



# CARACTERÍSTICAS ECOLÓGICAS DE *Amblyomma dubitatum* NEUMANN, 1899 (ACARI: IXODIDAE) EN ARGENTINA

Debárbora Valeria Natalia

Director: Dr. Mangold Atilio José

Co-Director: Dr. Nava Santiago

Sub-Directora: Dra. Oscherov Elena Beatriz

Universidad Nacional del Nordeste



*"Cuando una persona desea realmente algo, el Universo entero conspira para que pueda realizar su sueño. Basta con aprender a escuchar los dictados del corazón y a descifrar un lenguaje que está más allá de las palabras, el que muestra aquello que los ojos no pueden ver."*

Paulo Coelho, *El Alquimista*.

*A mis padres*

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quiero agradecer al Dr. Santiago Nava por su dedicación y el apoyo que me brindó a largo de esta tesis, por su excelente rol de director sin dejarme un solo momento si una respuesta a mis interminables preguntas, por su predisposición, sobre todo por su infinita paciencia.

Al Dr. Atilio Mangold, por sus consejos, algunos duros, pero muy importantes para el enriquecimiento de mi formación. También por su constante ayuda en las cuestiones logísticas de mi tesis.

A la Dra. Elena Beatriz Oscherov, mi más profundo agradecimiento, porque gracias a ella estoy en esta tan apasionante carrera de la investigación, porque siempre confió en mí (a pesar de ser la oveja negra) vaya Dios a saber porqué, pero bueno tenía razón. Por su cariño, su ayuda, su paciencia, su maravilloso entusiasmo que contagia, por estar siempre.

A la Dra. Alicia Guadalupe Poi, por su indispensable ayuda en mi inicio como becaria y por sus valiosos comentarios y observaciones.

A Sebastian Cirignoli, por su ayuda y buena predisposición en los muestreos que fueron indispensables para la realización de esta tesis, a Yamil y Carina por su colaboración y por los excelentes momentos que me brindaron en la estancia. A Conservation Land Trust por brindarme la ayuda y posibilidad de realizar mi trabajo en la Estancia Rincón del Socorro. A Ayelén y Pablo, por su ayuda y compañerismo en los muestreos y a todo su equipo de colaboradores, en especial a Tato y al Hippie que me ayudaron con los muestreos.

A Mariano Mastropaolo, por su buena predisposición a la hora de enseñarme toda la metodología de laboratorio, por sus importantes aportes y por

sobre todo por su contención, a Evelina Tarragona, por su ayuda en el laboratorio y por su hermosa locura que hacía que mis días sean más llevaderos. A Oscar Warnke por su ayuda en los muestreos. A Pablo, Fernando y Mario por su ayuda en los ensayos de laboratorio.

A mis compañeros de la Cátedra de Biología de los Parásitos (Facena, UNNE), en especial a Francisca Milano por su apoyo y ayuda en mis comienzos, por su compañerismo y sus sabias palabras sobre la vida.

Quiero agradecer al Dr. Agustín Estrada-Peña (Universidad de Zaragoza, España) por su valioso aporte en la realización del modelo de nicho climático, y a Ulises Pardiñas (Centro Nacional Patagónico, CONICET) por la determinación taxonómica de los roedores sigmodontinos.

Agradezco al Concejo Nacional de Investigaciones científicas y Tecnológicas (CONICET) por el otorgamiento de las becas de postgrado tipo I Y II para realizar este doctorado, y a las autoridades de la Estación Experimental Agropecuaria INTA Rafaela por haberme permitido desarrollar el trabajo de laboratorio de mi tesis en dicha institución.

La realización de los estudios de campo y laboratorio fueron posibles gracias al apoyo económico de INTA, de la Asociación Cooperadora INTA Rafaela, a través de Atilio Mangold y Santiago Nava. Mi sincero reconocimiento a estas entidades.

A mis amigas/os y compañeras/os que me soportaron en todo este proceso ayudándome, dándome palabras de aliento o simplemente estando.

Finalmente, pero el más importante de los agradecimientos, son para mis padres, Raúl y Susy, a mis hermanas Vero y Vani, y a la luz de mis ojos Agustina, por ese apoyo y cariño tan especial que me brindan a diario y por la inagotable confianza que me tuvieron siempre.

## INDICE

RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	14
OBJETIVOS.....	20
HIPÓTESIS.....	21
DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	22
 <b>CAPÍTULO I: Preferencias Ecológicas de <i>Amblyomma dubitatum</i>.</b>	
Introducción.....	29
Materiales y Métodos.....	32
Resultados.....	35
Discusión.....	46
 <b>CAPÍTULO II: Ciclo Biológico de <i>Amblyomma dubitatum</i> en Condiciones Naturales.</b>	
Introducción.....	49
Materiales y Métodos.....	55
Resultados.....	65
Discusión.....	78
 <b>CAPÍTULO III: Análisis de la Infestación Natural de <i>Amblyomma dubitatum</i> en Relación a Atributos Individuales de su Hospedador Principal, <i>Hydrochoerus hydrocaeris</i> (Rodentia: Caviidae, Hydrochoerinae).</b>	
Introducción.....	84
Materiales y Métodos.....	86

Resultados.....	91
Discusión.....	97

**CAPÍTULO IV: Hospedadores Alternativos de Larvas y Ninfas de *Amblyomma dubitatum*.**

Introducción.....	102
Materiales y Métodos.....	105
Resultados.....	110
Discusión.....	116

CONCLUSIONES FINALES.....	120
---------------------------	-----

BIBLIOGRAFÍA.....	123
-------------------	-----

## RESUMEN

El objetivo general de esta tesis doctoral fue proporcionar información sobre las características ecológicas que condicionan la presencia y abundancia de la garrapata del carpincho *Amblyomma dubitatum*. Se da a conocer la distribución actual de la misma en Sudamérica, como así también un modelo de nicho climático que proporciona información sobre una potencial distribución en esta área. Se describió distribución estacional de todos los estadios parasíticos y de vida libre, como así también los parámetros de infestación de su hospedador principal *Hydrochoerus hydrochaeris* generando información detallada del ciclo biológico en la naturaleza. Se proporcionaron datos sobre potenciales hospedadores alternativos de esta garrapata, a la vez que se establecieron las condiciones ambientales que favorecen y limitan al parásito y su medio.

Los resultados del estudio sobre la distribución geográfica mostraron que *A. dubitatum* está asociada a una área restringida de Sudamérica, que incluye las provincias Biogeográficas de Pampa, Chaco, Cerrado, Bosque Atlántico Brasileño, Bosque Paranaense y Bosque de *Araucaria angustifolia*. La mayor parte de los registros se encontraron en el noreste de Argentina, sureste de Brasil, este de Paraguay y centro y este de Uruguay. El modelo de nicho climático reveló una potencial distribución de *A. dubitatum* para el centro y noreste de Argentina, Uruguay y sur de Brasil, que coincide con los hallazgos reportados para esta garrapata. También se observó una zona con características óptimas para *A. dubitatum* al noroeste de Sudamérica, en los países de Colombia y Venezuela. A pesar de que en estos países se encuentra su principal hospedador *H. hydrochaeris*, no hay registros de *A. dubitatum* en esa zona. De la integración de los datos se puede inferir que los factores mas importantes que limitan la

distribución de *A. dubitatum* son la vegetación y el clima, no los hospedadores.

Los trabajos de campo para el estudio del ciclo biológico y de potenciales hospedadores alternativos de *A. dubitatum* fueron realizados en la Estancia “Rincón del Socorro” en los Esteros del Iberá, Corrientes.

El ciclo biológico de *A. dubitatum* fue descrito mediante el estudio de la distribución estacional de los tres estadios en su etapa parasítica y de vida libre. Para esto se examinaron tres *H. hydrochaeris* por mes durante dos años consecutivos y simultáneamente se tomaron muestras de las garrapatas presentes en la vegetación en tres ambientes diferentes y a tres horarios distintos del día. Asimismo, se registraron los periodos de desarrollo en distintas condiciones de fotoperíodo y temperatura de especímenes ingurgitados de los tres estadios expuestos en condiciones de campo y laboratorio. La infestación de *H. hydrochaeris* con larvas de *A. dubitatum* se observó a lo largo de todo el año, con picos de abundancia en otoño e invierno, la mayor infestación se registró en mayo. Las ninfas fueron registradas de forma continua en los dos años de muestreo. Los mayores picos de abundancia fueron observados en invierno, y los meses de mayor infestación fueron julio y agosto. El parasitismo de las hembras halladas sobre *H. hydrochaeris* fue encontrado, al igual que los inmaduros, durante todo el año. Los mayores picos de abundancia se registraron en primavera y verano, y los meses de mayor abundancia fueron noviembre, enero y febrero. Durante los muestreos de *A. dubitatum* en su estado no parasítico, se colectaron larvas a lo largo de todo el año sobre la vegetación, con picos de abundancia en los meses de febrero y marzo. Con respecto a los distintos ambientes donde se realizaron los muestreos, el monte fue el sitio donde se colectaron el mayor número de larvas, y no se hallaron diferencias en los distintos horarios del muestreo. Con la técnica empleada (arrastrar un paño o

dragging), se colectaron un escaso número de ninfas ( $n=28$ ) y no se colectaron adultos. Por otro lado, los distintos estadios ingurgitados (larvas y ninfas) expuestos en condiciones naturales, en las cuatro estaciones del año, mudaron a ninfas y adultos, respectivamente. Los mayores periodos de premuda se observaron en exposiciones realizadas en la estación fría, donde las larvas retrasaron su muda hasta comienzo de la primavera y las ninfas hasta finales de la misma estación. Las hembras ingurgitadas expuestas en todas las estaciones colocaron huevos que eclosionaron. Al igual que los estadios inmaduros, los mayores retrasos en el periodo de preoviposición y de incubación se observaron en exposiciones realizadas en la estación fría, que resultaron en larvas activas en verano. No se registraron diferencias significativas para los periodos de preoviposición ni en los periodos de incubación entre los grupos de hembras expuestas a los distintos regímenes de fotoperíodo en condiciones de laboratorio. Las diferencias entre los grupos de ninfas fueron estadísticamente significativas, pero carecen de significancia biológica, ya que los extremos en el rango de la media del periodo de premuda difieren solo por 2,0 días. Asimismo, se detectaron diferencias significativas en los periodos de premuda de larvas entre los grupos expuestos a diferentes regímenes de fotoperíodos, pero al igual que lo ocurrido con las ninfas, la diferencia de 10 días no posee importancia biológica en un ciclo anual. A pesar de los retrasos en el desarrollo de los tres estadios de *A. dubitatum* expuestas en condiciones naturales, que fueron observados en las estaciones climáticas más frías y con menos horas de luz diaria, se descarta una posible presencia de diapausa morfogénica debido a que en los resultados obtenidos en laboratorio bajo condiciones controladas no se observaron estos retrasos.

Sintetizando lo mencionado anteriormente, el ciclo biológico de *A.*

*dubitatum* en la naturaleza, bajo las condiciones de los humedales en la provincia de Corrientes, se definió por la presencia de larvas desde mediados de verano a finales de invierno, con picos de abundancia en otoño y principios de invierno, que originarán ninfas que estarán presentes desde otoño hasta comienzo de la primavera. Estas ninfas mudarán secuencialmente en garrapatas adultas que se encontraran sobre los hospedadores desde mediados de primavera hasta finales del verano. Teniendo en cuenta los periodos de preoviposición obtenidos en este estudio en garrapatas expuestas en laboratorio y en el campo, se deduce que las hembras que se alimentan e ingurgiten en este periodo, pondrán sus huevos en verano y otoño a partir de los cuales emergerán las larvas que comenzarán a estar activas en otoño e invierno.

La asociación de *A. dubitatum* con *H. hydrochaeris* fue caracterizada por altos valores de prevalencia y abundancia y una falta de relación entre atributos del hospedador (sexo, condición corporal y tamaño corporal) y carga de parásitos. El análisis de la distribución anatómica mostró que ninfas de *A. dubitatum* fueron más segregadas espacialmente sobre el cuerpo del hospedador que larvas y adultos. El mayor grado de solapamiento de nicho (0,70) fue encontrado entre adultos y ninfas, indicando que estos estadios pueden tener un uso similar del microhábitat sobre un hospedador. De acuerdo con los resultados de este trabajo, larvas de *A. dubitatum* prefieren fijarse sobre las áreas III (lomo) y V (cuarto trasero), ninfas sobre el área IV (abdomen) y adultos sobre las áreas I (cabeza), II (cuello y miembro anterior) y IV, aunque es importante tener en cuenta que los tres estadios fueron hallados en las cinco áreas. La amplitud de nicho de larvas y ninfas de *A. dubitatum* fue más estrecha que la de adultos. Las diferencias en el grado de agregación de *A. dubitatum* están probablemente relacionadas a la distribución espacial de las garrapatas en el ambiente y no a las

diferencias entre individuos dentro de una población de hospedadores. Un gran número de especímenes de *H. hydrochaeris* están presentes en el área donde se realizó esta investigación. Por lo tanto, los factores asociados al hospedador que determinan los altos niveles de infestación con *A. dubitatum* en poblaciones de *H. hydrochaeris* podrían asignarse a una combinación de propiedades del hospedador a nivel poblacional como abundancia, ubicuidad y agregación, más que a atributos específicos individuales relacionados a la condición corporal, masa corporal o sexo.

También se realizaron muestreos para determinar si aves y roedores (Cricetidae y Caviidae) tienen un rol fundamental como hospedadores alternativos de *A. dubitatum*. Para la captura de estos roedores se utilizaron trampas de captura viva tipo Sherman y Tomahawk y para las aves se utilizaron redes de niebla. Se capturaron 65 roedores pertenecientes a cuatro especies (tres de la familia Cricetidae y una de la familia Caviidae) y 84 aves passeriformes pertenecientes a 32 especies distribuidas en 10 familias. Con la metodología de trampeo empleada también fueron capturados seis pequeños marsupiales pertenecientes a dos géneros de la familia Didelphidae. Los datos obtenidos indicaron altos niveles de infestación con larvas de *A. dubitatum* en roedores cricétidos y *Cavia aperea*, aunque los valores de prevalencia y abundancia media (AM) fueron significativamente mayores en roedores cricétidos que en *C. aperea*. Asimismo, los niveles de agregación fueron menores en los roedores cricétidos, demostrando una mayor exposición de los mismos a las larvas de *A. dubitatum*. La baja prevalencia y la alta agregación de larvas parasitando aves passeriformes indicaron que estas sólo son hospedadores ocasionales para las larvas de esta garrapata. Ninfas de *A. dubitatum* fueron colectadas sobre *Akodon azarae* y *C. aperea*, siendo los valores de prevalencia y abundancia media en *C.*

*aperea* significativamente más altos que en *A. azarae*. Los resultados obtenidos tras los muestreos de campo sugieren que los roedores cricétidos y *C. aperea* son hospedadores relevantes para los preimagos de *A. dubitatum*, sin embargo, para completar su desarrollo una garrapata además de encontrar y fijarse a un hospedador, debe alimentarse adecuadamente sobre éste para completar su ingurgitamiento y mudar al estadio siguiente.

Para evaluar la capacidad biológica de larvas y ninfas de *A. dubitatum* para alimentarse adecuadamente en roedores y aves, se realizaron infestaciones experimentales con inmaduros de *A. dubitatum* sobre tres especies de hospedadores representativos de los taxones muestreados en el campo: *Mus musculus*, *Cavia porcellus* y *Gallus gallus*. La información obtenida por las infestaciones experimentales sustentan los datos de los muestreos de campo y confirman la hipótesis sobre la aptitud de roedores cricétidos y *C. aperea* como hospedadores de los estadios inmaduros de *A. dubitatum*. Durante las infestaciones experimentales los tres grupos de hospedadores utilizados en este estudio resultaron ser competentes para alimentar estadios inmaduros de *A. dubitatum*, recuperándose larvas y ninfas ingurgitadas en todas las infestaciones realizadas, las que mudaron al siguiente estadio.

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Las garrapatas son ectoparásitos temporarios y hematófagos obligados de vertebrados terrestres, tanto silvestres como domésticos. Adquieren importancia sanitaria por su capacidad como vectores para transmitir una amplia gama de organismos patógenos como protozoos, virus, bacterias y hongos. Se encuentran en segundo lugar (después de los mosquitos) como los artrópodos hematófagos más importantes en salud pública y veterinaria por su capacidad vectorial (Hoogstraal 1985, Sonenshine et al. 2002). Las garrapatas también pueden producir toxicosis por secreción de sustancias nocivas capaces de causar parálisis o condiciones tóxicas letales a sus hospedadores (Jongejan y Uilenberg 2004; Norval y Horak 2004; Parola et al. 2005). También existen especies que pueden causar severas reacciones alérgicas, desde reacciones locales a nivel de la picadura hasta reacciones sistémicas como shock anafiláctico (Sonenshine 1993). Por otro lado, poseen la capacidad de regular las poblaciones de sus hospedadores, ya sea, por reducción de la condición corporal, debido a la disminución de la respuesta inmune, lo que conlleva a un aumento de la vulnerabilidad para contraer infecciones y parasitosis secundarias, afectando procesos fisiológicos como la fecundidad, hasta una disminución importante de la supervivencia de los mismos (Tompkins y Begon 1999; Tompkins et al. 2011).

Las garrapatas pertenecen al Phylum Arthropoda, Clase Arachnida, Subclase Acari, Orden Parasitiformes y Suborden Ixodida. Comprenden un total de 909 especies distribuidas en tres familias: Argasidae (garrapatas blandas que no poseen escudo en el dorso) posee 198 especies y cinco géneros: *Antricola* (17), *Argas* (61), *Nothoaspis* (2), *Ornithodoros* (116) y *Otobius* (2); Ixodidae

(garrapatas duras que tienen el dorso total o parcialmente cubierto con un escudo) con 711 especies y 14 géneros: *Amblyomma* (132), *Anomalohimalaya* (3), *Bothriocroton* (7), *Cosmiomma* (1), *Cornupalpatum* (1), *Compluriscutula* (1), *Dermacentor* (36), *Haemaphysalis* (167), *Hyalomma* (27), *Ixodes* (244), *Margaropus* (3), *Nosomma* (2), *Rhipicentor* (2), *Rhipicephalus* (85) y Nuttalliellidae (familia monotípica, con características compartidas de las dos familias antes mencionadas y otras propias de Nuttalliellidae) con su único representante *Nuttalliella namaqua* Bedford, 1931 (Nava et al. 2009c, Guglielmono et al. 2010, Nava et al. 2013, Venzal et al. 2013, Guglielmono y Nava 2014).

Los integrantes de la familia Argasidae tienen un ciclo de vida que comprende los estados de huevo, larva, dos o más estadios ninfales y adultos. Muchas especies son nidícolas y se caracterizan por ser longevos y tener gran capacidad de ayuno. Poseen alta tolerancia a condiciones climáticas adversas y la capacidad de reducir drásticamente su metabolismo y de esa forma aumentar la supervivencia hasta por 10 años (Hoogstraal 1973). La muda ocurre fuera del hospedador, en grietas, fisuras o debajo de piedras cerca de nidos. Las hembras se alimentan repetidamente y colocan pequeños aoves (< a 500 huevos) después de cada ingestión de sangre (ciclos gonotróficos múltiples), con intervalos de varios meses entre ellos, aunque existen casos donde las hembras son autogénicas (oviponen sin alimentación previa). Las larvas ingurgitadas de algunas especies pueden mudar hasta dos veces sin necesidad de una alimentación adicional (Sonenshine et al. 2002), como así también hay especies donde ninfas de primer estadio mudan al segundo sin alimentarse. Los Argásidos se adaptan fácilmente a hospedadores que retornan irregularmente o por periodos limitados de tiempo a sus refugios o nidos (Hoogstraal 1978). Parasitan

una amplia gama de vertebrados que incluyen aves, reptiles y mamíferos (Oliver 1989).

La familia Ixodidae es la más numerosa del suborden Ixodida, está dividida en dos grupos por sus características morfológicas y biológicas, Prostriata y Metastriata. El primero de los grupos conformado exclusivamente por el género *Ixodes*, se caracteriza por un surco anal que es anterior al ano, ojos ausentes, los machos poseen siete placas esclerosadas ventrales, los adultos pueden copular sobre o fuera del hospedador, machos con capacidad de producir espermátidas sin alimentarse, la mayoría de las especies son nidícolas. El grupo de los Metastriata se caracteriza por un surco anal posterior al ano, ojos presentes a excepción del género *Haemaphysalis*, los machos no poseen siete placas ventrales, la cópula se realiza sobre el hospedador, a excepción de *Amblyomma triguttatum triguttatum* Koch 1844, los machos solo producen espermátidas luego de alimentarse pero, *A. triguttatum*, *Botriocroton hydrosauri* Dany 1843 y *B. concolor* Neumann 1899 pueden producir espermátidas en ayunas (Guglielmone y Moorhouse 1983; Oliver y Stone 1983; Oliver 1989).

El ciclo de vida de los Ixodidae comprende huevo, larva, un único estadio ninfal y adultos. Todos los estadios requieren de varios días para alimentarse, larvas y ninfas (excepto algunas especies de los géneros *Dermacentor*, *Hyalomma* y *Rhipicephalus*) luego de ingurgitarse se desprenden del hospedador para mudar en el ambiente, las hembras solo se alimentan una vez y luego de colocar de cientos a miles de huevos (según la especie) en el ambiente, mueren. Exceptuando varias especies de *Ixodes*, al menos una del género *Amblyomma* y unas pocas que presentan partenogénesis, los adultos copulan exclusivamente sobre el hospedador. La mayor parte de especies de la familia Ixodidae requieren tres hospedadores para completar su ciclo de vida, es decir,

larvas, ninfas y adultos se alimentan sobre diferentes individuos que pueden o no pertenecer a la misma especie, sin embargo existen especies donde la fase parasítica se desarrolla enteramente sobre uno o dos hospedadores (figura 1).

El género *Amblyomma* incluye 132 especies en todo el mundo (Guglielmone et al. 2014). Para la región Neotropical hay descritas 59, donde Sudamérica posee el mayor número con 50 especies de las cuales 27 son exclusivas. De las 47 especies de garrapatas registradas para Argentina, 23 pertenecen al género *Amblyomma* (Guglielmone et al. 2014).

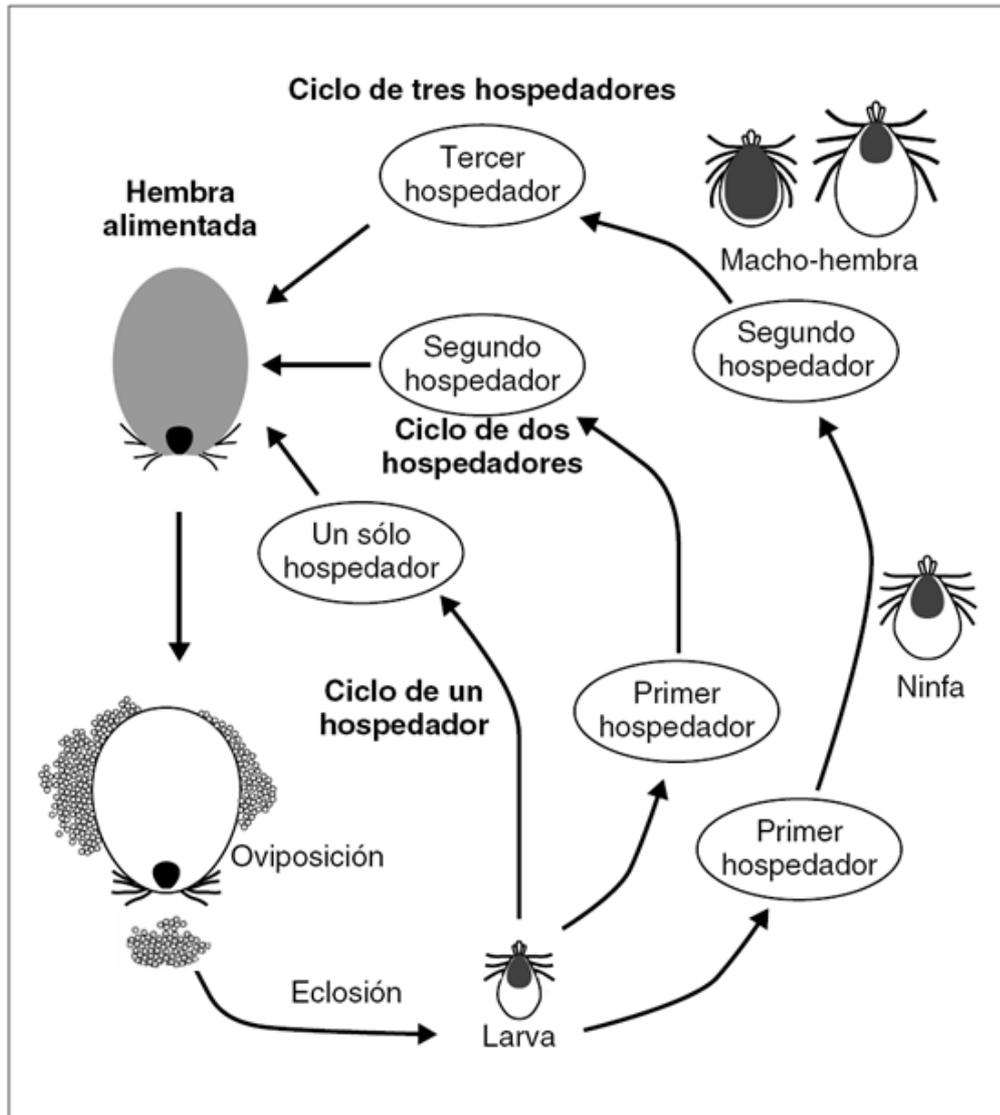
*Amblyomma dubitatum* Neumann 1899, es una garrapata Sudamericana cuya distribución se restringe a localidades de Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, en las provincias biogeográficas de la Pampa, Chaco, Cerrado, Bosque Atlántico Brasileño, Bosque Paranaense, Bosque de *Araucaria angustifolia*, Amapá y Pantanal (Nava et al. 2010). En Argentina los registros hasta el momento corresponden a las provincias de Chaco, Corrientes, Entre Ríos, Formosa, Misiones y Santa Fe (Nava et al. 2010).

El principal hospedador de *A. dubitatum* para todos los estadios parasíticos es el carpincho *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus 1766, aunque también ha sido hallada, en menos ocasiones, sobre otros mamíferos como ganado vacuno, caballos, *Tapirus terrestris*, *Mazama gouazoubira*, *Tayassu pecari*, *Sus scrofa*, *Cerdocyon thous*, *Myocastor copyus*, *Allouata caraya* (Nava et al. 2010). Los estadios inmaduros (larvas y ninfas) también han sido colectados sobre pequeños y medianos mamíferos como *Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Lagostomus maximus*, *Glossophaga soricina* y sobre roedores cricétidos como *Lundomys molitor* y *Scapteromys tumidus* (Nava et al. 2010). Si bien existen registros de *A. dubitatum* sobre humanos para Argentina, Brasil y Uruguay (Guglielmone et al. 2006; Oscherov et al. 2006; Labruna et al. 2007), hasta el

momento el posible rol como vector de enfermedades humanas no está determinado, aunque en Brasil aislaron *Rickettsia belli*, *Rickettsia parkeri* (cepa COOPERI), y *Rickettsia* sp. (cepa Pampulha) de especímenes de *A. dubitatum*. Actualmente no se conoce la patogenicidad para el hombre de estos agentes (Almeida et al. 2011; Labruna et al. 2011).

La realización de un estudio integral de los aspectos ecológicos y biológicos de las garrapatas, como la dinámica estacional, los hospedadores naturales y los factores que afectan a la fase de desarrollo de las etapas de vida libre, son indispensables a fin de comprender el ciclo de vida de estos parásitos en condiciones naturales. Por esto, el objetivo general de esta tesis doctoral es proporcionar información sobre las características ecológicas que condicionan la presencia y abundancia de la garrapata *A. dubitatum*, dar a conocer la distribución actual de la misma en Argentina como así también un modelo de nicho climático que proporcionará información sobre una potencial distribución en Sudamérica, describir la distribución estacional de todos los estadios parasíticos y de vida libre, como así también, los parámetros de infestación en su hospedador principal *H. hydrochaeris* generando información detallada del ciclo biológico en la naturaleza. Proporcionar datos sobre potenciales hospedadores alternativos de esta garrapata, a la vez establecer las condiciones ambientales que favorecen y limitan al parásito y su medio.

Figura 1. Esquema de los tres tipos de ciclos de garrapatas de la familia Ixodidae.



## OBJETIVO GENERAL

Determinar cuáles son las características ecológicas que condicionan la presencia y abundancia de la garrapata *A. dubitatum*.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Conocer la distribución actual de *A. dubitatum* en Argentina como así también un modelo de nicho climático que proporcionará información sobre una potencial distribución en Sudamérica.
- Describir la distribución estacional de todos los estadios parasíticos y de vida libre, como así también los parámetros de infestación en su hospedador principal *H. hydrochaeris*.
- Generar información detallada del ciclo biológico en la naturaleza.
- Proporcionar datos sobre potenciales hospedadores alternativos de esta garrapata.
- Establecer las condiciones ambientales que favorecen y limitan al parásito y su medio.

## HIPÓTESIS

Se plantean las siguientes hipótesis:

- *Amblyomma dubitatum*, al igual que otras especies del género *Amblyomma*, presenta durante su ciclo biológico diapausa morfo genética.

- La presencia de *A. dubitatum* y el grado de agregación en los hospedadores está relacionada con propiedades de la población de *H. hydrochaeris* y con la distribución espacial de las garrapatas en el ambiente, más que a atributos específicos individuales relacionados a la condición corporal, masa corporal o sexo del hospedador.

- *Amblyomma dubitatum* utiliza para sus estadios inmaduros micromamíferos como hospedadores alternativos y como un componente importante para el desarrollo del ciclo vital.

## DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Todo el trabajo de campo se realizó en la Estancia “Rincón del Socorro” (28°42’S 57°29’W), provincia de Corrientes, Argentina (Figura 1). El sitio está ubicado dentro del Macrosistema Iberá, el cuál comprende un área de 12.300 km<sup>2</sup> (Poi de Neiff 2003).

El área comprende un sistema de humedales (esteros, lagunas, bañados, cañadas) y ambientes terrestres (pastizales, bosques xerófilos y palmares) que poseen características de cuatro ecorregiones: Selva Paranaense, Campos y Malezales, Chaco Húmedo y Espinal. Por esta característica particular Burkart et al. (1999) la definen como la ecorregión Esteros del Iberá.

El clima es subtropical húmedo, con temperaturas mínimas medias mensuales que varían entre 16°C y 17°C en los meses de junio y julio, y una mínima absoluta cercana a 2°C. Las temperaturas máximas (27-28°C) se registran en enero y febrero, con máximas absolutas de hasta 44°C (Neiff y Poi de Neiff 2005). La humedad relativa varía entre 60% y 89% según la estación climática y el año. Las precipitaciones anuales alcanzan 1500mm en promedio, la mayor concentración de lluvias se registra en los meses de verano y otoño, mientras que los meses con menor volumen de precipitaciones son junio y julio.

En el macrosistema Iberá se distinguen lagunas con una superficie que oscila entre los 15 y los 80 km<sup>2</sup> y profundidad de 2 y 3 metros, esterros y cañadas con dominancia de plantas palustres (geófitos), embalsados que forman “islas flotantes” a la deriva, bañados situados en terrenos bajos con fondos arenosos, y malezales, que constituyen un tipo especial de bañados, con anegamiento estacional del suelo por lluvias locales (Burkart et al. 1999; Neiff 2004).

En cuanto a la vegetación, las unidades fisonómicas dominantes del macrosistema Iberá según Arbo y Tressens (2002) y Ligier et al. (2004) son:

1) Esteros: están formados por pirizales de *Cyperus giganteus* y juncales de *Schoenoplectus californicus* y *Rhynchospora corymbosa* var. *asperula*.

