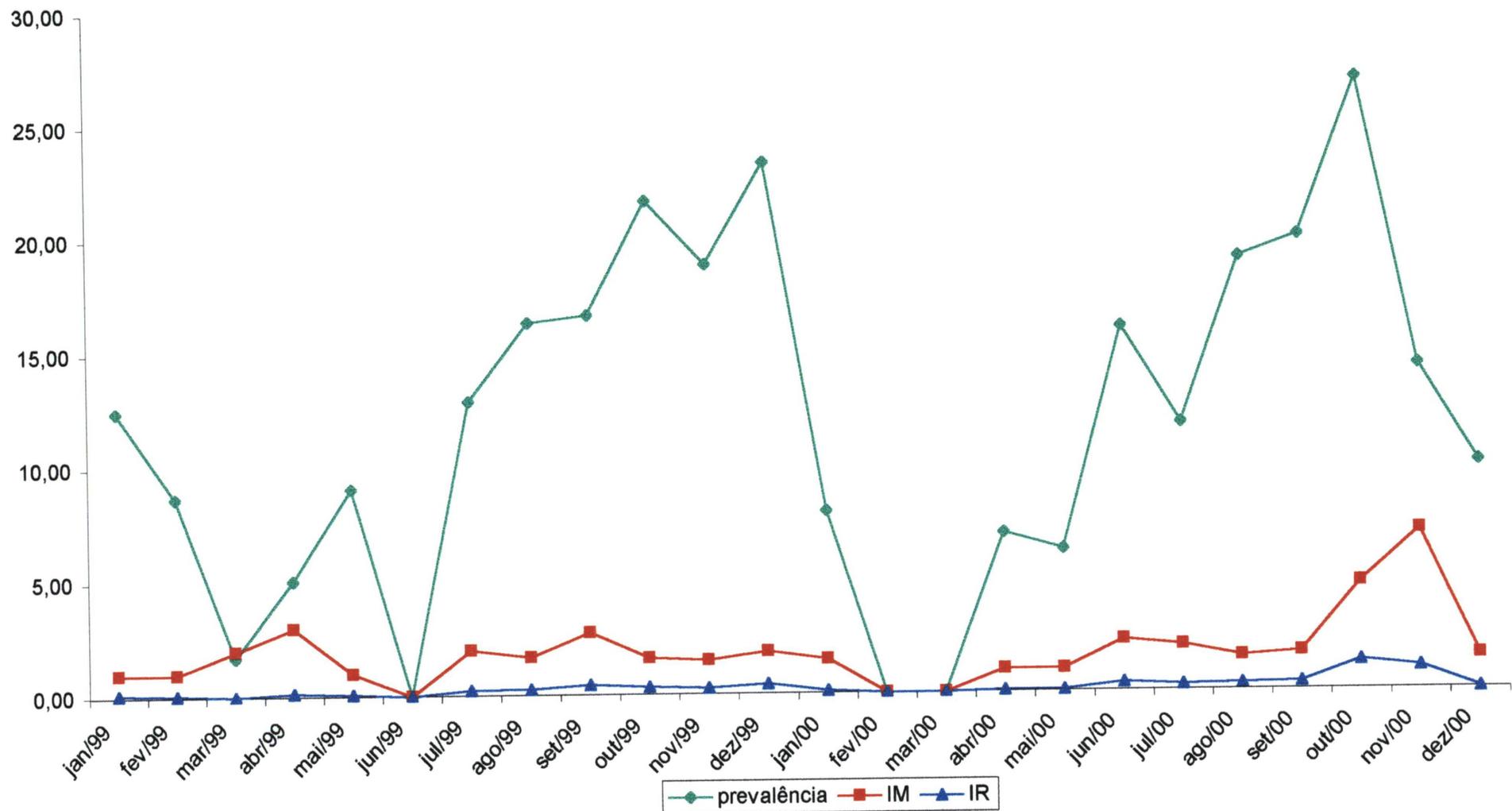


Figura 8. Prevalência mensal de aves examinadas e infestadas com ninfas de carrapatos e intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000.

No mês de fevereiro de 1999 nenhuma ave examinada apresentou infestação com larvas, embora tenham ocorrido duas aves infestadas com ninfas. Por outro lado, o mês de junho foi negativo para carrapatos. Em 2000, a menor prevalência de aves infestadas com o número total de carrapatos ocorreu em fevereiro (3,85%), sendo que para larvas a menor prevalência foi observada em novembro (3,57%), e para ninfas, em maio (6,25%). Prevalências nulas para as ninfas foram registradas em fevereiro e março.

Os números absolutos de aves infestadas e de carrapatos coletados em parasitismo, quando correlacionados às variáveis meteorológicas mensais e semanais de temperatura (mínima, média e máxima), umidade relativa do ar (mínima, média e máxima) e pluviosidade (média e acumulada) (Anexos 1 e 2 e Tabela I), mostraram correlações significativas e inversas ($p < 0,005$) para:

- Número de aves infestadas com larvas e a umidade média relativa do ar semanal;
- Número de aves infestadas com larvas e a pluviosidade média semanal;
- Número de aves com larvas e a pluviosidade acumulada semanal;
- Número de aves infestadas com carrapatos no total e a pluviosidade média semanal;
- Número total de carrapatos e a pluviosidade média semanal;
- Número total de carrapatos e a pluviosidade acumulada semanal;
- Número de larvas e a pluviosidade média semanal.

As prevalências mensais de infestação, tanto para o total de carrapatos como, separadamente, para as larvas e as ninfas, foram correlacionadas pelo Coeficiente de Pearson às variáveis meteorológicas. As correlações foram significativas e inversas somente para a prevalência total de carrapatos e umidade máxima semanal ($r = -0,4490$; $p < 0,05$) (Figura 9) e para a prevalência de larvas e umidade média semanal ($r = -0,4123$; $p < 0,05$) (Figura 10), não sendo significativa para as outras variáveis.

Não houve diferença ($p > 0,05$) entre as prevalências de infestação de larvas e ninfas de carrapatos nas aves, para as quatro estações sazonais entre os dois anos de amostragem (Tabelas II e III).

TABELA I

Coeficiente de correlação de Spearman (=rs) do teste de hipótese nula de associação entre as variáveis meteorológicas e os números absolutos de aves e carrapatos coletados no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, de janeiro de 1999 a dezembro de 2000

Variáveis	Período (N)	Spearman (=rs)	t (N-2)	p
UMES/AIL	24	-0,41531	-2,14137	0,04357
PMES/AIT	24	-0,57924	-3,33291	0,00302
PMES/AIL	24	-0,49832	-2,69588	0,01320
PMES/CT	24	-0,55539	-3,13254	0,00484
PMES/CL	24	-0,42682	-2,21374	0,03752
PLACS/AIL	24	-0,53607	-2,97848	0,00693
PLACS/CT	24	-0,59312	-3,45536	0,00225

UMES, umidade média semanal; PLMES, pluviosidade média semanal; PLACS, pluviosidade acumulada semanal; AIL, aves infestadas com larvas; AIT, aves infestadas com carrapatos no total; CT, número de carrapatos total; CL, número de carrapatos no estágio larval; t (N-2), grau de liberdade; p < 0,05.

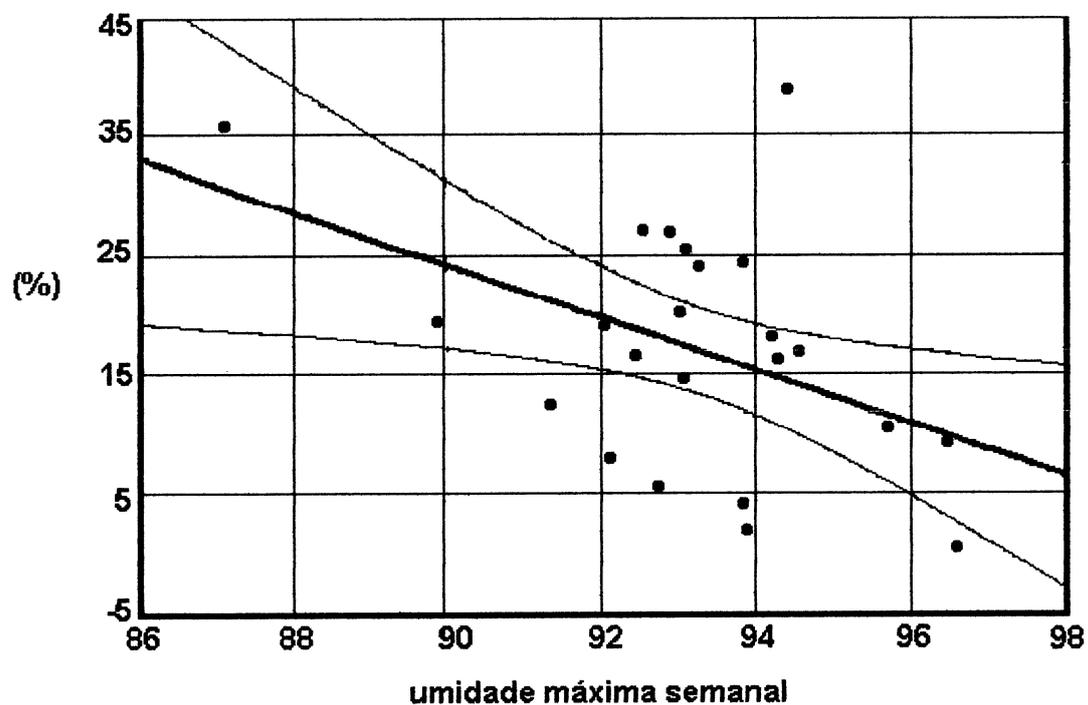


Figura 9. Diagrama de dispersão e reta de regressão linear (95% de confiança) em relação à umidade máxima semanal e a prevalência total de carrapatos (%) coletados nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000 ($r = -0,4490$; $p < 0,05$).

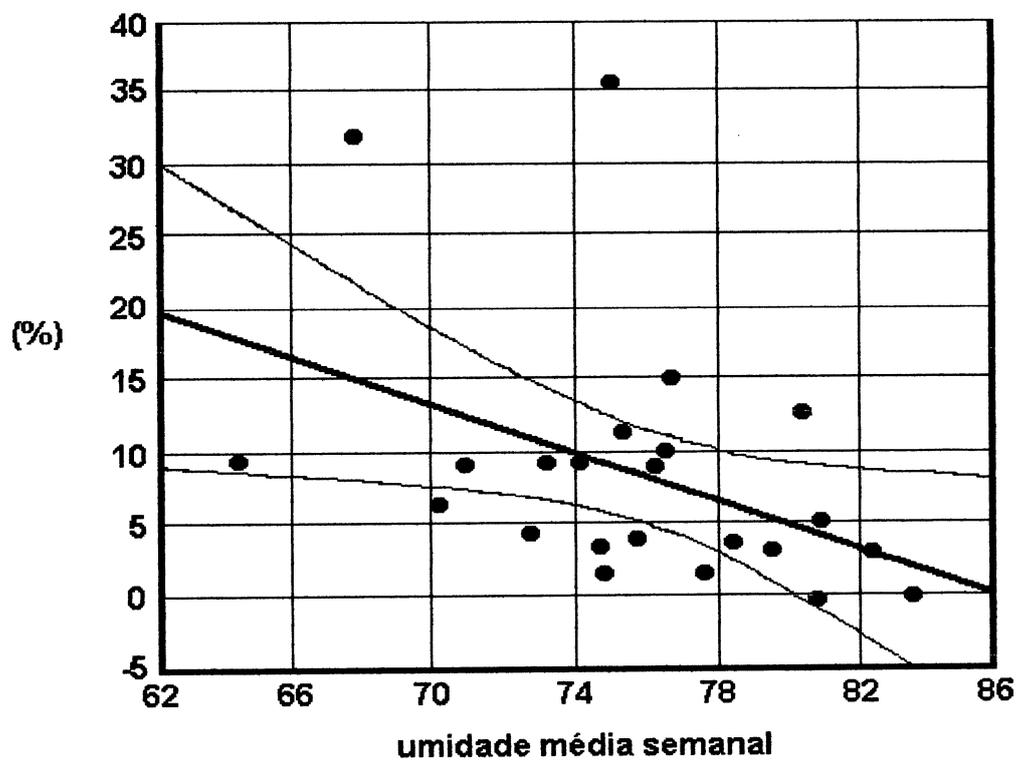


Figura 10. Diagrama de dispersão e reta de regressão linear (95% de confiança) em relação à umidade média semanal e a prevalência de larvas de *Amblyomma aureolatum* e *Ixodes auritulus* colhidos nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000 ($r = -0,4123$; $p < 0,05$).

TABELA II

Número, porcentagem e intensidade média e relativa de carrapatos coletados em aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, segundo as estações sazonais, entre janeiro e dezembro de 1999

Espécie/Estágio	Estações																Total			
	Verão				Outono				Inverno				Primavera							
	21/12 a 20/03				21/03 a 20/06				21/06 a 21/09				22/09 a 20/12				(AE=514; AI=80)			
	(AE=55; AI=7)				(AE=183; AI=17)				(AE=115; AI=23)				(AE=161; AI=33)							
No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	
<i>Amblyomma aureolatum</i> (L)	6	1,55	0,86	0,11	263	67,78	15,47	1,43	111	28,61	5,70	1,14	8	2,06	0,24	0,05	388	78,07	5,23	0,79
<i>Amblyomma aureolatum</i> (N)	6	6,06	0,86	0,11	14	14,14	0,82	0,08	22	22,22	0,96	0,19	57	57,58	1,73	0,35	99	19,92	1,24	0,19
<i>Ixodes auritulus</i> (L)	0	0,00	0,00	0,00	1	33,34	0,06	0,01	2	66,66	0,09	0,02	0	0,00	0,00	0,00	3	0,60	0,04	0,00
<i>Ixodes auritulus</i> (N)	0	0,00	0,00	0,00	3	60,00	0,18	0,02	1	20,00	0,04	0,01	1	20,00	0,03	0,01	5	1,01	0,06	0,01
<i>Ixodes auritulus</i> (F)	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	2	100,00	0,06	0,01	2	0,40	0,03	0,00
Total	12	2,41	1,71	0,22	281	56,54	16,52	1,54	136	27,36	6,78	1,36	68	13,68	2,06	0,42	497	100,00	6,46	1,01

AE, aves examinadas; AI, aves infestadas; N°, número de carrapatos; %, porcentagem de carrapatos em relação ao total, segundo a espécie; IM, intensidade média de carrapatos por ave infestada; IR, intensidade relativa de carrapatos por ave examinada; L, larva; N, ninfa; F, fêmea.

TABELA III

Número, porcentagem e intensidade média e relativa de carrapatos coletados em aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, segundo as estações sazonais, entre janeiro e dezembro de 2000

Espécie/Estágio	Estações																Total			
	Verão				Outono				Inverno				Primavera							
	21/12 a 20/03				21/03 a 20/06				21/06 a 21/09				22/09 a 20/12				(AE=362; AI=62)			
	(AE=81; AI=10)				(AE=114; AI=12)				(AE=63; AI=17)				(AE=104; AI=23)							
No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	No.	%	IM	IR	
<i>Amblyomma aureolatum</i> (L)	13	12,87	1,30	0,16	38	37,62	3,17	0,33	35	34,66	2,06	0,56	15	14,85	0,65	0,14	101	45,91	1,63	0,28
<i>Amblyomma aureolatum</i> (N)	16	14,41	1,60	0,20	4	3,60	0,33	0,04	17	15,32	1,00	0,27	74	66,67	3,22	0,71	111	50,45	1,79	0,31
<i>Ixodes auritulus</i> (L)	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	4	100,00	0,24	0,06	0	0,00	0,00	0,00	4	1,82	0,06	0,01
<i>Ixodes auritulus</i> (N)	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	2	100,00	0,12	0,03	0	0,00	0,00	0,00	2	0,91	0,03	0,01
<i>Ixodes auritulus</i> (F)	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	0	0,00	0,00	0,00	2	100,00	0,09	0,02	2	0,91	0,03	0,01
Total	29	13,18	2,90	0,36	42	19,10	3,50	0,37	58	26,36	3,41	0,92	91	41,36	3,79	0,88	220	100,00	3,55	0,61

AE, aves examinadas; AI, aves infestadas; N°, número de carrapatos; %, porcentagem de carrapatos em relação ao total, segundo a espécie; IM, intensidade média de carrapatos por ave infestada; IR, intensidade relativa de carrapatos por ave examinada; L, larva; N, ninfa; F, fêmea.

No entanto, quando às proporções de larvas e ninfas de *A. aureolatum* foram analisadas em relação aos períodos seco/frio e chuvoso/quente, verificou-se alta significância de associação. As larvas têm 10% a mais de probabilidade de ocorrência no período seco/frio (Odds Ratio (OR) = 10,247; $p < 0,0001$; 95% de confiança; intervalo 5,145 – 20,408), enquanto que as ninfas têm 2,5% a mais de probabilidade de ocorrência no período chuvoso/quente (OR = 2,449; $p < 0,0001$; 95% de confiança; intervalo 1,308 – 4,586) (Figura 11).

3.2. Prevalência de infestação nos três ambientes investigados

As prevalências e a intensidade média (IM) e relativa (IR) de infestação de carrapatos, segundo as espécies de aves infestadas por ambiente de estudo, podem ser observadas na Tabela IV.

A ave mais capturada (N=371) e mais infestada (N=98) foi *T. rufiventris* (sábida-laranjeira). Embora com um elevado número de espécimes infestados, esta ave apresentou intensidades média e relativa de infestação de 3,67 e 0,97 carrapatos por hospedeiro, respectivamente.

De maneira geral, as intensidades médias e relativas de infestação variaram de 1,00 a 28,43 e de 0,06 a 16,58, respectivamente, para todas as aves.

Os maiores índices de infestação foram verificados para *Troglodytes aedon* (IM = 28,43, IR = 16,58) que, ao contrário de *T. rufiventris*, teve somente 12 exemplares capturados e destes apenas sete indivíduos parasitados.

