

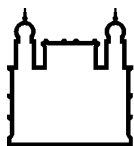
MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Doutorado no Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

***Amblyomma sculptum* BERLESE 1888, *Amblyomma ovale* KOCH 1844 E
Amblyomma aureolatum (PALLAS 1772) (ACARI: IXODIDAE): DIVERSIDADE
GENÉTICA E DETECÇÃO DE RIQUÉTSIAS EM DIFERENTES BIOMAS DO
BRASIL**

KARLA BITENCOURTH GARCIA

Rio de Janeiro
Julho de 2017



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

KARLA BITENCOURTH GARCIA

***Amblyomma sculptum* Berlese 1888, *Amblyomma ovale* Koch 1844 e *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772) (Acari: Ixodidae): diversidade genética e detecção de riquetsias em diferentes biomas do Brasil**

Tese apresentada ao Instituto Oswaldo Cruz como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadores: Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta (FIOCRUZ)
Profa. Dra. Carolina Moreira Voloch (UFRJ)

RIO DE JANEIRO

Julho de 2017

Garcia, Karla Bitencourth .

Amblyomma sculptum Berlese 1888, *Amblyomma ovale* Koch 1844 e *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772) (Acari: Ixodidae): diversidade genética e detecção de riquetsias em diferentes biomas do Brasil / Karla Bitencourth Garcia. - Rio de Janeiro, 2017.

180 f.; il.

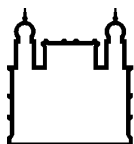
Tese (Doutorado) - Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde, 2017.

Orientador: Gilberto Salles Gazêta.

Co-orientadora: Carolina Moreira Voloch.

Bibliografia: f. 114-133

1. Complexo *Amblyomma cajennense*. 2. Complexo *ovale*. 3. Ecossistemas brasileiros. 4. Genética de populações. 5. Riquetsiose. I. Título.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

AUTORA: KARLA BITENCOURTH GARCIA

***Amblyomma sculptum* BERLESE 1888, *Amblyomma ovale* KOCH 1844 E
Amblyomma aureolatum (PALLAS 1772) (ACARI: IXODIDAE): DIVERSIDADE
GENÉTICA E DETECÇÃO DE RIQUÉTSIAS EM DIFERENTES BIOMAS DO
BRASIL**

**ORIENTADORES: Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta (FIOCRUZ)
Profa. Dra. Carolina Moreira Voloch (UFRJ)**

Aprovada em: 31/07/2017

EXAMINADORES:

**Profa. Dra. Marinete Amorim (IOC/ FIOCRUZ)- Presidente
Prof. Dr. Adriano Pinter dos Santos (SUCEN/ SP)
Prof. Dr. José Reck Júnior (Inst. de Pesq. Veterinárias Desidério Finamor/ RS)
Prof. Dr. Renato Andreotti e Silva (EMBAPA/ MS)
Profa. Dra. Maria Halina Ogrzewalska (IOC/ FIOCRUZ)- Suplente
Prof. Dr. Gino C. da Rocha (Fac. Agronomia e Med. Veterinária/ UnB)- Suplente**

Rio de Janeiro, 31 de Julho de 2017.

Aos meus pais, Carlos e Maria, por todo incentivo, parceria, confiança e apoio.
Ao Prof. Dr. Nicolau Maués Serra- Freire (*in memoriam*), exemplo científico e grande incentivador.

AGRADECIMENTOS

A realização de uma tese de doutorado só é possível graças à participação e empenho de muitas pessoas e instituições. Essa jornada teve início em 2002 quando, ainda aluna do Colégio Pedro II (CPII), descobri a parceria com a FIOCRUZ para inserir alunos do ensino médio no ambiente científico. No mesmo ano ingressei no Programa de Vocação Científica (PROVOC) da FIOCRUZ, e desde então o relacionamento com a Ciência foi estabelecido. Ao meu querido CPII e ao PROVOC agradeço a oportunidade precoce de iniciar na vida científica, o cuidado e estímulo de todos os professores e coordenadores durante essa etapa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gilberto Salles Gazêta, obrigada pela confiança, incentivo, compreensão, oportunidades científicas, cuidado, orientação desde o mestrado e apoio já no início da jornada. Além de conseguir me passar o otimismo de que tudo dará certo e fazer com que eu acredite nas minhas potencialidades.