2) Embalsados: pajonales o pirizales flotantes de *Oxycarium cubense*, *Fiurena robusta*, entre otras. La vegetación arbórea, de forma dispersa o agrupada, está constituida por *Erythrina crista-galli* y *Nectandra angustifolia*.

3) Pastizales: incluyen sabanas y malezales formados por *Andropogon lateralis*, *Sorghastrum agrostoides* y *Paspalum durifolium*.

4) Espartillares formados por *Elyonurus muticus* y *Aristida* sp.

5) Zonas de praderas arboladas de *Prosopis affinis*.

6) Pajonales de *Panicum prionitis*.

7) Bosques higrófilos o isletas de selva junto a lagunas y esteros con *Tabebuia heptaphylla*, *Peltophorum adubium*, *Enterolobium contortisiliquum* y *Arecastrum romanzoffianum*.

8) Bosques Xerófilos con *P. affinis*, *Prosopis nigra*, *Acacia caven* y *Aspidosperma quebracho-blanco*.

9) Palmares de caranday (*Copernicia alba*) y palmares de yatay poñi y yatay (*Butia paraguayensis* y *B. yatay*)

Según la revisión realizada por Waller y Parera (2004), la fauna de vertebrados tetrápodos del macrosistema Iberá se compone aproximadamente de 499 especies: 40 de anfibios, 59 de reptiles, 343 de aves (53 familias) y 57 de mamíferos (21 familias). Específicamente en lo referido a la fauna de mamíferos, es posible identificar cuatro patrones de distribución relacionados a la biogeografía del área. Un grupo al sur del macrosistema influenciado por la ecorregión del Espinal, caracterizado por la presencia de *Lagotomus maximus*.

Un segundo grupo que se distribuye al noreste con inclusiones de la ecorregión Selva Paranaense, definido por taxones como *Cabassous tatouay* y *Leopardus pardalis*. Un tercer grupo con un ensamble de fauna característica de la ecorregión Chaco Húmedo como *Dasypus novemcinctus* y *Cerdocyon thous*. Un cuarto y último grupo de especies ligadas a los pastizales del sur-oeste del sistema, definido por la presencia de *Ozotoceros bezoarticus* (actualmente extinto) y roedores sigmodontinos y caviomorfos (Fabri et al. 2003). Asimismo, el macrosistema Iberá cuenta con un total de nueve especies exóticas de mamíferos silvestres (*Antilope cervicapra*, *Equus asinus*, *Dama dama*, *Axis axis*, *Cervus elaphus*, *Bubalus bubalis*, *S. scrofa*, *Lepus europaeus* y *Rattus rattus*) y dos de aves recientemente introducidas (*Columba livia* y *Passer domesticus*) (Fabri et al. 2003). Las poblaciones de *H. hydrochaeris* que se encuentran en el área de estudio, están clasificadas por indicadores de distribución y abundancia desarrollados por Waller y Parera (2004), que determinan que son de ocupación masiva o primaria. Su estado de conservación en el macrosistema en general es muy bueno y está presente en casi todos los ambientes (Fabri et al. 2003).

En la Estancia “Rincón del Socorro”, se seleccionaron tres ambientes donde se llevaron a cabo los muestreos del presente trabajo de tesis (Figura 2).

a)- El ambiente de “pajonal”, con vegetación formada a base de gramíneas fasciculadas altas de más de 1,50m de altura, ubicado en campos bajos, ligados a los valles aluviales. Común en llanuras relacionadas con inundaciones periódicas y caracterizado por un alto predominio de *P. prionitis* (paja brava) y en las zonas anegadas también podemos encontrar *C. giganteus*.

b)- El “borde del estero”, fisonómicamente corresponde a praderas palustres, se desarrollan en cuerpos de agua semipermanentes, alimentados por

aportes pluviales, donde se encuentra vegetación herbácea de escaso desarrollo como *Rhynchospora tenuis*, *P. durifolium*, *Luziola peruviana*, entre otras.

c)- En el área de “monte” o isletas de bosques, son bosques abiertos y de menor diversidad específica, las especies más comunes son *Acacia caven*, *P. affinis*, *P. nigra* y *Celtis sp.*

Figura 1. Ubicación del área de estudio dentro del Macrosistema Iberá, Corrientes, Argentina.

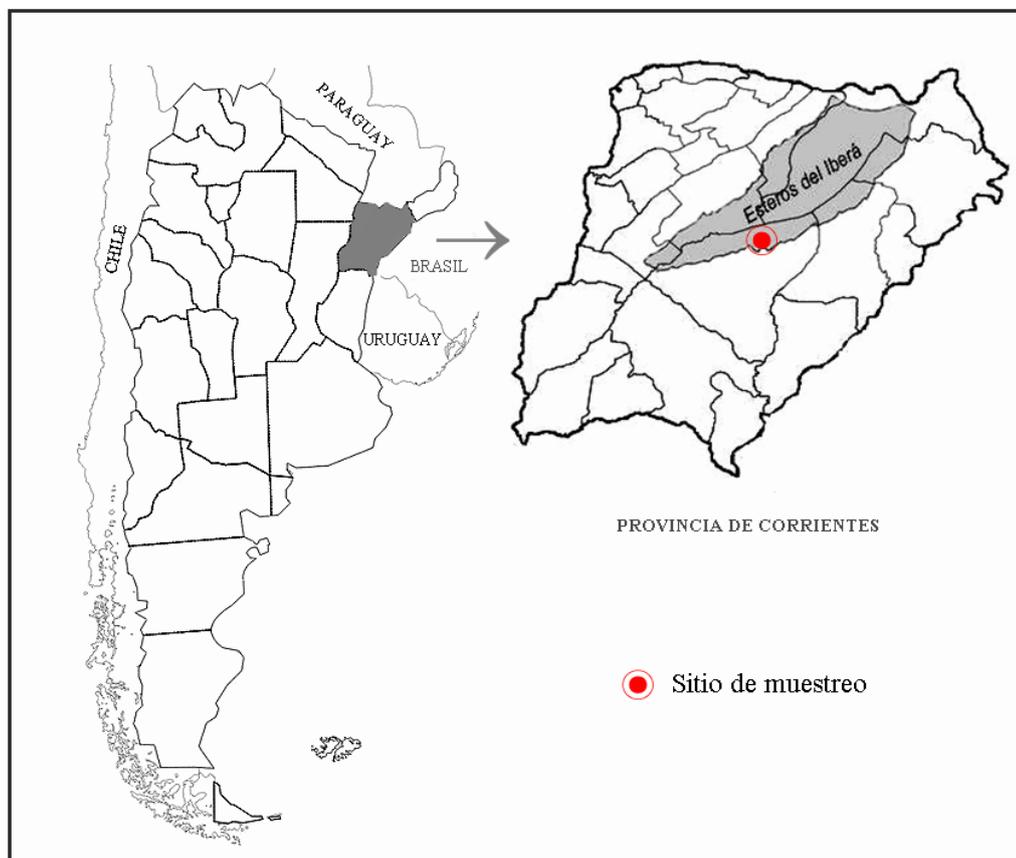


Figura 2. Imágenes representativas del área de estudio en Esteros del Iberá, Corrientes.



## CAPITULO I

### “Preferencias Ecológicas de *Amblyomma dubitatum*”

## INTRODUCCION

La cuantificación de las relaciones especies-ambiente es el marco básico para la comprensión de la aptitud de las condiciones climáticas existentes para la población de una especie de garrapata (Estrada-Peña 2008).

El concepto básico que subyace al modelado de la ocurrencia de especies es la definición del nicho ecológico. Hutchinson (1957) define el nicho ecológico como un conjunto de variables ambientales en una región determinada con valores límite dentro de los cuales una especie puede sobrevivir. Por otro lado, Pearman et al. (2007) definen al nicho climático como un aspecto del nicho ambiental que se encuentra delineado por los límites en la variación climática. Fuera de este nicho, una población no puede mantener una tasa neta positiva de aumento de la población, debido por ejemplo, a temperaturas mínimas excesivamente bajas en invierno, insuficiente crecimiento en la estación lluviosa, etc.

Las garrapatas tienen un ciclo biológico que se puede dividir en una fase parasítica que transcurre sobre el hospedador y en una fase no parasítica o de vida libre que se desarrolla en el ambiente. La mayor parte del ciclo transcurre en el ambiente, encontrándose condicionado por factores bióticos y abióticos externos indispensables para la supervivencia y reproducción. Así, los factores claves que incidirán sobre la distribución espacial de las garrapatas son los hospedadores principales (presencia-ausencia, densidad y abundancia), y características bióticas y abióticas del ambiente, entre las cuales se destacan la estructura de la vegetación y las variables climáticas como temperatura, déficit de saturación y fotoperíodo.

Existen distintos estudios donde se ha concluido que, como tendencia general, las características ecológicas del ambiente donde las garrapatas desarrollan su ciclo de vida son más relevantes para determinar presencia y abundancia que los hospedadores (Klompen et al. 1996; Cumming 2002; Nava y Guglielmone 2013). Asimismo, factores determinados por el clima y la vegetación juegan un rol decisivo en sus dinámicas poblacionales (Corson et al. 2004; Zeman y Lynen 2006). Los factores ambientales que determinan la distribución geográfica de algunas garrapatas sudamericanas han sido analizados considerando distintos métodos y variables. Estrada-Peña et al. (2004), estudiaron las preferencias ecológicas de *Amblyomma cajennense* Fabricius 1787 a través de variables climáticas y del Índice de Vegetación Diferencial Normalizado (NDVI) obtenidas de sensores remotos y las clasificaron en categorías. Estrada-Peña et al. (2006) también estudiaron las preferencias ecológicas de *Rhipicephalus microplus* Canestrini 1888 utilizando 19 variables climáticas tomadas de estaciones meteorológicas y datos de NDVI obtenidos de imágenes de sensores remotos y realizaron una clasificación categórica como en el trabajo anterior. Nava et al. (2009a) crearon un modelo de nicho climático a partir de 19 variables bioclimáticas utilizando el programa MaxEnt (Phillips et al. 2004) para dar a conocer la potencial distribución de *Amblyomma neumanni* Ribaga 1902, y Estrada-Peña et al. (2010) definieron la distribución geográfica esperada y el nicho ambiental de *Otobius megnini* Duges 1883 a partir de cuatro capas de información ambiental, (A) Valores mensuales del NDVI para el período 2001-2007, (B) las características físicas del suelo, (C) los valores mensuales climáticos del aire incluyendo precipitaciones y temperatura mínima y máxima (1970-2000), y (D) valores anuales registrados entre 2000 y 2007 para la temperatura, la evaporación, humedad a nivel del suelo,

temperatura y contenido de humedad a profundidades de 1-10cm debajo de la superficie del suelo, utilizando el programa MaxEnt (Phillips et al. 2004). Para el caso de *A. dubitatum*, existe un estudio detallado sobre la distribución y hospedadores realizado por Nava et al. (2010), pero no hace referencia a factores ecológicos que limitan la distribución de esta garrapata.

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo del presente capítulo es dar a conocer la distribución actual de *A. dubitatum* en Sudamérica y determinar las variables ecológicas que afectan su distribución, como así también, las áreas potenciales de distribución de la misma en la región Neotropical.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos de distribución utilizados en este capítulo se obtuvieron a partir de colectas realizadas por la tesista, de información publicada en la literatura específica y de registros de *A. dubitatum* depositados en las siguientes colecciones de garrapatas: Argentina: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Rafaela, Santa Fe; Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe (FAVE); Brasil: Coleção Nacional de Carrapatos da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo (CNC); Uruguay: Departamento de Parasitología Veterinaria, Facultad de Veterinaria, Montevideo (DPVURU). Los datos registrados fueron: país, provincia política, localidad y coordenadas geográficas (Tabla 1.1). Las localidades de hallazgo fueron analizadas y graficadas de acuerdo a la división de provincias biogeográficas descriptas por Morrone (2006) (Fig. 1.1).

Se construyó un modelo de nicho climático para *A. dubitatum* usando el programa MaxEnt versión 3.0 (Phillips et al. 2004). MaxEnt crea modelos de distribución de especies mediante la combinación de datos de presencia en un punto geográfico dado con distintos niveles de variables ambientales explicativas, utilizando un método estadístico conocido como máxima entropía. Este programa fue corrido utilizando los de 142 puntos de colectas como datos de presencia, variables asociadas a temperatura (mínimas, máximas y medias) y el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI). La distribución potencial de *A. dubitatum* fue calculada a través de un algoritmo basado en los coeficientes de una regresión armónica de los valores mensuales de las temperaturas y el NDVI.

Las variables climáticas utilizadas, obtenidas de WorldClim (Hijmans et al. 2005), fueron datos de temperatura biológicamente relevantes a una resolución de aproximadamente 1 km, relevadas por un período de 30 años desde 1960 a 1990 (Hijmans et al. 2005). El NDVI es un parámetro calculado a partir de los valores de la reflectancia a distintas longitudes de onda, y es particularmente sensible a la cubierta vegetal, permite identificar la presencia de vegetación en la superficie y caracterizar su distribución espacial. Su rango de valores va de 0 a 1, lo que equivale a superficies descubiertas o de cuerpos de agua hasta suelos con vegetación densa, húmeda y bien desarrollada, respectivamente.

Las variables utilizadas para el análisis derivan de regresiones armónicas de datos de temperatura y NDVI de imágenes de satélite con las fechas. El resultado es una serie de coeficientes de la ecuación, cinco para la temperatura y cinco para el NDVI. Las variables relacionadas a las temperaturas son: T1 explica la media de temperatura dentro de un periodo dado de tiempo, T2 y T3 explican la amplitud y la pendiente de las temperaturas de los seis primeros meses del año, T4 y T5 explican la amplitud y la pendiente de las temperaturas del segundo semestre del año. En el caso de la vegetación, V1 explica la media del NDVI del periodo considerado, V2 y V3 explican la amplitud y la pendiente del NDVI de los seis primeros meses del año, V4 y V5 explican la amplitud y la pendiente del NDVI del segundo semestre del año.

La ventaja de utilizar estos coeficientes es que se suprimen problemas de correlación entre las variables, y que tienen la capacidad de explicar toda la variabilidad de las temperaturas y de NDVI a lo largo del período de tiempo que se está estudiando.

Los factores que se analizaron para los distintos coeficientes fueron marginalidad y especialización. La marginalidad se define como el cuadrado de

la distancia desde la media del espacio disponible hasta la media del espacio utilizado. Esta mide una posición y expresa la magnitud de la desviación del nicho en relación con el espacio disponible. Cuanto mayor sea el valor de la marginalidad, más se desvía el nicho de las condiciones medias del área de estudio. Cuando es alta, la especie está presente en áreas que muestran características muy diferentes del hábitat en comparación con la de su nicho promedio. La especialización mide la amplitud del nicho. Una alta especialización, positiva o negativa, corresponde a un nicho estrecho o limitado.

## RESULTADOS

Todos los registros de *A. dubitatum* se restringieron a localidades de Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay (Tabla 1.1). Los hallazgos se concentraron principalmente en las subregiones Chaqueña y Paranaense de la región Neotropical. Dentro de la subregión Chaqueña, los registros fueron en las provincias biogeográficas Cerrado, Chaco y Pampa, y en la subregión Paranaense los registros correspondieron a las provincias Bosque Atlántico Brasileño, Bosque Paranaense y Bosque de *Araucaria angustifolia* (Fig. 1.1). Unos pocos hallazgos fueron hechos en la subregión Amazónica, en las provincias de Amapá, Tapajós- Xingú, Pará y Pantanal (Fig. 1.1).

El modelo de nicho climático revela una distribución potencial de *A. dubitatum* para el centro y noreste de Argentina, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil, como así también en un área al norte de Sudamérica en Venezuela y Colombia (Fig. 1.2). El análisis de nicho climático de *A. dubitatum* muestra una fuerte dependencia a un grupo de coeficientes derivados de las temperaturas y NDVI.

En la Tabla 1.2, se muestra una regresión logística sobre las sitios en los que se predice la ausencia de *A. dubitatum* y no fue hallada (dub- HS-), donde se predice la ausencia de la garrapata pero ha sido encontrada (dub- HS+) y donde *A. dubitatum* se predice que esté presente y fue colectada (dub+ HS+). Los resultados de las significancias (ANOVA  $P < 0,001$ ) de los coeficientes para discriminar el hábitat, mostraron que todos los coeficientes excepto V1 (que es el primer armónico de la serie de vegetación), fueron adecuados para determinar la aptitud del hábitat para esta garrapata.

En el análisis de los factores (Tabla 1.3), se observa que los valores de marginalidad para *A. dubitatum* están limitados por los intervalos más altos de T3 y V2, que corresponden a los valores de temperaturas y de NDVI del primer semestre del año. Los valores de especialización para *A. dubitatum* muestra una amplitud de nicho estrecha, que se encuentra limitada por las variables T2 y V3 que corresponden a la temperatura y NDVI de los seis primeros meses del año.

En la Figura 1.3, se observa la dinámica estacional de los valores mensuales de temperatura (°C) y los valores de NDVI (con rango de 0 a 1) para las áreas donde las condiciones abióticas fueron óptimas para la supervivencia de *A. dubitatum*.

Figura 1.1. Distribución conocida de *Amblyomma dubitatum* (círculos coloreados) en relación a las provincias Biogeográficas de Sudamérica de acuerdo a Morrone (2006). Subregión Caribeña: (1) Maracaibo, (2) Costa Venezolana, (3) Trinidad y Tobago, (4) Magdalena, (5) Llanos Venezolanos, (6) Cauca, (7) Occidente de Ecuador, (8) Ecuador Árido, (9) Tumbes-Piura; Subregión Amazónica: (10) Napo, (11) Imerí, (12) Guyana, (13) Guyana Húmeda, (14) Roraima, (15) Amapa, (16) Varzea, (17) Ucayali, (18) Madeira, (19) Tapajós-Xingú, (20) Pará, (21) Pantanal, (22) Yungas; Subregión Chaqueña: (23) Caatinga, (24) Cerrado, (25) Chaco, (26) Pampa, (27) Monte; Subregión Paranaense: (28) Bosque Atlántico Brasileño, (29) Bosque Paranaense, (30) Bosque de *Araucaria angustifolia*; Subregión Páramo Puneña: (31) Páramo Norandino, (32) Desierto Peruano Costero, (33) Puna, (34) Atacama, (35) Prepuna; Subregión Chilena Central: (36) Coquimbo, (37) Santiago; Subregión Subantártica: (38) Islas Juan Fernández, (39) Maule, (40) Bosque Valdiviano, (41) Bosque Magallánico, (42) Páramo Magallánico, (43) Islas Malvinas; Subregión Patagónica: (44) Patagonia Central, (45) Patagonia Subandina.

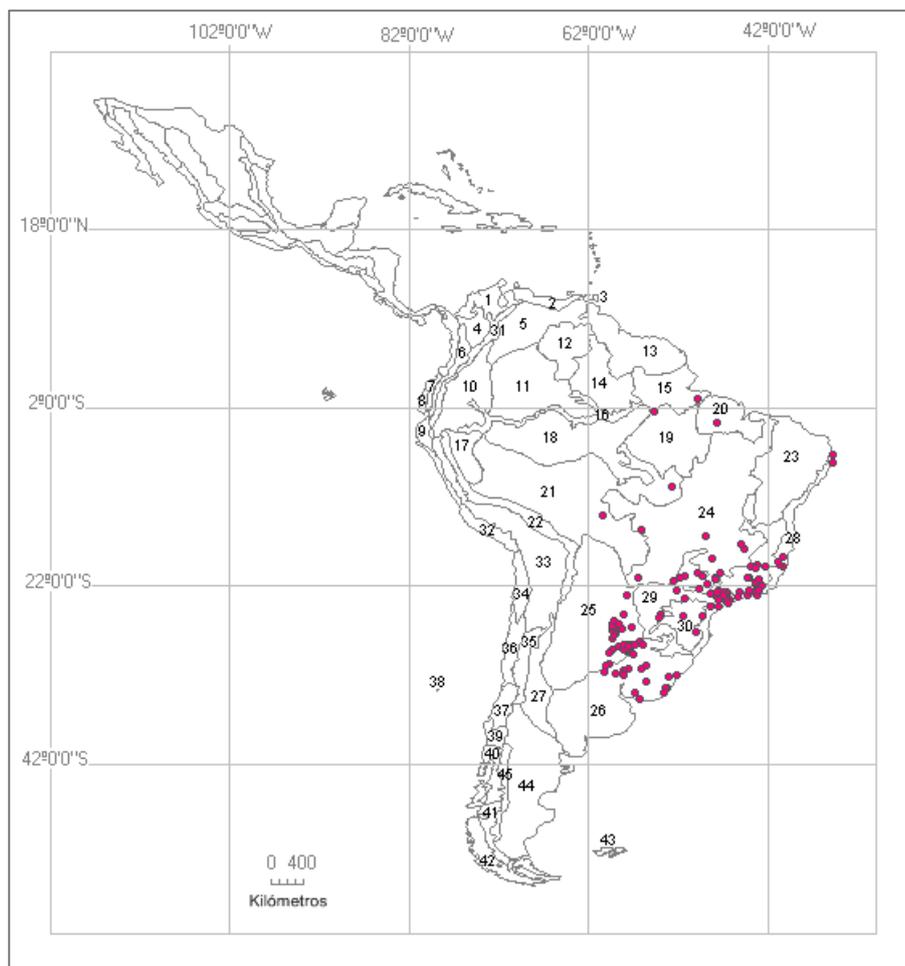


Tabla 1.1. Localidades de hallazgo de *A. dubitatum* en la región Neotropical.

PAÍS/PROVINCIA	LOCALIDAD	COORDENADAS		REFERENCIAS
		Latitud	Longitud	
Argentina				
Chaco	Basail	27°52'S	59°18'W	Ivancovich y Luciani (1992)
	Colonia Benítez	27°19'S	58°57'W	<i>Idem</i>
	Estancia La Amalia	27°31'S	59°08'W	<i>Idem</i>
	Estancia Legua 40	27°02'S	59°17'W	<i>Idem</i>
	Ruta 90 km 1099	26°41'S	59°14'W	<i>Idem</i>
Corrientes	Colonia Pellegrini SW	28°40'S	57°26'W	INTA
	Arroyo Ayuí	28°16'S	56°18'W	FAVE
	Estancia Ayuí	28°37'S	57°32'W	Ivancovich y Luciani (1992)
	Estancia Curupí Caí	29°23'S	57°47'W	<i>Idem</i>
	Estancia El Aguacerito	29°11'S	57°55'W	<i>Idem</i>
	Estancia El Tigre	29°02'S	58°12'W	<i>Idem</i>
	Estancia Juan Ángel	28°41'S	57°08'W	<i>Idem</i>
	Estancia La Armonía	28°48'S	58°41'W	<i>Idem</i>
	Estancia Palmita	28°46'S	57°48'W	<i>Idem</i>
	Estancia Yuquerí	29°08'S	57°46'W	<i>Idem</i>
	Esteros del Iberá	28°36'S	57°49'W	INTA
	Goya	29°08'S	59°16'W	<i>Idem</i>
	Laguna del Iberá	28°32'S	57°10'W	Ivancovich y Luciani (1992)
	Mercedes	29°07'S	58°07'W	INTA
	Monte Caseros N	31°12'S	57°39'W	Guglielmone et al. (2002)
	Reserva Provincial Iberá	28°30'S	58°00'W	Oscherov et al. (2006)
	Reserva Provincial Iberá I	28°31'S	58°10'W	INTA
	Estancia Rincón del Socorro	28°35'S	56°51'W	FAVE
	Estancia Rincón del Socorro I	28°42'S	57°29'W	Debárbora et al. (2012)
	Santo Tomé	28°33'S	56°02'W	Sarmiento et al. (2006)
Entre Ríos	Colonia Crespo	31°40'S	60°13'W	FAVE
	Concordia	31°24'S	58°01'W	Boero (1945)
	La Paz	30°44'S	59°38'W	INTA
	Parque Nac. El Palmar I	31°53'S	58°12'W	FAVE
	Parque Nac. El Palmar II	31°55'S	58°11'W	<i>Idem</i>
	Villaguay	31°52'S	59°01'W	Boero (1945)
Formosa	Colonia El Alba	26°20'S	59°18'W	Ivancovich y Luciani (1992)
	El Colorado INTA	26°24'S	59°22'W	<i>Idem</i>
	Estancia Bañadero	25°57'S	59°10'W	<i>Idem</i>
	Isla Payaguá	26°45'S	58°15'W	<i>Idem</i>
	Reserva Guaycolec	26°11'S	58° 43' W	INTA
	Campo La Elisa	25°08'S	58° 06'W	<i>Idem</i>
Misiones	Colonia Andresito	25°12'S	54°03'W	Mastropaolo et al. (2004)
Santa Fe	Romang	29°30'S	59°46'W	Guglielmone y Viñabal (1994)
	Saladero Cabal	30°53'S	60°00'W	FAVE

Continuación tabla 1.1

PAÍS/PROVINCIA	LOCALIDAD	COORDENADAS		REFERENCIAS
Brasil				
Espírito Santo	Aracruz	19°49'S	40°16'W	Almeida et al. (2001)
	Colatina	19°32'S	40°38'W	CNC
	Nova Venecia	18°42'S	40°23'W	Oliveira et al. (2008)
	Pancas	19°13'S	40°51'W	CNC
Goiás	Anapolis	16°18'S	48°59'W	Aragão (1936)
Mato Grosso	Margens de Rio Cuyabá	15°35'S	56°06'W	<i>Idem</i>
	Margens de Rio Guaporé	13°59'S	60°25'W	Aragão (1911)
	São Jose do Xingu	10°49'S	52°44'W	Machado-Ferreira et al. (2012)
Mato Grosso do Sul	Bonito Region	21°07'S	56°28'W	Amorim et al. (2003)
	Porto-Primavera Area	21°24'S	52°31'W	Labruna et al. (2002)
Minas Gerais	Barão de Cocais	19°56'S	43°28'W	Saraiva et al. (2012)
	Benjamin Constant	21°57'S	42°53'W	Rohr (1909)
	Coronel Pacheco	21°35'S	43°15'W	Guedes et al. (2005)
	Itabira	19°37'S	43°14'W	Rohr (1909)
	Granja Planalto	18°55'S	48°19'W	Queirogas et al. (2012)
	Juiz de Fora	21°44'S	43°21'W	Monteiro et al. (2004)
	Lassance	17°54'S	44°34'W	Aragão (1918)
	Livramento	21°05'S	44°03'W	Aragão (1936)
	Pampulha Lake (Belo Horizonte)	19°49'S	43°57'W	Almeida et al. (2011)
	Piau	21°31'S	43°19'W	Rohr (1909)
	Pingo d' Agua	19°43'S	42°24'W	Saraiva et al. (2012)
	Pirapora	17°20'S	44°56'W	Aragão (1936)
	Piráuba	21°17'S	43°02'W	Aragão (1908)
	Praia	18°56'S	48°17'W	Queirogas et al. (2012)
	Sabiá 1	18°54'S	48°13'W	<i>Idem</i>
	Sabiá 2	18°54'S	48°14'W	<i>Idem</i>
	San Joao del Rey	21°08'S	44°15'W	Rohr (1909)
	Santa Barbara	19°58'S	43°25'W	Aragão (1936)
	Uberabinha river	18°55'S	48°19'W	Queirogas et al. (2012)
	Uberlandia	19°10'S	48°23'W	Veronez et al. (2010)
Pará	Ilha de Marajó	01°02'S	49°56'W	Aragão (1936)
	Parogaminas	03°38'S	47°40'W	Serra-Freire (2010)
	Santarém	02°25'S	54°42'W	<i>Idem</i>
Paraná	Curitiba	25°24'S	49°19'W	Arzua et al. (2005)
	Guarapuava	25°23'S	51°27'W	CNC
	Londrina	23°19'S	51°10'W	Toledo et al. (2008)
	Região de Foz de Iguaçu	25°30'S	54°09'W	Sinkoc et al. (1998)
Pernambuco	Recife-Parques Estadual	08°07'S	34°52'W	Dantas-Torres et al. (2010)
	Dois Irmaos	08°07'S	34°52'W	
Paraíba	João Pessoa	07°10'S	34°52'W	<i>Idem</i>

Continuación tabla 1.1

PAÍS/PROVINCIA	LOCALIDAD	COORDENADAS		REFERENCIAS
Rio de Janeiro	Angra dos Reis	23°00'S	44°19'W	Aragão (1936)
	Barra Mansa	22°18'S	43°06'W	<i>Idem</i>
	Iguassú	22°38'S	43°26'W	<i>Idem</i>
	Parque Nacional de Tijuca	22°57'S	43°16'W	Serra-Freire et al. (2011)
	Somidouro	22°03'S	42°40'W	Spolidorio et al. (2012)
	Teresópolis	22°25'S	42°58'W	<i>Idem</i>
	Volta Redonda	22°31'S	44°07'W	Rohr (1909)
Rio Grande do Sul	Arroio Grande	32°12'S	53°05'W	Evans et al. (2000)
	Estação Ecológica Taim	33°26'S	53°16'W	Sinkoc et al. (1997)
	Rio Grande	32°02'S	52°06'W	Evans et al. (2000)
	Santana do Livramento	30°53'S	55°32'W	<i>Idem</i>
	Santa Vitoria do Palmar	33°31'S	53°22'W	<i>Idem</i>
	Uruguaiana	29°45'S	57°05'W	Freire (1972)
	Taió	27°11'S	49°59'W	Pereira-Madeiros et al. (2011)
	Americana	22°45'S	47°19'W	Pacheco et al. (2009)
São Paulo	Andradina	20°54'S	51°22'W	<i>Idem</i>
	Aracariguama	23°26'S	47°04'W	Labruna y Souza (1999)
	Barao Geraldo	22°48'S	47°05'W	Souza et al. (2004)
	Botucatu	22°52'S	48°26'W	CNC
	Bragança Paulista	22°57'S	46°32'W	<i>Idem</i>
	Bonfim Paulista	21°09'S	47°49'W	Pacheco et al. (2007)
	Campinas	22°54'S	47°04'W	Estrada et al. (2006)
	Campinas, Lago do Café	22°52'S	47°03'W	Pacheco et al. (2009)
	Cordeirópolis	22°28'S	47°27'W	Pacheco et al. (2007)
	Cosmorama	20°27'S	49°47'W	CNC
	Franca	20°32'S	47°24'W	CNC
	Ibitinga	21°46'S	48°48'W	van der Heijden et al. (2003)
	Itatiba	23°00'S	46°50'W	Horta et al. (2010)
	Itu	23°15'S	47°17'W	Pacheco et al. (2004), Labruna et al. (2007), Pacheco et al. (2009)
	Jaguariúna	22°44'S	46°57'W	Souza et al. (2006)
	Jordanésia	23°21'S	46°52'W	Labruna et al. (2005)
	Jundiai	23°11'S	46°52'W	Labruna et al. (2004a)
	Lorena	22°44'S	45°07'W	Aragão (1936)
	Louveira	23°03'S	46°58'W	Pacheco et al. (2009)
	Miracatu	24°17'S	47°28'W	Martins et al. (2010)
Mogi das Cruzes	23°31'S	46°12'W	Horta et al. (2007)	
Monte Alegre do Sul	22°39'S	46°40'W	Souza et al. (2004)	
Sao Bernardo do Campo	23°42'S	46°33'W	Estrada Peña et al. (2002)	

Continuación tabla 1.1

PAÍS/PROVINCIA	LOCALIDAD	COORDENADAS		REFERENCIAS	
	Parque ecológico Tieté (Tieté)	23°07'S	47°43'W	Pacheco et al. (2004)	
	Paulicéia	21°06'S	51°46'W	Szabó et al. (2007a)	
	Pedreira I	22°44'S	46°54'W	Famadas et al. (1997), Lemos et al. (1997), Barros et al. (1998)	
	Pedreira II	22°44'S	46°55'W	Labruna et al. (2004b)	
	Pedreira III	22°47'S	46°54'W	<i>Idem</i>	
	Pedreira IV	22°41'S	46°53'W	<i>Idem</i>	
	Piracicaba	22°43'S	47°38'W	Pacheco et al. (2004), Horta et al. (2007)	
	Ribeirao Grande	24°16'S	48°25'W	Labruna et al. (2007)	
	Ribeirao Preto	21°11'S	47°48'W	Pacheco et al. (2009)	
	Rio Piracicaba	22°43'S	47°37'W	Aragão (1936)	
	Santa Cruz do Rio Pardo	22°23'S	40°38'W	CNC	
	São Bernardo do Campo	23°42'S	46°33'W	Estrada-Peña et al. (2002)	
	Sao José de Rio Preto	20°48'S	49°22'W	Pacheco et al. (2009)	
	Sao Luis de Pirahytinga	23°15'S	45°18'W	Rohr (1909)	
	Sao Paulo	23°31'S	46°37'W	Pacheco et al. (2007), CNC	
	São Paulo	23°06'S	47°43'W	Pacheco et al. (2004)	
	Serra do Mar State Park	23°53'S	46°34'W	Sabatini et al. (2010)	
	Sorocaba	23°30'S	47°27'W	CNC	
	Teodoro Sampaio	22°31'S	52°10'W	<i>Idem</i> , Pacheco et al. (2009)	
	Valinhos	22°58'S	46°59'W	Pacheco et al. (2009)	
Paraguay					
	Concepción	Puerto Cooper	23°03'S	57°43'W	Nava et al. (2007)
	Misiones	San Juan Bautista	26°40'S	57°09'W	<i>Idem</i>
Uruguay					
	Canelones	INIA Las Brujas	34°40'S	56°20'W	DPVURU
	Durazno	La Paloma	32°43'S	55°36'W	<i>Idem</i>
	Flores	Río San José	33°57'S	56°50'W	<i>Idem</i>
	Rocha	Próximo Santa Teresa	34°00'S	53°35'W	<i>Idem</i>
	Tacuarembó	Rincón da Vassoura	31°15'S	56°03'W	Guglielmone et al. (2006)

Figura 1.2. Predicción de la distribución de *Amblyomma dubitatum* para la región Neotropical. Esto fue calculado a través de un algoritmo basado en los coeficientes de regresión armónica de los valores mensuales de temperatura sobre la superficie de la tierra y el índice de vegetación diferencial normalizado (NDVI). Los colores del rango de predicción abarcan desde el rojo (máxima aptitud ecológica) hasta el azul (mínima aptitud ecológica).