Quando se comparou a prevalência de aves infestadas em cada um dos três ambientes, diferenças significativas foram constatadas. A prevalência de infestação das aves da capoeira foi maior do que aquela da mata que, por sua vez, foi maior do que aquela da área limítrofe (Tabela V e Figura 12).

Somente sete larvas, sete ninfas e quatro fêmeas de *I. auritulus* foram colhidas das entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000 (Tabela IV), nos três ambientes investigados, totalizando 18 exemplares. Machos nunca foram observados sobre as aves.

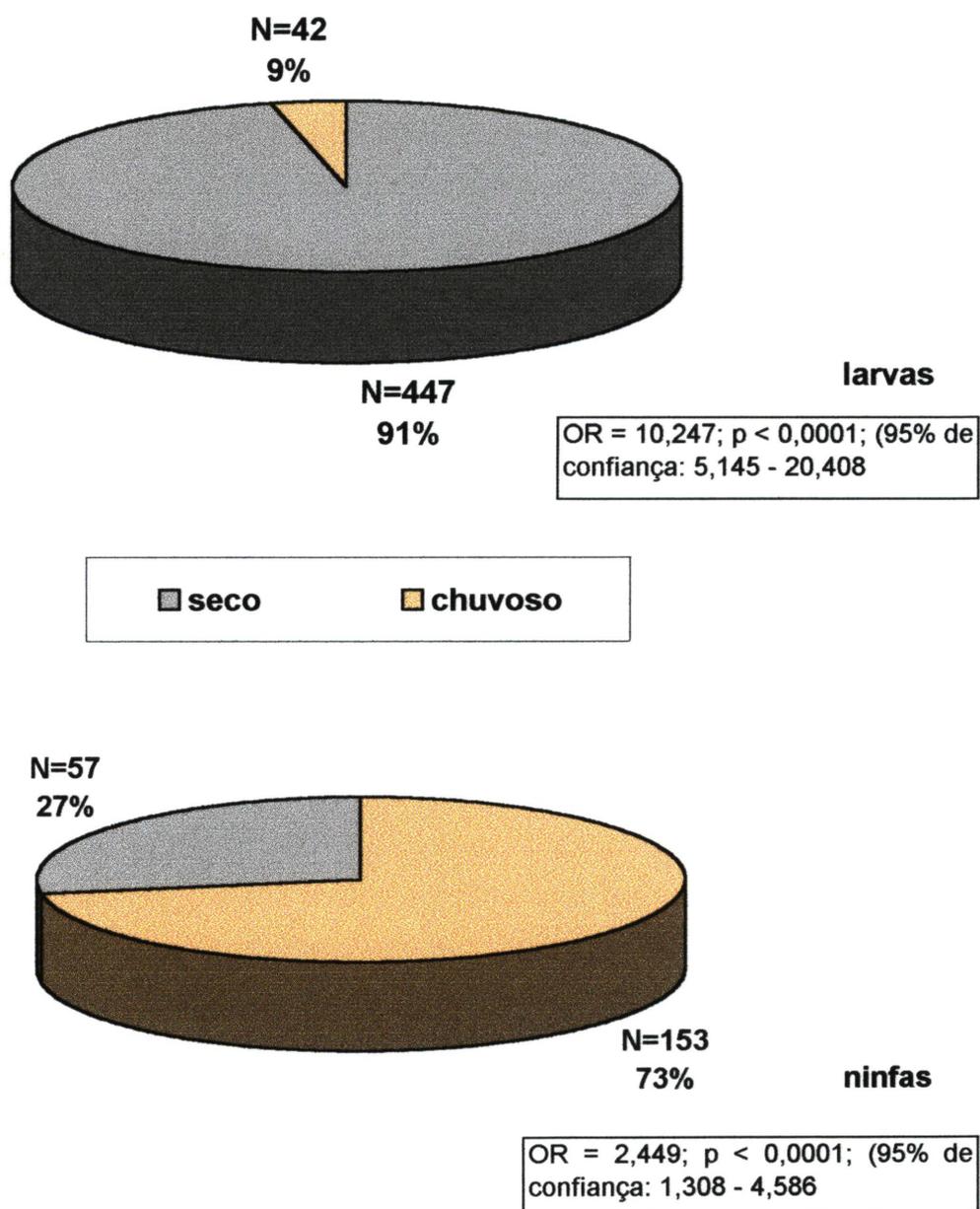


Figura 11. Proporções de larvas e ninfas de *Amblyomma aureolatum* em parasitismo nas aves do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, em relação aos períodos seco/frio e chuvoso/quente, durante os anos de 1999 e 2000, analisadas pelo Teste de Fisher.

TABELA IV

Prevalência, intensidade média e relativa de infestação de carrapatos das espécies *Amblyomma aureolatum* e *Ixodes auritulus*, segundo as espécies de aves coletadas por ambiente, de janeiro de 1999 a dezembro de 2000, no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR

Espécies	Ambientes																			
	Total					Capoeira					Mata					Área Limítrofe				
	AE (AI)	%	n(%)	IM	IR	AE (AI)	%	n(%)	IM	IR	AE (AI)	%	n(%)	IM	IR	AE (AI)	%	n(%)	IM	IR
<i>Basileuterus leucoblepharus</i>	36(7)	19,44	8(1,11)	1,14	0,22	7(1)	14,29	3(0,61)	3,00	0,43	21(5)	23,81	4(2,33)	0,80	0,19	8(1)	12,50	1(1,89)	1,00	0,13
<i>Conopophaga lineata</i>	4(1)	25,00	3(0,42)	3,00	0,75	2(0)	0,00	0(0,00)	0,00	0,00	2(1)	50,00	3(1,74)	3,00	1,50	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cranioleuca obsoleta</i>	28(4)	14,29	14(1,95)	3,50	0,50	14(4)	28,57	14(2,85)	3,50	1,00	10(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	4(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Cranioleuca pallida</i>	26(3)	11,53	4(0,56)	1,33	0,15	19(3)	15,78	4(0,81)	1,33	0,21	6(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	1(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Furnarius rufus</i>	9(1)	11,11	3(0,42)	3,00	0,33	7(1)	14,29	3(0,61)	3,00	0,43	0(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	2(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Poospiza lateralis</i>	9(2)	22,22	3(0,42)	1,50	0,33	8(2)	25,00	3(0,61)	1,50	0,30	0(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	1(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Saltator similis</i>	13(4)	30,77	16(2,23)	4,00	1,23	10(3)	30,00	13(2,64)	4,33	0,38	3(1)	33,33	3(1,74)	3,00	1,00	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Synallaxis cinerascens</i>	2(1)	50,00	5(0,70)	5,00	2,50	0(0)	0,00	0(0,00)	0,00	0,00	2(1)	50,00	5(2,91)	5,00	2,50	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Synallaxis* ruficapilla</i>	8(1)	12,50	2(0,28)	2,00	0,25	4(0)	0,00	0(0,00)	0,00	0,00	3(1)	33,33	2(1,16)	2,00	0,67	1(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Tachyphonus coronatus</i>	17(1)	5,88	1(0,14)	1,00	0,06	7(0)	0,00	0(0,00)	0,00	0,00	3(1)	33,33	1(0,58)	1,00	0,33	7(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Thamnophilus caeruleus</i>	11(4)	36,36	56(7,81)	14,00	5,09	6(2)	33,33	54(10,98)	27,00	9,00	5(2)	40,00	2(1,16)	1,00	0,40	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Thamnophilus ruficapillus</i>	2(1)	50,00	21(2,93)	21,00	10,50	2(1)	50,00	21(4,27)	21,00	10,50	0(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Troglodytes aedon</i>	12(7)	58,33	199(27,76)	28,43	16,58	10(7)	70,00	199(40,45)	28,42	19,90	1(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	1(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Turdus albicollis</i>	9(3)	33,33	11(1,53)	3,67	1,22	0(0)	0,00	0(0,00)	0,00	0,00	3(2)	66,67	10(5,81)	5,00	3,33	6(1)	16,66	1(1,89)	1,00	0,17
<i>Turdus amaurochalinus</i>	8(3)	37,50	10(1,39)	3,33	1,25	3(3)	100,00	10(2,03)	3,33	3,33	1(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	4(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
<i>Turdus** rufiventris</i>	371(98)	26,41	360(50,21)	3,67	0,97	122(44)	36,06	167(33,94)	3,80	1,37	138(31)	22,46	142(82,57)	4,58	1,03	111(23)	20,72	51(96,22)	2,22	0,46
<i>Zonotrichia capensis</i>	2(1)	50,00	1(0,14)	1,00	0,50	2(1)	50,00	1(0,20)	1,00	0,50	0(0)	0,00	0(0)	0,00	0,00	0(0)	0,00	0,00	0,00	0,00
TOTAL	567(142)	25,04	717(100)	5,05	1,26	223(72)	32,29	492(100,00)	6,83	2,21	198(44)	22,22	172(100,00)	3,91	0,87	146(24)	16,44	53(100)	2,21	0,36

AE (AI), número de aves examinadas e infestadas; %, prevalência; n(%), número e porcentagem de carrapatos segundo a espécie de ave, dentro o total de carrapatos; IM, intensidade média de carrapatos coletados por ave infestada; IR, intensidade relativa de carrapatos coletados por ave examinada; *, *I. auritulus* na mata; **, *I. auritulus* nos três ambientes.

TABELA V

Comparação entre as prevalências de aves infestadas segundo os ambientes de capoeira, mata e área limítrofe, do Bosque Reinhard Maack, Curitiba PR, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, através do Teste de Friedman

Variáveis	Média das Categorias	Soma das Categorias	Média	Desvio Padrão
Capoeira	2,411765	41,00000	27,48941	27,91004
Mata	2,117647	36,00000	17,39883	20,00279
Área Limítrofe	1,470588	25,00000	2,93412	6,69314

Tamanho da amostra (N) = 17; graus de liberdade (GL) = 2; $\chi^2 = 9,571428$; $p < 0,05$; $p = 0,00835$; coeficiente de concordância = 0,28151; $r = 0,23661$.

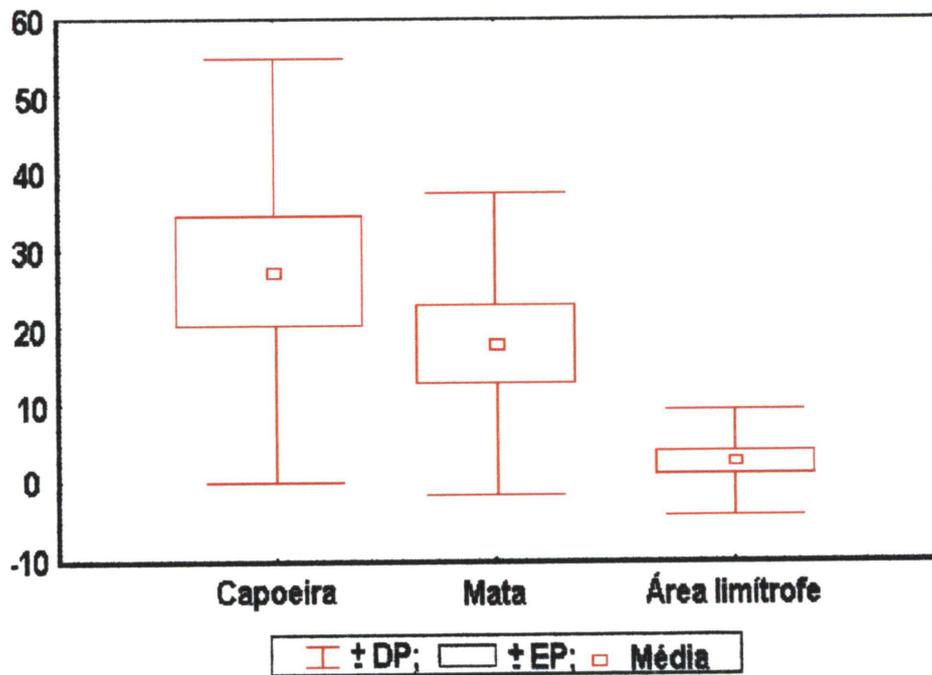


Figura 12. Variação das prevalências de aves infestadas com carrapatos das espécies *Amblyomma aureolatum* e *Ixodes auritulus*, conforme os ambientes de capoeira, mata e área limítrofe do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR ($X^2 = 9,571428$; $p < 0,05$; $p = 0,00835$; $r = 0,23661$). DP, desvio padrão e EP, erro padrão.

Em 1999, os hospedeiros para *Ixodes auritulus* foram: um exemplar de *Synallaxis ruficapilla*, 1 larva e 1 ninfa (abril) e sete exemplares de *T. rufiventris*, 2 larvas (julho), 2 ninfas (maio), 1 ninfa (julho), 1 ninfa (setembro) e 2 fêmeas (outubro) (Anexo 4).

Em 2000, apenas quatro exemplares de *T. rufiventris* apresentaram-se parasitados, 4 larvas (junho), 2 ninfas (agosto) e 2 fêmeas (novembro). Exceto por uma ninfa parasitando *T. rufiventris* capturado em ambiente de capoeira, os outros exemplares de *I. auritulus* foram colhidos tanto na mata como na área limítrofe.

Seis duplas infestações foram observadas, todas em *T. rufiventris*. Em 1999 ocorreram quatro, sendo as três primeiras em julho (1 larva de *I. auritulus* com 1 larva e 2 ninfas de *A. aureolatum*, na mata; 1 ninfa de *I. auritulus* com 2 larvas e 3 ninfas de *A. aureolatum*, na capoeira; 1 larva de *I. auritulus* com uma de *A. aureolatum*, na área limítrofe) e a quarta em setembro (1 ninfa de *I. auritulus* com uma de *A. aureolatum*, na mata). Em 2000 ocorreram duas duplas infestações, sendo uma em agosto (1 ninfa de *I. auritulus* com 1 larva e 1 ninfa de *A. aureolatum*) e outra em novembro (2 fêmeas de *I. auritulus* com 6 ninfas de *A. aureolatum*), ambas na área limítrofe (Anexo 4).

Todas as larvas e ninfas ingurgitadas de *A. aureolatum*, que se desprenderam naturalmente dos hospedeiros, foram mantidas em estufa para a muda, porém morreram antes da ecdise.

3.3. Carrapatos em fase de não parasitismo

Nas armadilhas de solo, somente duas ninfas e uma fêmea de *A. aureolatum* foram obtidas. As ninfas foram colhidas no ambiente de capoeira no mês de maio de 1999 e abril de 2000, ambas não ingurgitadas. A fêmea foi colhida também na capoeira, em novembro de 1999, e estava completamente ingurgitada. Esta fêmea foi deixada na estufa para fazer oviposição, porém morreu antes.

No arrastão, um macho e uma fêmea não ingurgitada de *A. aureolatum* (Figuras 13 e 14), foram encontrados na área limítrofe em setembro de 2000.



Figura 13. Macho de *Amblyomma aureolatum*, vista dorsal (15X).



Figura 14. Fêmea de *Amblyomma aureolatum*, vista dorsal (15X).

Nas armadilhas de gelo seco, foram ainda obtidas duas fêmeas não ingurgitadas em novembro de 2000, no ambiente de mata.

No folhíço nenhum carrapato foi observado.

Apesar de todos os esforços incluindo a vistoria de ninhos, *I. auritulus* nunca foi encontrado em fase de não parasitismo.

4. DISCUSSÃO

Nos dois anos de estudo, 52 espécies de aves foram capturadas, das quais, onze foram recapturadas, indicando que o Bosque Reinhard Maack, apesar de pequeno (78.000 m²), apresenta boas condições para a manutenção desta riqueza de espécies de aves na área. No entanto, somente duas espécies de carrapatos, *A. aureolatum* e *I. auritulus* foram registradas.

O número de *I. auritulus*, quando comparado ao de *A. aureolatum*, foi inexpressivo, representando apenas 2,5% do total, o que está de acordo com os achados nos anos de 1993 e 1994 por Arzua & Barros-Battesti (1999).

A ocorrência de larvas no outono e inverno, ninfas no outono e primavera e fêmeas na primavera, sugerem que o ciclo biológico de *I. auritulus* pode ser anual nesta região, como já foi observado para *I. loricatus* em outro bioma (Barros-Battesti et al. 2000a).

A espécie *I. auritulus* tem sua distribuição nas regiões Neotropical, Neártica e Australiana (Clifford et al. 1973). No Brasil, é encontrada nos Estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Paraná, sendo o primeiro planalto paranaense uma das áreas de maior ocorrência. No Município de Curitiba, *I. auritulus* parasita preferencialmente aves da família Turdidae, em particular a espécie *T. rufiventris*, como foi observado previamente por Arzua & Barros-Battesti (1999). É confirmada a predileção desta espécie pelo hospedeiro, uma vez que, à exceção de uma larva e uma ninfa coletadas pela primeira vez sobre *Synallaxis ruficapilla* (Passeriformes: Furnariidae), todos os outros exemplares foram encontrados em *T. rufiventris*.

Embora as análises estatísticas tenham sido efetuadas incluindo os 18 exemplares de *I. auritulus*, as correlações significativas devem-se

principalmente aos exemplares imaturos de *A. aureolatum* que representaram 97,5% da amostra.

As análises de correlação para os números absolutos de aves infestadas e de carrapatos em parasitismo, bem como para as prevalências de infestação, em relação às variáveis climáticas, indicaram que a umidade relativa do ar e a pluviosidade influenciaram no parasitismo das fases imaturas.

Fato semelhante foi observado por Rojas et al. (1999), onde a prevalência de infestação de *A. cajennense* nas aves não variou nos dois ecossistemas estudados, porém, foi mais alta nos meses de menor precipitação pluvial. Apesar destes autores identificarem as ninfas como sendo de *A. cajennense*, esta identificação não pode ser considerada precisa, uma vez que não há chaves dicotômicas para ninfas de carrapatos do gênero *Amblyomma* na Região Neotropical (Keirans 1972).

Quando a umidade relativa do ar foi muito alta no Bosque Reinhard Maack os números e as prevalências de aves infestadas e de carrapatos diminuíram (Figuras 6 a 10; tabela I). Igualmente, em tempo chuvoso, houve queda tanto no número de aves examinadas e infestadas quanto na prevalência de infestação.