À Profa. Dra. Carolina Moreira Voloch pela orientação e parceria desde o mestrado. Pela acolhida, confiança, incentivo, dedicação, por “abrir” seu laboratório para mim e por não fazer o caminho, mas sim me ensinar a trilhar o meu próprio caminho. Afinal, é assim que aprendemos e que a formação deve ser realizada.

À Profa. Dra. Marinete Amorim, minha eterna orientadora, por a todo o momento saber me estimular e despertar meu lado científico (desde o PROVOC). Por sempre contribuir com o bom andamento das pesquisas e ter me ensinado a importância de por em prática a metodologia científica no dia a dia. Além de sempre estar disponível para ajudar, por chamar atenção quando devido, pelo carinho, amizade ao longo desses 15 anos, conselhos, oportunidades científicas e cuidado com a minha formação profissional.

Ao Prof. Dr. Nicolau Maués Serra-Freire (*in memoriam*) pela grandiosa participação e contribuição na minha vida acadêmica. Por me ensinar a hierarquia do saber, pelas críticas sempre construtivas, pelas inúmeras participações nas minhas bancas, por cinco minutos de conversa no corredor ser suficiente para minha cabeça fervilhar em idéias, pelos ensinamentos, confiança e apoio dedicado.

Ao revisor, Prof. Dr. Márcio Pavan, e a todos os membros da banca pelo pronto aceite e contribuição com o trabalho.

À Coordenação da Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde (PGBS) do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ pela oportunidade e prontidão em auxiliar. À secretária (e psicóloga por vocação) da PGBS, Luciana Mara, por sempre estar

disponível a ajudar e a praticidade em resolver todas as situações. A todos os professores pela dedicação e contribuição com as disciplinas ministradas. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela concessão da bolsa, essencial para realização dessa etapa.

A todas as equipes das Secretarias Estaduais de Saúde do Brasil pelo trabalho fundamental de coleta de ectoparasitos durante as investigações e vigilâncias de casos de febre maculosa no país. Todos vocês foram fundamentais para a realização desse trabalho!

Ao Robson Lopes, do Centro de Controle de Zoonoses de Santo André/ SP, pela disponibilidade em ajudar e grande auxílio na obtenção das amostras de *Amblyomma aureolatum* de SP.

À equipe da Plataforma de Sequenciamento de DNA da FIOCRUZ, em especial à Aline, Renata e Bia, pelo excelente trabalho desenvolvido, pela agilidade em processar o material e liberar os resultados.

À família do Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses, FIOCRUZ, pelos ensinamentos, parcerias, incentivos e momentos de descontração: à dupla Liege e Paulinha pelo carinho, otimismo e ajuda com o material da coleção; ao Glício por estar sempre disponível para ajudar em qualquer questão, por rapidamente conseguir artigos, por manter o auto-astrol e todos do laboratório bem alimentados na hora do lanche; ao Alessandro pelas dicas e auxílio com a parte morfológica; à Claudinha (*in memoriam*), amiga que se tornou estrela, pelos ensinamentos na vida científica, pelo imenso carinho, torcida e apoio; à Bia Góis pela oportunidade de aprender a orientar; à Francisca Maciel pela realização das análises morfológicas do projeto além de ser a primeira aluna que ajudei na orientação e com quem muito aprendo; ao Ademar pela troca de experiências na parte morfológica; ao Valmir pelo cuidado; ao Michel Valim pela preocupação e incentivo acadêmico; ao Stefan Oliveira pela prontidão e disponibilidade em auxiliar sempre; à Ingrid pelas parcerias e experiências compartilhadas; à Beth pelo carinho e por propiciar que eu volte a trabalhar com ácaros; à Rebecca pela companhia na bancada e “plantões” no laboratório; à Arannadia pelas dicas com as riquetsias; ao Diego pelas parcerias e discussões científicas; à Ana Olívia, ao Léo, à Lohana, à Maria Luíza, à Tayra, à Karen, à Fernanda e à Nicole pelas horas e experiências compartilhadas na sala 5; ao Fred pela torcida e parceria; à Lili que sempre me estimula, faz eu acreditar que tudo dará certo e por toda a parceria na Ciência e na vida; à Vivi pela amizade e por compartilhar a caminhada científica desde o

PROVOC; ao Pablo pela amizade, prontidão em ajudar sempre que necessário e ter tornado as horas de trabalho mais divertidas; à amiga e irmã científica Bia Borsoi por todo estímulo, parceria, oportunidades, confiança, dedicação, alegria a cada vitória e por não medir esforços para me ajudar seja no que for, sei que sempre posso contar com você!

