

Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Biológicas
Pós-Graduação em Ciências Biológicas
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Rafael Moreira do Nascimento

Interação e agregação entre os estágios de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri* no Cerrado Brasileiro

Juiz de Fora

2020

Rafael Moreira do Nascimento

Interação e agregação entre os estágios de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri* no Cerrado Brasileiro

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia e Comportamento Animal, área de concentração: Parasitos e seus hospedeiros, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

Orientador Professor Dr. Ralph Maturano Pinheiro

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Moreira do Nascimento, Rafael.

Interação e agregação entre os estágios de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schneideri* no Cerrado Brasileiro / Rafael Moreira do Nascimento. -- 2020.

37 f.

Orientador: Ralph Maturano Pinheiro

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2020.

1. Distribuição livre ideal. 2. Fenologia. 3. Sítios de Fixação. Maturano Pinheiro, Ralph, orient. II. Título.

Rafael Moreira do Nascimento

**Interação e agregação entre os estágios de *Amblyomma rotundatum*
em *Rhinella schneideri* no Cerrado brasileiro**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia e Comportamento Animal, área de concentração: Parasitos e seus hospedeiros, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre.

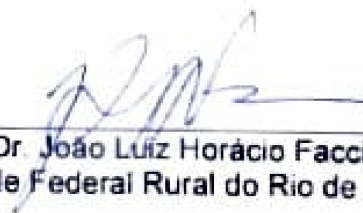
Orientador Professor Dr. Ralph Maturano Pinheiro

Aprovado em 28 de fevereiro de 2020

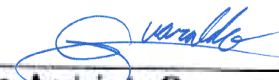
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Ralph Maturano Pinheiro (Orientador)
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. João Luiz Horácio Faccini
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro



Prof. Dr. André de Camargo Guaraído
Universidade Federal de Juiz de Fora

Agradecimentos

Em primeiro lugar agradeço a Deus por toda força que Ele me proporcionou desde o início de minha caminhada acadêmica.

Agradeço aos meus pais Gilmar e Sônia, que desde sempre me apoiaram em cada nova empreitada, além disso não mediram esforços para me proporcionar sempre o melhor.

Agradeço a minha esposa Gabriela, por me suportar durante as crises acadêmicas e por nunca me deixar desistir. Sem você nada disso seria possível.

Agradeço a minha irmã Bruna, por sempre estar presente.

Agradeço a toda equipe LAP, Paula, Livia, Renata, Diego, Mariana, Tatiane Novato, Tatiane Senra, Viviane, Bianca e Ralph, além de todos que passaram pela equipe, por toda ajuda desde a época de iniciação científica. Em especial ao Erik Daemon (*in memoriam*) por ter aberto uma oportunidade para mim.

Agradeço a toda equipe LABEC – UFG, por todo apoio com as coletas de material, em especial ao professor Caio Monteiro.

Agradeço a todos amigos que fiz durante a graduação, pois sem eles jamais seria possível realizar o sonho de me tornar biólogo. Em especial a Ilber, Filipe, André e Drielli.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora – Comportamento e Biologia Animal.

A Capes pelo financiamento.

Resumo

O objetivo deste trabalho foi entender os sítios de fixação preferencias de *Amblyomma rotundatum* em *Rhinella schineiri*, bem como a dinâmica populacional deste carrapato em uma região de Cerrado brasileiro durante o período de janeiro de 2018 a março de 2019. Comparamos a distribuição dos diferentes estágios de *A. rotundatum* sobre o tegumento dos anfíbios por meio de análises de amplitude e de sobreposição. Observamos preferência dos estágios imaturos pelo dorso, saco vocal e linha lateral, enquanto adultos foram amplamente distribuídos. Entretanto, foi verificado que a preferência é influenciada pela presença de um segundo ou terceiro estágio. Também verificamos ausência de sazonalidade, comportamento contrário ao comumente encontrado em espécies de *Amblyomma* neotropicais

Palavras-chaves: distribuição livre ideal, fenologia, sítios de fixação

Abstract

The aim of this study was to understand the preferential attachment sites of the *Amblyomma rotundatum* in *Rhinella schineiri* toads, as well as the population dynamics of these ticks in a region of the Brazilian Cerrado biome during the period from January 2018 to March, 2019. We compared the distribution of the different stages of the *Amblyomma rotundatum* on the tegument of the amphibians by analyzing its breadth and overlap. We observed a preference of the immature stages by the dorsum, vocal sack and lateral line, while adults were widely distributed. However, we found that those preferences are influenced by the presence of other stages. We also found an absence of seasonality, contrary to the behavior commonly observed in neotropical *Amblyomma* species.

Keywords: Attachment site specificity; phenology; ideal free distribution

Lista de Figuras

- Figura 1** *Rhinella schneideri* parasitado por *Amblyomma rotundatum*, na figura é demonstrado uma fêmea, larva e ninfa parasitando a linha lateral do hospedeiro 20
- Figura 2** Distribuição circular da prevalência mensal de carrapatos e desvio padrão angular em dias de (A) larvas; (B) ninfas e (C) fêmeas. 21
- Figura 3** Gráfico da distribuição mensal da temperatura e precipitação média, e prevalência de *A. rotundatum*. 21
- Figura 4** 4.1 - Ocupação de larvas sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: ocorrência apenas de larvas (A), de larvas na presença de ninfas (B), fêmeas (C) e todos os estágios (D). 4.2 – Índices parasitológicos. 4.3 Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação 23
- Figura 5** Ocupação de larvas sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: Apenas ninfas (E), ninfas em coocorrência de larvas (F), coocorrência com adultos (G), ocorrência com os demais estágios (H). 5.2 – Índices parasitológicos. 5.3 Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação 24
- Figura 6** Ocupação de fêmeas sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: Apenas fêmeas (I), fêmeas em coocorrência de larvas (J), coocorrência com ninfas (K), ocorrência com os demais estágios (L). 6.2 - Índices parasitológicos. 6.3 - Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação 25

Lista de Tabelas

Tabela 1 : Índices parasitológicos de <i>A. rotundatum</i> encontrados	20
Tabela 2 Índices parasitológicos de <i>A. rotundatum</i> em outros trabalhos	24

Sumário

Resumo	6
Abstract	7
Revisão de literatura	11
Carrapatos parasitos de anuros	11
Sazonalidade de carrapatos	11
Seleção de sítios de fixação	12
<i>Amblyomma rotundatum</i> Kock, 1844	13
Características e riscos às populações hospedeiras	13
1. Introdução	15
1.1 Objetivos	16
2. Material e métodos	17
2.1 Área de estudo e captura dos hospedeiros	17
2.2 Coleta e identificação dos carrapatos	17
2.3 Análises estatísticas	17
3. Resultados	20
3.1 Carrapatos, hospedeiro e índices parasitológicos	20
3.1 Sítios de fixação preferenciais	22
Discussão	26
Conclusão	28
Referências bibliográficas	29

REVISÃO DE LITERATURA

Carrapatos em Anuros

Carrapatos (Acari: Ixodida) são artrópodes hematófagos, com 870 espécies descritas, e conhecidos pelo seu papel para saúde pública e animal devido à transmissão de agentes patogênicos e injúrias causadas em seus hospedeiros durante sua alimentação (Barros-Battesti, 2006). Podem parasitar aves, mamíferos, répteis e anfíbios (Gugliemone e Nava, 2010).

Quanto às espécies parasitas de anuros, podemos destacar aquelas pertencentes ao gênero *Amblyomma* e *Ornithodoros*, sendo o primeiro com maior ocorrência relatada (Barros-Battesti, 2006; Luz e Faccini, 2013). Quanto aos carrapatos do gênero *Ornithodoros*, há poucos relatos de parasitismo em anuros, onde pode-se destacar as espécies *Ornithodoros faccinii* Barros-Battesti, Landulfo e Luz, 2015 em *Thoropa miliaris* (Spix, 1824) e *Ornithodoros saraivai* Muñoz-Leal e Labruna, 2017, registradas parasitando *T. miliaris* e *Cycloramphus boraceiensis* Heyer, 1983, pois ambas foram descritas na última década (Barros-Battesti, et al., 2015; Muñoz-Leal et al., 2017), o que revela como estudos da relação de carrapatos e anuros são escassos. Com relação às espécies do gênero *Amblyomma* pode-se destacar a presença de *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 e *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 que são comumente encontradas e além disso, são morfologicamente próximas e apresentam distribuição semelhante (Luz e Faccini, 2013).