Em laboratório, todas as ninfas ingurgitadas de *A. aureolatum* mantidas em estufa à 25°C e 90% de umidade, com demanda de oxigênio, não mudaram para o estágio adulto e morreram em uma semana. Na ocasião, desconhecia-se que a umidade fosse o fator determinante para o sucesso da muda. Este fato foi comprovado recentemente quando o ciclo biológico completo só foi possível em câmara de saturação, próximo a 100% de umidade, sendo que esta espécie suportou temperaturas de 23°C, 25°C, 27°C (M.B. Labruna, comunicação pessoal).

Possivelmente, por ser uma espécie bastante exigente com relação à umidade, as larvas e ninfas de *A. aureolatum* quando em parasitismo, podem prolongar seu repasto sanguíneo até que as condições ambientais estejam favoráveis para o seu desenvolvimento. Segundo Oliver (1989), em regiões não equatoriais a fotoperiodicidade tem um papel dominante, modulado por

temperaturas em ritmos sazonais que asseguram a sincronização das atividades dos carrapatos com as condições climáticas apropriadas. Ainda, segundo este autor, esta sincronização é mediada por diapausa que pode ocorrer em qualquer estágio do ciclo biológico. A diapausa comportamental reduz a atividade de procura pelo hospedeiro em carrapatos não ingurgitados e atrasa o ingurgitamento daqueles que estão se alimentando (Beloserov 1992).

As prevalências de aves infestadas segundo as estações sazonais, comportaram-se similarmente para os dois anos de estudo (Tabelas II e III), assim como as intensidades médias e relativas de infestação tanto para larvas quanto para ninfas. Em função dessa similaridade, os dois estágios biológicos de *A. aureolatum* foram analisados separadamente considerando apenas dois períodos climáticos (seco/frio e chuvoso/quente). Os números e as proporções de larvas e ninfas em parasitismo foram significativamente associados aos períodos seco/frio e chuvoso/quente, respectivamente (Figura 11). Segundo Hoogstraal & Aeschlimann (1982), de uma forma geral, os carrapatos apresentam um ritmo definido para a procura de hospedeiro, alimentação, queda diapausa e oviposição, sendo que este ritmo é determinado principalmente pelas estações sazonais.

Com relação à infestação nos três ambientes investigados, a capoeira mostrou-se mais favorável às infestações de *A. aureolatum* nas aves (Tabelas IV e V; Figura 12) do que os outros dois ambientes.

Possivelmente, por ser uma zona de transição, houve maior procura das aves por aquele ambiente, onde as mais altas prevalências e intensidades médias e relativas de infestação foram registradas. Apesar de *T. rufiventris* ter sido a ave mais capturada e mais freqüentemente infestada nos três ambientes, a maior quantidade de carrapatos por hospedeiros foi registrada para *T. aedon*, conhecida popularmente como corruíra.

Vários fatores podem ter contribuído para as pesadas infestações em *T. aedon*, tais como, alimentar-se de sementes e insetos, locomover-se no solo ou pular através da ramaria e da folhagem, dormir no próprio ninho e ser pouco exigente quanto ao local de nidificação. Além disso, 83% das corruíras

capturadas no presente estudo ocorreram na capoeira, uma vez que esta ave tem preferência por ambientes abertos como bordas de matas, caatingas, pântanos e campos (Sick 1997).

Por outro lado, durante as fases de campo, cães vadios foram encontrados dormindo sob a vegetação arbustiva de capoeira. Alguns deles foram vistoriados e seis fêmeas e três machos de *A. aureolatum* foram encontrados em parasitismo nesses animais. Neste mesmo ambiente, uma fêmea completamente ingurgitada e duas ninfas não ingurgitadas de *A. aureolatum* foram colhidas em armadilhas de solo.

Considerando que uma única fêmea de *A. aureolatum* acasalada e ingurgitada pode ovipor cerca de 3.000 ovos e que estes tenham 30% de chance de eclosão, aproximadamente 900 larvas estariam ativas na vegetação. Dessa forma, a presença dos cães contribuiu para aumentar a infestação na área, justamente por serem hospedeiros para carrapatos adultos.

Embora os cães permanecessem boa parte do dia na capoeira, também freqüentavam os outros ambientes do Bosque, possibilitando dispersão de carrapatos adultos nas outras áreas. Tanto que a presença de *A. aureolatum* em fase não parasitária foi constatada também na área limítrofe (um macho e uma fêmea) e na mata (duas fêmeas).

O presente estudo registra pela primeira vez o parasitismo de *A. aureolatum* em aves. As 17 espécies de aves silvestres do Bosque Reinhard Maack são todas registros novos para os estágios imaturos de *A. aureolatum*.

Este estudo oportunizou também o primeiro registro de saí-canário *Thlypopsis sordida* (Passeriformes: Emberizidae) para o município de Curitiba (Arzua et al. 2002), embora esta ave não tenha apresentado infestação com carrapatos.

Capítulo 2

Caracterização taxonômica dos estágios imaturos de *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) (Acari: Ixodidae), pela análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial e descrição da larva utilizando microscopia óptica e eletrônica de varredura

1. INTRODUÇÃO

A determinação taxonômica de espécies de carrapatos no estágio larval, principalmente as do gênero *Amblyomma*, tem sido de difícil solução, especialmente para aquelas espécies da região Neotropical (Keirans 1992). Clifford & Anastos (1960) atribuíram essa dificuldade a vários fatores, tais como, poucos caracteres morfológicos confiáveis para a inclusão em chaves, descrição e ilustrações inadequadas, impossibilidade de associação entre as larvas obtidas em laboratório com o adulto correspondente e a carência de estudos do ciclo biológico em laboratório a partir de fêmeas corretamente identificadas.

As chaves de identificação para espécies do gênero *Amblyomma* que ocorrem na América Latina foram baseadas em exemplares adultos (Aragão & Fonseca 1961, Jones et al. 1972, Guimarães et al. 2001), e ainda assim apresentam alguns conflitos no que se refere às características que diferem as espécies próximas.

Quanto aos estágios imaturos das espécies sul-americanas de *Amblyomma*, quase nada existe na literatura, excetuando as contribuições de Guglielmone et al. (1990) com a descrição dos estágios imaturos de *A. parvum* Aragão, 1908 e *A. pseudoparvum*; Estrada-Peña et al. (1993) que descreveram imaturos de *A. tigrinum* Koch, 1844, *A. neumanni* Ribaga, 1902 e *A. testudinis* (Conil, 1877); Famadas et al. (1997) com a redescrição da larva de *A. cajennense* (Fabricius, 1787) e a chave de identificação proposta por Amorim & Serra-Freire (1999a) para larvas de *A. nodosum* Neumann, 1899 (Amorim & Serra-Freire 1994a), *A. dissimile* Koch, 1844 (Amorim & Serra-Freire 1994b), *A. rotundatum* Koch, 1844 (Amorim & Serra-Freire 1995), *A. varium* Koch, 1844 (Amorim & Serra-Freire 1996), *A. cooperi* Nuttall & Warburton, 1908 (Amorim & Serra-Freire 1999b), *A. geayi* Neumann, 1899 e *A. auricularium* (Conil, 1878) (Amorim & Serra-Freire 1999a), além da inclusão daquelas já descritas.

Em meados da década de 90, os marcadores genéticos passaram a ser empregados na sistemática de carrapatos. Black & Piesman (1994) amplificaram 460 pares de bases do 16S DNA ribossômico mitocondrial para 35 taxa, utilizando *Dermanyssus gallinae* (Gamasida: Dermanyssidae) como

grupo externo. A partir de então, foram desenvolvidos outros marcadores moleculares e o seu uso tem contribuído não só para resolver questões filogenéticas, mas também para auxiliar os problemas de taxonomia (Norris et al. 1997, Hutcheson et al. 2000, Beati & Keirans 2001).

Apesar do avanço em técnicas moleculares nos últimos anos, os problemas taxonômicos ainda persistem para as espécies de carrapatos da região Neotropical, pela carência de estudos de taxonomia, sistemática, biologia e ecologia.

A existência de uma chave dicotômica para larvas de algumas espécies do gênero *Amblyomma* (Amorim & Serra-Freire 1999), não resolve satisfatoriamente a determinação dos taxa, uma vez que os caracteres morfológicos de diferenciação propostos não são exclusivos, havendo necessidade de se encontrar outros elementos mais específicos que possam ser utilizados para a separação das espécies.

Dessa forma, o presente estudo teve por objetivos:

- Confirmar o táxon dos estágios imaturos de *A. aureolatum* coletados em parasitismo nas aves silvestres e no chão do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, através do seqüenciamento de genes do fragmento 12S rDNA mitocondrial;
- Descrever a larva de *A. aureolatum*, através de microscopia óptica e eletrônica de varredura.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Procedimento para biologia molecular

Durante dois anos, entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, foram coletados 699 carrapatos em fase de larva e ninfa da espécie *A. aureolatum* em parasitismo nas aves silvestres do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR. Além destes, sete exemplares em fase não parasitária (cinco adultos e duas ninfas) foram coletados no chão e na vegetação da mesma área. Todo o material de carrapatos foi tombado no Museu de História Natural Capão da Imbuia (MHNCI), Curitiba, PR.

Para a confirmação do táxon através da análise molecular, 10 larvas

(MHNCI 984 e MHNCI 1005) e 10 ninfas (MHNCI 1018 e MHNCI 1020) coletadas nas aves, bem como, um macho e uma fêmea de *A. aureolatum* (MHNCI 1037) colhidos no folhíço do Bosque, foram enviados ao Laboratório de Ecologia de Vetores, Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública da Escola de Medicina, Universidade de Yale, New Haven, Connecticut, Estados Unidos. Toda a análise do seqüenciamento de genes foi realizada seguindo a técnica descrita por Beati & Keirans (2001).

Foram ainda enviadas para análise molecular, outras espécies de *Amblyomma*, cujos seqüenciamentos serviram de comparação, facilitando a determinação do táxon. Para tanto, as espécies listadas abaixo foram doadas pelo Laboratório de Parasitologia do Instituto Butantan, SP (IBSP) e pela Faculdade de Veterinária da Universidade de Montevideú, Uruguai:

A. cooperi (IBSP 7429, uma fêmea);

A. brasiliense Aragão, 1908 (IBSP 7317, uma fêmea);

A. longirostre (Koch, 1844) (IBSP 7179, dois machos);

A. pseudoconcolor Aragão, 1908 (IBSP 7436, um macho e uma fêmea);

A. triste Koch, 1844 (quatro machos e seis fêmeas, procedentes do Uruguai).

2.1.1. Protocolo de extração de DNA ribossômico mitocondrial para carrapatos, utilizando-se o Kit (DNAasy™ QIAGEN)

- 1) Em cada eppendorf colocar apenas um carrapato, previamente seco em papel filtro para completa retirada do álcool;
- 2) Cobrir cada eppendorf com uma camada de parafilme, fazendo pequenos furos na membrana. Em seguida, adaptá-los a um suporte de espuma e mantê-los em câmara de vácuo por 30 minutos;
- 3) Usando duas pipetas, uma de 200µl e outra de 20µl, adicionar em cada eppendorf, ATL lysis buffer (tampão) + proteinase K diluída em 14mg/ml de água deionizada 18 Ω. Neste líquido, os carrapatos são cortados em vários pedaços, com auxílio de bisturis de ponta reta, descartáveis;
- 4) A seguir, fechar os eppendorfs, colocá-los novamente no suporte de espuma e mantê-los em banho-maria, por uma noite, a 55°C;

- 5) No dia seguinte, sob microscópio estereoscópico, observar se as partes do carrapato estão ocas e levemente transparentes. Se assim for, passar para as etapas seguintes. Caso contrário, acrescentar mais 20µl de Proteinase K previamente diluída e deixá-los novamente no banho-maria por mais uma noite;
- 6) Centrifugar cada eppendorf por 1 minuto a 1000 rpm. Pipetar o líquido e passar para outro eppendorf, adicionando-se 200µl de AL (tampão);
- 7) O volume total agora é de 400 µl. Passar os eppendorfs pelo vortex rapidamente e mantê-los por 10 minutos a 72°C;
- 8) Adicionar 210 µl de etanol e repetir a passagem pelo vortex. A seguir, pipetar todo o líquido para outro eppendorf que contém filtro. O volume total agora é de 610 µl;
- 9) Centrifugar por 1 minuto a 10000 rpm. Descartar o líquido e colocar outro eppendorf por baixo;
- 10) Lavar com 500 µl de AW1 (reagente) previamente diluído em álcool conforme instruções no rótulo, centrifugar por 1 minuto a 10000 rpm e descartar o líquido;
- 11) Realizar nova lavagem utilizando 500 µl de AW2 (reagente previamente diluído) e depois de centrifugar, descartar. Em seguida, bater o eppendorf externo num papel filtro para tirar o excesso e centrifugar com o filtro dentro;
- 12) Trocar o eppendorf externo por um que tenha tampa e numerar cada tubinho novamente;
- 13) Acrescentar 25 µl de H₂O a 72 °C e aguardar por 1 minuto antes de centrifugar. Acrescentar mais 25 µl de H₂O a 72 °C, esperar por 1 minuto e centrifugar novamente. Descartar o eppendorf de dentro (com filtro) e fechar o eppendorf de fora. Manter em temperatura ambiente se o PCR (reação em cadeia da polimerase) for realizado imediatamente. Caso contrário devem ser estocados sob refrigeração à 4°C, até o uso.

Para a amplificação dos fragmentos moleculares de cada amostra, os seguintes produtos foram utilizados na seqüência abaixo:

- 1) H₂O deionizada
- 2) Taq Enhancer
- 3) Taq Buffer
- 4) MgCL₂
- 5) dNTP's
- 6) Primer I
- 7) Primer II
- 8) Taq Polymerase
- 9) Amostras de DNA

2.1.2. Protocolo para amplificação dos fragmentos moleculares das amostras através do PCR, utilizando o Kit (PCR – QIAGEN)

Todo o procedimento foi realizado dentro de um pequeno fluxo laminar de acrílico (DNA "free zone"), onde permanentemente são mantidos: pipetas automáticas (20µl, 100µl e 1000µl), ponteiras, água deionizada, tubos Falcon, eppendorfs e microeppendorfs, tampas de microeppendorfs e um frasco para descarte de ponteiras.

- 1) Inicialmente, prepara-se uma caixa de isopor com gelo;
- 2) Os eppendorfs contendo dNTP's e Taq Polymerase são colocados diretamente no isopor com gelo. Os outros reagentes (Taq Enhancer, Taq Buffer e MgCL₂) são colocados para aquecer à 72°C;
- 3) Os eppendorfs contendo Taq Buffer e MgCL₂, depois de aquecidos, também são colocados no gelo, exceto Taq Enhancer, que permanece fora do gelo, mas ao lado da caixa de isopor, dentro do fluxo;
- 4) Num eppendorf extra, também mantido no gelo, os produtos são misturados de acordo com os volumes relacionados numa tabela, conforme o número de amostras, incluindo um controle positivo e outro negativo;
- 5) Ao microeppendorf do controle negativo, é adicionado o mesmo volume de água;
- 6) Fora do fluxo, ao conteúdo de cada microeppendorf, acrescentar 10% de cada amostra de DNA previamente extraído (geralmente o volume total

é de 2,5 μ l de amostra em 25 μ l da mistura de reagentes, para amplificação);

- 7) Ao microeppendorf do controle positivo adiciona-se, igualmente, 10% do positivo;
- 8) Finalmente, os microeppendorfs devem ser bem tampados e mantidos no gelo, até finalizar a programação para a termociclagem e a temperatura atingir 94°C;
- 9) Após o uso, os primers, o controle positivo e as amostras devem ser mantidos a 4 °C. Os outros produtos, taq buffer, taq polymerase, DNTP's, taq enhance são estocados no freezer (-25°C).

2.1.3. Programa usado na máquina de PCR para amplificação:

- 0,4 °C por 5 minutos
- 0,4 °C por 10 segundos
- 45 °C por 50 segundos
- 65 °C por 1 minuto e 30 segundos
- Goto 2, 34 vezes
- 65 °C por 10 minutos
- 4 °C

2.1.4. Protocolo de preparação do gel para as 22 amostras (última fase do PCR)

- 1) Colocar num Becker, 75 ml de TAE buffer (um tampão preparado com 500 ml de TAE 10X e 4500 ml de H₂O) e 0,7 g de Agarose (1,5% de 50 ml).
- 2) Aquecer por 2 minutos em forno microondas;
- 3) Pipetar em capela de exaustão 5 μ l de Brometo de Etideo (marcador) na boca de um frasco;
- 4) Despejar o gel sobre a gota do Brometo de Etideo e, a seguir, na placa de eletroforese onde os separadores são encaixados;
- 5) Após 30 minutos os separadores são removidos;
- 6) Cobrir a placa de eletroforese com TAE buffer;

- 7) Preparar uma fita de parafilme de aproximadamente 15 cm;
- 8) Colocar sobre o parafilme 2 μ l de corante marcador do gel (DIE – 0,25% bromofenol blue + 0,25% xileno cianol FF + 15% de Ficoll);
- 9) Sobre cada gota de corante, colocar 5 μ l de cada amostra, incluindo os controles;
- 10) Pipetar o volume total de cada gota para os espaços do gel;
- 11) Adicionar no último espaço, 1 μ l Ladder (100 bp DNA Ladder) e cobrir a placa com a tampa encaixando os terminais dos eletrodos;
- 12) Corrigir para 150 V e manter sob corrente elétrica por 20 minutos.

