



**Pesquisa do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) nos carrapatos *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no município de Salto, SP.**

**Secretaria de agricultura e abastecimento do Estado de São Paulo**

**Agência paulista de tecnologia dos agronegócios**

**Instituto Biológico**

**Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no**

**Agronegócio**

**Pesquisa do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) nos carrapatos *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no município de Salto, SP.**

**LUCIANA APARECIDA SOARES**

Dissertação apresentada para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema

Orientadora:  
Dra. Márcia Cristina Mendes

São Paulo  
2021

Eu **Luciana Aparecida Soares**, autorizo o Instituto Biológico (IB), da Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, a disponibilizar gratuitamente e sem ressarcimento dos direitos autorais, o presente trabalho acadêmico de minha autoria, no portal, biblioteca digital, catálogo eletrônico ou qualquer outra plataforma eletrônica do IB para fins de leitura, estudo, pesquisa e/ou impressão pela Internet desde que citada a fonte.

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

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo**  
**Núcleo de Informação e Documentação – IB**

---

Soares, Luciana Aparecida.

Pesquisa do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) nos carrapatos *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no município de Salto-SP. / Luciana Aparecida Soares. - São Paulo, 2021.

62 p.

doi: 10.31368/PGSSAAA.2021D.LS004

Dissertação (Mestrado). Instituto Biológico (São Paulo). Programa de Pós-Graduação.

Área de concentração: Segurança Alimentar e Sanidade no Agroecossistema.

Linha de pesquisa: Manejo integrado de pragas e doenças em ambientes rurais e urbanos.

Orientador: Marcia Cristina Mendes. Versão do título para o inglês: Research of the parasitoid *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) in the ticks *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) and *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) in the municipality of Salto – SP.

1. Controle biológico 2. Microhimenópteros 3. Reação de cadeia de polimerase (PCR) 4. Biologia molecular I. Soares, Luciana Aparecida II. Mendes, Marcia Cristina III. Instituto Biológico (São Paulo) IV. Título.

IB/Bibl./2021/004

---

## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Nome do candidato:** Luciana Aparecida Soares

**Título:** Pesquisa do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) nos carrapatos *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no município de Salto, SP.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, para a obtenção do título de Mestre em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio.

Aprovado em: 24/06/2021

### Banca Examinadora

Assinatura:

\* Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marcia Cristina Mendes

\*Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

\*Prof. Dr. Valmir Antônio Costa

\*Instituição: Instituto Biológico

Assinatura:

\* Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Tatyana Sacchi Carmona Rodrigueiro

\*Instituição: Centro de Educação Técnica Estadual Paula Souza, São Paulo/SP

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a **Deus** por me dar sabedoria para continuar em frente, e me proteger durante a vida, e principalmente nesse momento difícil diante de uma pandemia, me mantendo forte e com saúde.

À Professora **Dra. Márcia Cristina Mendes**, que tornou possível o desenvolvimento desse trabalho, sempre prestativa em orientar, e com sua paciência ímpar em sanar todas as dúvidas, sua experiência e humanidade me inspirarão por toda minha vida.

Ao **Dr. Valmir Antônio Costa** do Instituto Biológico de Campinas, por identificar os insetos e pelo apoio e sempre estar à disposição.

Ao **Instituto Biológico** e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio do Instituto Biológico, pelos ensinamentos.

Ao **Dr. Valmir Costa** do Instituto Biológico pelo apoio e ensinamentos.

Aos pesquisadores e colegas do Laboratório de Parasitologia Veterinária (Instituto Biológico): **Fernanda Calvo Duarte, Leonardo Costa Fiorini, Paulo Henrique Selbmann Sampaio, Isabella Barboza de Almeida, Marcelo da Luz Santos, Deborah Mirela de Melo Romano, Karina Araújo dos Anjos, Shirley Batista da Silva Araújo**, que colaboraram com esse projeto desde o início, por isso meu muito obrigado.

Aos meus colegas e companheiros de trabalho do Centro de Controle de Zoonoses de Salto, **Leandro Bernardes da Silva Moraes, Fernando Michel Oliveira, Gilberto Esquerdo, José Carlos Aristides**, sempre prestativos e atentos em reservar e avisar quando havia animais com carrapatos para minha pesquisa.

Ao ex-prefeito da Estância Turística de Salto, Sr. **José Geraldo Garcia**, pela oportunidade de ampliar o presente estudo no âmbito do Programa de Controle Integrado do Carrapato do Município de Salto.

Ao Excelentíssimo Sr. Prefeito da Estância Turística de Salto, **Laerte Sonsin Junior**, pela oportunidade para que eu pudesse continuar o presente estudo no âmbito do Programa de Controle Integrado do Carrapato do Município de Salto.

Ao meu marido **Marcelo Cardoso Gomes**, pelo apoio e compreensão durante minha ausência na concretização desse trabalho.

Aos meus pais **José Eduardo Soares e Suely Ignácio Soares**, por me ensinar a lutar, acreditar em Deus e perseverar.

Aos **alunos da pós-graduação** do Instituto Biológico 2019-2021, pelo companheirismo, amizade nesses dois anos.

Aos **funcionários do Instituto Biológico**, pelo carinho e a disposição de ajudar sempre com gentileza meu muito obrigada.

Aos meus irmãos, **José Eduardo Soares Junior**, **André Luiz Soares**, **Heloisa Helena Soares**, **Bruno Vinícius Soares**, pelo apoio e carinho.

E a todos que contribuíram e compartilharam dessa jornada comigo direta ou indiretamente. Muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (*CAPES*) - Código de Financiamento 001.

SOARES, L.A. Pesquisa do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908), (Hymenoptera: Encyrtidae) nos carrapatos *Amblyomma sculptum* (Berlese, 1888) e *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) no município de Salto, SP.. São Paulo. 2021. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

## RESUMO

Os carrapatos provocam muitos prejuízos à saúde dos animais, humanos e ao agronegócio. Algumas espécies do gênero *Amblyomma* são vetores do agente causador da Febre Maculosa Brasileira, uma zoonose e um grande problema de saúde pública. Já o carrapato da espécie *Rhipicephalus sanguineus*, caracteriza-se por acometer animais de sangue quente. O cão é o seu principal hospedeiro, podendo ser encontrado parasitando diversos animais silvestres, domésticos e até mesmo humanos. A dificuldade do controle dos carrapatos, bem como o desenvolvimento de resistência a muitos inseticidas, torna o controle do carrapato oneroso. O controle biológico torna-se uma alternativa que tem sido estudada como uma opção de controle integrado do carrapato e com impacto positivo na saúde pública e no controle do meio ambiente. O presente trabalho teve por objetivo pesquisar a ocorrência do parasitoide *Ixodiphagus hookeri*, em carrapatos do gênero *Amblyomma* coletados em áreas públicas e da espécie *Rhipicephalus sanguineus* coletados de animais naturalmente infestados, do município de Salto, no Estado de São Paulo. A investigação foi realizada através de coletas no período de março de 2019 a fevereiro de 2021. Os carrapatos *Amblyomma* foram capturados utilizando a técnica de armadilhas de gelo seco que liberam CO<sub>2</sub> e os exemplares de *R. sanguineus* foram coletados de animais naturalmente infestados. A captura dos insetos para identificação dos parasitoides foi realizada com rede entomológica e armadilha de Moericke. Das amostras coletadas de carrapatos parte deles foram dissecadas e outras acondicionadas em recipientes para observação de emergência de michohimenópteros e outras submetidas ao teste molecular para identificação da presença do DNA de *I. hookeri*. Os insetos capturados foram triados de acordo com as características da família Encyrtidae. As dissecações e as observações de emergências não indicaram presença de larvas de *I. hookeri* nos carrapatos. Os testes de PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S dos carrapatos *Amblyomma sculptum* amplificaram para todas as amostras. Porém, a região mCOX I de *I. hookeri* não ampliaram estes segmentos genômicos mitocondriais. Nos insetos capturados, foram identificadas 15 famílias de insetos parasitoides pertencentes a 5 superfamílias sendo elas, Ceraphronoidea 7,86%, Chalcidoidea 53,18%, Cynipoidea 3,74%, Diaprioidea 14,60% e Platygastroidea 20,59%, e não foi identificado nenhum indivíduo de *I. hookeri*.

**PALAVRAS-CHAVE:** controle biológico, himenópteros, reação de cadeia de polimerase (PCR), biologia molecular.



SOARES, L.A. RESEARCH OF THE PARASITOID *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) IN THE TICKS *Amblyomma sculptum* (Berlese,1888) AND *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806) IN THE MUNICIPALITY OF SALTO-SP. São Paulo. 2021. Dissertation (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico.

## ABSTRACT

Ticks cause a lot of damage to the health of animals, humans and agribusiness. Some species of the genus *Amblyomma* are vectors of the causative agent of Brazilian Spotted Fever, a zoonosis and a major public health problem. The tick species *Rhipicephalus sanguineus* is characterized by affecting warm-blooded animals. The dog is its main host, and it can be found parasitizing various wild and domestic animals, and even humans. The difficulty of tick control, as well as the development of resistance to many insecticides, makes tick control costly. Biological control becomes an alternative that has been studied as an option for integrated tick control with a positive impact on public health and environmental control. The present work aimed to investigate the occurrence of the parasitoid *Ixodiphagus hookeri*, in ticks of the genus *Amblyomma* collected in public areas and *Rhipicephalus sanguineus* specimens collected from naturally infested animals, in the city of Salto, São Paulo State. The investigation was conducted through collections in the period from March 2019 to February 2021. *Amblyomma* ticks were captured using the technique of dry ice traps that release CO<sub>2</sub> and *R. sanguineus* specimens were collected from naturally infested animals. Insect capture for parasitoid identification was performed with entomological net and Moericke's trap. Part of the tick samples collected were dissected and others were placed in containers for observation of microhymenoptera emergence and others were submitted to molecular testing to identify the presence of *I. hookeri* DNA. The captured insects were sorted according to the characteristics of the Encyrtidae family. Dissection and emergence observations Specimens of *I. hookeri* were not found. PCR tests of the sections corresponding to the 16S mRNA of *Amblyomma sculptum* ticks amplified for all samples. However, the mCOX I region of *I. hookeri* did not amplify these mitochondrial genomic segments. In the captured insects, 15 families of parasitoid insects were identified, belonging to 5 superfamilies being Ceraphronoidea 7.86%, Chalcidoidea 53.18%, Cynipoidea 3.74%, Diaprioidea 14.60% and Platygastroidea 20.59%, and no individual of *I. hookeri* was identified.

**KEYWORDS:** biological control, Himynoptera, Polymerase Chain reaction (PCR), molecular biology

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Mapa do Brasil com a distribuição dos carrapatos do gênero <i>Amblyomma</i> , de acordo com a classificação <i>A. cajennense (sensu stricto)</i> ; <i>A. cajennense (sensu lato)</i> ; <i>A. sculptum</i> .....	20
<b>Figura 2</b> – Ciclo biológico de um carrapato trioxeno.....	21
<b>Figura 3</b> - Casos confirmados de Febre Maculosa Brasileira no Estado de São Paulo de 2007 a 2021 .....	22
<b>Figura 4</b> – Ciclo de vida trioxeno de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	24
<b>Figura 5</b> – Fêmea adulta de <i>Ixodiphagus hookeri</i> . (B) Genital da fêmea ampliada. (C) Macho adulto de <i>Ixodiphagus hookeri</i> . (D) Genital do macho ampliado.....	28
<b>Figura 6</b> – <i>Hunterellus hookeri</i> por Costa Lima.....	30
<b>Figura 7</b> – Relato sobre o trabalho de Costa Lima – Revista A Cigarra .....	30
<b>Figura 8</b> – Distribuição dos locais de coleta no mapa da Cidade de Salto, local circulado em amarelo encontra-se a abrangência do Rio Tietê na cidade De Salto .....	32
<b>Figura 9</b> – Locais onde foram realizadas as coletas na cidade de Salto .....	34
<b>Figura 10</b> – Armadilha de “tnt” com gelo seco ao centro .....	35
<b>Figura 11</b> – Métodos de captura de insetos .....	37
<b>Figura 12</b> – <i>Rhipicephalus sanguineus</i> em placa de Petri com solução fisiológica.....	38
<b>Figura 13</b> – Recipiente plástico onde foram acondicionadas ninfas ingurgitadas da espécie <i>A. sculptum</i> e <i>R. sanguineus</i> .....	38
<b>Figura 14</b> - Estágio de desenvolvimento de <i>Amblyomma sculptum</i> de acordo com o mês de coleta no período de março de 2019 a fevereiro de 2021 no município de Salto-SP.....	41
<b>Figura 15</b> – Amplificação por PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S de <i>Amblyomma sculptum</i> e <i>Ixodiphagus hookeri</i> .....	42
<b>Figura 16</b> – Amplificação por PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> e de <i>Ixodiphagus hookeri</i> .....	42
<b>Figura 17</b> – Porcentagens de insetos parasitoides coletados no Condomínio Santa Rosa, Jardim Buru, Ilha do Sul e Pesqueiro Português no município de Salto-SP.....	43

**Figura 18** – Na figura a esquerda, foto de fêmea ingurgitada de *R. sanguineus* que após permanecer em tubo de ensaio, ao exame microscópico apresentou perfuração compatível com ruptura por parasitoide.....49

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela I</b> – Número absoluto de carrapatos <i>Amblyomma</i> sp. coletados e separados de acordo com o estágio de desenvolvimento em cada local de coleta no período de março de 2019 a fevereiro de 2021 em Salto (SP).....	40
<b>Tabela II</b> – Insetos parasitoides coletados no Condomínio Santa Rosa de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.....	44
<b>Tabela III</b> – Insetos parasitoides coletados no Jardim Buru de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.....	45
<b>Tabela IV</b> - Insetos parasitoides coletados no Parque Ilha da Usina de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.....	46
<b>Tabela V</b> – Insetos parasitoides coletados no Pesqueiro do Português de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.....	47
<b>Tabela VI</b> – Quantidade de carrapatos <i>Rhipicephalus sanguineus</i> coletados de março de 2019 a fevereiro de 2020 no município de Salto-SP.....	48

## LISTA DE SIGLAS, UNIDADES E ABREVIATURAS

<b>BEPA</b>	Boletim Epidemiológico Paulista
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de Carbono
<b>COX</b>	Proteína Ciclo-oxigenase
<b>CRAS</b>	Centro de Referência de Assistência Social
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>FMB</b>	Febre Maculosa Brasileira
<b>PCR</b>	Reação em Cadeia da Polimerase
<b>RMSF</b>	Rocky Mountain Spotted Fever
<b>SUCEN</b>	Superintendência de Controle de Endemias
<b>TNT</b>	Tecido Não Tecido
<b>IFESP</b>	Instituto Federal de Ciência e Tecnologia de São Paulo
<b>UL</b>	Microlitro
<b>UM</b>	Micrometro
<b>NM</b>	Nanômetro
<b>°C</b>	Grau Celsius
<b>16S</b>	RNA ribossomal
<b>MgC12</b>	Cloreto de magnésio
<b>DNTP</b>	Desoxirribonucleotídeos Fosfatados
<b>MIP</b>	Manejo Integrado de Pragas

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	16
<b>2.OBJETIVOS</b> .....	18
2.1 Geral .....	18
2.2 Específicos .....	18
<b>3.REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	19
3.1 Carrapatos .....	19
3.1.1 <i>Amblyomma sculptum</i> : aspectos da espécie e sua epidemiologia.....	19
3.1.2 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> : aspectos da espécie e sua epidemiologia .....	23
3.2 Controle químico convencional: <i>Amblyomma e Rhipicephalus</i> .....	25
3.3 Controle biológico .....	26
3.3.1. Utilização de <i>Ixodiphagus hookeri</i> no controle biológico de carrapatos.....	28
3.3.2 <i>Ixodiphagus hookeri</i> no Brasil.....	30
<b>4.MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
4.1 Local da coleta de carrapatos <i>Amblyomma.sp</i> .....	31
4.2 Locais de coleta de <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	35
4.3 Coleta de Insetos e identificação dos parasitoide .....	36
4.5 Pesquisa de parasitoide de <i>Amblyomma sp.</i> e <i>R. sanguineus</i> por observação .....	38
4.6 Teste molecular para verificar a presença do <i>Ixodiphagus hookeri</i> .....	39
<b>5. RESULTADOS</b> .....	40
5.1 <i>Amblyomma sculptum</i> .....	40
5.2 Identificação dos insetos coletados.....	43
5.3 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> .....	47
<b>6. DISCUSSÃO</b> .....	49
<b>7. CONCLUSÃO</b> .....	52

<b>8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>53</b>
--	-----------



## 1. INTRODUÇÃO

Os carrapatos pertencem à uma pequena ordem que abrange 860 espécies, quando comparados com outros grupos de acarinos. Apresentam distribuição mundial e constituem um dos mais importantes grupos de artrópodes hematófagos parasitas de anfíbios, répteis e mamíferos (CAMICAS et al., 1998 apud, GUIMARÃES et al., 2001; VIEIRA et. al., 2004).