Além das injúrias causadas durante a hematofagia, *A. rotundatum* pode atuar como vetores de hematozoários, como *Hemolivia stellata* (Hemogregarinidae) e *Hepatozoon* sp., ambas do Filo Apicomplexa (Petit, 1990). Além disso, segundo Labruna et al. (2007), em *A. rotundatum* foi reportada a presença de *Rickettsia bellii*, uma espécie de bactéria com patogenicidade desconhecida (Mediannikov, et al., 2003). Lampo e Bayliss (1996), descrevem ainda que há correlação negativa entre a carga parasitária de *A. dissimile* com a massa de indivíduos de *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758), sendo desta maneira o parasitismo por estes artrópodes mais uma pressão regulatória nas densidades populacionais de anuros, visto os efeitos negativos causados.

Sazonalidade de Carrapatos

Em espécies de *Amblyomma* neotropicais é reconhecido a existência de um padrão sazonal de ocorrência dos diferentes estágios de vida; onde durante os meses frios e secos existe

uma maior incidência de indivíduos imaturos e durante os meses quentes e chuvosos uma maior incidência de carrapatos adultos (Labruna, 2009). Todavia, Oliveira et al. (2018), reportam ausência de padrão sazonal em *A. rotundatum* coletados em *R. jimi* em uma área de Caatinga. Os aspectos envolvidos na determinação de sazonalidade de carrapatos são ligados ao ambiente em que o mesmo está inserido, sendo que fatores como clima, temperatura e umidade exercem papéis fundamentais (Faccini e Barros-Battesti, 2006). No caso de *A. rotundatum*, um carrapato trioxeno, ou seja, que necessita de três hospedeiros para completar seu ciclo (Luz e Faccini, 2013), as larvas recém eclodidas e ninfas e adultos recém emergidos ficam expostos às condições ambientais. Com isto, condições climáticas do ambiente em que estes carrapatos estão inseridos exercerá um papel fundamental na sobrevivência (Randolph, 2011).

Seleção de Sítios de Fixação

Carrapatos ixodídeos passam boa parte de seu ciclo de vida sobre o tegumento do hospedeiro. Com isso há necessidade de ocupação de bons locais para fixação, visto que é neste local em que se alimentam e buscam parceiros sexuais (Sonenshine, 2013). Além disso, é esperado que devido aos diferentes padrões de vascularização de cada área do tegumento, bem como exposição do parasito ao *grooming* ou predadores, a superfície do hospedeiro seja um matriz de riscos e recompensas para o carrapato de acordo com seu local de fixação (Arnold, 2007).

Em diferentes grupos taxonômicos de hospedeiros já foi evidenciado segregação espacial de ocupação do tegumento hospedeiro. Dudek et al. (2016), observou que em *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758 o carrapato *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758), é encontrado em locais onde as escamas são menos espessas. Foi observado que larvas desta mesma espécie de carrapato, ao parasitar corças, são encontradas preferencialmente na cabeça e membros anteriores, ninfas encontradas na cabeça, enquanto adultos no pescoço (Kiffner, et al., 2010). Em uma espécie de lagarto australiano, *Trachydosaurus rugosus* (Gray, 1825), parasitado por *Amblyomma albolimbatum* Neumann, 1906, foi visto que os carrapatos são mais frequentemente encontrados nos ouvidos e no pescoço, enquanto quando parasitados por *Bothriocroton hydrosauri* (Denny, 1843), os parasitos são encontrados fixos nas patas e dorso do hospedeiro (Andrews, et al., 1983).

***Amblyomma rotundatum* Kock, 1844**

Amblyomma rotundatum é considerada uma espécie partenogênica (Barros-Battesti, 2006) de três hospedeiros (Luz et al., 2013). Todavia, existem dois relatos de machos (Keirans e Oliver, 1993; Labruna et al., 2005). Possui ampla distribuição, abrangendo desde o norte da Argentina até os Estados Unidos (Guglielmone, 2014). Este carrapato é parasito de animais de sangue frio, sendo encontrado em anuros e répteis (Guglielmone e Nava, 2010). A distribuição desta espécie nos Estados Unidos está associada à introdução de hospedeiros exóticos no país (Oliver, et al., 1993); além disso, este carrapato também já foi reportado em animais exportados ao Japão (Andoh, et al., 2015)

Estudos sobre a biologia da espécie, quando criada em laboratório, relatam que fêmeas se alimentam por um período entre 25 e 36 dias após o ingurgitamento, com forte correlação entre a massa da teleógina e a massa de ovos produzidos (Luz et al., 2013; Oba e Schumacker, 1983). O período de incubação dos ovos é de 18 a 29 dias, com taxa de eclosão de larvas de aproximadamente 48%; destas larvas, cerca de 70% alcançam o estágio ninfal, enquanto cerca 74.7% destas ninfas mudam para fase adulta (Luz et al., 2013). O ciclo de vida da espécie, quando parasitando *R. marina* é de 188 a 275 dias, conforme Oba e Schumacker (1983), enquanto Luz, et al. (2013) reporta o ciclo variando entre 126 e 228 dias, onde o hospedeiro foi *R. schneideri*

Características e Riscos às Populações Hospedeiras

Os anfíbios, representados por Gymnophiona (cecílias), Anura (sapos, pererecas e rãs) e Caudata (salamandras), possuem representantes presentes em praticamente todos os biomas terrestres e habitats de água doce, com espécies ocupando ambientes quentes, frios, regiões secas e ilhas oceânicas remotas (Frost, et al. 2006). Além de parasitos como carrapatos que podem causar danos a estes animais, as populações de anfíbios vêm sofrendo declínios ao longo dos anos, sendo populações de várias espécies criticamente ameaçadas (Stuart, et al. 2008). Segundo Toledo (2009), estes animais possuem elementos em sua biologia que os tornam vulneráveis, como no caso de anuros em que os ovos ocupam os leitos de corpos d'água; os girinos em cursos d'água, lagoas, etc., e adultos muitas vezes em ambientes terrestres; logo, por ocuparem diferentes estratos do ambiente estão mais susceptíveis a alterações dos mesmos. Outro ponto a se destacar é a pele permeável e ovos sem casca que também contribuem para vulnerabilidade destes animais (Toledo, 2009). Somado a isto, perturbações de naturezas

distintas, como destruição dos habitats, doenças infecciosas como a causada por fungos quitrídeos, poluição de corpos d'água contaminados por pesticidas, mudanças climáticas, espécies invasoras, radiação ultravioleta e comércio ilegal de animais silvestres, contribuem para o declínio dos anfíbios (Silvano e Segalla, 2005). Com isto, pode-se considerar que estes animais são bons representantes do estado de conservação de um determinado habitat (Toledo, 2009).

1. INTRODUÇÃO

Para carrapatos da família Ixodidae, o tegumento do hospedeiro é onde se alimentam, acasalam e passam boa parte de seu ciclo de vida (Sonenshine, 2013). Com isso, o tegumento, que durante parte do ciclo de vida do parasito é seu hábitat, apresentara condições distintas ao parasitismo (Chilton, et al., 1992; Arnold, 2007). A predileção de carrapatos por locais específicos para se fixarem no tegumento do hospedeiro já foi evidenciada em *Ixodes ricinus* (Linnaeus, 1758), espécie cujos estágios de vida ocupam áreas distintas do corpo de cervídeos (Kiffner, et al., 2010) e lagartos (Dudek, et al., 2016). A escolha de melhores sítios de fixação pode seguir o modelo de distribuição livre ideal, proposto por Fretwell e Lucas (1970) para animais de vida livre, em que espécies são capazes de se deslocar para locais de melhor compensação para seu *fitness*, de acordo com disponibilidade de recursos, que é contrabalanceada pela qualidade do hábitat e a presença de competidores. Uma vez que todos os estágios pós-embrionários de carrapatos se alimentam do mesmo recurso no hospedeiro (Sonenshine, 2013), é possível que, em espécies em que há sobreposição de gerações, ocorra interação entre os diferentes estágios. Esta interação pode resultar no deslocamento de competidores mais fracos para locais mais instáveis e/ou de baixa qualidade de recursos, conforme observado por Bush e Holmes (1986) em helmintos gastrointestinais de anatídeos.