2.1.5. Protocolo para purificação das amostras, utilizando Kit (Qiagen de purificação)

- 1) Dilui-se o PE (tampão do Qiaquick de purificação) em etanol conforme especificação do rótulo;
- 2) Adicionar cinco vezes a quantidade do PB (tampão) na solução;
- 3) Colocar este volume dentro de cada uma das amostras de DNA. Para ressuspender o DNA, pipetar duas a três vezes e depois passar para os eppendorfs com filtro;
- 4) Centrifugar por 1 minuto a 10.000 rpm;
- 5) Desprezar o conteúdo externo do eppendorf, bater bem num papel filtro e colocar novamente o filtro dentro;
- 6) Adicionar 750 μ l de PE e centrifugar por 1 minuto a 10.000 rpm;
- 7) Repetir a etapa 5;
- 8) Centrifugar por 1 minuto a 10.000 rpm;
- 9) Descartar o eppendorf externo e colocar o filtro em outro eppendorf limpo com tampa, numerando-os novamente;
- 10) Adicionar 25 μ l de água a 65°C no centro do filtro e esperar 1 minuto;
- 11) Centrifugar por 1 minuto a 10.000 rpm;
- 12) Jogar fora o filtro e tampar os eppendorfs. Mantê-los em geladeira a 4°C até o uso.

Após a purificação, os primers foram diluídos em fluxo laminar (50 μ l

água deionizada: 50µl de primer), para preparação do seqüenciamento.

Primer 1: (CYTB1 – fragmento TTTTAGCAATAAACTTTTCAAG)

Primer 2: (CYTB2 – fragmento CCAGAATGATATTTTTTATT)

Primers 1 e 2: correspondem ao Citocromo b do genoma completo de *Ixodes hexagonus* com 14539 pares de bases, onde o fragmento 12S rDNA mitocondrial está localizado entre os pares de bases 9831 e 10929, acesso (NA081828 -Gen Bank) (Black & Roehrdanz 1998).

2.1.6. Protocolo para o seqüenciamento

- 1) Preparar duas fileiras de eppendorfs, sendo que na primeira, cada eppendorf deve ser numerado exatamente como na amostra, acrescentando a sigla CYTB1. Na segunda fileira, realizar o mesmo procedimento, acrescentando CYTB2;
- 2) Adicionar 19µl de água deionizada em cada um dos eppendorfs;
- 3) A seguir acrescentar 4µl das amostras dos PCR nos eppendorfs marcados com as siglas CYTB 1 e CYTB 2;
- 4) Acrescentar em todos os eppendorfs da primeira fileira, 1µl de primer CYTB1 seqüenciado, e nos da segunda fileira, 1µl de primer CYTB2 seqüenciado;
- 5) Centrifugar todas as amostras rapidamente em 10.000 rpm e mantê-las à 4°C até o momento de serem seqüenciadas.

As distâncias e as seqüências dos pares de bases obtidas para *A. aureolatum*, foram comparadas àquelas das outras espécies enviadas, bem como, às seqüências de *A. tigrinum* e *A. maculatum*, ambas obtidas no banco de genes (Gen Bank). Os múltiplos alinhamentos dos seqüenciamentos foram realizados utilizando-se o método de Clustal X, versão 1.64b (Thompson et al. 1997).

2.2. Procedimentos para microscopia óptica das larvas de *A. aureolatum*

Para a realização de microscopia óptica, 20 larvas não ingurgitadas de *A. aureolatum* coletadas nas aves silvestres do Bosque foram preparadas em lâminas. Dez larvas de *A. aureolatum* não ingurgitadas obtidas em laboratório, e duas larvas parcialmente ingurgitadas de *A. longirostre* coletadas de *Coendou* sp. (ouriço), cedidas pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, foram igualmente preparadas para as comparações morfológicas com outras espécies descritas na literatura. A larva de *A. longirostre*, embora ainda não tenha sido descrita, foi utilizada no presente estudo como parâmetro de comparação, devido à frequência com que aparece nas aves (Aragão 1936).

As preparações das larvas em lâminas foram adaptadas das técnicas propostas por Amorim & Serra-Freire (1995) e Famadas et al. (1996), com algumas modificações.

Os exemplares foram diafanizados em lactofenol durante 24 horas, em estufa com temperatura de 50°C. Após completa diafanização, foram lavados em água destilada durante 40 minutos. Para desidratação, as larvas passaram em bateria de álcool a 70%, 90% e 100%, durante 40 minutos cada. Posteriormente foram transferidas para Creosoto de Faia, por 24 horas. Após a montagem permanente dos exemplares em Bálsamo do Canadá, as lâminas permaneceram por duas semanas na estufa de secagem à 55°C.

A descrição da larva de *A. aureolatum* foi baseada nos exemplares criados em laboratório, cedidos pelo Dr. Marcelo Bahia Labruna e no exemplar (MHNCI 984) coletado em *Troglodytes aedon* (corruíra). A designação das cerdas está de acordo com aquela utilizada por Famadas et al. (1997), conforme a nomenclatura proposta por Hess & Vlimant (1983) e Woolley (1988). As ilustrações foram realizadas em Microscópio Óptico da marca Leica, modelo MZ12, adaptado com Câmara Clara. As imagens foram obtidas em microscópio óptico da marca Olympus, modelo BX50, utilizando-se o programa Asus Digital UCR. As medidas foram efetuadas em mm, seguidas da média,

desvio padrão e amplitude de 20 exemplares, através do programa Sigma Scan Pro.

2.3. Procedimentos para microscopia eletrônica de varredura

Vinte larvas não ingurgitadas foram selecionadas e colocadas em álcool 100%, por três vezes. O material foi visualizado em microscópio modelo Leo 1450 V, com detector de elétrons secundários para baixo vácuo, aceleração de voltagem de 20 kv, altura do estágio de 13 mm, distância de trabalho de 10 mm e temperatura de 15° C.

3. RESULTADOS

3.1. Análise molecular de *A. aureolatum*

As seqüências gênicas do fragmento 12S rDNA mitocondrial das larvas e ninfas de *A. aureolatum*, quando comparadas entre si (Tabela I), mostraram 100% de similaridade. Em relação aos adultos, a similaridade foi de 99,1%, com divergência de apenas 0,9%, confirmando o táxon. As seqüências gênicas de 342 pares de bases analisados para adultos e imaturos de *A. aureolatum*, conforme citadas abaixo, diferiram em apenas três pares de bases.

Adultos (342 pb)

```
ACTATTCAGAAGTTAAGATTGTTAGTATATAATGATTATGAAAACAAAAAATT
ATGGCGGTACTTCAAACCTTATCAGAGGAATTTGCTCTATAATGGATAAAACA
CCTTAATCTTACTAAAATTAGTTAAGTCAGCTTGTATACCACTATAAAAGTG
ATAAATAACTATTATTACTTTAATTTTTTATTATAAAAAATTAATTAAGTCA
TGGTGCAGCAGAAGTTTTAGGATGAAGTGAATTACATAACTTTTTAGTTATA
AAAAATTAAGTAATTTTTAGGATTTGAAAGTAAAAATTTAATAGAATGAAAT
TTTGAATTGAGTTCTGAAGTATGTAC.
```

Larvas (342 pb)

```
ACTATTCAGAAGTTAAGATTGTTAGTATATAATGATTATGAAAACAAAAAATT
ATGGCGGTACTTCAAACCTTATCAGAGGAATTTGCTCTATAATGGATAAAACA
CCTTAATCTTACTAAAATTAGTTAAGTCAGCTTGTATACCACTATAAAAGTG
ATAAATAACTATTATTACTTTAATTTTTTATAAATAAAAAATTAATTAAGTCA
TGGTGCAGCAGAAGTTTTAGGATGAAGTGAATTACATAACTTTTTAGTTAAA
AAAAATTAAGTAATTTTTAGGATTTGAAAGTAAAAATTTAATAGAATGAAAT
TTTGAATTGAGTTCTGAAGTATGTAC.
```

TABELA I

Distância das sequências dos pares de bases para larvas, ninfas e adultos de *Amblyomma aureolatum* coletados no Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR, e outras espécies de *Amblyomma* spp., através da análise molecular do fragmento 12S rDNA mitocondrial, utilizando-se o teste de Clustal.

Espécies	Porcentagem de similaridade											
	Al	Ap	Ab	Ac	Aa	L1	L2	N1	N2	Am	Atr	At
<i>A. longirostre</i> (Al)	0/100	69,5	74,3	81,1	74,6	74,6	74,6	74,6	74,6	73,8	74,4	73,3
<i>A. pseudoconcolor</i> (Ap)	19,1	0/100	71,8	68,9	70,4	71,0	71,0	71,0	71,0	73,5	73,8	72,4
<i>A. brasiliense</i> (Ab)	21,9	17,8	0/100	78,3	78,4	78,7	78,7	78,7	78,7	76,8	77,4	74,8
<i>A. cooperi</i> (Ac)	15,5	17,7	15,9	0/100	78,3	78,3	78,3	78,3	78,3	76,8	77,4	76,9
<i>A. aureolatum</i> (Aa)	21,5	19,4	18,2	14,5	0/100	99,1	99,1	99,1	99,1	76,2	75,9	75,7
larva 1 (L1)	21,9	18,6	17,8	14,5	0,9	0/100	100,0	100,0	100,0	75,9	75,6	74,8
larva 2 (L2)	21,9	18,6	17,8	14,5	0,9	0,0	0/100	100,0	100,0	75,9	75,6	74,8
ninfa 1 (N1)	21,9	18,6	17,8	14,5	0,9	0,0	0,0	0/100	100,0	75,9	75,6	74,8
ninfa 2 (N2)	21,9	18,6	17,8	14,5	0,9	0,0	0,0	0,0	0/100	75,9	75,6	74,8
<i>A. maculatum</i> (Am)	19,4	14,4	19,6	15,9	18,7	19,5	19,5	19,5	19,5	0/100	99,7	96,1
<i>A. triste</i> (Atr)	19,0	14,0	19,2	15,5	19,1	19,9	19,9	19,9	19,9	0,3	0/100	96,4
<i>A. tigrinum</i> (At)	18,5	15,1	18,7	15,1	18,3	19,0	19,0	19,0	19,0	2,4	2,1	0/100

Porcentagem de divergência

As porcentagens destacadas em vermelho correspondem àquelas referentes a mesma espécie

Ninfas (342 pb)

ACTATTCAGAAGTTAAGATTGTTAGTATATAATGATTATGAAAACAAAAAATT
 ATGGCGGTACTTCAAACCTTATCAGAGGAATTTGCTCTATAATGGATAAAACA
 CCTTAATCTTACTAAAATTAGTTAAGTCAGCTTGTATACCACTATAAAAGTG
 ATAAATAACTATTATTACTTTAATTTTTTATAAATAAAAAATTAAATTAAGTCA
 TGGTGCAGCAGAAGTTTTAGGATGAAGTGAATTACATAACTTTTTAGTTAAA
 AAAAATTAAGTAATTTTTAGGATTTGAAAGTAAAAATTTAATAGAATGAAAT
 TTTGAATTGAGTTCTGAAGTATGTAC.

A porcentagem de divergência aceitável para variações intraespecíficas é de até 27 pares de bases (7,8%) (Beati & Keirans 2001). Quando os valores ultrapassam este limite, as variações são consideradas como interespecíficas.

O seqüenciamento dos adultos de *A. aureolatum* foi também comparado aos de outras espécies (Tabela I), mostrando similaridades variando de 78,4% (*A. brasiliense*) a 70,4% (*A. pseudoconcolor*) e divergências de 14,5% (*A. cooperi*) a 21,9% (*A. longirostre*).

3.2. Descrição da larva de *A. aureolatum* (Figuras 1 a 9)

Idiossoma: *Superfície dorsal* (Figuras 1 e 6). Comprimento do ápice da escápula à margem posterior do corpo 0,521 (0,664 ± 0,091; 0,521 – 0,792); maior largura 0,431 (0,536 ± 0,119; 0,431 – 0,841); idiossoma oval com 11 festões. Um par de sensillum campaniforme (Scd) próximo às margens laterais, acima do festão I. *Cerdas:* 2 pares centrais dorsais (Cd₁ – Cd₂); 8 pares marginais dorsais (Md₁ – Md₈), com os pares Md₁ e Md₂, anteriores ao Scd e os pares Md₃ a Md₈ posteriores ao sensillum, cada um em um festão. *Escudo:* subtriangular; comprimento 0,272 (0,264 ± 0,017; 0,234 – 0,293) ao longo da linha mediana (= linha antero-posterior = AP; Fonseca & Aragão, 1952); largura 0,417 (0,413 ± 0,018; 0,379 – 0,441) na linha dos olhos (= linha transversal = TT; Fonseca & Aragão, 1952). Tegumento com ornamentação hexagonal irregular. Olhos planos; sulco cervical distinto estreitando-se nas proximidades da cerda escutal (Sc₁), e posteriormente divergindo suavemente. *Cerdas escutais:* 3 pares (Sc₁, Sc₂, Sc₃). Três poros na região posterior do escudo.

Superfície ventral (Figuras 2 e 7). Com 5 pares de sensillum campaniforme; 1 par localizado na margem externa posterior às coxas I (Sc1);

2 pares posteriores às coxas II e III (Sc2 e Sc3); 2 pares localizados nos festões (Scf) IV e V, respectivamente. Festão central sem cerda, largura 0,056 (0,058 \pm 0,002; 0,054 – 0,060). *Cerdas ventrais*: 3 pares esternais (St₁, St₂, St₃); 2 pares pré-anais (Pa₁, Pa₂); 4 pares pré-marginais (Pm₁ – Pm₄); 5 pares marginais ventrais (Mv₁ – Mv₅); 1 par de cerdas anais sobre as valvas (A).

Gnatossoma: *Dorsal* (Figura 3). *Base do capítulo*, triangular; comprimento do ápice do palpo (genu, III) à margem posterior 0,152 (0,157 \pm 0,008; 0,143 – 0,173), maior largura do fêmur 0,168 (0,187 \pm 0,016; 0,163 – 0,220). Margem posterior reta no centro e levemente convexa nos bordos laterais, cornua ausente, um par de sensillum presente (Figura 8). *Palpos*, (no exemplar o segmento tibiotarsal não estava expandido, não sendo visível dorsalmente), sulcos segmentais bem definidos, comprimento do ápice do genu (III) à margem posterior do trocânter (I) 0,113 (0,115 \pm 0,009; 0,100 – 0,130), fêmur (II) três vezes mais longo que o trocânter; comprimento do fêmur + genu 0,097 (0,097 \pm 0,002; 0,093 – 0,100).

Ventral (Figura 4). *Hipostômio* compacto, espatulado, comprimento do ápice do genu ao par de cerdas pós-hipostomais (Ph) 0,106 (0,111 \pm 0,013; 0,090 – 0,150), fórmula dental 2/2 ao longo de quase todo o comprimento; duas fileiras paraxiais de 8 - 7 dentículos e uma fileira axial incompleta com apenas dois dentículos e corona com aproximadamente 7 dentículos; 1 par de cerdas pós-hipostomais (Ph₁). *Cerdas do palpo*: 10 cerdas tibiotarsais, 8 terminais (Ttt₁ – Ttt₈), 1 cerda paraxial (Ttp₁) e 1 antiaxial (Tta₁); 6 genuais, 1 paraxial (Gp₁), 1 antiaxial (Ga₁), 3 dorsais (Gd₁, Gd₂, Gd₃) e 1 ventral (GV₁); 6 femorais, 1 paraxial (Fp₁), 2 antiaxiais (Fa₁, Fa₂), 1 dorsal (Fd₁) e 2 ventrais (Fv₁, Fv₂); trocânter (0).

Pernas: *Coxa I* com 2 espinhos triangulares (Figuras 2 e 8), o externo maior e mais pontiagudo que o interno; coxas II e III cada qual com um espinho tão proeminente quanto o externo da coxa I. *Cerdas*: 3 pares sobre a coxa I, 1 anterior (Cla), 1 posterior (Clp) e um paraxial (Clpa); coxas II e III, cada uma com 2 cerdas, 1 anterior (CIIa, CIIIa) e 1 posterior (CIIp, CIIIp). Trocânter sem espinhos.

Tarso I (Figuras 5 e 9) comprimento 0,195 ($0,199 \pm 0,002$; 0,195 – 0,202). *Cerdas dorsais*: 2 dorsais do grupo I (dl_1, dl_2); 7 dorsais do grupo II ($dII_1 - dII_7$); 2 dorsais do grupo III ($dIII_1, dIII_2$), 2 dorsais do grupo IV (dIV_1, dIV_2), 0 dorsais do grupo V e 2 dorsais do grupo VI (dVI_1, dVI_2). *Cerdas ventrais*: 2 ventrais do grupo I (vl_1, vl_2), 2 ventrais do grupo II (vII_1, vII_2) e 2 ventrais do grupo III ($vIII_1, vIII_2$). *Laterais*: 1 lateral anterior paraxial do grupo I (lpl_1) e 3 laterais paraxiais do grupo II ($lpl_1 - lpl_3$); 1 lateral posterior antiaxial do grupo I (lal_1) e 3 laterais posteriores antiaxiais do grupo II ($lall_1 - lall_3$). Ambulacro como ilustrado na Figura 9.

As medidas do gnatossoma, bem como do idiossoma e do tarso I das larvas de *A. aureolatum*, incluindo as médias, desvio padrão e amplitude, estão apresentadas no Anexo 5.

3.3. Comparação morfológica da larva de *A. aureolatum* com outras espécies

A quetotaxia do gnatossoma e tarso I, bem como outros caracteres morfológicos da larva de *A. aureolatum*, foram comparados aos de *A. longirostre* e aos de outras espécies citadas na literatura (Tabela II).

4. DISCUSSÃO

Diversos estudos filogenéticos têm sido conduzidos para os grupos Prostriata (*Ixodes*) e Metastriata (outros gêneros de carrapatos duros), com a família Argasidae como grupo externo, utilizando as porções dos genes do 12S rDNA e 16S rDNA mitocondriais e o 18 S rDNA nuclear. Dentre todos, o 12S rDNA parece ser o mais promissor para a comparação morfológica e filogenética de Ixodidae, principalmente para *Amblyomma* spp. e *Haemaphysalis* spp., em relação aos ramos que se divergiram mais recentemente (Beati & Keirans 2001). Além disso, os dados adicionais deste gene dá suporte à filogenia baseada no 16S rDNA ribossômico mitocondrial (Black et al. 1997).