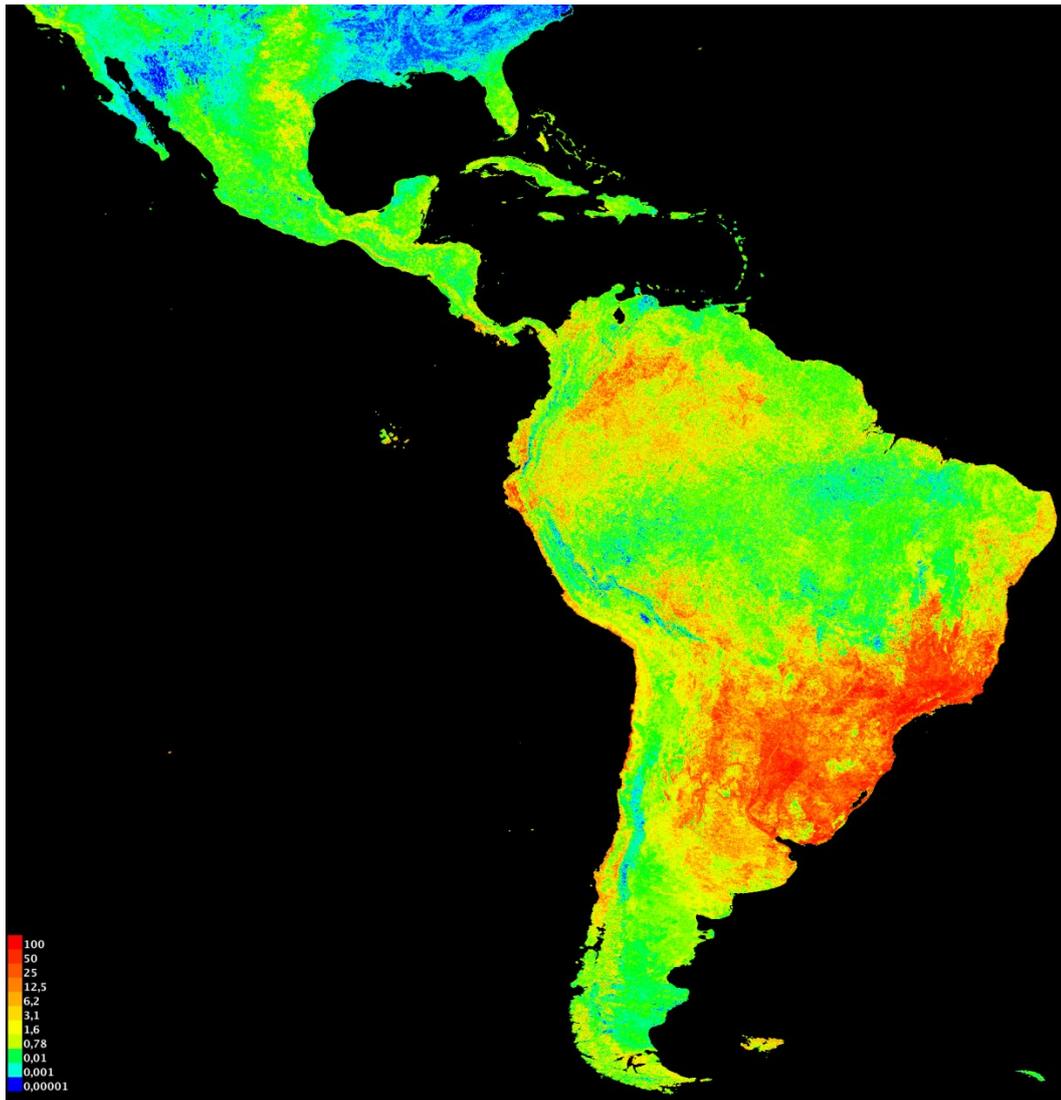


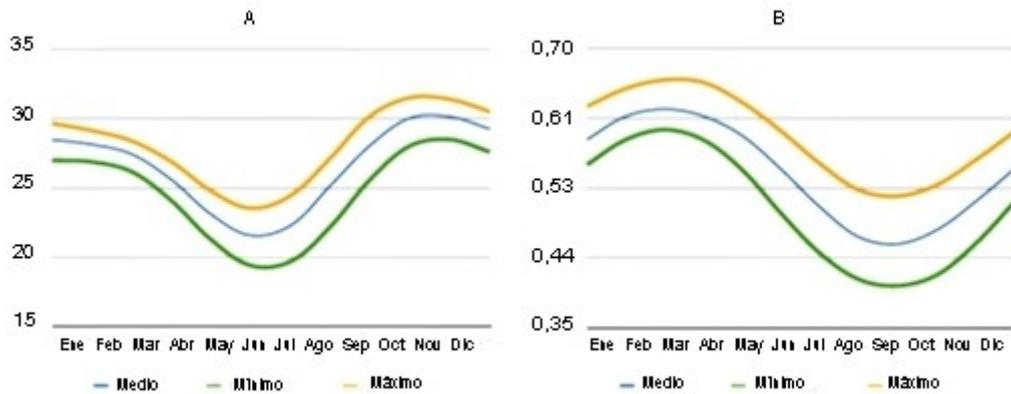
Tabla 1.2. Valores de las significancias (ANOVA) de los coeficientes encontrados para los parches donde *Amblyomma dubitatum* se prevé que esté ausente y no ha sido colectado (dub-HS-), donde la garrapata se prevé que esté ausente, pero ha sido encontrada en los estudios (dub-HS+) y donde se prevé que las garrapatas estén presentes y esto ha sido confirmado por las colectas (dub + HS +). Las columnas incluyen la media y la desviación estándar, el F y los valores de *p*, para las variables de temperatura (serie T) y la vegetación (serie V).

VARIABLE	CATEGORÍA	MEDIA ± DS	F	P
T1	dub- HS-	26,44 ± 0,074	7,473	0,001
	dub- HS+	20,06 ± 0,144		
	dub+ HS+	26,22 ± 1,101		
T2	dub- HS-	-2,38 ± 0,031	571,115	<0,001
	dub- HS+	-0,09 ± 0,061		
	dub+ HS+	0,47 ± 0,464		
T3	dub- HS-	2,68 ± 0,038	405,010	< 0,001
	dub- HS+	5,00 ± 0,073		
	dub+ HS+	4,97 ± 0,557		
T4	dub- HS-	-0,78 ± 0,010	39,146	< 0,001
	dub- HS+	-0,97 ± 0,019		
	dub+ HS+	-0,89 ± 0,147		
T5	dub- HS-	-0,69 ± 0,006	524,077	< 0,001
	dub- HS+	-1,09 ± 0,011		
	dub+ HS+	1,19 ± 0,083		
V1	dub- HS-	0,59 ± 0,002	3,522	0,030
	dub- HS+	0,59 ± 0,003		
	dub+ HS+	0,54 ± 0,024		
V2	dub- HS-	0,06 ± 0,001	133,160	< 0,001
	dub- HS+	0,09 ± 0,002		
	dub+ HS+	0,02 ± 0,012		
V3	dub- HS-	0,00 ± 0,001	34,349	< 0,001
	dub- HS+	0,01 ± 0,001		
	dub+ HS+	-0,04 ± 0,008		
V4	dub- HS-	-0,00 ± 0,000	90,940	< 0,001
	dub- HS+	0,00 ± 0,001		
	dub+ HS+	-0,05 ± 0,005		
V5	dub- HS-	0,01 ± 0,000	104,667	< 0,001
	dub- HS+	0,01 ± 0,001		
	dub+ HS+	-0,05 ± 0,005		

Tabla 1.3. Valores de marginalidad y especialización según los cálculos de la distribución reportada de *Amblyomma dubitatum* en la región Neotropical. Las variables incluyen los coeficientes de temperatura y los de NDVI utilizados para la cartografía predictiva.

VARIABLE	MARGINALIDAD	ESPECIALIZACIÓN
T1	-0,067	-0,228
T2	0,306	-0,922
T3	0,914	0,302
T4	0,142	0,036
T5	-0,211	0,069
V1	0,061	0,411
V2	0,951	-0,277
V3	0,298	0,764
V4	0,058	0,219
V5	-0,008	0,347

Figura 1.3. Dinámica estacional de (A) las temperaturas mensuales en grados Celsius y (B) valores mensuales de NDVI (valores de 0 a 1) según lo registrado en las zonas donde se predijeron que las condiciones abióticas son adecuadas para *Amblyomma dubitatum*. La figura muestra valores medios, mínimos y máximos observados en los sitios con condiciones abióticas favorables para esta garrapata.



## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que *A. dubitatum* habitaría un área restringida de Sudamérica, que incluye las provincias Biogeográficas de Pampa, Chaco, Cerrado, Bosque Atlántico Brasileño, Bosque Paranaense y Bosque de *Araucaria angustifolia* (Fig. 1.1). La mayor parte de los registros se encuentran en el noreste de Argentina, sureste de Brasil, este de Paraguay y centro y este de Uruguay, coincidiendo con los datos informados por Nava et al. (2010).

El modelo de nicho climático revela una distribución potencial de *A. dubitatum* para el centro y noreste de Argentina, Uruguay y sur de Brasil, que coincide con los hallazgos reportados para esta garrapata. También se observa una zona con características óptimas para *A. dubitatum* al noroeste de Sudamérica, en Colombia y Venezuela (Fig. 1.2). A pesar de que en estos países se encuentra presente el principal hospedador, *H. hydrochaeris* (esta especie se distribuye desde Venezuela y Colombia hasta Uruguay y noreste de Argentina (Woods y Kilpatrick 2005)) no hay registros de *A. dubitatum* en esa zona.

De la integración de estos datos se puede inferir que los factores más importantes que limitan la distribución de esta garrapata serían la vegetación y el clima y no los hospedadores. Esto concuerda con los estudios realizados por Klompen et al. (1996) y por Nava y Guglielmone (2013), donde aseveran que las garrapatas poseen especificidad por un cierto ambiente más que por un hospedador en particular.

De acuerdo a los resultados del modelo de nicho climático, entre las dos áreas con aptitud ecológica para *A. dubitatum*, se encuentra una amplia región donde las características climáticas y de la vegetación no serían las adecuadas

para el desarrollo de la especie y donde tampoco se han citado hallazgos de *A. dubitatum* (Fig. 1). El rol de la Amazonia como barrera para la dispersión de especies animales ha sido demostrada en distintos trabajos para aves (Eberhard y Bermingham 2004; Cardoso da Silva y Bates 2002), anfibios (Frost 2004), reptiles (Ávila-Pires 1995; Wüster et al. 2005; Quijada-Mascareñas et al. 2007) y mamíferos (Courtenay y Maffei 2004). También existen trabajos donde se observa esta distribución alopátrica donde la Amazonia actúa como barrera para el caso en particular de las especies de garrapatas *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (Nava et al. 2008a) y para *A. cajennense* (Beati et al. 2013).

Una hipótesis que podría explicar la ausencia de *A. dubitatum* en áreas de Sudamérica al norte de la Amazonia (Colombia y Venezuela), es el probable origen en el sur de Brasil y que su distribución hacia el norte se vio impedida por las características propias de la Cuenca Amazónica, a pesar de la presencia de su principal hospedador y de las condiciones óptimas para su desarrollo. Estudios adicionales son necesarios para confirmar la hipótesis.

## CAPITULO II

### “Ciclo Biológico de *Amblyomma dubitatum* en Condiciones Naturales”

## INTRODUCCIÓN

El ciclo biológico de las garrapatas se divide en una fase parasítica, en la que cada uno de los estadios (larva, ninfa y adultos) se encuentran fijados a un hospedador y una fase no parasítica donde los diferentes estadios se encuentran expuestos a factores bióticos y abióticos del ambiente (Sonenshine 1991). Esta última fase comprende los periodos de desarrollo como premuda de larvas y ninfas, preoviposición de las hembras, incubación de los huevos y supervivencia de larvas.

Como se mencionó anteriormente, las garrapatas son parásitas solo durante un breve periodo, la mayor parte del tiempo se encuentran como organismos de vida libre expuestos a distintos factores extrínsecos. La humedad, la temperatura y el resultante déficit de saturación son factores climáticos que determinan las tasas de desarrollo interstadial y el comportamiento de las garrapatas en su fase de vida libre (Koch y Tuck 1986; Randolph y Storey 1999; Perret et al. 2000; Randolph et al. 2002a ; Ogden et al. 2004), como así también las características de la vegetación, que establecen diferencias en la penetración de la luz solar que conlleva a variaciones en la temperatura y en la humedad relativa del suelo (Barnard 1986; Schulze y Jordan 1996; Uspensky 2002; Beck et al. 2011; Wang et al. 2012).

Muchas especies de garrapatas se caracterizan por tener ciclos biológicos donde la diapausa tiene un rol fundamental en la modulación de los ritmos estacionales de desarrollo y reproducción (Oliver 1989), siendo los factores más importantes implicados en su inducción el fotoperíodo (Belozarov 1968) y la temperatura, la cual puede regular su duración (Randolph 2004). La propensión de las garrapatas a desarrollar diapausa en sus ciclos está relacionada a un

gradiente latitudinal, ya que es mayor la probabilidad de manifestar este comportamiento en altas latitudes y menor en las cercanas al Ecuador (Madder et al. 1999; 2002). Belozarov (1982) define dos tipos de diapausa: de comportamiento y morfo genética. La primera consiste en la supresión de la actividad de búsqueda o acecho del hospedador de los estadios posembrionarios de garrapatas sin alimentar. Entre otras, este comportamiento se registró para larvas de *A. cajennense* (Labruna et al. 2003), para larvas y ninfas de *Dermacentor variabilis* Say, 1821 (Smith y Cole 1941), *Dermacentor albipictus* Packard, 1869 (Wright 1971) e *Ixodes nipponensis* Kitaoka and Saito, 1967 (Fujimoto 1994), para adultos de *Rhipicephalus appendiculatus* Neumann, 1901 (Randolph 1997), y para todos los estadios de *Ixodes trianguliceps* Birula, 1895 y *Haemaphysalis longicornis* Neumanni, 1901 (Belozarov 1971, 1982). El otro tipo de diapausa de acuerdo a Belozarov (1982) es la morfo genética, la cual se expresa como un retraso durante la embriogénesis, en la metamorfosis de larvas y ninfas o en la oogénesis de las hembras ingurgitadas. Este modo de diapausa es reconocido entre otras especies, para las ninfas de *Ixodes rubicundus* Neumann, 1904 (Fourie et al. 2001), *Ixodes matopi* Spickett, Keirans, Norval y Clifford, 1981 (Norval et al. 1987), *Haemaphysalis sulcata* Canestrini y Fanzago, 1878 (Belozarov, 1982), *Amblyomma triguttatum* (Guglielmone y Moorhouse 1986) y *Amblyomma testudinarium* Koch, 1844 (Fujimoto 2003), para larvas y ninfas de *Ixodes apronophorus* Schulze, 1924 (Belozarov 1982), para las hembras de *Amblyomma variegatum* Fabricius, 1798 (Pegram et al. 1988), en los huevos de *Ixodes ricinus* Linnaeus, 1758 (Dautel y Knulle 2006) y en oviposición de hembras de *Amblyomma neumanni* (Nava et al. 2009a). Sin embargo, algunas especies de garrapatas pertenecientes a distintos géneros tienen en sus ciclos los dos tipos de diapausa, como por ejemplo *I. ricinus*, *Ixodes persulcatus* Schulze,

1930, *Ixodes uriae* White, 1852, *Amblyomma americanum* Linnaeus, 1758, *Haemaphysalis concinna* Koch, 1844, *Haemaphysalis flava* Neumanni, 1897, *Hyalomma anatolicum* Koch, 1844, *Hyalomma dromedarii* Koch, 1844, *Dermacentor marginatus* Sulzer, 1776 y *D. albipictus*, entre otras (Babenko 1967a, b; Belozarov 1982; Pound y George 1991; Pound et al. 1993; Balashov 1997; Fujimoto 1998; Gray 1998; Randolph et al. 2002b).

Según Sutherst et al. (1978), el estudio del ciclo biológico de las garrapatas se divide en tres componentes que luego deben combinarse para hacer el análisis integrado del ciclo. Dichos componentes son: 1- fase de desarrollo en el ambiente (larvas, ninfas y hembras ingurgitadas, huevos); 2- fase de vida libre en búsqueda de un hospedador (*host finding*); 3- fase parasítica. Esto incluye la determinación de la distribución estacional de todos los estadios, ya sea cuando las garrapatas se hallan en el ambiente en procura de sus hospedadores (fase de vida libre) o cuando están fijadas a éstos (fase parasítica), y el estudio de los períodos de desarrollo (premuda de larvas y ninfas, período de preoviposición de hembras, incubación de los huevos, supervivencia larval).

El conocimiento de los ciclos biológicos de las garrapatas permite determinar los patrones de actividad estacional de estos ectoparásitos y el uso de esta información es estrictamente necesario para el diseño y evaluación de estrategias de control y para el entendimiento de la epidemiología de las enfermedades transmitidas por garrapatas.

En el Neotrópico, los ciclos biológicos de garrapatas de la familia Ixodidae se han estudiado a partir de diferentes enfoques metodológicos. En este sentido, varios métodos se han puesto en práctica para llevar a cabo muestreos en estudios de estacionalidad. El conocimiento de la dinámica estacional de muchas especies se alcanzó mediante el examen de animales domésticos y o silvestres,

que en ocasiones pueden formar parte de un ciclo adoptivo pues en ciertos casos son hospedadores introducidos en el hábitat de las garrapatas. Otros métodos adoptados para el estudio de la distribución estacional de los diferentes estadios en los ciclos biológicos de las garrapatas en la región Neotropical, se basan en la colecta de especímenes en su fase de vida libre. Uno de las más usuales es el arrastre sobre la vegetación de un paño de color claro y medidas variables (*dragging*), que ha sido utilizado con éxito en estudios sobre la abundancia estacional de varias especies de *Amblyomma* neotropicales (Guglielmone et al. 1990; Oliveira et al. 2000; Szabo et al. 2007a, b; Queirogas et al. 2012). Otra de las técnicas utilizada con frecuencia son las trampas de CO<sub>2</sub> para la colecta de estos parásitos en su fase de vida libre y su efectividad ha sido comprobada para varias especies de *Amblyomma* en estudios realizados en Brasil (Oliveira et al. 2000; Souza et al. 2006; Szabó et al. 2007a, b; 2009; Queirogas et al. 2012).

Muchos de los estudios sobre los ciclos biológicos de garrapatas neotropicales del género *Amblyomma* se efectuaron bajo condiciones de laboratorio, en los cuales las garrapatas están expuestas a factores ambientales y especies hospedadoras no siempre homologables a las establecidas en los ecosistemas donde éstas se desarrollan naturalmente. La distorsión que puede generar esta heterogeneidad de condiciones en el desarrollo del ciclo de una garrapata, indica la necesidad de cautela para extrapolar los datos obtenidos en condiciones experimentales para el análisis del ciclo biológico de una especie en su ambiente natural. Igualmente, ciertos parámetros observables en diseños experimentales, como por ejemplo tiempo de alimentación, tasas de supervivencia y mortalidad, son difíciles de mensurar bajo condiciones de campo, destacándose la utilidad en algunos aspectos de este tipo de estudios.

El ciclo biológico de *A. dubitatum* fue estudiado en condiciones de

laboratorio por Almeida et al. (2001) y Labruna et al. (2004b) en Brasil, utilizando para la alimentación de los adultos a su hospedador natural *H. hydrochaeris* Linnaeus, 1766. Labruna et al. (2004b) también alimentaron larvas y ninfas de *A. dubitatum* usando diferentes hospedadores para comprobar la capacidad de los mismos para sustentar el desarrollo de esta garrapata. Estos autores utilizaron *H. hydrochaeris* y gallinas para alimentar larvas y *H. hydrochaeris*, *Gallus gallus* Linnaeus, 1758, *Cavia porcellus* Linnaeus, 1758 y *Calomys callosus* Rengger, 1830 como hospedadores para las ninfas. Para ambos estadios inmaduros *H. hydrochaeris* demostró ser el hospedador más apropiado. El ciclo biológico completo de *A. dubitatum* en el laboratorio demandó una media de 189,4 días. Por otro lado, Faccini et al. (2006) estudiaron el ciclo biológico de *A. dubitatum* en el laboratorio utilizando como hospedador experimental a conejos, a partir de la misma progenie de hembras utilizada por Labruna et al. (2004b). Estos autores concluyen que, el ciclo biológico de esta garrapata requiere un promedio total de 216,7 días, mostrando una ligera diferencia con los resultados hallados por Labruna et al. (2004b). Además aclaran, que el conejo no es adecuado para los estadios adultos de *A. dubitatum* debido a que la tasa de recuperación de hembras ingurgitadas fue del 13.3% y que los pesos fueron al menos 10 veces menores que las alimentadas sobre *H. hydrochaeris*.

No hay estudios de campo sobre la estacionalidad de *A. dubitatum* en Argentina, mientras que en Brasil, Souza et al. (2006) describen la estacionalidad sólo de adultos en su estado de vida libre, utilizando trampas de CO<sub>2</sub> colocadas quincenalmente y Szabó et al. (2007a) colectaron larvas, ninfas y adultos de *A. dubitatum* con las técnicas de dragging y trampas de CO<sub>2</sub> en la vegetación, realizando muestreos estacionales (cada tres meses

aproximadamente).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, del ciclo biológico de *A. dubitatum* en la naturaleza sólo se conoce parcialmente la distribución estacional, mientras que los datos referidos a los periodos de desarrollo se obtuvieron a partir de estudio con colonias de garrapatas en el laboratorio. No existen trabajos que integren estos componentes estudiando poblaciones de garrapatas en condiciones de campo.

El objetivo del presente capítulo es describir el ciclo biológico en la naturaleza de *A. dubitatum*, a través de la cuantificación mensual de las garrapatas en sus fases parasítica y de vida libre y de ensayos en condiciones de campo y de laboratorio para determinar la influencia que los factores extrínsecos como el fotoperíodo y la temperatura ejercen sobre el desarrollo de cada estadio. De esta manera se espera integrar los datos adquiridos sobre las fases de desarrollo de larvas, ninfas y hembras ingurgitadas, y sobre la dinámica estacional de las fases de vida libre y parasítica de los tres estadios, para describir integralmente el ciclo biológico de *A. dubitatum* en la naturaleza.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Fase parasítica y fase de vida libre

Los datos utilizados para determinar la distribución estacional de *A. dubitatum* en su etapa parasítica se obtuvieron a través de 24 muestreo mensuales desde abril de 2010 a marzo de 2012, en la Estancia “Rincón del Socorro” en los Esteros del Iberá (Ver apartado “Descripción del área de estudio”). Con el correspondiente permiso de la Dirección de Recursos Naturales y la Subdirección de Fauna y Flora de la ciudad de Corrientes, cada mes se sacrificaron tres especímenes de *H. hydrochaeris* para la prospección exhaustiva de los mismos. Las garrapatas se contabilizaron mediante la técnica universal de estimación cuantitativa de la mitad lateral de cada animal y luego el número fue duplicado para los análisis estadísticos. Para el conteo de garrapatas sólo se tuvo en cuenta las larvas y ninfas que estuviesen ingurgitadas. Esto se decidió porque debido al pequeño tamaño de los individuos no alimentados es muy difícil cuantificarlos con exactitud en condiciones de campo. Para el caso de los adultos se contabilizaron en su totalidad.

Para el estudio de *A. dubitatum* en su fase de vida libre se realizaron muestreos mensuales por el período de un año, donde se empleó la técnica denominada “dragging” descrita por Schulze et al. (1997). La misma consiste en hacer correr un paño claro de tela, de un metro de ancho por un metro y medio de largo, sobre la vegetación a través de una transecta de 500m. Las garrapatas colectadas fueron colocadas en alcohol al 96% para ser identificadas en el laboratorio.

Para determinar si la búsqueda de un hospedador (*host finding*) de las garrapatas era constante a lo largo del día o se limitaba a determinados horarios,

se realizaron tres muestreos diarios, a la mañana (entre las siete y las ocho horas), al medio día (entre la 12 y las 13) y por la tarde (entre las 17 y 18 horas). A su vez, los muestreos también se realizaron en tres ambientes representativos del área utilizada por *H. hydrochaeris*, con el fin de detectar si existe predilección de las garrapatas por uno de ellos. Estos sitios fueron: el pajonal, el tajamar o borde del estero y el monte (descripción en el apartado de “Área de estudio”).

La dinámica estacional de la infestación con *A. dubitatum* en *H. hydrochaeris* se describió calculando el porcentaje de prevalencia (P), la abundancia media (AM) con los intervalos de confianza del 95% y la mediana (M) con el primer y tercer cuartil según Rózsa et al. (2000). Se calculó la M junto con la AM para describir la distribución estacional debido a que, en los casos como el de los parásitos donde las distribuciones son asimétricas, la M es más representativa que otras medidas de tendencia central al ser menos sensible a los valores extremos (Sokal y Rohlf 1999; Gotelli y Ellison 2004). Para comparar las prevalencias de cada estadio entre las estaciones climáticas se utilizó el test de Fisher. La significancia de las diferencias en las distribuciones del número de garrapatas parasitando *H. hydrochaeris* entre los meses de muestreo se analizaron con la prueba de Kruskal-Wallis seguida por el test de Dunn para comparaciones múltiples por pares (Zar 1999).

#### Fase de desarrollo

Para detectar la posible existencia de diapausa morfogénica se evaluó el efecto de diferentes fotoperíodos sobre el tiempo de desarrollo de los distintos estadios de *A. dubitatum*. Para tal fin, se llevó a cabo una combinación de estudios en condiciones de laboratorio y de campo.

Se estableció una colonia de *A. dubitatum* a partir de la progenie de 30 teleoginas colectadas sobre *H. hydrochaeris* en el sitio en estudio. Todas las garrapatas fueron mantenidas en incubadoras a  $25 \pm 1$  °C y a  $85 \pm 5$  % de humedad relativa. Esta última se logró colocando un recipiente de solución sobresaturada de cloruro de potasio (KCl) (Buxton y Mellanby 1934). El déficit de saturación de agua para la temperatura y humedad mencionadas varió entre 3,73 a 4,97 mm de Hg. Cada incubadora contaba con diferentes regímenes de fotoperíodos, 14h Luz (L)-10h Oscuridad (O), 12h (L)-12h (O) y 10h (L)-14h (O). Estos regímenes fueron seleccionados por ser representativos de las variaciones de fotoperíodos que se producen naturalmente a lo largo del año en el área de estudio (Figura 2.1).

Todos los estadios de *A. dubitatum* fueron alimentados sobre conejos sin exposición previa a garrapatas. Para esto, a cada conejo se le adhirieron cápsulas de plástico de 8 cm de diámetro y 2 cm de alto con adhesivo no tóxico y para evitar la remoción de las mismas se le colocaron collares isabelinos. Todos los conejos fueron ubicados en recintos individuales con alimento balanceado y agua *ad libitum* y mantenidos en una sala acondicionada con un régimen de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. En todos los casos se colocaron tres cápsulas por conejo, una por cada fotoperíodo del que provenían las garrapatas. Para las infestaciones se utilizaron 90 parejas de adultos por conejo (30 parejas de cada fotoperíodo), 200 ninfas por cada fotoperíodo y entre 600 y 800 larvas por fotoperíodo.

Para determinar la influencia de los distintos regímenes de fotoperíodos sobre los tiempos de desarrollo de larvas, ninfas y adultos de *A. dubitatum*, se diseñaron los experimentos de la siguiente manera: (1) Las hembras ingurgitadas se asignaron aleatoriamente a tres grupos con los distintos

fotoperíodo, 14h (L)-10h (O), 12h (L)-12h (O) y 10h (L)-14 h (O) (Figura 2.2). (2) Después de la eclosión, las larvas de cada grupo permanecieron por 30 días con el mismo fotoperíodo hasta ser alimentadas sobre conejos. Las larvas ingurgitadas de cada régimen de fotoperíodo fueron divididas en tres subgrupos, uno fue expuesto en el fotoperíodo original, y dos subgrupos fueron distribuidos entre los otros dos regímenes. (3) Las ninfas obtenidas de las larvas ingurgitadas fueron subdivididas según lo descrito en el punto 2 para las larvas (Figura 2.3). (4) Las hembras obtenidas de las ninfas ingurgitadas de cada régimen de fotoperíodo fueron mantenidas por 30 días en el régimen original y después fueron alimentadas sobre conejos (Figura 2.4). Las hembras repletas resultantes de cada régimen se dividieron en tres subgrupos, uno de los subgrupos de cada régimen fue expuesto en el marco del fotoperíodo original y dos fueron distribuidos entre los otros regímenes. Por lo tanto, se evaluaron nueve subgrupos de larvas, ninfas y adultos de *A. dubitatum* por cada uno de los tres fotoperíodos a los que fueron expuestas antes y después de alimentarse sobre conejos.

Los parámetros biológicos registrados fueron los siguientes: peso de cada espécimen, período de preoviposición de las teleoginas (días transcurridos desde que la teleogina se desprende del hospedador hasta la puesta del primer huevo), período de incubación de los huevos (días transcurridos desde que la teleogina pone el primer huevo hasta que eclosiona la primer larva), período de premuda de larvas y ninfas (días transcurridos desde que las larvas y ninfas ingurgitadas se desprenden del hospedador hasta que mudan a ninfas y adultos, respectivamente).

Los tiempos de desarrollo de larvas, ninfas y hembras de *A. dubitatum* en condiciones naturales se evaluaron mediante exposiciones estacionales de todos

los estadios en el campo. Garrapatas provenientes de los tres fotoperíodos antes mencionados se alimentaron sobre conejos y se expusieron en el sitio de estudio utilizando sobres de malla de acero inoxidable de cuatro cm de alto por cuatro cm de ancho (Figura 2.5). Las teleoginas se colocaron individualmente, las ninfas en número de cinco por sobre y las larvas en grupos de 10 individuos. Los parámetros biológicos que se registraron fueron: periodo de premuda de larvas y ninfas, periodo de preoviposición de las teleoginas y periodo de incubación de los huevos.