Todos os estágios da maioria das espécies são responsáveis por provocar danos nos hospedeiros desde a irritação provocada pelas picadas, perda significativa diária de sangue pela hematofagia e por veicularem uma variedade de patógenos (HU et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2001)

A espécie *Amblyomma sculptum* (Berlese,1888) conhecida popularmente como carrapato estrela além de provocar danos devido a sua picada, tem um grande potencial de veiculação de patógenos, incluído vírus, bactérias e riquetsias como a *Rickettsia rickettsii* causadora da Febre Maculosa Brasileira (FMB) e a *Rickettsia amblyommii*, (NUNES et al., 2015). Embora os relatos sobre a patogenicidade de *R. amblyommii* em seres humanos sejam pontuais, estudos recentes relatam soroprevalência em *A. sculptum* que parasitavam capivaras (AGUIRRE, 2018; CAMPOS et al., 2019).

Já a espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille,1806), conhecido popularmente como “carrapato vermelho” se caracteriza por acometer animais de sangue quente. O cão é seu principal hospedeiro e pode ser encontrado parasitando animais silvestres e domésticos, e a espécie humana (DANTAS TORRES, 2009; GUGLIELMONE, 2010). É o principal carrapato responsável pela transmissão da bactéria *Ehrlichia canis* e de protozoários do gênero Babesia, e estudos recentes apontam para a filarida *Cercopithifilaria binae*, um parasita que vem despertando a atenção nos últimos quatro anos, em especial nas regiões nordeste do Brasil (RAMOS et. al, 2017; GUGLIELMONE et al., 2014; SOARES et. al.,2019).

Há relatos do aumento de erliquiose em humanos correlacionado a maiores taxas de parasitismo por *R. sanguineus*, sendo ele considerado na transmissão de outras espécies de riquetsias, como a *Rickettsia rickettsii* e a *Rickettsia conorii*, agentes causais, respectivamente, da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas no México e na América do Sul e da Febre Botonosa na região mediterrânea do sul da Europa e da África do Norte (DANTAS-TORRES, et al., 2006).

Nas últimas décadas vários métodos visando o controle do carrapato têm sido avaliados, com a utilização de produtos químicos, biológicos, orgânicos e imunológicos e manejo de pastagens (SILVEIRA et al., 2014).

Entre os métodos de controle, a utilização de inimigos naturais com o objetivo de realizar o controle biológico têm sido relatados como uma alternativa ao sistema integrado de controle dos carrapatos, visando diminuir os prejuízos provocados, bem como reduzir a utilização de produtos químicos, minimizando os efeitos residuais no meio ambiente (SILVA, 2019;).

O controle biológico através da utilização de parasitoides e predadores já é uma prática utilizada na produção agrícola almejando uma agricultura mais sustentável (PARRA et al., 2002). Para controle dos carrapatos métodos de controle biológico como a utilização de espécies de fungos entomopatogênicos das espécies *Metarhizum anisopliae* e *Beauveria bassiana* vem sendo estudada e caracterizada em ensaios de laboratório, apresentando resultados satisfatórios e demonstrando patogenicidade para várias espécies de carrapatos (GARCIA, 2004; SILVA, 2019).

Dentre os potenciais inimigos naturais, também se destacam os parasitoides himenópteros, no entanto apenas algumas espécies desses insetos que demonstraram valor potencial no controle de espécies de carrapatos (SAMISH et al., 2004). No Brasil, os parasitoides de carrapatos foram relatados há mais de 95 anos, quando *Ixodiphagus hookeri* (Howard) foi relatado parasitando ninfas de *R. sanguineus* no Rio de Janeiro. Estudos evidenciaram a ocorrência de *Ixodiphagus* spp. em carrapatos de três diferentes regiões do Brasil (Costa-Lima, 1915 *apud* LOPES et al., 2012).

No estado do Maranhão, parasitoides foram detectados em ninfas de *R. sanguineus* em entre agosto de 2009 e setembro de 2010 (estação seca) e janeiro de 2011 (estação chuvosa) e foram identificados como *I. hookeri*. No estado de Mato Grosso do Sul, uma ninfa ingurgitada de *Amblyomma* sp. mostrou-se parasitada por *I. hookeri*. Já no estado de Rondônia, um *Amblyomma* sp. ninfa ingurgitada era parasitada por *Ixodiphagus texanus* (Howard) (LOPES et al., 2012).

Desta forma, pretende-se pesquisar a presença do parasitoide do gênero *Ixodiphagus hookeri* em carrapatos capturados no município de Salto, podendo assim contribuir para o manejo integrado de carrapatos.

## **2.OBJETIVOS**

### **2.1 Geral**

Verificar a ocorrência do parasitoide *Ixodiphagus hookeri* em amostras coletadas no município de Salto, no Estado de São Paulo visando o controle biológico de carrapatos.

### **2.2 Específicos**

- Capturar *A. sculptum* no campo através de armadilhas de gelo seco para observação da presença de *I. hookeri*;
- Coletar *R. sanguineus* em cães para observação da presença do *I. hookeri*;
- Identificar os microhimenópteros através de teste molecular em carrapatos com o uso de marcadores moleculares específicos.

## REVISÃO DE LITERATURA

### 3.1 Carrapatos

Os carrapatos causam muitos prejuízos aos sistemas de produção, bem como à saúde humana e animal, sendo um grande problema de saúde pública (GUIMARÃES et al., 2001; HU et al., 1998).

Pertencem a ordem Ixodida sendo essa constituída por três subordens: Argasina, Nuttalliellina e Ixodina, sendo citadas duas famílias em Nuttalliellina e Argasina: Argasidae e Nuttalliellidae, e em Ixodina inclui as famílias Ixodidae e Amblyomidae (CARNICAS et al., 1998, APUD GUIMARÃES et al., 2001).

A família Ixodidae compreende os carrapatos popularmente conhecidos como carrapatos duros, a família Argasidae inclui os carrapatos moles, e a família Nuttalliellidae, com características morfológicas intermediárias entre as duas primeiras (BARROS-BATTESTI, 2006). É a família que possui o maior número de representantes dos carrapatos, e por apresentarem escudo são conhecidos como carrapatos duros. Tem ampla distribuição como parasitos de vertebrados (ONOFRIO, 2006; GUIMARÃES, 2001).

Aves, répteis e anfíbios são hospedeiro de muitas espécies de Ixodidae, mas geralmente eles se alimentam de sangue de mamíferos incluindo os seres humanos (NAVA, 2014).

A Região Neotropical está representada por 117 espécies, incluídas em cinco gêneros (Amblyomma, Dermacentor, Haemaphysalis, Ixodes e *Rhipicephalus*, este último contendo o subgênero Boophilus) (ONOFRIO, 2006).

#### 3.1.1 *Amblyomma sculptum*: aspectos da espécie e sua epidemiologia

Atualmente, após reavaliação morfológica e biológica, o gênero *Amblyomma* foi reclassificado como um complexo de seis espécies: *A. cajennense* sensu stricto; *A. mixtum*; *A. sculptum*; *A. interandinum*; *A. patino* e *A. tonelliae* (NAVA et al., 2014). Distribuídos geograficamente do sul dos Estados Unidos até distintas regiões das Américas Central e do Sul,

podem ser encontrados nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e parte das regiões Sul e Nordeste do Brasil (NAVA et al., 2014; GUIMARÃES et al., 2001).

Segundo Rodrigues et al. (2015), no Brasil são consideradas pelo menos duas espécies do complexo “*cajennense*”, sendo *A. cajennense* sensu stricto encontrada nos estados do Pará, Rondônia, Mato Grosso, Maranhão e Tocantins e *A. sculptum* encontrado nas regiões Sudeste, Centro-Oeste e parte das regiões Sul e Nordeste (Figura 1).

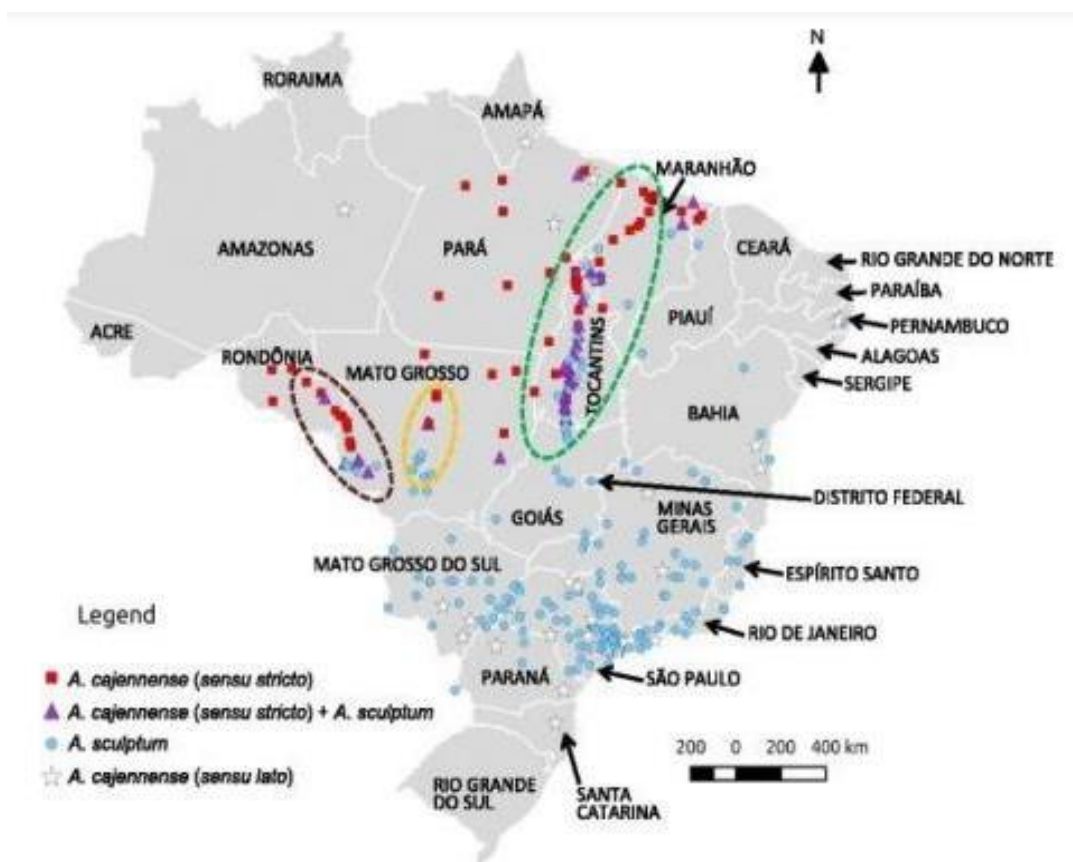


Figura 1: Mapa do Brasil com a distribuição dos carrapatos do gênero *Amblyomma*, de acordo com a classificação: *A. cajennense* (sensu stricto); *A. cajennense* (sensu lato); *A. sculptum*.

Fonte: MENEZES (2017)

Estas espécies apresentam elevada prevalência e vasta área de distribuição, causando sérios transtornos à produção animal e à saúde pública, tais como: espoliação sanguínea, transmissão de patógenos nocivos ao homem, aos animais, gastos com honorários veterinários,

medicamentos e demais medidas de controle, que em alguns casos, mostram-se ineficazes (VIEIRA et al., 2004).

Para que uma população de carrapatos do complexo “*cajennense*” se estabeleça no ambiente é necessária a presença de dois tipos de hospedeiros: os primários, tais como capivaras, equinos e antas, e os secundários, que incluem dezenas de espécies (PAROLA et al., 2013, LEMOS et al., 2001).

O ciclo biológico de *A. sculptum* (figura 2), é composto do estágio inativo (ovo) e de três estágios móveis posteriores (larva, ninfa e adultos). Esses carrapatos possuem um ciclo trioxeno, ou seja, necessitam de três hospedeiros para seu desenvolvimento (ONOFRIO, 2006). Desta forma, parasitam diferentes espécies, sendo esse um comportamento importante na transmissão de patógenos, facilitando a transmissão de agentes causadores de doenças entre hospedeiros distintos (FRANCO, 2018; GUIMARÃES, 2001).

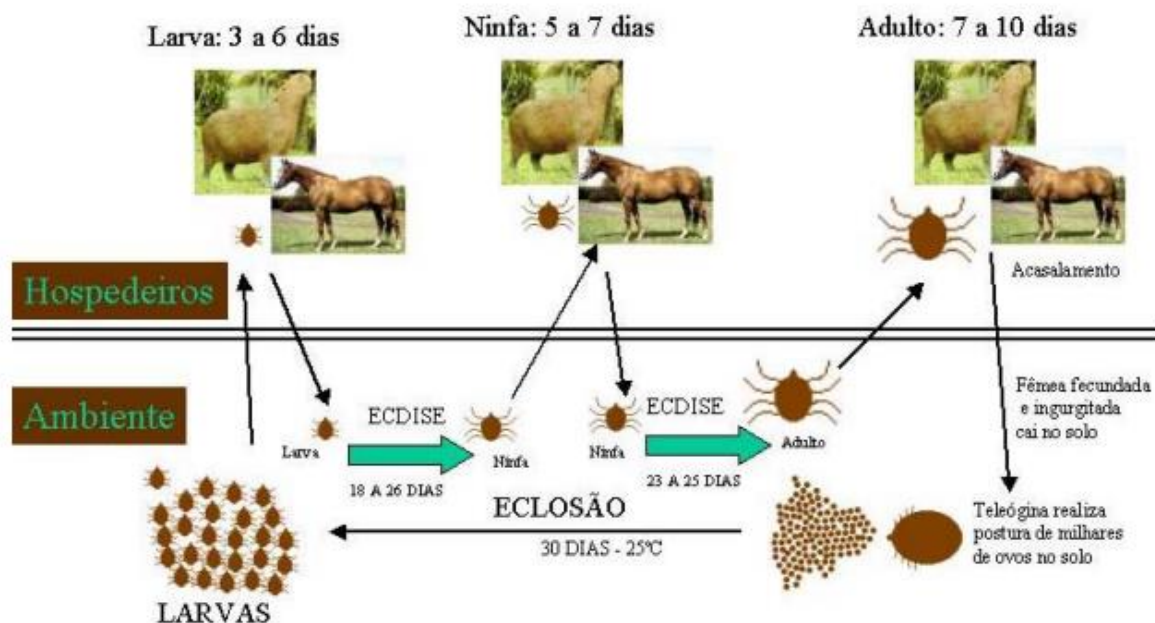


Figura 2: Ciclo biológico de um carrapato trioxeno.

Fonte: VIEIRA et al (2004).

A dinâmica populacional de *A. sculptum* na Região Sudeste caracteriza-se pelo predomínio de larvas nos meses de abril a julho, ninfas de julho a outubro e adultos de outubro a março (SOUZA, 1990; OLIVEIRA et al., 2000).

