

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

Ralph Maturano Pinheiro

**Reprodução, desenvolvimento e hábitos de *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758)
(PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório**

Juiz de Fora
2012

Ralph Maturano Pinheiro

**Reprodução, desenvolvimento e hábitos de *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758)
(PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Orientador: Prof. Dr. Erik Daemon

Juiz de Fora
2012

Pinheiro, Ralph Maturano.

Reprodução, desenvolvimento e hábitos de *Chelopistes meleagridis*
(LINNAEUS, 1758) (PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório /
Ralph Maturano Pinheiro. – 2012
46 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)—
Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2012.

1. Comportamento animal. I. Título.

CDU 591.51

Ralph Maturano Pinheiro

**Reprodução, desenvolvimento e hábitos de *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758)
(PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre

Aprovado em 03 de fevereiro de 2012

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Erik Daemon (Orientador)
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Ildemar Ferreira
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

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

Aos meus pais, exemplos de vida e fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Agradecimentos

Ao meu orientador Dr. Erik Daemon pelo convívio durante todo o curso do mestrado mais iniciação científica, que me rendeu valiosos ensinamentos seja através do humor irreverente, seja através da seriedade com paciência e, sobretudo pela amizade que cultivamos durante esse tempo.

Aos colegas do Laboratório de Artrópodes Parasitos, Aline, Caio, Fernanda e Tatiane, que estiveram sempre prontos a me ajudar quando precisei, tanto durante as coletas quanto em laboratório. Esse tempo de convívio rendeu amizades (e por que não situações?) que jamais serão esquecidas.

Ao programa de Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal que em meio às turbulências, sempre confiou em nós, alunos.

Aos professores que nos transmitiram conhecimento por meio das disciplinas e nos corredores.

Aos funcionários da secretaria, Rita, Osmar e Andréia, pessoas sempre prontas a nos atender com boa vontade e, é claro a querida Rosângela que nos brindou com sua companhia e deliciosos almoços.

À amiga Bianca, pessoa que tanto admiro. Sua amizade significa muito para mim, desde os tempos da graduação. Juntos vivemos divertidas situações nos laboratórios e durante as NOSSAS coletas, que só fortaleceram nossa amizade assim como confiança e compreensão um para com o outro e, é claro, tornou o mestrado mais prazeroso.

À Noemi, amiga desde os tempos da graduação e motivadora para eu seguir esse caminho.

Aos colegas de turma, pessoas com quem convivi principalmente durante as disciplinas e nos corredores, compartilhando opiniões e dúvidas para melhorias nos nossos trabalhos.

Aos amigos do meu “Laboratório agregado”, onde aprendi um pouco mais sobre protozoologia, mas principalmente, cultivei divertidas amizades.

Ao Dr. Paulo Rollo por gentilmente abrir as portas de seu sítio para realizarmos as coletas.

Aos meus pais Luís e Angela e meu irmão Felipe, por tolerarem minha ausência e me receberem de braços abertos quando “visitava minha casa”.Sou eternamente grato pelo amor e carinho que sempre me deram.

À CAPES pela bolsa concedida.

“Somente aquele que constrói o futuro tem direito de julgar o passado.”

Friedrich Nietzsche

Sumário

| | |
|---|------|
| Lista de tabelas | viii |
| Lista de Ilustrações | ix |
| Resumo | xi |
| Abstract | xii |
| 1 Introdução | 13 |
| 2 Revisão bibliográfica | 16 |
| 2.1 Criações de malófagos em laboratório | 16 |
| 3 Reprodução, desenvolvimento e hábitos de <i>Chelopistes meleagridis</i> (LINNAEUS, 1758) (PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório | 26 |
| 3.1 Introdução | 26 |
| 3.2 Material e Métodos | 28 |
| 3.3 Resultados | 30 |
| 3.4 Discussão | 39 |
| 4 Referências Bibliográficas | 42 |
| APÊNDICE I | 46 |

Lista de tabelas

Tabela 1. Duração média (em dias) dos instares ninfais de *Chelopistes meleagridis* em laboratório (35°C e UR>80%), considerando apenas os indivíduos mortos em cada estágio..31

Tabela 2. Duração média (em dias) das fases de vida de *Chelopistes meleagridis* e o tempo de desenvolvimento até a fase adulta em laboratório (35°C, UR>80% e escotofase) considerando apenas as ninfas que realizaram ecdise para o estágio seguinte. 32

Tabela 3. Parâmetros referentes ao número de machos e fêmeas, tempo de desenvolvimento e longevidade de *Chelopistes meleagridis* criados em laboratório (35°C, UR> 80% e escotofase) obtidos com a dieta pena + pele a partir de 75 ovos..... 32

Tabela 4. Parâmetros referentes à sobrevivência, fertilidade e fecundidade de casais de *Chelopistes meleagridis*, selvagens e criados *in vitro*, mantidos em estufa climatizada a 35°, UR> 80% e escotofase. 34

Lista de Ilustrações

Revisão Bibliográfica

Desenho 1. Aparato desenvolvido para determinar a temperatura preferencial das espécies de malófagos. Retirado de e CONCI, C. L'allevamento in condizioni sperimentali dei Mallofagi I. - *Cuclotogaster heterographus* Nitzsch. **Bolletín dei Musei e Instituto Biologia, Universitaire di Genova**, v. 24, n. 150, p. 17 - 40, 1952..... 21

Artigo

Gráfico 1. Ritmo de ovipostura de fêmeas selvagens de *Chelopistes meleagridis*, mantidos em condições laboratoriais (35°, UR> 80% e escotofase) em relação à idade dos casais (dias). 34

Gráfico 2. Dispersão da relação ovos/casal de *Chelopistes meleagridis* selvagens ao longo do tempo (dias). Correlação de Pearson: -0,785; p<0,05..... 35

Gráfico 3. Percentual de eclosão das ninfas e número de ovos de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas selvagens em relação à idade da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo primeiro dia) foram desconsiderados. 35

Gráfico 4. Dispersão da relação percentual de eclosão de ninfas de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas selvagens ao longo do tempo de vida da fêmea no dia da ovipostura. Correlação de Pearson: -0,499; p<0,05. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo primeiro dia) foram desconsiderados..... 36

- Gráfico 5.** Ritmo de ovipostura de fêmeas de *Chelopistes meleagridis* criadas *in vitro*, mantidas em condições laboratoriais (35°, UR> 80% e escotofase) em relação à idade dos casais (dias). 36
- Gráfico 6.** Dispersão da relação ovos/casal de *Chelopistes meleagridis* ao longo do tempo (dias). Correlação de Pearson: -0,611; $p < 0,01$ 37
- Gráfico 7.** Percentual de eclosão das ninfas e número de ovos de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas criadas *in vitro* em relação à idade da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo nono dia) foram desconsiderados. 37
- Gráfico 8.** Dispersão da relação percentual de eclosão de ninfas de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas criadas *in vitro* ao longo do tempo de vida da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo nono dia) foram desconsiderados. Correlação de Pearson: 0,259; $p > 0,05$ 38

Resumo

A bionomia de *Chelopistes meleagridis* fora do hospedeiro foi observada com o objetivo de compreender aspectos relacionados ao ciclo de vida desta espécie. Para isto, adultos de *C. meleagridis* foram coletados e colocados em condições controladas para se reproduzir, oferecendo-se pena como alimento. Da prole destes adultos, foi observado o desenvolvimento de 150 indivíduos desde o ovo até a fase adulta. Para 75 destes, foi oferecida a dieta composta de pena, enquanto para os outros 75 a dieta foi composta de pena e pele do hospedeiro (peru, *Meleagris gallopavo*). Ao verificar que a dieta “pena + pele” foi a que resultou no maior número de adultos, foram observadas a fertilidade, fecundidade e a longevidade de piolhos criados *in vitro* desde o primeiro ínstar alimentados com esta dieta. Valores altos relacionados à reprodução desta espécie foram encontrados em relação a outros piolhos da subordem Ischnocera, destacando-se: número de ovos produzidos por dia e número de ovos produzidos por fêmeas durante a vida (médias de 2,54 e 26,61 ovos, respectivamente, para fêmeas selvagens e 2,11 e 29,33 ovos, respectivamente, para fêmeas criadas *in vitro*). A inclusão de pele na dieta foi determinante para o desenvolvimento até o estágio adulto, uma vez que 48% dos piolhos alimentados com essa dieta atingiram a fase adulta. Quando foi oferecido apenas pena, 1,3% dos piolhos atingiram a maturidade. O tempo de desenvolvimento de machos e fêmeas foi semelhante (média de 29,38 dias) sem haver diferença na proporção sexual dos adultos.

Palavras chave: desenvolvimento *in vitro*; dieta; fecundidade; fertilidade; peru; piolho mastigador.

Abstract

Bionomics of the large louse turkey *Chelopistes meleagridis* off host was evaluated to comprehend aspects related to life cycle. To this, adults was collected and put in controlled conditions for reproduce, offered feathers as food. From offspring of these adults were observed the development of 150 lice from eggs to adults. To 75 of them was given only feathers as resource of food while to others 75 lice the diet was composed by feathers and skin debris from the natural host, *Meleagris gallopavo*. When verified that diet composed by feather + skin resulted in more adults, was evaluated fertility, fecundity and longevity of this specie reared *in vitro* from first nymphs to adults feed with this diet. High values related to reproduction of this specie were found in comparison with others avian Ischnocera, like: number of eggs produced by day and number of egg produced during the lifespan of females (means of 2.54 and 26.61, respectively to wild females and 2.11 and 29.33 respectively to females reared *in vitro*). The addition of skin in diet was determinant to development to adult stage, once time 48% fed with this diet reared to adults while the lice feed with feathers only 1.3 % of then became adult stage. The time of development of males and females was the same (29 days). The sex rate of adults reared *in vitro* was 1:1.

Key words: diet; fecundity, fertility; *in vitro* development; *large louse turkey*.

1 Introdução

Piolhos são insetos ápteros, achatados dorso-ventralmente, encontrados em aves e mamíferos. São ectoparasitos obrigatórios que vivem em íntima associação com o hospedeiro (CLAYTON *et al.*, 2008). Além dos recursos alimentares, os tegumentos dos hospedeiros juntamente com seus anexos (pêlos e penas) e em combinação com o ambiente oferecem gradientes de temperatura, umidade e luminosidade aos quais os piolhos podem se ajustar em locais ideais para sobrevivência e reprodução (MURRAY, 1987). Além disso, pêlos e penas são importantes refúgios para a fuga ou fixação durante o alo/auto-*grooming* e vôo do hospedeiro (JOHNSON & CLAYTON, 2003).

Os piolhos são hemimetábolos com as fases de ovo (comumente conhecido como lêndea), três instares ninfais e adultos. Algumas espécies são partenogenéticas como, por exemplo, *Bovicola bovis* (SCHRANK, 1781). Como não possuem asas, a dispersão dos piolhos é dependente do contato entre os hospedeiros (durante amamentação, cópula, contato direto com indivíduos do bando, cuidados parentais ou durante comportamentos agressivos) ou através de foresia com outros ectoparasitos (ALLINGHAM, 1987; RYDER, 1967).

Estão inseridos na ordem Phthiraptera que é dividida em quatro subordens: Amblycera, Ischnocera, Rhynchophthirina e Anoplura. As três primeiras subordens compreendem os piolhos mastigadores (antiga ordem Mallophaga) e a última, piolhos sugadores. As quatro subordens podem ser facilmente diferenciadas por meio da morfologia da cabeça, peças do aparelho bucal e antenas: Piolhos da subordem Amblycera possuem no aparelho bucal palpos maxilares filiformes e as mandíbulas cortam no sentido horizontal; as antenas possuem quatro ou cinco segmentos e quando em repouso, ficam escondidas em depressões chamadas fossetas antenais (CLAY, 1970). Já os da subordem Ischnocera possuem mandíbulas cortantes no sentido vertical e os palpos maxilares ausentes; as antenas possuem cinco segmentos e permanecem sempre livres. Em ambas as subordens a cabeça é mais larga que o protórax (Clay, 1951). Integrantes da subordem Rhynchophthirina possuem a cabeça prolongada em forma semelhante a um focinho, as mandíbulas estão inseridas no final deste processo e os palpos maxilares são ausentes. Anoplura possuem o aparelho bucal do tipo sugador no lugar de mandíbulas. As cabeças de Rhynchophthirina e Anoplura são mais estreitas em relação ao protórax (PRICE & GRAHAM, 1997).

Dentre os malófagos, as três subordens estão distribuídas em aves e mamíferos: Amblycera parasitam mamíferos placentários, marsupiais e aves, cuja dieta é composta de

penas, exudatos de secreções sebáceas, descamações da pele e sangue; Ischnocera são parasitos de mamíferos placentários e aves, podendo se alimentar de pena, exudatos de secreções sebáceas e descamações da pele do hospedeiro e eventualmente sangue; Rhynchophthirina é uma subordem monogenérica (*Haematomyzus* Piaget, 1869) com apenas duas espécies, parasitos de elefantes e javalis, cuja dieta é composta de descamações de pele, seus exudatos e sangue (GILLOT, 2005; JOHNSON & CLAYTON, 2003).

Quanto aos danos causados aos hospedeiros, o parasitismo por piolhos mastigadores pode acarretar em perda de pêlo/pena, dificuldades no vôo, comprometimento da termorregulação, menor atratividade sexual, inflamações na pele e coceiras intensas ocasionando feridas, possíveis portas para infecções secundárias (DEVANEY, 1976; DURDEN, 2001; NELSON *et al.* 1977). Algumas espécies podem ser vetores ou hospedeiros intermediários de endoparasitos (bactérias, protozoários e helmintos) (BARTLETT, 1993). Em aves de interesse econômico, infestações severas por malófagos podem causar estresse refletindo na baixa produção de carne e ovos (ALDRYHIM, 1993; LEDGER, 1980). Em bovinos, alta parasitemia pode causar perda de peso, mudanças comportamentais como lambidas, coices e redução do tempo de alimentação (KETTLE, 1974).