Neste trabalho, estudamos a distribuição do carrapato *Amblyomma rotundatum* Koch, 1884 em sapos da espécie *Rhinella schneideri* (Werner, 1894), considerando a superfície corporal do hospedeiro como um recurso heterogêneo disputado entre os estágios de *A. rotundatum*. Esta análise foi possível devido às características inerentes de *A. rotundatum* que, por ter ciclo de vida multivoltino, conforme verificado por Oliveira et al. (2018) na Caatinga e por nós no Cerrado, larvas, ninfas e adultos podem ser encontrados sobre o mesmo hospedeiro e se alimentando do mesmo recurso. Esta é uma particularidade de *A. rotundatum* em relação às espécies de *Amblyomma* neotropicais que possuem fenologia descrita, uma vez que é característica deste gênero a sazonalidade definida quando ocorrem nesta região zoogeográfica (Labruna, et al. 2009). Sendo assim, *A. rotundatum* é um bom modelo para se estudar interações de infrapopulações parasitárias com diferentes gerações e estágios no mesmo hospedeiro.

1.1 Objetivos

- Avaliar a existência de segregação de sítios de fixação entre os estágios de vida de *Amblyomma rotundatum*
- Observar a presença de distribuição temporal de diferentes estágios de *A. rotundatum* de acordo com variáveis climáticas

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de Estudo e Captura dos Hospedeiros

As coletas de dados foram realizadas na cidade de Goiânia, GO no Parque Municipal Beija-Flor (16°39'06.7"S 49°13'51.2"W), amostrado nas demais coletas. Dados referentes a temperatura e pluviosidade mensais foram obtidos através da Estação Agrometeorológica da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás (Universidade Federal de Goiás/Escola de Agronomia, 2019).

O esforço amostral compreendeu em trinta coletas bimensais, sendo duas coletas/mês, no período entre janeiro de 2018 a abril de 2019, iniciando às 18:30 até às 22:30. Todas as coletas foram realizadas por um grupo de cinco pessoas, sendo cada integrante considerado uma unidade amostral, contabilizando um esforço amostral de 40 horas mensais (Eekhout, 2010).

Quando identificados por audição ou visualmente, os anfíbios foram capturados por busca ativa. A captura de hospedeiros e coleta de carrapatos foi autorizada pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Federal de Goiás (autorização nº 26/17), e autorização SISBIO número 62816.

2.2 Coleta e Identificação dos Carrapatos

Após a identificação dos anfíbios, coletamos os carrapatos com pinça de ponta fina e acondicionamos em álcool isopropílico em microtubos separados de acordo com os seguintes sítios de fixação: cabeça, olhos, ângulo da mandíbula, saco vocal, membros anteriores, linha lateral, dorso, ventre, membros posteriores e cloaca. Em seguida, soltamos os anfíbios próximo ao local de captura. Em laboratório, identificamos as larvas por morfologia até o nível de gênero, segundo Clifford e Anastos, 1961 e as ninfas e fêmeas até o nível de espécie, segundo Martins et al. 2010 e Onofrio et al. 2006, respectivamente. Uma amostra de larvas foram montadas em meio permante e comparadas morfologicamente com a descrição elaborada por Keirans e Oliver (1993).

2.3 Análises estatísticas

Para observar a diferenciação da ocupação dos sítios de fixação, bem como segregação na ocupação entre os diferentes estágios, utilizamos o pacote “EcoSimR” (Gotelli, et al., 2015)

no programa R (R Development Core Team. 2008). Analisamos a amplitude dos sítios ocupados através do índice de Levin, que varia de 0 (nenhum sítio ocupado) até 10 (todos os sítios ocupados). Em seguida, realizamos a padronização dos valores obtidos para que ficassem contidos em um intervalo de 0 a 1 (Krebs, 1989), para isso pressupomos que todos os sítios de fixação estão acessíveis aos carrapatos, de modo que estes possam capacidade de se fixarem em qualquer local do hospedeiro. Para verificar a sobreposição de sítios utilizamos o índice de Pianka (Pianka, 1974), que possui valores entre 0 e 1, com 0 sendo nenhuma sobreposição e 1 sobreposição total. Amplitude e a sobreposição de sítios foram consideradas na presença de dois ou três estágios sobre o hospedeiro.

Índices parasitológicos, tais como prevalência e intensidade média, e índice de discrepância (índice de agregação) (Poulin, 1996) foram calculados no programa Quantitative Parasitology 3.0 (Reicziegel, et al., 2013) seguindo Bush, et al. (1997). Para analisar a correlação entre a distribuição de carrapatos pelos sítios de fixação, bem como quantidade de carrapatos, realizamos no programa R (R Core Development Team. 2008), testes de correlação linear de Spearman entre amplitude de sítio e intensidade parasitária em todos os estágios de vida do carrapato, para isso realizamos teste de normalidade de Shapiro-Wilk como os dados obtidos, após logaritmização dos valores de intensidade média. Através de regressão linear múltipla buscamos verificar a existência de relação entre precipitação e temperatura média mensal com a intensidade média e prevalência de carrapatos.

Reunimos dados referentes a prevalência mensal de cada estágio de vida de *A. rotundatum*, para que os mesmos fossem analisados através de distribuição circular a fim de observar a presença ou ausência de sazonalidade. Os meses de janeiro, fevereiro e março do segundo ano foram consideradas pseudoréplicas dos três primeiros anos do primeiro ano, logo foi utilizada a prevalência média de cada mês. Cada mês representou uma categoria (janeiro agrupando valores entre 0° e 30°, fevereiro de 31° até 60°, e assim por diante). Com isso, calculamos o vetor médio que é referente ao mês com maior prevalência, o comprimento do mesmo (r) que diz sobre a concentração dos dados em relação ao vetor médio, que varia de 0 (dados com distribuição uniforme) a 1 (dados seguindo uma mesma direção de concentração), e o desvio angular (Zar, 2010). Por fim realizamos o teste de uniformidade de Rayleigh para verificar a uniformidade na distribuição dos dados (Zar, 2010). Apesar de lidarmos com dados agrupados, optamos pela utilização deste teste visto que os picos de distribuição dos parasitos não visualmente regulares (Humphreys e Ruxton, 2017), considerando toda distribuição da amostragem, bem como para os valores de ângulo médio encontrados para cada estágio, onde

$p = 0$ demonstra uniformidade nos dados (Zar, 2010). Analisamos os dados no programa R (R Core Team 2018) usando os pacotes “circular” (Agostinelli e Lund 2013) e o pacote “plotrix” (Lemon, et. al., 2015).

3. RESULTADOS

3.1 Carrapatos, Hospedeiro e Índices Parasitológicos

Analizamos um total de 273 indivíduos de *R. schneideri*, sendo 130 machos, 53 fêmeas e 90 juvenis, parasitados por 1.779 carrapatos. Identificamos ninfas e fêmeas como pertencentes à espécie *A. rotundatum* Koch, 1884. Identificamos prevalência de 60.9% e intensidade média de 10.75 ± 9.03 . Ao analisarmos se temperatura precipitação média mensal influenciavam a intensidade média e prevalência de carrapatos, não encontramos valores significativos que sugerissem alguma influência ($p = 0,31$ e $p = 0,30$ respectivamente). Na Figura 1 pode-se observar um hospedeiro macho parasitado pelos três estágios de vida de *A. rotundatum*. Na Tabela 1 apresentamos dados referentes aos índices parasitológicos encontrados neste estudo.

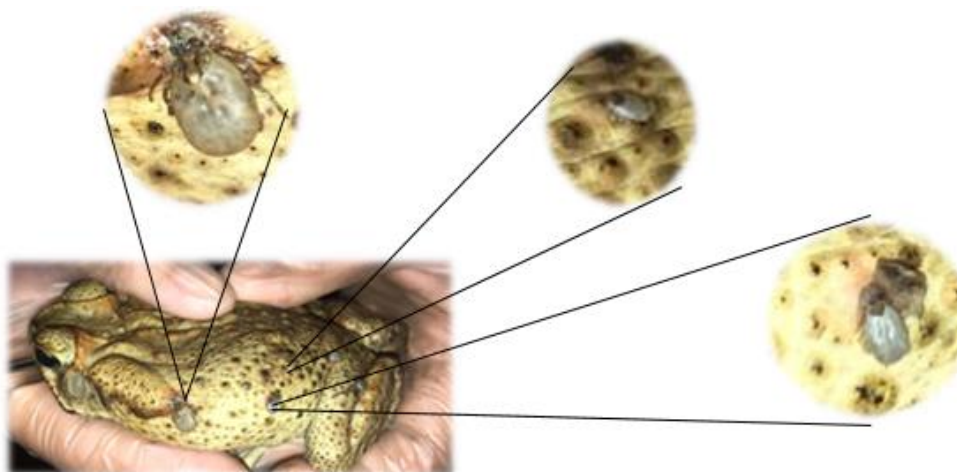


Figura 1 *Rhinella schneideri* parasitado por *Amblyomma rotundatum*, na figura é demonstrado uma fêmea, larva e ninfa parasitando a linha lateral do hospedeiro

A Figura 2 mostra que em todos estágios de *A. rotundatum* há presença de um vetor direcionado ao ângulo médio de ocorrência de parasitos. Todavia, o teste de uniformidade de Rayleigh acusou uniformidade dos dados para todos os estágios ($p=0$). Na Figura 3 constam os índices de intensidade média e discrepância (D) ao longo dos meses de coleta, bem como a variação de temperatura e precipitação.