À amiga e parceira de mestrado e doutorado, Carol Dale, por todos os momentos partilhados, conquistas, alegrias e participações nos fóruns discentes.

Aos meus pais, Carlos e Maria, pela dedicação, torcida, parceria, incentivo, confiança, amor, respeito, compreensão, pelos valores ensinados, por acreditarem que a maior herança que podem deixar aos seus filhos é a educação, por estarem sempre presentes e comemorarem a conclusão de cada etapa. Por, muitas vezes, abrirem mão dos seus sonhos para que eu possa realizar os meus.

Ao meu irmão e cunhada, que mesmo com a distância física, sempre estimularam a caminhada científica, pelo zelo, apoio, carinho e por entenderem as minhas ausências.

Ao Victor pela parceria, compreensão, por saber me incentivar, por auxiliar na organização tarefas/ tempo, por me ouvir atentamente, por estar sempre disposto a ajudar e pelas divertidas discussões (sob o olhar da engenharia) sobre a diversidade e evolução dos carrapatos.

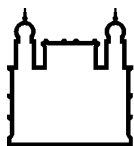
A Deus e a Nossa Senhora por permitirem a realização dessa etapa, por me manterem firmes na caminhada e na fé, pelo amor incondicional, por estarem sempre presentes me guiando e fortalecendo.

Uma etapa está sendo finalizada, mas tenho plena consciência de que a caminhada está apenas começando, tenho muito a aprender. A conclusão desse trabalho traz muito mais perguntas do que respostas, é isso que move a Ciência. Que eu não perca a curiosidade, determinação e vontade de aprender para prosseguir na jornada científica.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização desse trabalho e para minha formação acadêmica:

MUITO OBRIGADA!!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

***Amblyomma sculptum* BERLESE 1888, *Amblyomma ovale* KOCH 1844 E *Amblyomma aureolatum* (PALLAS 1772) (ACARI: IXODIDAE): DIVERSIDADE GENÉTICA E DETECÇÃO DE RIQUÉTSIAS EM DIFERENTES BIOMAS DO BRASIL**

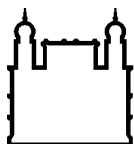
RESUMO

TESE DE DOUTORADO EM BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Karla Bitencourth Garcia

A febre maculosa (FM) é a principal doença humana associada a carrapatos no Brasil. *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum* estão entre os principais vetores dos bioagentes da FM no país. Essas espécies têm ampla distribuição no Brasil, mas os casos de FM associados a esses ixodídeos estão restritos a algumas regiões. Sabendo que populações geneticamente distintas de carrapatos podem ter capacidades vetoriais diferentes, o objetivo desta tese foi analisar a diversidade genética e infecção por riquetsias em populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* de diferentes biomas do Brasil. As amostras de cada espécie foram submetidas à extração de DNA, amplificação e sequenciamento de fragmentos dos genes mitocondriais 12S rDNA, 16S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop para análise dos carrapatos, e fragmentos dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB* e *gene D* (*sca4*) para pesquisa de riquetsia. Análises filogenéticas, filogeográficas e populacionais demonstraram que as populações de *A. sculptum* têm grande diversidade genética no país, porém sem estruturação geográfica ou por biomas, e com indicativo de expansão em algumas populações no Cerrado. Em *A. ovale* há estruturação populacional em consequência da associação significativa entre as distâncias genéticas e geográficas, com baixo fluxo gênico entre as populações, sugerindo que pode estar ocorrendo um processo de especiação entre as populações do Cerrado e Caatinga e as populações da Mata Atlântica. *A. aureolatum* tem baixa diversidade genética e ausência de estruturação para região de Mata Atlântica, com indícios de expansão populacional em algumas das áreas analisadas. Nas populações de *A. sculptum* do Cerrado foram detectadas *Rickettsia amblyommatis*, *Rickettsia felis* (primeiro relato dessas riquetsias nesse ixodídeo para o bioma) e *Candidatus Rickettsia andeanae*; e na Mata Atlântica foi identificada *Candidatus Rickettsia aseboensis* (primeiro registro nesse carrapato) e *R. felis* nesse ixodídeo. Em espécimes de *A. ovale* da Caatinga foi observada a presença de *Rickettsia bellii* e *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica; no bioma Mata Atlântica também foi encontrada *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica além de *Ca. R. aseboensis* (primeiro registro nesse artrópode para o Brasil) e *R. felis* (primeiro relato nesse ixodídeo). *A. aureolatum* de área endêmica para FM brasileira foi detectado com infecção por *R. bellii* e em área não endêmica foi identificado com *R. felis* (primeiro encontro nesse carrapato). A estruturação de *A. ovale* não influenciou nas riquetsias detectadas. Não foi observada relação entre os haplótipos dos carrapatos analisados e a detecção de riquetsias.