Conforme ressaltaram Nelson e Murray (1971), o conhecimento da biologia de malófagos é uma ferramenta útil, que aliada a estudos morfológicos e moleculares, pode ajudar a elucidar questões sobre a evolução do grupo (HARVEY & KEYMER, 1991). Além disso, informações sobre a dieta, exigências térmicas e de umidade podem dar suporte à compreensão da distribuição dos ectoparasitos em relação aos hospedeiros, dinâmica sazonal da população parasitária e relação ecológica parasito/hospedeiro. Também é possível obter em estudos biológicos “*in vivo*” ou “*in vitro*”, dados temporais referentes ao desenvolvimento e identificação dos instares ninfais, sendo estes últimos, principalmente, dados escassos na literatura atual, no que se refere à Phthiraptera.

Perus, *Meleagris gallopavo* Linnaeus, 1758 são aves de interesse econômico que movimentam mais de 380 milhões de reais anuais no Brasil (UBA, 2011). Segundo Emerson (1962), os piolhos que os parasitam são: *Menacanthus stramineus* (NITZSCH, 1818); *Oxylipeurus corpulentus* Clay, 1938, *Oxylipeurus (Polytrapezius) polytrapezius* (BURMEISTER, 1838) e *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758). De acordo com a literatura consultada, das quatro espécies citadas, a única que se conhece a respeito da biologia é *M. stramineus*. Provavelmente este fato se deve à sua alta prevalência, principalmente sobre o galo doméstico, *Gallus gallus* (LINNAEUS, 1758).

Chelopistes meleagridis, “the large louse turkey”, é uma espécie de piolho típica em perus e de acordo com Clay (1941) e Price *et al.* (2003) é encontrada também no peru selvagem, *Agriocharis ocellata* Cuvier, 1820. Embora seus hospedeiros sejam amplamente distribuídos no mundo, pouco se sabe a respeito da biologia desta espécie (GUIMARÃES *et al.*, 2001). Com o objetivo de preencher esta lacuna, o presente trabalho se propôs a investigar a história de vida de *C. meleagridis* em condições laboratoriais.

2 Revisão bibliográfica

2.1 Criações de malófagos em laboratório

Trabalhos de criações *in vitro* de piolhos possuem metodologias variadas que se adequaram às exigências térmicas, de umidade e alimentares de cada espécie. O aparato disponível por cada pesquisador é um fator importante a se considerar, principalmente por que os trabalhos em maioria são antigos (início do século passado), o que limitava a estabilidade das condições abióticas com diferentes adaptações.

O primeiro relato encontrado na literatura sobre biologia de malófagos fora do hospedeiro é de Osborn (1890). Segundo este autor, os hábitos das espécies de malófagos necessitam observações acuradas sobre o tempo requerido para o desenvolvimento dos ovos, fato considerado difícil. Para isso, parasitos de hospedeiros domésticos são melhores para estes estudos, embora fosse difícil determinar o tempo em que os ovos já estavam sobre as penas. Sendo assim, o piolho estudado por este autor foi *Nitzschia pulicaria* [= *Dennyus Dennyus hirundinis* (LINNAEUS, 1761)], malófago parasito de *Chaetura pelagica* (LINNAEUS, 1758), uma ave abundante aos arredores do prédio onde se localizava o laboratório de Osborn. Este então sugeriu que seu aluno, graduando de biologia, P. H. Rolfs tentasse criar ninfas a partir de ovos para determinar o tempo de desenvolvimento. Para isto, foram utilizados dois lotes, formando dois grupos mantidos em diferentes condições: no primeiro grupo os ovos foram colocados em uma caixa de papelão, mantida dentro do bolso do colete de Rolfs, para mantê-los aquecidos; no outro grupo, os ovos foram colocados em tubos de ensaio vedados com algodão e mantidos sob uma galinha sentada, que estava incubando ovos no laboratório de Osborn para estudos embriológicos com os ovos da ave. No primeiro lote, todos os ovos foram mantidos dentro do bolso de Rolfs. Destes, duas ninfas eclodiram em sete dias, cinco eclodiram entre 11 e 16 dias e uma em 20 dias. No segundo lote, seis ninfas eclodiram entre o oito e 13 dias, quatro eclodiram em 11 dias (sendo três destes mantidos na caixa e um no tubo), duas eclodiram em 12 dias (uma ninfa em cada condição) e boa parte não eclodiu no período do experimento (30 dias). Segundo Osborn (1890), considerando que aqueles ovos com o tempo de incubação mais longo foram obtidos pouco tempo após a oviposição, o tempo de incubação dos ovos desta espécie varia de 15 a 20 dia.

Herrick (1915), em seu livro sobre ectoparasitos de aves domésticas, enfatiza as dificuldades de criação e o tempo despendido como obstáculos para estudos da biologia de malófagos. O autor relata que o desenvolvimento se dá por “metamorfozes incompletas”. No livro, Herrick (1915) faz referência ao trabalho de Rolfs e cita a tese não publicada de Bües. Este observou que período de incubação de *Menopon pallidum* (NITZSCH, 1818) varia de seis a 10 dias, embora o autor sugira que possa ser maior devido ao fato da idade inicial dos ovos não ser conhecida (metodologia não detalhada). O autor supôs que os ovos no verão se desenvolvam mais rápido que no inverno, devido à diferença de temperatura. Em relação às ninfas (referidas como jovens), foi observado que são semelhantes aos adultos quanto à forma, embora a cabeça seja proporcionalmente maior e são mais claras assim que eclodem, se tornando mais escura à medida em acontece a quitinização do exoesqueleto. Como até então não se havia obtido adultos a partir do primeiro instar, a duração dos ínstaes ninfais era dada com indeterminada, assim como o número de ecdises, embora o autor cite observações de Frederick Vincent Theobald, que especulou “casos excepcionais” de até 12 ecdises.

Barber (1923) observou alguns parâmetros dos ciclos de vida e hábitos dos malófagos *Docophorus communis* [= *Philoapterus citrinellae* (SCHRANK, 1776)] e *Nirmus vulgatus* (=sinonímia desconhecida). Após a coleta das penas com ovos, o autor observou que os ovos das duas espécies estavam inseridos na região interna da pena, fato que sugere que os malófagos vivem próximos ao corpo da ave. Os ovos então foram transferidos para incubadora a 35°C com “pequenas variações” e com umidade (valor não mencionado). Em três lotes de ovos de *P. citrinellae*, o tempo de incubação foi de oito dias em dois destes e em um lote o tempo de incubação foi de 15 dias. As fêmeas recém coletadas desta espécie iniciaram a ovipostura em seis dias e continuou até o 18º dia. Em relação à *N. vulgatus*, as fêmeas não iniciaram a ovipostura até o 19º dia, quando um incêndio destruiu o laboratório e interrompeu os experimentos. Em outra tentativa, 28 adultos desta espécie foram colocados em incubadora a 37°C e após três dias, foi observada a presença de ovos nas penas. O tempo de incubação destes ovos foi de oito dias. Segundo Barber, com cinco dias de incubação, foi possível ver as pernas das ninfas dobradas contra o tórax. Quanto à longevidade, foi relatado que 6% de *N. vulgatus* morreram em 11 dias embora alguns sobreviveram por até 29 dias. Em relação à *P. citrinellae*, 50% sobreviveram por 22 dias. Quanto às ninfas, 20% de *N. vulgatus* viveram por 21 dias. Nenhuma ninfa chegou ao estágio adulto, embora Barber acreditasse que fosse possível. Entretanto, foi concluído que *N. vulgatus* “é mais resistente” que *P. citrinellae*. Quando os piolhos foram colocados em incubadora com gradiente de temperatura de 35°C a 48°C, foi observado deslocamento (4,5cm em 18 horas) da região de temperatura maior para a

menor. Quando alguns piolhos foram mantidos a 48°C, ocorreu a morte de todos em poucas horas. Para avaliar a influência da umidade, papéis filtro foram colocados suspensos e em contato com o fundo de pratos cheios de água dentro da incubadora. Este fato não aumentou a sobrevivência dos piolhos. Segundo Barber (1923), o principal fator para o desenvolvimento dos piolhos fora do hospedeiro é a temperatura. Um ponto importante no trabalho de Barber foi o êxito de manter os piolhos por algumas semanas (29 dias) fora do hospedeiro, enquanto a opinião das autoridades daquela época, segundo Barber, dizia que malófagos sobrevivem por no máximo quatro ou cinco dias fora do hospedeiro mesmo em condições semelhantes às naturais.

Martin (1934) criou *Columbicola columbae* (LINNAEUS, 1758) em laboratório, sob temperatura de 37°C. A umidade foi mantida através de bacia de 31,75 cm² de área de superfície com água, entretanto o valor em porcentagem da umidade não foi mencionado. Adultos foram colocados em placas de Petri abertas com penas abdominais do hospedeiro, *Columba livia* (GMELIN 1789). A autora relata que uma ninfa de primeiro ínstar se alimentou de sangue seco sobre a pena, porém em tentativas futuras com outros espécimes, este evento não foi observado, concluindo que a dieta deste malófago é essencialmente de penas. As taxas médias de ovos produzidos por cada fêmea foram de 0,33; 0,31 e 0,52 ovos por dia quando observados conjuntos de seis, nove e 17 fêmeas, respectivamente. O tempo médio de incubação dos ovos foi de 4,15 dias. Quanto às ninfas, os tempos médios de desenvolvimento até o estágio seguinte foram de 6,73; 6,72 e 6,77 dias para ninfas de primeiro, segundo e terceiro ínstar, respectivamente. Apenas três piolhos se desenvolverem até a fase adulta, sendo duas fêmeas e um macho. Quando apenas estes indivíduos foram considerados, o primeiro ínstar ninfal de todos durou sete dias. O segundo ínstar das fêmeas durou seis e oito dias e o do macho, seis dias. Quanto ao terceiro instar, as fêmeas completaram em sete e oito dias e o macho em seis dias.

Wilson (1934) criou *Cuclotogaster heterographus* [NITZSCH (*In* GIEBEL), 1866] *in vitro* a 33-34°C com variações observadas de até 31°C. A umidade foi garantida através de recipiente de 100 cm² cheio de água. Casais recém coletados foram colocados sobre plúmulas do galo doméstico, *Gallus gallus* (LINNAEUS, 1758), coladas com pasta em placas de vidro pela região do cálamo e mantidas dentro de estufa nas condições citadas. Foram feitas observações em intervalos de seis horas, transferindo os adultos para novas penas quando era detectada a presença de ovos. Então, foi observado o desenvolvimento dos ovos até a fase adulta. A incubação de 12 ovos foi acompanhada, variando de cinco a sete dias com média de seis dias. Cinco ninfas de primeiro ínstar realizaram ecdise com tempo médio de nove dias.

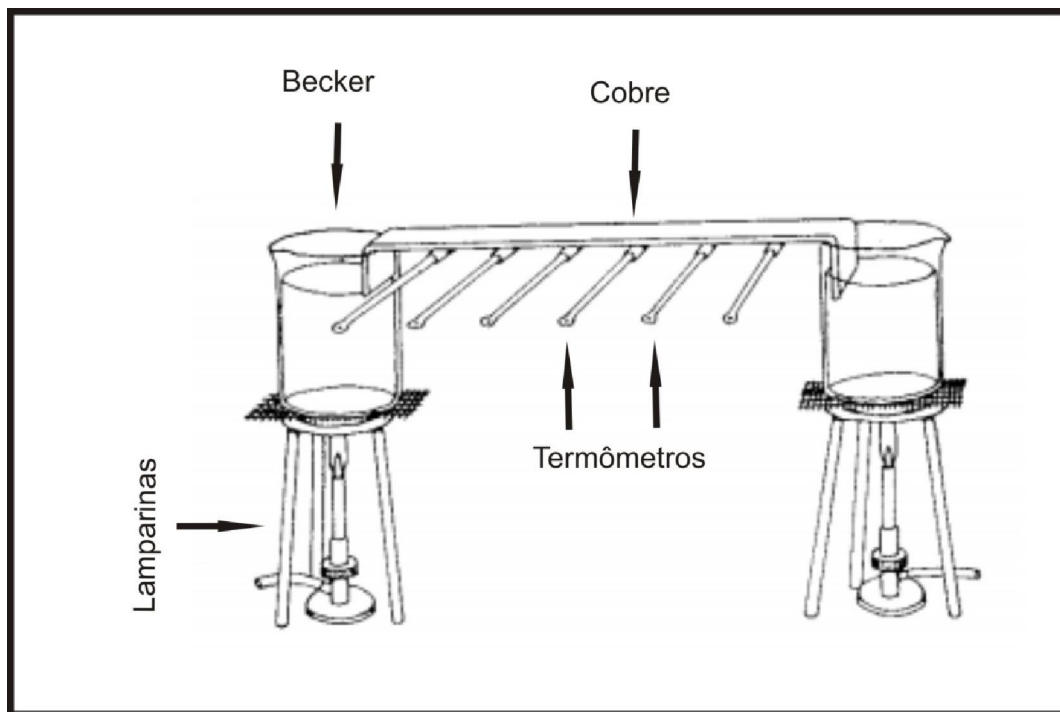
Em relação ao segundo ínstar ninfal, três realizaram ecdise com tempo médio de dez dias. Quanto ao terceiro ínstar ninfal, o tempo médio de ecdise de duas ninfas foi de 11,5 dias. Com objetivo de verificar se os adultos criados em laboratório eram férteis, dois casais destes adultos criados *in vitro* foram formados e mantidos nas mesmas condições. Destes adultos, foram produzidos nove ovos com período de incubação médio de 6,22 variando de seis a sete dias. A duração média do primeiro ínstar ninfal a partir de sete piolhos foi de 8,43 dias. No segundo ínstar ninfal, três ninfas realizaram ecdise com 9,67 dias em média. Quanto aos terceiro ínstar ninfal, duas ninfas realizaram a ecdise com tempo médio de 13 dias. As penas utilizadas no experimento foram de coloração branca, e então quando o autor observou pigmentação escura no intestino e nas fezes de alguns piolhos, este supôs que esta espécie de malófago poderia se alimentar de penas escuras do hospedeiro, no caso do hospedeiro fonte, seria as penas da asa. Numa série de tentativas com ninfas e adultos cujo recurso alimentar foram penas da asa, não foi observada a alimentação destas penas. Outra observação feita pelo autor foi a presença de sangue nas fezes, supondo que esta ingestão poderia ser acidental. Para verificar se o sangue fazia parte da dieta de *C. heterographus*, o seguinte experimento foi montado: adultos obtidos de criação *in vitro* foram colocados sobre placa de vidro forrada com tecido. Em seguida, foi pulverizado sobre a placa, sangue seco do hospedeiro e então, as placas foram acondicionadas em estufa nas condições citadas. O mesmo foi feito para outro grupo, com a adição de plúmula sobre o tecido. No grupo cuja dieta era composta apenas de sangue, todos os adultos morreram em até três dias, em que foi observado presença de sangue nas fezes de uma fêmea. No segundo grupo, com pena e sangue disponíveis, a longevidade dos adultos foi superior a três dias e houve ovipostura. Ninfas eclodidas destes ovos, não duraram mais do que três dias alimentadas apenas com sangue, assim como adultos. Deste modo, o autor concluiu que a dieta de *C. heterographus* é essencialmente à base de penas e o sangue é um recurso suplementar, embora pareça haver diferença entre espécies, uma vez que o mesmo autor um ano antes (WILSON, 1933) observou a ingestão ativa de sangue pelo piolho *Menacanthus stramineus* (NITZSCH, 1818).