Las diferencias de los periodos de premuda de larvas y ninfas y los periodos de preoviposición y de incubación de las hembras entre los distintos regímenes de luz/oscuridad que fueron estudiados en el laboratorio, se compararon mediante el análisis de la varianza (ANOVA) seguido por el test de Tukey para comparaciones múltiple de a pares (Zar 1999). Las diferencias en los pesos de ninfas que mudaron a adultos hembras o machos se analizaron con el test de T. Los parámetros biológicos de las garrapatas expuestas en la naturaleza se analizaron solo descriptivamente debido a que los controles de las exposiciones se realizaron cada 30 días. Sólo se obtuvieron datos relativos de los tiempos de desarrollo de estos individuos y fueron utilizados para comparar con los datos obtenidos en el laboratorio.

Figura 2.1. Regímenes mensuales de fotoperíodo en los Esteros del Iberá, Corrientes, expresados como horas diarias de luz y oscuridad. Los datos fueron obtenidos del Departamento de Aplicaciones Astronómicas del Observatorio Naval de EE.UU (<http://aa.usno.navy.mil/>).

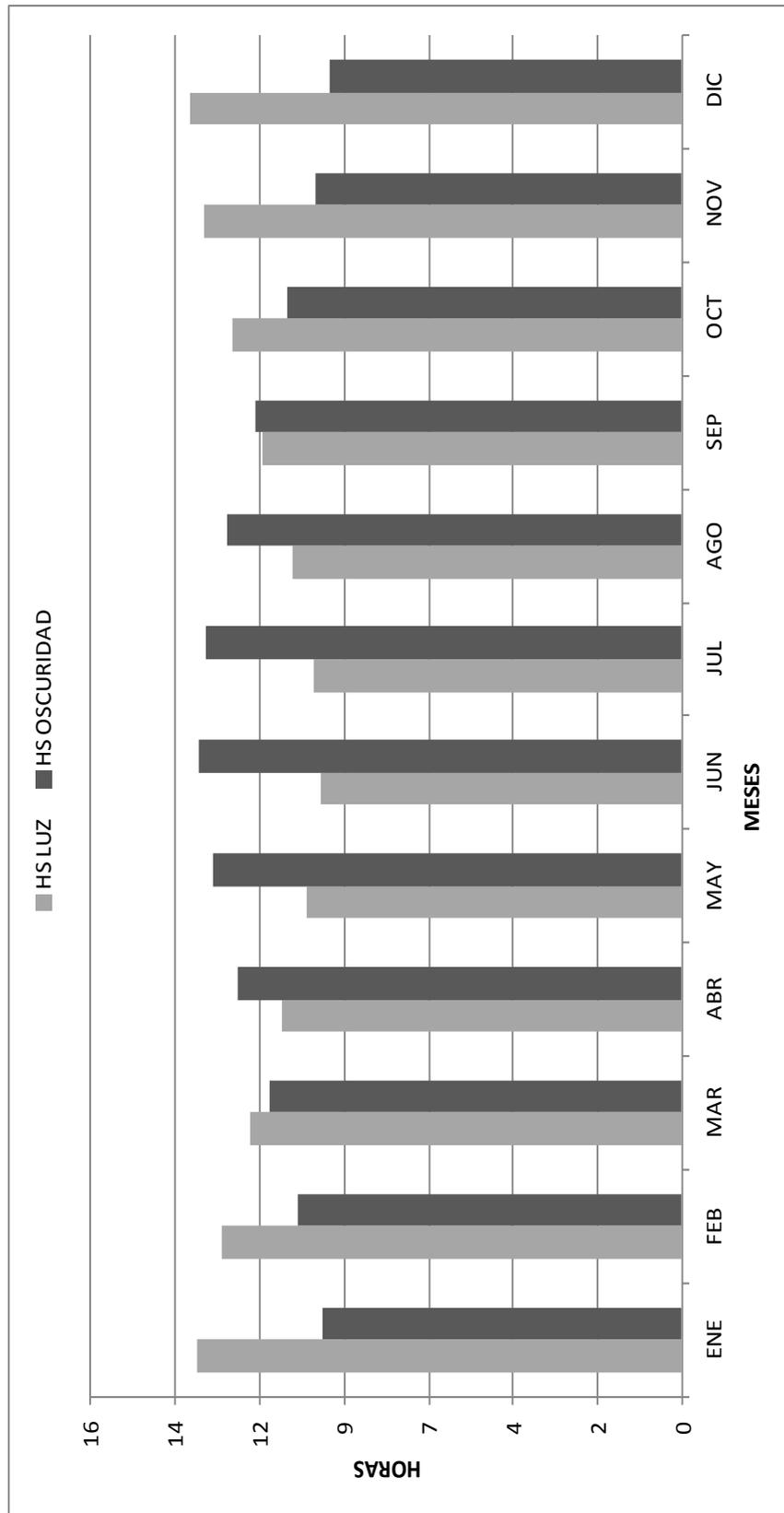


Figura 2.2. Esquema de distribución de larvas en las estufas luego de alimentarse.

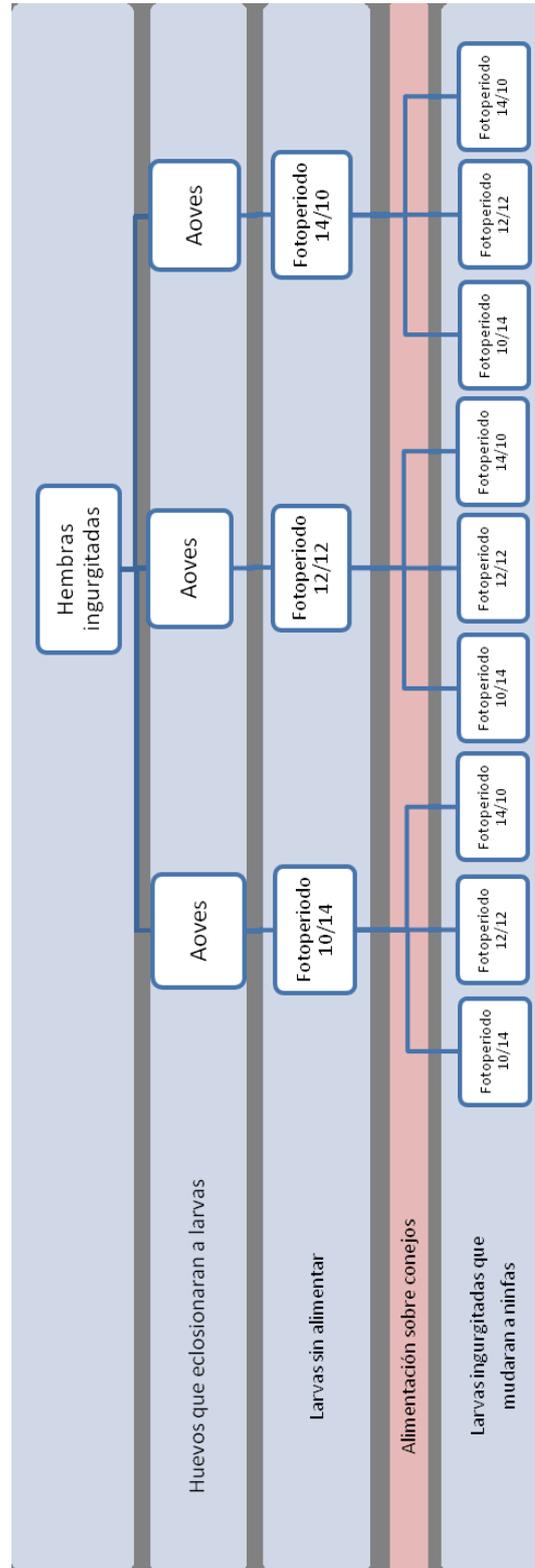


Figura 2.3. Esquema de distribución de ninfas en las estufas luego de alimentarse.

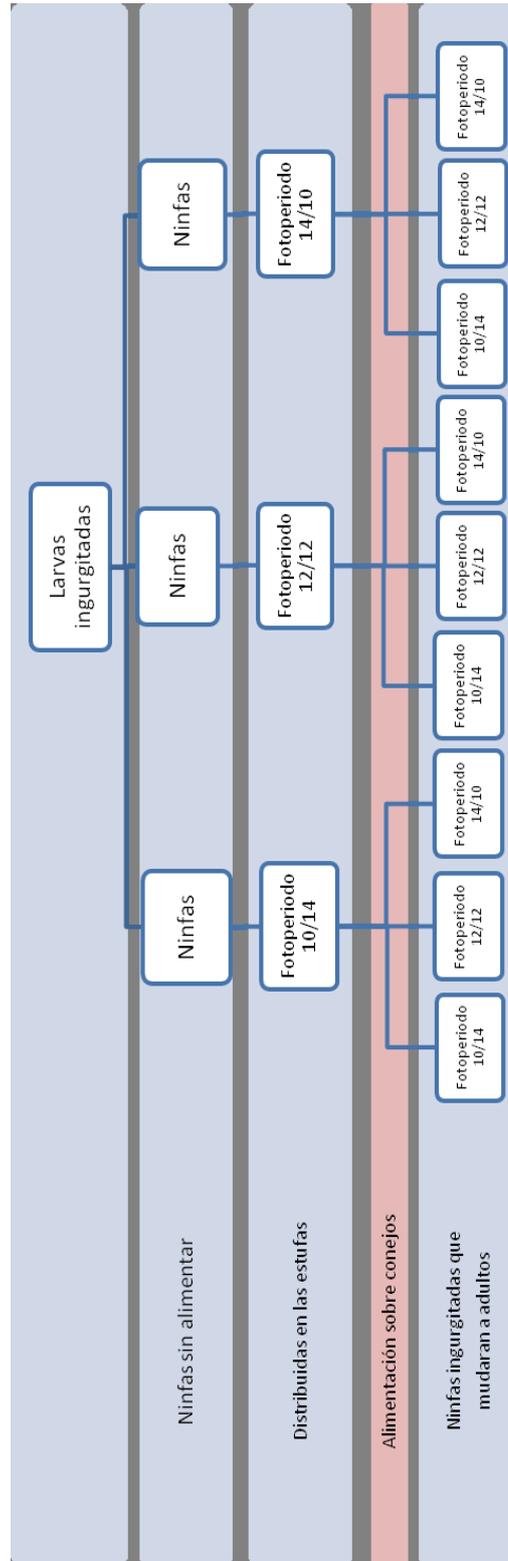


Figura 2.4. Esquema de distribución de hembras en las estufas luego de ingurgitarse.

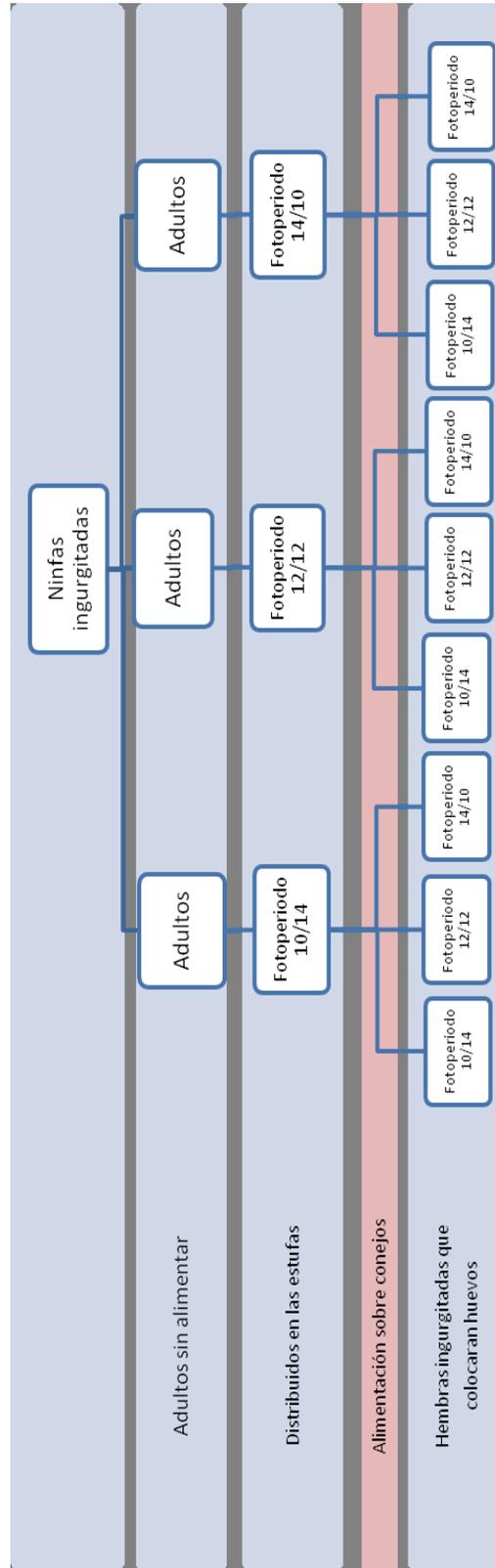


Figura 2.5. Sobres de malla metálica utilizados para las exposiciones de *Amblyomma dubitatum* en el campo.



## RESULTADOS

### Distribución estacional

De los 72 *H. hydrachaeis* examinados durante los 24 meses de muestreo se colectaron 7695 larvas, 3206 ninfas y 1871 hembras y 3548 machos de *A. dubitatum*. La prevalencia, abundancia media y mediana para larvas se muestran en la tabla 2.1, para ninfas en la tabla 2.2 y para hembras en la tabla 2.3, agrupadas según los meses de muestreo.

Las larvas fueron colectadas a lo largo de todo el año exceptuando el mes de diciembre, con picos de abundancia de mayo a julio (Figura 2.7). Las ninfas se colectaron en todos los muestreos, con picos de abundancia desde julio a octubre (Figura 2.8). Las hembras también fueron detectadas en todos los meses, con picos de abundancia desde noviembre a marzo (Figura 2.9). Para los tres estadios de *A. dubitatum* las diferencias en el número de garrapatas colectadas sobre carpinchos en los distintos meses fueron significativas (larvas  $P=0,000$ ; ninfas  $P=0,002$  y hembras  $P=0,000$ ). Cuando se compararon los porcentajes de prevalencias de larvas, ninfas y hembras entre las estaciones, se hallaron diferencias significativas ( $P=0,000$ ) entre larvas colectadas en primavera (prevalencia 16,7%) respecto de las demás estaciones (entre 77,8% y 100%), y entre hembras colectadas durante los meses de otoño (61,1%) e invierno (77,8%) que fueron significativamente diferentes ( $P=0,034$ ) respecto a las hembras de primavera y verano (94,4% en ambas estaciones). Para ninfas las diferencias entre estaciones no fueron significativas. (Tabla 2.4).

Durante los muestreos de garrapatas en su fase libre sobre la vegetación se colectaron larvas y un escaso número de ninfas pero no se hallaron adultos.

### Parámetros biológicos

Los periodos de premuda y pesos de ingurgitamiento en las diferentes condiciones de fotoperíodos de larvas y ninfas alimentadas sobre conejos en laboratorio se muestran en la tabla 2.5 y tabla 2.6, respectivamente. Tanto para larvas como para ninfas mantenidas en diferentes fotoperíodos en el laboratorio se encontraron diferencias significativas entre los grupos en los periodos de premuda (ANOVA<0,0001). Las larvas mostraron un periodo de premuda que varió entre 12 y 22 días ( $15,3\pm 0,09$ ) y las ninfas entre 20 y 22 días ( $21,7\pm 0,1$ ). Con respecto a los pesos de ingurgitamiento, las larvas mostraron una media de  $1,12\pm 0,003$  mg por individuo, y las ninfas pesaron en promedio  $18,9\pm 0,24$  mg cada una. Las diferencias en los pesos de ninfas que mudaron a adultos machos ( $15,8\pm 4,8$ ) o hembras ( $21,5\pm 3,7$ ) fue significativa ( $P<0,0001$ ). Los resultados correspondientes a los periodos preoviposición, periodos de incubación y pesos de hembras alimentadas sobre conejos en laboratorio expuestas a diferentes condiciones de fotoperíodos se muestran en la tabla 2.7. No se encontraron diferencias significativas (ANOVA=  $P>0,05$ ) entre los periodos de preoviposición y de incubación en relación a los distintos fotoperíodos a los que fueron mantenidas las hembras de *A. dubitatum* en las incubadoras. Las hembras mostraron un periodo de preoviposición que varió entre siete y 11 días (media:  $9,4\pm 0,2$ ) y un periodo de incubación que varió entre 36 y 41 días (media:  $39,5\pm 0,4$ ). El peso promedio de ingurgitamiento de las hembras fue  $507,9\pm 16,5$  mg.

Los resultados correspondientes al periodo de premuda de larvas y ninfas ingurgitadas expuestas en condiciones naturales en el sitio de estudio se muestran en las figuras 2.11 y 2.12, respectivamente. Los del periodo de preoviposición de hembras en la figura 2.13 y los del periodo de incubación de

los huevos en la figura 2.14.

El tiempo de premuda de las larvas expuestas en los meses de febrero y abril varió entre 30 y 35 días, mientras que el tiempo de premuda de las larvas expuestas en agosto, septiembre y noviembre varió entre 30 y 70 días. El periodo de premuda más extenso se observó en las larvas expuestas en el mes de junio, donde tardaron entre 80 y 130 días en mudar. En el caso de las ninfas, las expuestas en noviembre, diciembre y enero mudaron en 30 días aproximadamente, mientras que, las ninfas expuestas en el mes de agosto presentaron el mayor periodo de premuda (entre 70 y 100 días). Valores intermedios de premuda de ninfas se observaron en el mes de marzo y setiembre donde tardaron en mudar entre 30 y 60 días. Con respecto a las hembras, los periodos de preoviposición más cortos fueron en los meses de enero y abril (18 a 30 días), mientras que en las exposiciones realizadas en el mes de junio las hembras tardaron en oviponer entre 60 y 160 días. El período de incubación de los huevos de las hembras expuestas en enero fue de 30 a 70 días, las expuestas en abril presentaron un periodo de incubación de 30 días, mientras que las hembras expuestas en junio presentaron un periodo de incubación muy variable de 30 a 130 días.

Figura 2.7. Valores mensuales de la mediana del número de larvas de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre *Hydrochoerus hydrochaeris*, en los Esteros del Iberá.

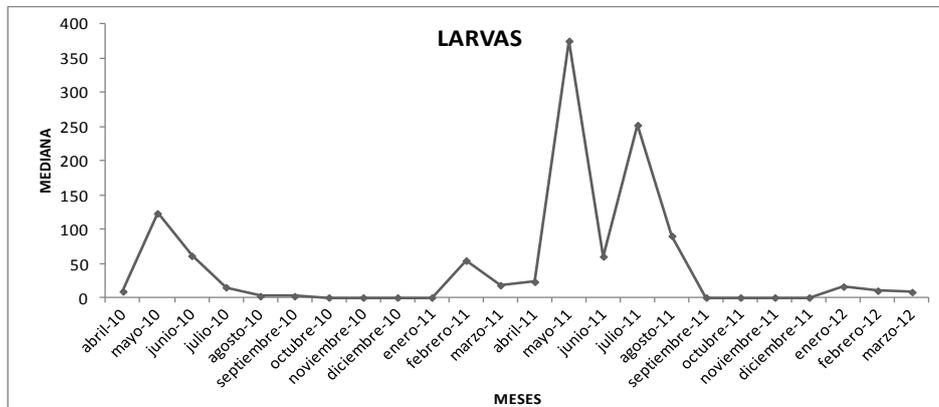


Figura 2.8. Valores mensuales de la mediana del número de ninfas de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre *Hydrochoerus hydrochaeris*, en los Esteros del Iberá.

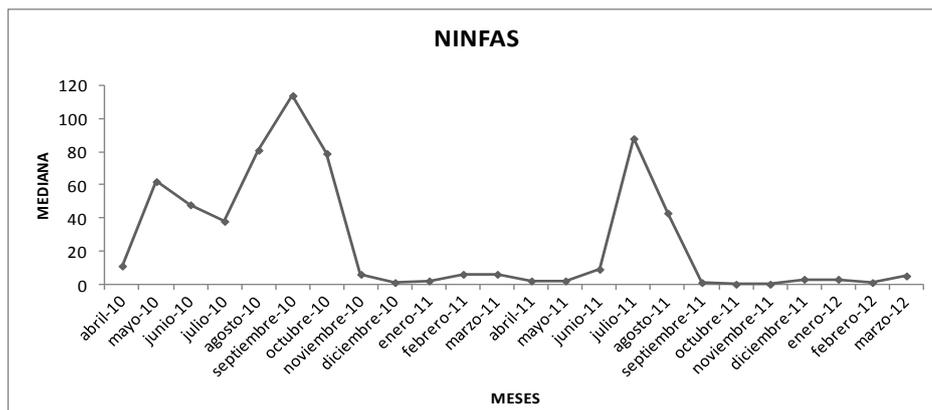


Figura 2.9. Valores mensuales de la mediana del número de hembras de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre *Hydrochoerus hydrochaeris*, en los Esteros del Iberá.

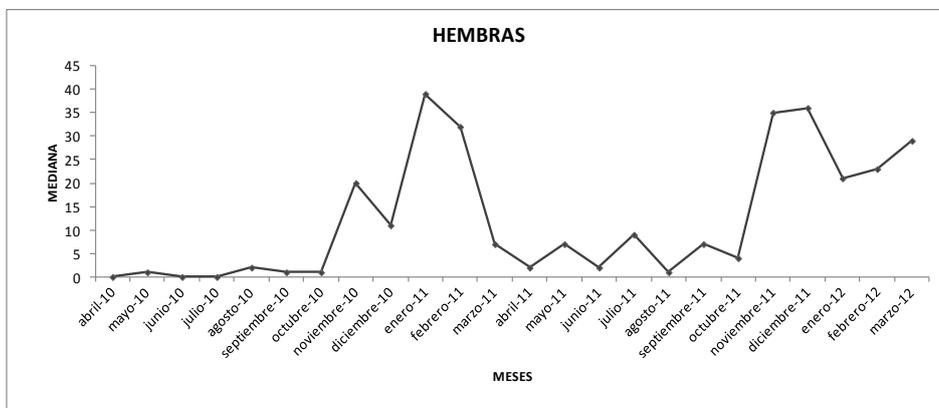


Tabla 2.1. Porcentaje de prevalencia (P), abundancia media (AM) con los intervalos de confianza del 95% (IC 95%), mediana (M) con el primer y tercer cuartil (1Q-3Q) de larvas de *Amblyomma dubitatum* colectadas según los meses sobre *Hydrochoerus hydrochaeris* en Esteros del Iberá, Corrientes.

MES	P (%)	AM* (IC 95%)	M (1Q-3Q)
ENERO	50	17 <sup>abc</sup> (2,67-36)	8 (0-32)
FEBRERO	83,3	58,33 <sup>abc</sup> (22,33-123,17)	29 (20-99)
MARZO	100	29,33 <sup>abc</sup> (12,5-64,67)	17,5 (6-35)
ABRIL	100	62,17 <sup>abc</sup> (24,5-113)	41 (17-130)
MAYO	100	540,33 <sup>c</sup> (203-1308,17)	327 (50-648)
JUNIO	100	105,5 <sup>bc</sup> (78,33-127,67)	104 (84-131)
JULIO	100	353,5 <sup>bc</sup> (138-705,83)	292 (30-457)
AGOSTO	83,3	90,17 <sup>abc</sup> (27-160,5)	77 (4-170)
SEPTIEMBRE	50	22 <sup>abc</sup> (0,67-52)	2 (0-56)
OCTUBRE	33,3	4 <sup>ab</sup> (0-11,67)	0 (0-2)
NOVIEMBRE	16,7	0,17 <sup>a</sup> (0-0,33)	0 (0-0)
DICIEMBRE	0	0 <sup>a</sup> (0-0)	0 (0-0)

\*Kruskal-Wallis con test de Dunn. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes (P<0,05).

Tabla 2.2. Porcentaje de prevalencia (P), abundancia media (AM) con los intervalos de confianza del 95% (IC 95%), mediana (M) con el primer y tercer cuartil (1Q-3Q) de ninfas de *Amblyomma dubitatum* colectadas según los meses sobre *Hydrochoerus hydrochaeris* en Esteros del Iberá, Corrientes.

MES	P (%)	AM* (IC 95%)	M (1Q-3Q)
ENERO	66,7	2,83 <sup>ab</sup> (1-5,33)	2,5 (0-4)
FEBRERO	83,3	6,5 <sup>a</sup> (2-18,17)	3 (1-6)
MARZO	100	9,83 <sup>ab</sup> (5,33-13,33)	10,5 (7-13)
ABRIL	83,3	10,83 <sup>ab</sup> (3,5-20,17)	6,5 (3-20)
MAYO	100	49 <sup>ab</sup> (8,5-106,67)	14,5 (4-104)
JUNIO	100	29,33 <sup>ab</sup> (11,83-47,33)	25,5 (5-56)
JULIO	100	94,17 <sup>ab</sup> (62,5-121,33)	94 (76-116)
AGOSTO	100	148,83 <sup>c</sup> (88,67-276,33)	114 (65-160)
SEPTIEMBRE	83,3	92,67 <sup>ab</sup> (24,33-193,83)	61 (2-143)
OCTUBRE	66,7	80,83 <sup>ab</sup> (17-156,33)	49,5 (0-166)
NOVIEMBRE	66,7	5,33 <sup>ab</sup> (2-8,33)	6 (0-8)
DICIEMBRE	83,3	4,17 <sup>a</sup> (1,5-6,67)	4 (1-7)

\*Kruskal-Wallis con test de Dunn. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes (P<0,05).

Tabla 2.3. Porcentaje de prevalencia (P), abundancia media (AM) con los intervalos de confianza del 95% (IC 95%), mediana (M) con el primer y tercer cuartil (1Q-3Q) de hembras de *Amblyomma dubitatum* colectadas según los meses sobre *Hydrochoerus hydrochaeris* en Esteros del Iberá, Corrientes.

MES	P (%)	AM* (IC 95%)	M (1Q-3Q)
ENERO	100	74,17 <sup>c</sup> (46,33-103,5)	73 (36-108)
FEBRERO	100	53 <sup>c</sup> (35,5-93,67)	45 (33-54)
MARZO	83,3	47,5 <sup>ab</sup> (19,33-84,33)	37 (14-88)
ABRIL	50	1,67 <sup>a</sup> (0,33-3,17)	1 (0-3)
MAYO	83,3	10,5 <sup>ab</sup> (4-17,5)	10 (2-18)
JUNIO	50	6,83 <sup>ab</sup> (1,33-17,17)	2 (0-8)
JULIO	50	9 <sup>ab</sup> (1,67-23,33)	4,5 (0-10)
AGOSTO	100	4,17 <sup>ab</sup> (2,33-6)	4 (2-6)
SEPTIEMBRE	83,3	9,17 <sup>ab</sup> (3,67-18,83)	7,5 (1-12)
OCTUBRE	83,3	6 <sup>ab</sup> (1,83-11,5)	3 (1-13)
NOVIEMBRE	100	52,33 <sup>c</sup> (29,17-77,67)	49,5 (27-74)
DICIEMBRE	100	37,5 <sup>ab</sup> (19,33-51,83)	40,5 (19-58)

\*Kruskal-Wallis con test de Dunn. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Tabla 2.4. Prevalencia estacional (%) por estadio de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre *Hydrochoerus hydrochaeris* de los dos años de muestreo.

	LARVAS	NINFAS	HEMBRAS
VERANO	77,8 <sup>a</sup>	83,3 <sup>a</sup>	94,4 <sup>b</sup>
OTOÑO	100 <sup>a</sup>	94,4 <sup>a</sup>	61,1 <sup>a</sup>
INVIERNO	77,8 <sup>a</sup>	94,4 <sup>a</sup>	77,8 <sup>a</sup>
PRIMAVERA	16,7 <sup>b</sup>	72,2 <sup>a</sup>	94,4 <sup>b</sup>

Test de Fisher. Valores seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Tabla 2.5. Periodos de premuda (días) y peso (mg) (media  $\pm$  desvío estándar) de larvas de *Amblyomma dubitatum* expuestas en laboratorio a  $25 \pm 1$  °C y  $85 \pm 5$  % de humedad relativa, a diferentes condiciones de fotoperíodos previos y post alimentación. n= número de garrapata.

Fotoperíodo previo / post alimentación	n	Peso (Rango)	Periodo de premuda* (Rango)
10 L-14 O / 10 L-14 O	250	1,12 $\pm$ 0,009 (0,89-1,37)	14,26 <sup>d</sup> $\pm$ 0,15 (12-22)
10 L-14 O / 12 L-12 O	180	1,16 $\pm$ 0,009 (0,83-1,35)	15,32 <sup>c</sup> $\pm$ 0,23 (12-23)
10 L-14 O / 14 L-10 O	114	1,005 $\pm$ 0,016 (0,83-1,31)	14,0 <sup>d</sup> $\pm$ 0,21 (12-22)
12 L-12 O / 10 L-14 O	61	1,062 $\pm$ 0,008 (1-1,14)	21,78 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,35 (16-31)
12 L-12 O / 12 L-12 O	221	1,148 $\pm$ 0,006 (1,04-1,28)	21,19 <sup>b</sup> $\pm$ 0,21 (16-34)
12 L-12 O / 14 L-10 O	252	1,072 $\pm$ 0,005 (1,01-1,23)	22,51 <sup>a</sup> $\pm$ 0,18 (17-35)
14 L-10 O / 10 L-14 O	605	1,117 $\pm$ 0,004 (0,95-1,29)	12,94 <sup>e</sup> $\pm$ 0,07 (12-21)
14 L-10 O / 12 L-12 O	321	1,224 $\pm$ 0,007 (0,91-1,51)	12,51 <sup>f</sup> $\pm$ 0,05 (12-19)
14 L-10 O / 14 L-10 O	311	1,072 $\pm$ 0,008 (0,83-1,32)	12,46 <sup>f</sup> $\pm$ 0,06 (12-19)

\*ANOVA con test de Tukey. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Tabla 2.6. Periodos de premuda (días) y peso (mg) (media  $\pm$  desvío estándar) de ninfas de *Amblyomma dubitatum* expuestas en laboratorio a  $25 \pm 1$  °C y  $85 \pm 5$  % de humedad relativa, a diferentes condiciones de fotoperiodos previos y post alimentación. n= número de garrapatas

Fotoperíodo previo / post alimentación	n	Peso (Rango)	Periodo de premuda de ninfas* (rango)
10 L-14 O / 10 L-14 O	47	18,2 $\pm$ 0,615 (9,9-25,8)	22,19 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,41 (18-28)
10 L-14 O / 12 L-12 O	45	18,3 $\pm$ 0,651 (11-25,9)	20,11 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,27 (18-28)
10 L-14 O / 14 L-10 O	46	17,88 $\pm$ 0,738 (7-28,2)	22,3 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,34 (18-28)
12 L-12 O / 10 L-14 O	42	17,24 $\pm$ 0,781 (9,5-25,5)	21,64 <sup>abc</sup> $\pm$ 0,28 (20-27)
12 L-12 O / 12 L-12 O	46	17,62 $\pm$ 0,719 (8,9-26,8)	20,52 <sup>c</sup> $\pm$ 0,22 (18-27)
12 L-12 O / 14 L-10 O	49	18,19 $\pm$ 0,77 (8,4-30,3)	22,65 <sup>a</sup> $\pm$ 0,27 (20-31)
14 L-10 O / 10 L-14 O	39	18,96 $\pm$ 0,852 (9,2-28,5)	22,38 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,31 (20-26)
14 L-10 O / 12 L-12 O	38	19,17 $\pm$ 0,774 (10,3-27,4)	20,55 <sup>c</sup> $\pm$ 0,23 (17-25)
14 L-10 O / 14 L-10 O	37	19,47 $\pm$ 0,656 (11,6-25,4)	22,37 <sup>ab</sup> $\pm$ 0,25 (21-27)

\*ANOVA con test de Tukey. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes (P < 0,05).