Durante a fase parasitária das larvas e ninfas existe menor especificidade pelos hospedeiros, sendo estes os principais estágios de parasitismo em seres humanos. O estágio adulto é mais específico de grandes mamíferos, tais como equinos, antas e capivaras (RODRIGUES et al., 2015).

*Amblyomma sculptum* é a espécie que está entre a mais relatada como vetor na transmissão da febre maculosa brasileira (FMB) (DANTAS-TORRES, 2009; MARTINS et al., 2016).

A FMB é uma doença infecciosa, e o principal agente etiológico é a bactéria *Rickettsia rickettsii*. A doença se manifesta por um quadro febril agudo, e apresenta alta índice de letalidade (figura 3) devido ao diagnóstico e tratamento tardio (VIEIRA et al., 2004; MORAES-FILHO, 20017).

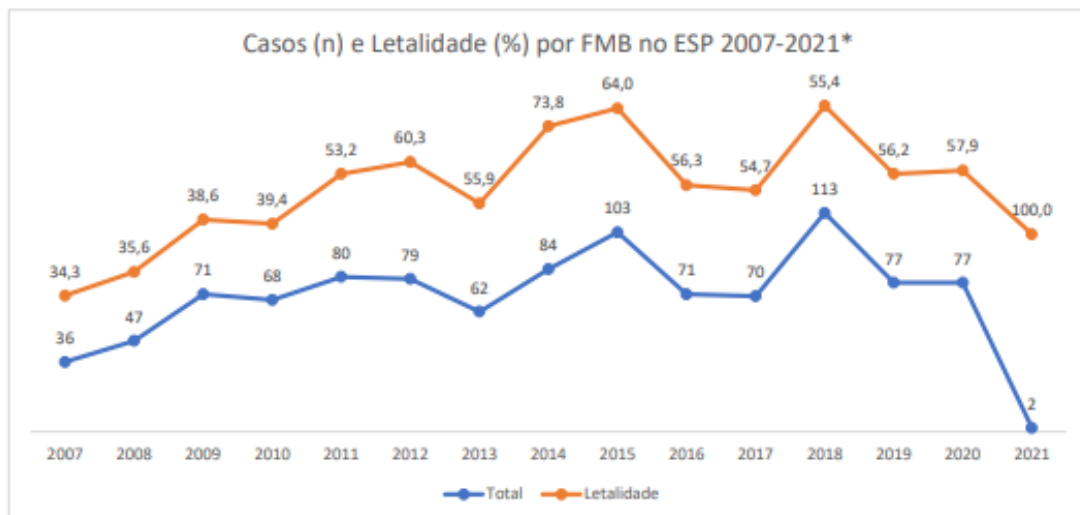


Figura 3: Casos confirmados de Febre Maculosa Brasileira no Estado de São Paulo de 2007 a 2021.

FONTE: Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo (2021).

Rickettsias são bactérias intracelulares obrigatórias que são classicamente divididas em três grupos: o tifo, composto por *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, associadas com piolhos e pulgas, e o grupo da febre maculosa que inclui mais de 20 espécies, principalmente associadas aos carrapatos (PAROLA et. al, 2005).

Em áreas endêmicas, a maioria dos casos de transmissão da FMB, está quase sempre relacionada ao aumento populacional de capivaras. Elas representam o principal reservatório do agente causador e são consideradas os seus hospedeiros primários (LABRUNA et al., 2004).

A capivara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) é uma espécie da fauna silvestre brasileira de grande importância econômica e social, encontrada em quase todo o território brasileiro, e tem registro do seu aumento populacional que está relacionada ao aumento de pastos ou lavoura, favorecendo seu hábito alimentar e pela ausência de predadores naturais (ALMEIDA, BIONDI, 2014). Em áreas endêmicas de transmissão da FMB as capivaras estão relacionadas pelo seu potencial de reservatório da *Rickettsia rickettsii*, sendo que a maioria dos registros da doença concentram-se na região sudeste do Brasil (SÃO PAULO, 2017; BARROS e SILVA et al., 2014).

Os equinos também são considerados hospedeiros primários da espécie *A. sculptum* por eventualmente compartilharem o mesmo ambiente com capivaras (SOUZA, 1990). No entanto, devido à pulverização frequente com acaricidas em equinos, principalmente quando são infestados por larvas e ninfas, eles são considerados no controle da disseminação de carrapatos no local que estejam instalados (LABRUNA et al., 2002).

### **3.1.2 *Rhipicephalus sanguineus*: aspectos da espécie e sua epidemiologia**

A espécie *Rhipicephalus sanguineus*, conhecido popularmente como “carrapato-vermelho- do-cão” é um ectoparasita que se caracteriza por acometer animais de sangue quente, sendo o cão seu principal hospedeiro. Pode ainda ser encontrada parasitando diversos animais silvestres e domésticos, e até mesmo a espécie humana (GODDARD, 1989; DANTAS TORRES, 2009; GUGLIELMONE, 2010).

São carrapatos que tem o ciclo trioxeno (figura 4), e em todos os estágios de desenvolvimento, os indivíduos se desprendem dos hospedeiros, infestando o ambiente, onde abrigam-se em frestas, forros, debaixo de móveis e outros locais (MENDES et al., 2019).



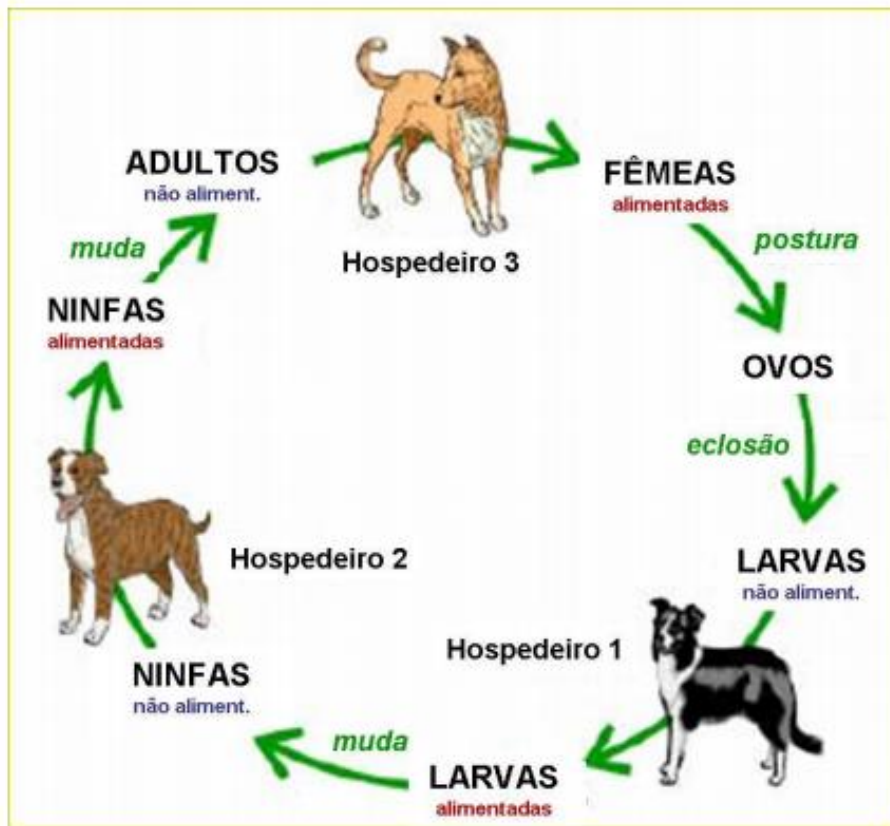


Figura 4: Ciclo de vida trioxeno de *Rhipicephalus sanguineus*

Fonte: DIAS (2013)

As larvas alimentam-se por três a seis dias e a muda ocorre entre cinco e 49 dias, dando origem às ninfas, que por sua vez se alimentam em um período entre três e nove dias. A fêmea se alimenta em um período entre quatro e 21 dias (GUIMARÃES, 2001).

Sob condições naturais, os períodos de ingurgitamento e muda podem variar entre populações e são diretamente influenciados por fatores como temperatura e disponibilidade de hospedeiro (PAROLA et al., 2008).

A duração do ciclo de vida *R. sanguineus* pode variar entre países e regiões. Estudos de campo demonstram que ele pode completar duas ou mais gerações por ano. No Brasil, onde as condições ambientais são bastante favoráveis, *R. sanguineus* pode completar até quatro gerações por ano (DANTAS-TORRES et al., 2006).

Existem relatos da relação entre um número crescente de casos registrados de erliquiose humana (por infecção pela *Ehrlichia canis*) com o aumento de registros de parasitismo humano (LABRUNA, 2004; MENDES et al., 2019).

Há também transmissão de outras espécies de riquetsias, como a *Rickettsia rickettsii* e a *Rickettsia conorii*, agentes causais, respectivamente, da Febre Maculosa das Montanhas Rochosas no México e na América do Sul e evidências da transmissão da Febre Botonosa na região mediterrânea do sul da Europa e da África do Norte (DANTAS-TORRES et al., 2006).

O cão tem um importante papel na epidemiologia dessas doenças, pois é ele quem leva os carrapatos infectados para o ambiente humano, sendo que relatos de parasitismo humano (LABRUNA, 2001).

No Brasil foram notificadas infestações de *R. sanguineus* nos municípios Goiânia (GO), Recife (PE), Pedreira (SP) e Cachoeira do Sul (RS). O desenvolvimento desse carrapato em ambientes sinantrópicos de várias cidades do país poderá favorecer o aumento na incidência de Erliquiose, Babesiose e Febre Maculosa, como antropozoonoses emergentes (FERNANDES et al., 2001; GUGLIELMONE et al., 2006).

### **3.2 Controle químico convencional: *Amblyomma* e *Rhipicephalus***

No Brasil, de uma forma geral, o controle dos carrapatos tem sido realizado através de produtos químicos, principalmente à base de organofosforados, amidinas e piretroides sintéticos (SILVA, 2019).

Para o controle de carrapatos do gênero *Amblyomma* comumente é indicado produtos à base de piretroides. Entretanto, estudos demonstraram a necessidade do uso de produtos com este princípio ativo podem chegar a 1,8 vezes o valor recomendado para o carrapato do boi, além da necessidade de intervalos menores entre banhos estratégicos devem ser observados para se obter um resultado satisfatório (BARROS-BATTESTI et al., 2006; PINHEIRO, 1987).

Os carrapatos têm maior sensibilidade aos acaricidas nas fases imaturas, com impacto na redução de carrapatos adultos. No Brasil, as principais classes de acaricidas que são utilizadas atualmente são administradas por via tópica, sendo as classes das lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis, piretróides e organofosforados, porém ainda há uma deficiência de estudos sobre produtos químicos no controle sobre *A. sculptum* (RODRIGUES et al., 2015; BORGES et al., 2020).

A pulverização na fase adulta do carrapato é considerada menos eficiente por causa da menor sensibilidade desta fase do seu ciclo de vida em relação às larvas e às ninfas, apresentando resistência aos produtos comerciais existentes no mercado, formulados à base de piretroides, que são os únicos indicados para banhos carrapaticidas em equídeos no comércio brasileiro (LABRUNA et al., 2002; LEITE et al., 2006).

Já o controle das infestações de *R. sanguineus* é realizado principalmente com a aplicação de carrapaticidas; entretanto, há estudos relatando a resistência do carrapato a alguns dos princípios ativos utilizados nas formulações comerciais desses produtos (PRETTE et al., 2005). O uso incorreto de carrapaticidas, não só promovem resistência a vários princípios ativos, mas acentuam a poluição ambiental e os riscos de intoxicação ao homem (PAIÃO et al., 2001).

O controle químico dos carrapatos leva ao aparecimento de populações resistentes e impacta o meio ambiente. Seu uso exclusivo é pouco viável em termos práticos e econômicos, sendo indicado o emprego de métodos alternativos dentro de um sistema de controle integrado (BITTENCOURT, 1997; RODRIGUES et al., 2015)

### **3.3 Controle biológico**

O controle biológico é definido como a ação de inimigos naturais com o objetivo de atuar sobre uma população praga, resultando no equilíbrio com uma população mais baixa do que prevaleceria na ausência desses agentes (GRAVENA, 1992).

O controle de doenças, pragas e plantas invasoras na agricultura através da utilização intensiva de agrotóxicos tem, reconhecidamente, promovido diversos problemas de ordem ambiental (PERES, 2005). O uso indiscriminado de produtos químicos, tem impacto direto na contaminação dos alimentos, do solo, da água e dos animais, além do fator da exposição aos agentes por agricultores, a resistência de patógenos, de pragas e de plantas invasoras a certos princípios ativos dos agrotóxicos e a redução da biodiversidade, entre outros (BETTIOL, 2008).

A utilização de técnicas que visam evitar o desequilíbrio dos agrossistemas vem crescendo em todo o mundo, com o intuito de diminuir o extermínio de insetos de ocorrência natural presentes na lavoura, que não estejam relacionados ao vegetal cultivado, dando lugar à

convivência harmoniosa dos organismos, visando equilibrar os sistemas agrícolas (ALMEIDA et al., 1995).

Os riscos da exposição humana aos agroquímicos tornaram-se populares, pressionando as autoridades sanitárias à adoção de limites máximos permitidos cada vez mais rigorosos dos seus resíduos presentes nos alimentos (ABREU, 2014). Como resultado o mercado de alimentos se direciona favorecendo produtos cultivados sem o uso de agroquímicos ou produtos certificados garantindo que eles foram utilizados adequadamente (PERETTI, 2010).

O controle biológico, como alternativa aos controles convencionais químicos em agrossistemas é uma alternativa ao MIP (manejo integrado de pragas). Sendo assim, a abordagem para o controle deve passar inicialmente por um enfoque que relacione o equilíbrio biológico das pragas com seus inimigos naturais (BETTIOL, 2008; PARRA, 2002).

No entanto, embora o MIP ter como base diferentes métodos de controle sendo usados de forma integrada, as principais táticas que são utilizadas são os defensivos químicos e os agentes de controle biológico (ÁVILA, 2010).

Diferentes espécies de insetos são reconhecidas como agentes de controle biológico (parasitoides e predadores). Os parasitoides são agentes de controle biológico em que pelo menos uma de suas fases de vida está intimamente associado ao hospedeiro (CRUZ et al., 2011; FIGUEIREDO et al., 2006).

Os insetos parasitoides constituem uma das mais especializadas formas de vida dos artrópodes (ASKEW, 1973). Parasitoides são organismos que provocam a morte de seus hospedeiros para completar o seu desenvolvimento e atuam como parasitas apenas no estágio larval, quando se desenvolvem em apenas um hospedeiro, tendo os adultos vida livre (COSTA, PERIOTO, 2006)

A ordem Hymenoptera concentra a maioria dos parasitoides utilizados no controle biológico de insetos-praga. Esta é a ordem mais abundante entre os insetos entomófagos, tanto numericamente quanto em relação ao seu uso bem-sucedido no controle biológico (DE BACH & ROSEN, 1991).

Nos últimos anos o controle biológico de carrapatos com a utilização de predadores e parasitoides tem sido investigado como alternativa ao controle químico 1989 (LOPES et al., 2012). Silveira (1989), realizou levantamento de o levantamento de parasitoides de dípteros de importância médico veterinária no Brasil. Em 2002 um levantamento de parasitoides de moscas

frugívoras realizado por Nunes (2012), foi obtido 546 parasitoides sendo esse mais um trabalho entre outros levantamentos realizados visando explorar a presença e biologia de parasitoides.