Wilson (1939) observou o desenvolvimento *in vitro* de *Lipeurus caponis* (LINNAEUS, 1758). Para isto, foram colocados casais desta espécie sobre penas de *G. gallus* em placas de vidro. O acondicionamento foi feito em estufa com temperatura de 32-33°C embora ocasionalmente variasse de 26 a 38°C. Foram feitas observações diárias. Na medida em que os ovos eram ovipostos sobre as penas, os casais eram transferidos para novas penas. Dos dois casais formados, machos viveram um e 13 dias e fêmeas, 30 e 35 dias. Destas duas fêmeas, uma ovipôs 30 e a outra, 35 ovos. O tempo de incubação dos ovos variou de quatro a

sete dias, com média de 5,53 dias. Das ninfas eclodidas destes ovos, 20 realizaram ecdise para o segundo instar com tempo variando de 6 a 18 dias com média de 9,45 dias. Destas ninfas, sete realizaram ecdise para o terceiro instar com tempo médio de dez dias variando de 5 a 16 dias. Três destas ninfas realizaram ecdise para o estágio adulto, com tempo médio de 7,33 variando de seis a nove dias. Os tempos necessários para o desenvolvimento do ovo ao estágio adulto destes três piolhos foram 18, 23, 27 dias. O autor supôs que a alta mortalidade de ninfas de primeiro instar poderia estar relacionada à ausência de alguma substância necessária para suprir a dieta desta espécie. Embora, o macho de um dos casais tenha morrido um dia após a formação do casal, 30 ovos foram ovipostos pela fêmea (o total de eclosão ninfal não foi mencionado). Este fato sugeriu a possibilidade de *L. caponis* se reproduzir partenogeneticamente. Entretanto, ao manter uma fêmea virgem em uma placa isolada, três ovos foram ovipostos, porém, nenhuma ninfa eclodiu. Desta forma, o autor concluiu que fêmeas de *L. caponis* não necessitam de sucessivas cópulas devido à capacidade de estocar o gameta masculino.

Conci (1952) criou *C. heterographus* em laboratório. Antes de descrever seus experimentos, este autor discutiu os mecanismos necessários para a criação de piolhos em laboratório, enfatizando três aspectos importantes para a o sucesso do fechamento do ciclo *in vitro*: dieta, umidade e temperatura. Segundo Conci (1952) a dieta de piolhos da subordem Ischnocera é composta de penas. Quanto à subordem Amblycera, após tentativas falhas de alimentá-los apenas com penas, o autor sugeriu que estes piolhos se alimentem também de pele e exudatos; em relação à umidade, foram realizados testes preliminares para determinar os valores ideais para malófagos. As umidades foram proporcionadas por recipientes cheios de soluções de água misturada com ácido sulfúrico (valores entre 70 a 95% de umidade), água pura ou solução saturada de nitrato de potássio (umidade de 92-93%) colocadas no interior de câmaras, em que foi observado que a umidade ideal é superior a 90%. Para determinar a temperatura ideal, foi elaborado um aparato que verificava a preferência de temperatura para diferentes espécies de malófagos (Desenho 1): uma placa retangular de cobre de dimensões 38 X 8 cm; a três centímetros, as extremidades foram dobradas em ângulos retos e ficaram em contato com *beckers* cheios de água aquecida com lamparina. As lamparinas eram ajustadas de acordo com a temperatura desejada, com valores diferentes uma da outra (34 e 45°C). Desta forma, ao longo da placa havia um gradiente de temperatura que era maior na ponta cuja lamparina estava ajustada para o valor mais alto. Para registrar a temperatura, a cada 6 cm ao longo da placa foram colocados termômetros em contato com o cobre. Os piolhos foram colocados sobre a placa e com o tempo se deslocavam e aglomeravam nas regiões com

temperaturas ideais. As temperaturas preferenciais foram 35,5 a 36,5°C para *C. heterographus*, 36 a 37°C para *C. columbae*, 37,5°C para *Goniodes gigas* (TASCHENBERG, 1879) e 39 a 42°C para *Menopon gallinae* (LINNAEUS, 1758) e *Menachanthus cornuceps* Hopkins, 1950.



Desenho 1. Aparato desenvolvido para determinar a temperatura preferencial das espécies de malófagos. Retirado de CONCI, C. L'allevamento in condizioni sperimentali dei Mallofagi I. - *Cuclotogaster heterographus* Nitzsch. *Bolletín dei Musei e Instituto Biologia, Universitaire di Genova*, v. 24, n. 150, p. 17 - 40, 1952

Com base nos experimentos prévios para determinar temperatura e umidade ideais, Conci (1952) conseguiu criar *C. heterographus* em laboratório. Os piolhos foram colocados juntamente com penas dentro de tubos de ensaio vedados com algodão. Estes tubos foram colocados dentro de câmaras de dimensões 25 X 12 X 10 cm reguladas na temperatura de 35-36°C com termostato. Foram obtidos os seguintes valores: quatro dias de incubação, de seis a sete dias a duração do primeiro ínstar ninfal, cinco dias a duração do segundo ínstar ninfal e quatro a cinco dias a duração do terceiro ínstar ninfal. As fêmeas realizaram ovipostura no sétimo dia após a ecdise. O tempo de desenvolvimento até a fase adulta variou de 19 a 21 dias e de ovo a ovo, de 27 a 29 dias. Em tentativas de incrementar a dieta com fragmentos de epiderme ou sangue coagulado não foi observada a ingestão dos mesmos. Quando a mesma metodologia de criação foi empregada para criar *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS,

1758), *Goniocotes gallinae* (DE GEER, 1778), *Campanulotes bidentatus* (LINNAEUS, 1758), *L. caponis*, *M. galinae* e *M. cornuceps*, Conci (1952) mencionou que não obteve êxito.

Conci (1956) registrou dados da biologia de *G. gigas* seguindo a mesma metodologia utilizada para *C. heterographus*, porém com a temperatura em torno de 38°C e umidade mantida por solução saturada de nitrato de potássio (92-93%). O tempo de incubação de ovos ovipostos por fêmeas recém coletadas foi de sete dias, com percentual de eclosão ninfal de cerca de 40%. O primeiro ínstar ninfal durou oito dias. Com relação ao segundo ínstar ninfal, as ninfas sobreviveram por até sete dias, porém nenhuma realizou ecdise para o ínstar seguinte. Em relação à longevidade dos adultos recém coletados do hospedeiro, machos viveram em média por 7,9 dias e fêmeas por 10,97 dias e concluiu que *G. gigas* foi menos resistente para criações fora do hospedeiro do que *C. Heterographus*.

Qureshi (1957) observou alguns parâmetros de *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758), parasito de perus. Em uma série de dez coletas, o autor verificou pequena predominância de fêmeas nas populações naturais (média de 1:1,2). Ao manter adultos selvagens de *C. meleagridis* em laboratório a 37°C, Qureshi (1957) verificou que os adultos sobreviveram por no máximo sete dias sobre penas do hospedeiro e por três dias na ausência destas.

Agarwal (1967) criou *Falcolipeurus frater* (Giebel, 1874) a 33°C e umidade alta. Os piolhos foram mantidos dentro de placas de Petri com penas do hospedeiro, *Neophron percnopterus* (LINNAEUS, 1758). Para comparar a longevidade de adultos obtidos *in vitro* com adultos selvagens com o exoesqueleto quitinizado (coletados já na fase adulta), o autor adicionou três dias como idade inicial aos selvagens, pois em laboratório, foi verificado que este é o tempo para a completa quitinização do exoesqueleto. Deste modo, o autor observou semelhança quanto ao tempo de vida dos piolhos criados *in vitro* e recém coletados (aproximadamente 30 dias). Quanto à longevidade de ambos os sexos, foi verificado que machos vivem em média 2/3 do tempo de vida das fêmeas. Quanto à duração dos instares ninfais, Argawal (1967) verificou que as ninfas demoram em média sete dias para realizarem ecdise para o estágio/estádio seguinte. A incubação dos ovos variou de sete a oito dias. A respeito da reprodução, foi observado que fêmeas virgens ovipuseram de sete a 13 ovos, porém todos inviáveis. Quanto às fêmeas fertilizadas, aquelas criadas *in vitro* ovipuseram no máximo 19 ovos enquanto as selvagens, 30 ovos. O autor especulou que esta diferença pode ser resultado de deficiência nutricional durante a criação *in vitro*.

Nelson (1971) relatou êxito na criação de *Colpocephalum turbinatum* Denny, 1842, malófago parasito de pombos. Os piolhos foram colocados em pequenos jarros de vidro

tampados, a 32-37°C e umidade de 75%. Como recurso alimentar, foram colocadas as regiões plumosas das penas do peito do hospedeiro. Penas de vôo foram colocadas juntas por serem o sítio de ovipostura. Quando continham grande quantidade de ovos, eram substituídas. Porções de cálamo de penas da asa e da cauda também foram adicionadas, devido a relatos de presença de piolhos dentro destes. As colônias foram examinadas duas a três vezes na semana para contagens dos estádios/estágios e remoção das fezes. O tempo de geração variou de 20 a 30 dias, alcançando de 16 a 24 gerações. Ao observar adultos se alimentando de ovos e ninfas, juntamente com relatos de ácaros presente nas fezes de *C. turbinatum*, o autor considerou esta espécie com predadora.

Hopkins & Chamberlain (1972) criaram *Bovicola bovis* (LINNAEUS, 1758) em laboratório, mantidos em incubadora em temperaturas de 35±1,5 e 37±1,5°C e umidades de 70 e 80% (através de solução saturada de brometo de potássio). Os piolhos foram criados dentro de *becker* (30 ml) contendo fragmentos de pele e pêlo do hospedeiro, substituídos em intervalos de 15 a 20 dias. A colônia que cresceu mais rápido foi a mantida a 37±1,5°C a 70% de umidade, em que foi observado após 24 meses a presença de cinco machos, 659 fêmeas, aproximadamente 1200 ninfas e 600 ovos. A proporção de adultos enviesada para as fêmeas se deve ao fato da espécie ser partenogenética. O tempo médio de incubação nesta condição foi de sete dias. Ninfas de primeiro, segundo e terceiro ínstares realizaram a ecdise em 4,9, 4,6 e cinco dias, respectivamente. O período de pré-oviposição foi de quatro dias. O tempo necessário para uma geração se desenvolver foi em torno de 26 dias. Embora tenha havido sobreposição de gerações, os autores especularam que após 24 meses a colônia alcançou a 31ª geração.

Roper (1976) relatou o desenvolvimento de uma nova dieta para a criação de malófagos parasitos de ovinos em laboratório [provavelmente *Bovicola ovis* (SCHRANK, 1781), embora o nome da espécie não foi mencionado]. A dieta, desenvolvida por W. F. Chamberlain consistiu de vitela desidratada com extrato de óleo de lã. Segundo Roper (1976), a dieta proporcionaria a criação de malófagos “*in vitro*” para estudos de controle de malófagos parasitos de ovinos. Ainda neste ano Hopkins *et al.* (1976) ao comparar esta dieta com a adição de fragmentos de carne ovina, verificaram que a vitela é a que rendeu em mais em termos de adultos na geração seguinte.