Palavras-chave: Complexo *Amblyomma cajennense*, Complexo *ovale*, ecossistemas brasileiros, genética de populações, riquetsiose, saúde pública.



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

***Amblyomma sculptum* BERLESE 1888, *Amblyomma ovale* KOCH 1844 E *Amblyomma aureolatum* (PALLAS 1772) (ACARI: IXODIDAE): GENETIC DIVERSITY AND DETECTION OF RICKETTSIA IN DIFFERENT BRAZILIAN BIOMES**

ABSTRACT

PHD THESIS IN BIODIVERSIDADE E SAÚDE

Karla Bitencourth Garcia

Spotted fever (SF) is the major human disease associated with ticks in Brazil. *Amblyomma sculptum*, *Amblyomma ovale* and *Amblyomma aureolatum* are among the main vectors of SF bioagents in the country. These species are widely distributed in Brazil, but SF cases associated with these ixodids are restricted to some regions. Knowing that genetically distinct populations of ticks may have different vector capacities, the aim of this thesis was to analyze the genetic diversity and infection by rickettsia in populations of *A. sculptum*, *A. ovale* and *A. aureolatum* from different Brazilian biomes. Samples from each species were submitted to DNA extraction, amplification and sequencing of fragments of mitochondrial genes 12S rDNA, 16S rDNA, cytochrome oxidase subunit II and D-loop region for tick analysis, and fragments of nuclear genes *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB* and *gene D* (*sca4*) for rickettsia research. Phylogenetic, phylogeographic and population analyzes have demonstrated that *A. sculptum* has great genetic diversity in Brazil, but without geographic or biomes structuring, and with indicative of expansion in some populations in the Cerrado. In *A. ovale* there is population structuring as a consequence of the significant association between genetic and geographic distances, with low gene flow among populations, suggesting that may be occurring speciation process between the populations of Cerrado and Caatinga and populations of the Atlantic rainforest. *A. aureolatum* has low genetic diversity and lack of structure for the Atlantic rainforest region, with trace of population expansion in some of the analyzed areas. In the populations of *A. sculptum* of the Cerrado were detected *Rickettsia amblyommatis*, *Rickettsia felis* (first report of these rickettsias in this ixodid for the biome) and *Candidatus Rickettsia andeanae*; and in the Atlantic rainforest were identified *Candidatus Rickettsia asemboensis* (first report for this tick) and *R. felis* in this ixodid. In specimens of *A. ovale* of the Caatinga was observed the presence of *Rickettsia bellii* and *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest; in the Atlantic rainforest biome was also noticed *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest besides *Ca. R. asemboensis* (first register in this arthropod for Brazil) and *R. felis* (first report in this ixodid). *A. aureolatum* from an endemic area for Brazilian SF was detected with infection by *R. bellii* and in non-endemic area was identified with *R. felis* (first encounter in this tick). The structure of *A. ovale* did not influence the detected rickettsia. No relation was observed between the analyzed haplotypes of ticks and the detection of rickettsia.

Key words: *Amblyomma cajennense* complex, *ovale* complex, Brazilian ecosystems, population genetics, rickettsiosis, public health.