### 3.3.1. Utilização de *Ixodiphagus hookeri* no controle biológico de carrapatos

O gênero *Ixodiphagus* é composto por insetos com grande importância no controle dos carrapatos. O primeiro a citar o gênero fazendo parasitismo em carrapatos foi Howard (1907), quando descreveu o *Ixodiphagus texanus*. No ano seguinte, (HOWARD, 1908) descreveu uma segunda espécie, encontrada no estado do Texas, a qual chamou de *Hunterellus hookeri*. Estas estão agora incluídas no gênero *Ixodiphagus* da família Encyrtidae, sendo *Ixodiphagus hookeri* (Howard, 1908) a espécie mais difundida (DAVIS, 1986; MWANGI et al., 1997).

Krawczyk (2020), destaca que *I. hookeri* são micro-himenópteros com tamanho aproximado de 2 milímetros. A larva se desenvolve ninfa ingurgitada do carrapato, porém a oviposição pode ocorrer na fase larval (figura 3).

Apresentam reprodução sexuada e as fêmeas liberam os seus ovos no interior do carrapato através da perfuração da cutícula pelo ovipositor. Quando os ovos eclodem e prosseguem ao estágio larval, estas se alimentam dos órgãos internos do carrapato ingurgitado, emergindo a vespa adulta entre 30 e 57 dias após a aviposição (WOOD, 1911). Após a emergência do parasitoide ocorre o acasalamento e ciclo se repete ((BOWMAN et al., 1986; HU et al., 1998; MWANGI et al., 1994).

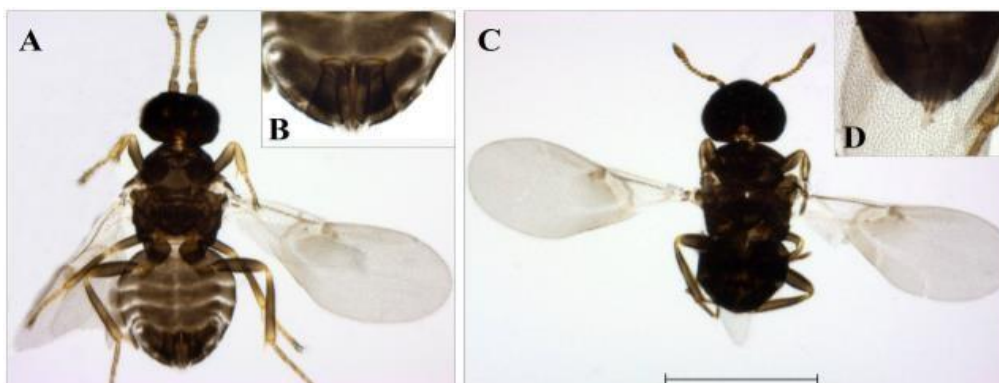


Fig 2. *Ixodiphagus hookeri* adults. (A) Habitus of a female after treatment with Marc André solution. (B) Magnified female genitalia. (C) Habitus of a male. (D) Magnified male genitalia. Scale bar represents 0.5 mm.

Figura 5 – (A) Fêmea adulta de *Ixodiphagus hookeri*. (B) Genital da fêmea ampliada. (C) Macho adulto de *Ixodiphagus hookeri*. (D) Genital do macho ampliado.

Fonte: BOHACSOVA et al., 2016.

Estudos conduzidos indicam a eficácia da espécie no controle dos carrapatos, com a presença de *I. hookeri* que emergiram após coleta. Em setembro de 1953, no Quênia, carrapatos foram coletados com a ajuda da equipe veterinária local em Mombaça e comprovou-se que os carrapatos estavam infectados por *I. hookeri* após parasitoides emergirem dos carrapatos cerca de um mês após a coleta (PHILIP, 1954).

Em experimento realizado para investigar o impacto do *I. hookei* em gado infestado por carrapatos do gênero *Amblyomma variegatum*, verificou-se a redução quantitativa de 44 carrapatos para apenas dois carrapatos por animal, correlacionando a eficiência do parasitoide como controle biológico (MWANGI, 1997).

Foi relatada a presença de cinco espécies de carrapatos parasitados por *Ixodiphagus* em que a oviposição ocorreu em fases imaturas (larvas e ninfas) ingurgitadas ou não. Posteriormente, *I. hookeri* foi identificado associado a *Ixodes scapularis*, capturados nos meses com maior prevalência de ninfas, sugerindo a preferência do parasitoide por esta fase de desenvolvimento do carrapato (BOWMAN, 1986; HU et al., 1997).

Mwangi et al (1993), sugeriram que larvas ingurgitadas e ninfas não alimentadas são as melhores fases para o parasitismo, após emergir *I. hookeri* de ninfas não ingurgitadas de *A. variegatum* após alimentação *in vitro*.

Em um estudo realizado no sul da Itália foram encontradas larvas de *I. hookeri* em carrapatos da espécie *Ixodes ricinus* e a comprovação da espécie do parasitoide foi feita através de sequenciamento genético realizado nos carrapatos, onde foi detectado através do exame molecular no carrapato a presença do DNA de *I. hookeri*, havendo prevalência do parasitismo em carrapatos não alimentados comparados aos alimentados (RAMOS et al., 2014).

Na Alemanha, foi investigada a presença de parasitoides em carrapatos *Ixodes ricinus* coletados a campo, por um período de três anos, onde as ninfas de *I. ricinus* coletadas foram submetidas à bioensaios sobre a preferência de *I. hookeri* por diferentes fases da vida do carrapato. As observações relataram a perfuração do hospedeiro pelo parasitoide com o ovopositor, que foi identificada como principal comportamento durante o parasitismo em todos os estágios de desenvolvimento do carrapato *I. ricinus*. Não foi relatada nenhuma diferença comportamental significativa durante o parasitismo em larvas de carrapatos ingurgitadas versus não alimentadas (COLLATZ et al., 2011).

### 3.3.2 *Ixodiphagus hookeri* no Brasil

No Brasil (COSTA LIMA, 1915) relatou a espécie *Hunterellus hookeri* (figura 6) parasitando carrapatos *R. sanguineus* de cães, no Rio de Janeiro. Os carrapatos coletados eram machos e fêmeas ingurgitados e foram armazenados em tubos fechados com tela fina. Após 27 dias os himenópteros emergiram através de um pequeno furo arredondado na parte posterior do corpo do carrapato. Foram dissecadas duas larvas e duas ninfas, procedimento durante o qual foram encontradas larvas de parasitoides. Em 1918, a Revista “A Cigarra” publicou um texto o sobre o relato do parasitoide encontrado por Costa Lima (Figura 7).

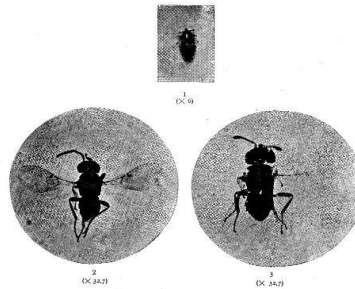


Figura 6: *Hunterellus hookeri*. Fonte: COSTA LIMA, (1915)

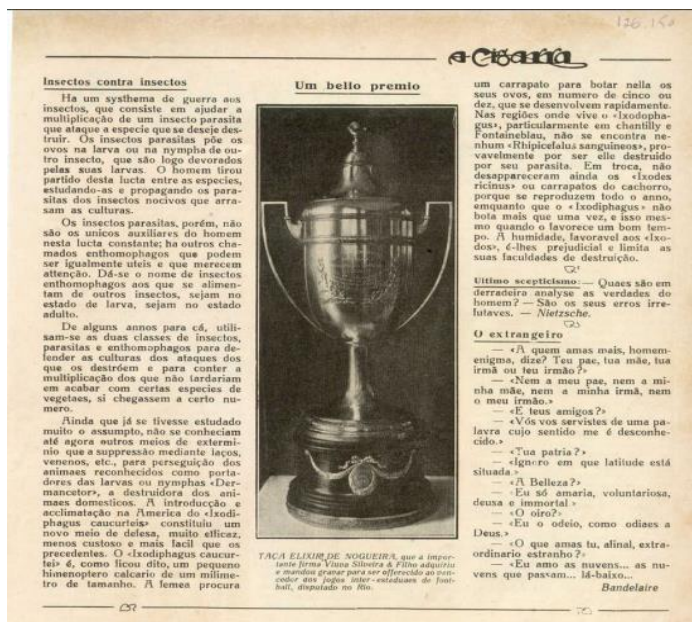


Figura 7: Relato sobre o trabalho de Costa Lima – Revista A Cigarra, Ano VII, no. 134 – 1918  
Fonte: Arquivo Público do Estado de São Paulo (2019)

Investigação do parasitoide no Brasil após o relato de Costa Lima (1915), ocorreu apenas em 2012 onde *R. sanguineus* coletados de cães naturalmente infestados e de paredes de canil no Estado do Maranhão foi identificada a presença de *I. hookeri* em 52,8% das amostras coletadas na estação seca e 35,5% das amostras coletadas na estação chuvosa. O estudo também citou a presença de *I. hookeri* que emergiu de três ninfas ingurgitadas de carrapato *Amblyomma* sp. coletadas de uma onça naturalmente infestada (LOPES et al, 2012).

Em uma investigação de carrapatos *R. sanguineus* coletados manualmente em cães naturalmente infestados, na cidade de Garanhuns, no Estado do Pernambuco, foram encontradas larvas de *I. hookeri* após dissecação dos carrapatos com o auxílio de exame de microscopia. Este estudo é o mais recente envolvendo o gênero *I. hookeri* no Brasil (BEZERRA-SANTOS et al.,2017).

Na literatura revela-se que as tentativas de produção em massa e liberação desse parasitoide falharam ao se associar com redução significativa da população de carrapatos. No entanto há variações de resultados apresentados em estudos no Quênia (MWANGI et al., 1997; HU et al., 1998).

Estes registros apontam para a necessidade de maiores investigações sobre *I. hookeri*, seu ciclo biológico e a perspectiva de utilização em programas estratégicos de controle de carrapatos.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local da coleta de carrapatos *Amblyomma*.sp**

As coletas foram realizadas na cidade de Salto no estado de São Paulo, localizada a uma latitude 23°12'03" Sul e a uma longitude 47°17'13" Oeste, e tendo como característica a transição entre floresta e cerrado. Este município é cortado pelo Rio Tietê.

As amostras foram coletadas mensalmente e foram divididas em duas etapas. A primeira etapa foi realizada entre março e agosto de 2019 em locais com histórico de capivaras e/ou equinos e/ou localizadas próximas ao Rio Tietê, Rio Jundiá, Rio Buru e córrego do Ajudante (Figura 8).



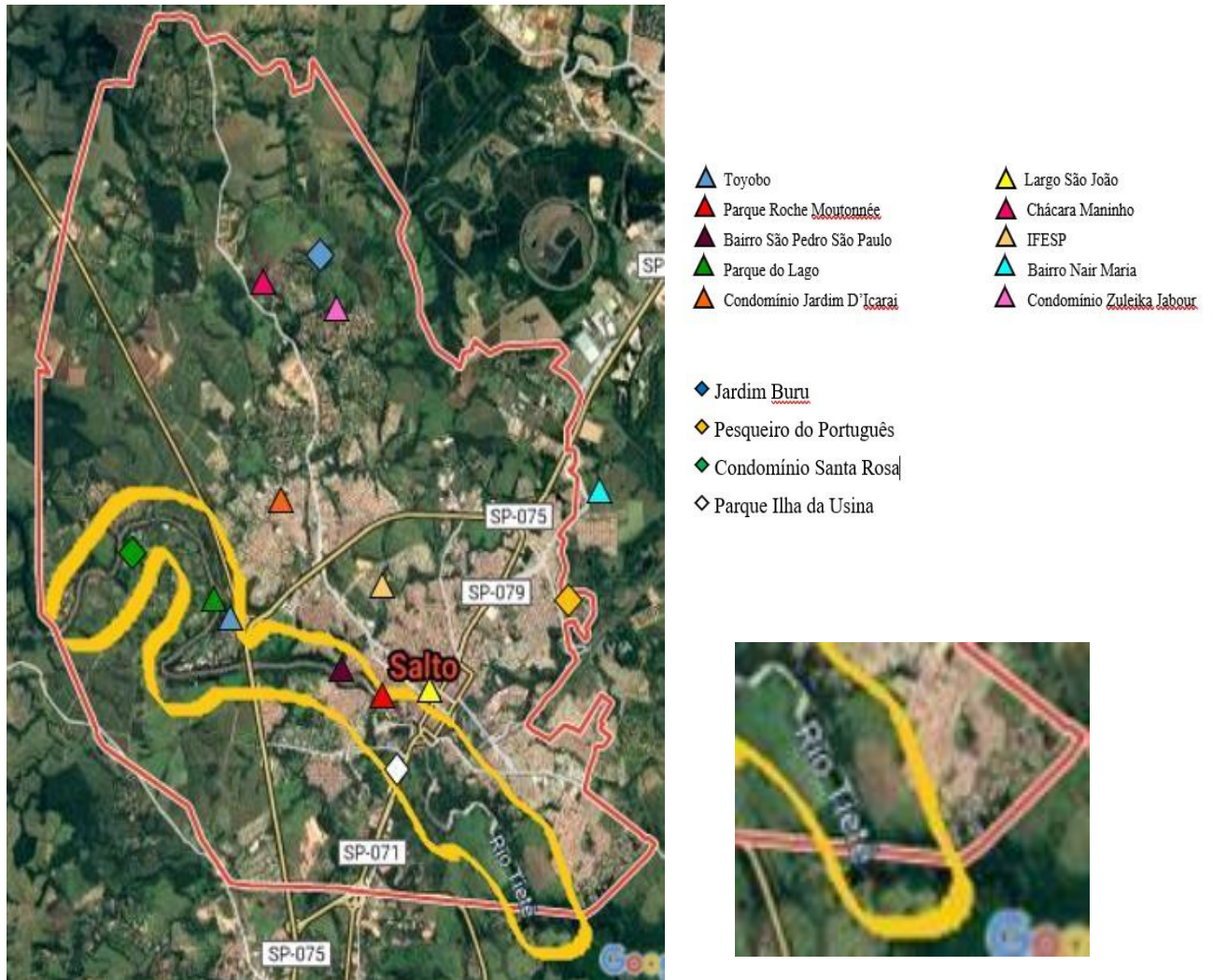


Figura 8: Distribuição dos locais de coleta no mapa da Cidade de Salto, local circulado em amarelo encontra-se a abrangência do Rio Tietê na cidade De Salto -  $\triangle$  primeira etapa das coletas,  $\diamond$  segunda etapa das coletas.

Fonte: SOARES, L. A. (2020) imagem adaptado do google maps.

Na Figura 9, são indicados os locais de coleta nesse período: empresa Toyobo do Brasil ( $23^{\circ}11'50.3''\text{Sul}$ ,  $47^{\circ}19'42.6''\text{Oeste}$ ), localizada nas proximidades do rio Tietê (Figura 9A e B), onde há uma extensa área de mata nativa com presença de capivaras; Largo São João ( $23^{\circ}11'12.8''\text{Sul}$ ,  $47^{\circ}14'43.4''\text{Oeste}$ ) próximo à região central da cidade (Figura 9C), local margeado pelo Rio Jundiá (em 2017, ocorreu o óbito de um menino de 11 anos por febre maculosa na região); Parque Rocha Moutonnée ( $23^{\circ}12'33.6''\text{Sul}$ ,  $47^{\circ}18'08.1''\text{Oeste}$ ), ponto turístico da cidade localizado às margens do Rio Tietê (Figura 9D); Chácara Maninho ( $23^{\circ}09'17.5''\text{Sul}$ ,  $47^{\circ}19'00.7''\text{Oeste}$ ), local que abriga diversos cavalos e que fica próximo ao Ribeirão do Buru; Bairro São Pedro São Paulo ( $23^{\circ}12'10.4''\text{Sul}$ ,  $47^{\circ}18'15.7''\text{Oeste}$ ) na Rua

Estado Rio Grande do Sul, que é margeada pelo Rio Tietê; Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Estado de São Paulo, Campus Salto (23°11'46.8"Sul, 47°18'07.5"Oeste), localizado ao lado do córrego do Ajudante, com presença de capivaras; Parque do Lago (23°11'52.3"Sul, 47°19'58.4"Oeste), ponto turístico muito popular como local para atividade física e para caminhadas, localizado às margens do Rio Tietê; Bairro Nair Maria (23°10'53.6"Sul, 47°15'49.4"Oeste), localizado próximo ao Rio Jundiá e Pirai (Figura 9E); Condomínio Lagos do Icaraí (23°11'02.9"Sul, 47°19'05.1"Oeste), localizado próximo ao Rio Tietê e ao Ribeirão do Buru, local onde em 2018 houve o óbito de uma moradora de 15 anos por febre maculosa; Condomínio Zuleika Jabour (23°09'14.5"Sul, 47°18'37.9"Oeste), localizado próximo ao Ribeirão do Buru, dentro do qual há um lago frequentado por capivaras.