Gupta *et al.* (2007) criaram *in vitro* *Brueelia amandava* Rékási & Saxena, 2005, malófago da subordem Ischnocera parasito de *Amandavae amandavae* Linnaeus, 1758, sob 35±1°C e UR 75-82% e alimentados com penas abdominais e peitorais do hospedeiro em placas de Petri revestidas com papel preto e tampadas com musselina presa com elástico.

Foram formadas três colônias, colocadas em placas diferentes, a partir de penas coletadas com ovos recém ovipostos, os quais foram observados diariamente para o acompanhamento do desenvolvimento dos piolhos. Para acompanhar a biologia reprodutiva, adultos foram colocados em placas de Petri e mantidos da mesma maneira que os imaturos. Os tempos médios de incubação, duração do primeiro, segundo e terceiro ínstares ninfais foram 5,81, 6,84, 5,83 e 5,65, respectivamente. A partir de 81 ovos foram obtidos 17 adultos, sendo cinco machos e 12 fêmeas. Em relação à longevidade de adultos a partir de machos e fêmeas selvagens, o primeiro sobreviveu em média, em condições *in vitro*, por 10,08 dias e o segundo por 12,74 dias. As fêmeas produziram em média 5,4 ovos com taxa de 0,65 ovos/ dia. A duração média de uma geração foi 35,4 dias. Baseados na taxa intrínseca de crescimento (0,031/dia) e no tempo necessário para duplicação da população *in vitro* (21,5 dias), os autores concluíram que a expansão populacional desta espécie de piolho é baixa, sendo esta a explicação para baixa intensidade de infestação deste ectoparasito em populações naturais.

Para observar expansão populacional de *G. gallinae in vitro*, Saxena *et al.* (2007) colocaram os piolhos em *beckers* forrados com papéis filtro contendo penas cortadas das regiões do pescoço e do abdome de *G. gallus*. Após a transferência dos piolhos adultos para as penas, os *beckers* foram tampados com musselina e elástico e mantidos a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR =75%. Foram formadas três colônias em cada *becker* e foram feitas observações diárias. Em média, machos viveram por menos tempo que fêmeas (13,7 e 20,0 dias, respectivamente). A produção média de ovos por fêmea foi de 12,9 com taxa de 0,65 ovos/ dia. Foi observado aumento no número da produção de ovos por fêmea a partir do sexto dia (alcançado 0,88 ovos/fêmea.dia) decrescendo a partir do 11° dia. Com média de 84,8% de eclosão ninfal, o tempo médio de incubação dos ovos foi de 4,7 dias. Os tempos médios de duração dos ínstares ninfais foram de 5,8, 5,7 e 6,3 dias para ninfas de primeiro, segundo e terceiro ínstares, respectivamente. A razão sexual obtida foi 2:1 (fêmea: macho). A taxa intrínseca de crescimento foi de 0,059/dia com 11,73 dias sendo o tempo necessário para a duplicação da população. Entretanto, em experimentos *in vivo* estes valores não foram observados. Os autores incriminaram fatores do hospedeiro (muda, catação) como responsáveis pela discrepância.

Saxena *et al.* (2009) observaram o desenvolvimento de cinco espécies de piolhos da subordem Ischnocera em condições de laboratório: *Brueelia cyclothorax* (BURMEISTER, 1838), *Sturnidoecus bannoo* Ansari, 1955, *Neopsittaconirmus elbeli* Guimarães, 1974, *C. columbae* e *Anaticola crassicornis* (SCOPOLI, 1763) foram criados alimentados com penas dos respectivos hospedeiros a $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ e UR 75-82%. Os métodos de colonização das espécies

seguiram as metodologias de Gupta *et al.* (2007) e Saxena *et al.* (2007) (acima citados e descritos). Para *B. cyclothorax* o período de incubação foi de aproximadamente 5,73 dias. A duração dos instares ninfais foram 6,85, 5,49 e 5,41 dias em média para ninfas de primeiro, segundo e terceiro instares, respectivamente. Machos sobreviveram por 9,7 dias enquanto as fêmeas alcançaram média de 12,8 dias. Fêmeas colocaram em média 5,1 ovos durante a vida com média de 0,37 ovos/dia. *S. bannoo* apresentou em média 4,8 dias para a incubação dos ovos. Primeiro, segundo e terceiro instares demoraram em média 5,43, 5,56 e 5,9 dias, respectivamente. Novamente, machos sobreviveram por menos tempo que fêmeas: 8,9 contra 12,0 dias das fêmeas. A taxa de ovos/ fêmea foi de 8,7 e de ovos/ dia foi de 0,71. Já a Incubação de *N. elbeli* durou 5,02 dias. Os tempos de desenvolvimento de ninfas de primeiro, segundo e terceiro instares foram de 6,02, 6,11 e 5,77 dias, respectivamente. Machos sobreviveram por 11,1 dias e fêmeas por 15,5 dias. Durante este tempo, as fêmeas colocaram em média 8,9 ovos com taxa de 0,55 ovos/dia. Para *A. crassicornis* o tempo médio de incubação foi de 5,18 dias. Ninfas de primeiro, segundo e terceiro instares demoraram 5,07, 5,96 e 6,67 dias para se desenvolver, respectivamente. A longevidade de machos foi de 10,4 dias e a de fêmeas foi de 14,9 dias. Fêmeas colocaram em média 22,4 ovos durante a vida com média de 1,76 ovos/dia. De acordo com os autores, as espécies observadas em condições naturais são submetidas a variações sazonais, sendo esta o principal fator extrínseco que influencia no desenvolvimento populacional, ao invés de fatores intrínsecos como canibalismo e competição intra-específicas. Quanto a *C. columbae*, o período médio de incubação foi de 5,6 dias. Os tempos médios de duração dos instares ninfais foram 7,1; 6,0 e 6,5 dias para ninfas de primeiro, segundo e terceiro instares, respectivamente. Em relação à longevidade, machos sobreviveram por 18,4 dias e fêmeas sobreviveram por 23 dias em média. O número médio de ovos por fêmea foi de 7,8 com taxa de 0,36 ovos/dia.

Agarwal *et al.* (2011) observaram o crescimento *in vitro* de *Upupicola upupae* (SHRANK, 1803) parasito da ave *Upupa epops* Linnaeus, 1758. Para isto, adultos e ovos coletados de aves capturadas foram colocados em *beckers* com penas do pescoço e da cabeça como suprimentos. As condições de temperatura e umidade foram 35°C e 75-82%, respectivamente. O período médio de incubação dos ovos foi de 5,25 dias. A duração média dos instares ninfais foram 5,08; 5,54 e 6,04 dias para ninfas de primeiro, segundo e terceiro instares, respectivamente. Em média, fêmeas viveram por mais tempo que machos (15,0 e 10,96 dias, respectivamente). A taxa de ovos por fêmea foi de 6,1 sendo 0,35 a média de ovos que cada fêmea ovipôs por dia. O tempo médio de uma geração foi de 37,17 dias com taxa natural de crescimento instrínseco de 0,035/dia.

3 Reprodução, desenvolvimento e hábitos de *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758) (PHTHIRAPTERA: ISCHNOCERA) em laboratório

3.1 Introdução

No parasitismo por piolhos, os hospedeiros albergam estes insetos durante todo ciclo de vida, fornecendo condições necessárias para o desenvolvimento, alimentação, reprodução e proteção (CLAYTON, 1991; JOHNSON *et al.*, 2003). Reproduzir estas condições *in vitro* exige o conhecimento da fisiologia de hospedeiros e parasitos e, algumas vezes, é uma tarefa laboriosa e desafiadora. Entretanto, a história de vida fora do hospedeiro permite conhecer exigências de recursos e tempo destes parasitos para o desenvolvimento, sobrevivência e reprodução. Estas necessidades são a base para compreensão de especificidade, evolução e dinâmica populacional das espécies (NELSON & MURRAY 1971; HARVEY & KEYMER, 1991).

A respeito de piolhos mastigadores de aves, o interesse pela compreensão do ciclo de vida em condições laboratoriais foi alvo de diversas pesquisas desde o fim do século XIX até os dias atuais (ex. OSBORN, 1890; WILSON, 1934, 1939; CONCI, 1952; 1956; AGARWAL, 1967; AGARWAL *et al.*, 2011). Na maioria das vezes, envolveu espécies de hospedeiros domésticos (EMERSON, 1979) devido à fácil obtenção e para fins de medidas de controle ou diagnóstico de sensibilidade *in vitro* a inseticidas. Estes trabalhos foram conduzidos em condições abióticas estáveis ou não, dependendo dos recursos disponíveis por cada pesquisador em sua época. De acordo Conci (1952), temperatura, umidade e dieta ideais são os principais componentes para o sucesso da criação de piolhos mastigadores *in vitro*.

Nas aves, entre as raques das penas até a pele, a temperatura pode variar num gradiente de 25 a 40°C (WILLIAMS, 1970a). Segundo Murray (1987), a respeito de mamíferos, o gradiente de temperatura ao longo da pelagem oferece diferentes sítios onde os piolhos buscam as melhores condições para viver e ovipositar. Em vários estudos a respeito de criação *in vitro* de piolhos mastigadores parasitos de aves, as temperaturas utilizadas variaram de 30 a 40°C (WILLIAMS, 1970b; NELSON & MURRAY, 1971; WILSON, 1939; CONCI, 1952; GUPTA *et al.*, 2007; SAXENA *et al.*, 2007; CHEN & MULLENS, 2008).

Os valores críticos de umidade relativa para a sobrevivência de algumas espécies de piolhos mastigadores podem variar de 52,5 a 62,5% (WILLIAMS, 1970a), embora para a criação *in vitro* sejam sugeridos valores entre 75 e 90% (CONCI, 1952; STOCKDALE & RAUN, 1965). Considerando vários estudos que obtiveram êxito na criação, valores em torno de 80% parecem ser favoráveis este fim (RAI & LAKSHMINARAYANA, 1980).

Por meio da subordem em que cada espécie está inserida, é possível inferir sobre a dieta dos piolhos. Piolhos da subordem Amblycera se alimentam principalmente da descamação da pele do hospedeiro e seus exudatos e também de sangue coagulado. Para algumas espécies, o cálcio das penas parece ser recurso necessário (STOCKDALE & RAUN, 1965; NELSON, 1971). Piolhos da subordem Ischnocera se alimentam de penas específicas das regiões do hospedeiro onde eles vivem (RAI & LAKSHMINARAYANA, 1980). Bactérias endossimbiontes os ajudam a hidrolisar a queratina das penas ingeridas (JOHNSON *et al.*, 2003; PEROTTI *et al.*, 2008). Descamação da pele do hospedeiro também faz parte da dieta de alguns piolhos desta subordem (WALL & SHEARER, 2001), embora seja possível criar algumas dessas espécies oferecendo apenas penas como, por exemplo, *C. heterographus* (WILSON, 1934; CONCI, 1952). Alguns autores relataram em criações *in vitro* de piolhos da subordem Ischnocera a ingestão de sangue, embora eles acreditem ter sido acidental (MARTIN, 194; WILSON, 1934).

Embora os esforços de todos os autores citados tenham produzido valiosos conhecimentos sobre a biologia de piolhos de aves, lacunas sobre algumas espécies permanecem. Além disso, algumas espécies de piolhos de hospedeiros domésticos ainda não foram devidamente estudadas. Dentre elas destaca-se *Chelopistes meleagridis* (LINNAEUS, 1758), um típico piolho mastigador conhecido como “*the large louse turkey*”, encontrado em perus domésticos, *Meleagris gallopavo* Linnaeus, 1758 e selvagens, *Agriocaris ocellata* Cuvier, 1820 (CLAY, 1941). Conci (1952) relatou que falhou em tentar criar esta espécie. Qureshi (1957) observou a longevidade de adultos mantidos fora do hospedeiro. Ainda hoje, pouco é conhecida a biologia deste piolho (PRICE & GRAHAN, 1997; GUIMARÃES *et al.*, 2001). Para ampliar o conhecimento a respeito de *C. meleagridis*, o presente trabalho objetivou criar esta espécie fora do hospedeiro, do ovo ao adulto, bem como comparar longevidade e potencial biótico de adultos selvagens e criados *in vitro*.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Obtenção dos piolhos e local dos experimentos

Adultos de *C. meleagridis* foram coletados de perus criados em propriedades rurais localizadas nos municípios de Juiz de Fora e Matias Barbosa, Minas Gerais, Brasil, sendo identificados pela chave de Emerson (1962). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Artrópodes Parasitos da Universidade Federal de Juiz de Fora.

3.2.2 Bioensaio 1 - Avaliação da dieta de *Chelopistes meleagridis* em criação *in vitro* de prole de adultos selvagens e desenvolvimento *in vitro*

No laboratório, os piolhos foram sexados segundo Clay (1941) e em seguida, foram colocados em placas de Petri, forradas com papel filtro, na razão de cinco casais/placa e acondicionados em estufa climatizada a 35° C, umidade relativa superior a 80% e escotofase, conforme sugerido pelos autores citados na Introdução. Como suprimento alimentar, foi fornecida pena peitoral de peru, previamente congelada para matar ácaros e lêndeas eventualmente presentes. A pena peitoral foi a escolhida por ser um sítio com grande presença da espécie. Diariamente as penas foram observadas em microscópio estereoscópico e os ovos retirados, transferidos individualmente para placas de Petri forradas com papel filtro. A partir destes ovos, foram formados dois grupos, com 75 repetições cada, com as seguintes dietas: 1 – Penas de peru; 2 - Penas de peru + pele de peru.