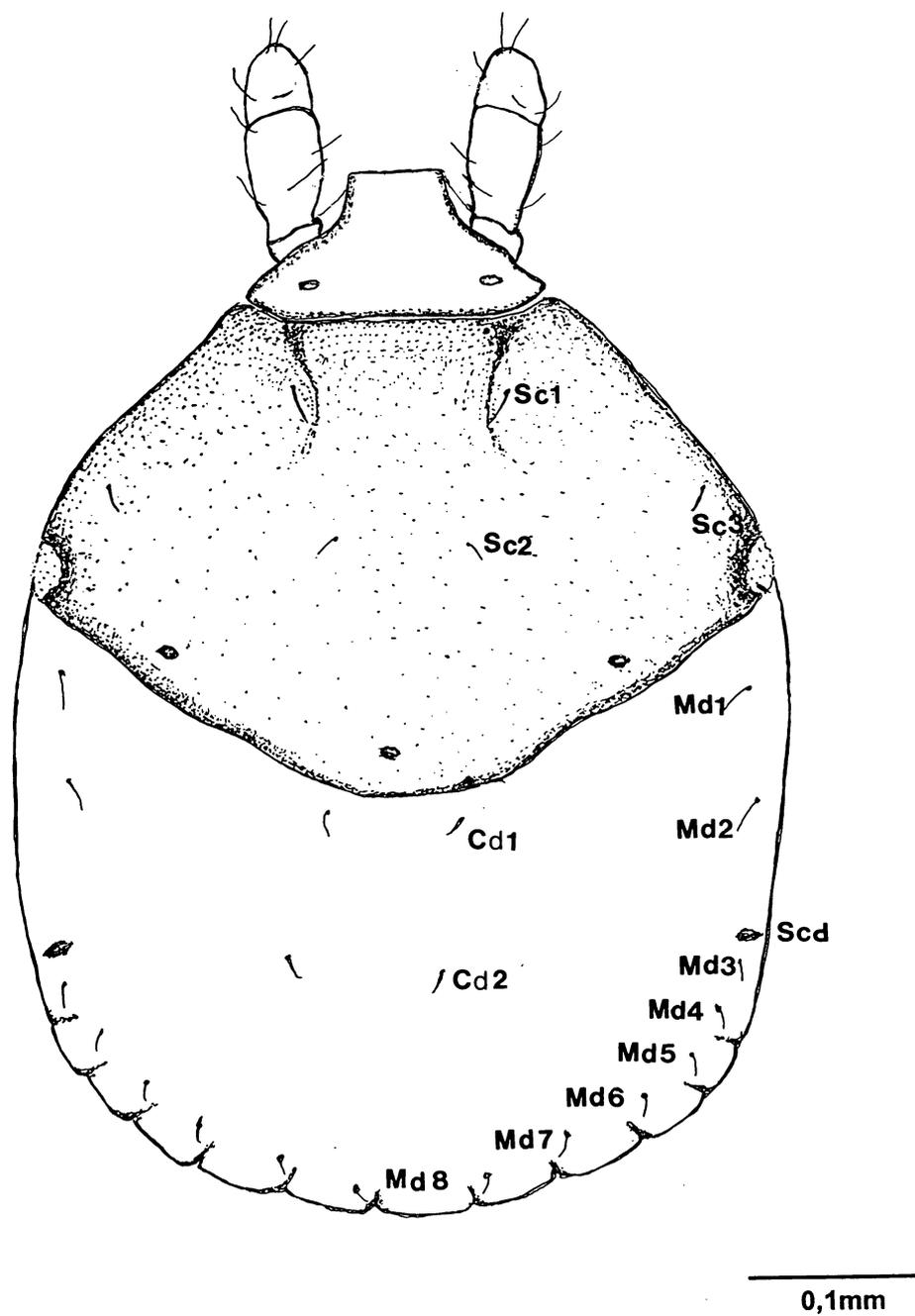


Figura 1. Larva de *Amblyomma aureolatum* em vista dorsal (400X).

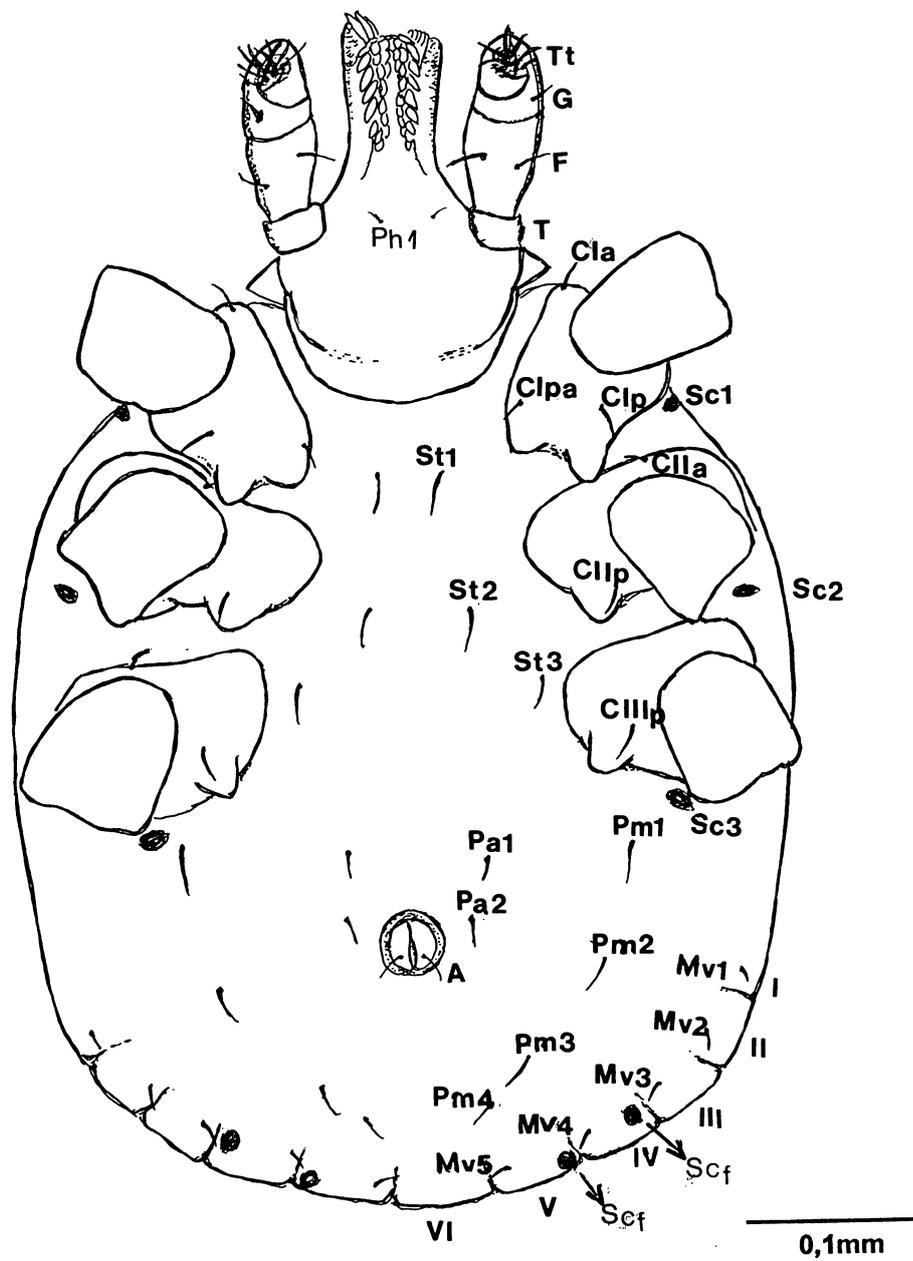


Figura 2. Larva de *Amblyomma aureolatum* em vista ventral (400X).

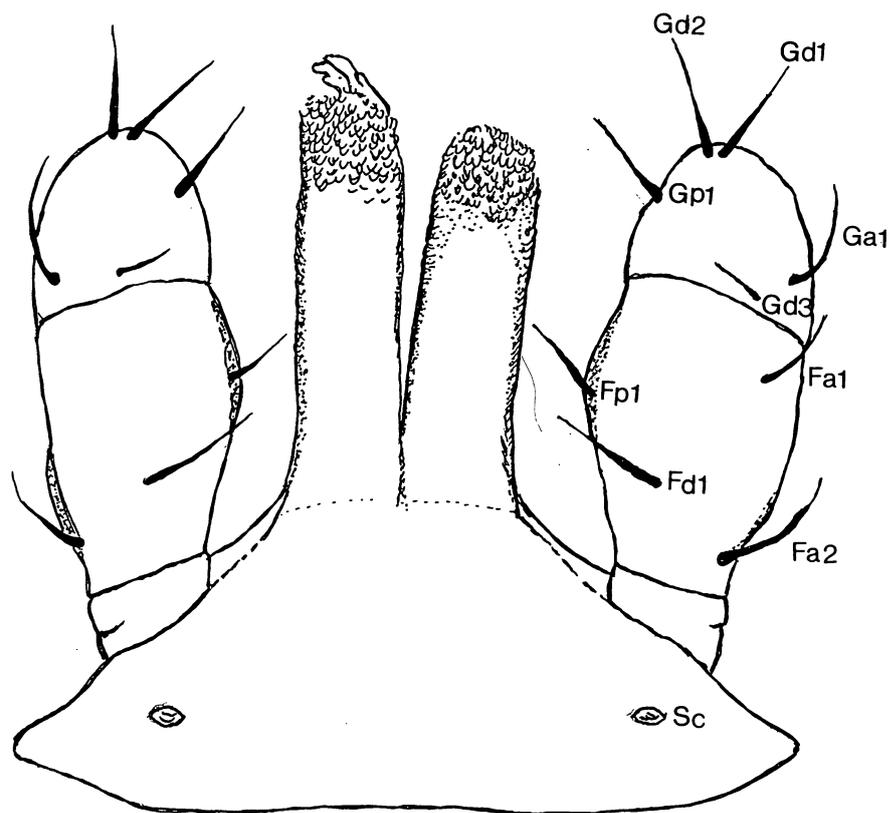


Figura 3. Larva de *Amblyomma aureolatum*, gnatossoma em vista dorsal (1000X).

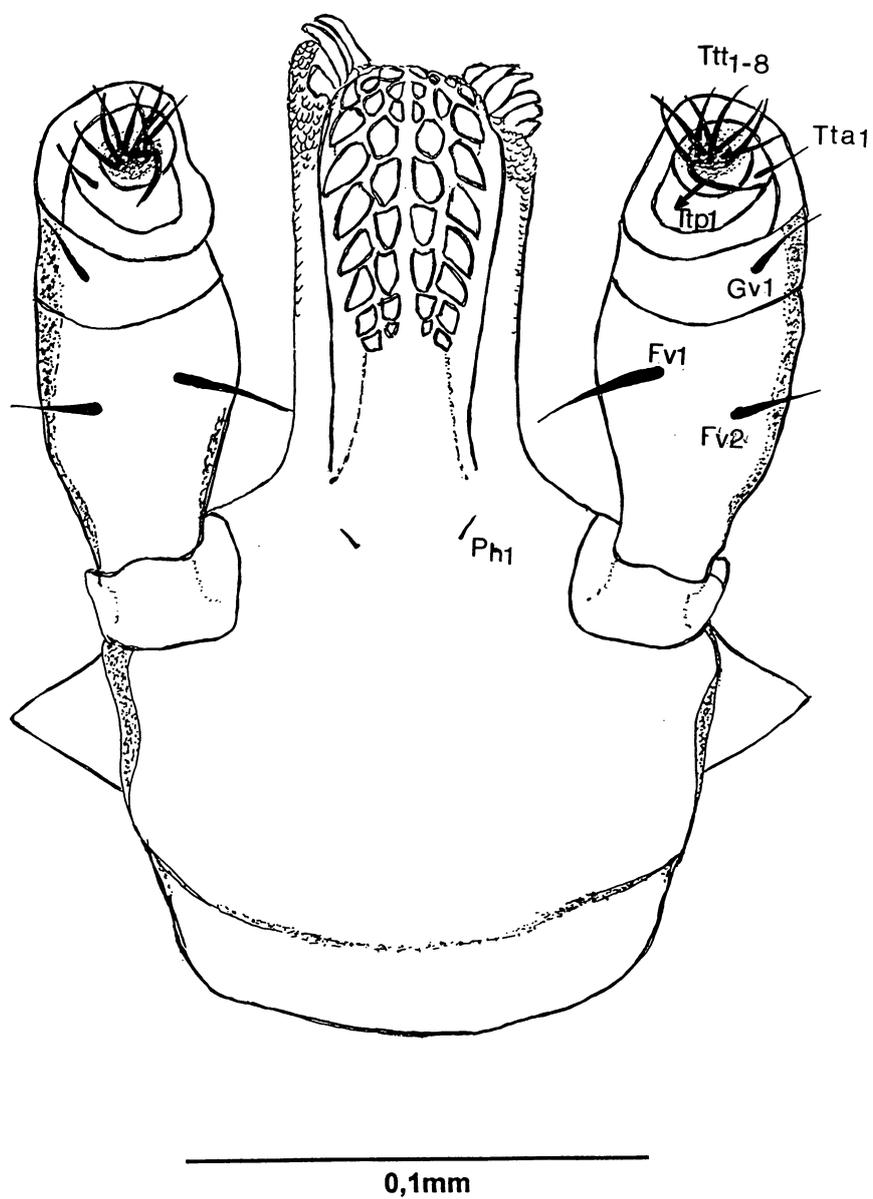


Figura 4. Larva de *Amblyomma aureolatum*, gnathosoma em vista ventral (1000X).

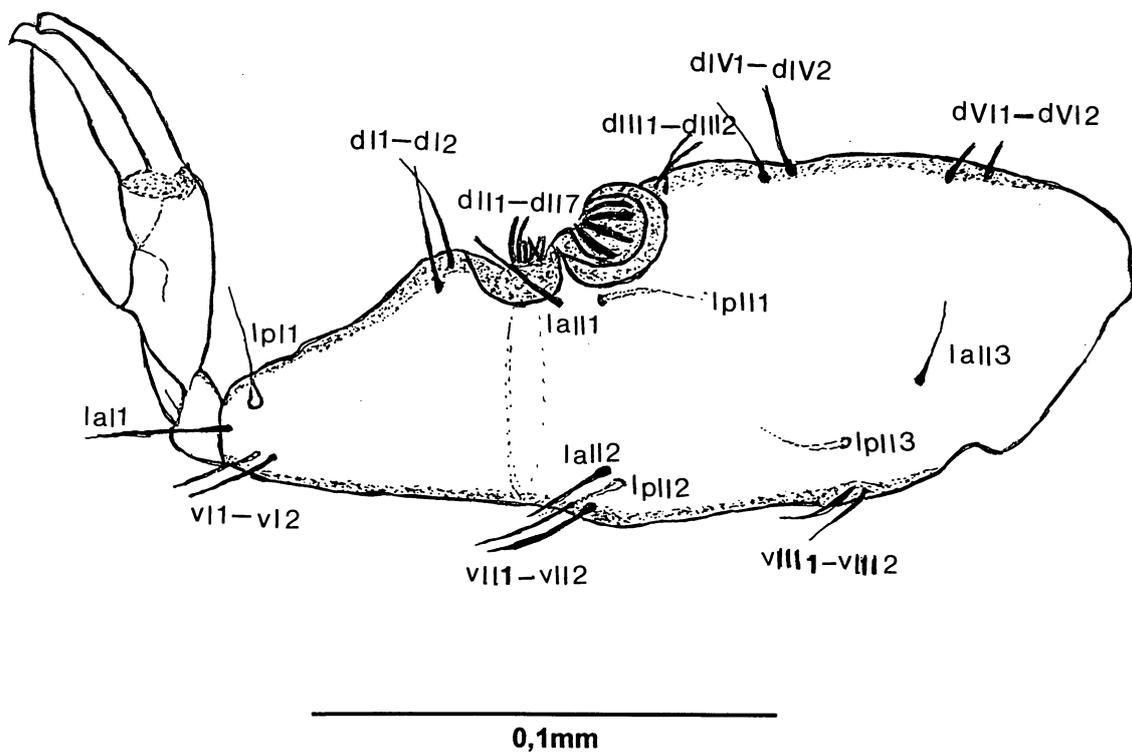


Figura 5. Larva de *Amblyomma aureolatum*, tarso da perna I em vista lateral (1000X).

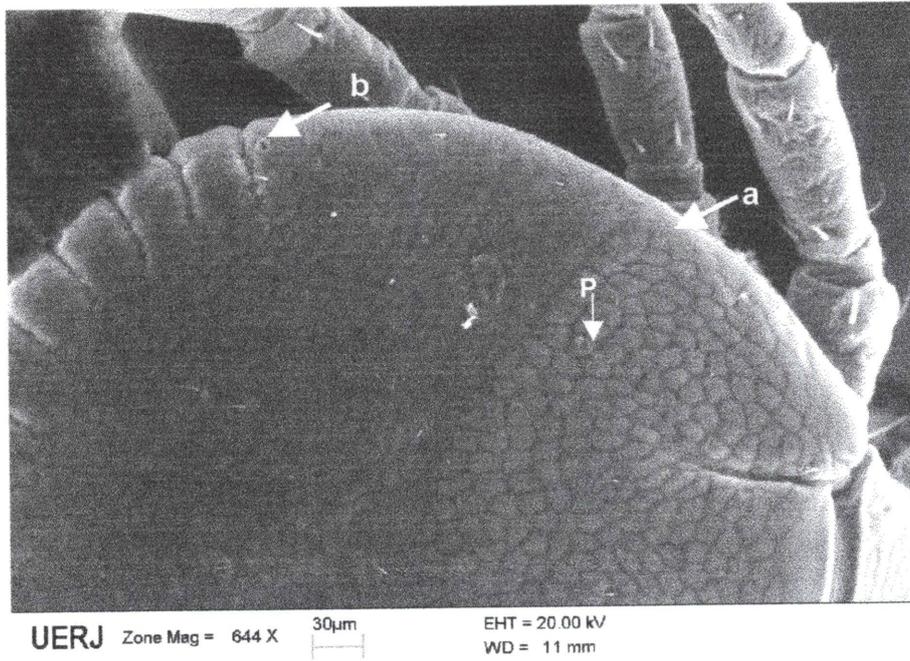


Figura 6. Idiossoma dorsal da larva de *Amblyomma aureolatum*. Escudo com ornamentação hexagonal; P, poro. a) olho plano; b) sensillum campaniforme (Scd).