A segunda etapa segunda etapa foi realizada de setembro de 2019 a dezembro de 2020, e os locais de captura foram alterados devido ao início do tratamento dos locais da primeira etapa com o fungo *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*, que fazia parte do trabalho de controle integrado de carrapatos pelo Instituto Biológico. Ela foi realizada mensalmente nos períodos compreendidos entre agosto de 2019 e março de 2020, e entre setembro de 2020 e fevereiro de 2021. Os locais de coleta nesse período foram: Bairro Jardim Buru, (23°08'34.4"Sul, 47°18'58.0"Oeste), localizado próximo à área rural da cidade, com presença abundante de equinos; antigo Pesqueiro do Português (23°11'04.6"Sul, 47°15'15.6"Oeste), pesqueiro desativado localizado às margens do Rio Jundiá (figura 9F); Condomínio Santa Rosa (23°10'48.7"Sul, 47°20'40.0"Oeste), localizado às margens do Rio Tietê, vizinho à propriedade onde em agosto de 2019 houve a morte de um morador por febre maculosa; Parque Natural Ilha da Usina (23°12'29.7"Sul, 47°17'52.2"Oeste), ilha localizada dentro da Usina Porto Góes, cuja visitação foi aberta ao público em 2019.

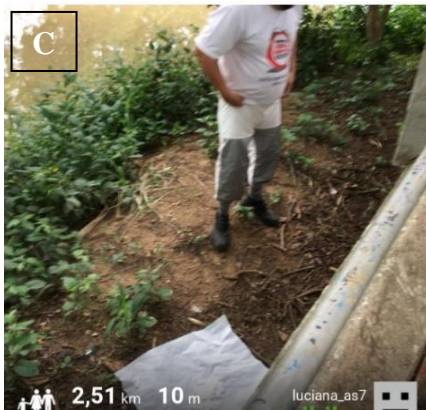


Figura 9: Locais onde foram realizadas as coletas: (A) e (B) Empresa Toyobo; (C) Largo São João com visão para o Rio Jundiá; (D) Parque Rocha Moutonnée; (E) Bairro Nair Maria local com a presença de cavalos; (F) Pesqueiro do Português.

Fonte: SOARES, L. A. (2019)

As coletas foram realizadas mensalmente, utilizando a técnica de Gray (1985), que consiste na utilização de armadilhas confeccionadas com panos brancos sintéticos, conhecidos como “tnt”, em recortes de aproximadamente 350 cm<sup>2</sup> cada um (figura 10). No centro foram colocados aproximadamente 100 g de gelo seco para liberação de CO<sub>2</sub> para a atração dos carrapatos (GRAY, 1985). Após um período de 45 minutos as armadilhas foram recolhidas e acondicionadas individualmente em sacos plásticos e lacradas. Em seguida elas foram levadas ao laboratório para a contagem dos carrapatos com a separação por fase do ciclo de vida: larva, ninfa, fêmea e macho.



Figura 10: Armadilha de “tnt” com gelo seco ao centro

FONTE: SOARES, L.A. (2020)

#### **4.2 Locais de coleta de *Rhipicephalus sanguineus***

As coletas foram realizadas em cães naturalmente infestados que compareceram na campanha de vacinação antirrábica da cidade de Salto. A primeira coleta foi no dia 25 de março de 2019, no Centro de Referência de Assistência Social (CRAS), localizado no bairro Santa Cruz (23°13'33.9"Sul, 47°16'00.6"Oeste). A segunda coleta foi realizada na campanha do dia 28 de setembro de 2019 no CRAS do bairro Saltense (23°10'43.2"Sul, 47°18'52.6"Oeste).

No período de março de 2019 a fevereiro de 2020 foram coletados carrapatos mensalmente de cães resgatados no Centro de Controle de Zoonoses de Salto (CCZ) oriundos de diversos locais da cidade de Salto. Foram selecionados dez cães ao mês, sendo utilizado como critério de seleção os mais parasitados, totalizando 120 animais.

Nas campanhas de vacinação de cães, enquanto os responsáveis aguardavam a vacinação dos animais, a equipe responsável pela coleta (composta por estagiários do curso de medicina veterinária) inspecionava os cães à procura de parasitas. Quando encontrados os carrapatos eram coletados com a utilização de uma pinça histológica ou com as mãos, fazendo movimentos rotacionais para que o carrapato se desprendesse por completo. Após a remoção os carrapatos foram colocados em tubo Eppendorf™, e identificados de acordo com a numeração da autorização de coleta.

Os carrapatos coletados no CCZ de Salto seguiram o mesmo critério de remoção, foram acondicionados em recipientes plásticos com perfuração na tampa para entrada de oxigênio, e posteriormente dissecados.

A identificação dos carrapatos deste estudo foi realizada a partir das Chaves de Guimarães, 2001, e foram identificados no laboratório de parasitologia do Instituto Biológico de São Paulo.

### **4.3 Coleta de Insetos e identificação dos parasitoide**

No período compreendido entre os meses de agosto de 2019 e agosto de 2020 foram coletados insetos nos seguintes locais: Jardim Buru, Pesqueiro do Português, Condomínio Santa Rosa e Parque Natural Ilha da Usina, com o objetivo de verificar a ocorrência de *I. hookeri*. A coleta foi realizada através de dois métodos: Armadilha de Moericke, que consiste na utilização de um recipiente amarelo com água e detergente como atrativo dos insetos; os recipientes foram colocados nos pontos de coleta mensalmente e permaneciam no local por dois dias. Nos mesmos pontos foi utilizado método de coleta ativa com a utilização de rede entomológica, pela técnica de varredura com duração média de um minuto em cada batida da rede. Os insetos eram filtrados em tecido de trama fina (filó) e depois acondicionado em recipientes com álcool a 70% (figura 11).



Figura 11: Métodos de capturas de insetos. (A) Armadilha de Moericke colocada no Pesqueiro do Português com a presença de insetos após exposição de dias; (B) Coleta de insetos com rede entomológica.

Fonte: SOARES, L.A. (2020)

A identificação dos himenópteros foi feita pelo Dr. Valmir Antônio Costa do Centro Avançado de Pesquisa em Proteção de Plantas e Saúde Animal da Unidade laboratorial de Referência em Controle Biológico do Instituto Biológico de Campinas-SP. Os espécimes foram depositados na Coleção de Insetos Entomófagos “Oscar Monte” sob o número de referência IBCBE-S-790.

#### 4.4 Pesquisa de larva de parasitoide em *A. sculptum* e *R. sanguineus* por dissecação

Após a contagem os indivíduos de *A. sculptum* foram separados de acordo com o seu estágio de desenvolvimento: larvas, ninfas, machos adultos e fêmeas adultas, os indivíduos de *R. sanguineus* foram separados de acordo com o estágio de desenvolvimento: fêmea, macho, ninfa e fêmea ingurgitada. Em seguida eles foram acondicionados em tubos de ensaio, cada tubo contendo 20 carrapatos de acordo com o estágio de desenvolvimento. Os tubos foram identificados de acordo com o local da coleta e armazenados em estufa BOD para posterior dissecação. A dissecação do carrapato foi estabelecida para a pesquisa de ocorrência de larvas do parasitoide. Os carrapatos foram colocados em placa de Petri, umedecidos com solução fisiológica e examinados em microscópio estereoscópico (Figura 12).

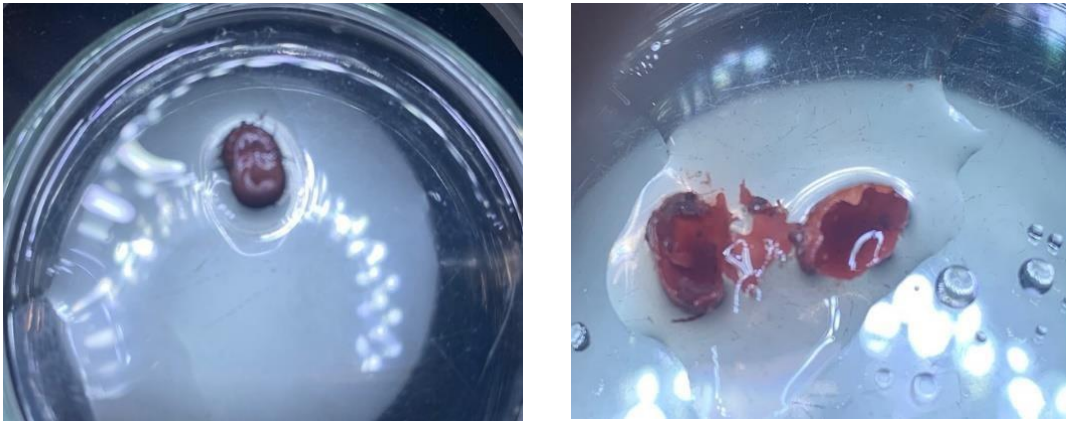


Figura 12: *Rhipicephalus sanguineus* em placa de Petri com solução fisiológica. (A) Fêmea ingurgitada inteira; (B) Fêmea dissecada.

Fonte: SOARES, L. A. (2019)

#### 4.5 Pesquisa de parasitoide de *Amblyomma* sp. e *R. sanguineus* por observação

Cinquenta fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus* e trinta ninfas de *Amblyomma* sp. foram acondicionados em recipientes plásticos fechados com um tecido de trama fina para permitir a entrada de oxigênio. Permaneceram no recipiente em jejum por um período de sessenta dias para observação quanto à emergência de parasitoides (Figura 13).

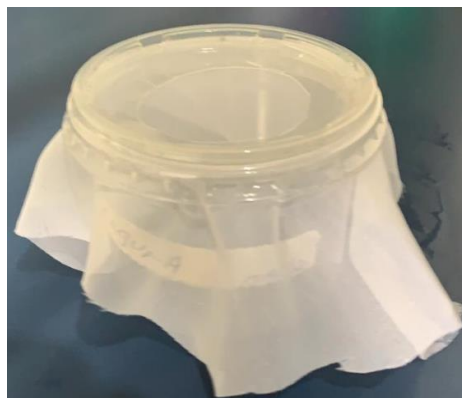


Figura 13: Recipiente plástico onde foram acondicionadas com ninfas da espécie *A. sculptum* e fêmeas semi-ingurgitadas de *R. sanguineus*.

Fonte: SOARES, L.A. (2020)

#### 4.6 Teste molecular para verificar a presença do *Ixodiphagus hookeri*

As amostras de carrapatos adultos (ambos os sexos) de *A. sculptum* e de ninfas e fêmeas ingurgitadas do *R. sanguineus* foram submetidas ao teste molecular para verificar a presença ou não do *I. hookeri*.

As amostras foram cortadas ao longo do seu plano de simetria bilateral com um bisturi e posteriormente submetidas à extração de DNA, utilizando o kit comercial Quick-DNA Miniprep Plus Kit™ (Zymo Research®), seguindo as instruções do fabricante.

Os produtos obtidos foram submetidos à técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para amplificação de dois segmentos gênicos diferentes, correspondentes aos genes mitocondriais 16S de *Amblyomma* sp. e *Rhipicephalus* sp. com objetivo de confirmação da extração, além de um segmento do gene mitocondrial COX I do himenóptero *I. hookeri*.

Os primers utilizados foram 16S + 1 (5' – TCGGTITAAACTCAGATCATGT – 3') e 16S -1 (5' – CTGCTCAATGAIIIIITTAATTGCTGTGG – 3') para a amplificação do gene 16S de *Amblyomma* sp. e *Rhipicephalus* sp. e Iphag583f (5' – TTGCTGTTCCAACAGGAGTAAA – 3') e Iphag820r (5' – CAAAAAATTGCAAAAAGTGC – 3') para a amplificação do gene COX I de *I. hookeri* (BOHACSOVA et al., 2016).

O controle positivo da reação foi realizado nas mesmas condições aqui citadas adicionando-se um trecho de DNA de 180 pares de bases cujas sequências 5'- e 3'-terminais correspondem às sequências dos primers Iphag583f e Iphag820r.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi realizada em um volume final de 25,0 µL contendo 2,5 µL de DNA molde e 0,4 µM de cada oligonucleotídeo (16S + 1 e 16S – 1 OU Iphag583f e Iphag820r). Adicionou-se em seguida 12,5 µL do kit de amplificação TaqDNA Polymerase 2x Master Mix RED™ (Ampliqon®, Odense, Dinamarca) na concentração de 4 mM de MgCl<sub>2</sub> e 0,8 mM de trifosfatos desoxinucleotídicos para uma diluição à concentração final de reação a 2mM de MgCl<sub>2</sub> e trifosfatos desoxinucleotídicos a 0,4 mM (dNTP). O volume restante para se atingir 25 µL foi completado com água ultrapura.

As condições de PCR usadas para a amplificação do fragmento 16S foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C por 3 minutos e 35 ciclos de: 94°C por 30s, 49°C por 30s e 72°C por 30s. A reação foi finalizada a 72°C por 5 minutos. As condições de PCR usadas para a amplificação do fragmento COX I foram as seguintes: desnaturação inicial a 94°C por 3



minutos e 35 ciclos de: 94°C por 30s, 58°C por 30s e 72°C por 1 minuto. A reação foi finalizada a 72°C por 10 minutos para a síntese completa de moléculas parcialmente amplificadas.

Em seguida as amostras foram submetidas a eletroforese em gel de agarose para a verificação do padrão de migração de ambos os genes, de acordo com a massa molecular esperada a partir de sequências similares previamente disponíveis em bancos de dados públicos de DNA (GenBank) sob os números de acesso KJ569693 e JQ315255, respectivamente.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 *Amblyomma sculptum*

Na Tabela I apresenta o número de carrapatos coletados na cidade de Salto no período compreendido entre março de 2019 e fevereiro de 2021. O total de carrapatos coletados foi de 1.674 indivíduos, sendo 448 larvas e 622 ninfas de *Amblyomma* sp., e 278 machos e 326 fêmeas que foram identificados como *Amblyomma sculptum*.

Tabela I: Número absoluto de carrapatos *Amblyomma* sp. coletados e separados de acordo com o estágio de desenvolvimento em cada local de coleta no período de março de 2019 a fevereiro de 2021 em Salto (SP).

LOCAL	LARVA	NINFA	Macho	Fêmea	Total
CONDOMINIO SANTA ROSA	36	150	62	86	334
PARQUE ROCHA MOUTONEE	163	77	18	13	271
LARGO SÃO JOÃO	78	75	33	46	232
PARQUE DO LAGO	68	64	40	55	227
PARQUE ILHA DA USINA	26	50	37	42	155
PESQUEIRO PORTUGUÊS	16	71	39	29	155
EMPRESA TOYOBO	26	44	22	22	114
ICARAI	31	41	7	7	86
ZULEIKA JABOUR	2	37	6	6	51
SÃO PEDRO/SÃO PAULO	2	7	7	11	27
NAIR MARIA	0	6	0	5	11
JARDIM BURU	0	0	4	2	6
MANINHO	0	0	2	1	3
IFESP	0	0	1	1	2
<b>TOTAL</b>	<b>448</b>	<b>622</b>	<b>278</b>	<b>326</b>	<b>1674</b>

Fonte: SOARES, L.A. (2021).