Na dieta 1, os ovos foram colocados sobre fragmento de pena de peito de peru; na dieta 2, assim como na dieta 1, foi oferecido pena de peru e foi acrescentado pele retirada da epiderme de peru, em adaptação à metodologia de Hopkins & Chamberlain (1972). A pele, depois de removida, foi colocada em estufa a 60° C por aproximadamente 12 horas para secagem. Depois de resfriada, fragmentos de pele foram colocados sobre a pena. Ambos os grupos foram mantidos em estufa climatizada nas mesmas condições que os adultos. Os piolhos foram mantidos individualizados desde o ovo até a morte. Quando necessário, os fundos das placas foram limpos com pincel para a retirada do acúmulo de fezes.

Para suprir a demanda de pena e pele, um peru foi mantido em congelador no Laboratório Avançado de Zoologia,UFJF.

Os piolhos foram observados diariamente para obtenção dos seguintes dados:

- Dia da eclosão
- Dia da ecdise ninfa de 1° ínstar – ninfa 2° ínstar
- Dia da ecdise ninfa 2° ínstar – ninfa 3° ínstar
- Dia da ecdise ninfa 3° ínstar – adulto
- Razão sexual
- Longevidade

3.2.3 Bioensaio 2 - Biologia reprodutiva *in vitro* de adultos de *Chelopistes meleagridis* selvagens e criados *in vitro*.

Para avaliar a reprodução dos adultos selvagens, foram formados 30 casais a partir dos adultos coletados em perus naturalmente infestados. Estes foram colocados em placas de Petri forradas com papel filtro e pena de peru. As condições de temperatura e umidade foram as mesmas utilizadas no Bioensaio 1. Diariamente cada pena foi observada para obtenção dos dados referente às longevidades de machos e fêmeas e número de ovos colocados por dia. No caso da morte do macho antes da fêmea, um novo macho, proveniente da mesma coleta, foi colocado na pena para garantir os dados referentes ao potencial biótico da fêmea. Nestes casos, os dados sobre a longevidade dos machos referem-se aos machos utilizados no início da formação dos casais. No caso de morte da fêmea antes do macho, o macho era observado diariamente para computar os dados referentes à longevidade.

A cada dia de ovipostura, as bábulas, com os ovos aderidos, foram removidas com tesoura de ponta fina e coladas em folhas de papel azul, para facilitar a observação dos ovos. Cada ovo foi identificado quanto ao casal parental e dia da oviposição. Os papéis contendo os ovos foram mantidos em estufa nas mesmas condições que os piolhos adultos. Ao final do período de incubação, os ovos foram observados em microscópio estereoscópico para tabulação de dados referentes à eclosão das ninfas.

Para avaliar a reprodução *in vitro* dos piolhos, estes foram alimentados com a dieta do Bioensaio 1 que resultou no maior número de adultos. Foram realizadas novas coletas de adultos e os ovos destes foram colocados em placas de Petri na razão de cinco ovos/placa e

aconicionados em estufa nas mesmas condições de temperatura e umidade que o Bioensaio 1. O desenvolvimento dos piolhos foi acompanhado diariamente e quando estes atingiram o terceiro instar ninfal foram separados individualmente em placas de Petri. No primeiro dia em que foi constatada a ecdise para o estágio adulto, os piolhos foram colocados em placa de Petri na razão um casal/ placa (total de 30 casais). Os procedimentos para observação de longevidade, fecundidade e fertilidade foram os mesmos adotados para os adultos selvagens.

3.2.4 Análise estatística

Foi utilizado o programa Bioestat versão 5.0. Os valores referentes ao tempo de sobrevivência, longevidade, fecundidade e fertilidade entre os grupos foram comparados através de teste *t* para dados paramétricos e teste de Mann-Whitney para dados não paramétricos, sendo adotado nível de significância de 5% ($p < 0,05$). As correlações com teste de Pearson foram feitas para avaliar a relação entre a idade dos adultos e a fecundidade e fertilidade.

3.3 Resultados

3.3.1 Bioensaio 1

Na Tabela 1 estão apresentados os dados referentes às ninfas que não completaram o desenvolvimento. Em ambas as dietas, é possível observar que algumas ninfas de primeiro instar que não realizaram ecdise apresentaram altos períodos de sobrevivência: 43 e 63 dias para as dietas “pena” e “pena + pele”, respectivamente, não havendo diferença estatística para este estágio entre as dietas.

Ninfas de segundo instar também apresentaram altos períodos de sobrevivência, porém menores que aquelas de primeiro instar (39 e 20 dias para as dietas “pena” e “pena + pele”, respectivamente). Já para as ninfas de terceiro instar, apenas a ninfa da dieta “pena”

apresentou período de sobrevivência discrepante (22 dias) em comparação com as ninfas que mudaram para o estágio adulto.

Tabela 1. Duração média (em dias) dos ínstaras ninfais de *Chelopistes meleagridis* em laboratório (35°C e UR>80%), considerando apenas os indivíduos mortos em cada estágio.

| Fase | Dieta | | | |
|-----------|---------|-----------------------------------|---------|------------------------------------|
| | Limites | Pena | Limites | Pena + Pele |
| | | Média ± DP (número de piolhos) | | Média ± DP (número de piolhos) |
| 1º Ínstar | 1-43 | 5,93 ^{Aa} ± 7,88 (57) | 8-63 | 18,17 ^{Aa} ± 31,98 (6) |
| 2º Ínstar | 1-39 | 9,69 ^{Aa} ± 9,39 (16) | 1-20 | 6,65 ^{Ab} ± 5,32 (20) |
| 3º Ínstar | - | 22 (1) | 1-11 | 5,09 ^b ± 3,65 (11) |

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% (P>0,05). Letras maiúsculas são comparações em colunas e letras minúsculas comparações em linha.

No que se refere ao desenvolvimento de *C. meleagridis* em laboratório até a fase adulta, a dieta foi fator determinante para as ninfas se desenvolverem e atingir o estágio adulto. Com a dieta “pena”, apenas um indivíduo, dentre 75, se desenvolveu até a forma adulta, originando uma fêmea. Já a dieta “pena + pele”, 36 de 75 ovos (48%) atingiram o estágio adulto (Tabela 2).

O tempo médio de incubação dos ovos foi de 3,81 variando de três a cinco dias, sendo que dos 150 ovos selecionados, a eclosão ninfal foi de 100%. Para a dieta “pena”, a duração do primeiro ínstar teve média de 7,72 dias, diferindo significativamente das ninfas cuja dieta foi composta de “pena + pele” (9,04 dias). Devido ao baixo número de ninfas de segundo e terceiro ínstar para a dieta “pena”, não foi realizada análise estatística para esses estágios (Tabela 2).

O segundo ínstar ninfal na dieta 2 apresentou período mais curto (7,42 dias) que ninfas de primeiro e terceiro ínstar (9,41 dias), com diferença significativa para ambos os estágios. A longevidade média dos piolhos no estágio adulto foi de 27,33 dias, entretanto, com alta amplitude (51 dias). O tempo médio de desenvolvimento do dia da ovipostura até a fase adulta foi de 29,38 dias com mínimo e máximo de 24 e 38 dias, respectivamente (Tabela 2).

Os dados referentes a machos e fêmeas que atingiram o estágio adulto na dieta pena + pele são apresentados na Tabela 3. No total, foram 19 fêmeas e 17 machos, sem haver diferença significativa na proporção sexual. O tempo médio de desenvolvimento de ambos os

sexos até a fase adulta foi de 29 dias, sem haver diferença significativa. Entretanto, a longevidade diferiu significativamente entre os sexos, sendo maior para fêmeas (Tabela 3).

Tabela 2. Duração média (em dias) das fases de vida de *Chelopistes meleagridis* e o tempo de desenvolvimento até a fase adulta em laboratório (35°C, UR>80% e escotofase) considerando apenas as ninfas que realizaram ecdise para o estágio/estágio seguinte.

| Fase | Dieta | | | |
|------------|---------|-----------------------------------|---------|-----------------------------------|
| | Limites | Pena | Limites | Pena + Pele |
| | | Média ± DP (número de piolhos) | | Média ± DP (número de piolhos) |
| 1º Ínstar | 6-10 | 7,72 ^A ± 1,27 (18) | 6-17 | 9,04 ^{Ba} ± 2,11 (67) |
| 2º Ínstar | 8-9 | 8,5±0,7 (2) | 3-15 | 7,42 ^b ± 2,37 (47) |
| 3º Ínstar | - | 9 (1) | 7-14 | 9,41 ^a ± 1,74 (36) |
| Adulto | - | 7 (1) | 2-53 | 27,33 ± 15,04 (36) |
| Ovo-Adulto | - | 34 (1) | 24-38 | 29,38 ± 0,53 (36) |

Letras iguais não diferem significativamente ao nível de 5% (p>0,05). Letras maiúsculas são comparações em linhas e letras minúsculas comparações em colunas.

Tabela 3. Parâmetros referentes ao número de machos e fêmeas, tempo de desenvolvimento e longevidade de *Chelopistes meleagridis* criados em laboratório (35°C, UR> 80% e escotofase) obtidos com a dieta pena + pele a partir de 75 ovos.

| | Fêmeas | | Machos | |
|-----------------------------------|---------|---------------------------|---------|---------------------------|
| | Limites | Média ± DP | Limites | Média ± DP |
| Número de adultos | - | 19 ^A | - | 17 ^A |
| Desenvolvimento (ovo – adulto) | 24-38 | 29,21 ^A ±3,72 | 25-35 | 29,58 ^A ±2,64 |
| Longevidade do adulto | 3-53 | 33,00 ^A ±3,29 | 2-45 | 21,00 ^B ±13,5 |
| Ovo – morte | 28-80 | 62,21 ^A ±15,31 | 29-78 | 50,59 ^B ±14,98 |

Letras iguais são comparações em linha que não diferem significativamente ao nível de 5% (p>0,05).

3.3.2 Bioensaio 2

Os dados referentes aos parâmetros reprodutivos para adultos selvagens e criados *in vitro* estão apresentados na Tabela 4. Em relação aos adultos selvagens, machos viveram em média mais tempo que fêmeas, com tempos máximos de 30 e 46 dias para fêmeas e machos, respectivamente, sendo constatada diferença significativa. Dentre os 30 casais formados, 29 fêmeas realizaram ovipostura com período máximo de 25 dias. A média de ovipostura por dia foi de aproximadamente dois ovos, com limites inferior e superior de zero e 12 ovos, respectivamente. Quanto ao percentual de eclosão ninfal em relação aos ovos produzidos por fêmea, a média foi de 91,33% com limites inferior e superior de 60,83 e 100%, respectivamente. Considerando todos os ovos independentemente do casal parental, foi observado o desenvolvimento de 812 ovos com a eclosão ninfal de 81,28%.

No que se refere aos adultos criados *in vitro*, a longevidade de machos e fêmeas foi de 25,33 e 21,1, respectivamente, sem apresentar diferença significativa. Dos 30 casais 28 fêmeas ovipuseram, com média de 29,33 ovos e limites de zero e 79 ovos. Quanto ao número de ovos produzidos por dia a média foi de 1,79, com limites de zero e dez. O período médio de pré-oviposição foi de 8,07 dias variando de seis a 17 dias. O período de ovipostura durou em média 15,4 dias com limites de 6 e 17 dias. Em relação ao percentual de eclosão, a média por casal foi de 87,66% com limites de 54,54 e 100%. No total de 880 ovos avaliados, o percentual de eclosão ninfal foi de 89,31%.

No Gráfico 1 é mostrado o ritmo de ovipostura das fêmeas selvagens. O número de ovos decresceu com a diminuição do número de casais, como era esperado. Também foi observado decréscimo no número de ovos por casal a partir do sexto dia, indicando que a fecundidade das fêmeas diminui com o aumento da idade. No Gráfico 2 é apresentada a correlação da idade das fêmeas *versus* número de ovos por casal, em que é observada correlação negativa com aumento da idade (coeficiente de Pearson: $-0,0785$; $p < 0,05$).

Quanto ao percentual de eclosão de acordo com a idade das fêmeas selvagens no dia da ovipostura, como pode ser observado no Gráfico 3, houve decréscimo até o vigésimo primeiro dia, indicando queda da fertilidade. No Gráfico 4 é apresentada a correlação idade da fêmea no dia da ovipostura *versus* percentual de eclosão, em que foi verificada correlação negativa entre estes dois parâmetros (coeficiente de Pearson: $-0,726$; $p < 0,01$).

Tabela 4. Parâmetros referentes à sobrevivência, fertilidade e fecundidade de casais de *Chelopistes meleagridis*, selvagens e criados *in vitro*, mantidos em estufa climatizada a 35°, UR> 80% e escotofase.

| | Adultos Selvagens | | Adultos criados <i>in vitro</i> | |
|--------------------------------------|-------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------|
| | Limites | Média ± DP ("n" amostral) | Limites | Média ± DP ("n" amostral) |
| Longevidade de machos (dias) | 5-46 | 19,63 ^{Aa} ±10,82 (30) | 1-44 | 25,33 ^{Ab} ± 11,09 (30) |
| Longevidade de fêmeas (dias) | 5-30 | 12,20 ^{Bb} ±5,66 (30) | 2-38 | 21,1 ^{Ab} ± 8,01 (30) |
| Nº de ovos/ casal | 0-54 | 26,61 ^a ±14,96 (30) | 0-79 | 29,33 ^a ± 21,96 (30) |
| Nº de ovos/ casal.dia | 0-12 | 2,54 ^a ± 2,10 (29) | 0-10 | 2,11 ^b ± 1,71 (28) |
| Período pré-oviposição (dias) | - | - | 6-17 | 8,07 ± 2,18 (28) |
| Período de ovipostura (dias) | 3-25 | 9,82 ^a ±5,10 (29) | 6-17 | 15,40 ^b ± 6,72 (28) |
| % eclosão/ casal | 60,86-100 | 91,33 ^a ±10,13 (29) | 54,54-100 | 87,66 ^a ± 15,28 (28) |
| % de eclosão (Total) | - | 81,28 (812) | - | 89,31 (880) |

Letras diferentes indicam diferença estatística ao nível de 5% (p>0,05). Letras maiúsculas são comparações em colunas e letras minúsculas são comparações em linhas.