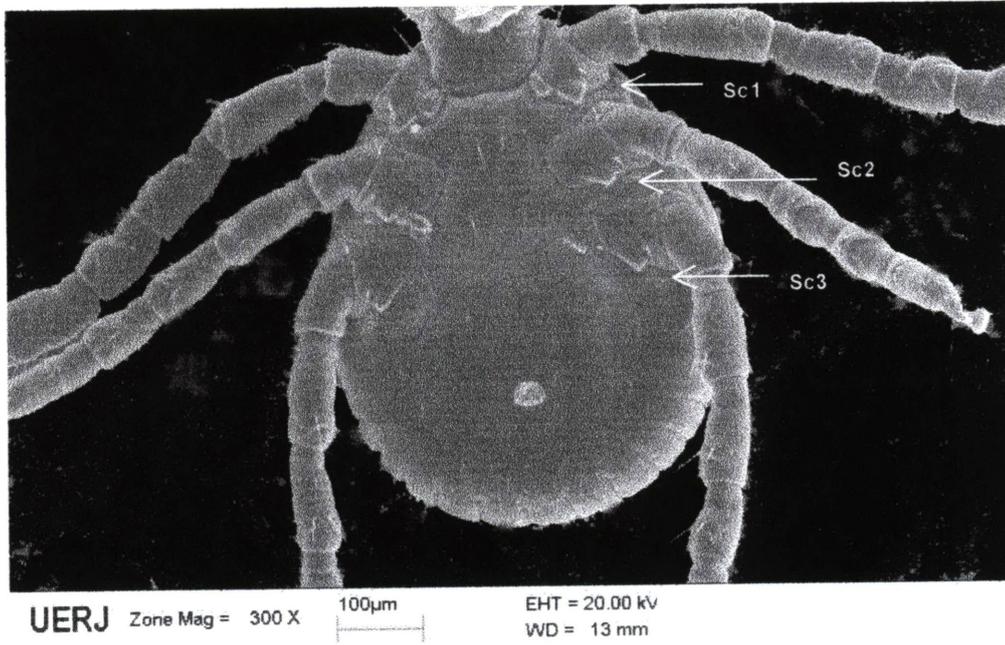


Figura 7. Idiossoma ventral da larva de *Amblyomma aureolatum*. Sc1, Sc2, Sc3, sensillum campaniforme.

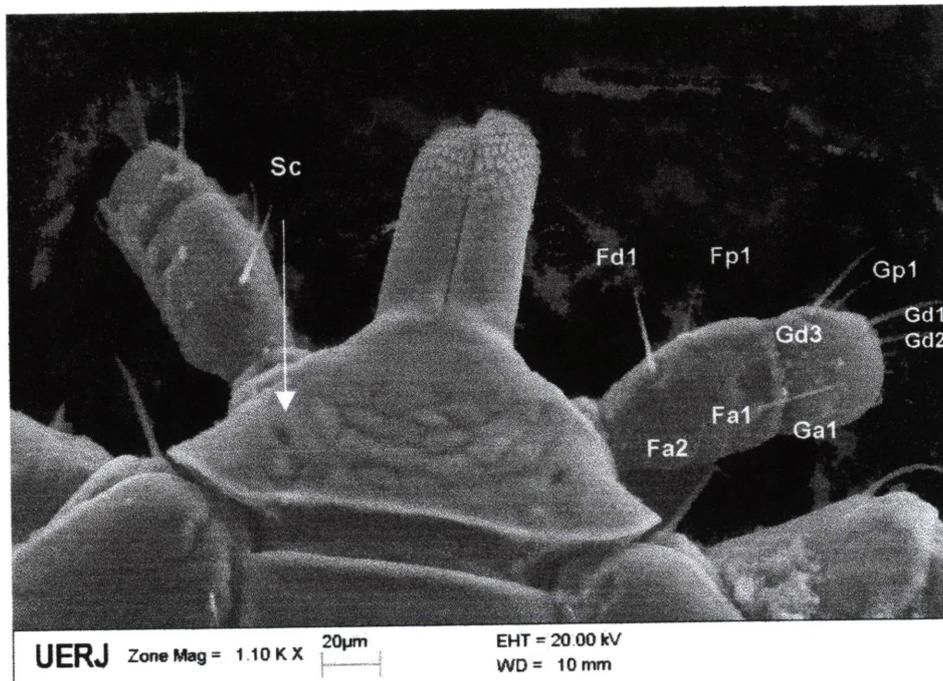


Figura 8. Gnatossoma dorsal de *Amblyomma aureolatum*. Sc, sensillum do capítulo. Cerdas do palpo: Fêmur (Fa1-Fa2; Fp1; Fd1). Genu (Gd1-Gd3; Gp1; Ga1).

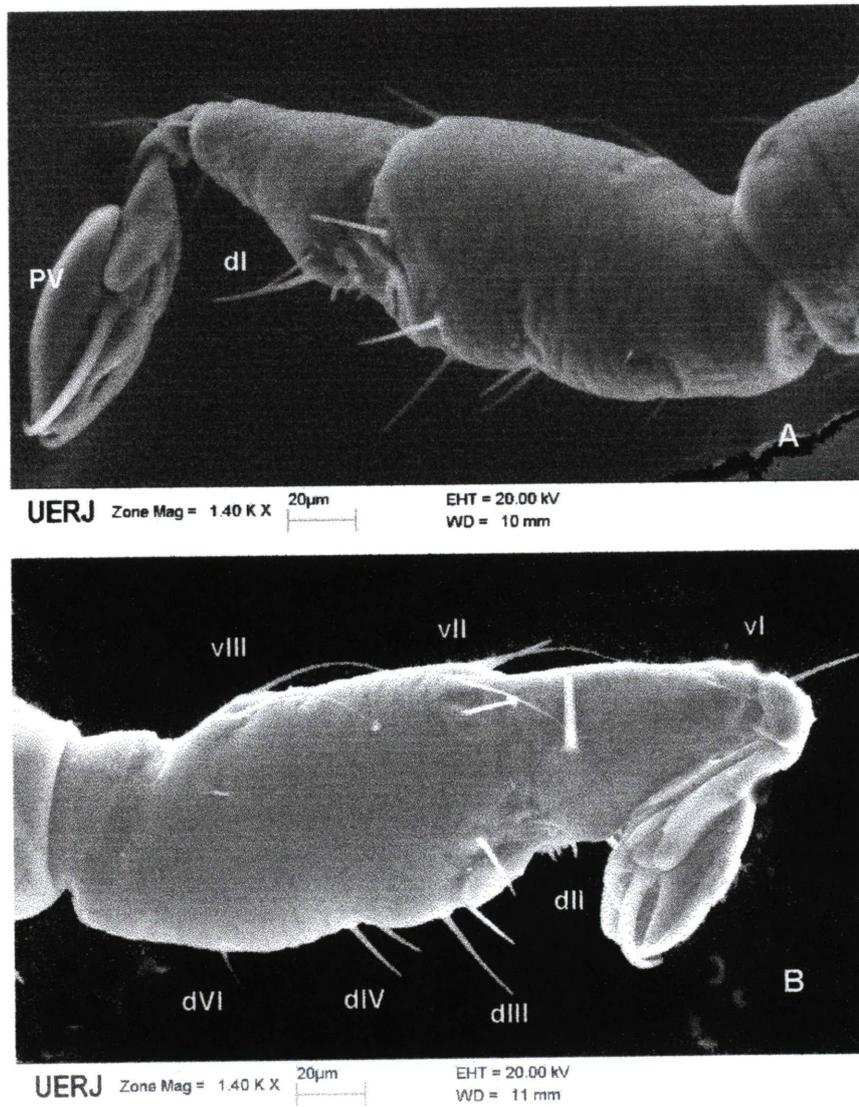


Figura 9. Tarso I da larva de *Amblyomma aureolatum*. A) vista laterodorsal; dl, cerdas dorsais do grupo I; PV, pulvilo. B) vista lateroventral; vi, vii, viii, cerdas ventrais; dII, dIII, dIV, dVI, cerdas dorsais.

TABELA II

Comparação morfológica entre larvas de *Amblyomma aureolatum* e *A. longirostre*, com outras espécies descritas na literatura

Caracteres	<i>A. aureolatum</i>	<i>A. longirostre</i>	<i>A. cajennense</i>	<i>A. parvum</i>	<i>A. pseudoparvum</i>	<i>A. cooperi</i>	<i>A. nodosum</i>	<i>A. varium</i>
Comprimento do capítulo dorsal	0,152	0,269	0,166	0,150	0,130	-	0,180	0,280
Largura da base	0,168	0,227	0,160	0,140	0,130	-	0,160	0,200
Comprimento do palpo dorsal	0,113	0,191	0,117	0,110	0,100	-	0,130	0,180
Comprimento fêmur/genu	0,097	0,174	0,096	0,100	0,090	-	0,110	0,140
Comprimento do hipostômio	0,105	0,136	0,093	0,100	0,090	-	0,070	0,110
Dentículos nas fileiras paraxiais	7-8	8-9	5-6	5-6	5-6	-	5-6	5-6
Cerdas no trocânter do palpo	0	0	0	0	0	0	0	0
Cerdas no fêmur	4D, 2V	4D, 2V	4D, 2V	4D, 2V	4D,2V	4D,2V	4D,2V	4D,2V
Cerdas no genu	5D, 1V	5D, 1V	5D, 1V	4D, 1V	4D,1V	5D,1V	5D,1V	5D,1V
Cerdas no tibio-tarso	10	10	12	10	10	10	10	10
Comprimento do Tarso I	0,195	0,284	0,186	0,160	0,180	-	0,230	0,300
Morfologia do capítulo dorsal	triangular	triangular	triangular	subtriangular	subtriangular	triangular	triangular	triangular
Morfologia do capítulo ventral	quadrangular	hexagonal	quadrangular	quadrangular	quadrangular	quadrangular	quadrangular arredondada	quadrangular
Sensillum no fêmur do palpo	ausente	presente	presente	presente	presente	presente	presente	presente
Nº sensilas	14	-	10	10	10	10	10	10

A. cajennense (Famadas et al. 1997); *A. parvum* e *A. pseudoparvum* (Guglielmone et al. 1990); *A. cooperi* (Amorim & Serra-Freire 1999b); *A. nodosum* (Amorim & Serra-Freire 1994); *A. varium* (Amorim & Serra-Freire 1996); D, dorsal; V, ventral. Todas as medidas são dadas em mm.

Considerando as distâncias gênicas em ordem crescente, verificadas em 342 pares de bases para todas as espécies de *Amblyomma* analisadas (Tabela I), *A. aureolatum* está mais próxima de *A. brasiliense* (78,4%), seguida de *A. cooperi* (78,3%), *A. maculatum* (76,2%), *A. triste* (75,9%), *A. tigrinum* (75,7%), *A. longirostre* (74,6%) e *A. pseudoconcolor* (70,4%). Quando todas as espécies de *Amblyomma* forem seqüenciadas, será possível resolver os problemas taxonômicos do gênero, principalmente dos estágios imaturos e também servirão como suporte na comparação da filogenia tradicional com a molecular.

Em relação à análise morfológica, as larvas e ninfas de *Amblyomma* são de difícil diagnóstico devido à ausência de caracteres morfológicos que definem estes estágios. Embora algumas larvas já tenham sido descritas, há pouca variação morfológica entre as espécies. Além disso, a quetotaxia do idiossoma e do tarso I, parece ser constante no gênero.

Na literatura, as espécies de carrapatos imaturos de *Amblyomma* que parasitam aves no Brasil são: *A. longirostre* (Aragão 1936), *A. tigrinum* (Evans et al. 2000) e *A. cajennense* (Rojas et al. 1999). Apesar destes autores identificarem as ninfas como sendo de *A. cajennense*, esta identificação não pode ser considerada precisa, uma vez que não há chaves dicotômicas para ninfas de carrapatos do gênero *Amblyomma* na Região Neotropical (Keirans 1972).

No caso de ninfas de *A. longirostre* o hipostômio pontiagudo em forma de lança é uma característica que a difere das demais espécies, o que já não acontece com as ninfas de *A. cajennense* que se assemelham à grande maioria.

As medidas do gnatossoma e tarso I de *A. aureolatum*, bem como, a quetotaxia do palpo, além de outros caracteres, foram comparadas com *A. longirostre* (Tabela II) e com outras espécies descritas na literatura.

Embora as medidas sejam diferentes, sendo quase duas vezes maior em *A. longirostre* e *A. varium* (Amorim & Serra-Freire 1996), a quetotaxia do palpo é similar para todas as espécies, à exceção de *A. cajennense*, com duas cerdas a mais no tíbio-tarso (Famadas et al. 1997), e *A. parvum* e *A. pseudoparvum*, que possuem uma cerda a menos no genu (Guglielmone et al.

1990). Por outro lado, o sensillum do palpo, presente nas espécies comparadas, não foi observado em *A. aureolatum*, que por sua vez possui um par de sensillum campaniforme no festão IV, além daquele já observado no festão V, presente em todas as espécies analisadas. A presença de um segundo par de cerdas pós-hipostomais em *A. cooperi* (Amorim & Serra-Freire 1999a) parece ser exclusiva desta espécie, assim como a presença de 2 espinhos nas coxas II e III de *A. dissimile* (Amorim & Serra-Freire 1999b) e apenas um espinho na coxa I de *A. tigrinum* (Estrada-Peña et al. 1993).

No que se refere à larva de *A. tigrinum*, o hipostômio com oito dentículos por fileiras paraxiais (Estrada-Peña et al. 1993), foi considerado um bom caráter de diferenciação da espécie (Amorim & Serra-Freire 1999b). No presente estudo, verificou-se que o número de dentículos por fileiras paraxiais em *A. aureolatum* varia de 7 a 8 e em *A. longirostre* de 8 a 9.

O sensillum na base do capítulo dorsal, também parece ser constante em todas as espécies descritas.

A análise molecular dos estágios imaturos colhidos a campo, comparada aos adultos de *A. aureolatum* e às larvas criadas em laboratório, foi fundamental para determinar o táxon, uma vez que, os caracteres morfológicos selecionados por Amorim & Serra-Freire (1999a) para a separação das larvas dos diferentes taxa, não foram suficientes para a identificação da larva de *A. aureolatum*.

CONCLUSÕES

Com base na metodologia aplicada podemos concluir que:

- 1) *Amblyomma aureolatum* e *Ixodes auritulus* compõem a ixodofauna parasitária das aves do Bosque Reinhard Maack, onde estágios não parasitários da primeira espécie foram capturados também no solo e na vegetação.
- 2) É assinalada pela primeira vez *Synallaxis ruficapilla* como hospedeiro para *I. auritulus*.
- 3) O ambiente de capoeira mostrou-se significativamente mais favorável às infestações de carrapatos nas aves do que os outros dois ambientes, possivelmente pela presença de cães que servem de hospedeiros para a fase adulta de *A. aureolatum*.
- 4) É assinalado pela primeira vez o parasitismo de *A. aureolatum* em aves com 17 registros novos de hospedeiros para larvas e ninfas.
- 5) É feito o primeiro registro de saí-canário *Thlypopsis sordida* para Curitiba.
- 6) A larva de *A. aureolatum* é descrita pela primeira vez, utilizando-se microscopia óptica e eletrônica de varredura.
- 7) A quetotaxia de *A. aureolatum* comparada com as outras espécies de *Amblyomma* citadas na literatura, mostrou-se insuficiente para a definição do táxon.
- 8) É registrado pela primeira vez, um par de sensillum campaniforme no festão IV, da larva de uma espécie de *Amblyomma*.
- 9) A análise molecular dos estágios imaturos, comparada aos adultos de *A. aureolatum* foi essencial para determinar o táxon nestes estágios, uma vez que os caracteres morfológicos e quetotáticos não são exclusivos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abel IS, Marzagão G, Yoshinari NH, Schumaker TTS 2000. Borrelia-like spirochetes recovered from ticks and small mammals collected in the Atlantic Forest reserve, Cotia County, State of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 621-624.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1994a. *Amblyomma nodosum* Neumann, 1899 descrição morfológica do estágio de larva. *Rev Bras Parasitol Vet* 3: 131-142.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1994b. Descrição morfológica do estágio de larva de carrapato (Acari: Ixodidae). 4. *Amblyomma dissimile* Koch, 1844. *Bol Mus Paraen Emilio Goeldi* 10: 273-288.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1995. Descrição morfológica do estágio de larva de carrapato (Acari: Ixodidae). 1. *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844. *Rev Parasitol Al Dia* 19: 09-19.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1996. Morphological description of tick larval stage (Acari: Ixodidae). 3. *Amblyomma varium* Koch, 1844. *Entomologia y Vectores* 3: 67-81.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1999a. Chave dicotômica para identificação de larvas de algumas espécies do Gênero *Amblyomma* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Entomologia y Vectores* 6: 75-90.
- Amorim M, Serra-Freire NM 1999b. Descrição morfológica do estágio de larva de carrapato (Acari: Ixodidae) 6. *Amblyomma cooperi* Nuttall & Warburton, 1907. *Entomologia y Vectores* 6: 126-155.
- Aragão HB 1936. Ixodidas brasileiros e de alguns países limítrofes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 31: 759-843.
- Aragão HB, Fonseca F 1952. Notas de Ixodologia III. Confirmação de *Ixodes aragai* Fonseca, 1935, de *Ixodes amarali* Fonseca, 1935 e lista de espécies do gênero *Ixodes* que ocorrem no Brasil (Acari: Ixodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 50: 727-28.