Tabla 2.7. Periodo preoviposición, periodo de incubación (días) y peso (mg) (media  $\pm$  desvío estándar) de hembras de *Amblyomma dubitatum* expuestas en laboratorio a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  y  $85 \pm 5\%$  de humedad relativa, a diferentes condiciones de fotoperiodos previos y post alimentación. n= número de garrapatas.

Fotoperíodo previo / post alimentación	n	Peso (Rango)	Periodo de preoviposición* (rango)	Periodo de incubación* (rango)
10 L-14 O / 10 L-14 O	18	443,77 $\pm$ 36,9 (181,9-817,1)	9,0 <sup>a</sup> $\pm$ 0,68 (4-13)	38,88 <sup>a</sup> $\pm$ 1,22 (27-46)
10 L-14 O / 12 L-12 O	16	476,53 $\pm$ 39,1 (254,7-686,4)	8,80 <sup>a</sup> $\pm$ 0,50 (5-12)	40,93 <sup>a</sup> $\pm$ 0,90 (35-46)
10 L-14 O / 14 L-10 O	15	500,6 $\pm$ 43,3 (280,8-906,9)	11,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,43 (5-26)	38,92 <sup>a</sup> $\pm$ 1,72 (28-54)
12 L-12 O / 10 L-14 O	11	573,5 $\pm$ 78,8 (128,6-933,9)	9,66 <sup>a</sup> $\pm$ 0,94 (5-15)	39,80 <sup>a</sup> $\pm$ 1,97 (31-51)
12 L-12 O / 12 L-12 O	10	508,5 $\pm$ 69,3 (227,2-796,9)	9,77 <sup>a</sup> $\pm$ 0,86 (6-14)	39,11 <sup>a</sup> $\pm$ 1,37 (34-48)
12 L-12 O / 14 L-10 O	9	443,4 $\pm$ 55,9 (142,7-669,8)	10,25 <sup>a</sup> $\pm$ 1,09 (7-17)	40,0 <sup>a</sup> $\pm$ 2,79 (31-53)
14 L-10 O / 10 L-14 O	16	563,1 $\pm$ 43,1 (372,3-901,8)	7,8 <sup>a</sup> $\pm$ 0,49 (5-12)	38,20 <sup>a</sup> $\pm$ 1,37 (31-50)
14 L-10 O / 12 L-12 O	10	390,7 $\pm$ 56,1 (179,9-743,2)	8,66 <sup>a</sup> $\pm$ 0,78 (4-13)	38,55 <sup>a</sup> $\pm$ 1,77 (32-49)
14 L-10 O / 14 L-10 O	13	515,2 $\pm$ 68,1 (139,9-80,6)	10,25 <sup>a</sup> $\pm$ 0,98 (6-17)	41,0 <sup>a</sup> $\pm$ 1,74 (29-51)

\*ANOVA con test de Tukey. Números seguidos por distintas letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Figura 2.11. Periodos de premuda mínimos (PPM-) y máximos (PPM+) en días de larvas de *Amblyomma dubitatum* expuestas en condiciones naturales en Esteros del Iberá, Corrientes.

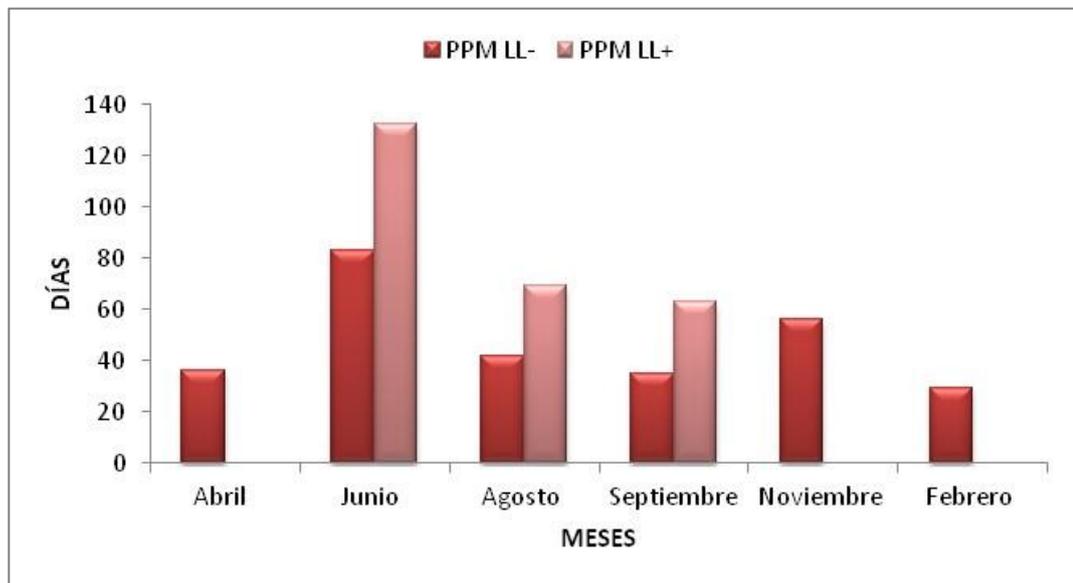


Figura 2.12. Periodos de premuda mínimos (PPM-) y máximos (PPM+) en días de ninfas de *Amblyomma dubitatum* expuestas en condiciones naturales en Esteros del Iberá, Corrientes.

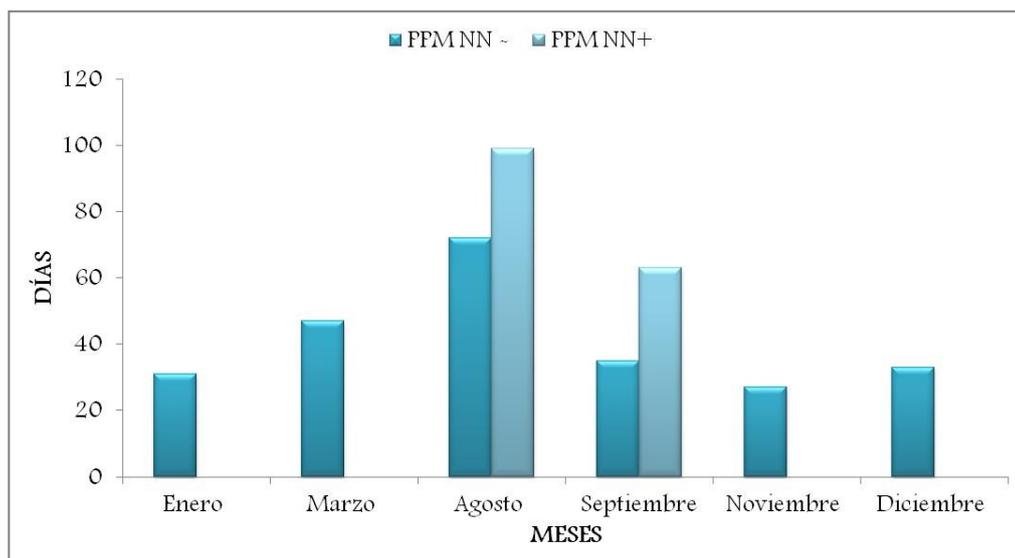


Figura 2.13. Periodos de preoviposición mínimos (PPA-) y máximos (PPA+) en días de hembras de *Amblyomma dubitatum* expuestas en condiciones naturales en Esteros del Iberá, Corrientes.

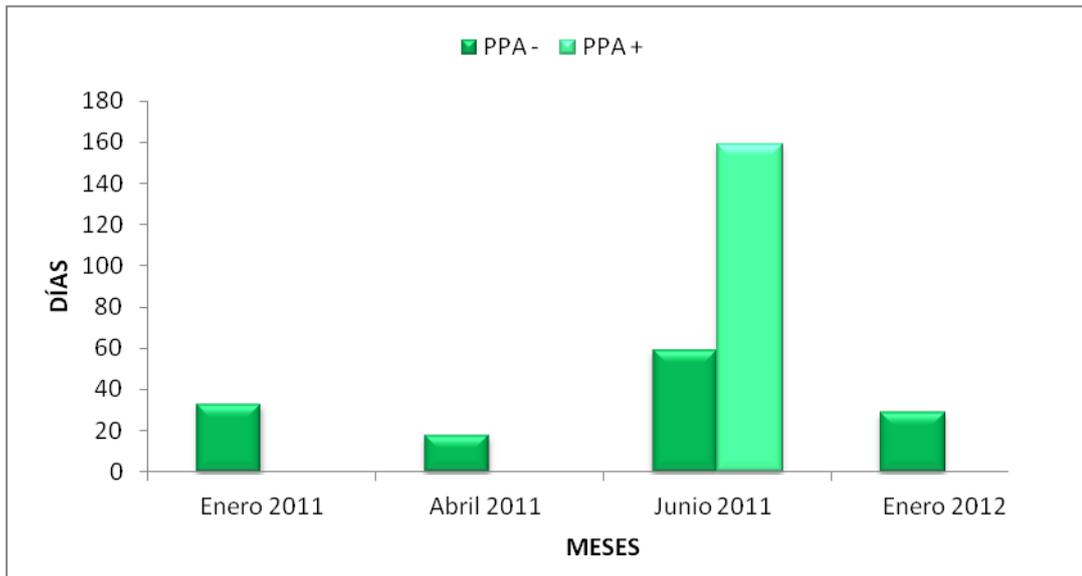
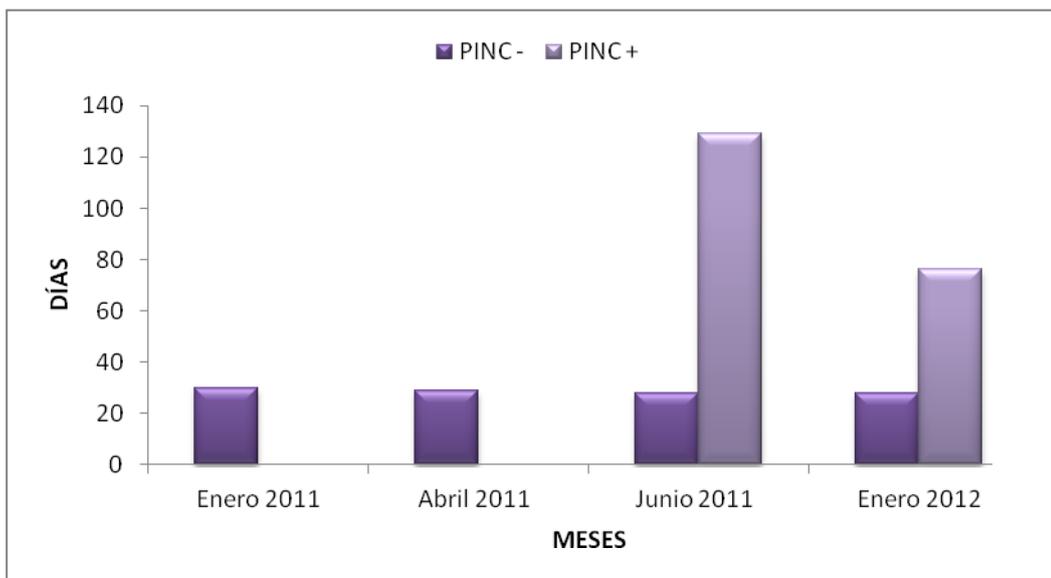


Figura 2.14. Periodos de incubación mínimos (PINC-) y máximos (PINC+) de hembras de *Amblyomma dubitatum* expuestas en condiciones naturales en Esteros del Iberá, Corrientes.



## DISCUSIÓN

La infestación de *H. hydrochaeris* con larvas de *A. dubitatum* se observó a lo largo de todo el año, con picos de abundancia en otoño e invierno, la mayor infestación se registró en mayo, siendo en este mes donde las garrapatas fueron significativamente más abundante en los dos años estudiados (Kruskal-Wallis  $P < 0,05$ ). Las ninfas se registraron de forma continua en los dos años de muestreo. Los mayores picos de abundancia se observaron en invierno, y los meses de mayor infestación fueron julio y agosto, siendo este último el mes de mayor abundancia significativa en ambos años (Kruskal-Wallis  $P < 0,05$ ). Al igual que los estadios inmaduros, las hembras se hallaron sobre *H. hydrochaeris* durante todos los meses del año. Los mayores picos de abundancia se registraron en primavera y verano y los meses de mayor abundancia fueron noviembre, enero y febrero, con diferencias significativas con respecto a los meses (Kruskal-Wallis  $P < 0,05$ ). Estos resultados difieren de los hallados por Szabó et al. (2007a) y por Souza et al. (2006), ya que en Brasil, los picos de abundancia de los adultos de *A. dubitatum* en el ambiente se observaron en otoño e invierno. Estas diferencias podrían deberse, por un lado, a las diferencias latitudinales entre los sitios donde se realizaron los muestreos y por otro lado, a cuestiones metodológicas.

Los resultados obtenidos durante los muestreos de *A. dubitatum* en su estado no parasítico, no aportaron datos suficientes para el conocimiento de la estacionalidad de todos los estadios de la fase de vida libre de esta garrapata. Una de las posibles causas es que la técnica de muestreo empleada (dragging) no sería la más adecuada para esta especie de garrapata. Esto indicaría la

necesidad de utilizar otras técnicas complementarias de muestreo para tratar de inferir la estacionalidad de esta garrapata, como por ejemplo, las trampas de CO<sub>2</sub> como utilizaron en Brasil (Szabó et al., 2007a, 2009). Otra posible causa sería la alta disponibilidad de hospedadores en el área de estudio que estarían colectando las garrapatas del ambiente con mayor efectividad que el arrastre del paño sobre la vegetación (Randolph y Steele 1985).

No se registraron diferencias significativas para los periodos de preoviposición ni en los periodos de incubación entre los grupos de hembras expuestas a los distintos regímenes de fotoperíodo en condiciones de laboratorio (Tabla 2.7). Las diferencias entre los grupos de ninfas fueron estadísticamente significativas (Tabla 2.6), pero carecen de significancia biológica, ya que los extremos en el rango de la media del periodo de premuda difieren solo por 2,0 días. Por otro lado, se detectaron diferencias significativas en los periodos de premuda de larvas entre los grupos expuestos a diferentes regímenes de fotoperíodos (Tabla 2.5). De acuerdo a los datos obtenidos en este estudio, el periodo de premuda de larvas puede ser influenciado por condiciones de fotoperíodo bajo el cual las larvas fueron mantenidas previamente a su alimentación, indistintamente de las condiciones a las que fueron expuestas luego de ingurgitarse sobre conejos. Este comportamiento también ha sido registrado en otras especies de garrapatas como *Ixodes ricinus* y *Haemaphysalis concinna* (Belozarov 1967, 1969). Los menores tiempos de premuda se observaron en larvas que provenían del fotoperíodo 14h (L)-10h (O) antes de alimentarse, con una media de  $12,7 \pm 0,04$  días, mientras que aquellas que tuvieron un periodo más largo fueron larvas que estuvieron expuestas a condiciones de 12h (L)-12h (O) previo al ingurgitamiento, con medias de  $21,9 \pm 0,1$  días. Aunque las diferencias estadísticas fueron significativas, 10 días

de diferencia carecen de importancia a nivel biológico.

Larvas y ninfas ingurgitadas expuestas en las cuatro estaciones del año en el campo mudaron a ninfas y adultos, respectivamente. Los mayores periodos de premuda se observaron en exposiciones realizadas en la estación fría, donde las larvas retrasaron su muda hasta el comienzo de la primavera y las ninfas hasta el fin de la misma estación. Las hembras ingurgitadas expuestas en todas las estaciones colocaron huevos que eclosionaron. Al igual que los estadios inmaduros, los mayores retrasos en el periodo de preoviposición y de incubación se observaron en las exposiciones realizadas en el invierno, que resultaron en larvas activas en el verano. Esto indicaría que las bajas temperaturas son un factor limitante para el desarrollo de los inmaduros y de los adultos de *A. dubitatum* retrasando el pasaje de un estado a otro. Similares resultados fueron hallados por Odgen et al. (2004) en estudios sobre *Ixodes scapularis*, donde concluyen que los cambios en las temperaturas son la principal causa de los retrasos en el desarrollo de esta garrapata. Si se tiene en cuenta que, diapausa es definida como un estado pre-adaptativo mediado neurohormonalmente, de baja actividad metabólica, en respuesta a estímulos ambientales que precede a condiciones desfavorables (Belozero 1982; Oliver 1989), mientras que quiescencia, es un tipo de inactividad o retraso causado por condiciones ambientales adversas, sin regulación hormonal, que finaliza cuando retornan las condiciones favorables (Dautel et al. 2008), los “retrasos” en los periodos de pre-muda de larvas y ninfas, como así también, en los periodos de pre-oviposición e incubación de las hembras de *A. dubitatum*, que se observan en las exposiciones a campo, podrían explicarse como un estado de quiescencia más que como una diapausa. Esta idea se ve reforzada por los datos obtenidos bajo condiciones controladas en el laboratorio, donde esta prolongación en los

tiempos de desarrollo de *A. dubitatum* no fue registrada, ni en este estudio ni en otros realizados sobre esta garrapata.

Sintetizando lo mencionado anteriormente, podemos decir que el ciclo biológico de *A. dubitatum* en la naturaleza, bajo las condiciones de los humedales en la provincia de Corrientes, se define por la presencia de larvas desde mediados de verano a finales de invierno, con picos de abundancia en otoño y principios de invierno, que originarán ninfas que estarán presentes desde otoño hasta comienzo de la primavera. Estas ninfas mudarán secuencialmente a garrapatas adultas que se encontrarán sobre los hospedadores desde mediados de primavera hasta finales del verano. Teniendo en cuenta los periodos de preoviposición obtenidos en garrapatas expuestas en el laboratorio y en el campo, se deduce que las hembras que se alimentan e ingurgitan en este periodo, pondrán sus huevos en verano y otoño a partir de los cuales emergerán las larvas que comenzarán a estar activas en mayor abundancia en otoño e invierno.

Este patrón representa un ciclo de vida con una generación por año donde la mayoría de las garrapatas alcanzan la edad adulta durante los meses más cálidos, lo cual es similar a lo informado para otras especies neotropicales de *Amblyomma* como *A. cajennense* y *A. parvum* (Guglielmone et al. 1990; Labruna et al. 2002; Oliveira et al. 2003; Nava et al. 2008b). Sin embargo, se encontró tanto inmaduros como adultos de *A. dubitatum* parasitando *H. hydrochaeris* lo largo de todo el año (la única excepción es la ausencia de larvas en diciembre), así como las exposiciones en el ambiente de las garrapatas inmaduras y adultas demostraron que la muda, la oviposición y eclosión de los huevos se producen durante todo el año, independientemente de la estación climática. Estos resultados indican que, aunque *A. dubitatum* tendría un ciclo

de vida de un año, más de una cohorte puede coexistir dentro de la misma población en un cierto intervalo de tiempo. La presencia de diferentes cohortes en el mismo año ya ha sido sugerido para otras especies de garrapatas duras, como por ejemplo *I. ricinus* (Walker 2001), *D. variabilis* (Burg 2001), *A. neumanni* (Nava et al. 2009a) y *A. tigrinum* (Nava et al. 2009b).

## CAPITULO III

“Análisis de la Infestación Natural de *Amblyomma dubitatum* en Relación a Atributos de su Principal Hospedador, *Hydrochoerus hydrochaeris* (Rodentia: Caviidae, Hydrochoerinae)”

## INTRODUCCIÓN

Los macroparásitos se encuentran sujetos tanto al ambiente externo como a aquel representado por su hospedador (Hugot 2006). La interfase parásito-hospedador es gobernada por distintos factores que usualmente se traducen en cargas parasitarias con un patrón de distribución binomial negativa (Wilson et al. 1996; Shaw et al. 1998). El conocimiento de los factores que determinan esta distribución es necesario para entender la dinámica de la interacción parásito-hospedador. En este sentido, atributos individuales de los hospedadores como masa corporal, tamaño del cuerpo, sexo y condición fisiológica, se encuentran entre los factores determinantes de la distribución heterogénea de los parásitos dentro de las poblaciones de hospedadores (Pacala y Dobson 1988; Mooring et al. 1996; Hughes y Randolph 2001; Klein 2004; Krasnov et al. 2004; Krist et al. 2004; Krasnov et al. 2005; Poulin y Nascimento 2007; Brunner y Ostfeld 2008; Patterson et al. 2008).

Las garrapatas duras (Acari: Ixodidae) son ectoparásitos hematófagos de anfibios, reptiles, aves y mamíferos, incluyendo humanos y animales domésticos. Estos parásitos afectan la dinámica de población de sus hospedadores debido a la transmisión de microorganismos patógenos o por los efectos del parasitismo *per se*. *A. dubitatum* es una especie de garrapata dura que se distribuye en Sudamérica en áreas asociadas a humedales y cursos de agua (Nava et al. 2010). A pesar de que *A. dubitatum* fue registrada parasitando varias especies de mamíferos y una especie de ave (Nava et al. 2010; Dantas Torres et al. 2010; Debárbora et al. 2012), el principal hospedador para todos los estadios parasíticos de esta garrapata es *H. hydrochaeris* (Nava et al. 2010).

Los estudios previos sobre la ecología de *A. dubitatum* fueron enfocados principalmente sobre el ciclo biológico en condiciones naturales y de laboratorio, registros de la asociación parásito-hospedador y distribución biogeográfica (Almeida et al. 2001; Chacon et al. 2004; Labruna et al. 2004b; Nava et al. 2010; Dantas-Torres et al. 2010; Debárhora et al. 2012, 2014) pero los análisis cuantitativos concernientes a la infestación natural de *A. dubitatum* sobre su principal hospedador son inexistentes. El artículo de Corriale et al. (2013) en Argentina constituye la única excepción en este aspecto. La prevalencia de la infestación natural de *A. dubitatum* sobre *H. hydrochaeris* en la provincia de Corrientes encontrada por Corriale et al. (2013) fue alta (cercana al 95%) pero los resultados de este trabajo son difíciles de interpretar debido a que los estadios de las garrapatas analizadas no fueron especificado por estos autores.

Es reconocido que la asociación *H. hydrochaeris*-*A. dubitatum* es un fenómeno ubicuo a lo largo del área de distribución de esta garrapata, por ello el análisis de la relación entre *A. dubitatum* y *H. hydrochaeris* se puede utilizar para llevar a cabo análisis ecológicos sobre los patrones que caracterizan a una relación altamente específica entre hospedadores y parásitos. De acuerdo a lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue describir y analizar los niveles de infestación natural de *A. dubitatum* en relación a atributos específicos individuales de *H. hydrochaeris* como sexo, masa corporal y condición corporal. Además, fue evaluado el patrón de distribución espacial de *A. dubitatum* sobre *H. hydrochaeris* a fin de determinar si cada estadio parasítico tiene preferencia por algún área corporal del hospedador y el grado en el que estas preferencias se superponen entre los estadios.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los muestreos de *A. dubitatum* parasitando *H. hydrochaeris* fueron realizados mensualmente desde abril de 2010 a marzo de 2012 en la Estancia Rincón del Socorro, en la provincia de Corrientes, Argentina. El área de estudio se ubica dentro del macrosistema Esteros de Iberá (Ver sección “Área de estudio”). Los especímenes de *H. hydrochaeris* fueron sacrificados durante un programa de control de superpoblación con el permiso de la Dirección de Recursos naturales de la provincia de Corrientes. Larvas, ninfas y adultos de *A. dubitatum* fueron determinados siguiendo a Joan (1930), Guglielmone y Viñabal (1994) y Martins et al. (2010). Se cuantificaron todas las garrapatas adultas pero los conteos de larvas y ninfas fueron realizados considerando solo los especímenes ingurgitados. Para contabilizar las garrapatas, se dividió el cuerpo de cada individuo de *H. hydrochaeris* en cinco partes anatómicas (áreas I a V), como se detalla en la fig. 3.1, y fue registrado el sitio de fijación de cada garrapata.

Se calculó prevalencia (número de hospedadores infestados/número de hospedadores examinados), media (con el 95% de intervalo de confianza bootstrap) y la mediana (con el primer y tercer cuartil) de la infestación para larvas, ninfas y adultos de *A. dubitatum* asociados a *H. hydrochaeris*, como así también para adultos e inmaduros agrupados juntos. El test no paramétrico de Kruskal-Wallis se utilizó para comparar la distribución de cada estadio sobre la población de *H. hydrochaeris* y la prevalencia se comparó usando el test exacto de Fisher. Además se realizó la prueba U de Mann-Whitney para determinar la significancia estadísticas de las diferencias en la distribución de cada estadio

entre machos y hembras de *H. hydrochaeris* y el test exacto de Fisher para comparar las prevalencias entre ambos sexos. Para examinar el nivel de agregación de *A. dubitatum* sobre la población de *H. hydrochaeris*, se aplicó el índice de discrepancia ( $D$ ) y el parámetro  $k$  (Krebs 1999) que fueron estimados usando Quantitative Parasitology 3.0 (Rózsa et al. 2000). En el índice  $D$ , 0 constituye agregación nula (todos los hospedadores con igual infestación) y 1 agregación completa (todos los miembros de una población de parásitos sobre un único hospedador) (Poulin 1993, 2007). El parámetro  $k$  puede ser usado como un índice inverso de agregación, cuando mayor es  $k$ , menor es la agregación (Krebs 1999).

La distribución de las garrapatas entre las diferentes áreas anatómicas de los hospedadores fue evaluada con Kruskal-Wallis seguido por el test de Dunn para comparaciones múltiples de a pares (Zar 1999). Adicionalmente, la distribución anatómica de todos los estadios parasíticos de *A. dubitatum* fueron analizados mediante las medidas de amplitud de nicho estandarizado de Levins ( $B_s$ ) y de solapamiento de nicho de Pianka ( $O_{XY}$ ) siguiendo la descripción presentada en Krebs (1999). En estos análisis, cada área anatómica de *H. hydrochaeris* (ver fig. 3.1) fue considerado como un estado de recurso, y cada estadio (larvas, ninfas y adultos) de *A. dubitatum* fue considerado como una unidad independiente. El rango de  $B_s$  va de 0 (mínima amplitud de nicho) hasta 1 (igual número de individuos ocurre en cada estado de recurso) y  $O_{XY}$  también con rangos desde 0 (ningún recurso usado en común) a 1 (solapamiento completo) (Krebs 1999).

La fórmula para calcular la medida de amplitud de nicho de Levins es:

$$B = \frac{1}{\sum P_j^2}$$

donde  $B$  es la medida de amplitud de nicho,  $P_j$  es la proporción de garrapatas colectadas de el área corporal  $j$ . Dado que  $B$  no sigue una distribución normal se estandariza  $B$  a  $B_s$  con la siguiente fórmula:

$$B_s = \frac{B - 1}{n - 1}$$

donde  $n$  es el número de áreas corporales del hospedador.

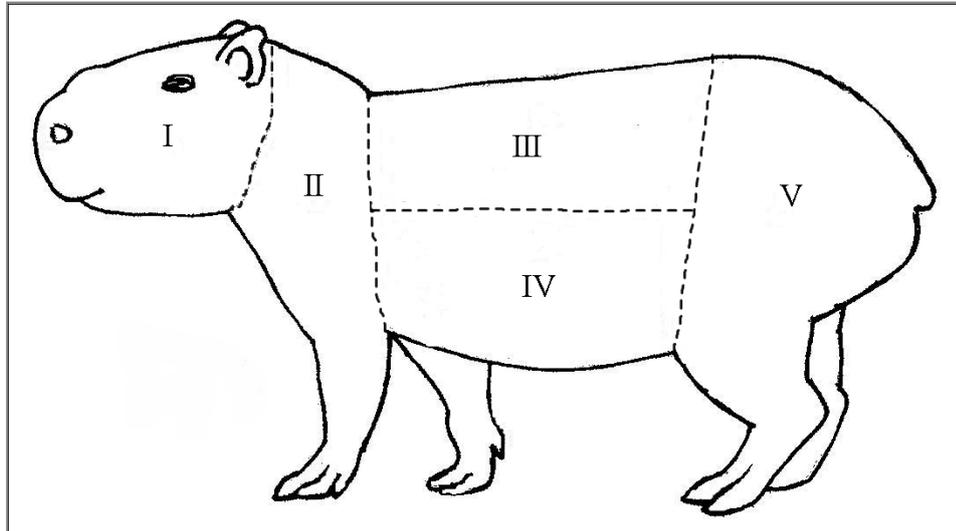
La medida de Pianka es una medida simétrica de solapamiento de nichos, donde el solapamiento entre la especie A y la especie B es idéntico al solapamiento entre la especie B y la especie A:

$$O_{xy} = \frac{\sum_j^n P_{jx} P_{jy}}{\sqrt{\sum_j^n P_{jx}^2 \sum_i^n P_{iy}^2}}$$

donde  $O_{xy}$  es la medida de solapamiento de nicho entre el estadio de vida de la garrapata  $x$  y el estadio de la garrapata  $y$ ,  $P_{jx}$  es la densidad relativa proporcional del estadio de la garrapata  $x$  sobre el área corporal  $j$  (densidad relativa de este estadio sobre el área corporal  $j$  dividido por el número total de este estadio sobre todo el hospedador),  $P_{jy}$  es la densidad relativa proporcional del estadio de vida de la garrapata  $y$  sobre el área corporal  $j$  y  $n$  es el número de áreas corporales.

Se determinaron los índices de condición corporal y masa corporal (peso/largo total) de los especímenes examinados de *H. hydrochaeris*. El índice de condición corporal (pélvica y torácica) fue estimado siguiendo a Eberhard et al. (2013) por palpación de la grasa y músculo que se encuentra sobre las vértebras torácicas y los huesos pélvicos. En ambas áreas corporales se determinaron los índices sobre una escala que va entre 1 y 5. Además se realizó un análisis de regresión múltiple con el número de garrapatas como variable dependiente, y los índices de condición corporal (torácica y pélvica) y masa

corporal como las variables independientes. Los datos fueron transformados logarítmicamente para satisfacer el criterio de normalidad y estabilizar las varianzas.

Figura 3.1. División en áreas corporales de *Hydrochoerus hydrochaeris*.

## RESULTADOS

Un total de 72 especímenes de *H. hydrochaeris* fueron examinados. *Amblyomma dubitatum* fue la única especie de garrapata colectada de estos hospedadores. Los datos cuantitativos (abundancia media, mediana, prevalencia,  $D$  y  $k$ ) de la infestación de todos los estadios parasíticos de *A. dubitatum* sobre *H. hydrochaeris* se presentan en la tabla 3.1. Los valores de porcentaje de prevalencia y de media fueron mayores a 68 y 44, respectivamente. Cuando todos los estadios fueron analizados juntos, la prevalencia fue 100%, la media mayor a 200, la mediana fue de 162 y los niveles de agregación fueron relativamente bajos ( $D$ : 0,46;  $k$ : 1,43). Las prevalencias de ninfas y adultos fueron significativamente más altas que la prevalencia de larvas (test exacto de Fisher, P-valor <0,05) y fueron encontradas diferencias significativas entre los tres estadios cuando se comparó la distribución de las garrapatas sobre los hospedadores (Kruskal-Wallis, P-valor <0,05). No se encontraron diferencias significativas relacionadas al sexo del hospedador cuando se compararon la prevalencia y la distribución de adultos, ninfas y larvas de *A. dubitatum*, y tampoco cuando fueron agrupados los adultos e inmaduros (Test exacto de Fisher, P-valor para larvas = 0.58, P-valor para ninfas = 0.48, P-valor para adultos = 1, P-valor para inmaduros y adultos juntos = 1; Mann-Whitney, P-valor para larvas = 0.84, P-valor para ninfas = 0.39, P-valor para adultos = 0.57, P-valor para inmaduros y adultos juntos = 0.81). Los valores de masa corporal, condición corporal y número de *A. dubitatum* para cada espécimen de *H. hydrochaeris* examinado (en este análisis,  $n= 54$ ) son mostrados en la tabla 3.2. Los análisis de regresión múltiple no mostraron ninguna asociación

estadística significativa entre los niveles de infestación con garrapatas y masa corporal y condición corporal (torácica y pélvica) de *H. hydrochaeris*.

