

Estudo comparativo do aspecto da hemolinfa de algumas espécies de carrapatos (Acari, Ixodidae): descrição da variação hemocitária de adultos de *Amblyomma cajennense* (Fabricius) Koch

Maria Elisa Carneiro ¹
Erik Daemon ²

ABSTRACT. Comparative study of the hemolymph aspect from a few ticks species (Acari, Ixodidae): description of the hemocyte variation of adults of *Amblyomma cajennense* (Fabricius) Koch. The hemocyte composition of adults of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) Koch, 1844 adults consisted of three basic cellular types: prohemocyte I (PR I), plasmatocyte (PL) and spherulocyte (ES II). Among the ixodids observed (*A. cajennense*; *A. dissimile* Koch, 1844; *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806; *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) Schulze, 1937; *Boophilus microplus* Canestrini, 1887 and *Haemaphysalis* sp.) only *A. cajennense* was different in the adult hemolymph colour. It changed from amber to deep blue as the ixodid age advanced. This fact could be associated with the presence of hemocyanin in the hemolymph and points out the need to develop further investigations about the Ixodidae hemolymph protein composition as well as the function of all the types found in it. This information could aid the studies on ticks control.

KEY WORDS. Ixodidae, *Amblyomma*, ixodid, hemolymph, hemocyte

Os Arthropoda, como outros organismos vivos, vivem dentro de condições ambientais variáveis, nas quais a intensidade de fatores dominantes e suas combinações variam em diferentes graus, causando alterações reversíveis ou irreversíveis no metabolismo. Alterações na composição da hemolinfa são reportadas como consequência de vários fatores como infecção com bactérias e fungos (FISHER & GANESALINGAM 1970), efeito da temperatura sobre o volume e o pH da hemolinfa (EHLER *et al.* 1986; STOREY *et al.* 1986) e mudanças sazonais e ambientais (SANTAREM *et al.* 1994).

Informações sobre a hemolinfa dos carrapatos são limitadas, em sua maioria, à descrição da morfologia e função dos tipos celulares (BALASHOV 1972), fato esse corroborado pela revisão bibliográfica realizada por CARNEIRO & DAEMON (1997). Este trabalho foi realizado com o intuito de notificar o tempo exato do acontecimento de tal variação e sua influência sobre os tipos celulares encontrados na hemolinfa, assim como retratar a ocorrência de tal fato em carrapatos provenientes de diferentes hospedeiros e localidades, além de notificar aspectos da hemolinfa de outras espécies de ixodídeos.

1) UNIPLAC/AGROPLAC, SIGA. Setor Leste, 72460-000 Brasília, Distrito Federal. E-mail: melcc@globo.com

2) Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rodovia BR 165 Km 7, 23851-970 Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho os adultos de *A. cajennense* (Fabricius, 1787) Koch, 1844 foram obtidos a partir de infestações artificiais em coelhos com ninfas provenientes da colônia estoque do Laboratório de Ixodologia, Estação para Pesquisas Parasitológicas W.O. Neitz (EPPWON), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Gotas de hemolinfa, obtida através da secção das pernas dos carrapatos, foram coletadas em lâminas, fixadas com metanol e coradas com Giemsa (2 gotas/ml de água destilada); a partir da ecdise dos adultos a coleta de hemolinfa foi realizada em 10 machos e 10 fêmeas diariamente, por um período de 20 dias.

Também foi observada a hemolinfa de 20 exemplares adultos desta espécie provenientes de infestações naturais dos seguintes hospedeiros e localidades: uma égua necropsiada na EPPWON; duas éguas da Fazenda Experimental Pedro Leopoldo em Belo Horizonte, Minas Gerais; cavalos de rua de Campo Grande, Rio de Janeiro; e bovinos mantidos estabulados na EPPWON. De adultos obtidos da ecdise das ninfas ingurgitadas coletadas na Fazenda Experimental de Pedro Leopoldo, a coleta de hemolinfa foi realizada no primeiro e no vigésimo dias após a ecdise, segundo a metodologia proposta por CARNEIRO & DAEMON (1997).