ÍNDICE

RESUMO	X
ABSTRACT	XI
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 A espécie <i>Amblyomma sculptum</i> Berlese 1888.....	6
1.2 A espécie <i>Amblyomma ovale</i> Koch 1844	11
1.3 A espécie <i>Amblyomma aureolatum</i> (Pallas 1772)	15
2 OBJETIVOS	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 Área de estudo e amostragem	20
3.1.1 <i>Amblyomma cajennense sensu lato</i>	20
3.1.2 <i>A. ovale</i>	22
3.1.3 <i>A. aureolatum</i>	23
3.2 Coleta dos carrapatos.....	25
3.3 Identificação morfológica dos carrapatos coletados.....	25
3.4 Estudos de biologia molecular.....	26
3.4.1 Extração de DNAg	26
3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	26
3.4.2.1 Identificação molecular, análise filogenética e estudo da diversidade genética intraespecífica dos carrapatos	26
3.4.2.2 Pesquisa de riquetsia	27
3.4.3 Eletroforese	28
3.4.4 Purificação dos produtos da PCR e sequenciamento.....	30
3.5 Análise de dados das sequências de nucleotídeos	30
3.5.1 Edição, identificação e alinhamento das sequências de DNA	30
3.5.2 Análise de dados de genética de populações de <i>A.</i> <i>sculptum</i> , <i>A. ovale</i> e <i>A. aureolatum</i>	31
3.5.3 Distância evolutiva em <i>A. ovale</i>	33
3.5.4 Análises filogenéticas dos carrapatos e das riquetsias.....	33

4	RESULTADOS	35
4.1	Confirmação molecular da identificação dos carrapatos	35
4.1.1	<i>A. cajennense</i> s.l.	35
4.1.2	<i>A. ovale</i>	35
4.1.3	<i>A. aureolatum</i>	35
4.2	Genética de populações dos carrapatos	36
4.2.1	Análises intrapopulacionais em <i>A. sculptum</i>	36
4.2.1.1	Diversidade genética de <i>A. sculptum</i> no Brasil	36
4.2.1.2	História evolutiva de <i>A. sculptum</i> com base na rede de haplótipos	44
4.2.1.3	Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de <i>A. sculptum</i> do Brasil	47
4.2.2	Análises intrapopulacionais em <i>A. ovale</i>	50
4.2.2.1	Diversidade genética de <i>A. ovale</i> no Brasil	50
4.2.2.2	História evolutiva de <i>A. ovale</i> com base na rede de haplótipos	56
4.2.2.3	Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de <i>A. ovale</i> do Brasil	59
4.2.2.4	Distância evolutiva em <i>A. ovale</i>	62
4.2.3	Análises intrapopulacionais em <i>A. aureolatum</i>	67
4.2.3.1	Diversidade genética de <i>A. aureolatum</i> no Brasil	67
4.2.3.2	História evolutiva de <i>A. aureolatum</i> com base na rede de haplótipos	72
4.2.3.3	Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de <i>A. aureolatum</i> do Brasil	74
4.3	Análises filogenéticas dos carrapatos	76
4.3.1	<i>A. cajennense</i> s.l.	76
4.3.2	<i>A. ovale</i>	81
4.3.3	<i>A. aureolatum</i>	82
4.4	Análises das riquetsias detectadas	84
4.4.1	Riquetsias detectadas em <i>A. sculptum</i>	84
4.4.2	Riquetsias detectadas em <i>A. ovale</i>	84
4.4.3	Riquetsias detectadas em <i>A. aureolatum</i>	90
5	DISCUSSÃO	92

5.1	<i>A. sculptum</i>	92
5.2	<i>A. ovale</i>	99
5.3	<i>A. aureolatum</i>	105
6	PERSPECTIVAS	111
7	CONCLUSÕES	112
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	114
APÊNDICE A -	NÚMERO DE ACESSO DO <i>GENBANK</i> DAS SEQUÊNCIAS DE CARRAPATOS UTILIZADAS NAS ANÁLISES GENÉTICAS	134
APÊNDICE B -	DADOS DAS AMOSTRAS DE CARRAPATOS COLETADAS E ANALISADAS	135
APÊNDICE C -	NÚMERO DE ACESSO DO <i>GENBANK</i> DAS SEQUÊNCIAS DE RIQUÉTSIAS UTILIZADAS NAS RECONSTRUÇÕES FILOGENÉTICAS	152
APÊNDICE D -	ARTIGOS SUBMETIDOS, ACEITOS E PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO (2013- 2017)	154