Los resultados de los análisis de distribución anatómica de *A. dubitatum* sobre *H. hydrochaeris* son mostrados en la tabla 3.3. A pesar de que todos los estadios parasíticos fueron colectados en las cinco áreas anatómicas, se encontraron diferencias significativas entre sitios anatómicos en la distribución de las garrapatas (en todos los casos Kruskal-Wallis P-valor < 0,0001). Los análisis de amplitud de nicho mostraron que las ninfas ( $B_s$ : 0,22) tienen una selección de sitio más fuerte que las larvas ( $B_s$ : 0,41) y los adultos ( $B_s$ : 0,56), y el solapamiento de nichos entre adultos y ninfas ( $O_{XY}$ : 0,70) fue más alto que el solapamiento de nichos entre larvas y ninfas ( $O_{XY}$ : 0,43) y entre larvas y adultos ( $O_{XY}$ : 0,40).

Tabla 3.1. Prevalencia (%), media (IC 95%), mediana (1Q- 3Q), índice de discrepancia ( $D$ ), parámetro  $k$  de larvas, ninfas, adultos y de los estadios juntos de *Amblyomma dubitatum* hallados sobre *Hydrochoerus hydrochaeris*.

ESTADIO	PREVALENCIA (%)	MEDIA (IC 95%)	MEDIANA (1Q-3Q)	$D$	$k$
LARVAS	68,1	110,2 (66,2-205,2)	19,5 (0-96,5)	0,787	0,195
NINFAS	86,1	44,5 (31,2-65,6)	8 (3-62)	0,702	0,376
ADULTOS	91,7	75,2 (57,2-96,4)	44,5 (8,5-113,5)	0,571	0,584
JUNTOS	100	226,6 (182,7-322,3)	162 (100,5-269)	0,464	1,342

Tabla 3.2. Número de especímenes de *Amblyomma dubitatum*, condición corporal torácica y pélvica y masa corporal de cada espécimen de *Hydrochoerus hydrochaeris* analizado.

ESPECIMEN DE <i>H. hydrochaeris</i>	NÚMERO DE <i>A. dubitatum</i>	CONDICIÓN CORPORAL TORÁCICA	CONDICIÓN CORPORAL PÉLVICA	MASA CORPORAL
1	342	4	4	0,40
2	43	4	4	0,47
3	106	4	4	0,40
4	172	3	3	0,48
5	390	4	4	0,53
6	115	4	4	0,53
7	298	3	4	0,77
8	232	3	4	0,72
9	128	3	4	0,53
10	115	3	3	0,26
11	222	3	4	0,43
12	336	3	2	0,49
13	117	3	3	0,41
14	259	3	2,5	0,46
15	98	3	3	0,47
16	32	3,5	3,5	0,35
17	224	4	4	0,47
18	68	3	3	0,40
19	388	3	3	0,46
20	315	3	3	0,4
21	140	3	3	0,42
22	205	3	3	0,44
23	367	3,5	3,5	0,43
24	351	3,5	3,5	0,47
25	57	3,5	3,5	0,48
26	282	2	2	0,48

Continuación tabla 3.2.

ESPECIMEN DE <i>H. hydrochaeris</i>	NÚMERO DE <i>A. dubitatum</i>	CONDICIÓN CORPORAL TORÁCICA	CONDICIÓN CORPORAL PÉLVICA	MASA CORPORAL
27	44	3,5	3,5	0,48
28	55	3	3	0,51
29	167	2,5	2	0,48
30	103	3	3,5	0,48
31	1914	3,5	3,5	0,43
32	686	3	3	0,45
33	77	2,5	2,5	0,36
34	135	3,5	3,5	0,35
35	197	1	1	0,29
36	104	2,5	3	0,42
37	573	2	2	0,42
38	1212	2,5	2,5	0,47
39	589	2,5	3	0,4
40	279	3	2,5	0,46
41	280	3	3	0,38
42	242	3,5	3,5	0,45
43	126	2,5	2,5	0,38
44	127	3	3	0,50
45	104	2,5	3	0,46
46	12	3,5	3	0,48
47	81	3	3	0,42
48	8	3,5	3,5	0,47
49	179	3,5	3,5	0,46
50	251	2,5	2,5	0,36
51	69	3,5	3,5	0,33
52	127	2,5	2,5	0,48
53	151	2,5	3	0,55
54	235	3	3	0,49

Tabla 3.3. Abundancia media (con 95% de límites de confianza) de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre diferentes áreas anatómicas de *Hydrochoerus hydrochaeris*. Las comparaciones estadísticas fueron realizadas con Kruskal-Wallis seguido por test de Dunn.

ESTADIO	AREAS ANATOMICAS				
	I	II	III	IV	V
LARVAS	2,2 (0,9-4,6) <sup>a</sup>	5,8 (3,0 -11,1) <sup>a</sup>	23,6 (11,7-56,7) <sup>b</sup>	6,6 (3,9-11,7) <sup>a</sup>	18,2 (11,4-32,8) <sup>b</sup>
NINFAS	0,7 (0,3-1,3) <sup>a</sup>	2,4 (1,5-4,2) <sup>b</sup>	2,2 (1,3-4,2) <sup>b</sup>	19,8 (13,0-30,4) <sup>c</sup>	4,8 (3,2-7,3) <sup>b</sup>
ADULTOS	12,9 (9,6-17,2) <sup>b</sup>	11,8 (9,0-15,4) <sup>b</sup>	2,8 (1,6-4,9) <sup>a</sup>	14,3 (10,4-19,9) <sup>b</sup>	1,6 (1,1-2,4) <sup>a</sup>

Números seguidos por diferentes letras son estadísticamente diferentes (P<0,0001)

## DISCUSIÓN

Cuando las garrapatas adultas e inmaduras fueron agrupadas, el análisis del parasitismo de *A. dubitatum* en una población natural de *H. hydrochaeris* mostró altos niveles de prevalencia y abundancia. Sin embargo, los valores de prevalencia y mediana difirieron entre larvas, ninfas y adultos (tabla 3.1). Estos factores indican que los parámetros de infestación estarían relacionados al estadio de la garrapata, como fue sugerido previamente por Krasnov et al. (2007). A pesar de que las cargas de parásitos son generalmente agregadas, el grado de agregación no es homogéneo en todas las asociaciones parásito-hospedador (Shaw et al. 1998). La agregación de adultos y ninfas de *A. dubitatum* fue más baja que la de larvas (ver tabla 3.1). La distribución espacial de los parásitos en el ambiente puede ser un factor dominante y determinante de la subsecuente distribución de los parásitos sobre los hospedadores (Devevey y Brisson 2012). Es reconocido que la distribución de larvas en el ambiente es más agregada que la de ninfas y adultos (Randolph y Steele 1985; Daniels y Fish 1990). De acuerdo a esto, la tasa de contacto entre *H. hydrochaeris* y *A. dubitatum* probablemente sea mayor para adultos y ninfas que para larvas, lo que conduciría a las diferencias observadas en el grado de agregación entre los estadios de garrapatas.

Los factores relacionados al sexo del hospedador contribuyen a una diferencia en la exposición y la susceptibilidad a los parásitos que pueden determinar diferencias en la abundancia y prevalencia de los mismos (Moore y Wilson 2002; Klein 2004; Krasnov et al. 2005; Rosá et al. 2006). Las causas de estas diferencias se relacionan al dimorfismo sexual, comportamiento (por

ejemplo, estrés fisiológico debido a la agregación en la época reproductiva, dispersión) y a efectos inmunosupresivos asociados a los niveles de hormonas esteroideas (Hughes y Randolph 2001; Moore y Wilson 2002; Klein 2004; Krasnov et al. 2005; Rosá et al. 2006). Diferentes niveles de infestación influenciados por el sexo fueron descriptos para algunas especies de garrapatas duras (Mooring et al. 1996; Hughes y Randolph 2001; Perkins et al. 2003; Aléssio et al. 2012; Lutermann et al. 2012), pero los hallazgos del presente estudio no concuerdan con esos resultados. Similarmente a lo reportado por Corriale et al. (2013), no se encontraron diferencias en los niveles de infestación con *A. dubitatum* entre machos y hembras de *H. hydrochaeris*. El análisis de la asociación *A. dubitatum*-*H. hydrochaeris* mostró que el sexo no es un factor determinante de la cargas de garrapatas, en correspondencia con las conclusiones halladas por Brunner y Ostfeld (2008) y Beldoménico et al. (2005) para *Ixodes scapularis* e *I. loricatus*, respectivamente. De esta forma, se puede concluir que los niveles de infestación en *H. hydrochaeris* con *A. dubitatum* no serían influenciados por el sexo.

Uno de los objetivos de este trabajo fue evaluar si atributos individuales como la condición corporal o la masa corporal tienen influencia sobre los niveles de la abundancia y la prevalencia de *A. dubitatum* sobre de *H. hydrochaeris*. Hospedadores con condiciones sanitarias deterioradas podrían tener alta susceptibilidad a las parasitosis, al poseer bajos recursos de defensas (Jokela et al. 2000; Krist et al. 2004). Además de la condición corporal, el tamaño del cuerpo del hospedador también puede influenciar en las cargas de parásitos. En este sentido, grandes hospedadores se esperaría que sustenten más parásitos (Krasnov et al. 2004; Poulin y Nascimento 2007; Brunner y Ostfeld 2008; Patterson et al. 2008). En este estudio, la condición corporal y la masa

corporal del hospedador no mostraron correlación con la abundancia de *A. dubitatum*. En el mismo sentido, Corriale et al. (2013) no encontraron una asociación significativa entre condición corporal y carga de *A. dubitatum*. A pesar de los supuestos previos, la evidencia empírica (Krasnov et al. 2004; Krist et al. 2004; Patterson et al. 2008; Eberhardt et al. 2013; este trabajo) mostró que la condición y el tamaño corporal del hospedador no siempre influenciarían directamente sobre la carga de parásitos.

El análisis de la distribución anatómica mostró que las ninfas de *A. dubitatum* fueron más segregadas espacialmente sobre el cuerpo del hospedador que las larvas y los adultos. El mayor grado de solapamiento de nicho (0,70) fue encontrado entre los adultos y las ninfas, indicando que estos estadios pueden tener un uso similar del microhábitat sobre un hospedador. De acuerdo con los resultados de este trabajo, las larvas de *A. dubitatum* prefieren atacar sobre las áreas anatómicas III y V, las ninfas sobre el área IV y los adultos sobre las áreas I, II y IV, aunque es importante tener en cuenta que los tres estadios fueron hallados en las cinco áreas corporales (ver tabla 3.2). La amplitud de nicho de las larvas y las ninfas de *A. dubitatum* fue más estrecha que la de los adultos, en coincidencia con los resultados obtenidos por Kiffner et al. (2011) en un estudio sobre *I. ricinus* asociado al ciervo *Capreolus capreolus*. La preferencia por determinadas áreas corporales del hospedador para la extracción de un recurso (en este caso, sangre), la competición intra- e inter-específica, el comportamiento de defensa del hospedador y las características tegumentarias, estarían entre los factores más importantes que influyen sobre la distribución anatómica de un parásito sobre su hospedador (Kiffner et al. 2011; Pilosof et al. 2012). A fin de complementar este análisis, son necesarios estudios experimentales para determinar con certeza cuales son los factores que influyen

sobre la segregación espacial de las larvas y las ninfas de *A. dubitatum* sobre *H. hydrochaeris*.

La asociación de *A. dubitatum* con *H. hydrochaeris* fue caracterizada por altos valores de prevalencia y abundancia y una falta de relación entre atributos del hospedador (sexo, condición corporal y tamaño corporal) y la carga de parásitos. Además, las diferencias en el grado de agregación de *A. dubitatum* estarían probablemente relacionadas a la distribución espacial de las garrapatas en el ambiente y no a las diferencias entre los individuos dentro de una población de hospedadores. Un gran número de especímenes de *H. hydrochaeris* están presentes en el área donde se realizó esta investigación. Por lo tanto, los factores asociados al hospedador que determinan los altos niveles de infestación con *A. dubitatum* en poblaciones de *H. hydrochaeris* podrían asignarse a una combinación de propiedades del hospedador a nivel poblacional como abundancia, ubicuidad y agregación, más que a atributos específicos individuales relacionados a la condición corporal, la masa corporal o el sexo.

## CAPÍTULO IV

### “Hospedadores Alternativos de Larvas y Ninfas de *Amblyomma dubitatum*”

## INTRODUCCIÓN

La descripción integral de la ecología e importancia sanitaria de un parásito requiere conocer sus hospedadores y el grado de afinidad que caracteriza estas relaciones. En el caso particular de las garrapatas, dos hipótesis opuestas se han desarrollado en lo concerniente a la naturaleza de la relación garrapata-hospedador. Una se basa en la idea de coevolución, afirmando que la asociación con los hospedadores fue determinante en la evolución de las garrapatas y de su morfología (Hoogstraal y Aeschlimann 1982; Hoogstraal y Kim 1985). La otra hipótesis preconiza que la especificidad ecológica es más importante que la asociación con un determinado grupo de hospedadores, señalando que la adaptación a un ambiente particular es más relevante que el fenómeno de coevolución (Klompen et al. 1996; Nava y Guglielmone 2013).

El resultado de la interacción de las garrapatas con su ambiente natural es fundamental en la variación espacial y temporal del riesgo de infección por patógenos transmitidos por ellas. Debido a su naturaleza hematófaga, el ambiente físico de las garrapatas incluye a sus hospedadores, por ello su potencial como vectores de patógenos se ve aumentado por el hábito de realizar prolongadas tomas de sangre, además de su capacidad de sobrevivir al sistema inmunitario de su hospedador (Randolph 2008).

Las garrapatas de la familia Ixodidae tienen un ciclo biológico de tres hospedadores, salvando las pocas excepciones en que el ciclo se ve reducido a dos o incluso a un hospedador como es el caso de algunas especies del género *Hyalomma*, *Dermacentor* y *Rhipicephalus* (Sonenshine 1991). En los típicos ciclos de tres hospedadores, la larva se alimenta sobre un hospedador, se

desprende y muda en el ambiente a ninfa, ésta busca un nuevo hospedador donde alimentarse y una vez ingurgitada se desprende para mudar a adulto (macho o hembra) en el ambiente. Las hembras una vez que localizaron su hospedador deben copular e ingurgitarse de sangre y descender para realizar el aove en el ambiente en lugares refugiados.

Como ha sido confirmado en estudios previos (Nava et al. 2010), el hospedador principal para todos los estadios parasíticos de *A. dubitatum* es el carpincho, *H. hydrochaeris*, sin embargo existen registros en otros mamíferos como bovinos, caballos, *Tapirus terrestris*, *Mazama gouazoubira*, *S. scrofa*, *Tayassu pecari*, *A. axis*, *Myrmecophaga tridactyla*, *Cerdocyon thous*, *Myocastor coypus*, *Allouata caraya*, *Glossophaga soricina* y el hombre. Larvas y ninfas también fueron colectadas sobre *Didelphis albiventris*, *Didelphis aurita*, *Lagostomus maximus*, *L. europaeus*, *Monodelphis dimidiata*, en roedores Cricetidae como *Akodon azarae*, *Lundomys molitor*, *Oligoryzomys flavescens*, *Scapteromys tumidus*, *Scapteromys aquaticus* y *Nectomys rattus*, y en *Cavia aperea* (Caviidae), también existen registros de estadios inmaduros encontrados sobre aves como *Rhea americana* (Nava et al. 2010, Dantas-Torres et al. 2012, Debárhora et al. 2012).

La participación de las aves y los roedores como hospedadores de los estadios inmaduros en el ciclo biológico de las garrapatas es un fenómeno conocido para numerosas especies en todo el mundo. Particularmente dentro de las especies de tres hospedadores de la familia Ixodidae, son numerosas las que utilizan pequeños vertebrados, especialmente aves y roedores, para alimentar sus larvas y ninfas. Dentro del género *Amblyomma* han sido halladas nueve especies parasitando roedores de la familia Cricetidae, aunque solo *A. triste* Koch, 1844 se halla fuertemente asociada a ellos (Guglielmone y Nava 2011) y

cuatro especies alimentándose sobre Caviidae, donde se sabe que al menos para *A. tigrinum* y *A. parvum* son vitales para sus ciclos de vida (Guglielmone y Nava 2010).

Por lo mencionado anteriormente, el objetivo de este capítulo es determinar si las aves y los roedores de las familias Cricetidae y Caviidae tienen un rol fundamental como hospedadores alternativos en el ciclo de vida de *A. dubitatum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Muestreos en condiciones naturales

Los muestreos de roedores (Cricetidae y Caviidae) y de aves se llevaron a cabo en la Estancia El Rincón del Socorro entre octubre de 2010 y febrero del 2012. Para la captura de roedores se utilizaron en cada oportunidad, 150 trampas de captura viva tipo Sherman (24 x 9 x 8cm) cebadas con alimento balanceado (Figura 4.1). Se dispusieron tres transectas de 50 trampas cada una, separadas unas de otras por aproximadamente tres metros. También se emplearon trampas de captura viva tipo Tomahawk (40 x 15 x 15cm) cebadas con zanahorias (Figura 4.2), dispuestas en cinco grupos de 10 trampas cada uno. Las trampas permanecieron activadas por cuatro noches y fueron revisadas a diario.

Debido a que los roedores de la familia Cricetidae son reconocidos por su capacidad para transmitir enfermedades potencialmente letales para el hombre como fiebre hemorrágica y síndrome de deficiencia pulmonar por hantavirus (Mills et al. 1991; Calderón et al. 1999), para la manipulación de los mismos en el campo se siguió el protocolo de seguridad descrito por Mills et al. (1995). Una vez capturados, los roedores fueron sacrificados por inhalación de una dosis letal de éter sulfúrico y luego colocados individualmente en bolsas de nylon con alcohol 96% para luego ser examinados en el laboratorio bajo lupa estereoscópica binocular. Los roedores de la familia Caviidae (subfamilia Caviinae) se examinaron en busca de garrapatas en el campo, donde se registró especie y sexo de cada individuo y posteriormente se liberaron. Previo a la liberación, los cáviidos fueron marcados con un corte de pelo en un área del

dorso para evitar la sobreestimación del número de garrapatas en el caso de que los mismos fueran recapturados en los días siguientes. Los roedores de la familia Cricetidae fueron determinados por el Dr. U. F. J. Pardiñas (CENPAT-CONICET) y los de la familia Caviidae (subfamilia Caviinae) fueron determinados por la tesista siguiendo a Redford y Eisenberg (1992) y Diaz (2000). Adicionalmente se realizaron dos muestreos de aves, uno en octubre de 2010 y el otro en febrero de 2011, durante tres días cada uno. Las capturas se llevaron a cabo con redes de niebla. Las aves (orden Passeriformes) capturadas fueron identificadas siguiendo a Narosky e Yzurieta (2003), examinadas en busca de ixódidos en el campo y posteriormente liberadas. Las garrapatas colectadas fueron conservadas en alcohol 96 % y llevadas al laboratorio para su determinación.

Todos los inmaduros (larvas y ninfas) hallados fueron determinados siguiendo a Joan (1930), Estrada- Peña et al. (2002) y Martins et al. (2010), y por comparación con material de referencia depositado en la colección de garrapatas del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Estación Experimental Agropecuaria Rafaela, Argentina.

Para el análisis estadístico se calcularon, para cada especie de hospedador (las aves fueron analizadas en conjunto), porcentaje de prevalencia [ $P = (\text{número de hospedadores parasitados con una especie de parásito} / \text{número de hospedadores examinados}) \times 100$ ], la abundancia media ( $AM = \text{número total de individuos de una especie de garrapata} / \text{número de total de hospedadores examinados}$ ) (Bush et al. 1997), y mediana ( $M$ ) con el primer y tercer cuartil. La  $M$  fue calculada porque en el caso de las distribuciones agregadas, que son usuales en muestras de parásitos, es más representativa que otras medidas de tendencia central al ser menos sensible a los valores extremos. (Rózsa et al. 2000). El grado de agregación de los parásitos sobre sus hospedadores se estimó

con el parámetro  $k$ , y con el índice de discrepancia ( $D$ ) (Poulin 1993, 2007). El valor del parámetro  $k$  es inversamente proporcional al nivel de agregación, o sea, cuanto más agregada es la distribución menor es  $k$  (Krebs 1999). El índice  $D$  indica el grado en el que la distribución observada de los parásitos entre las poblaciones de hospedadores difiere de una distribución hipotética en la cual cada hospedador tiene el mismo número de parásitos (Poulin 2007). El índice  $D$  es 0 cuando la agregación es nula (todos los hospedadores con igual nivel de infestación), y alcanza un valor de 1 cuando la agregación es completa (todos los miembros de una población de parásitos se encuentran sobre un mismo individuo de la especie hospedadora). La significancia de las diferencias entre las prevalencias se testearon con la prueba exacta de Fisher y la distribución de las garrapatas entre las especies hospedadores se compararon con la prueba de Kruskal Wallis seguida por el test Dunn para comparaciones múltiples (Zar 1999).

#### Infestaciones experimentales

Para determinar la capacidad biológica de las larvas y las ninfas de *A. dubitatum* para alimentarse adecuadamente en roedores y aves, se realizaron en condiciones experimentales, infestaciones con inmaduros de *A. dubitatum*. Se utilizaron tres especies de hospedadores representativos de los taxones muestreados en el campo: *Mus musculus* (n: 15, representativos de los roedores cricétidos), *Cavia porcellus* (n: 6, representativos de los roedores cáviidos) y *Gallus gallus* (n: 20, representativo de las aves). Los tres grupos de hospedadores fueron mantenidos en recintos individuales con comida y agua *ad libitum*, en una habitación acondicionada a 25°C y con fotoperíodo de 12 horas luz/12 horas oscuridad. Las infestaciones de larvas se realizaron sobre cinco *M.*

*musculus*, dos *C. porcellus* y siete *G. gallus*, y las ninfas fueron alimentadas sobre diez *M. musculus*, cuatro *C. porcellus* y 13 *G. gallus*.

Los controles se realizaron diariamente para colectar las garrapatas ingurgitadas desprendidas de sus hospedadores. Las larvas colectadas fueron pesadas en grupos de a diez y las ninfas individualmente y colocadas en incubadoras a 25°C, 80% de humedad relativa y un fotoperíodo de 12 h luz/12 h oscuridad. Para cada espécimen de garrapata se registraron los siguientes parámetros biológicos: periodo de alimentación (número de días desde que la garrapata fue colocada sobre el hospedador hasta que se desprendió ingurgitada), proporción de especímenes ingurgitados que mudaron al siguiente estadio, y periodo de premuda (número de días desde que las garrapatas ingurgitadas fueron colectadas hasta que mudaron al siguiente estadio) y peso de cada espécimen.

El análisis estadístico para testear las diferencias en el período de alimentación, período de premuda y peso de las larvas y las ninfas, fue realizado mediante un análisis de la varianza (ANOVA) con comparaciones a posteriori usando la prueba de Tukey para muestras de n desigual (Zar 1999). Las diferencias en la proporción de mudas se compararon por una prueba de hipótesis de Z.

Fig. 4.1. Trampa de captura viva tipo Sherman.



Fig. 4.2. Trampa de captura viva tipo Tomahawk.



## RESULTADOS

Se capturaron 65 roedores pertenecientes a cuatro especies (tres de la familia Cricetidae y una de la familia Caviidae) y 84 aves passeriformes pertenecientes a 32 especies distribuidas en 10 familias. También fueron capturados seis pequeños marsupiales (cinco *Monodelphis dimidiata* Wagner 1947 y un *Cryptonanus chacoensis* Tate 1931 de la familia Didelphidae.

De los 65 roedores capturados, 28 fueron determinados como *Cavia aperea* (Caviidae: Caviinae) y 37 correspondieron a la familia Cricetidae: *Akodon azarae* (n: 30), *Oligoryzomys flavescens* (n: 6) y *Scapteromys aquaticus* (n: 1). Un total de 579 larvas y 107 ninfas de *A. dubitatum* fueron colectadas sobre los roedores examinados. Los datos para cada hospedador analizado se muestran en las tablas 4.1 y 4.2. La infestación total de roedores (Cáviidos y Cricétidos) por larvas tuvo una prevalencia de 50,8%, una  $AM=6,37$ ,  $D=0,806$  y  $k=0,197$  y la infestación por ninfas tuvo una prevalencia de 30,8%, una  $AM=1,60$ ,  $D=0,832$  y  $k=0,151$ . En el caso de los pequeños marsupiales (n=6) la infestación por larvas tuvo una prevalencia de 83,3%,  $AM=27,5$ ,  $D=0,484$  y  $k=0,531$ , y la infestación por ninfas 33,3% de prevalencia,  $AM=0,50$  y  $D=0,619$ . Estos individuos no fueron incluidos en el análisis estadístico.

Para larvas, la prueba exacta de Fisher no arrojó diferencias significativas entre las prevalencias en cada una de las tres especies de roedores (*A. azarae*, *C. aperea* y *O. flavescens*) ( $P=0,354$ ), sin embargo, fueron significativamente diferentes en el caso de las dos especies (*A. azarae* y *C. aperea*) infestadas por ninfas ( $P=<0,001$ ).

Las aves sólo se hallaron parasitadas por larvas de *A. dubitatum* y pertenecían a las especies *Turdus rufiventris*, *Zonotrichia capensis* y *Furnarius*

*rufus*. Se encontró una prevalencia de infestación de 14%,  $AM=2,65$ ,  $D=0,945$  y  $k=0,033$ . Cuando se compararon las prevalencias y las distribuciones del número de larvas en aves con aquellas de las tres especies de roedores infestados por larvas, las diferencias fueron significativas para cada uno de los tres pares ( $P=<0,001$ ).

Las diferencias en las distribuciones del número de larvas entre las distintas especies de roedores no fueron significativas ( $P=0,173$ ), pero si lo fueron en el caso de las ninfas ( $P=<0,001$ ) (Tablas 4.1 y 4.2).

En los muestreos realizados también se hallaron inmaduros de *A. triste*. Las larvas ( $n=215$ ) se encontraron parasitando a roedores de las especies *A. azarae*, *C. aperea* y *O. flavescens*, también fueron halladas sobre dos especies de marsupiales, *M. dimidiata* y *C. chacoensis* y sobre aves como *T. rufiventris*, *F. rufus* y *Phacellodomus ruber*. Las ninfas ( $n=40$ ) fueron halladas parasitando a los roedores *A. azarae*, *C. aperea*, *O. flavescens* y *S. aquaticus*, al marsupial *M. dimidiata* y a aves de las especies *F. rufus*, *P. ruber*, *Z. capensis*.

#### Infestaciones experimentales

Los datos de las infestaciones de larvas y ninfas en las tres especies de hospedadores experimentales (*M. musculus*, *C. porcellus* y *G. gallus*) se muestran en las tablas 4.3 y 4.4, respectivamente. Las diferencias en el periodo de premuda de las larvas no fueron significativas ( $p> 0,05$ ) entre ninguno de los tres grupos de hospedadores, pero sí cuando las comparaciones fueron hechas para ninfas ( $p< 0,05$ ). Las diferencias en la proporción de larvas alimentadas que mudaron a ninfas fueron significativas entre *M. musculus* y *C. porcellus* y entre *G. gallus* y *C. porcellus* ( $p< 0,05$ ), pero no entre *M. musculus* y *G. gallus* ( $p> 0,05$ ). La proporción de mudas de ninfas a adultos fue significativamente

mayor en el caso de aquellas alimentadas sobre *C. porcellus*. Larvas y ninfas alimentadas sobre *C. porcellus* fueron significativamente más pesadas que las alimentadas en *M. musculus* y *G. gallus* ( $p < 0,05$ ).

Los periodos de alimentación de larvas mostraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los distintos hospedadores sobre los que fueron alimentadas. El período fue menor en *C. porcellus* ( $5,0 \pm 0,25$  días; rango: 3-7) y el mayor en *M. musculus* ( $13,88 \pm 0,06$  días; rango: 12-15). Los períodos de alimentación de ninfas también fueron significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) entre los tres grupos, siendo menor en *G. gallus* ( $6,61 \pm 0,15$  días; rango: 4-8) y mayor en *C. porcellus* ( $17,58 \pm 0,39$  días; rango: 5-23).

Tabla 4.1. Prevalencia (%), abundancia media, mediana (1° y 3° cuartil), y grado de agregación ( $k$  y  $D$ ) de larvas de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre roedores (Cricetidae y Caviidae) y aves en Estancia Rincón del Socorro. n: número de hospedadores.

Hospedador	n	Prevalencia (%)	Abundancia media*	Mediana (1° y 3° cuartil)	$k$	$D$
<i>Akodon azarae</i>	30	56,7	6,70 <sup>a</sup>	1 (0-6)	0,235	0,782
<i>Cavia aperea</i>	28	39,3	5,21 <sup>a</sup>	0 (0-2)	0,132	0,818
<i>Oligoryzomys flavescens</i>	6	66,7	5 <sup>a</sup>	2 (0-7)	0,443	0,562
Aves Passeriformes	84	14	2,65 <sup>b</sup>	0 (0-0)	0,033	0,945

\*Kruskal-Wallis con test de Dunn. Números seguidos de diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.2. Prevalencia (%), abundancia media, mediana (1° y 3° cuartil) y grado de agregación (*k* y *D*) de ninfas de *Amblyomma dubitatum* colectadas sobre roedores (Cricetidae y Caviidae) en Estancia Rincón del Socorro. n: número de hospedadores.

Hospedador	n	Prevalencia (%)	Abundancia media*	Mediana (1° y 3° cuartil)	<i>k</i>	<i>D</i>
<i>Akodon azarae</i>	30	6,7	0,10 <sup>a</sup>	0 (0-0)	No aplicable	0,914
<i>Cavia aperea</i>	28	64,3	3,61 <sup>b</sup>	1 (0-6,5)	0,482	0,644

\*Kruskal-Wallis con test de Dunn. Números seguidos de diferentes letras son estadísticamente diferentes ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.3. Parámetros biológicos de larvas de *Amblyomma dubitatum* alimentadas sobre *Cavia porcellus*, *Gallus gallus* y *Mus musculus* en condiciones experimentales de laboratorio.

Hospedador	N° garrapatas ingurgitadas	LARVAS			
		Periodo de alimentación (días)*	Proporción de mudas (%)	Peso (mg) Media* ±S.D. (Rango)	Periodo de prenuada (días) Media* ± S.D. (Rango)
<i>Cavia porcellus</i>	40	5,0 <sup>a</sup> ± 0,25 (3-7)	35	1,03 <sup>a</sup> ± 0,019 (0,94-1,08)	28,50 <sup>a</sup> ± 0,93 (24-31)
<i>Gallus gallus</i>	91	6,27 <sup>b</sup> ± 0,23 (4-9)	60,44	0,91 <sup>b</sup> ± 0,025 (0,70-1,22)	27,09 <sup>a</sup> ± 0,62 (22-33)
<i>Mus musculus</i>	516	13,88 <sup>c</sup> ± 0,06 (12-15)	51,55	0,94 <sup>b</sup> ± 0,007 (0,81-1,26)	25,57 <sup>a</sup> ± 0,33 (19-35)

S.D.: Desvío estándar

\* ANOVA con test de Tukey. Letras diferentes en superíndice indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

Tabla 4.4. Parámetros biológicos de ninfas de *Amblyomma dubitatum* alimentadas sobre *Cavia porcellus*, *Gallus gallus* y *Mus musculus* en condiciones experimentales de laboratorio.