A hemolinfa de adultos de outras espécies, como *Rhipicephalus sanguineus* Latreille, 1806, *Anocentor nitens* (Neumann, 1897) Schulze, 1937, *Boophilus microplus* Canestrini, 1887, *Haemaphysalis* sp. e *A. dissimile* Koch, 1844 também foram observadas um e 20 dias após a ecdise.

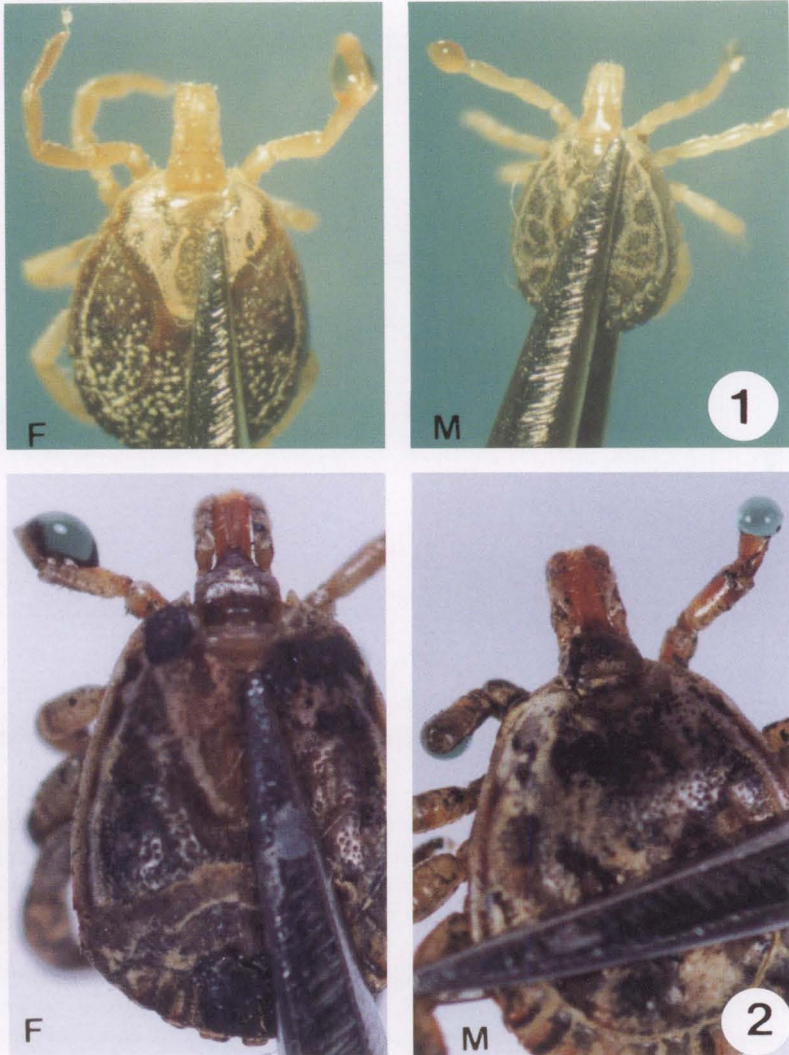
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em adultos de *A. cajennense*, obtidos através de infestação artificial em coelhos, foi observado uma variação na coloração da hemolinfa a partir do 10º dia de idade com maior frequência a partir do 13º dia. Logo após a ecdise a hemolinfa apresenta-se incolor e/ou âmbar (Fig. 1), alterando para coloração azul, inicialmente de tom claro que se intensifica com o avançar da idade do carrapato (Fig. 2).

Todos os exemplares adultos (machos e fêmeas) obtidos de infestações naturais apresentaram hemolinfa de coloração azul intensa e aqueles provenientes de ninfas ingurgitadas apresentaram a variação de coloração de âmbar a azul intensa um e 20 dias após a ecdise, respectivamente. Isso provavelmente se deve à idade dos carrapatos coletados em campo a qual deveria ser superior ao período de 20 dias, pois como observado no laboratório, somente a partir de 14 dias de idade, começa a acontecer a variação na coloração da hemolinfa destes ixodídeos.