A maior quantidade de indivíduos foi capturada no Condomínio Santa Rosa seguido pelo Parque Rocha Moutonée, Largo São João, Parque do Lago, Parque Ilha da Usina, Pesqueiro do Português e empresa Toyobo do Brasil. Os locais com menor taxa de indivíduos capturados foram os condomínios Icaraí, Zuleika Jabour, Bairro São Pedro São Paulo, Nair Maria, Jardim Buru, Chácara Maninho e IFESP (Tabela I).

Do total coletado houve maior quantidade de larvas e ninfas, sendo que a maioria delas foram capturadas entre os meses de maio a outubro, os carrapatos adultos foram encontrados nos meses de dezembro a abril (Figura 14).

As dissecações e as observações de emergências não indicaram presença de larvas de *I. hookeri* nos carrapatos.

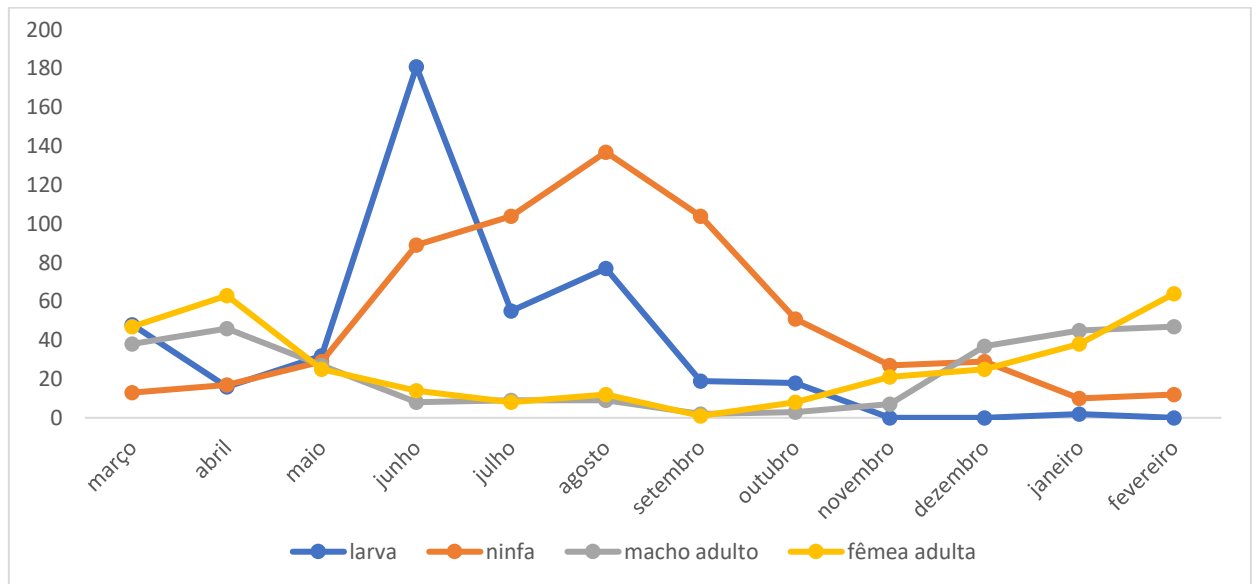


Figura 14 – Estágio de desenvolvimento de *Amblyomma sculptum* de acordo com o mês de coleta no período de março de 2019 a fevereiro de 2021 no município de Salto-SP.

Fonte: SOARES, L. A. (2021)

Os testes de PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S dos carrapatos *A. sculptum* e *R. sanguineus* amplificaram para todas as amostras. Porém, a região mCOX I de *I. hookeri* não ampliaram estes segmentos genômicos mitocondriais (Fig. 15 e 16).

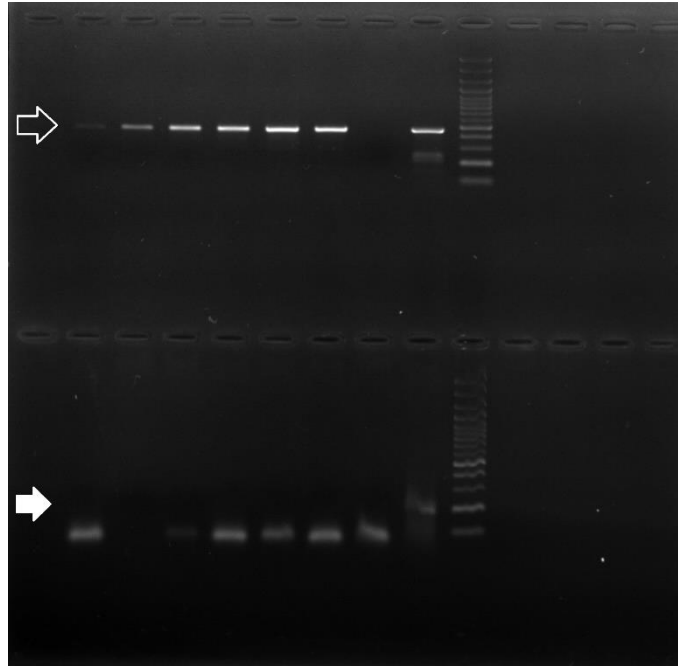


Figura 15: Amplificação por PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S de *A. sculptum* (seta vazada) e mCOX I de *Ixodiphagus hookeri* (seta preenchida) Em ambos os painéis a penúltima e última amostra correspondem aos controles negativo e positivo, respectivamente.

Fonte: ROMANO, D. M. M., (2021)

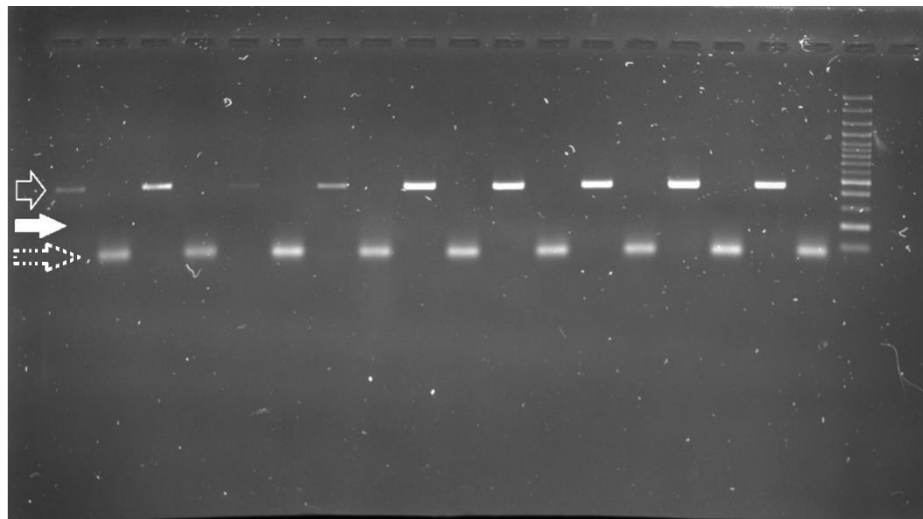


Figura 16: Amplificação por PCR dos trechos correspondentes ao mRNA 16S de *R. sanguineus* (seta vazada) e mCOX I de *Ixodiphagus hookeri* (seta preenchida). As bandas visualizadas com padrão de migração compatível com um fragmento de baixa massa molecular (seta picotada) são compatíveis com rRNA extraído das amostras simultaneamente ao DNA, representando apenas artefatos da técnica.

Fonte: ROMANO, D. M. M., (2021)

## 5.2 Identificação dos insetos coletados

Foram identificadas 15 famílias de insetos parasitoides pertencentes a 5 superfamílias sendo elas, Ceraphronoidea 7,86%, Chalcidoidea 53,18%, Cynipoidea 3,74%, Diaprioidea 14,60% e Platygastroidea 20,59%, coletadas nos seguintes locais: Condomínio Santa Rosa, Jardim Buru, Parque Ilha da Usina e Pesqueiro do português, conforme as tabelas 3, 4, 5 e 6. Todos os 267 parasitoides coletados foram identificados pelo menos a nível de superfamília e família, e 62 destes foram identificados pertencendo a 22 gêneros. Considerando a metodologia de coleta 64,79% dos parasitoides foram capturados através da armadilha de Moericke e os 35,20% por meio de rede entomológica (figura 17).

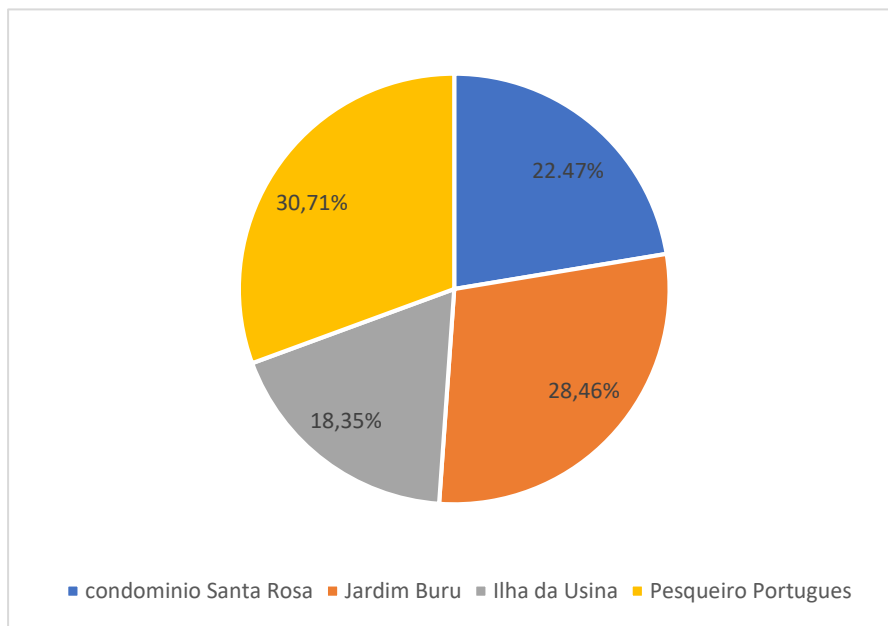


Figura 17: Porcentagens de insetos parasitoides coletados no Condomínio Santa Rosa, Jardim Buru, Ilha do Sul e Pesqueiro Português no município de Salto-SP.

Fonte: SOARES, L. A (2021)

No Condomínio Santa Rosa foi identificado 60 insetos parasitoides, sendo um total de 13 famílias, pertencentes a 5 superfamílias, e destes foram identificados 8 gêneros, concentrando 22,47% do total de insetos coletados (Tabela II).

Tabela II: Insetos parasitoides coletados no Condomínio Santa Rosa de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.

<b>Superfamília</b>	<b>Família</b>	<b>Total</b>	<b>Armadilha de Moericke</b>	<b>Rede Entomológica</b>
Ceraphronoidea	Ceraphronidae	5	3	2
Chalcidoidea	Aphelinidae	1	-	1
	Chalcididae	3	-	3
	Encyrtidae	7	5	2
	Eulophidae	4	1	3
	Eurytomidae	1	1	-
	Mymaridae	14	13	1
	Pteromalidae	2	-	2
	Signiphoridae	1	1	-
Cynipoidea	Figitidae	2	1	1
Diaprioidea	Diapriidae	11	11	-
Platygastroidea	Platygastridae	1	-	1
	Scelionidae	8	6	2
<b>Total</b>		<b>60</b>	<b>42</b>	<b>18</b>

Fonte: SOARES, L. A., (2021)

No Jardim Buru, foi identificado 76 insetos parasitoides, sendo um total de 13 famílias, pertencentes a 5 superfamílias, e destes foram identificados 9 gêneros, concentrando 28,46% do total de insetos coletados (Tabela III).

Tabela III – Insetos parasitoides coletados no Jardim Buru de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.

<b>Superfamília</b>	<b>Família</b>	<b>Total</b>	<b>Armadilha de Moericke</b>	<b>Rede Entomológica</b>
Ceraphronoidea	Ceraphronidae	7	5	2
Chalcidoidea	Aphelinidae	5	1	4
	Chalcididae	1	-	1
	Encyrtidae	10	4	6
	Eulophidae	8	2	6
	Eupelmidae	2	1	1
	Mymaridae	9	8	1
	Pteromalidae	1	1	-
	Trichogrammatidae	1	-	1
Cynipoidea	Figitidae	2	2	-
Diaprioidea	Diapriidae	13	13	-
Platygastroidea	Platygastridae	3	1	2
	Scelionidae	14	11	3
<b>Total</b>		<b>76</b>	<b>49</b>	<b>27</b>

Fonte: SOARES, L.A., (2021)

No Parque Ilha da Usina, foi identificado 49 insetos parasitoides, sendo um total de 13 famílias, pertencentes a 5 superfamílias, e destes foram identificados 6 gêneros, concentrando 18,35% do total de insetos coletados (Tabela IV).

Tabela IV: Insetos parasitoides coletados no Parque Ilha da Usina de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.

<b>Superfamília</b>	<b>Família</b>	<b>Total</b>	<b>Armadilha de Moericke</b>	<b>Rede Entomológica</b>
Ceraphronoidea	Ceraphronidae	5	3	2
Chalcidoidea	Aphelinidae	2	1	1
	Chalcididae	1	-	1
	Encyrtidae	7	2	5
	Eulophidae	6	2	4
	Eurytomidae	1	-	1
	Mymaridae	2	2	-
	Pteromalidae	3	-	3
	Trichogrammatidae	2	-	2
Cynipoidea	Figitidae	3	1	2
Diaprioidea	Diapriidae	7	4	3
Platyastroidea	Platygastridae	1	1	-
	Scelionidae	9	8	1
<b>Total</b>		<b>49</b>	<b>24</b>	<b>25</b>

Fonte: SOARES, L. A., (2021)

No Pesqueiro do português, foi identificado 82 insetos parasitoides, sendo um total de 12 famílias, pertencentes a 5 superfamílias, e destes foram identificados 12 gêneros, concentrando 30,71% do total de insetos coletados (Tabela V).

Tabela V – Insetos parasitoides coletados no Pesqueiro do Português de agosto de 2019 a agosto de 2020 no município de Salto – SP.

Superfamília	Família	Total	Armadilha de Moericke	Rede Entomológica
Ceraphronoidea	Ceraphronidae	4	2	2
Chalcidoidea	Aphelinidae	3	1	2
	Chalcididae	3	3	-
	Encyrtidae	9	2	7
	Eulophidae	9	4	5
	Eurytomidae	2	-	2
	Mymaridae	15	14	1
	Pteromalidae	5	3	2
	Trichogrammatidae	2	1	1
Cynipoidea	Figitidae	3	1	2
Diaprioidea	Diapriidae	8	8	-
Platygastroidea	Scelionidae	19	16	3
Total		82	55	27

Fonte: SOARES, L. A., (2021)

Em todos os locais de coleta foi encontrado parasitoides pertencentes a família Encyrtidae, sendo essa a mesma família de *I. hookeri*.

### 5.3 Rhipicephalus sanguineus

A tabela VI, apresenta o número de carrapatos de *R. sanguineus* coletados na cidade de Salto no período compreendido entre março de 2019 e fevereiro de 2020. O total de carrapatos coletados foi de 1.950 indivíduos, sendo 557 ninfas de 529 machos, e 284 fêmeas e 580 fêmeas ingurgitadas.



Tabela VI: Número de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* coletados de março de 2019 a fevereiro de 2020 no município de Salto-SP.

Mês	fêmea	macho	ninfa	fêmea ingurgitada
Março	24	22	38	27
Abril	15	17	29	9
Maio	51	193	54	132
Junho	17	24	29	9
Julho	6	10	31	7
Agosto	18	17	13	23
Setembro	8	5	47	54
Outubro	24	120	115	119
Novembro	21	19	47	64
Dezembro	38	29	58	72
Janeiro	35	43	49	31
Fevereiro	27	30	47	33
<b>TOTAL</b>	<b>284</b>	<b>529</b>	<b>557</b>	<b>580</b>

Fonte: SOARES, L. A. (2020).