Tabela 1: Índices parasitológicos de *A. rotundatum* encontrados

	Abundância	Prevalência	Intensidade parasitária(±dp)	Agregação (D)
Adultos	78	16.10	1.7±1.56	0.89
Ninfas	271	33.90	2.9±2.27	0.82
Larvas	1450	40.10	13.18±9.83	0.89
Geral	1799	60.90	10.75±9.03	0.82

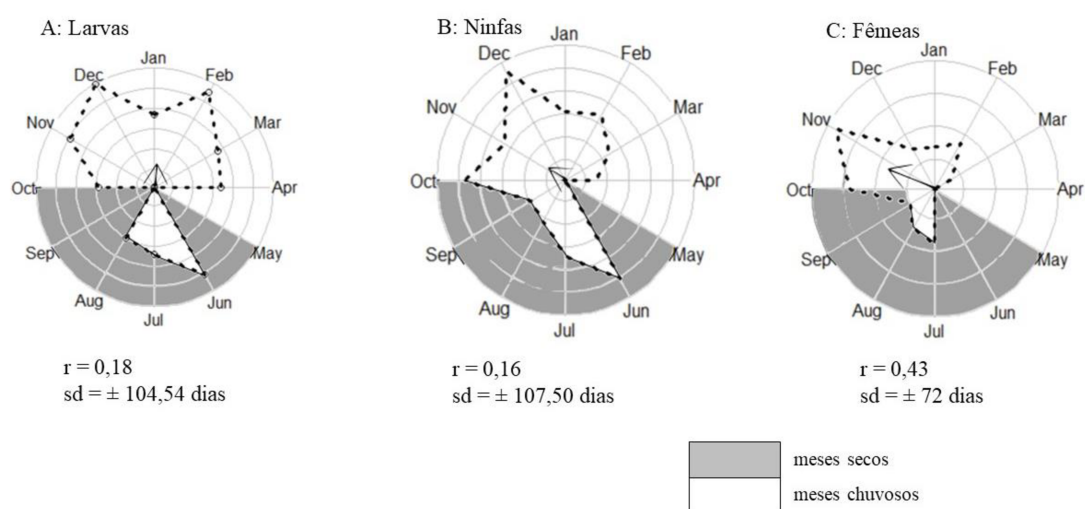


Figura 2 Distribuição circular da prevalência mensal de carrapatos e desvio padrão angular em dias de (A) larvas; (B) ninfas e (C) fêmeas.

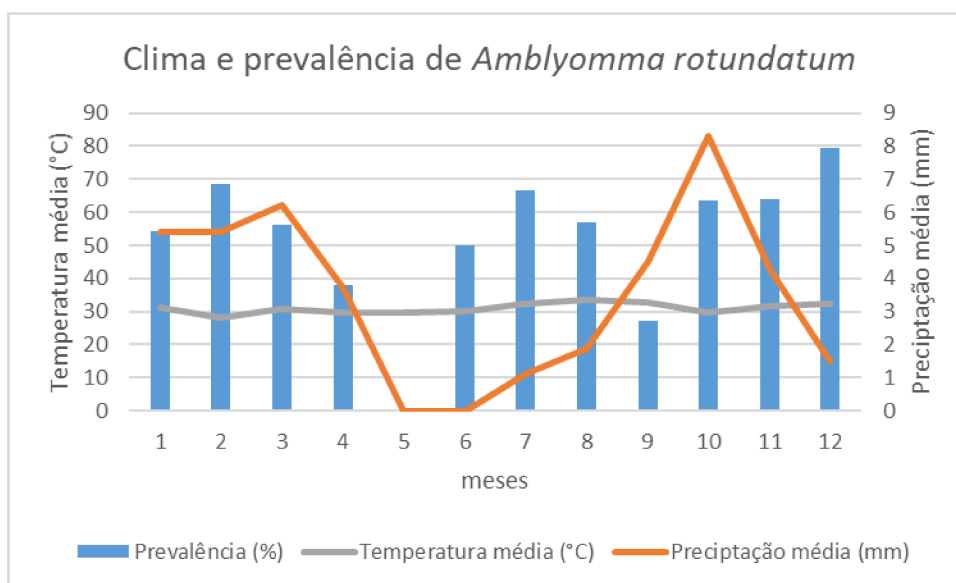


Figura 3 Gráfico da distribuição mensal da temperatura e precipitação média, e prevalência de *A. rotundatum*.

3.1 Sítios de Fixação Preferenciais

Encontramos correlação positiva entre a intensidade média de parasitismo com amplitude de nicho para larvas ($p = 0.001$; $r = 0.776$) e adultos ($p = 0.008$; $r = 0.650$), enquanto para ninfas não houve correlação significativa ($p = 0,267$). Considerando a intensidade parasitária de *A. rotundatum*, houve correlação positiva com a sobreposição de nicho ($p = 0.007$; $r = 0.65$).

Nas Figura 4, 5 e 6 apresentamos a proporção de ocupação de cada sítio de fixação por cada estágio de vida de *A. rotundatum*. Mostramos também como é visto a ocupação dos sítios em cenários determinados. Nestes cenários buscamos demonstrar a proporção de ocupação quando consideramos um estágio ocorrendo na ausência e na presença dos demais estágios. Trazemos também a distribuição mensal da agregação (discrepância) e intensidade média, bem como valores de amplitude e sobreposição de sítios de fixação.

Quando apenas larvas estavam presentes, a amplitude de sítios de fixação foi de 0.50, ou seja, sua ocupação foi de cerca de metade dos sítios disponíveis, com maior ocorrência no dorso, linha lateral e saco vocal. Na presença de ninfas, as larvas aumentaram o número de sítios ocupados, porém larvas e ninfas apresentaram 0.9 de sobreposição de sítios. Basicamente, larvas e ninfas apresentaram preferências semelhantes em relação aos sítios. Quando adultos coocorreram com larvas, a amplitude dos imaturos caiu para 0.35, com sobreposição de 0.15, de tal maneira que os sítios foram ocupados uniformemente. Já na presença de todos os estágios, larvas apresentaram amplitude de 0.60, sendo a região ventral a mais parasitada. Neste último cenário, conforme demonstrado na Figura 4.1 (D), larvas diminuem sua ocupação na região da linha lateral.