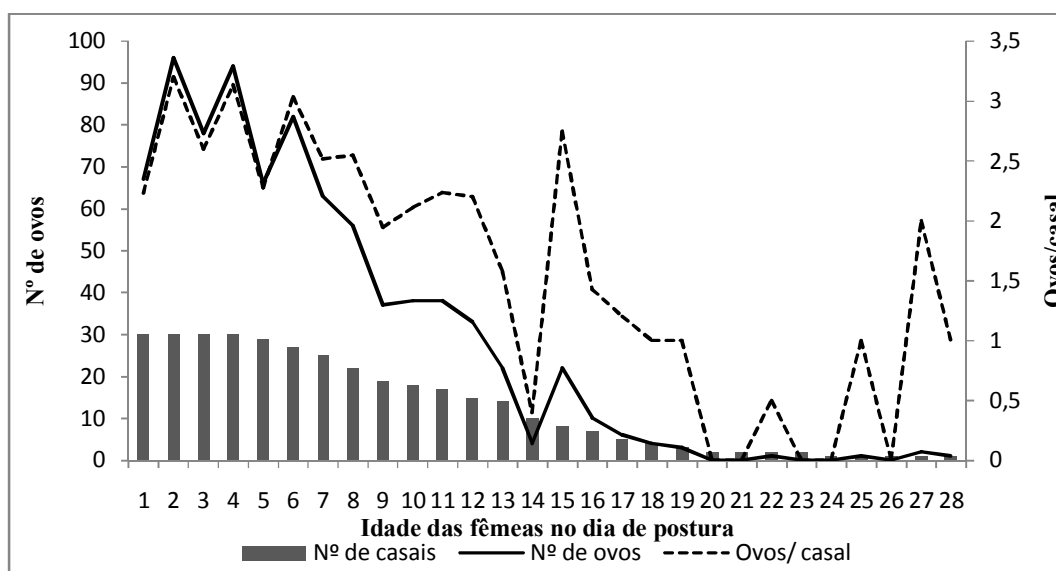


Gráfico 1. Ritmo de ovipostura de fêmeas selvagens de *Chelopistes meleagridis*, mantidas em condições laboratoriais (35°, UR> 80% e escotofase) em relação à idade dos casais (dias).

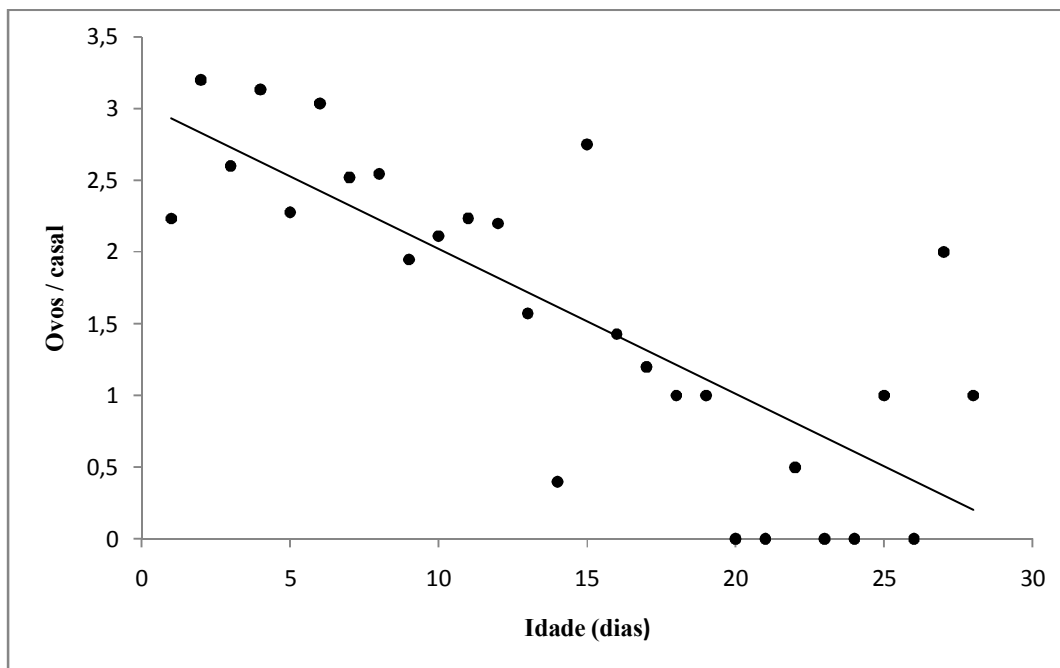


Gráfico 2. Dispersão da relação ovos/casal de *Chelopistes meleagridis* selvagens ao longo do tempo (dias). Correlação de Pearson: -0,785; $p < 0,05$.

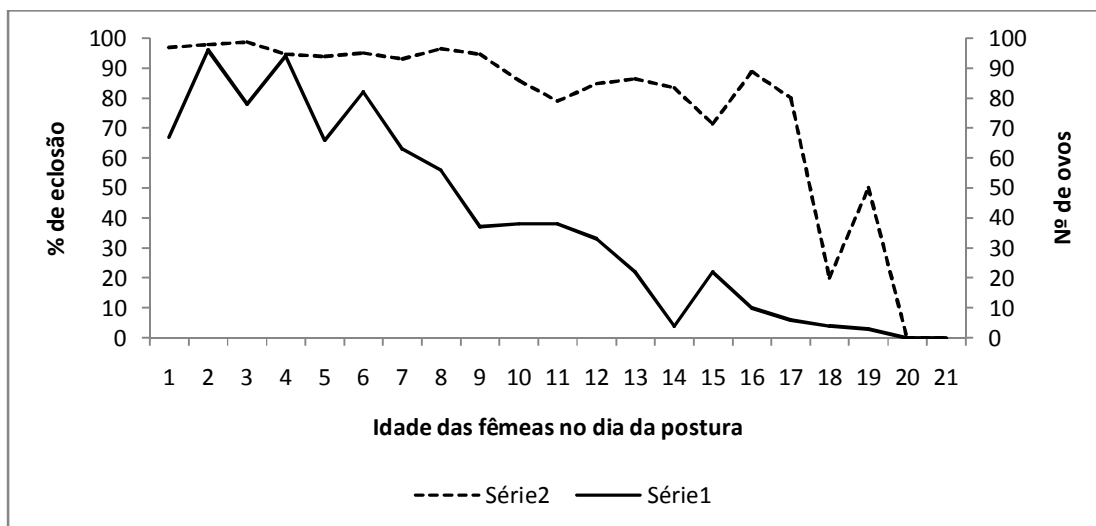


Gráfico 3. Percentual de eclosão das ninfas e número de ovos de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas selvagens em relação à idade da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo primeiro dia) foram desconsiderados.

No Gráfico 5 é apresentado o ritmo de ovipostura das fêmeas criadas *in vitro*. O início da ovipostura foi a partir do sexto dia da idade adulta com fêmeas ovipondo até 38º dia. A partir 19º dia da idade adulta, é observado um decréscimo na produção de ovos embora tenha havido picos em três dias subseqüentes. No Gráfico 6 é observada correlação negativa entre o número de ovos por casal em relação à idade (coeficiente de Pearson: -0,611 ; $p < 0,01$).

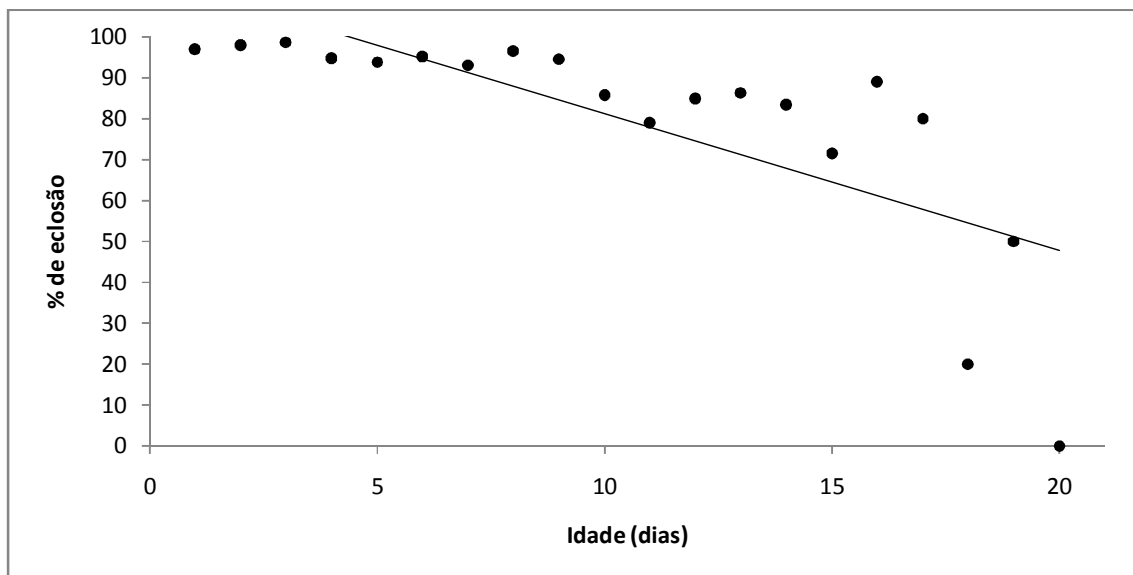


Gráfico 4. Dispersão da relação percentual de eclosão de ninfas de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas selvagens ao longo do tempo de vida da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo primeiro dia) foram desconsiderados. Correlação de Pearson: $-0,726$; $p < 0,01$.

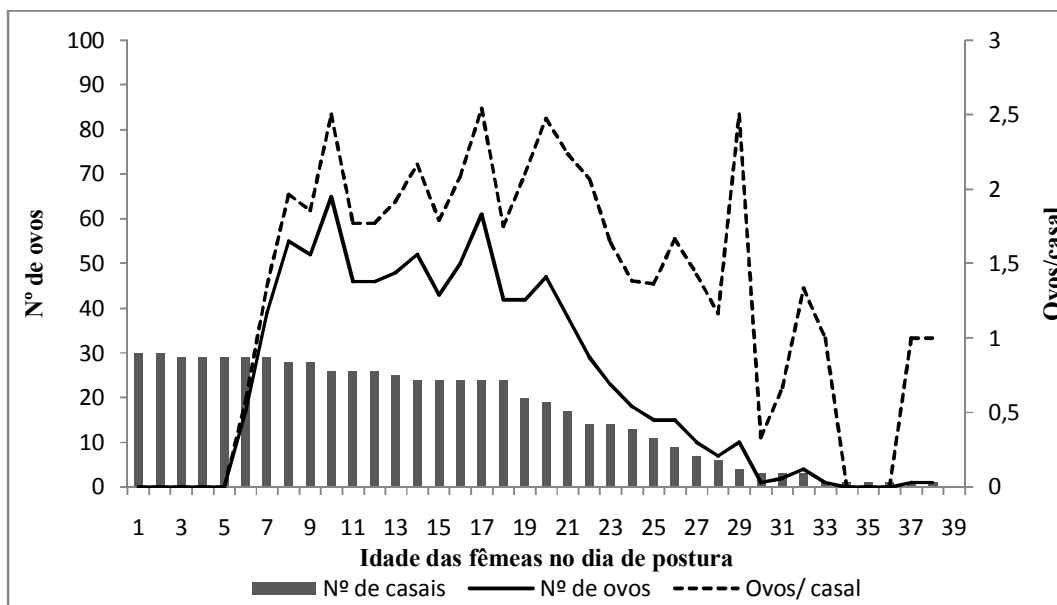


Gráfico 5. Ritmo de ovipostura de fêmeas de *Chelopistes meleagridis* criadas *in vitro*, mantidas em condições laboratoriais (35° , UR > 80% e escotofase) em relação à idade dos casais (dias).

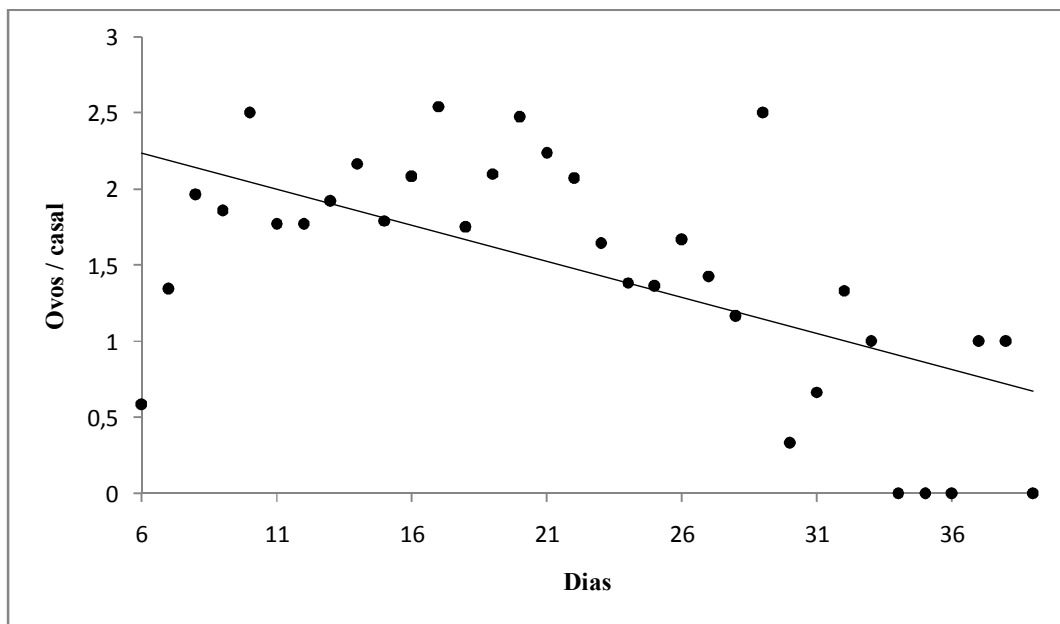


Gráfico 6. Dispersão da relação ovos/casal de *Chelopistes meleagridis* criados *in vitro* ao longo do tempo (dias). Correlação de Pearson: -0,611; $p < 0,01$.