NINFAS						
Hospedador	N° garrapatas ingurgitadas	Periodo de alimentación (días)*	Proporción de mudas (%)	Peso (mg) Media* ±S.D. (Rango)	Periodo de premuda (días) Media* ± S.D. (Rango)	
<i>Cavia porcellus</i>	53	17,58 <sup>a</sup> ± 0,39 (5-23)	98,11	25,28 <sup>a</sup> ± 0,93 (9,30-36,1)	21,33 <sup>a</sup> ± 0,27 (17-25)	
<i>Gallus gallus</i>	73	6,61 <sup>b</sup> ± 0,15 (4-8)	91,78	21,74 <sup>b</sup> ± 0,78 (9,10-36,4)	17,42 <sup>b</sup> ± 0,43 (13-27)	
<i>Mus musculus</i>	31	13,25 <sup>c</sup> ± 0,85 (8-20)	87,09	19,47 <sup>b</sup> ± 1,14 (10,9-33,2)	19,18 <sup>c</sup> ± 0,59 (16-31)	

S.D.: Desvío estándar

\* ANOVA con test de Tukey. Letras diferentes en superíndice indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ).

## DISCUSIÓN

La mayor parte de los registros de los hospedadores para los tres estadios parasíticos de *A. dubitatum* citados en la literatura corresponden a *H. hydrochaeris* (Nava et al. 2010). Debido a esto, se ha asumido que este mamífero es el hospedador principal de esta garrapata y que por lo tanto, puede sustentar completamente la fase parasítica de su ciclo biológico. Sin embargo, no existían trabajos previos al presente estudio que evaluaran la capacidad de otros vertebrados para actuar como potenciales hospedadores alternativos para *A. dubitatum* en condiciones de campo. La única información disponible consistía en citas ocasionales de *A. dubitatum* asociada a otras especies de mamíferos y de aves (Dantas-Torres et al. 2010; Nava et al. 2010; Debárhora et al. 2012).

Durante este estudio se evaluó la capacidad de roedores de las familias Cricetidae y Caviidae y de aves passeriformes para actuar como hospedadores de los estadios inmaduros de *A. dubitatum*. Los datos obtenidos de los muestreos en condiciones de campo mostraron altos niveles de infestación de los roedores cricétidos y *C. aperea* con larvas de *A. dubitatum*, aunque los valores de prevalencia y AM fueron significativamente mayores en roedores cricétidos que en *C. aperea*. Asimismo, los niveles de agregación fueron menores en los roedores cricétidos, demostrando una mayor exposición de los mismos a las larvas de *A. dubitatum*. La baja prevalencia y la alta agregación de larvas parasitando aves passeriformes indicarían que estas sólo son hospedadores ocasionales para las larvas de esta garrapata. Resultados similares fueron obtenidos para otras especies de *Amblyomma* encontradas simpátricamente sobre aves y roedores como *A. parvum* y *A. triste* (Nava et al. 2006b; 2011).

Aunque ninfas de *A. dubitatum* fueron colectadas sobre *A. azarae* y *C.*

*aperea*, los valores de prevalencia y abundancia media en *C. aperea* fueron significativamente más altos que en *A. azarae*. Esta capacidad de los roedores de la familia Caviidae (subfamilia Caviinae) para sustentar el desarrollo de las ninfas de especies Neotropicales del género *Amblyomma* también fue demostrado para las especies *A. tigrinum*, *A. triste* y *A. parvum* (Nava et al. 2006a, b; 2011).

Los resultados obtenidos tras los muestreos de campo sugieren que los roedores cricétidos y *C. aperea* son hospedadores relevantes para los preimagos de *A. dubitatum*, sin embargo, para completar su desarrollo, una garrapata además de encontrar y fijarse a un hospedador, debe alimentarse adecuadamente sobre éste para completar su alimentación y mudar (en el caso de larvas y ninfas) al estadio siguiente. Las evidencias brindadas por las infestaciones experimentales sustentan los datos obtenidos de los muestreos de campo, y confirmarían la hipótesis sobre la aptitud de los roedores cricétidos y *C. aperea* como hospedadores de los estadios inmaduros de *A. dubitatum*.

Durante las infestaciones experimentales los tres grupos de hospedadores utilizados resultaron ser competentes para alimentar los estadios inmaduros de *A. dubitatum*, recuperándose larvas y ninfas ingurgitadas en todas las infestaciones realizadas. Esto confirmaría la capacidad de los hospedadores evaluados para sustentar el desarrollo de los inmaduros de *A. dubitatum*. Con respecto a las larvas, no hubo diferencias significativas en los períodos de premuda, pero sí en el peso (mayor en las larvas alimentadas en *C. porcellus*) y en la proporción de mudas (mayor en *M. musculus* y *G. gallus* que en *C. porcellus*). En cuanto a las ninfas, los períodos de alimentación, la proporción de mudas y los pesos, fueron significativamente mayores en *C. porcellus*. A pesar de las diferencias estadísticas significativas encontradas en ciertos parámetros, es

importante remarcar que algunos de ellos carecerían de significancia biológica. Por ejemplo, los análisis estadísticos arrojaron una diferencia significativa en los pesos de larvas alimentadas entre *C. porcellus* y *M. musculus* y *G. gallus*, sin embargo, la diferencia fue de sólo 0,1 miligramo, lo cual no afectó la viabilidad de esas larvas. Esto mismo puede aplicarse a otros parámetros como periodos de muda y peso de las ninfas. La mayor proporción de mudas en larvas alimentadas sobre *M. musculus* que en aquellas alimentadas en *C. porcellus* y la mayor proporción de mudas de las ninfas alimentadas en *C. porcellus* que en las alimentadas *M. musculus*, coincide con los resultados de los muestreos de campo sobre una mayor aptitud que tendrían los pequeños roedores para sustentar a las larvas y de los cávidos para sustentar a las ninfas de *A. dubitatum*.

Un estudio similar, sobre la aptitud de diferentes hospedadores para alimentar especímenes de *A. dubitatum* fue llevado a cabo por Labruna et al. (2004b). Las principales diferencias observadas en presente trabajo se dieron en las larvas alimentadas sobre *G. gallus* que mostraron proporciones de mudas y pesos mayores y en las ninfas alimentadas sobre *C. porcellus* que presentaron pesos mayores comparado con el trabajo de Labruna y colaboradores. En cuanto a las infestaciones con ninfas, cabe destacar que en el trabajo de Labruna et al. (2004b), las sembradas sobre *G. gallus* y *Calomys callosus* (Cricetidae) no lograron alimentarse. Debería realizarse estudios adicionales para determinar si estas diferencias se debieron a características biológicas intrínsecas de las distintas poblaciones de *A. dubitatum*, o si están asociadas a factores relacionados con las condiciones experimentales en las cuales se llevaron a cabo los trabajos.

Si bien el rol de los pequeños roedores como hospedadores relevantes para las larvas y ninfas de las garrapatas duras ya había sido descrito para otras

especies Neotropicales (Guglielmone y Nava 2010; 2011), los resultados obtenidos durante este estudio confirman la hipótesis sobre la capacidad de roedores de las familias Cricetidae (Sigmodontinae) y Caviidae (Caviinae) para actuar como hospedadores alternativos para larvas y ninfas de *A. dubitatum*, mientras que el rol de las aves passeriformes aparenta ser marginal. Asimismo, estos hallazgos permiten rechazar los prejuicios previos que definían a *A. dubitatum* como una garrapata altamente específica de *H. hydrochaeris* y coinciden con las conclusiones alcanzadas por Klompen et al. (1996) y Nava y Guglielmone (2013). Estos autores afirmaron que como tendencia general no existiría especificidad estricta en la asociación parásito-hospedador en las garrapatas duras y sugirieron la existencia de una especificidad por el ambiente más que por el hospedador, junto con numerosos eventos de cambio de hospedador principal (con y sin relación filogenética con el hospedador primigenio) a lo largo de la historia evolutiva de cada una de las especies de garrapatas.

Finalmente, la intervención de roedores silvestres en el ciclo biológico de *A. dubitatum* tendría implicancias epidemiológicas. Estos mamíferos han sido señalados como participantes en el ciclo enzoótico, como vertebrados amplificadores de distintos microorganismos patógenos transmitidos por garrapatas (Bown et al. 2008; Labruna 2009; Zhao et al. 2009). De esta manera, su participación en el ciclo biológico como hospedadores para las larvas y las ninfas puede ser una causa potencial de la infección de especímenes de *A. dubitatum* con agentes patógenos para los humanos y los animales silvestres y domésticos. Se considera necesaria la realización de futuros estudios centrados sobre este aspecto.

## CONCLUSIONES FINALES

*Amblyomma dubitatum* se distribuye en la región Neotropical, en localidades de Argentina, Brasil, Paraguay y Uruguay, principalmente en las provincias biogeográficas Cerrado, Chaco y Pampa de la subregion Chaqueña y dentro de la Paranaense, el Bosque Atlántico Brasileño, Bosque Paranaense, Bosque de *Araucaria angustifolia* y unos pocos hallazgos en la subregión Amazónica, en las provincias de Amapá, Tapajós- Xingú, Pará y Pantanal.

El modelo de nicho climático predice una distribución potencial de *A. dubitatum* para el centro y noreste de Argentina, Paraguay, Uruguay y sur de Brasil, lo que coincide con la distribución actual conocida, como así también en un área al norte de Sudamérica en Venezuela y Colombia. Hasta el momento no se ha registrado esta garrapata en estos países, lo que podría sugerir que *A. dubitatum* se habría originado en el cono sur de Sudamérica y que la Amazonia actúa como una barrera ambiental para su dispersión hacia áreas del norte de Sudamérica con características ambientales óptimas para el desarrollo de la garrapata. Este fenómeno ya fue descrito para otros organismos, incluyendo ciertas especies de garrapatas.

El ciclo biológico de *A. dubitatum* en la naturaleza, bajo las condiciones de los humedales en la provincia de Corrientes, comprende una generación por año, pero todas las clases de edad están presentes sobre el hospedador a lo largo de todo el año. Estos resultados indican que, aunque *A. dubitatum* tiene un ciclo de vida anual, más de una cohorte puede coexistir dentro de la misma población en un cierto intervalo de tiempo.

Respecto al ciclo biológico en la naturaleza, se comprobó que durante la

estación fría se produce un retraso en el tiempo de desarrollo de los estadios inmaduros, en el periodo de preoviposición y de incubación, lo que demuestra que las bajas temperaturas actuarían como un factor limitante para el desarrollo de inmaduros y adultos de *A. dubitatum* retrasando el pasaje de un estado a otro.

Esta duración mayor de los periodos se puede explicar como un estado de quiescencia más que como una diapausa, ya que, en el ciclo desarrollado bajo condiciones controladas en el laboratorio, no ocurrieron cambios en la duración de cada fase.

En cuanto a la relación parásito-hospedador fue caracterizada por altos valores de prevalencia y abundancia y una falta de relación entre atributos del hospedador (sexo, condición corporal y tamaño corporal) y carga de parásitos.

Las diferencias en el grado de agregación de *A. dubitatum* probablemente se relacionan a la distribución espacial de las garrapatas en el ambiente y no a las diferencias entre individuos dentro de una población de hospedadores. Por otra parte, dada la abundancia en el área de estudio del hospedador, los factores asociados que determinan los altos niveles de infestación con *A. dubitatum* en poblaciones de *H. hydrochaeris* podrían asignarse a una combinación de propiedades del hospedador a nivel poblacional como abundancia, ubicuidad y agregación, más que a atributos específicos individuales.

*Hydrochoerus hydrochaeris* puede sustentar completamente la fase parasítica del ciclo biológico de *A. dubitatum*, sin embargo los estadios inmaduros pueden desarrollarse con éxito en otros hospedadores. Los resultados obtenidos durante este estudio confirman la hipótesis sobre la capacidad de roedores de las familias Cricetidae (Sigmodontinae) y Caviidae (Caviinae) para actuar como hospedadores alternativos para larvas y ninfas de *A. dubitatum*, mientras que el rol de las aves passeriformes aparenta ser marginal.

De la integración de estos datos se puede inferir que los factores más importantes que limitan la distribución de esta garrapata son la vegetación y el clima, y no los hospedadores.

## BIBLIOGRAFÍA

- Aléssio, F. M.; Dantas-Torres, F.; Siqueira, D. B.; Lizée, M. H.; Marvulo, M. F. V.; Martins, T. F.; Labruna, M. B.; Silva, J. C. R.; Mauffrey, J. F. 2012. Ecological implications on the aggregation of *Amblyomma fuscum* (Acari: Ixodidae) on *Trichomys laurentius* (Rodentia: Echimyidae), in northeastern Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 57: 83-90.
- Almeida, A. T. S.; Daemon, E.; Faccini, J. L. H. 2001. Life cycle of female ticks of *Amblyomma cooperi* Nuttal & Warburton, 1908 (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 53: 316-320.
- Almeida, A. P.; Cunha, L. M.; Bello, A. C. P. P.; da Cunha, A. P.; Domingues, L. N.; Leite, R. C.; Labruna, M. B. 2011. A novel *Rickettsia* infecting *Amblyomma dubitatum* ticks in Brazil. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 2: 209-212.
- Amorim, M.; Pedro, M. V. J.; Teixeira, R. H. F.; Gazeta, G. S.; Serra Freire, N. M. 2003. Ixodofauna de mamíferos na região de Bonito, Mato Grosso do Sul, Brasil. Res. 18º Congresso Brasileiro de Parasitologia, Rio de Janeiro, Brasil, 104 p.
- Aragão, H. B. 1908. Algumas novas especies de carrapatos brasileiros. *Brasil-Medico*, 22: 111-115.
- Aragão, H. B. 1911. Notas sobre ixódidas brasileiros. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 3: 145-195.
- Aragão, H. B. 1918. Notas ixodológicas. *Revista del Museo Paulista*, 10: 375-

417.

Aragão, H. B. 1936. Ixodidas brasileiros e de algunos países limitrophes. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 31: 759–843.

Arbo, M. M.; Tressens, S. G. 2002. Flora del Iberá. EUDENE-UNNE. 613 pp.

Arzua, M.; Onofrio, V. C.; Barros-Battesti, D. M. 2005. Catalogue of the tick collection (Acari, Ixodida) of the Museu de História Natural Capao da Imbuia, Curitiba, Paraná, Brazil. Revista Brasileira de Zoologia, 22: 623–632.

Ávila-Pires, T. C. 1995. Lizards of Brazilian Amazonia (Reptilia: Squamata). Zoologische Verhandelingen Leiden, 299: 1-706.

Babenko, L. V. 1967a. Diapause in larvae of *Ixodes persulcatus* P. SCH. (Parasitiformes, Ixodidae)-Effect of some biotic and non-biotic factors on tick development. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> international congress of acarology. 451-453 p.

Babenko, L.V. 1967b. Diapause in nymphs of *Ixodes ricinus* L. (Parasitiformes, Ixodidae). Wiadomosci Parazytologiczne, 13: 517-524.

Balashov, Y. S. 1997. Distribution of ixodid ticks (Acarina, Ixodidae) over landscapes within their ranges in Russia. Entomological Review, 77: 625-637.

Barnard, D. R. 1986. Density perturbation in populations of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) in beef cattle forage areas in response to two regimens of vegetation managment. Journal of Medical Entomology, 79: 122-127.

- Barros, S. L. J.; Famadas, K. M.; Lopes, L. M.S.; Serra Freire, N. M. 1998. Revisão sobre parasitismo de Mammalia: Chiroptera por Acari: Ixodidae com registro de *Amblyomma cooperi* Nuttall & Warburton, 1907 em Phyllostomidae no Brasil. *Entomología y Vectores*, 5: 123–136.
- Beati, L.; Nava, S.; Burkman, E. J.; Barros-Battesti, D. M.; Labruna, M. B.; Guglielmone, A. A.; Cáceres, A. G.; Guzmán-Cornejo, C. M.; León, R.; Durden, L. A.; Faccini, J. L. H. 2013. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evolutionary Biology*, 13: 267.
- Beck, D. L.; Zavala, J.; Montalvo, E. O.; Quintana, F. G. 2011. Meteorological indicators for *Amblyomma cajennense* and populations dynamics in the Tamaulipan biotic Province in Texas. *Journal of Vector Ecology*, 36: 135-146.
- Beldoménico, P. M.; Lareschi, M.; Nava, S.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2005. The parasitism of immature stages of *Ixodes loricatus* (Acari: Ixodida) on wild rodents in Argentina. *Experimental and Applied Acarology*, 36: 139-148.
- Belozerov, V. N. 1967. Larval diapause in the tick *Ixodes ricinus* L. and its dependence on external conditions. IV. Interactions between exogenous and endogenous factors in the regulation of the larval diapause. *Entomological Review*, 46: 447-451.
- Belozerov, V. N. 1968. Photoperiodic control of seasonal development of ixodid ticks. En: *Fotoperiodicheskie adaptatsii u nasekomykh i kleshchey*. 100-128 p. (Translation from Russian).

- Belozerov, V. N. 1969. Photoperiodic reaction of larvae and nymphs of the tick *Haemaphysalis concinna* Koch. *Parazitologiya*, 3: 17-21.
- Belozerov, V. N. 1971. Diapause phenomena in ticks (Ixodoidea) and their regulation. Proceedings of the 3<sup>rd</sup> International Congress of Acarology, Prague. 489-491 p.
- Belozerov, V. N. 1982. Diapause and biological rhythms in ticks. En: Physiology of ticks. Eds. F. D. Obenchain & R. Galun. Pergamon Press. 469-500 pp.
- Boero, J. J. 1945. Los ixodideos de la República Argentina. *Revista de Medicina Veterinaria* (Buenos Aires), 26: 1-10.
- Bown, K. J.; Lambin, X.; Telford, G. R.; Ogden, N. H.; Telfer, S.; Woldehiwet, Z.; Birtles, R. J. 2008. Relative importance of *Ixodes ricinus* and *Ixodes trianguliceps* as vectors for *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia microti* in field vole (*Microtus agrestis*) populations. *Applied and Environmental Microbiology*, 74: 7118-7125.
- Brunner, J. L. y Ostfeld, R. S. 2008. Multiple causes of variable tick burdens on small-mammal hosts. *Ecology*, 89: 2259-2272.
- Burg, J. G. 2001. Seasonal activity and spatial distribution of host-seeking adults of the tick *Dermacentor variabilis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 15: 413-421.
- Burkart, R.; Bárbaro, N. O.; Sánchez, R. O.; Gómez, D. A. 1999. "Ecorregiones de la Argentina". Secretaría de Recursos Naturales y Desarrollo Sustentable. Programa de Desarrollo Institucional y Administración de Parques Nacionales. Buenos Aires, Argentina. 42 pp.

- Bush, A. O.; Lafferty, K. D.; Lotz, J. M.; Shostak, A. W. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. Revisited. *Journal of Parasitology*, 83: 575-583.
- Buxton, P. A. y Mellanby, K. 1934. The measurement and control of humidity. *Bulletin of Entomological Research*, 25: 171-175.
- Calderón, G.; Pini, N.; Bolpe, J.; Levis, S.; Mills, J.; Segura, E.; Guthmann, N.; Cantoni, G.; Becker, J.; Fonollat, A.; Ripoll, C.; Bortman, M.; Benedetti, R.; Sabattini, M.; Enría, D. 1999. Hantavirus reservoir hosts associated with peridomestic habitats in Argentina. *Emerging Infectious Diseases*, 5: 792-797.
- Cardoso da Silva, J. M. y Bates, J. M. 2002. Biogeographical patterns and conservation in the South American cerrado: a tropical savanna hotspot. *BioScience*, 52: 225-233.
- Chacón, S. C.; Freitas, L. H.; da Silva Barbieri, F.; Faccini, J. L. H. 2004. Relacao entre peso e número de ovos, larvas e ninfas ingurgitadas de *Amblyomma cooperi* Nuttal e Warburton, 1908 (Acari: Ixodidae) a partir de infestacoes experimentais em coelhos domésticos. *Revista Brasileira da Parasitologia Veterinaria*, 13: 6-12.
- Corriale, M. J.; Orozco, M. M.; Jiménez Pérez, I. 2013. Parámetros poblacionales y estado sanitario de carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris*) en lagunas artificiales de los Esteros del Iberá. *Mastozoología Neotropical*, 20: 31-45.
- Corson, M. S.; Teel, P. D.; Grant, W. E. 2004. Microclimate influence in a physiological model of cattle-fever tick (*Boophilus* sp.) population dynamics. *Ecological Modelling*, 180: 487-514.

- Courtenay, O. y Maffei, L. 2004. Crab-eating fox *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766). Canids: foxes, wolves, jackals and dogs. Status survey and conservation action plan. Eds. C. Sillero-Zubiri, M. Hoffman, D.W. Macdonald and the IUCN/SSC Canid Specialist Group. 32-38 p.
- Cumming, G. S. 2002. Comparing climate and vegetation as limiting factors for species ranges of African ticks. *Ecology*, 83: 255-268.
- Daniels, T. J. y Fish, D. 1990. Spatial distribution and dispersal of unfed larval *Ixodes dammini* (Acari: Ixodidae) in Southern New York. *Environmental Entomology*, 19: 1029-1033.
- Dantas-Torres, F.; Siqueira, D. B.; Rameh-De-Albuquerque, L. C.; Da Silva, E.; Souza, D.; Zanotti, A. P.; Ferreira, D. R.; Martins, T. F.; De Senna, M. B.; Wagner, P. G. C.; Da Silva, M. A.; Marvulo, M. F. V.; Labruna, M. B. 2010. Ticks infesting wildlife species in Northeastern Brazil with new host and locality records. *Journal of Medical Entomology*, 47: 1243-1246.
- Dantas-Torres, F.; Aléssio, F. M.; Siqueira, D. B.; Mauffrey, J. F.; Marvulo, M. F. V.; Martins, T. F.; Moraes-Filho, J.; Camargo, M. C. G. O.; D'Auria, S. R. N.; Labruna, M. B.; Silva, J. C. R. 2012. Exposure of small mammals to ticks and rickettsiae in Atlantic Forest patches in the metropolitan area of Recife, North-eastern Brazil. *Parasitology*, 139: 83-91.
- Dautel, H. y Knulle, W. 2006. Investigation into the diapause and cold hardiness of *Ixodes ricinus* eggs. 12<sup>th</sup> International Congress of Acarology. August 2006, The Netherlands, 144 p.
- Dautel, H.; Dippel, C.; Kämmer, D.; Wekhausen, A.; Kahl, O. 2008. Winter activity of *Ixodes ricinus* in a Berlin forest. *International Journal of*

- Medical Microbiology, 298: 50-54.
- Debárbora, V. N.; Nava, S.; Cirignoli, S.; Guglielmone, A. A.; Poi, A. S.G. 2012. Ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing endemic and exotic wild mammals in the Esteros del Iberá wetlands, Argentina. *Systematic & Applied Acarology*, 17: 243-250.
- Debárbora, V. N.; Mangold, A. J.; Oscherov, E. B.; Guglielmone, A. A.; Nava, S. 2014. Study of the life cycle of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae) based on field and laboratory data. *Experimental and Applied Acarology*, DOI 10.1007/s10493-014-9767-1.
- Devevey, G. y Brisson, D. 2012. The effect of spatial heterogeneity on the aggregation of ticks on white-footed mice. *Parasitology*, 139: 915-925.
- Diaz, M. M. 2000. Key to the native mammals of Jujuy Province, Argentina. *Occasional Papers, Sam Noble Oklahoma. Museum of Natural History*, 7: 1-29.
- Eberhard, J. R. y Bermingham, E. 2004. Phylogeny and biogeography of the *Amazona ochrocephala* (Aves: Psittacidae) complex. *Auk*, 121: 318-332.
- Eberhardt, A. T.; Costa, S. A.; Marini, M. R.; Racca, A.; Baldi, C. J.; Robles, M. R.; Moreno, P. G.; Beldoménico, P. M. 2013. Parasitism and physiological trade-offs in stressed capibaras. *PLoS ONE*, 8: e70382.
- Estrada, D. A.; Schumaker, T. T. S.; Souza, C. E.; Neto, E. J. R.; Linhares, A. X. 2006. Detecção de riquetsias em carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) coletados em parque urbano do município de Campinas, SP. *Revista de la Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39: 68-71.

- Estrada-Peña, A. 2008. Climate, niche, ticks, and models: what they are and how we should interpret them. *Parasitology Research*, 103: 87-95.
- Estrada-Peña, A.; Venzal, J. M.; Guglielmone, A. A. 2002. *Amblyomma dubitatum* Neumann: description of nymph and redescription of adults, together with the description of the immature stages of *A. triste* Koch. *Acarologia*, 42: 323-333.
- Estrada-Peña, A.; Guglielmone, A. A.; Mangold, A. J. 2004. The distribution and ecological 'preferences' of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the Americas. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 98: 283-292.
- Estrada-Peña, A.; Bouattour, A.; Camicas, J. L.; Guglielmone, A.; Horak, I.; Jongejan, F.; Latif, A.; Pegram, R.; Walker, A. R. 2006. The known distribution and ecological preferences of the tick subgenus *Boophilus* (Acari: Ixodidae) in Africa and Latin America. *Experimental and Applied Acarology*, 38: 219-235.
- Estrada-Peña, A.; Nava, S.; Horak, I. G.; Guglielmone, A. A. 2010. Using ground-derived data to assess the environmental niche of the spinose ear tick, *Otobius megnini*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 137: 132-142.
- Evans, D. E.; Martins, J. R.; Guglielmone, A. A. 2000. A review of the ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographical distribution-1. The state of Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 95: 453-470.
- Fabri, S.; Heinonen Fortabat, S.; Soria, A.; Pardiñas, U. 2003. Los mamíferos de la reserva provincial Iberá, provincia de corrientes, Argentina. En: Alvarez, B.

- B. (Ed.). Fauna del Iberá. Editorial de la Universidad Nacional del Nordeste, Talleres Gráficos Volpe/Fox, Buenos Aires. 305-342 p.
- Faccini, J. L. H.; Chacón, S. C.; Labruna, M. B. 2006. Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) as experimental host for *Amblyomma dubitatum* Neumann (Acari: Ixodidae). Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 58: 1236-1239.
- Famadas, K.; Lemos, E. R. S.; Coura, J. R.; Machado, R. D.; Serra Freire, N. M. 1997. *Amblyomma cooperi* (Acari: Ixodidae) parasitando humano em área de foco de febre maculosa, São Paulo-Brasil. Acta Parasitológica Portuguesa, 4: 154.
- Fourie, L. J.; Belozarov, V. N.; Needham, G. R. 2001. *Ixodes rubicundus* nymphs are short-day diapause-induced ticks with termolabile sensitivity and desiccation resistance. Medical and Veterinary Entomology, 15: 335-341.
- Freire, J. J. 1972. Revisão das espécies da família Ixodidae. Revista de Medicina Veterinaria (Sao Paulo), 8: 1-16.
- Frost, D.R. 2004. Amphibian species of the world: an online reference. Ver. 3.0. <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- Fujimoto, K. 1994. Effect of photoperiod on the host-seeking activity and development of the larvae and nymphs of *Ixodes nipponensis* Kitaoka and Saito (Acari: Ixodidae). Japanese Journal of Sanitary Zoology, 45: 63-69.
- Fujimoto, K. 1998. Effects of photoperiod on the host-feeding and development of *Haemaphysalis flava* nymphs (Acari: Ixodidae). Medical Entomology and Zoology, 49: 235-238.

- Fujimoto, K. 2003. An experimental analysis on the low activity of *Amblyomma testudinarium* Koch nymphs (Acari: Ixodidae) in late autumn, with special reference to behavioral diapause. *Medical Entomology and Zoology*, 54: 193-196.
- Gotelli, N. J. y Ellison, A. M. 2004. A primer of ecological statistics. Sinauer Associates, Sunderland, USA. 510 pp.
- Gray, J. 1998. The ecology of ticks transmitting Lyme borreliosis. *Experimental and Applied Acarology*, 22: 249-258.
- Guedes, E.; Leite, R. C.; Prata, M. C. A.; Pacheco, R. C.; Walker, D. H.; Labruna, M. B. 2005. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 841-845.
- Guglielmone, A. A. y Moorhouse, D. E. 1983. Copulation and successful insemination by unfed *Amblyomma triguttatum triguttatum* Koch. *Journal of Parasitology*, 69: 786-787.
- Guglielmone, A. A. y Moorhouse, D. E. 1986. The effect of photoperiod on the development of *Amblyomma triguttatum triguttatum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 23: 274-278.
- Guglielmone, A. A. y Nava, S. 2010. Rodents of the subfamily Caviinae (Hystricognathi, Caviidae) as hosts for hard ticks (Acari: Ixodidae). *Mastozoología Neotropical*, 17: 279-286.
- Guglielmone, A. A. y Nava, S. 2011. Rodents of the subfamily Sigmodontinae (Myomorpha: Cricetidae) as hosts for hard ticks (Acari: Ixodidae) with

hypotheses on life history. *Zootaxa*, 2904: 45-65.

Guglielmone, A. A. y Nava, S. 2014. Names for Ixodidae (Acari:Ixodoidea): valid, synonyms, *incertae sedis*, *nomina dubia*, *nomina nuda*, *lapsus*, incorrect and suppressed names—with notes on confusions and misidentifications. *Zootaxa*, <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.0000.0.0>.

Guglielmone, A. A. y Viñabal, A. E. 1994. Claves morfológicas dicotómicas e información ecológica para la identificación de garrapatas del género *Amblyomma* Koch, 1844 de la Argentina. *Revista de Investigación Agropecuaria*, 25: 39-67.

Guglielmone, A. A.; Mangold, A. J.; Aguirre, D. H.; Gaido, A. B. 1990. Ecological aspects of four species of ticks found on cattle, in Salta, Northwest Argentina. *Veterinary Parasitology*, 35: 93-101.

Guglielmone, A. A.; Mangold, A. J.; Boero, C.; Piccinini, A.; Keirans, J. E. 2002. Hallazgo de *Amblyomma cooperi* Nuttall & Warburton, 1907 en bovinos de Corrientes, Argentina. *Veterinaria Argentina*, 19:124–125.

Guglielmone, A. A.; Beati, L.; Barros-Battesti, D. M.; Labruna, M. B.; Nava, S.; Venzal, J. M.; Mangold, A. J.; Szabó, M. J. P.; Martins, J. R.; González Acuña, D.; Estrada-Peña, A. 2006. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Experimental and Applied Acarology*, 40: 83-100.

Guglielmone, A. A.; Robbins, R. G.; Apanaskevich, D. A.; Petney, T. A.; Estrada-Peña, A.; Horak, I. G.; Shao, R.; Barker, S. C. 2010. The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid names. *Zootaxa*, 2528: 1-28.

- 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 (Acari: Ixodida: Ixodidae). Springer, Dordrecht, Heidelberg, New York, London, 738 pp.
- Hijmans, R. J.; Cameron, S. E.; Parra, J. L.; Jones, P. G.; Jarvis, A. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25: 1965-1978.
- Hoogstraal, H. 1973. Acarina (Ticks). In: *Viruses and Invertebrates*, Ed. A.J. Gibbs. North Holland Publishing Co. CHS. 89-103 pp.
- Hoogstraal, H. 1978. Biology of ticks. En *Tick borne diseases and their vectors*, (Ed. Wilde, J. K. H.). University of Edimburgh, Edimburgh, Scotland. 3-14p.
- Hoogstraal, H. 1985. Argasid and Nuttalliellid ticks as parasites and vectors. *Advance in Parasitology*, 24: 135-238.
- Hoogstraal, H. y Aeschlimann, A. 1982. Tick-host specificity. *Bulletin de la Société Entomologique Suisse*, 55 : 5-32.
- Hoogstraal, H. y Kim, K. V. 1985. Tisk and mammal coevolution, with emphasis on *Haemaphysalis*. Pp. 505-568. En: *Coevolution of parasitic arthropods and mammals* (Ed. Kim, K. C.). Wiley y Sons, New York, USA. 505 pp.
- Horta, M. C.; Labruna, M. B.; Pinter, A.; Linardi, P. M.; Schumaker, T. T. S. 2007. Rickettsia infection in five areas of the state of Sao Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 102: 793-801.
- Horta, M. C.; Sabatini, G. S.; Moraes-Filho, J.; Ogrzewalska, M.; Canal, R. B.; Pacheco, R. C.; Martins, T. F.; Matushima, E. R.; Labruna, M. B. 2010.