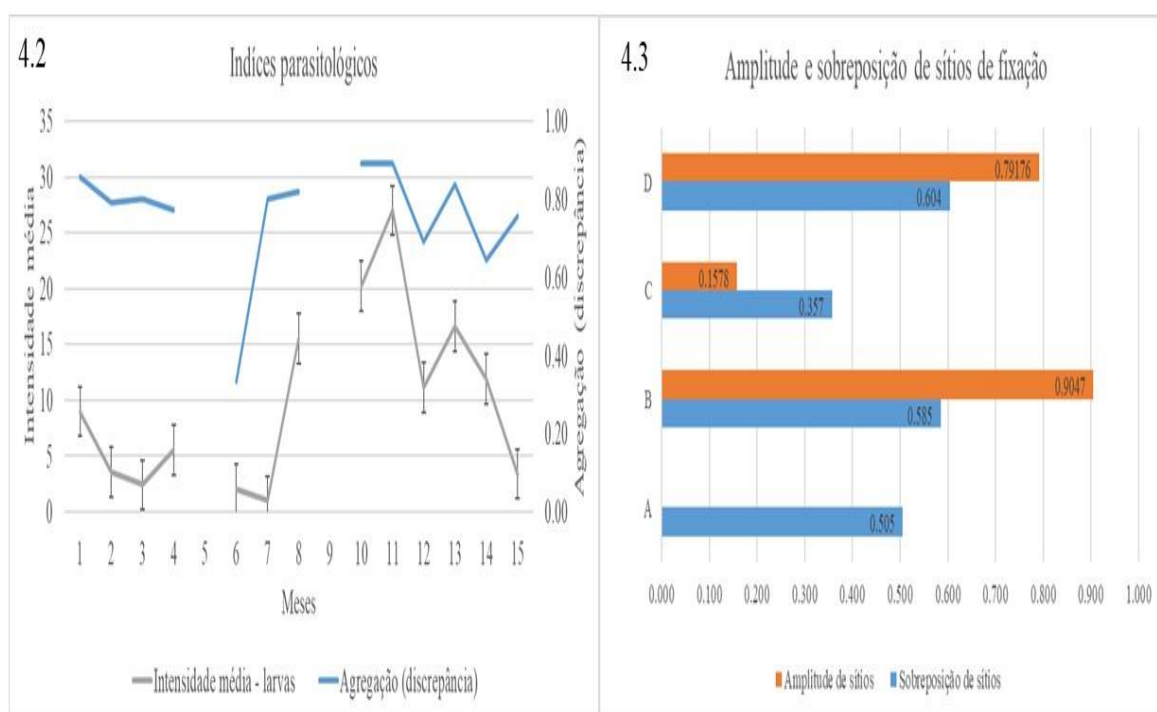
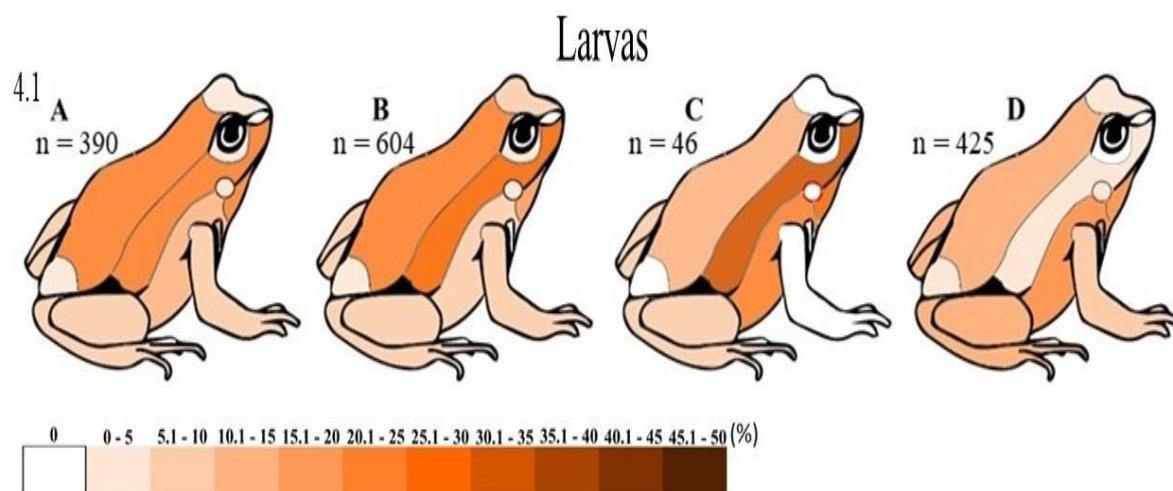


Figura 4 - 4.1 - Ocupação de larvas de *A. rotundatum* sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: ocorrência apenas de larvas (A), de larvas na presença de ninfas (B), fêmeas (C) e todos os estágios (D). 4.2 – Índices parasitológicos. 4.3 Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação

Quando somente ninfas estavam presentes, todos os sítios disponíveis foram ocupados, à exceção da região ocular, com preferência pela região da linha lateral e dorso. Com relação à resposta de ninfas na presença de larvas, as ninfas deixaram de ocupar a cabeça e região ocular, e houve diminuição na porcentagem relativa de ocupação da linha lateral. Ainda nestas circunstâncias, a amplitude de sítios de ninfas foi de 0.44, enquanto na presença de adultos

sofreu uma queda de amplitude para 0.28, sem ocupação na cabeça, olho, saco vocal e região cloacal. Quando todos os estágios estavam presentes a amplitude de ninfas foi de 0.33, com ausência deste estágio na cabeça, região periorcular, membros posteriores e na região do ângulo da mandíbula.

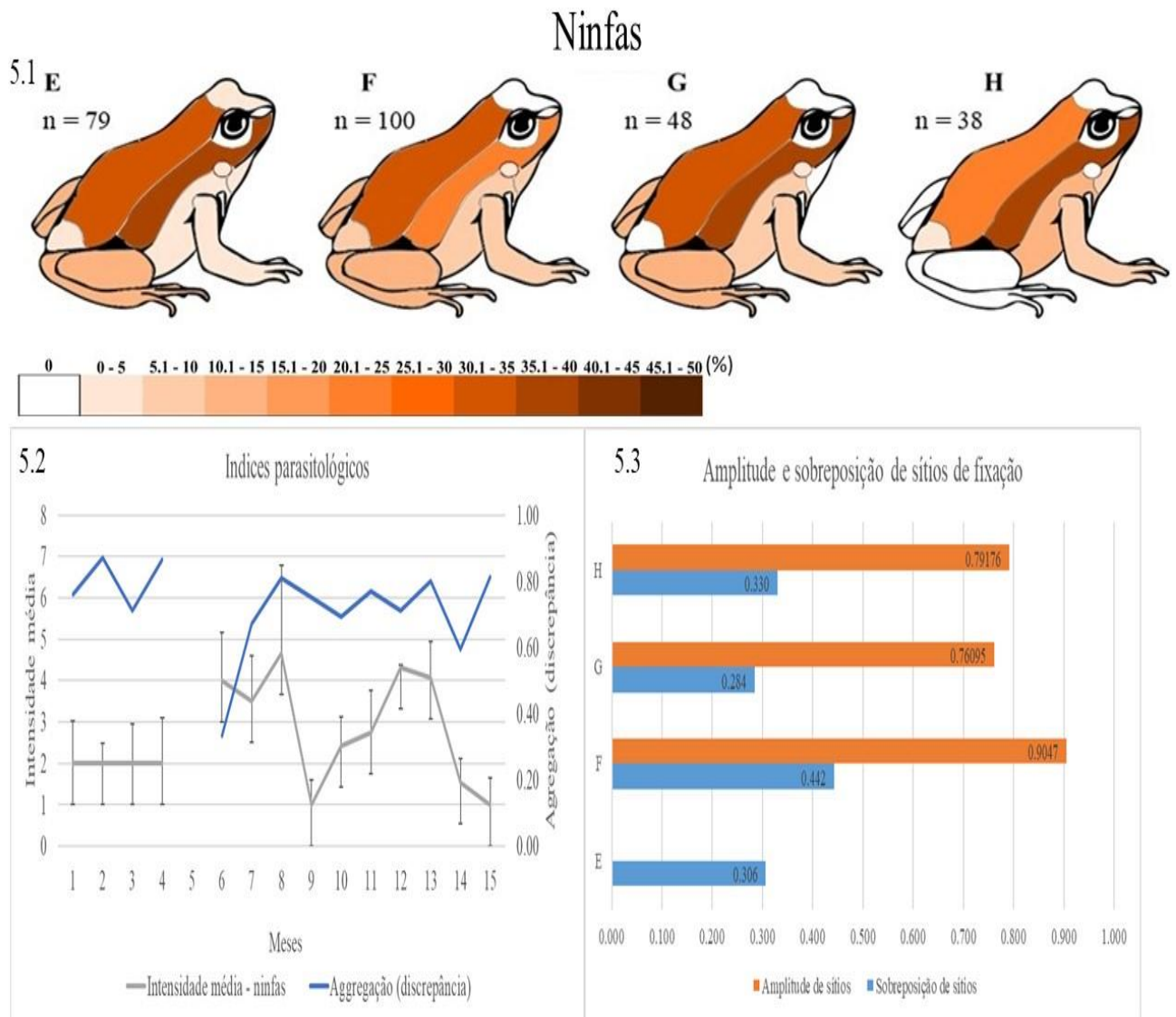


Figura 5 Ocupação de larvas de *A. rotundatum* sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: Apenas ninfas (E), ninfas em coocorrência de larvas (F), coocorrência com adultos (G), ocorrência com os demais estágios (H). 5.2 – Índices parasitológicos. 5.3 Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação

Fêmeas

6.1

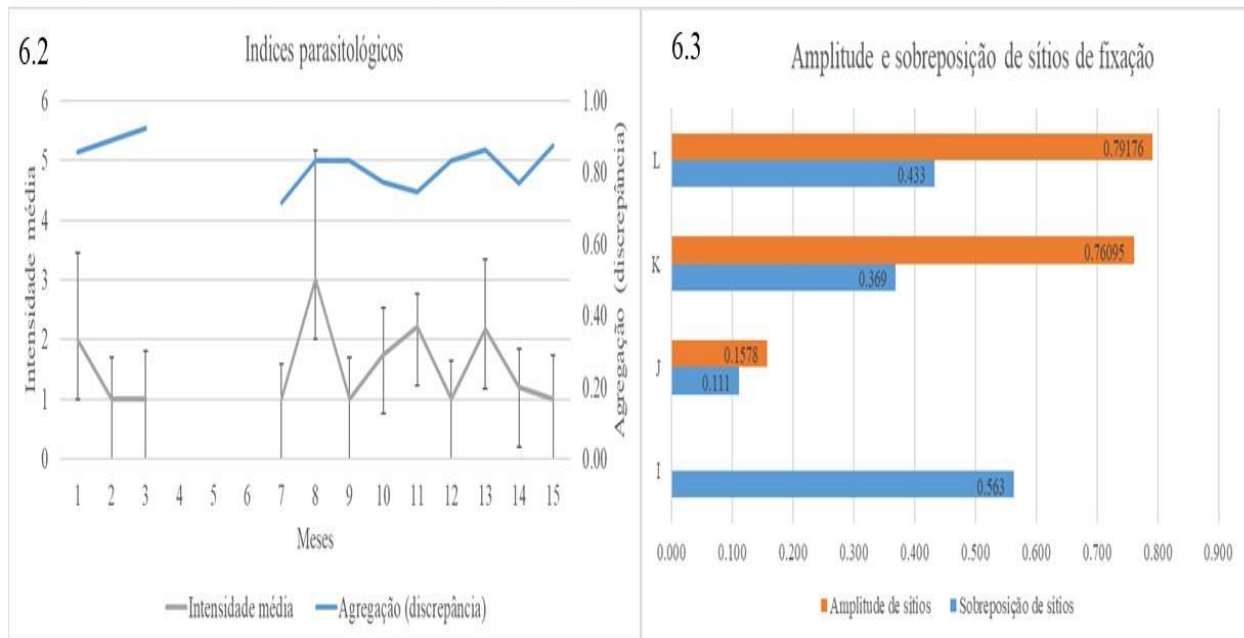
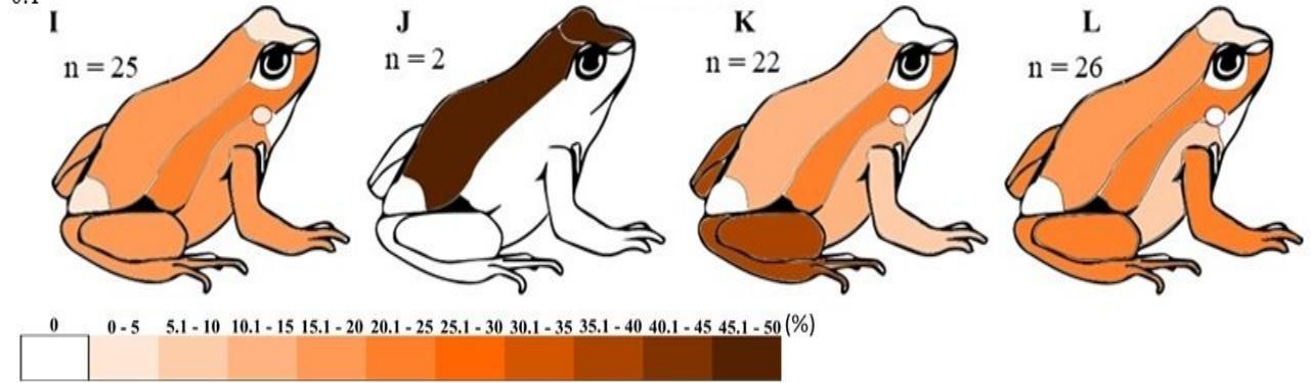


Figura 6 - Ocupação de fêmeas sobre hospedeiro de acordo com a porcentagem relativa ao total de carrapatos indicada pela escala de cores: Apenas fêmeas (I), fêmeas em coocorrência de larvas (J), coocorrência com ninfas (K), ocorrência com os demais estágios (L). 6.2 - Índices parasitológicos. 6.3 - Amplitude e sobreposição dos sítios de fixação

Quando sozinhas, a amplitude de fêmeas foi de 0.563, encontrados em maior proporção na linha lateral, exceto quando em coocorrência com larvas, onde a amplitude foi de 0.11. Na presença de ninfas, a amplitude foi de 0.36 e sobreposição de 0.76, é visto neste caso uma maior presença nos membros posteriores, enquanto na presença de todos os estágios foi de 0.43. A sobreposição de sítios para adultos, na presença de todos os estágios de vida, foi de 0.79.

Discussão

Neste trabalho visamos entender alguns aspectos do parasitismo de *A. rotundatum* em *R. schneideri*, considerando a superfície corporal do hospedeiro como um recurso heterogêneo a ser disputado por diferentes estágios. Várias espécies de *Amblyomma* neotropicais possuem sazonalidade definida (Labruna et al. 2009), com pouca sobreposição de gerações, o que impossibilita investigar a competição intraespecífica entre estágios. Sendo assim, *A. rotundatum* é um bom modelo para se estudar populações parasitárias com diferentes gerações e estágios no mesmo hospedeiro, cujos exemplos são poucos em parasitologia.

Ao considerarmos a relação deste carrapato com anuros, este é o maior registro de prevalência e intensidade parasitária, se comparado a Woehl (2002), que trabalhou ao sul da Floresta Atlântica brasileira, Ahid, et al., (2009), Horta, et al., (2015) e Oliveira, et al. (2018), que estudaram esta relação no bioma Caatinga, e Luz, et al., (2015), que assim como nós, realizaram seu trabalho em uma área de Cerrado, valores apresentados na Tabela 2. As condições climáticas a que um carrapato é submetido são pressões seletivas que atuam sobre sua ocorrência (Beati, et al., 2013; Beati e Klopen, 2019). Em nosso trabalho, durante todo o período de coleta houve pouca variação de temperatura e precipitação. A constante presença dos três estágios de *A. rotundatum* pode ser devido a seu possível hábito nidícola, hipótese está aventada por Luz et al. (2015). Normalmente, em *Amblyomma* espera-se que exista maior ocorrência de indivíduos imaturos durante os meses frios e adultos durante os meses quentes (Nava, et al., 2008; Labruna, et al., 2009). Entretanto, em nosso estudo houve pouca variação de precipitação e temperatura o que pode explicar a ausência de sazonalidade.

Tabela 2: Índices parasitológicos de *A. rotundatum* em outros trabalhos

Autores	Ano	Prevalência (%)	Intensidade média (\pmdp)	Hospedeiro
Luz, et al.	2015	52.5	6.2 \pm 5.5	<i>R. schneideri</i>
Oliveira, et al.	2018	33,9	3,3 *	<i>R. jimi</i>
Horta, et al.	2015	57.8	*	<i>R. jimi</i>
Ahid, et al.	2009	4.95	2.8*	<i>R. marinus</i>
Woehl, et al.	2002	19.2	7.4*	<i>R. ictericus</i>

*valores ausentes nos trabalhos

Nossos resultados demonstram as áreas preferidas de fixação por *A. rotundatum* em *R. schneideri*. Depois que o carrapato sobe em um hospedeiro, deve encontrar um local adequado para começar a se alimentar em áreas mais vascularizadas, sendo preferível a outras em todos

os estágios da vida. Embora todo o corpo do hospedeiro seja vascularizado, o padrão de vascularização de cada região do tegumento do hospedeiro constitui uma paisagem heterogênea (Lydecker et al., 2019). Assim, como os carrapatos não ocupam todas as regiões do corpo do hospedeiro de forma homogênea, é possível que as regiões mais vascularizadas do tegumento do hospedeiro constituam um micro-habitat específico (Jung, et al., 2001), selecionado para iniciar a alimentação pelo carrapato. Carrapatos que se fixam num local que apresente boas condições para sua alimentação liberam feromônios que atraem outros indivíduos (Sonshine, 2006). Isso pode ocorrer com carrapatos que estejam em qualquer ponto de fixação (Wang, et al. 2001). Desta forma, é possível que isso explique a correlação entre a intensidade parasitária e sobreposição de nicho de *A. rotundatum*. Além disso, mesmo com a sobreposição, não necessariamente existe competição até que o local de fixação esteja saturado (Pianka, 2011). Porém, a amplitude de sítios de larvas, assim como a amplitude de adultos, correlaciona positivamente com a intensidade parasitária dos dois estágios. Nesses casos, os carrapatos se encontram mais dispersos no hospedeiro em altas infestações, o que sugere que a partir de um certo grau de infestação o local de fixação torna-se saturado e a ocupação de um sítio não preferencial torna-se mais adequada para a sobrevivência destes parasitos.