Em relação ao percentual de eclosão ao longo do tempo, não foi observada tendência de diminuição ou aumento (Gráfico 7). Como pode ser observado no Gráfico 8, não houve correlação entre o percentual de eclosão ao longo dos dias de ovipostura (correlação de Pearson: 0,259; $p > 0,05$)

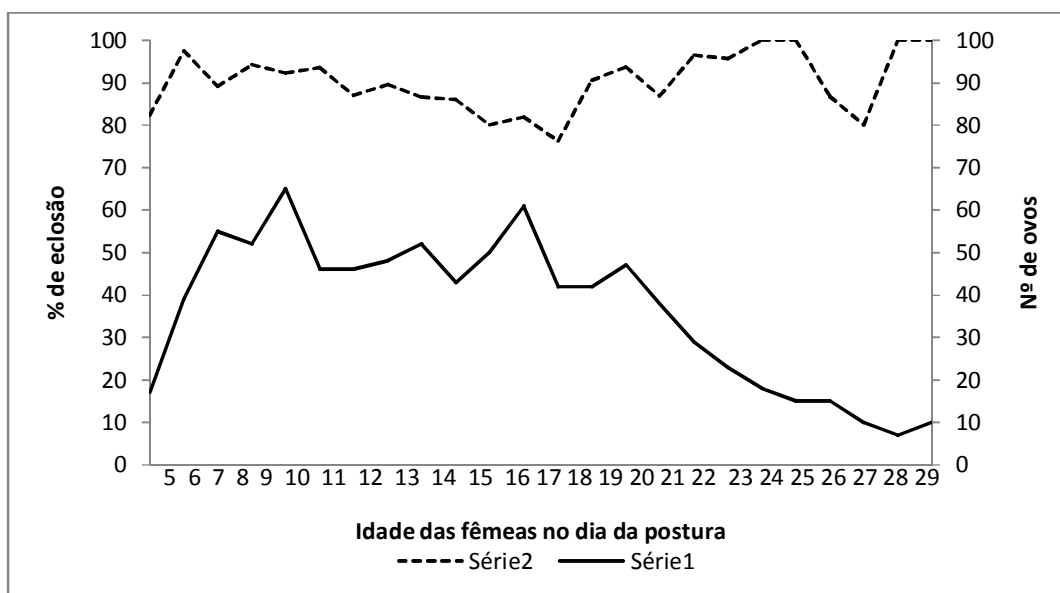


Gráfico 7. Percentual de eclosão das ninfas e número de ovos de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas criadas *in vitro* em relação à idade da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo nono dia) foram desconsiderados.

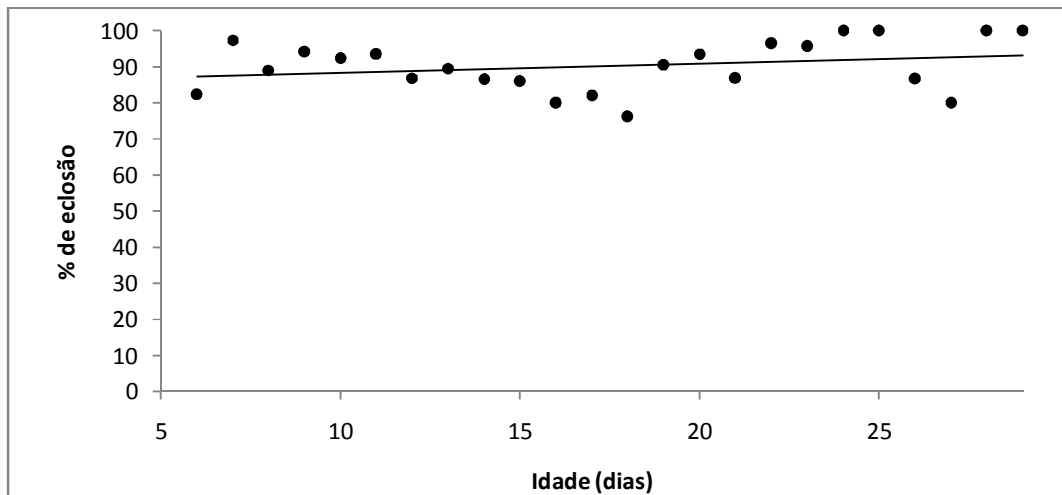


Gráfico 8. Dispersão da relação percentual de eclosão de ninfas de *Chelopistes meleagridis* provenientes de fêmeas criadas *in vitro* ao longo do tempo de vida da fêmea no dia da ovipostura. Dias em que foram produzidos menos de cinco ovos (a partir do vigésimo nono dia) foram desconsiderados. Correlação de Pearson: 0,259; $p > 0,05$.

3.4 Discussão

Diferente do que é encontrado na literatura para outras espécies de Ischnocera, *C. meleagridis* foi dependente da inclusão de pele na dieta para se desenvolver até a fase adulta (MARTIN, 1934; CONCI, 1956; GUPTA *et al.*, 2007). Esta dependência foi determinante já no primeiro ínstar ninfal, quando somente 24% das ninfas alimentadas apenas com penas mudaram para o segundo ínstar (Tabela 1). Estas demandaram menos tempo que as alimentadas com pena + pele, que foi a dieta ideal. Este fato pode ser uma estratégia de acelerar o desenvolvimento sob condições adversas na tentativa de garantir a reprodução. A baixa proporção de ecdise também se repetiu para as ninfas de segundo ínstar, ao contrário das ninfas de terceiro ínstar, o que sugere que a ingestão de pele seja mais importante nos dois primeiros instares. Entretanto, o pequeno tamanho da amostra devido à alta mortalidade no início de desenvolvimento impede uma afirmativa mais precisa a esse respeito. Contudo, foi observado que todas as ninfas e inclusive adultos se alimentam também de pele.

Já na dieta pena + pele, 48% dos piolhos atingiram a fase adulta, sendo o segundo e o terceiro instares aqueles que com maior proporção de mortalidade (30 e 23% respectivamente) (Tabela 1). Porém, este rendimento é suficiente para a manutenção de colônia em laboratório. Devido a tentativas falhas de criar *C. meleagridis*, Conci (1952) especulou que esta espécie não se alimentaria apenas de pena. A dependência da ingestão de pele por Ischnocera é conhecida para membros da Família Trichodectidae, parasitos de mamíferos (HOPKINS & CHAMBERLAIN, 1969; HOPKINS *et al.*, 1976). Quanto aos parasitos de aves, em especial da família Philopteridae, alguns autores afirmam que se alimentam de pele, embora pareça não ser essencial, haja vista que em trabalhos de criação *in vitro* são oferecidas somente penas (WILSON, 1934; WALL & SHEARER, 2001; SAXENA *et al.*, 2009). O fato de *C. meleagridis* ingerir pele, embora sua dieta seja predominantemente composta de pena, indica que demandam parte de seu tempo sobre a pele da ave e não apenas sobre as penas. Segundo RAI & LAKSHMINARAYANA (1980), piolhos podem ser específicos às penas de determinados sítios, de modo que tentativas de criá-los *in vitro* com penas da mesma espécie de hospedeiro, porém de sítios diferentes, podem ser falhas. Da mesma forma que as penas, a pele pode ser fator limitante na distribuição de *C. meleagridis* sobre o corpo do hospedeiro. Do ponto de vista econômico, a presença de *C. meleagridis* sobre a pele de perus pode provocar irritações na ave, causando impactos negativos sobre o ganho de peso e produção de ovos, de modo que sua importância econômica possa estar sendo subestimada.

A respeito do desenvolvimento, o tempo de incubação de *C. meleagridis* assim como a duração dos instares ninfais são semelhantes ao observado para outras espécies de Ischnocera a 35°C (Tabela 1) (GUPTA *et al.*, 2007; SAXENA *et al.*, 2007; 2009; AGARWAL *et al.*, 2011). Algumas fêmeas virgens produziram ovos, porém nenhum viável. Este comportamento de fêmeas virgens ovipor ovos inviáveis também foi observado por WILSON (1939) e AGARWAL (1967) para *Lipeurus caponis* (LINNAEUS, 1758) e *Falcolipeurus frater* (GIEBEL, 1874), respectivamente. Embora o tempo de desenvolvimento de ovo a adulto seja de aproximadamente 30 dias, a maturação sexual dos adultos, somado ao tempo para a produção de ovos pelas fêmeas (período de pré-oviposição) retarda o início da segunda geração em oito dias, conforme observado no Bioensaio 2 (Tabela 4). Quanto à proporção sexual dos piolhos que chegaram à forma adulta, a razão observada foi 1:1, embora em trabalhos envolvendo a coleta da espécie em infestações naturais tenha sido constatada proporção sexual enviesada a favor de fêmeas (Tabela 3) (QURESHI, 1957; LANE *et al.*; 2006). Sobre os piolhos que morreram antes de chegar à fase adulta, alguns extremos de duração de instar chamam atenção, como por exemplo ninfas de primeiro instar alimentadas com pena + pele que sobreviveram por 63 dias (Tabela 2). Fatos como este podem resultar em dados errôneos quando a biologia de uma espécie é acompanhada através de colônias por mais de uma geração e não individualmente.

Quanto à reprodução dos piolhos criados *in vitro*, as diferenças encontradas em comparação aos selvagens podem ser devido à diferença de idade entre os grupos (Tabela 4). Por exemplo, o período de ovipostura dos criados *in vitro* foi maior que o dos selvagens. Em contrapartida, o número médio de ovos produzidos por dia pelas fêmeas selvagens foi maior. Em consequência disto, o número médio de ovos produzidos por cada casal entre os grupos não diferiu significativamente, embora as fêmeas criadas *in vitro* tenham produzido no total mais ovos. Argawal (1967) ao comparar a fecundidade de *F. frater* entre fêmeas selvagens e criadas *in vitro* verificou queda na produção de ovos das últimas. O autor especulou que esta redução foi devida a deficiência nutricional durante a criação dos instares ninfais em laboratório, o que aparentemente não aconteceu no presente experimento.

O tempo de sobrevivência entre machos e fêmeas variou quanto à reprodução. As fêmeas do Bioensaio 2, selvagens e criadas *in vitro*, sobreviveram por tempo menor e igual aos machos, respectivamente, enquanto as fêmeas do Bioensaio 1 mantidas virgens até a morte viveram por mais tempo que os machos (Tabelas 1 e 4). Uma explicação para este fato pode ser o custo do investimento na reprodução, que é maior para as fêmeas (LOOF, 2011). QURESHI (1957) observou que, a 37°C, adultos selvagens de *C. meleagridis* sobreviveram

fora do hospedeiro por até sete dias sobre penas e três na ausência destas. A idade influenciou negativamente a fecundidade das fêmeas de ambos os grupos (Gráficos 1, 2, 5 e 6). O mesmo foi observado por ARGAWAL (1967), GUPTA *et al.* (2007) e SAXENA *et al.* (2007) para *F. frater*, *Brueelia amandavae* (LINNAEUS, 1758) e *Goniocotes gallinae* (DE GEER, 1778), respectivamente. Entretanto, apenas as fêmeas selvagens sofreram impacto negativo do tempo sobre a viabilidade dos ovos, o que pode ser efeito de estresse causado pela mudança do ambiente natural para o artificial (Gráficos 3 e 4).

O tamanho das fêmeas de inseto é um dos fatores que determinam o potencial de fecundidade (BJÖRKMAN *et al.*, 2009), o que pode explicar o alto número de ovos produzidos pelas fêmeas de *C. meleagridis* em comparação com outras espécies de Ischnocera, já que fêmeas de *C. meleagridis* são relativamente grandes (3,24-3,54 mm) (CLAY, 1941; NAZ *et al.*, 2003) em comparação com outras espécies desta subordem.

Com base no conhecimento da biologia de piolhos é possível elaborar estratégias de controle (ex. local de aplicação de inseticida, intervalo entre as aplicações), evitar fatores de risco (ex. adensamento de hospedeiros, alta umidade) e inferir sobre níveis de infestações. Considerando que os dados obtidos no presente trabalho se assemelham aos de populações naturais, o tempo de uma geração de *C. meleagridis* está em torno de 30 dias. Desta forma, desconsiderando fatores extrínsecos (ex. defesas comportamentais e imunológicas do hospedeiro, fatores abióticos) e admitindo que os valores obtidos para a primeira geração *in vitro* se repetem nas gerações subsequentes, a população de *C. meleagridis* cresce a uma taxa de 12,5 vezes por geração. Em consequência disto, aves confinadas para a produção estão sujeitas a altas infestações deste piolho quando introduzidos na criação, uma vez que o tempo de desenvolvimento de perus a ponto de corte é em torno de 140 dias, agravando assim o potencial de perdas econômicas derivadas do parasitismo.