- Aragão HB, Fonseca F 1961. Notas de Ixodologia, VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 59: 115-29.
- Arthur DR 1960. A review of some ticks (Acarina: Ixodidae) of sea birds. Part II. The taxonomic problems associated with the *Ixodes auritulus percavatus* group of species. *Parasitology* 50: 199-226.
- Arzua M, Barros DM, Linardi PM, Botelho JM 1994. Noteworthy records of *Ixodes auritulus* Neumann, 1904 (Acari: Ixodida) on birds from Paraná, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89: 129.
- Arzua M, Barros-Battesti DM 1999. Parasitism of *Ixodes (Multidentatus) auritulus* Neumann (Acari: Ixodidae) on birds from the city of Curitiba, State of Paraná, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 597-603.
- Arzua M, Scherer-Neto P, Figueiredo GJ, Carrano E, Ribas CF, Rachwald M 2002. Novos registros de saí-canário *Thlypopsis sordida* (Emberizidae) no Estado do Paraná, com comentários sobre sua distribuição. *Ararajuba* 9: no prelo.
- Barros DM, Baggio D 1992. Ectoparasites Ixodida Leach, 1817 on wild mammals in the State of Paraná, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 87: 291-6.
- Barros-Battesti DM, Knysak I 1999. Catalogue of the Brazilian *Ixodes* (Acari: Ixodidae) material in the mite collection of the Instituto Butantan, São Paulo, Brazil. *Pap Avulsos Zool* 41: 49-57.
- Barros-Battesti DM, Yoshinari NH, Bonoldi VLN, Gomes AC 2000a. Parasitism by *Ixodes didelphidis* and *I. loricatus* (Acari: Ixodidae) on Small Wild Mammals from an Atlantic Forest in the State of São Paulo, Brazil. *J Med Entomol* 37: 820-827.
- Barros-Battesti DM, Onofrio VC, Simons SM, Bonoldi VLN, Yoshinari NH 2000b. Oviposition and eclosion periods of *Ixodes didelphidis* Fonseca & Aragão, 1951 (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 905-908.
- Beati L, Keirans JE 2001. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on

- mitochondrial 12s ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol* 87: 32-48.
- Bedford GAH 1934. South African ticks. Part I. *Onderstepoort. J Vet Sci Anim Ind* 2: 49-99.
- Beloserov VN 1982. Diapause and biological rhythms in ticks, p. 469-500. In FD Obenchain, R Galun, *Physiology of ticks*, Pergamon, New York.
- Black WC IV, Piesman J 1994. A phylogeny of hard and soft tick taxa based on mitochondrial 16S ribosomal DNA sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91: 10034-10038.
- Black WC IV, Klompen JSH, Keirans JE 1997. Phylogenetic relationships among tick subfamilies (Ixodida: Ixodidae: Argasidae) based on the 18S nuclear rDNA gene. *Molecular Phylogenetics Evolution* 7: 129-144.
- Black WC IV, Roehrdanz RL 1998. Mitochondrial gene order is not conserved in arthropods: prostriate and metastriate tick mitochondrial genomes. *Mol Biol Evol* 15: 1772-1785.
- Borges LMF, Labruna MB, Linardi PM, Ribeiro MFB 1998. Recognition of the tick genus *Anocentor* Schulze, 1937 (Acari: Ixodidae) by numerical taxonomy. *J Med Entomol* 35: 891-894.
- Camicas JL, Hervy JP, Adam F, Morel PC 1998. *Les tiques du monde*, Éditions de l'Orstom, Institut Français de Recherche Scientifique pour le Développement en Coopération, Paris, 233 pp.
- Castro GR, Serra-Freire NM 1996. Revisão da ixodofauna: I. Tamanduas (*Tamandua* sp.). *Entomol Vect* 3: 63-81.
- Clifford CM, Anastos G 1960. The use of chaetotaxy on the identification of larval ticks (Acarina: Ixodidae). *J Parasitol* 46: 567-578.
- Clifford CM, Sonenshine DE, Keirans JE, Kohls GM 1973. Systematics of the subfamily Ixodinae (acarina: Ixodidae). I. The subgenera of *Ixodes*. *Ann Entomol Soc Am* 66: 489-500.
- Coelho MA 1990. *Geografia do Brasil*, 3ª ed., Moderna, São Paulo, 281 pp.
- Cooley RA, Kohls GM 1945. The Genus *Ixodes* in North America. *Nat Inst Health Bull* 184: 1-246.

- Davis GE 1952. Observations on the biology of the argasid tick, *Ornithodoros brasiliensis* Aragão, 1923, with the recovery of a spirochete, *Borrelia brasiliensis*, n. sp. *J Parasitol* 38: 473-6.
- Durden LA, Keirans JE 1996. *Nymphs of the genus Ixodes (Acari: Ixodidae) of the United States: taxonomy, identification key, distribution, hosts, and medical/veterinary importance*, Entomological Society of America, Lanham, 95 pp.
- Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Mangold AJ, Castellá J 1993. A description of *Amblyomma tigrinum* Koch, *A. neumanni* Ribaga, and *A. testudinis* (Conil) immatures (Acarina: Ixodidae). *Folia Parasitol* 40: 14-153.
- Evans DE, Martins JR, Guglielmone AA 2000. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution – 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 95: 453-470.
- Fairchild GB, Kohls GM, Tipton VJ 1966. The ticks of Panama (Acarina: Ixodoidea), p. 167-219. In RL Wenzel, VJ Tipton, *Ectoparasites of Panama*, Field Museum of Natural History, Chicago.
- Falce HC 1986. Infestações múltiplas por ixodídeos (Acari: Ixodidae) em bovinos e eqüídeos no primeiro planalto do Estado do Paraná. *Rev Set Agr Ciên Agr* 8: 11-13.
- Falce HC, Flechtmann CHW, Fernandez BC 1983. Ixodinae (Acari) on horses, mules and asses in the State of Paraná, Brazil. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ São Paulo* 20: 103-106.
- Falco RC, Fish D 1989. The use of carbon dioxide-baited tick traps for sampling *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae). *Acarologia* 30: 29-33.
- Famadas KM, Serra-Freire NM, Faccini JLH 1996. A note on Slide-mounting Technique of Unfed Immature Stages of *Amblyomma cajennense* Fabricius, 1787 (Acari: Ixodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 91: 139-140.
- Famadas KM, Serra-Freire NM, Lanfredi RM 1997. Redescription of the larva of *Amblyomma cajennense* (Fabricius) (Acari: Ixodidae) using optical and scanning electron microscopy. *Acarologia* 38: 101-109.

- Filippova NA 1984. Taxonomy of ticks of the family Ixodidae (Acarina: Parasitiformes) in the USSR fauna and plants for studying it. *Parazitol Sb Zool Inst Akad Nauk SSSR* 32: 61-78.
- Flechtmann CHW 1977. *Ácaros de importância médico-veterinária*, Nobel, São Paulo, 192 pp.
- Fonseca F 1935. Ocorrência de sub-espécie *Ixodes ricinus* (L., 1758) no Estado de São Paulo (Acarina: Ixodidae). *Mem Inst Butantan* 9: 131-5.
- Guglielmone AA, Mangold JA, Keirans EJ 1990. Redescription of the male and female of *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 and description of nymph and larva, and description of all stages of *Amblyomma pseudoparvum* sp. n. (Acari: Ixodida: Ixodidae). *Acarol* 32: 143-159.
- Guimarães LR 1945. Sobre alguns ectoparasitos de aves e mamíferos do litoral paranaense. *Arq Mus Paran* 4: 179-90.
- Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM 2001. *Ectoparasitos de Importância Veterinária*, Plêiade/FAPESP, São Paulo, 218 pp.
- Hess E, Vlimant M 1983. The tarsal sensory system of *Amblyomma variegatum* Fabricius (Ixodidae: Metastriata). II. No pore sensilla. *Rev Suisse Zool* 90: 157-167.
- Hoogstraal H 1985. Argasid and Nuttaliellid ticks as parasites and vectors. *Adv Parasitol* 24: 135-238.
- Hoogstraal H, Aeschlimann A 1982. Tick-host specificity. *Bull Soc Entomol* 55: 5-32.
- Hutcheson HJ, Black WC IV, Klompen JSH, Keirans JE, Norris DE, Barker SC 2000. Current progress in tick molecular systematics, p. 11-19. In M Kazimirová, M Labuda, PA Nuttal, *Proceedings of the 3rd international conference "Ticks and tick-born Pathogens: Into the 21st Century"*, Institute of Zoology Slovak Academy of Sciences, Bratislava, Slovakia.
- IBGE 1995. Programa Versão DOS. Sistema de apresentação de dados CIVI - cadastro de cidades e vilas.
- Jones EK, Clifford CM, Keirans JE, Kohls GM 1972. The ticks of Venezuela (Acarina: Ixodoidea) with a key to the species of *Amblyomma* in the western hemisphere. *Brigham Young Univ. Sci Bull Biol Ser* 17: 1-40.

- Keirans JE 1972. Redescription of *Amblyomma fulvum* Neumann, 1899 (Acarina: Ixodidae), a parasite of the giant anaconda in northern South America. *J Med Entomol* 9: 138-139.
- Keirans JE 1992. Systematics of the Ixodida (Argasidae, Ixodidae, Nuttalliellidae): an overview and some problems, p. 1-21. In B Fivaz, T Petney, I Horak, *Tick vector biology medical and veterinary aspects*, Springer, Berlin.
- Keirans JE, Clifford CM, Corwin D 1976. *Ixodes sigelos* n. sp. (Acarina: Ixodidae), a parasite of rodents in Chile, with a method for preparing ticks for examination by scanning electron microscopy. *Acarologia* 18: 217-225.
- Klompen JSH, Black WC, Keirans JE, Oliver Jr JH 1996. Evolution of ticks. *Annu Rev Entomol* 41: 141-61.
- Kohls GM, Clifford CM, Jones EK 1969. The systematics of the subfamily Ornithodorinae (Acarina: Argasidae). IV. Eight new species of *Ornithodoros* from the Western hemisphere. *Ann. Entomol Soc Am* 62: 1035-1043.
- Labruna MB, Leite RC, Oliveira PR 1997. Study of the weight of eggs from six ixodid species from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 205-7.
- Labruna MB, Homem VS, Heinemann MB, Ferreira Neto JS 2000a. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with rural dogs in Uruara, eastern Amazon, Brazil. *J Medical Entomol* 37: 774-776.
- Labruna MB, Homem VS, Heinemann MB, Ferreira Neto JS 2000b. A case of gynandromorphism in *Amblyomma oblongoguttatum*. *J Medical Entomol* 37: 777-779.
- Labruna MB, Leite RC, Faccini JLH, Ferreira F 2000c. Life cycle of the tick *Haemaphysalis leporispalustris* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Exp Appl Acarology* 24: 683-694.
- Labruna MB, Marrelli MT, Heinemann MB, Fava AB, Cortez A, Soares RM, Sakamoto SM, Richtzenhain LJ, Marinotti O, Schumaker TTS 2002a. Taxonomic status of *Ixodes didelphidis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol* 39: no prelo.

- Labruna MB, Souza SLP, Guimarães JS, Pacheco RC, Pinter A, Gennari SM 2002b. Prevalência de carrapatos em cães de áreas rurais da região norte do Estado do Paraná. *Arq Bras Med Vet Zootec* 53: no prelo.
- Lemos ER, Machado RD, Pires FD, Machado SL, Costa LM, Coura JR 1997a. *Rickettsiae* infected ticks in an endemic area in spotted fever in the State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92: 477-481.
- Lemos ER, Machado RD, Coura JR, Guimarães MA, Serra-Freire NM, Amorim M, Gazeta GS 1997b. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: seasonal activity of ticks collected in an endemic area in São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop* 30: 181-185.
- Lorenzi H, Souza HM 1995. *Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras*, Plantarum, Nova Odessa, 736 pp.
- Maack R 1968. *Geografia Física do Estado do Paraná*, 2ª ed., José Olympio, Rio de Janeiro, 450 pp.
- Marini MA, Reinert BL, Bornschein MR, Pinto JC, Pichorim MA 1996. Ecological correlates of ectoparasitism on Atlantic Forest birds, Brazil. *Ararajuba* 4: 93-102.
- Mendez-Arocha M, Ortiz I 1958. Revision de las garrapatas venezolanas del genero *Ixodes* Latreille, 1795 y estudio de un nuevo *Amblyomma* (Acarina: Ixodidae). *Mem Soc Cienc Nat La Salle* 51: 196-208.
- Meyer de Schauensee R 1983. *A guide to the birds of South America*, Academy of Natural Sciences, Filadélfia, 498 pp.
- Morel PC, Perez C 1978. Morphologie des stages préimaginales dès Ixodidae s. str. D'Europe occidentale. IV. Généralité sur le sus-genre *Ixodes* (*Ixodes*). *Acarologia* 19: 201-208.
- Narosky T, Yzurieta D 1993. *Guia para la identificación de las aves de Argentina Y Uruguay*, Asociación Ornitológica del Plata, Vasquez Mazzini, Buenos Aires, 340 pp.
- Norris DE, Klompen JSH, Keirans JE, Lane RS, Piesman J, Black WC IV 1997. Taxonomic status of *Ixodes neotomae* and *I. spinipalpis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial DNA evidence. *J Med Entomol* 34: 696-703.

- Nuttall GHF 1916. Notes on ticks. IV. Relating to the genus *Ixodes* and including a description of three new species and two new varieties. *Parasitology* 8: 294-337.
- Oba MSP, Baggio D 1977. Ocorrência de *Ornithodoros talaje* Guérin et Meneville, 1849 (Ixodidae: Argasidae), na localidade de Santo Inacio, Bahia, Brasil. *Arq Inst Biol* 44: 107-9.
- Oba MSP, Schumaker TTS 1983. Estudos da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), em infestações experimentais de *Bufo marinus* (L., 1758) sob condições variadas de umidade relativa e de temperatura do ar. *Mem Inst Butantan* 47/48: 195-204.
- Oliver Jr JH 1989. Biology and systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annu Rev Ecol System* 20: 397- 430.
- Pessoa SB, Martins AV 1978. *Pessoa Parasitologia Médica*, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 986 pp.
- Piesman J, Gage KL 1996. Ticks and mites and the agents they transmit, p. 160-174. In BJ Beaty, WC Marquardt, *The biology of disease vectors*, University Press of Colorado, Niwot, Colorado.
- Ribeiro SS 1966/1967. Ixodídeos encontrados no Paraná, distribuição geográfica das espécies brasileiras. *An Fac Med Univ Fed Paraná* 9/10: 7-51.
- Ribeiro SS 1970/1971. Ixodídeos encontrados no cão doméstico no Estado do Paraná. *An Fac Med Univ Fed Paraná* 13/14:61-67.
- Rojas R, Marini MA, Coutinho MTZ 1999. Wild birds as hosts of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 94: 315-322.
- Schumaker TTS, Barros DM 1994. Notes on the biology of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 (Acari: Ixodida) on *Bufo marinus* (Linnaeus, 1758) from Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 89: 29-31.
- Schumaker TTS, Barros DM 1995. Life cycle of *Ornithodoros (Alectorobius) talaje* (Acari: Argasidae) in laboratory. *J Med Entomol* 32: 249-54.
- Schumaker TTS, Labruna MB, Abel IS, Clerice PT 2000. Life cycle of *Ixodes (Ixodes) loricatus* under laboratory conditions. *J Med Entomol* 37: 714-720.

- Sick H 1997. *Ornitologia Brasileira*. 2^a ed., Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 912 pp.
- Siegel S 1981. *Estatística não-paramétrica*, McGraw-Hill do Brasil, São Paulo, 350 pp.
- Sinkoc AL, Brum JGW, Moraes W, Crawshaw P 1998. Ixodinae parasitos de animais silvestres na região do Iguaçu, Brasil e Argentina. *Arq Inst Biol* 65 : 29-33.
- Statistical Graphics System 1998. StatGraf user's manual, version 5.0. STSC, MD.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG 1997. The clustal X interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* 25: 4876-4882.
- Veloso HP, Rangel Filho ALR, Lima JCA 1991. *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*, IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro, 123 pp.
- Venzal JM, Castro O, Cabrera P, Souza C, Fregueiro G, Barros-Battesti DM, Keirans JE 2001. *Ixodes (Haemixodes) longiscutatum* Boero (New Status) and *I. (H.) uruguayensis* Kohls & Clifford, a new synonym of *I. (H.) longiscutatum* (Acari: Ixodidae). *Mem Inst Oswaldo Cruz* 96: 1121-1122.
- Woolley TA 1988. *Acarology. Mites and human welfare*, Library of Congress, Fort Collins, 484 pp.
- Yoshinari NH, Barros PJJ, Fonseca AH, Bonoldi VLN, Barros-Battesti DM, Schumaker TTS, Cossermelli W 1995. Borreliose de Lyme, zoonose emergente de interesse multidisciplinar. *NewsLab* 12: 90-104.
- Yoshinari NH, Barros PJJ, Bonoldi VLN, Ishikawa M, Barros-Battesti DM, Pirana S, Fonseca AH, Schumaker TTS 1997. Perfil da borreliose de Lyme no Brasil. *Rev Hosp Clin Fac Med S Paulo* 52: 111-117.
- Yoshinari NH, Bonoldi VLN, Barros-Battesti DM, Schumaker TTS 1999. Doença de Lyme-Símile. *Rev Brasil Reumatol* 39: 57-58.

Anexos

ANEXO 1

Umidade relativa do ar, observada entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, no município de Curitiba, PR.