As dissecações e as observações de emergências não indicaram presença de larvas de *I. hookeri* nos carrapatos. Entretanto, foi encontrada uma fêmea ingurgitada que estava com uma perfuração compatível com a ruptura provocada por um parasitoide (figura 18), porém, apesar da evidência, não foi encontrado nenhum outro vestígio físico de parasitoide nem a possível causa da perfuração. A ruptura no carrapato é similar ao relatado em um trabalho na Holanda, o qual emergiu *I. hookeri* de uma ninfa ingurgitada de *I. ricinus* mantida em alimentação artificial (KRAWCZYK et al., 2020).

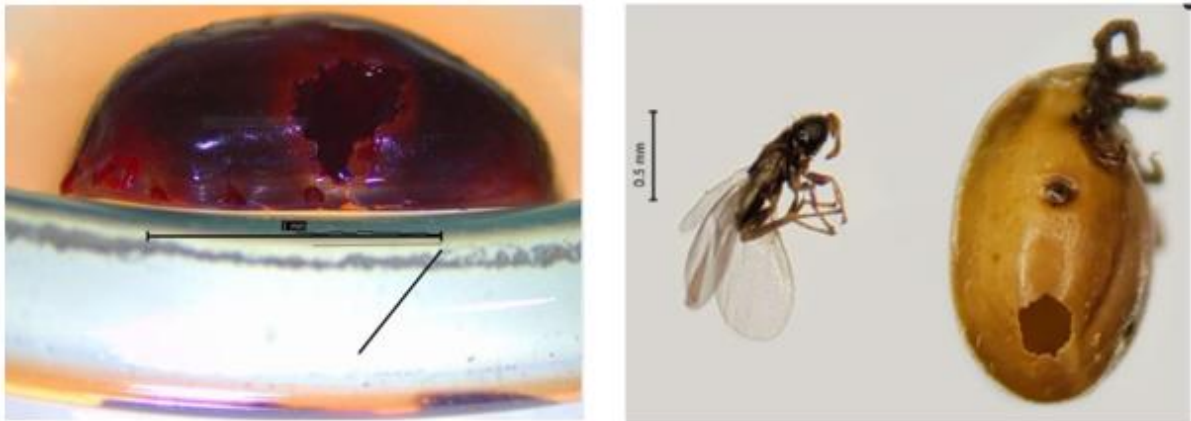


Figura 18: Na figura a esquerda, foto de fêmea ingurgitada de *R. sanguineus* que após permanecer em tubo de ensaio, ao exame microscópico apresentou perfuração compatível com ruptura por parasitoide (SOARES, L. A., 2019). Na figura da direita figura de uma ninfa de *Ixodes ricinus* com ruptura feita por *i. hookeri* (KRAWCZYK et al., 2020).

## 6. DISCUSSÃO

Os locais com maior abundância de carrapatos caracterizados por vasta aérea de mata com fauna nativa de alta diversidade, e estão próximos ao Rio Tietê, sendo que, o Largo São João está às margens do Rio Jundiaí. Todos os locais apresentam histórico de circulação abundante de capivaras, sendo um fator que favorece a presença de carrapatos.

O local com coletas intermediária de *Amblyomma* ficam próximos a aéreas urbanas e são bairros residenciais, onde são realizadas capinações com frequência, e em particular, nos condomínios Zuleika Jabour e Icaraí há relatos da aplicação de inseticidas com o objetivo de redução dos carrapatos.

Já nos locais com menor quantidade de indivíduos de *A. sculptum*, que foram os locais com criação de equinos, onde os proprietários dos animais fazem controle de ectoparasitas com frequência, através da utilização de acaricidas, justifica-se a menor quantidade de carrapatos.

Esses resultados podem ser correlacionados com os estudos de SOUZA (1990) e LABRUNA et. al. (2002), que relatam que os cavalos são considerados no controle da disseminação de carrapatos no ambiente, por serem pulverizados com carrapaticida, sendo isso a provável causa da quantidade reduzida de carrapatos capturados nesses locais, comparando com os outros pontos de coleta.

Segundo OLIVEIRA *et al.* (2020), a dinâmica populacional de *A. sculptum* na Região Sudeste caracteriza-se por domínio de larvas nos meses de abril a julho, ninfas de julho a outubro e adultos de outubro a março, nas coletas realizadas houve predominância de larvas e ninfas, sendo que a maioria delas foram capturadas entre os meses de maio a outubro, os carrapatos adultos foram encontrados nos meses de dezembro a abril.

PINHEIRO *et al.* (2014) discutem que a metodologia de arrasto de flanela não é muito indicada para estudos de amostragem de carrapatos em trilhas em ambientes de Mata Atlântica, pois a vegetação muitas vezes fechada das trilhas pode dificultar a passagem da flanela, o que dificultaria uma estimativa precisa da diversidade e abundância de espécies de carrapatos.

A escolha do método de varredura da vegetação por meio de bandeira, se comparado com o arrasto de flanela, talvez seja mais apropriada para estudos realizados em ambientes de vegetação mais densa. A busca visual e armadilhas de CO<sub>2</sub> podem ser metodologias bastante eficazes na Mata Atlântica (FONSECA *et al.*, 2017).

Nesse contexto, a técnica de coleta empregada no presente estudo, diante dos aspectos antrópicos que interferem nos locais de amostragem, permitiu identificar a infestação e sazonalidade dos carrapatos no município de Salto.

Os métodos de coleta escolhidos para captura de parasitoides através do método de varredura da vegetação com rede entomológica e armadilha de Moericke, tratam-se de modelos eficientes para a coleta de himenópteros parasitoides em geral, na investigação de diversidade e abundância de espécies (HANSON; GAULD, 1995 *apud* AZEVEDO *et al.*, 2002, LARA *et al.*, 2008).

Considerando a diversidade de himenópteros capturados pelos dois métodos de coleta nas áreas amostradas nos períodos estabelecidos, nota-se que, em média 12,53% dos parasitoides identificados pertencem à Família Encyrtidae, a qual inclui *I. hookeri*. Estudos demonstraram que este parasitoide tem uma distribuição variada, influenciada por vários fatores, tal como microclima, densidade de carrapato e abundância de carrapato-hospedeiro, seriam caracterizados como possíveis determinantes para a variação nas taxas de infestação. Destaca-se abordagens de que há associação positiva da prevalência de *I. hookeri* e predominância de ruminantes, pois as vespas fêmeas seriam atraídas pelo odor e, subsequentemente, infestariam carrapatos que se alimentam desses animais (KRAWCZYK *et al.*, 2020).

O presente estudo e as áreas amostradas apresentavam a presença de capivaras, sendo que nas abordagens de KRAWCZYK *et al.* (2020) supõem-se que roedores não são tão atrativos

para estas vespas quando comparados aos ruminantes, o que poderia explicar a baixa prevalência dessa família e não ter sido encontrado o parasitoide de interesse nesse trabalho. No entanto, outros aspectos como a periodicidade das coletas diante das limitações impostas pela Pandemia de COVID-19, poderiam também ter interferido e limitado nas investigações de prevalência e abundância de *I. hookeri*.

As áreas avaliadas no município de Salto, SP apresentam alto impacto antrópico, com a possível aplicação de inseticidas, que poderia ter afetado o equilíbrio ecológico local. A investigação de áreas de mata mais densas, preservadas e com menor interferência humana ampliariam os estudos de identificação, diversidade e sazonalidade de espécies de artrópodes em Salto, com ênfase em carrapatos e parasitoides associados.

Na pesquisa de observação de emergência de parasitoides acompanhada em laboratório, com a dissecação e reação em cadeia de polimerase, tanto nos carrapatos *R. sanguineus* quanto no *Amblyomma* sp, como não foi encontrado o parasitoide *I. hookeri*, sugere-se que provavelmente essa espécie não ocorra no município de Salto. Entretanto, esta espécie foi relatada parasitando *Amblyomma* sp. no município de Anaurilândia no Estado do Mato Grosso do Sul, parasitando *R. sanguineus*, no Estado do Rio de Janeiro, no município de Chapadinha no Estado do Maranhão e Garanhuns no Estado de Pernambuco (COSTA LIMA, 1914; LOPES, 2012; BEZERRA-SANTOS *et al.*, 2017).

O registro nesse estudo de um exemplar de carrapato com lesão típica da ação de um parasitoide poderia ser a evidência da existência de outra espécie de parasitoide que tenha como hospedeiro o *R. sanguineus*, no entanto investigações devem ser conduzidas modelos experimentais no futuro. Serão necessários mais estudos da fauna de parasitoides e das condições ambientais locais que sejam favoráveis ao levantamento de artrópodes, especificamente dos parasitoides e outros inimigos naturais presentes.

As demais famílias de parasitoides encontradas nos locais de estudo têm uma grande variação de hospedeiros, desta forma os habitats investigados podem ser considerados propícios para a sua reprodução (HANSON, 2006). Ressalta-se que os parasitoides encontrados parasitam uma variedade de espécies, enquanto que *I. hookeri* é relatado como um parasitoide específico de carrapatos.

Os óbitos registrados no município de Salto pela febre maculosa geraram muita preocupação na população. A possibilidade da utilização de produtos químicos para controle dos carrapatos tanto em condomínios, quanto nos parques e nas áreas urbanas da cidade, poderiam também comprometer a distribuição de *I. hookeri* nos locais pesquisados, já que o

parasitoide é específico quanto ao seu hospedeiro e afetar o ciclo de desenvolvimento do parasitoide nessas regiões.

Considerando as abordagens discutidas acima, o nosso estudo poderia possibilitar às investigações em áreas de mata mais densas, com menor influência antrópica, permitindo um levantamento mais preciso das espécies de carrapatos e de parasitoides. Portanto, seria uma alternativa pesquisar a presença de *I. hookeri* em áreas de mata mais preservadas do município.

## 7. CONCLUSÃO

Não foi encontrado *I. hookeri* nas amostras de carrapatos *A. sculptum* e *R. sanguineus* coletadas na cidade de Salto.

A sazonalidade dos carrapatos *A. sculptum* coletados no município de Salto confirma estudos anteriores.

## 8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, P. H. B., ALONZO, H. G. A., Trabalho rural e riscos à saúde: uma revisão sobre o "uso seguro" de agrotóxicos no Brasil, **Ciênc. saúde coletiva** vol.19 no.10 Rio de Janeiro, 2014.

AGUIRRE, A. A. R.; **Amblyomma spp. Vetores de riquetsioses: Aspectos Bioecológico de Amblyomma coelebs, Epidemiológico em ecótono Amaônia-Cerrado e modele de controle por meio de vacina.** 2018. 129 f. Tese (Doutorado em doenças infecciosas e parasitárias) - Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, 2018.

ALMEIDA, R. P.; SILVA, C. A. D.; SOARES, J.J. *Trichogramma*: alternativa eficiente de controle biológico de insetos pragas da cultura algodoeira. **CNPA Informa**, n.18, p. 8, ago, 1995.

ALMEIDA, A. R.; BIONDI, D. Area de uso de *Hydrochoerus hydrochaeris* L. em Ambiente Urbano. **Cienc. anim. bras.**, Goiânia, v.15, n.3, p. 369-376, 2014.

ASKEW, R.R. Parasitic insects. New York: **American Elsevier**, 316p, 1973.

AZEVEDO, C. O.; KAWADA R.; TAVARES, M. T.; PERIOTO N. W. 2002. Perfil da fauna de himenópteros parasitóides (Insecta,Hymenoptera) em uma área de Mata Atlântica do Parque Estadual da Fonte Grande, Vitória, ES, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia** 46(2): 133-137.

BARROS-BATTESTI, D. M.; ARZUA, M.; BECHARA, H. G. **Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para identificação de espécies.** São Paulo, SP, Brasil. Vox/ICTTD-3/ Butantan, 223p, 2006.

BARROS e SILVA P. M. R.; PEREIRA S. C.; FONSECA, L. X.; MANIGLIA, F. V. P.; OLIVEIRA, S. V.; CALDAS, E. P.; Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. **Scient. Plena.** 2014;10(4):1-9.

BETTIOL, W. Conversão de sistemas de produção. In: Poltronieri, L.S. & Ishida, A.K.N. (Eds.) Métodos Alternativos de Controle de Insetos-Praga, Doenças e Plantas Daninhas: Panorama atual e perspectivas. Belém. **Embrapa Amazônia Oriental**. p. 289-308, 2008.

BOHACSOVA, M.; MEDIANNIKOV, O.; KAZIMIROVA, M.; RAOULT, D.; SEKEYOVA, Z. Arsenophonus nasoniae and Rickettsiae Infection of Ixodes ricinus Due to Parasitic Wasp Ixodiphagus hookeri. **PLoS ONE** 11(2): e0149950. doi:10.1371/journal.pone.0149950, 2016.

BORGES, D. A.; CID, Y. P.; AVELAR, B. R.; FERREIRA, T. P.; CAMPOS, D. R.; SANTOS, G. C. M.; ALVES, M. C. C.; SCOTT, F. B. In vitro acaricidal activity of different ectoparasiticide classes against Amblyomma sculptum larvae. **Braz J Vet Parasitol** 2020.

BOWMAN, J. L.; LOGAN, T. M.; HAIR, J. A. Host suitability of *Ixodiphagus texanus* Howard on five species of Hard ticks. **J. Agric. Entomol.** 3: 1D9, 1986.

CAMPOS, J. B. V.; ASSIS, W. O. A.; BARRETO, W. T. G.; RUCCO, A. C.; NANTES, W. A. G.; MACEDO, G. C.; JUNIOR, O. F.; GONÇALVES, L. R.; BINDER, L. C.; SERPA, M. C. A.; BATTESTI, D. M. B.; BARBIERI, A. R. M.; LABRUNA, M. B.; PORFIRIO, G. E. O.; HERRERA, H. M. Detecção de bactéria do grupo febre maculosa em capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) de Campo Grande – UFMS - Campo Grande / MS  
. **71ª Reunião Anual da SBPC** – 2019.

COLLATZ, P.; SELZER, A.; FUHRMANN, R. M.; OEHME, A. hidden beneficial: biology of the tick-wasp *Ixodiphagus hookeri* in Germany J. U. Mackenstedt, O. Kah & J. L. M. **Journal of Applied Entomology**, v. 135, p.251-358, 2011.

COSTA, V. A.; PERIOTO, N. W. Insetos parasitoide. In: Batista Filho, A. (Org.) Controle biológico de insetos e ácaros.1 ed. São Paulo: **Instituto Biológico**, p. 52-68, 2006.

COSTA-LIMA, A. O. *Chalcididae Hunterellus hookeri* Howard. Parasite do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* Latreille observado no Rio de Janeiro. Ver. Vet. Zootec. 5.p.201-204, 1914.

CRUZ, I.; FIGUEIREDO, M.L.C.; SILVA, R.B. Controle biológico de pragas de milho. **Ciência e Ambiente** v.43, p.165-190. 2011.

DANTAS-TORRES, F.; FIGUEREDO, L. A.; BRANDÃO-FILHO, S. P. *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae), the brown dog tick, parasitizing humans in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Minas Gerais, v. 39. n. 1, p. 64-67, jan. /Feb. 2006.

DANTAS-TORRES, F. ***Rhipicephalus sanguineus* e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no estado de Pernambuco**. 2008. 95f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Ageu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

DAVIS, A. J. Bibliography of the Ixodiphagini (Hymenoptera, Chalcidoidea, Encyrtidae), parasites of ticks (Acari, Ixodidae), with notes on their biology. Published in **Tijdschrift Voor Entomologie** 129. p. 181–190, 1986.

DIAS, L. P. **Efeito de diferentes temperaturas sobre a fase não parasitária de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodida) adaptado a clima temperado**. 2013. 43f. Dissertação (Mestrado no Programa de PósGraduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas, P.15 - 2013.

FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. Controle biológico de pragas da agricultura. Editoras técnicas Brasília – DF: **Embrapa**, 510p ,2020.

FIGUEIREDO, M.L.C.; MARTINS-DIAS, A.M.P.; CRUZ, I. Relação entre a lagarta do cartucho e seus agentes de controle biológico natural na produção de Milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.12, p.1693-1698. 2006.

FONSECA C.F., LIMA D.C.V., SOUZA D.S., SILVA S.G.N., LIMA J.R.B., OLIVEIRA J.B., MOURA G.J.B. & ALÉSSIO F.M. 2017. Distribuição espacial e abundância de carrapatos (Acari: Ixodidae) em remanescente de Mata Atlântica, Nordeste do Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 37(10): 1085-1090.



FRANCO, C. S. **A influência dos fatores ambientais na ocorrência de carrapatos (Arthropoda, Acari, Ixodidae) e ickettsia em área de transmissão e área de predisposição para a febre maculosa brasileira.** 2018. 67 p. Tese (Doutorado em Biologia Animal, na área de Relações Antrópicas, Meio Ambiente e Parasitologia). Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, SP, 2018.

GARCIA, M. V.; MATIAS, A. C.M.; SZABÓ, P. J. Colonização e lesão em fêmeas ingurgitadas do carrapato *Rhipicephalus sanguineus* causadas pelo fungo *Metarhizium anisopliae*. **Parasitologia • Cienc. Rural** 34 (5), 2004.

GODDARD, J. Focus of human parasitism by the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). **Journal of Medical Entomology**, Lanham, v.26, n.6, p.628-629, 1989.

GRAY, J.S. A carbon dioxide trap for prolonged sampling of *Ixodes ricinus* L. populations. **Experimental and Applied Acarology**, v. 1, p. 35-44, 1985.

GRAVENA, S., Controle Biológico no Manejo Integrado de Pragas, **Pesq. Agropec. Bras.**, Brasília, 27, S/N: 281-299, abr. 1992.

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A.; PETNEY, T. N.; ESTRADA-PEÑA, A.; HORAK, I. G.; SHAO, R.; BARKER, S. C. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species names. **Publisher: Springer Verlag, Zootaxa**, v. 2528, n. 6, p. 1-28, 2010.

GUGLIELMONE, A. A.; BEATI, L.; BARROS-BATTESTI, D. M.; LABRUNA, M. B.; NAVA, S.; VENZAL, J. M.; MANGOLD, A. J.; SZABO, M. P.; MARTINS, J. R.; GONZÁLEZACUÑA, D.; ESTRADA-PEÑA, A. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. **Experimental and Applied Acarology**, v. 40, n. 2, p. 83-100, 2006.

---

GUGLIELMONE, A. A.; ROBBINS, R. G.; APANASKEVICH, D. A. et al. The hard ticks of the world (Acari: Ixodida: Ixodidae). Dordrecht: **Springer Science+Business Media**, 738P, 2014.

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI. **Ectoparasitos de Importância Veterinária**. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – Editora Plêiade/Fapesp 218p, p. 52-96, 2001.

HANSON, P. E., GAULD, I. D., Hymenoptera de la Región Neotropical, **Memoirs of the American Entomological Institute**, v. 77, 994 p., 2006.

HU, R.; HYLAND, K. E. & OLIVER, J. H. A review on the use of *Ixodiphagus* wasps (Hymenoptera: Encyrtidae) as natural enemies for the control of ticks (Acari: Ixodidae). **Systematic and Applied Acarology** 3, p. 19–28, 1998.

HU, R.; KERWIN, E. Prevalence and seasonal activity of the wasp parasitoid, *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in its tick host, *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) Hyland Source: **Systematic and Applied Acarology**, 2(1):95-100, 1997.

KRAWCZYK, A. I., BAKKER, J. W., KOENRAADT, C. J. M., FONVILLE, M., TAKUMI, K., SPRONG, H., DEMIR, S., Tripartite Interactions among *Ixodiphagus hookeri*, *Ixodes icinus* and Deer: Differential Interference with Transmission Cycles of Tick-Borne Pathogens, **New Frontiers in Tick Research**, p. 339, 2020.

LABRUNA, M. B.; KASAI, N.; FERREIRA, F.; FACCINI, J. L. H.; GENNARI, S. M. Seasonal dynamics of ticks (Acari: Ixodidae) on horses in the state of São Paulo, Brasil. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 1, p. 65-77, 2002.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapato em cães. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, v.6, p.24-32, 2001.

LABRUNA, M. B.; LEITE, R. C.; GOBESSO, A. A.O.; GENNARI, S. M.; KASAI, N. Controle estratégico do carrapato *Amblyomma cajennense* em equinos. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.34, n.1, p.195-200, jan-fev, 2004.

LARA R. I. R.; FREITAS S.; PERIOTO N. W.; PAZ, C. C. P. 2008. Amostragem, diversidade e sazonalidade de Hemerobiidae (Neuroptera) em *Coffea arabica* L. cv. Obatã (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Entomologia** 52(1): 117-123.

LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; CUNHA, A. P.; BELLO, A. C. P. P. Controle de ectoparasitos de equinos *Amblyomma cajennense* e *Anocentor nitens*. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 14 Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, 2, 2006, Ribeirão Preto. **Resumos**, Jaboticabal: CBPV, p. 120-124, 2006.

LEMOS, E. R. S.; ALVARENGA, F. B.; CINTRA, M. L.; M. C.; PADDOCK, C. D.; Ferebee, T.L. et al. Spotted fever in Brazil: a seroepidemiological study and description of clinical cases in an endemic area in the State of São Paulo. **Am J Tropical Medicin Hyg.** 65(4):329–334, 2001.

LOPES, A. J. O.; NASCIMENTO-JUNIOR; Silva, C. G.; PRADO A. P.; LABRUNA, M. B.; COSTA-JUNIOR, L. M. Parasitism by *Ixodiphagus* Wasps (Hymenoptera:Encyrtidae) in *Rhipicephalus sanguineus* and *Amblyomma* Ticks (Acari: Ixodidae) in Three Regions of Brazil: **Journal of Economic Entomology**, 105(6):1979-1981. 2012.

MARTINS, M. M. **Fauna, sazonalidade e riquetsias de carrapatos em área do Cerrado goiano**. 2016. 85p. Tese (Doutorado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2016.

MENDES, T. M., BALBINO, J. N. F., SILVA, N. C. T., FARIAS, L. A., *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* e *Rhipicephalus sanguineus*: uma revisão sobre as perspectivas, distribuição e resistência - **PUBVET** v.13, n.6, a347, p.1-10, 2019.

MENEZES, K. M. F. Reconstrução tridimensional do lobo olfativo do carrapato *Amblyomma sculptum* (Acari: Ixodidae). 2017. 56p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Área de Sanidade Animal, Higiene e Tecnologia de Alimentos) - Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2017.

MORAES-FILHO, J. Febre maculosa brasileira / Brazilian spotted fever / **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP** / Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP. São Paulo: Conselho Regional de Medicina Veterinária, v. 15, n. 1, p. 38-45, 2017.

MWANGI E. N.; KAAYA, G. P.; ESSUMAN, S.; KIMONDO M.G. Parasitism of *Amblyomma variegatum* by a hymenopteran parasitoid in the laboratory, and some aspects of its basic biology. **Biological Control**, v.4; 101–104. 1994.

Mwangi, E. N., Newson, R. M., & Kaaya, G. P. A Hymenopteran Parasitoid Of The Bont Tick *Amblyomma-variegatum* Fabricius (acarina, Ixodidae) In Kenya. **Discovery And Innovation**, 5(4), 331-335, 1993.

MWANGI, E. N.; HASSON S. M.; KAAYA, G. P.; ESSUMAN, S. The impact of *Ixodiphagus hookeri*, a tick parasitoid, on *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae) in a field trial in Kenya. **Experimental & Applied Acarology**, 1997.

NAVA, S.; GUGLIELMONE, A. A.; MANGOLD, A.J. An overview of systematics and evolution of ticks. **Frontiers in Bioscience**. 14:2857-2877, 2009.

NAVA, S.; BEATI, L.; LABRUNA, M. B.; CÁCERES, A. G.; MANGOLD, A. J.; GUGLIELMONE, A. A. Reassessment of the Taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the Description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and Reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). **Ticks and Tick-borne Diseases**, v. 5, p. 252–276, 2014.

NUNES, E. E.; VIZZONI, V. F.; NAVARRO, D. L.; IANI, F. C. M.; DURAES, L. S.; DAEMON, E.; SOARES, C. A. G.; GAZETA, G. S. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 110(8): 1058-1061, 2015.

NUNES, A. M.; MULLER, F. A.; GONÇALVES, R. S.; SILVEIRA, M. S.; COSTA, V. A.; NAVA, D. E. Moscas frugívoras e seus parasitoides nos municípios de Pelotas e Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.42, n.1, p.6-12, 2012.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.F.; LOPES, C.M.L.; LEITE, R.C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on 23 pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.92, p.295-301, 2000.

ONOFRIO, V. C.; VENZAL, J. M.; PINTER, A.; SZABÓ, M. P. J. Família Ixodidae: características gerais, comentários e chave para gêneros. Carrapatos de Importância Médico-Veterinária da Região Neotropical: **Um guia ilustrado para identificação de espécies São Paulo**, VoxIICTTD-3/Butantan, 223 p, 2006.

PAIÃO, J. C. V. et al. Susceptibility of the cattle tick *Boophilus microplus* (Acari: Ixodidae) to isolates of the fungus *Beauveria bassiana*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Dordrecht, v.17, n.3, p.245-251, 2001.

PAROLA, P.; PADDOCK, C. D.; RAOULT, D. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington DC, v. 18, n. 4, p. 719-756, 2005.

PAROLA, P.; SOCOLOVSCHI, C.; JEANJEAN, L.; BITAM, I.; Fournier P-E, Sotto A, et al. (2008) Warmer Weather Linked to Tick Attack and Emergence of Severe Rickettsioses. *PLoS Negl Trop Dis* 2(11): p. 338, 2008.

PAROLA P.; PADDOCK, C. D.; SOCOLOVSCHI, C.; LABRUNA, M. B.; Mediannikov, O.; Kernif, T. et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev*. 2013.

PARRA, J. R. P; BOTELHO, P. S. M.; CÔRREA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. Controle biológico: terminologia. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CÔRREA-

FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (Ed). **Controle biológico no Brasil: parasitoides e predadores**. Barueri: Manole, Cap.1, p. 1-16, 2002.

PERES, F.; OLIVEIRA-SILVA, J. J.; DELLA-ROSA, H. V.; LUCCA, S. R. de. Desafios ao estudo da contaminação humana e ambiental por agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 10, p. 27-37, 2005.

PERETTI, A. P. R., ARAUJO, W. M. C., Abrangência do requisito segurança em certificados de qualidade da cadeia produtiva de alimentos no Brasil - **Gest. Prod.** vol.17 no.1 São Carlos, 2010.

PHILIP, C. B. A New Locality Record in Africa for the Tick Parasite, *Hunterellus hookeri* Howard - The Journal of Parasitology, Vol. 40, No. 2 (Apr. 1954), pp. 234-235 Published by: **on behalf of Allen Press American Society of Parasitologists.**

PINHEIRO, V. R. E. **Avaliação do efeito carrapaticida de alguns piretróides sintéticos sobre o carrapato *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acarina: Ixodidae)**. 1987. 126f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia Animal) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1987.

PINHEIRO M.C.; LOURENÇO E.C.; PATRÍCIO P.M.P.; SÁ-HUNGARO I.J.B.; FAMADAS K.M. 2014. Free-living ixodid ticks in an urban Atlantic Forest fragment, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revta Bras. Parasitol. Vet.** 23(2):264-268.

PRETTE, N.; MONTEIRO, A. C.; GARCIA, M. V.; SORES, V. E., - Patogenicidade de isolados de *Beauveria bassiana* para ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *Rhipicephalus sanguineus*. **Ciência Rural**, Santa Maria, v35, n.4. P.855-881, 2005.

RAMOS, R. A. N.; CAMPBELL, B. E.; WHITTLE, A.; LIA, R. P.; MONTARSI, F.; PARISI, A.; DANTAS-TORRES, F.; WALL, R.; OTRANTO, D., 2015. Occurrence of *Ixodiphagus hookeri* (Hymenoptera: Encyrtidae) in *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Southern Italy, from **Brazil. Ticks Tick-borne Dis.** p.234-236, 2017.

RODRIGUES, V. S.; PINA, F. T. B.; BARROS, J. C.; GARCIA, M. V.; ANDREOTTI, R. Carrapato-estrela (*Amblyomma sculptum*): ecologia, biologia, controle e importância. **Comunicado técnico Embrapa** 132, Brasília, Distrito Federal, 2015.

SAMISH, M.; GINSBERG, H.; GLAZER, I. **Biological control of ticks**. Parasitology, 129, S389-403. F, 2004 Cambridge University in the United Kingdom, Parasitology. 2004.

SÃO PAULO (Estado). Vigilância Epidemiológica da Febre Maculosa Brasileira no estado de São Paulo Divisão de Zoonoses. Centro de Vigilância Epidemiológica. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo. **BEPA** v. 14(164), p. 21-31, 2017.

SECRETARIA DA SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO. Disponível em <[http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-devigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-zoonoses/dados/fmaculosa/fmb0720\\_cautoctone\\_ano\\_evol.pdf?attach=true](http://www.saude.sp.gov.br/resources/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica/areas-devigilancia/doencas-de-transmissao-por-vetores-zoonoses/dados/fmaculosa/fmb0720_cautoctone_ano_evol.pdf?attach=true)>, acesso em 3 março 2021.

SILVA, S. B. A. **Controle integrado de *Amblyoma sculptum* em zonas rurais**. São Paulo. 2019. 186 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade, Segurança Alimentar e Ambiental no Agronegócio) – Instituto Biológico. Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios, Secretaria de Agricultura e Abastecimento do Estado de São Paulo, São Paulo, 2019.

SILVEIRA, W. H., CARVALHO, G. D.; PECONICK, A. P. Medidas de controle do carrapato *Rhipicephalus microplus*: uma breve revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 8, N. 10, Ed. 259, Art. 1715, 2014.

IEITE

SILVEIRA, G. A. R.; MADEIRA, N. G.; AZEREDO-SPIN, A. M. L.; PAVA, C. Levantamento de microhimenópteros parasitoides de dípteros de importância médico-veterinária no Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 84, Supl. IV, 505-510, 1989.

SOUZA, A. P. **Variação populacional dos principais ixodídeos parasitas de bovinos e equinos em diferentes condições de manejo, nos municípios de Paracambi e Itaguaí no estado do Rio de Janeiro.** 1990. 81f. Tese (Doutorado em Parasitologia Animal) – Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária – Parasitologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 1990.

SOARES, R. L.; SILVA, A. O.; COELHO, M. L.; ECHEVERRIA, J. T.; SOUZA, M. L.; BABO-TERRA, V. J.; PASQUATTI, T. N.; RAMOS, A. N.; RAMOS, C. A. N. Molecular detection of *Cercopithifilaria bairdii* and other tick-borne pathogens in *Rhipicephalus sanguineus* s.l. isolated from dogs in Midwest Brazil. **Braz J Vet Parasitol**, 2020.

VIEIRA, A. M. L.; SOUZA, C. E.; LABRUNA, M. B.; SAVINA, R. C. M.; SOUZA, S. L.; CAMARGO-NEVES, V. L. F. **Manual de Vigilância Acarológica do Estado de São Paulo.** Secretaria de Estado de Saúde Superintendência de Controle de Endemias SUCEN São Paulo, 2002.

WOOD, H. P. Notes on the life history of the tick parasite *Hunterellus hookeri* Howard. **Journal of Economic Entomology**, 4, 425-431, 1911.