Dadas as condições apresentadas em nosso estudo, observamos que, mesmo em regiões preferenciais, como a linha lateral para larvas e ninfas, em alguns casos larvas são encontradas fora de seu sítio preferencial, sendo este sítio mais ocupado por ninfas. Alguns carrapatos podem fixar em um ponto e logo em seguida fixar em um segundo ponto (Oda e Schumaker, 1983), possivelmente devido aos recursos oferecidos por este sítio de fixação (Aragão, 1912). Neste caso é possível que exista deslocamento de sítios por larvas. O deslocamento de sítio em parasitos já foi observado em outros modelos parasito/hospedeiros, como por exemplo espécies de piolhos mastigadores parasitos de aves columbiformes (Bush, et al. 2008). Foi observado que piolhos que ocorrem preferencialmente no dorso de pombos (Aves, Columbiformes) são capazes de impedir que aqueles que ocorrem em asas sejam capazes de se estabelecerem nestas áreas. Assim, esses últimos parasitos apresentam maior flexibilidade comportamental de exploração de novos sítios (Bush, 2009). Fenômeno semelhante pôde ser observado por nós em *A. rotundatum* sobre *R. schneideri*, de tal maneira que possivelmente o estágio de larva seja aquele com maior flexibilidade para escolha do local de fixação.

O deslocamento de alguns carrapatos pode ser um *trade-off* entre os locais de fixação com diferentes qualidades. Em algum momento, um sítio que antes oferecia os melhores recursos passa a não ser tão atrativo, pois o mesmo já possui alta carga de parasitos. Então um

sítio que não era tão atrativo torna-se uma boa opção, seguindo os preceitos de uma distribuição livre ideal, assim como visto em animais de vida livre (Pulliam e Danielson, 1991)

Conclusão

Amblyomma rotundatum possui preferência por locais específicos para fixação em *Rhinella schneideri*. Aparentemente, cada estágio influencia o local de fixação dos demais, sendo que, possivelmente, o estágio larval seja o mais flexível quanto a escolha do local de fixação. Sendo assim, estes carrapatos exploram cada local de fixação oferecidos pelo hospedeiro de forma heterogênea. A ausência um padrão sazonal é aqui demonstrada por picos irregulares de prevalência de *A. rotundatum* durante o período amostrado, com novas gerações se desenvolvendo continuamente.

Referências bibliográficas

- Agostinelli C., Lund U., (2017). R package 'circular': Circular Statistics (version 0.4-93). Publishing <https://r-forge.r-project.org/projects/circular/> . Accessed 10 january 2020.
- Ahid S. M. M., Fonseca Z. A. A. S., Ferreira C. G. T., Martins T. F., Oliveira M. F. (2009). Parasitismo de *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari: Ixodidae) em *Bufo marinus* (Linnaeus) (Anura: Bufonidae), em Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. Rev. Bras. Zootecias 11: 153-156.
- Andoh M, Sakata A, Takano A, Kawabata H, Fujita H, Une Y, et al. (2015) Detection of *Rickettsia* and *Ehrlichia* spp. in Ticks Associated with Exotic Reptiles and Amphibians Imported into Japan. PLoS ONE 10(7): e0133700. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133700>
- Andrews, R.H., Petney, T.N. & Bull, C.M. Niche changes between parasite populations: An example from ticks on reptiles. Oecologia 55, 77–80 (1982). <https://doi.org/10.1007/BF00386721>
- Aragão H. B., (1912) Contribuição para a sistemática e biologia dos ixodidas. Partenogênese em carrapatos. *Amblyomma agamum* n. sp. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v. 4, p. 96-119.
- Arnold, E. R., (2007). Life on a Hostile Landscape: Success, Distributions, and Consequence of Ectoparasites on Their Hosts. University of Illinois, Chicago, Chicago.
- Barros-Battesti, D. M.; Arzua, M.; Bechara, G. H (2006). Carrapatos de importância Médico-Veterinário da região neotropical. São Paulo: Vox/ICTTD-3/Butantan, 2006. 223p.
- Barros-Battesti, D.M., Landulfo, G.A., Luz, H.R. et al. (2015) *Ornithodoros faccinii* n. sp. (Acari: Ixodida: Argasidae) parasitizing the frog *Thoropa miliaris* (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) in Brazil. Parasites Vectors 8, 268 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0877-3>
- Beati L., Klompen H., (2019). Phylogeography of Ticks (Acari: Ixodida). Annu. Rev. Entomol. 2019. 64:21.1–21.19
- Beati L., Nava S., Burkman E. J., Barros-Battesti D. M., Labruna M. B., Guglielmone A. A., et al. (2013). *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne

- tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evo. Biol.* 2013;13(1):267. Available from: <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-267>
- Bush A. O., Holmes J. C., (1986). Intestinal helminths of lesser scaup ducks: an interactive community. *Can. J. Zool.* 1;64(1):142–52. Available from: <https://doi.org/10.1139/z86-023>
- Bush A. O., Lafferty K. D., Lotz J. M., Shostak A. W., (1997) Parasitology on its own terms : meets ecology; *J. Parasitol.* 83(4):575–83.
- Bush S. (2009). Does behavioural flexibility facilitate host switching by parasites? *Funct. Ecol* 10.1111/j.1365-2435.2008.01535.x
- Bush S. E., Malenke J. R. (2008), Host defence mediates interspecific competition in ectoparasites. *J. Anim. Ecol.*, 77: 558-564. doi:10.1111/j.1365-2656.2007.01353.x
- Chilton N. B, Bull C. M., Andrews R. H, (1992). International Association for Ecology Niche Segregation in Reptile Ticks : Attachment Sites and Reproductive Success of Females. *Oecologia*, 255-259
- Clifford C. M., Anastos G., (1961). The larval ixodid ticks of the Eastern United States (Acarina-Ixodidae). College Park, Md.: Entomological Society of America
- Dudek K., Skórka P., Anna Z., Ekner-grzyb A., Dudek M., Tryjanowski P., (2016). Distribution pattern and number of ticks on lizards. *Ticks Tick-Borne Dis.*, 7(1):172–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.10.014>
- Eekhout X. (2010) Sampling Amphibians and Reptiles. In: Eymann, J., Degreef, C. H., Häuser, J. C., Monje, Y., Samyn, D., Vanden S. (Eds) *Manual on Field Recording Techniques and Protocols for All Taxa Biodiversity Inventories and Monitoring*, 1^a edn. : ABC Taxa, United Kingdom, pp 530–557.
- Faccini, J. L. H., Barros-Battesti, D. M. (2006). Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*, In: Barros-Battesti D. M., Arzua, M, Bechara G. H. (Eds.) *Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies*. *Vox/ICTTD-3/Butantan*, São Paulo, pp. 53-113.

- Fretwell S. D., Lucas H. L. (1970). On territorial behavior and other factors influencing habitat distribution in birds. I. Theoretical development. *Acta Biotheor.* 19:16-36.
- Frost, D. R.; Grant, T.; Faivovich, J.; Bain, R. H.; Haas, A.; Haddad, C. F. B.; De Sa, R. O., Channing, A.; Wilkinson, M., Donnellan, S. C.; Raxworthy, C. J.; Campbell, J. A.; Blotto, B. L.; Moler, P.; Drewes, R. C.; Nussbaum, R. A.; Lynch, J. D.; Green, D. M.; Wheeler, W.C. (2006) The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297, pp. 8-370.
- Gotelli N. J., Hart E. M., Ellison A. M. (2015). EcoSimR: Null Model Analysis for Ecological Data. Zenodo. <http://doi.org/10.5281/zenodo.16636>
- Guglielmone, A. A.; Nava, S. (2010) Hosts of *Amblyomma dissimile* Koch, 1844 and *Amblyomma rotundatum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Zootaxa*. 2541:27-49.
- Guglielmone, A.A., Robbins, R.G., Apanaskevich, D.A., Petney, T.N., Estrada-Peña, A., Horak, I.G., (2014). The Hard Ticks of the World, The Hard Ticks of the World: (Acari: Ixodida: Ixodidae). doi:10.1007/978-94-007-7497-1
- Horta M. C., Saraiva D. G., Oliveira G. M. B., Martins T. F., Labruna M. B., (2015). *Rickettsia bellii* in *Amblyomma rotundatum* ticks parasitizing *Rhinella jimi* from northeastern Brazil. *Micobres Infect.* 17(11–12):856–8.
- Humphreys, R.K., Ruxton, G.D. Consequences of grouped data for testing for departure from circular uniformity. *Behav Ecol Sociobiol* **71**, 167 (2017). <https://doi.org/10.1007/s00265-017-2393-2>
- Jung R. E., Claeson S., Wallace J. E., Welbourn Jr. W. C (2001). *Eleutherodactylus guttillatus* (Spotted Chirping Frog), *Bufo punctatus* (Red-spotted Toad), *Hyla arenicolor* (Canyon Tree Frog), and *Rana berlandieri* (Rio Grande Leopard Frog). Mite Infestation. *Herpetol. Rev.* 32:33–4.
- Keirans, J. E.; Oliver Jr. J. H. (1993) First description of the male and redescription of the immature stages of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae), a recently discovered tick in the U.S.A. *Journal of Parasitology*, v. 79, p. 860-865, 1993.