Larvas, ninfas e fêmeas ingurgitadas de *A. cajennense* obtidas através de infestações artificiais em coelhos e com coleta de hemolinfa 20 dias após a eclosão, a ecdise e ao ingurgitamento, respectivamente, apresentaram hemolinfa de cor âmbar, sem ocorrer variação de coloração na hemolinfa.

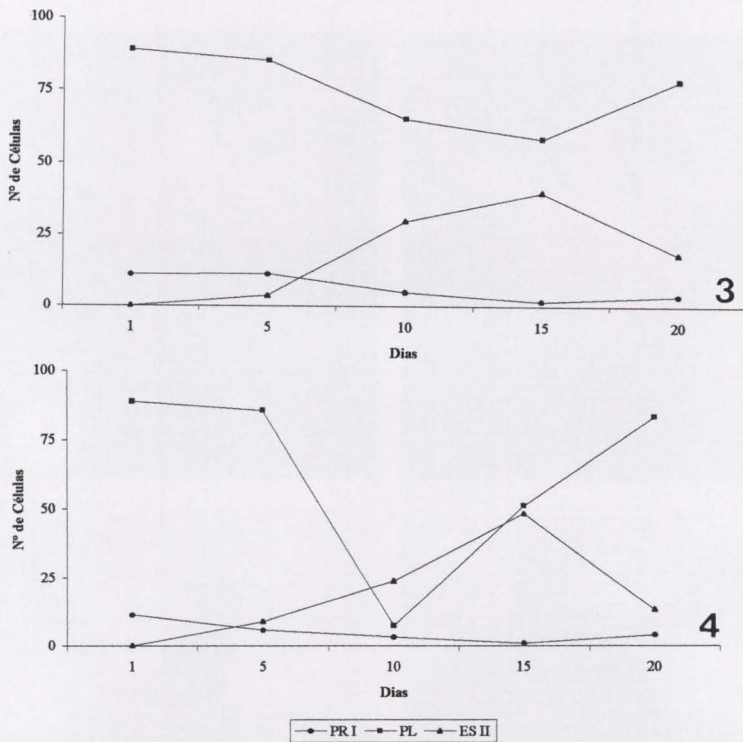
Embora OBENCHAIN & OLIVER (1976) relatem que algumas espécies de *Amblyomma* apresentam a hemolinfa esverdeada, não citam a variação ocorrida com os estágios de *A. cajennense*.



Figs 1-2. Aspecto da hemolinfa de *Amblyomma cajennense* um dia (1) e vinte dias (2) após a ecdise.

Segundo STORER *et al.* (1991), na Classe Arachnida o “sangue” incolor contém corpúsculos amebóides e hemocianina dissolvida como pigmento respiratório. Esta mudança de coloração na hemolinfa de adultos de *A. cajennense*, pode então sugerir a ocorrência desse pigmento nesse ixodídeo.

A hemocianina, de acordo com BARNES (1984), é encontrada em alguns artrópodes, moluscos e crustáceos sendo definida como uma proteína na qual a molécula de oxigênio é transportada entre dois átomos de cobre formando a



Figs 3-4. Percentual (%) dos tipos celulares presentes na hemolinfa de machos (1) e fêmeas (2) de *A. cajennense*.

oxihemocianina que apresenta coloração azul e a desoxihemocianina que apresenta coloração incolor. Este fato pode indicar que ocorre maior necessidade de oxigênio no metabolismo de adultos não ingurgitados de *A. cajennense* com o avançar da idade, sendo corroborado por STORER *et al.* (1991), que afirma que a hemolinfa quando oxigenada é azul.

Para adultos de outras espécies como *R. sanguineus*, CARNEIRO & DAEMON (1997), *Anocentor nitens*, *B. microplis*, *A. dissimile* e *Haemaphysalis* sp., a variação de coloração da hemolinfa não foi observada em nenhuma fase do desenvolvimento, ficando até o presente, restrita à espécie *A. cajennense*.

A composição hemocitária dos adultos de *A. cajennense* analisados constituiu em três tipos celulares básicos de acordo com a classificação proposta por CARNEIRO & DAEMON (1997): prohemócitos tipo I (PR I), plasmátócitos (PL) e esferulócitos tipo II (ES II). A variação dos hemócitos, nos ixodídeos com idade compreendida entre 1 e 20 dias, pode ser observada nas figuras 3 e 4.