4 Referências Bibliográficas

AGARWAL, G. P. Studies on the bionomics and life history of *Falcolipeurus frater* (Giebel, 1874). **Indian Journal of Zootomy**, v. 8, n. 1, p. 21 - 40, 1967.

AGARWAL, G. P.; AHMAD, A.; RASHMI, A.; ARYAD, G.; BANSAL, N.; SAXENA, A. K. Bio-ecology of the louse, *Upupicola upupae*, infesting the Common Hoopoe, *Upupa epops*. **Journal of Insect Science**, v. 11, p. 1-9, Apr 2011.

ALDRYHIM, Y. N. Effects of the Chicken Body Louse *Menacanthus stramineus* (Nitz.) (Mallophaga: Menoponidae), on Production of the Saudi Arabian Baladi Hens. **Emirates Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, p. 115-124, 1993.

ALLINGHAM, P. G. Phoresy involving a nymph of *Haematopinus eurysternus* (Nitzsch) and *Haematobia irritans exigua* De Meijere. **Australian Journal of Entomology**, v. 26, n. 3, p. 237-238, 1987.

BARBER, B. A. Notes on the life history and habits of Mallophaga. **Papers of the Michican Academy of Science**, v. 1, p. 391 - 395, 1923.

BARTLETT, C. M. Lice (Amblycera and Ischnocera) as vectors of *Eulimdana* spp. (Nematoda: Filarioidea) in charadriiform birds and the necessity of short reproductive periods in adult worms. **The journal of parasitology**, v. 79, p. 85-91, 1993.

BJÖRKMAN, C.; GOTTHARD, K.; PETTERSSON, M. W. Body Size. In: VINCENT, H. R. e RING, T. C. (Ed.). **Encyclopedia of Insects (Second Edition)**. San Diego: Academic Press, 2009. p.114-116.

CHEN, B. L.; MULLENS, B. A. Temperature and Humidity Effects on Off-Host Survival of the Northern Fowl Mite (Acari: Macronyssidae) and the Chicken Body Louse (Phthiraptera: Menoponidae). **Journal of Economic Entomology**, v. 101, n. 2, p. 637-646, 2008.

CLAY, T. A new genus and species of Mallophaga. **Parasitology**, v. 33, p. 119-129, 1941.

CLAY, T. An introduction to a classification of the avian Ischnocera (Mallophaga): Part I. **Trans. R. Entomol. Soc. Lond.**, v. 102, p. 171-195, 1951.

CLAY, T. The Amblycera (Phthiraptera: Insecta). **Bulletin of British Museum of Natural History (Entomology)**, v. 25, n. 3, p. 75-98, 1970.

CLAYTON, D. H. Coevolution of avian grooming and ectoparasite avoidance. In: LOYE, J. E. e ZUK, M. (Ed.). **Bird-parasite interactions: Ecology, evolution, and behavior**. Oxford: Oxford University Press, 1991. p.258-289.

CLAYTON, D. H.; ADAMS, R. J.; BUSH, S. E. Phthiraptera, the chewing lice. In: ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J. e HUNTER, D. B. (Ed.). **Parasitic Diseases of Wild Birds**. New Delhi: Wiley-Blackwell, 2008. cap. 29, p.515-526.

CONCI, C. L'allevamento in condizioni sperimentali dei Mallofagi I. - *Cuclotogaster heterographus* Nitzsch. **Bolletín dei Musei e Instituto Biologia, Universitaire di Genova**, v. 24, n. 150, p. 17 - 40, 1952.

CONCI, C. L'allevamento in condizioni sperimentali dei Mallofagi II. - *Stenocrotaphus gigas* (Taschenberg). **Memorie della Societa Entomologica Italiana**, v. 36, n. 2, p. 133 - 150, 1956.

DEVANEY, J. A. Effects of the chicken body louse, *Menacanthus stramineus*, on caged layers. **Poultry Science**, v. 55, p. 430-435, 1976.

DURDEN, L. A. Lice (Phthiraptera). In: SAMUEL, W. M.; PYBUS, M. J. e KOCAN, A. A. (Ed.). **Parasitic diseases of wild mammals**. 2nd. Iowa: Iowa State University Press, 2001. p.3-17.

EMERSON, K. C. Mallophaga (Chewing lice) occurring on the turkey. **Journal of the Kansas Entomological Society**, v. 35, n. 1, p. 196-202, 1962.

EMERSON, K. C. **Lice in my life**. Arlington: 1979. 106p.

GILLOT, C. **Entomology**. Third. Dordrecht: Springer, 2005. 831p

GUIMARÃES, J. H.; TUCCI, E. C.; BARROS-BATTESTI, D. M. **Ectoparasitos de importância veterinária**. São Paulo: Plêiade/FAPESP, 2001. 218p.

GUPTA, N.; KUMAR, S.; SAXENA, A. Intrinsic rate of natural increase of *Brueelia amandavae* (Ischnocera, Phthiraptera) populations infesting Indian red avadavat. **Biologia**, v. 62, n. 4, p. 458-461, 2007.

HARVEY, P. H.; KEYMER, A. E. Comparing Life Histories Using Phylogenies. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 332, n. 1262, p. 31-39, 1991.

HERRICK, G. W. **Some external parasites of poultry with special reference to Mallophaga, with directions for their control**. Ithaca, New York: Agricultural Experiment Station of the College of Agriculture, Cornell University, 1915.

HOPKINS, D. E.; CHAMBERLAIN, W. F. In vitro colonization of the goat biting lice, *Bovicola crassipes* and *B. limbata*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 62, n. 4, p. 826 - 828, 1969.

HOPKINS, D. E.; CHAMBERLAIN, W. F. In vitro colonization of the cattle biting louse, *Bovicola bovis*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 65, n. 3, p. 771 - 772, 1972.

HOPKINS, D. E.; CHAMBERLAIN, W. F.; GINGRICH, A. R. Mallophaga: *in vitro* testing of artificial diets. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 69, n. 3, p. 538-540, 1976.

JOHNSON, K. P.; CLAYTON, D. H. The biology, ecology, and evolution of chewing lice. In: PRICE, R. D.;HELLENTHAL, R. A.;PALMA, R. L.;JOHNSON, K. P. e CLAYTON, D. H. (Ed.). **The chewing lice: world checklist and biological overview**: Illinois Natural History Survey Special Publication 24. x + 501pp, 2003.

KETTLE, P. R. The influence of cattle lice (*Damalinia bovis* and *Linognathus vituli*) on weight gain in beef animals. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 22, n. 1-2, p. 10 - 11, 1974.

LANE, R. S.; KUCERA, T. F.; BARRETT, R. H.; MUN, J.; WU, C. L.; SMITH, V. S. Wild turkey (*Meleagris gallopavo*) as a host of ixodid ticks, lice, and lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi* sensu lato) in California state parks. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 42, n. 4, p. 759-771, 2006.

LEDGER, J. A. Phthiraptera. In: (Ed.). **The arthropod parasites of vertebrates in Africa of the Sahara**. Johannesburg: South African Institute for Medical Research, v.4, 1980. 327p.

LOOF, A. D. Longevity and aging in insects: Is reproduction costly; cheap; beneficial or irrelevant? A critical evaluation of the “trade-off” concept. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, n. 1, p. 1-11, 2011.

MARTIN, M. Life history and habits of pigeon louse (*Columbicola columbae* [LINNAEUS]). **The Canadian Entomologist**, v. 66, p. 6-16, 1934.

MURRAY, M. D. Arthropods - The pelage of mammals as an environment. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 1, p. 191-195, 1987.

NAZ, S.; RIZVI, S. A.; AHMAD, Z. Redescription of *Chelopistes meleagridis* (Linnaeus) (Phthiraptera: Ischnocera: Philopteridae) from Pakistan with reference to its morpho-taxonomical and genitalial studies. **Pakistan Journal of Entomology**, v. 18, n. 1&2, p. 29-35, 2003.

NELSON, B. C.; MURRAY, M. D. The distribution of mallophaga on the domestic pigeon (*Columba livia*). **International Journal for Parasitology**, v. 1, n. 1, p. 21-22, 1971.

NELSON, B. C. Successful rearing of *Colpocephalum turbinatum* (Phthiraptera). **Nature New Biology**, v. 232, n. 34, p. 255, 1971.

OSBORN, H. Period of development in Mallophaga. **The Canadian Entomologist**, v. 22, n. 11, p. 219-220, 1890.

PEROTTI, M. A.; EWEN, K.; DAVID, R.; HENK, B. Endosymbionts of lice. In: BOURTZIS, K. e MILLER, T. A. (Ed.). **Insect Symbiosis**. New York: CRC Press, v.3, 2008. p.205-219.

PRICE, M. A.; GRAHAM, O. H. **Chewing and sucking lice as parasites of mammals and birds**. USDA Agricultural Research Service, 1997. v + 256 p.

- QURESHI, S. H. A preliminary report on the bionomics of the turkey louse, *Chelopistis meleagridis* (Linn.). **Indian Journal of Entomology**, v. 19, p. 302 - 304, 1957.
- RAI, R. K.; LAKSHMINARAYANA, K. V. **A note on the in vitro studies of the chewing-lice (Phthiraptera)**. Workshop on Techniques of Parasitology of the Zoological Survey of India. Calcutta, India: 55 - 59 p. 1980.
- RYDER, W. D. The dispersal of certain species of Mallophaga which infest the domestic fowl, *Gallus domesticus*. **Journal of Applied Ecology**, v. 4, n. 2, p. 309 - 323, 1967.
- ROPER, J. E. **A new lice diet, veal and wool oil**. The Sunday Missoulian: 5 p. 1976.
- SAXENA, A. K.; KUMAR, S.; GUPTA, N.; SINGH, R. Population Expansion of the Poultry Fluff Louse, *Gonicocotes gallinae* (De Geer, 1778) (Ischnocera, Phthiraptera). **Zoological Science**, v. 24, n. 4, p. 327-330, 2007.
- SAXENA, A. K.; GUPTA, N.; KUMAR, S.; KHAN, V.; ARYA, G.; SAXENA, S. Intrinsic Rate of Natural Increase of Five Species of Ischnoceran Lice (Insecta: Phthiraptera) from India. **Entomological News**, v. 120, n. 4, p. 363-369, 2009.
- STOCKDALE, H. J.; RAUN, E. S. Biology of the Chicken Body Louse, *Menacanthus stramineus*. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 58, n. 6, p. 802-805, 1965.
- UBA. **Relatório Anual 2009-2010**. São Paulo: 31 p. 2011.
- WALL, R.; SHEARER, D. **Veterinary ectoparasites: biology, pathology and control**. Second edition. Oxford: Blackwell Science, 2001. 262p.
- WILLIAMS, R. T. *In vitro* studies of the environmental biology of *Goniodes colchici* (Denny) (Mallophaga: Ischnocera). I. The effects of temperature and humidity on bionomics of *G. colchici*. **Australian Journal of Zoology**, v. 18, p. 379 - 389, 1970a.
- WILLIAMS, R. T. *In vitro* studies of the environmental biology of *Goniodes colchici* (Denny) (Mallophaga: Ischnocera). II. The effects of temperature and humidity on water loss. **Australian Journal of Zoology**, v. 18, p. 391 - 198, 1970b.
- WILSON, F. H. The life-cycle and bionomics of *Lipeurus heterographus* Nitzsch. **Journal of Parasitology**, v. 20, n. 5, p. 304 - 311, 1934.
- WILSON, F. H. The life-cycle and bionomics of *Lipeurus caponis* (Linn.). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 27, p. 318-320, 1939.

APÊNDICE I

No curso das observações a respeito do desenvolvimento e reprodução “*in vitro*” de *Chelopistes meleagridis*, os seguintes atos comportamentais desta espécie foram observados na colônia estoque:

1. Canibalismo.

Em colônias com várias ninfas juntas, foram observadas ninfas de todos os instares predando ovos ou outras ninfas, fato também observado para outras espécies (NELSON, 1971).

2. Competição entre machos

Machos do gênero *Chelopistes* são facilmente reconhecidos devido à presença de apêndice que auxilia na apreensão da fêmea durante a cópula (algumas vezes, até perfurando o abdome) (KÉLER, 1939; CLAY, 1941; NAZ *et al.*, 2003). Quando dois ou mais machos foram colocados juntos, foi possível observar que o apêndice também é utilizado como arma em disputas por fêmeas. Durante a briga, os machos erguem o abdome e expõem o proeminente apêndice como posição de combate. Os golpes são dados principalmente com o objetivo de perfurar o abdome. Tentativas surpresas de golpear machos em cópula também foram observadas. Algumas vezes, a carcaça do macho perdedor permanece por algum tempo presa ao apêndice do macho vencedor.

CLAY, T. A new genus and species of Mallophaga. **Parasitology**, v. 33, p. 119-129, 1941.

KÉLER, S. V. Baustoffe zu einer monographie der Mallophagen. II Teil: Überfamilie Nirmoidea (1). Die Familien Trichophilopterae, Gonioididae, Heptapsogastridae. **Abhandlungen der Kaiserlich Leopoldinisch-Carolinisch Deutschen Akademie der Naturforscher N.F.**, v. 8, n. 5, p. 1 - 254, 1939.

NAZ, S.; RIZVI, S. A.; AHMAD, Z. Redescription of *Chelopistes meleagridis* (Linnaeus) (Phthiraptera: Ischnocera: Philopteridae) from Pakistan with reference to its morpho-taxonomical and genitalial studies. **Pakistan Journal of Entomology**, v. 18, n. 1&2, p. 29-35, 2003.