- Kiffner C., Alings M., Vor T., Ru F., (2010). Attachment site selection of ticks on roe deer, *Capreolus capreolus*. *Exp Appl Acarol* (2011) 53:79–94 DOI 10.1007/s10493-010-9378-4
- Krebs C. J., (1989). *Ecological Methodology*. Addison-Wesley Educational Publishers, Inc. New York.
- Labruna A. M. B., Terassini F. A., Camargo L. M. A., Labruna M. B., Terassini F. A., Camargo L. M. A., et al, (2009). Notes on Population Dynamics of *Amblyomma* Ticks (Acari : Ixodidae) in Brazil . *J. Parasitol.* 95(4):1016–8.
- Labruna, M. B.; Pacheco, R. C.; Nava, S.; Brandao, P. E.; Richtzenhain, L. J.; Guglielmone, A. A (2007). Infection by *Rickettsia bellii* and Candidatus "*Rickettsia amblyommii*" in *Amblyomma neumanni* ticks from Argentina. *Microbial Ecology*, v. 54, n. 1, p. 126-33
- Labruna, M. B.; Terrassini, F.A.; Camargo, L. M (2005). First Report of the Male of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) from a Field-Collected Host. *Journal Medical Entomology*, v. 42, p. 945–947
- Lampo M., Bayliss P. (1996) The impact of ticks on *Bufo marinus* from native habitats. *Parasitology* 113: 199-206.
- Lemon J., Bolker B., Oom S., Klein E., et al., (2015) Plotrix: A package in the red light district of R. *R-News* 2006, 6, 8–1
- Luz H. R., Faccini J. L. H., da Silva H. R. (2015). Patterns of parasitism by *Amblyomma rotundatum* (Ixodidae) on *Rhinella Schneideri* (Bufonidae) in Islands of São Francisco River, Minas Gerais, Brazil. *Pesquisa Vet. Brasil.* 2015;35(6):579–82.
- Luz, H.R., Faccini, J.L.H., Pires, M.S. et al. (2013). Life cycle and behavior of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions and remarks on parasitism of toads in Brazil. *Exp Appl Acarol* 60, 55–62 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9628-8>
- Lydecker H. W., Etheridge B., Price C., Banks P. B., Hochuli D. F. (2019). Landscapes within landscapes : A parasite utilizes different ecological niches on the host

landscapes of two host species. *Acta Trop.*;193(December 2018):60–5. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.02.022>

Martins T. F., Onofrio V. C., Barros-Battesti D. M., Labruna M. B. (2010). Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) of Brazil: Descriptions, redescrptions, and identification key. *Ticks Tick-Borne Dis.*;1(2):75–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2010.03.002>

Mediannikov, O.; Paddock, C. D.; Parola, P.. Other Rickettsiae of Possible or Undetermined Pathogenicity. In: RAOULT, D.; PAROLA, P. (Ed.). *Rickettsial Diseases*. Nova York: Informa Healthcare, 2003. Cap. 16. p. 223-236. 2003.

Muñoz-Leal S., Toledo L. F., Venzal J. M., Marcili A., Martins T. F., Acosta I. C. L., et al. (2017). Description of a new soft tick species (Acari: Argasidae: *Ornithodoros*) associated with stream-breeding frogs (Anura: *Cycloramphidae*: *Cycloramphus*) in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis* 2017b; 8(5): 682-692. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2017.04.015>. PMID:28506539

Oba M. S. P, Shumaker TTS (1983). Estudo da biologia de *Amblyomma rotundatum* (Koch, 1844), em infestações experimentais de *Bufo marinus* (L., 1758) sob condições variadas de umidade relativa e temperatura do ar. *Mem Inst Butantan* 47(48):195–204

Oliveira G. M. B., Araújo A., Santos J. R., da Silva I. W. G., Labruna M. B., Horta M. C., (2018). Lack of seasonality of *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) on *Rhinella jimi* (Anura: Bufonidae) in a semi-arid region of northeastern Brazil. *Ticks Tick-Borne Dis.* 9(5):1350–3. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.06.005>

Oliver J.H., Hayes M.P., Keirans J.E., Lavender D.R. (1993) Establishment of the foreign parthenogenetic tick *Amblyomma rotundatum* (Acari: Ixodidae) in Florida. *J Parasitol.* 1993;79:786-90

Onofrio V. C., Labruna M. B., Pinter A., Giacomini F. G., Barros-Battesti, D. M. (2006). Comentários e chaves para as espécies do gênero *Amblyomma*, In: Barros-Battesti D. M., Arzua, M, Bechara G. H. (Eds.) *Carrapatos de importância médico-veterinária da Região Neotropical: um guia ilustrado para a identificação de espécies*. Vox/ICTTD-3/Butantan, São Paulo, pp. 53-113.

Petit, G.; Landau, I.; Baccam, D.; Lainson, R. Description et cycle biologique d'*Hemolivia stellata*, n.g., n.sp., hemogregarine de *Crapauds brésiliens*. Annales de parasitologie humaine et comparée, v.65 n. 3, p.15, 1990.

Pianka E. R. (1974). Niche Overlap and Diffuse Competition. Proc. Nat. Acad. Sci 71, 2141–2145.

Pianka E. R. (2011). The Ecological Niche. In: Pianka ER, Evolutionary Ecology. Benjamin Cummings. San Francisco, pp 251-293.

Poulin R. (1996). Measuring parasite aggregation: Defending the index of discrepancy. Int. J. Parasitol. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(95\)00117-4](https://doi.org/10.1016/0020-7519(95)00117-4)

Pulliam H. R, Danielson B. J., (1991). Sources , Sinks , and Habitat Selection : A Landscape Perspective on Population Dynamics. Am. Nat. 137, S50-S66. ·

R, Development TR, Team C. R(2008) A Language and Environment for Statistical Computing. Vol. 2.

Randolph, S (2011). Ecology of non-nidicolous ticks. In: Sonenshine, D.E.; Roe, M. Biology of ticks. Oxford: Oxford University, 2014. V.2. Chap.1, p.3-38.

Reiczigel J., Marozzi M., Fabian I., Rozsa L. (2013) Biostatistics for parasitologists - a primer to Quantitative Parasitology, Trends Parasitol., 35(4): 277-281.

Silvano, D.; Segalla, M. (2005). Conservação de anfíbios no Brasil. Megadiversidade, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p.79-86.

Sonenshine D, Roe RM (2013), Biology of Ticks. Oxford University Press, New York

Sonenshine D. E. (2006). Tick Pheromones and Their Use in Tick Control. Biological Sciences Faculty Publications.

Stuart, S., Hoffmann, M., Chanson, J., Cox, N., Berridge, R., Ramani, P., Young, B. (eds). (2008). Anfíbios Ameaçados do Mundo. Lynx Edicions, IUCN e Conservation International, Barcelona, Espanha; Glândula, Suíça; e Arlington, Virgínia, EUA.

Toledo, L. F. (2009). Anfíbios como Bioindicadores. In: Neumann-Leitão, S. & El-Dier, S. (Orgs.) Bioindicadores da Qualidade Ambiental. Recife: Instituto Brasileiro Pró-Cidadania. Pp. 196-208.

Universidade Federal de Goiás/Escola De Agronomia (UFG/EA). Dados meteorológicos: Estação convencional da Escola de Agronomia. Available from:

<https://www.agro.ufg.br/p/7944-estacao-agrometeorologica>. Accessed 10 January 2020

Wang, H., Hails, R., Cui, W., & Nuttall, P. (2001). Feeding aggregation of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* (Ixodidae): Benefits and costs in the contest with host responses. *Parasitol.*, 123(5), 447-453. doi:10.1017/S0031182001008654 6.

Woehl G., (2002). Infestação de *Amblyomma rotundatum* (Koch) (Acari, Ixodidae) em sapos *Bufo ictericus* (Spix) (Amphibia, Bufonidae): novo registro de hospedeiro. *Rev. Bras. Zool.* 19(2):329–33.

Zar J. H (2010). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. New Jersey