O PL foi o tipo celular mais abundante tanto para machos quanto para fêmeas e o PR I manteve um percentual pouco variável com o desenvolvimento do carrapato. Já os ES II só estiveram presentes na hemolinfa a partir do quinto dia de idade, aumentando muito em número entre o 10º e 13º dia e decaindo em quantidade até o 20º dia. Há relatos na literatura de que os ES atuam no processo de respiração

dos insetos (GUPTA 1979), fato que, diante da suposta presença do pigmento hemocianina, explicaria o alto número destas células no período de variação na coloração da hemolinfa.

Os tipos celulares dos artrópodes podem variar tanto de uma espécie para outra, como dentro de uma mesma espécie em seus diferentes estágios. Também pode ocorrer variação quanto à sua função, os PL por exemplo, foram descritos em diferentes espécies com participação na fagocitose, no encapsulamento ou na coagulação (ARNOLD 1974; GUPTA 1979). A queda acentuada dos PL no décimo dia de vida das fêmeas de *A. cajennense*, evidencia que existe uma variabilidade entre as exigências metabólicas de machos e fêmeas, mas não há na literatura dados que justifiquem tal variação.

Assim, fica patente a necessidade de investigações mais aprofundadas sobre a composição protéica da hemolinfa dos ixodídeos, bem como sobre a função dos tipos celulares que a compõem, o que poderia auxiliar os estudos de controle destes carrapatos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARNOLD, J.W. 1974. The hemocytes of insects, p. 201-254. In: M. ROCKSTEIN (Ed.). **The Physiology of Insecta**. New York, Academic press, Vol. 5, 648p.
- BALASHOV, Y.S. 1972. **Bloodsucking Ticks (Ixodoidea) – vectors of diseases in man and animals**. Cairo, Med. Zool. Dep. USNAMRU, 319p.
- BARNES, R.D. 1984. **Zoologia dos Invertebrados**. São Paulo, Livraria Roca, 4ª ed., 1179p.
- CARNEIRO, M.E. & E. DAEMON. 1997. Caracterização dos tipos celulares presentes na hemolinfa de adultos de *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Ixodoidea: Ixodidae) em diferentes estados nutricionais. **Rev. Brasil. Parasitol.** 6: 1-9.
- EHLER, W.J.; W. ESPIG & K.H. HOFFMAN. 1986. Blood volume of female adult crickets, *Gryllus bimaculatus* (Orthoptera) – methods and the influence of temperature and reproductive activity. **Comp. Biochem. Physiol.** 83: 731-734.
- FISHER, W.S. & V.K. GANESALINGAM. 1970. Changes in the compositions of host haemolymph after attack by in insect parasitoid. **The invertebrates** 3: 191-192.
- GUPTA, A.P. 1979. Hemocyte types: their structure, synonymies, interrelationships and taxonomic significance, p. 85-127. In: A.P. GUPTA (Ed.). **Insect hemocytes**. Cambridge, Univ. Press, 614p.
- OBENCHAIN, E.D. & M. OLIVER. 1976. Peripheral nervous system of the tick, *Amblyomma tuberculatum* and *Argas radiatus*. **Jour. Parasitol.** 62: 811-817.
- SANTARÉM, M.M., J.R. ROBLEDO & B. FIGUEIRAS. 1994. Seasonal changes in hemocytes and serum defense factors in the blue mussel *Mytillus galloprovincialis*. **Dis. Aquat. Org.** 18: 217-222.
- STORER, T.L.; R.L. USINGER; R.C. STEBBINS & J.W. NYBAKKEN. 1991. **Zoologia Geral**. São Paulo, Companhia Ed. Nacional, 4ª ed., 816p.
- STOREY, K.B.; D.G. McDONALD & C.E. BOOTH. 1986. Effect of temperature acclimation on haemolymph composition in the freeze-tolerant larvae of *Eurosta solidaginis*. **Jour. Ins. Physiol.** 32: 897-902.