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Distribuição geográfica das espécies do complexo *Amblyomma cajennense* nas Américas (Adaptado de Beati et al. 2013, segundo Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a; Rivera-Páez et al. 2016; Machado 2017).....**9**
- Figura 2.** Mapa do Brasil com indicação (●) das áreas de coleta, de acordo com os biomas e unidades federativas do país, de *Amblyomma cajennense sensu lato* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos *OSM Land TF Outdoors*. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.**21**
- Figura 3.** Mapa do Brasil com indicação (●) das áreas de coleta, de acordo com os biomas e unidades federativas do país, de *Amblyomma ovale* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos *OSM Land TF Outdoors*. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.**23**
- Figura 4.** Mapa do Brasil com indicação (●) das unidades federativas de coleta, no bioma Mata Atlântica, dos espécimes de *Amblyomma aureolatum* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos *OSM Land TF Outdoors*. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.**24**
- Figura 5.** Distribuição dos 19 haplótipos (hI ao hXIX) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.**39**
- Figura 6.** Distribuição dos 47 haplótipos (h1 ao h47) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.**41**
- Figura 7.** Distribuição dos 38 haplótipos (hA ao hL1) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.....**43**
- Figura 8.** Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (*mv- median vectors*).....**44**
- Figura 9.** Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (*mv- median vectors*).**45**

- Figura 10.** Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).....**46**
- Figura 11.** Distribuição dos 16 haplótipos (hI ao hXVI) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.....**52**
- Figura 12.** Distribuição dos 29 haplótipos (h1 ao h29) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.**54**
- Figura 13.** Distribuição dos 10 haplótipos (hA ao hJ) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.**56**
- Figura 14.** Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).....**57**
- Figura 15.** Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).....**58**
- Figura 16.** Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).....**59**
- Figura 17.** Distribuição dos cinco haplótipos (hI ao hV) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.....**68**
- Figura 18.** Distribuição dos 10 haplótipos (h1 ao h10) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas,

- provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.70
- Figura 19.** Distribuição dos 12 haplótipos (hA ao hL) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.71
- Figura 20.** Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais.72
- Figura 21.** Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais, e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (*mv- median vectors*).73
- Figura 22.** Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais.74
- Figura 23.** Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo HKY+G, para sequências parciais (561 pb) do gene citocromo oxidase subunidade II, representando as relações entre os 47 haplótipos (h1-h47) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).77
- Figura 24.** Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, para sequências parciais (480 pb) da região D-loop, representando as relações entre os 38 haplótipos (hA-hL1) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).78
- Figura 25.** Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, para sequências parciais (399 pb) do gene 12S rDNA, representando as relações entre os 19 haplótipos (hI-hXIX) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).80

Figura 26. Filogenia concatenada, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, de sequências parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop (367 pb+ 473 pb+ 455 pb) de *Amblyomma ovale*. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).....81

Figura 27. Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+I, de sequências parciais do gene mitocondrial 16S rDNA (409 pb) de *Amblyomma ovale* de diferentes locais do Brasil e das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).82

Figura 28. Cladograma, inferido por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, de sequências concatenadas parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop (372 pb+ 485 pb+ 447 pb) de *Amblyomma aureolatum*. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).....83

Figura 29. Filogenia concatenada de fragmento dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *gene D* (*sca4*) de riquétsia (405 pb+ 411 pb+ 516 pb+ 719 pb) detectados em *Amblyomma sculptum* no Brasil, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo GTR+G. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).85

Figura 30. Filogenia concatenada de fragmento dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB* de riquétsia (405 pb+ 371 pb+ 540 pb+ 901 pb) detectados em *Amblyomma ovale* no Brasil, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo GTR+G. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).89

Figura 31. Filogenia concatenada de fragmento dos genes *gltA* e *htrA* de riquétsia (405 pb+ 411 pb) detectados em *Amblyomma aureolatum* no Brasil, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).91