- Experimental infection of the opossum *Didelphis aurita* by *Rickettsia felis*, *Rickettsia bellii*, and *Rickettsia parkeri* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense* and *Amblyomma dubitatum*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10: 959-967.
- Hughes, V. L. y Randolph, S. E. 2001. Testosterone depresses innate and acquired resistance to ticks in natural rodent hosts: a force for aggregated distributions of parasites. *Journal of Parasitology*, 87: 49-54.
- Hugot, J. P. 2006. Coevolution of macroparasites and their small mammalian hosts: Micromammals & Macroparasites. En: *From evolutionary ecology to management. Cophylogeny and coadaptation*. Morand, S.; Krasnov, B. R.; Poulin, R. (eds) Springer-Verlag, Tokyo, 257-276 p.
- Hutchinson, G. E. 1957. Concluding remarks. En: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 22: 415-427p.
- Ivancovich, J. C. y Luciani, C. A. 1992. *Las garrapatas de Argentina*. Asociación Argentina de Parasitología Veterinaria, Buenos Aires. 95 pp.
- Joan, T. 1930. El amblyomma [sic] de Cooper y demás garrapatas de los carpinchos. 5ª Reunión de la Sociedad Argentina de Patología Regional Norte, Jujuy, Argentina 2: 1168-1179.
- Jokela, J.; Schmid-Hempel, P.; Rigby, M. C. 2000. Dr. Pangloss restrained by the Red Quenn- steps towards a unified defence theory. *Oikos*, 89: 267-274.
- Jongejan, F. y Uilenberg, G. 2004. The global importance of ticks. *Parasitology*, 129: 1-12.

- Kiffner, C.; Lodige, C.; Alings, M.; Vor, T.; Ruhe, F. 2011. Attachment site selection of ticks on roe deer, *Capreolus capreolus*. *Experimental and Applied Acarology*, 53: 79-94.
- Klein, S. L. 2004. Hormonal and immunological mechanism mediating sex differences in parasite infection. *Parasite Immunology*, 26: 247-264.
- Klompen, J. S. H.; Black, W. C.; Keirans, J. E.; Oliver, J. H. 1996. Evolution of ticks. *Annual Review of Entomology*, 41: 141-161.
- Koch, H. G. y Tuck, M. D. 1986. Molting and survival of the brown dog tick (Acari: Ixodidae) under different temperatures and humidities. *Annals of the Entomological Society of America*, 79: 11-14.
- Krasnov, B. R.; Shenbrot, G. I.; Khokhlova, I. S.; Degen, A. A. 2004. Flea species richness and parameters of host body, host geography and host "milieu". *Journal of Animal Ecology*, 73: 1121-1128.
- Krasnov, B. R.; Morand, S.; Hawlena, H.; Khokhlova, I. S.; Shenbrot, G. I. 2005. Sex-biased parasitism, seasonality and sexual size dimorphism in desert rodents. *Oecologia*, 146: 209-217.
- Krasnov, B. R.; Stanko, M.; Morand, S. 2007. Host community structure and infestation by ixodid ticks: repeatability, dilution effect and ecological specialization. *Oecologia*, 154: 185-194.
- Krebs, C. J. 1999. *Ecological methodology*. 2nd. ed., A. Wesley Longman, NY, USA. 620 pp.
- Krist, A. C.; Jokela, J.; Wiehn, J.; Lively, C. M. 2004. Effects of host conditions on susceptibility to infection, parasite developmental rate, and parasite

transmission in a snail-trematode interactions. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 33-40.

Labruna, M. B. 2009. Ecology of *Rickettsia* in South America. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1166: 156-166.

Labruna, M. B. y Souza, S. I. P. 1999. Levantamento de fauna ixodológica através de armadilha de dióxido de carbono, em um parque ecológico no estado de São Paulo. XI Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Salvador, Bahia, Brasil, p. 87.

Labruna, M.B.; de Paula, C.T.; Lima, T. F.; Sana, D. A. 2002. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild animals from the porto-primavera hydroelectric power station area, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97:1133–1136.

Labruna, M. B.; Amaku, M.; Metzner, J. A.; Pinter, A.; Ferreira, F. 2003. Larval behavioral diapause regulates life cycle of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Southeast Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 40: 170-178.

Labruna, M. B.; Whitworth, T.; Horta, M. C.; Bouyer, D. H.; McBride, J.; Pinter, A.; Popov, V.; Gennari, S. M.; Walker, D. H. 2004a. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of Sao Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *Journal of Clinical Microbiology*, 42: 90–98.

Labruna, M.B.; Pinter, A.; Teixeira, R. H. F. 2004b. Life cycle of *Amblyomma cooperi* (Acari: Ixodidae) using capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) as hosts. *Experimental Applied Acarology*, 32: 79–88.

- Labruna, M. B.; Jorge, R.S. P.; Sana, D. A.; Jácomo, A. T. A.; Kashivakura, C. K.; Furtado, M. M.; Ferro, C.; Perez, S. A.; Silveira, L.; Santos T. S.; Marques, S. R.; Morato, R. G.; Nava, A.; Adania, C. H.; Teixeira, R. H. F.; Gomes, A. A. B.; Conforti, V. A.; Azevedo, F. C. C.; Prada, C. S.; Silva, J. C. R.; Batista, A. F.; Marvulo, M. F. V.; Morato, R. L. G.; Alho, C. J. R.; Pinter, A.; Ferreira, P. M.; Ferreira, F.; Barros-Battesti, D. M. 2005. Ticks (Acari: Ixodida) on wild carnivores in Brazil. *Experimental Applied Acarology*, 36: 149–163.
- Labruna, M. B.; Pacheco, R. C.; Ataliba, A. C.; Szabó, M. J. P. 2007. Human parasitism by the capibara tick, *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodida). *Entomological news*, 118: 77-80.
- Labruna, M. B.; Mattar, S.; Nava, S.; Bermudez, S.; Venzal, J. M.; Dolz, G.; Abarca, K.; Romero, L.; de Sousa, R.; Oteo, J.; Zavala-Castro, J. 2011. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. *Revista MVZ Córdoba*, 16: 2435-2457.
- Lemos, E. R. S.; Machado, R.D.; Coura, J. R.; Guimaraes, M. A. A.; Serra Freire, N. M.; Amorim, A.; Gazeta, G. S. 1997. Epidemiological aspects of the Brazilian spotted fever: seasonal activity of ticks collected in an endemic area in Sao Paulo, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 30: 181–185.
- Ligier, H. D.; Kurtz, D.; Perucca, A. R.; Matteio, H.; Vallejos, O.; Lencinas, Rosa. 2004. Manejo y conservación de los Esteros del Iberá. Proyecto ARG 02/G35 GEF/PNUD/Fundación Ecos. 271 pp.
- Lutermann, H.; Medger, K.; Horak, I. G. 2012. Effects of life-history traits on parasitism in a monogamous mammal, the eastern rock sengi

(*Elephantulus myurus*). *Naturwissenschaften*, 99: 103-110.

Machado-Ferreira, E.; Piesman, J.; Zeidner, N. S.; Soares, C. A. 2012. A prevalent alpha-proteobacterium *Paracoccus* sp. in a population of the Cayenne ticks (*Amblyomma cajennense*) from Rio de Janeiro, Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 35: 862-867.

Madder, M.; Speybroeck, N.; Brandt, J.; Berkvens, D. 1999. Diapause induction in adults of three *Rhipicephalus appendiculatus* stocks. *Experimental and Applied Acarology*, 23: 961-968

Madder, M.; Speybroeck, N.; Brandt, J.; Tirry, L.; Hodek, I.; Berkvens, D. 2002. Geographic variation in diapause response of adult *Rhipicephalus appendiculatus* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 27: 209-221.

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 and Tick-borne Diseases*, 1: 75-99.

Mastropaolo, M.; Aprile, G.; Solis, G.; Beldoménico, P. M.; Peralta, J. L.; Guglielmone, A. A. 2004. Primer registro de *Amblyomma dubitatum* Neumann 1899 (Acari: Ixodidae) en la provincia de Misiones (Argentina). *Revista FAVE*, 3: 67-70.

Mills, J. N.; Ellis, B. A.; McKee, K. T.; Maiztegui, J. I.; Childs, J. E. 1991. Habitat associations and relative densities of rodent populations in cultivated areas of central Argentina. *Journal of Mammalogy*, 72: 470-479.

Mills, J. N.; Yates, T. L.; Childs, J. E.; Parmenter, R. R.; Ksiazek, T. G.; Rollin, P. E.;

- Peters, C. J. 1995. Guidelines for working with rodents potentially infected with Hantavirus. *Journal of Mammalogy*, 76: 716-722.
- Monteiro, C. M. O.; Santos-Rosa, L.; Dabe's, L.; Rodrigues, A. F. S. F. 2004. Levantamento preliminar da ixodofauna da mata do Morro do Imperador Juiz de Fora-MG, Brasil. *Revista Brasileira da Parasitologia Veterinaria*, 13: 315.
- Moore, S. L. y Wilson, K. 2002. Parasites as a viability cost of sexual selection in natural populations of mammals. *Science*, 297: 2015-2018.
- Mooring, M. S.; McKenzie, A. A.; Hart, B. L. 1996. Role of sex and breeding status in grooming and total tick load impala. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 39: 259-266.
- Morrone, J. J. 2006. Biogeographic areas and transition zones of Latin American and the Caribbean Islands based on the panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. *Annual Review of Entomology*, 51: 467-494.
- Narosky, T. e Yzurieta, D. 2003. Guía para la identificación de aves de Argentina y Uruguay. 15° ed. Vazquez Massini Editores, Buenos Aires, Argentina. 346 pp.
- Nava, S. y Guglielmone, A. A. 2013. A meta-analysis of specificity in Neotropical hard ticks (Acari: Ixodidae). *Bulletin of Entomological Research*, 103: 216-224.
- Nava, S.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2006a. The natural hosts of larvae and nymphs of *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 140: 124-132.

- Nava, S.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2006b. The natural hosts for larvae and nymphs of *Amblyomma neumanni* and *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 40: 123-131.
- Nava, S.; Lareschi, M.; Rebollo, C.; Benítez Usher, C.; Beati, L.; Robbins, R. G.; Durden, L. A.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2007. The ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) of Paraguay. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 101: 255-270.
- Nava, S.; Szabo, M. P. J.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2008a. Distribution, hosts, 16S rDNA sequences and phylogenetic position of the Neotropical tick *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae). *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 102: 409-425.
- Nava, S.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2008b. Aspects of the life cycle of *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) under natural conditions. *Veterinary Parasitology*, 156: 270-276.
- Nava, S.; Estrada-Peña, A.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2009a. Ecology of *Amblyomma neumanni* (Acari: Ixodidae). *Acta Tropica*. 111, 226-236.
- Nava, S.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2009b. Seasonal distribution of larvae and nymphs of *Amblyomma tigrinum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology*, 166: 340-342.
- Nava, S.; Guglielmone, A. A.; Mangold, A. J. 2009c. An overview of systematics and evolution of ticks. *Frontiers in Bioscience*, 14: 3012-3023.
- Nava, S.; Venzal, J. M.; Labruna, M. B.; Mastropaolo, M. M.; González, E. M.; Mangold, A. J.; Guglielmone, A. A. 2010. Hosts, distribution and genetic

- divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum*. *Experimental and Applied Acarology*, 51: 335-351.
- Nava, S.; Mangold, A. J.; Mastropaolo, M.; Venzal, J. M.; Fracassi, N.; Guglielmone, A. A. 2011. Seasonal dynamics and hosts of *Amblyomma triste* (Acari: Ixodidae) in Argentina. *Veterinary Parasitology*, 181: 301-308.
- Nava, S.; Venzal, J. M.; Terassini, F. A.; Mangold, A. J.; Camargo, L. M. A.; Casás, G.; Labruna, M. B. 2013. *Ornithodoros guaporensis* (Acari, Ixodida: Argasidae), a new tick species from the Guaporé River Basin in the Bolivian Amazon. *Zootaxa* 3666: 579–590.
- Neiff, J. J. 2004. El Iberá...¿en peligro?. Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires, Argentina. 100 pp.
- Neiff, J. J. y Poi de Neiff, A. S. G. 2005. Situación ambiental de la ecorregión Iberá. En: La situación ambiental Argentina. Brown, A.; Martínez Ortiz, U.; Acerbi, M.; Corcuera, J. (Eds.). Fundación Vida Silvestre Argentina, Buenos Aires, Argentina. 177-184 p.
- Norval, R. A. I. y Horak, I. G. 2004. Vectors: ticks. En: *Infectious Diseases of Livestock*, 2<sup>da</sup> ed, (Eds. J. A. W., Coetzer, R. C. Tustin). Oxford University Press, Oxford, UK. Tomo I. 591 pp.
- Norval, R. A. I.; Spickett, A. M.; Clifford, C. M. 1987. The ticks of Zimbabwe. XVI. The genus *Ixodes*. *Zimbabwe Veterinary Journal*, 18: 1-10.
- Ogden, N. H.; Lindsay, L. R.; Beauchamp, G.; Charron, D.; Maarouf, A.; O'Callaghan, C. J.; Waltner-Toews, D.; Barker, I. K. 2004. Investigation of

- relationship between temperature and development rates of tick *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in the laboratory and field. *Journal of Medical Entomology*, 41: 622-633.
- Oliveira, P. R.; Borges, L. M. F.; Lopes, C. M. L.; Leite, R. C. 2000. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 92: 295-301.
- Oliveira, P. R.; Borges, L. M. F.; Leite, R. C.; Freitas, C. M. V. 2003. Seasonal dynamics of the Cayenne tick, *Amblyomma cajennense* on horses in Brazil. *Medical and Veterinary Entomology*, 17: 412-416.
- Oliveira, K. A.; Oliveira, L. S. C. C. A.; Dias Silva, A.; Almeida, M. R.; Almada, G.; Bouyer, D. H.; Galvao, M. A. M.; Mafra, C. L. 2008. Molecular identification of *Rickettsia felis* in ticks and fleas from an endemic area for Brazilian spotted fever. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 103: 191-194.
- Oliver Jr., J. H. 1989. Biology and Systematics of ticks (Acari: Ixodida). *Annual Review of Ecology and Systematic*, 20: 397-430.
- Oliver, J. H. y Stone, B. F. 1983. Spermatid production in unfed, *Metastriatia* ticks. *Journal of Parasitology*, 69: 420-421.
- Oscherov, E. B.; Bar, M. E.; Milano, A. M. F.; Damborsky, M. P. 2006. Presencia de garrapatas del género *Amblyomma* (Ixodidae) en áreas naturales protegidas. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 3: 185.
- Pacala, S. W. y Dobson, A. P. 1988. The relation between the number of

parasites/host and host age: population dynamics causes and maximum likelihood estimation. *Parasitology*, 96: 197-210.

Pacheco, R. C.; Pinter, A.; Ferreira, P. M.; Ferreira, M.; Labruna, M. B. 2004. Carrapatos infestando capivaras em cinco áreas do Estado de Sao Paulo. *Revista Brasileira da Parasitologia Veterinaria*, 13: 315.

Pacheco, R. C.; Horta, M. C.; Moraes-Filho, J.; Ataliba, A. C.; Pinter, A.; Labruna, M. B. 2007. Rickettsial infection in capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) from Sao Paulo, Brazil: serological evidence for infection by *Rickettsia belli* and *Rickettsia parkeri*. *Biomédica*, 27: 364–371.

Pacheco, R. C.; Horta, M. C.; Pinter, A.; Moraes-Filho, J.; Martins, T. F.; Nardi, M. S.; De Souza, S. S. A. L.; De Souza, C. E.; Szabó, M. P. J.; Richtzenhain, L. J.; Labruna, M. B. 2009. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no Estado de São Paulo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42: 351-353.

Parola, P.; Paddock, C. D.; Raoult, D. 2005. Tick-borne rickettsioses around the world: emerging diseases challenging old concepts. *Clinical Microbiology Reviews*, 18: 719-756.

Patterson, B. D.; Dick, C. W.; Dittmar, K. 2008. Parasitism by bat flies (Diptera: Streblidae) on neotropical bats: effects of host body size, distribution, and abundance. *Parasitology Research*, 103: 1091-1100.

Pearman, P. B.; Guisan, A.; Broennimann, O.; Randin, C. F. 2007. Niche dynamics in space and time. *Trends in Ecology and Evolution*, 23: 149-158.

- Pegram, R. G.; Mwase, E. T.; Zivkovic, D.; Jongejan, F. 1988. Morphogenetic diapause in *Amblyomma variegatum* (Acari: Ixodidae). *Medical and Veterinary Entomology*, 2: 301-307.
- Pereira-Medeiros, A.; Souza, A. P. D.; Moura, A. B. D.; Lavina, M. S.; Bellato, V.; Sartor, A. A.; Nieri-Bastos, F.A.; Richtzenhain, L. J.; Labruna, M. B. 2011. Spotted fever group Rickettsia infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106: 926-930.
- Perkins, S. E.; Cattadori, I. M.; Tagliapietra, V.; Rizzoli, A. P.; Hudson, P. J. 2003. Empirical evidence for key hosts in persistence of a tick-borne disease. *International Journal of Parasitology*, 33: 909-917.
- Perret, J. L.; Guigoz, E.; Rais, O.; Gern, L. 2000. Influence of saturation deficit and temperature on *Ixodes ricinus* tick questing activity in a Lyme borreliosis-endemic area (Switzerland). *Parasitology Research*, 86: 554-557.
- Phillips, S. J.; Dudík, M.; Schapire, R. E. 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling. In: *Proceedings of the 21<sup>st</sup> International Conference on Machine learning*, 69: 83-99.
- Pilosof, S.; Lareschi, M.; Krasnov, B. R. 2012. Host body microcosm and ectoparasite infracommunities: arthropod ectoparasites are not spatially segregated. *Parasitology*, 139: 1739-1748.
- Poi de Neiff, A. S. G. (Ed.). 2003. *Limnología del Iberá. Aspectos químicos, físicos y biológicos de las aguas*. EUDENE-UNNE. 191 pp.

- Poulin, R. 1993. The disparity between observed and uniform distributions: a new look at parasite aggregation. *International Journal for Parasitology*, 23: 937-944.
- Poulin, R. 2007. *Evolutionary Ecology of Parasites* (2<sup>nd</sup> edition). New Jersey, Princeton University Press. 332 pp.
- Poulin, R. y Nascimento, M. G. 2007. The scaling of total biomass with host body mass. *International Journal of Parasitology*, 37: 359-364.
- Pound, J. M. y George, J. E. 1991. Differential effects of photoperiod on development and reproduction in “Montane” and “Prairie” strains of the Rocky Mountain Wood tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 28: 174-182.
- Pound, J. M.; Hilburn, L. R.; George, J. E. 1993. Implications of selection and hybridization studies on the mode of inheritance of photoperiodically induced developmental diapause in laboratory strains of the lone star tick (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30: 100-106.
- Queirogas, V. L.; Del Claro, K.; Nascimento, A. R. T.; Szabó, M. P. J. 2012. Capybaras and ticks in the urban areas of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil: ecological aspects for the epidemiology of tick-borne diseases. *Experimental and Applied Acarology*, 57: 75-82.
- Quijada-Mascareñas, A.; Ferguson, J. E.; Pook, C. E.; Da Graca Salomao, M.; Thorpe, R. S.; Wüster, W. 2007. Phylogeographic patterns of trans-Amazonian vicariants and Amazonian biogeography: the Neotropical rattlesnake (*Crotalus durissus*) as an example. *Journal of Biogeography*, 34: 1296-1312.

- Randolph, S. E. 1997. Abiotic and biotic determinants of the seasonal dynamics of the tick *Rhipicephalus appendiculatus* in South Africa. *Medical and Veterinary Entomology*, 11: 25-37.
- Randolph, S. E. 2004. Tick ecology: processes and patterns behind the epidemiological risk posed by ixodid ticks as vectors. *Parasitology*, 129: 37-65.
- Randolph, S. E. 2008. The impact of tick ecology on pathogen transmission dynamics. En: *Ticks: Biology, Disease and Control*. Ed., A. S. Browman and P. A. Nuttall. Cambridge University Press. 40-72 pp.
- Randolph, S. E. y Steele, G. M. 1985. An experimental evaluation of conventional control measures against the sheep tick, *Ixodes ricinus* (L.) (Acari: Ixodidae). II. The dynamics of the tick-host interaction. *Bulletin of Entomological Research*, 75: 501-518.
- Randolph, S.E. y Storey, K., 1999. Impact of microclimate on immature tick-rodent host interactions (Acari: Ixodidae): Implications for parasite transmission. *Journal of Medical Entomology*, 36: 741-748.
- Randolph, S. E.; Chemini, C.; Furlanello, C.; Genchi, C.; Hails, R. S.; Hudson, P. J.; Jones, L. D.; Medley, G.; Norman, R. A.; Rizzoli, A. P.; Smith, G.; Woolhouse, M. E. J. 2002a. The ecology of tick-borne infections in wildlife reservoirs. En: *The ecology of wildlife diseases*. Eds. Hudson, P. J.; Rizzoli, A.; Grenfell, B. T.; Heesterbeek, H.; Dobson, A. P. Oxford University Press. 119-138 p.
- Randolph, S. E.; Green, R. M.; Hoodless, A. N.; Peacey, M. F. 2002b. An empirical quantitative framework for the seasonal population dynamics of the tick

- Ixodes ricinus*. International Journal for Parasitology. 32, 979-989.
- Redford, K. H. y Eisenberg, J. F. 1992. Mammals of the Neotropics. Vol. 2. The Southern Cone. Chile, Argentina, Uruguay, Paraguay. University Chicago Press, Chicago, USA. 430 pp.
- Rohr, C. J. 1909. Estudos sobre ixódidas do Brasil. Gómes Irmao, Rio de Janeiro.
- Rosá, R.; Rizzoli, A.; Ferrari, N.; Pugliese, A. 2006. Models for host-macroparasite interactions in micromammals. En: Micromammals & Macroparasites. From evolutionary ecology to management. Eds. Morand, S.; Krasnov, B. R.; Poulin, R. Springer-Verlag, Tokyo, 319-348 p.
- Rózsa, L.; Reiczigel, J.; Majoros, G. 2000. Quantifying parasites in samples of hosts. Journal of Parasitology, 86: 28-232.
- Sabatini, G. S.; Pinter, A.; Nieri-Bastos, F. A.; Marcili, A.; Labruna, M. B. 2010. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the State of São Paulo, Brazil. Journal of medical entomology, 47: 913-916.
- Saraiva, D. G.; Fournier, G. F.; Martins, T. F.; Leal, K. P.; Vieira, F. N.; Câmara, E. M.; Acosta, C. G.; Onofrio, V. C.; Barros-Battesti, D. M.; Guglielmone, A. A.; Labruna, M. B. 2012. Ticks (Acari: Ixodidae) associated with small terrestrial mammals in the state of Minas Gerais, southeastern Brazil. Experimental and Applied Acarology, 58: 159-166.
- Sarmiento, N. F.; Santa Cruz, A. C. M.; Comolli, J. A.; Cayo, D.; Roux, J. P. 2006. Aspectos morfológicos de *Amblyomma cooperi* Nuttal y Warburton 1908 (Arthropoda: Ixodidae) aislados de *Hydrochaeris hydrochaeris* en un

criadero de Santo Tome (Corrientes). 1ª Jornada Nacional de Ectoparasitología Veterinaria. Corrientes, Argentina, p 38.

Schulze, T. L. y Jordan, R. A. 1996. Seasonal and long-term variations in abundance of adult *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) in different coastal plain habitats of New Jersey. *Journal of Medical Entomology*, 33: 963-970.

Schulze, T. L.; Jordan, R. A.; Hung, R. W. 1997. Biases associated with several sampling methods used to estimate abundance of *Ixodes scapularis* and *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology*, 34: 615-623.

Serra-Freire, N. M. 2010. Occurrence of ticks (Acari: Ixodidae) on human hosts, in three municipalities in the State of Pará, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19: 141-147.

Serra-Freire, N. M.; Sena, L. M. M.; Borsoi, A. B. P. 2011. Parasitismo humano por carrapatos na Mata Atlântica, Rio de Janeiro, Brasil. *EntomolBrasilis*, 4: 67-72.

Shaw, D. J.; Grenfell, B. T.; Dobson, A. P. 1998. Patterns of macroparasite aggregation in wildlife host populations. *Parasitology*, 117: 597-610.

Sinkoc, A. L.; Brum, J. G.W.; Muller, G.; Begrow, A.; Paulsen, R. M. M. 1997. Ocorrencia de Ixodidae parasitos de capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1776) na Estação Ecológica do Taim, Rio Grande-RD, Brasil. *Ciencia Rural*, 27: 119-122.

Sinkoc, A. L.; Brum, J. G. W.; Moraes, W.; Crawshaw, P. 1998. Ixodidae

- parasitos de animais silvestres na regio de Foz de Iguacú, Brasil e Argentina. *Arquivos do Instituto Biologico*, 65: 29–33.
- Smith, C. N. y Cole, M. M. 1941. Effect of length of day on the activity and hibernation of the American dog tick, *Dermacentor variabilis* (Say). *Annual of the Entomological Society of America*, 34: 426-431
- Sokal, R. R. y Rohlf, F. J. 1999. *Introducción a la bioestadística*. Editorial Reverté, Barcelona, España. 362 pp.
- Sonenshine, D. E. 1991. *Biology of ticks*. Vol 1, Oxford University Press, Oxford. 447 pp.
- Sonenshine, D. E. 1993. *Biology of ticks*. Vol. 2. New York, Oxford. Oxford University Press. 465 pp.
- Sonenshine, D. E. ; Lane, R. S. ; Nicholson, W. L. 2002. Ticks (Ixodida). En: *Medical and Veterinary Entomology*. Eds. Mullen, G.R. and Durden, L.A. Academic Press, San Diego, California. 517-558 p.
- Souza, C. E.; Calic, S. B.; Camargo, M. C. G. O. 2004. O papel da capivaras *Hydrochaeris hydrochaeris* na cadeia epidemiológica da febre maculosa brasileira. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 13: 203–205.
- Souza de, S. S. A. L.; de Souza, C. E.; Rodrigues Neto, E. J.; do Prado, A. P. 2006. Dinamica sazonal de carrapatos (Acari: Ixodidae) na mata ciliar de uma área endemica para febre maculosa na regio de Campinas, Sao Paulo, Brasil. *Ciencia Rural*, 36: 887-891.
- Spolidorio, M. G.; Andreoli, G. S.; Martins, T. F.; Brandão, P. E.; Labruna, M. B. 2012. Rickettsial Infection in Ticks Collected from Road-Killed Wild

- Animals in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of medical entomology*, 49: 1510-1514.
- Sutherst, R. W.; Wharton, R. H.; Utech, K. B. W. 1978. Guide to studies on tick ecology. Commonwealth scientific and industrial research organization, Australia. Division of entomology, Technical Paper N° 14. 55 pp.
- Szabó, M. P. J.; Castro, M. B.; Ramos, H. G. C.; Garcia, M. V.; Castagnolli, K. C.; Pinter, A.; Veronez, V. A.; Magalhaes, G. M.; Duarte, J. M. B.; Labruna, M. B. 2007a. Species diversity and seasonality of free-living ticks (Acari: Ixodidae) in the natural habitat of wild marsh deer (*Blastocerus dichotomus*) in Southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 143: 147-154.
- Szabó, M. P. J.; Olegario, M. M. M.; Santos, A. L. Q. 2007b. Tick fauna from two locations in the Brazilian savannah. *Experimental and Applied Acarology*, 43: 73-84.
- Szabó, M. P. J.; Labruna, M. B.; Garcia, M. V.; Pinter, A.; Castagnolli, K. C.; Pacheco, R. P.; Castro, M. B.; Veronez, V.A.; Magalhaes, G. M.; Vogliotti, A.; Duarte, J. M. B. 2009. Ecological aspects of the free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails within Atlantic rainforest in South-eastern Brazil. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, 103: 57-72.
- Toledo, R. S.; Tamekuni, K.; Haydu, V. B.; Vidotto, O. 2008. Dinâmica sazonal de carrapatos do gênero *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) em um parque urbano da cidade de Londrina, PR. *Revista Brasileira da Parasitologia Veterinaria*, 17: 50-54.
- Tompkins, D. M.; Begon, M. 1999. Parasites can regulate wildlife populations.

- Parasitology Today, 15: 311-313.
- Tompkins, D. M.; Dunn, A. M.; Smith, M. J.; Telfer, S. 2011. Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. *Journal of Animal Ecology*, 80: 19–38.
- Uspensky, I. 2002. Preliminary observations on specific adaptations of exophilic ixodid ticks to forests or open country habitats. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 147-154.
- van der Heijden, K. M.; Szabó, M. P. J.; Matushima, E. R.; Leite da Veiga, M.; Santos, A. A.; Egami, M. I. 2003. Valores hematológicos e identificação morfo-citoquímica de células sanguíneas de capivaras (*Hydrochoerus hydrochoeris*) parasitadas por carrapatos e capivaras livres de infestação. *Acta Scientiarum. Journal of Animal Science*, 25: 43–150.
- Venzal, J. M.; Nava, S.; González-Acuña, D.; Mangold, A. J.; Muñoz-Leal, S.; Lado, P.; Guglielmone, A. A. 2013. A new species of *Ornithodoros* (Acari: Argasidae), parasite of *Microlophus* spp. (Reptilia: Tropiduridae) from northern Chile. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 4: 128-132.
- Veronez, V. A.; Freitas, B. Z.; Olegário, M. M. M.; Carvalho, W. M.; Pascoli, G. V. T.; Thorga, K.; Garcia, M. V.; Szabó, M. P. J. 2010. Ticks (Acari: Ixodidae) within various phytophysognomies of a cerrado reserve in Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. *Experimental and Applied Acarology*, 50: 169-179.
- Walker, A. R. 2001. Age structure of a population of *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in relation to its seasonal questing. *Bulletin of Entomological Research*, 91: 69-78.
- Waller, T. y Parera, A. 2004. Fauna del Iberá. Composición, estado de

- conservación y propuestas de manejo. Proyecto ARG 02/G35 GEF/PNUD/Fundación Ecos. 271 pp.
- Wang, H. H.; Grant, W.E.; Teel, P. D. 2012. Simulation of climate-host-parasite-landscape interactions: A spatially explicit model for ticks (Acari: Ixodidae). *Ecological Modelling*, 243: 42-62.
- Wilson, K.; Grenfell, B. T.; Shaw, D. J. 1996. Analysis of aggregated parasite distributions: a comparison of methods. *Functional Ecology*, 10: 592-601.
- Woods, C. A. y Kilpatrick, C. W. 2005. Infraorder Hystricognathi Brandt, 1855. En: *Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference*. 3rd edn. Eds. Wilson, D. E.; Reeder, D. M. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1538-1600 p.
- Wright, J. E. 1971. Relationship of seasonal activity of *Dermacentor albipictus* (Acarina: Ixodidae) to photoperiod: A laboratory study. *Annals of the Entomological Society of America*, 64: 1456-1458.
- Wüster, W.; Ferguson, J. E.; Quijada-Mascareñas, A.; Pook, C. E.; Da Graça Salomao, M.; Thorpe, R. S. 2005. Tracing an invasion: landbridges, refugia, and the phylogeography of the Neotropical rattlesnake (Serpentes: Viperidae: *Crotalus durissus*). *Molecular Ecology*, 14: 1095-1108.
- Zar, J. H. 1999. *Biostatistical analysis*. 4ta ed. Prentice-Hall, New Jersey, USA. 663 pp.
- Zeman, P.; Lynen, G. 2006. Evaluation of four modelling techniques to predict the potential distribution of ticks using indigenous cattle infestations as calibration data. *Experimental and Applied Acarology*, 39: 163-176.

Zhao, Q. M.; Jia, N.; Yang, H.; Richardus, J. H.; Habbema, J. D. 2009. Tick-borne agents in rodents, China, 2004–2006. *Emerging Infectious Diseases*, 15: 1904-1908.