Semanas de coleta	Umidade relativa do ar semanal			Umidade relativa do ar mensal		
	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média	Máxima
21/01/99 a 27/01/99	54,00	74,15	94,30	17,70	78,90	94,80
20/02/99 a 26/02/99	65,30	80,90	96,50	59,20	77,20	95,10
18/03/99 a 24/03/99	61,70	77,75	93,80	58,80	76,60	94,30
23/04/99 a 29/04/99	57,42	76,51	95,60	61,72	77,83	93,94
21/05/99 a 27/05/99	47,69	71,01	94,33	33,95	73,13	92,90
17/06/99 a 23/06/99	70,57	83,50	96,43	63,90	79,40	94,89
22/07/99 a 28/07/99	55,37	74,89	94,40	62,15	78,55	94,97
21/08/99 a 27/08/99	39,61	64,78	89,94	41,83	67,36	92,18
23/09/99 a 29/09/99	53,61	73,01	92,40	33,02	71,10	92,14
16/10/99 a 22/10/99	62,87	82,39	93,12	63,47	82,13	93,74
19/11/99 a 25/11/99	46,40	74,90	92,00	52,10	74,30	92,80
22/12/99 a 28/12/99	55,10	79,70	93,20	53,80	77,40	92,50
Médias do ano 1999	55,8	76,12	93,84	50,14	76,16	93,69
20/01/00 a 26/01/00	60,30	75,70	92,10	57,50	77,70	92,30
23/02/00 a 29/02/00	50,30	78,50	93,80	59,40	80,50	93,00
25/03/00 a 31/03/00	63,10	81,00	92,70	61,30	80,80	93,20
22/04/00 a 28/04/00	34,90	76,30	94,60	44,70	72,30	92,60
23/05/00 a 29/05/00	45,00	70,20	91,40	50,30	75,80	92,90
23/06/00 a 29/06/00	44,60	67,80	87,10	51,60	75,70	92,10
22/07/00 a 28/07/00	42,50	75,50	94,40	46,00	72,50	91,20
24/08/00 a 30/08/00	37,80	73,20	93,90	48,20	75,90	93,80
23/09/00 a 29/09/00	59,00	80,60	92,80	66,70	83,90	94,70
25/10/00 a 31/10/00	55,20	78,30	92,50	52,30	77,50	94,00
22/11/00 a 28/11/00	49,60	74,70	93,10	57,50	78,70	92,50
21/12/00 a 27/12/00	53,80	76,70	93,00	51,00	75,40	92,10
Médias do ano 2000	49,68	75,71	92,62	53,88	77,23	92,87

ANEXO 2

Temperatura (°C) e pluviometria (mm) observadas entre janeiro de 1999 e dezembro de 2000, no município de Curitiba, PR.

Semana de coleta	Temperatura Semanal			Temperatura Mensal			Pluviometria Média		Pluviometria Acumulada	
	Mínima	Média	Máxima	Mínima	Média	Máxima	Semanal	Mensal	Semanal	Mensal
21/01/99 a 27/01/99	18,6	22,3	28,9	17,7	21,8	25,8	10,0	10,5	70,2	326,8
20/02/99 a 26/02/99	17,5	20,4	26,0	17,7	21,2	26,8	37,6	13,3	263,0	371,0
18/03/99 a 24/03/99	17,8	21,0	25,2	17,7	21,1	26,0	1,2	4,0	8,2	124,2
23/04/99 a 29/04/99	12,3	16,6	23,0	13,6	17,5	22,6	0,0	2,2	0,2	66,8
21/05/99 a 27/05/99	7,9	13,0	19,7	10,1	14,5	20,1	0,0	1,8	0,0	55,6
17/06/99 a 23/06/99	10,4	13,1	17,1	9,2	9,6	18,2	6,8	5,4	47,8	83,4
22/07/99 a 28/07/99	10,4	14,8	20,8	9,9	16,3	19,0	0,2	4,5	1,6	139,4
21/08/99 a 27/08/99	11,5	17,4	24,7	8,7	14,6	22,1	0,3	0,4	2,4	13,2
23/09/99 a 29/09/99	9,7	14,9	20,1	11,2	15,9	22,2	1,0	3,7	6,8	112,0
16/10/99 a 22/10/99	13,0	16,9	20,8	12,0	16,2	20,4	0,0	3,9	0,0	122,2
19/11/99 a 25/11/99	12,5	19,1	25,7	12,6	17,7	22,8	1,3	2,0	9,0	60,0
22/12/99 a 28/12/99	16,6	21,2	25,8	16,3	21,0	25,7	7,2	3,9	50,4	122,2
Médias do ano 1999	13,2	17,6	23,1	13,1	17,3	22,6	5,5	4,6	38,3	133,1
20/01/00 a 26/01/00	16,7	21,0	26,2	17,2	20,9	26,5	0,8	5,5	5,6	171,2
23/02/00 a 29/02/00	18,2	22,0	28,9	17,2	20,5	26,0	4,5	4,5	31,2	130,2
25/03/00 a 31/03/00	14,4	18,4	23,7	15,7	19,3	24,5	0,6	4,0	4,0	124,4
22/04/00 a 28/04/00	11,7	17,1	25,8	13,8	18,4	25,2	0,0	0,3	0,0	8,8
23/05/00 a 29/05/00	8,4	13,6	19,7	10,4	14,9	20,6	0,4	0,5	2,6	16,2
23/06/00 a 29/06/00	11,6	16,8	22,3	11,4	15,7	21,5	3,6	4,0	25,0	118,8
22/07/00 a 28/07/00	3,6	9,4	17,3	5,5	11,2	17,5	6,7	2,4	46,8	73,8
24/08/00 a 30/08/00	11,5	16,4	22,8	8,6	14,1	20,9	0,8	2,6	47,8	82,0
23/09/00 a 29/09/00	9,7	13,5	21,0	11,1	14,7	19,9	0,4	1,8	2,6	52,6
25/10/00 a 31/10/00	14,9	18,6	24,6	15,1	19,3	25,8	0,7	1,4	4,8	44,6
22/11/00 a 28/11/00	15,2	20,2	26,7	14,8	18,7	24,6	2,0	1,6	14,2	47,8
21/12/00 a 27/12/00	18,3	22,5	28,4	16,3	20,8	26,9	1,3	1,1	9,4	34,8
Médias do ano 2000	12,9	17,5	24,0	13,1	17,4	23,3	1,8	2,5	16,2	75,4

ANEXO 3 - Continuação

Espécies de Aves	Famílias													
	Trochilidae	Columbidae	Picidae	Parulidae	Tyrannidae	Conopophagidae	Furnariidae	Vireonidae	Estrildidae	Emberizidae	Dendrocolaptidae	Turdidae	Formicariidae	Troglodytidae
**Poospiza lateralis										x				
*Saltator similis										x				
<i>Satrapa icterophrys</i>					x									
<i>Serpophaga subcristata</i>					x									
<i>Synallaxis cinerascens</i>							x							
<i>Synallaxis ruficapilla</i>							x							
<i>Synallaxis spixi</i>							x							
<i>Tachyphonus coronatus</i>										x				
<i>Tangara preciosa</i>										x				
***Thamnophilus caeruleus													x	
<i>Thamnophilus ruficapillus</i>													x	
<i>Thlypopsis sordida</i>										x				
<i>Thraupis bonariensis</i>										x				
<i>Thraupis sayaca</i>										x				
<i>Troglodytes aedon</i>														x
<i>Turdus albicollis</i>												x		
<i>Turdus amaurochalis</i>												x		
****Turdus rufiventris												x		
<i>Tyranus melancholicus</i>					x									
<i>Zonotrichia capensis</i>										x				

* , uma recaptura; **, duas recapturas; ***, três recapturas; ****, 18 recapturas

ANEXO 4

Carrapatos das espécies *A. aureolatum* e *I. auritulus* coletados nas aves do Bosque Reinhard Maack segundo as espécies de aves e os ambientes de estudo, entre janeiro de 1999 a dezembro de 2000

Meses	Proto-tombo	Hospedeiro	Ambiente	Carrapato	L	N	F
27/01/99	ARM-688	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
27/01/99	ARM-689	<i>Furnarius rufus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	1	0
27/01/99	ARM-690	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	2	1	0
27/01/99	ARM-691	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	0	0
27/01/99	ARM-692	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
26/02/99	ARM-693	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
26/02/99	ARM-694	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
24/03/99	ARM-734	<i>T. caerulescens</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	37	2	0
29/04/99	ARM-730	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	3	0	0
29/04/99	ARM-731	<i>T. ruficapillus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	21	0	0
29/04/99	ARM-732	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	87	4	0
29/04/99	ARM-733	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	42	4	0
29/04/99	ARM-744	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	36	0	0
29/04/99	ARM-745	<i>Synallaxis ruficapilla</i>	mata	<i>I. auritulus</i>	1	1	0
27/05/99	ARM-735	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	26	1	0
27/05/99	ARM-736	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	6	1	0
27/05/99	ARM-737	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
27/05/99	ARM-738	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>I. auritulus</i>	0	1	0
27/05/99	ARM-739	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>I. auritulus</i>	0	1	0
27/05/99	ARM-740	<i>Cranioleuca pallida</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
27/05/99	ARM-741	<i>Cranioleuca pallida</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
27/05/99	ARM-742	<i>Cranioleuca pallida</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	0	0
27/05/99	ARM-743	<i>Cranioleuca obsoleta</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
27/05/99	ARM-746	<i>Turdus albicollis</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
23/06/99		sem ectoparasito					
28/07/99	ARM-747	<i>T. coronatus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
28/07/99	ARM-748	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/07/99	ARM-749	<i>Turdus albicollis</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	4	1	0
28/07/99	ARM-750	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	11	0	0
28/07/99	ARM-751	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	2	0
				<i>I. auritulus</i>	1	0	0
28/07/99	ARM-752	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
28/07/99	ARM-753	<i>Turdus albicollis</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	5	0	0
28/07/99	ARM-754	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	3	0
				<i>I. auritulus</i>	0	1	0
28/07/99	ARM-755	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
28/07/99	ARM-756	<i>Cranioleuca obsoleta</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	3	0	0
28/07/99	ARM-757	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	2	0	0
28/07/99	ARM-758	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
				<i>I. auritulus</i>	1	0	0
27/08/99	ARM-759	<i>Saltator similis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	1	0
27/08/99	ARM-760	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	14	1	0
27/08/99	ARM-761	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
27/08/99	ARM-762	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
27/08/99	ARM-763	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
27/08/99	ARM-764	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
27/08/99	ARM-765	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
27/08/99	ARM-766	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
27/08/99	ARM-767	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	57	0	0
27/08/99	ARM-768	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	6	0	0

ANEXO 4 - Continuação

27/08/99	ARM-769	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	2	0
29/09/99	ARM-770	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	2	1	0
29/09/99	ARM-771	<i>Conopophaga lineata</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	2	0
29/09/99	ARM-772	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	7	0
29/09/99	ARM-773	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
				<i>I. auritulus</i>	0	1	0
29/09/99	ARM-774	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/09/99	ARM-775	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
29/09/99	ARM-776	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
29/09/99	ARM-777	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
22/10/99	ARM-778	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-779	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>I. auritulus</i>	0	0	2
22/10/99	ARM-780	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-781	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
22/10/99	ARM-782	<i>T. amaurochalinus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-783	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	3	0	0
22/10/99	ARM-784	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
22/10/99	ARM-785	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-786	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
22/10/99	ARM-787	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
22/10/99	ARM-788	<i>B. leucoblepharus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	1	0
22/10/99	ARM-789	<i>Poospiza lateralis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-790	<i>Poospiza lateralis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
22/10/99	ARM-791	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
22/10/99	ARM-792	<i>T. amaurochalinus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-793	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-794	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-795	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
25/11/99	ARM-796	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
25/11/99	ARM-797	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-798	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
25/11/99	ARM-799	<i>B. leucoblepharus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-800	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
25/11/99	ARM-801	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	1	0
25/11/99	ARM-802	<i>B. leucoblepharus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/12/99	ARM-803	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/12/99	ARM-804	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	5	0
28/12/99	ARM-805	<i>B. leucoblepharus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/12/99	ARM-806	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/12/99	ARM-807	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/12/99	ARM-808	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	3	3	0
28/12/99	ARM-809	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
26/01/00	ARM-810	<i>Saltator similis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	9	1	0
26/01/00	ARM-811	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
29/02/00	ARM-813	<i>Saltator similis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
31/03/00	ARM-814	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
31/03/00	ARM-815	<i>T. caeruleus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
31/03/00	ARM-816	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
28/04/00	ARM-817	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	0	0
28/04/00	ARM-818	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/04/00	ARM-819	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/04/00	ARM-820	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	30	0	0
28/04/00	ARM-821	<i>B. leucoblepharus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0

ANEXO 4 - Continuação

28/04/00	ARM-822	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/04/00	ARM-823	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/05/00	ARM-826	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/05/00	ARM-827	<i>B. leucoblepharus</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/06/00	ARM-828	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/06/00	ARM-829	<i>B. leucoblepharus</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/06/00	ARM-830	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/06/00	ARM-831	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>I. auritulus</i>	4	0	0
29/06/00	ARM-832	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	3	4	0
29/06/00	ARM-833	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/06/00	ARM-834	<i>Cranioleuca obsoleta</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	7	0	0
29/06/00	ARM-835	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	2	0
29/06/00	ARM-836	<i>T. caerulescens</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	13	2	0
28/07/00	ARM-837	<i>Cranioleuca obsoleta</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	2	1	0
28/07/00	ARM-838	<i>Saltator similis</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	3	0	0
28/07/00	ARM-839	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
30/08/00	ARM-840	<i>Zonotrichia capensis</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
30/08/00	ARM-841	<i>Troglodytes aedon</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
30/08/00	ARM-842	<i>T. caerulescens</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
30/08/00	ARM-843	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	1	0
				<i>I. auritulus</i>	0	1	0
30/08/00	ARM-844	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>I. auritulus</i>	0	1	0
29/09/00	ARM-845	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/09/00	ARM-846	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/09/00	ARM-847	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
29/09/00	ARM-848	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
29/09/00	ARM-849	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	3	0
29/09/00	ARM-850	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	1	2	0
29/09/00	ARM-851	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	2	0
29/09/00	ARM-852	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	2	0	0
31/10/00	ARM-853	<i>Synallaxis cinerascens</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	4	0
31/10/00	ARM-854	<i>T. amaurochalinus</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	8	0
31/10/00	ARM-855	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
31/10/00	ARM-856	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	4	0
31/10/00	ARM-857	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
31/10/00	ARM-858	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	13	0
31/10/00	ARM-859	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/11/00	ARM-860	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	1	0
28/11/00	ARM-861	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
28/11/00	ARM-862	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	3	19	0
28/11/00	ARM-863	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	0	6	0
				<i>I. auritulus</i>	0	0	2
27/12/00	ARM-864	<i>Turdus rufiventris</i>	mata	<i>A. aureolatum</i>	1	1	0
27/12/00	ARM-865	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	4	0	0
27/12/00	ARM-866	<i>Turdus rufiventris</i>	limitrofe	<i>A. aureolatum</i>	1	0	0
27/12/00	ARM-867	<i>Turdus rufiventris</i>	capoeira	<i>A. aureolatum</i>	0	2	0
Total	142 aves	17 espécies	3 ambientes	2 espécies	496	217	4

As coletas de *I. auritulus* foram destacadas em negrito; L, larva; N, ninfa; F, fêmea.

ANEXO 5

Medidas (mm) das larvas de *Amblyomma aureolatum* coletadas em aves silvestres do Bosque Reinhard Maack, Curitiba, PR

Larvas	Idiossoma		Escudo dorsal		Capítulo		Hipostômio		Palpo		FG	Tarso I	Festão VI
	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.	Comp.	Larg.	Comp.	Comp.	Larg.
1	0,521	0,431	0,272	0,417	0,152	0,168	0,106	0,331	0,113	0,045	0,097	0,195	0,056
2	0,620	0,841	0,234	0,414	0,150	0,201	0,099	0,320	0,112	0,043	0,099	0,199	0,054
3	0,599	0,651	0,237	0,415	0,161	0,220	0,099	0,332	0,100	0,045	0,100	0,195	0,058
4	0,695	0,567	0,244	0,379	0,143	0,180	0,120	0,317	0,130	0,044	0,095	0,199	0,057
5	0,792	0,663	0,273	0,417	0,156	0,190	0,150	0,330	0,100	0,045	0,098	0,201	0,056
6	0,732	0,762	0,235	0,400	0,170	0,210	0,090	0,340	0,110	0,045	0,093	0,202	0,059
7	0,586	0,457	0,293	0,441	0,163	0,170	0,120	0,327	0,120	0,045	0,097	0,198	0,057
8	0,548	0,485	0,243	0,423	0,161	0,180	0,120	0,332	0,120	0,045	0,098	0,197	0,060
9	0,597	0,479	0,264	0,431	0,173	0,170	0,108	0,317	0,120	0,044	0,096	0,201	0,057
10	0,695	0,457	0,258	0,423	0,160	0,190	0,106	0,330	0,130	0,046	0,099	0,201	0,056
11	0,792	0,433	0,279	0,379	0,152	0,165	0,110	0,340	0,120	0,043	0,097	0,199	0,059
12	0,732	0,442	0,282	0,417	0,150	0,200	0,120	0,320	0,120	0,045	0,100	0,201	0,057
13	0,586	0,457	0,271	0,400	0,158	0,210	0,107	0,332	0,100	0,044	0,095	0,202	0,060
14	0,620	0,485	0,270	0,441	0,162	0,180	0,090	0,317	0,111	0,043	0,098	0,198	0,056
15	0,599	0,479	0,269	0,423	0,173	0,163	0,120	0,327	0,122	0,045	0,093	0,198	0,054
16	0,695	0,457	0,267	0,414	0,160	0,193	0,120	0,332	0,128	0,044	0,097	0,197	0,058
17	0,792	0,567	0,258	0,415	0,152	0,195	0,108	0,317	0,118	0,045	0,097	0,201	0,057
18	0,548	0,663	0,279	0,379	0,150	0,190	0,106	0,330	0,110	0,045	0,098	0,199	0,056
19	0,792	0,485	0,282	0,417	0,152	0,194	0,110	0,340	0,105	0,045	0,096	0,199	0,059
20	0,732	0,457	0,271	0,419	0,150	0,170	0,120	0,325	0,116	0,045	0,099	0,199	0,060
Média	0,664	0,536	0,264	0,413	0,157	0,187	0,111	0,328	0,115	0,045	0,097	0,199	0,058
DP	0,091	0,119	0,017	0,018	0,008	0,016	0,013	0,008	0,009	0,001	0,002	0,002	0,002
Máxima	0,792	0,841	0,293	0,441	0,173	0,220	0,150	0,340	0,130	0,046	0,100	0,202	0,060
Mínima	0,521	0,431	0,234	0,379	0,143	0,163	0,090	0,317	0,100	0,043	0,093	0,195	0,054

1, medidas do exemplar desenhado; FG, medidas dos segmentos fêmur e genu combinados; DP, desvio padrão.