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Lista de sinonímias e alterações no nome de *Amblyomma cajennense* (Fabricius 1787) segundo Robinson (1926) e Aragão e Fonseca (1953).....**7**
- Tabela 2.** Lista de sinonímias de *Amblyomma ovale* Koch 1844 segundo Aragão e Fonseca (1961).**12**
- Tabela 3.** Lista de sinonímias de *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772) segundo Aragão e Fonseca (1961).....**15**
- Tabela 4.** Total de espécimes de *Amblyomma cajennense sensu lato* coletados, no período de 2005 a 2015, segundo os biomas, unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.**20**
- Tabela 5.** Total de espécimes de *Amblyomma ovale* coletados, no período de 2011 a 2015, segundo os biomas, unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.**22**
- Tabela 6.** Total de espécimes de *Amblyomma aureolatum* coletados, no período de 2012 a 2015, no bioma Mata Atlântica segundo as unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.**24**
- Tabela 7.** Iniciadores utilizados na amplificação de sequências parciais dos genes e da região mitocondrial analisados de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*.**27**
- Tabela 8.** Composição do mix e ciclos de amplificação da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) dos genes e da região mitocondrial analisados de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*, de acordo com Mangold et al. (1998) e Bitencourth et al. (2016).....**27**
- Tabela 9.** Iniciadores utilizados para a pesquisa de riquetsias nas amostras de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum* analisadas e respectivas referências.**28**
- Tabela 10.** Composição do mix e ciclos de amplificação da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) dos genes utilizados na pesquisa de riquetsias nas amostras de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*.**29**
- Tabela 11.** Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.**37**

Tabela 12. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de <i>Amblyomma sculptum</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	38
Tabela 13. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de <i>Amblyomma sculptum</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	40
Tabela 14. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de <i>Amblyomma sculptum</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	42
Tabela 15. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de <i>Amblyomma sculptum</i> analisadas do Brasil.	48
Tabela 16. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de <i>Amblyomma sculptum</i> analisadas do Brasil.	49
Tabela 17. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de <i>Amblyomma sculptum</i> estudadas do Brasil.	49
Tabela 18. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de <i>Amblyomma sculptum</i> estudadas do Brasil.	49
Tabela 19. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	51
Tabela 20. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	52
Tabela 21. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	53
Tabela 22. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.	55

Tabela 23. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas do Brasil.	60
Tabela 24. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de <i>Amblyomma ovale</i> analisadas do Brasil.	61
Tabela 25. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de <i>Amblyomma ovale</i> estudadas do Brasil.	61
Tabela 26. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de <i>Amblyomma ovale</i> estudadas do Brasil.	61
Tabela 27. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais do gene 12S rDNA (332 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de <i>Amblyomma ovale</i> identificados no Brasil.	63
Tabela 28. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais do gene citocromo oxidase subunidade II (473 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de <i>Amblyomma ovale</i> identificados no Brasil.	64
Tabela 29. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais da região D-loop (345 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de <i>Amblyomma ovale</i> identificados no Brasil.	66
Tabela 30. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.	67
Tabela 31. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.	68
Tabela 32. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.	69
Tabela 33. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.	70

Tabela 34. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas do Brasil.	75
Tabela 35. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> analisadas do Brasil.....	75
Tabela 36. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> estudadas do Brasil.....	76
Tabela 37. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de <i>Amblyomma aureolatum</i> estudadas do Brasil.	76
Tabela 38. Dados das amostras de <i>Amblyomma sculptum</i> que amplificaram fragmentos de genes de riquetsias, e a identificação molecular dessas riquetsias através do BLASTN (<i>Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide</i>).....	86
Tabela 39. Dados das amostras de <i>Amblyomma ovale</i> que amplificaram fragmentos de genes de riquetsias, e a identificação molecular dessas riquetsias através do BLASTN (<i>Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide</i>).	87
Tabela 40. Dados das amostras de <i>Amblyomma aureolatum</i> que amplificaram fragmentos de genes de riquetsias, e a identificação molecular dessas riquetsias através do BLASTN (<i>Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide</i>).....	90

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- ° C- Graus Celsius
- ∞- Infinito
- μL- Microlitro
- μM- Micromolar
- 10X- 10 vezes concentrado
- BLASTN- *Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*
- CE- Ceará
- CO₂- Dióxido de carbono (gás carbônico)
- COII- Citocromo oxidase subunidade II
- DF- Distrito Federal
- dH₂O- Água Destilada
- DNA- *Desoxyribonucleic Acid* - Ácido Desoxirribonucléico
- dNTP- *Deoxynucleotides Triphosphates* - Desoxirribonucleotídeos Trifosfatados
- ES- Espírito Santo
- EUA- Estados Unidos da América
- e.g.- exempli gratia* - por exemplo
- e.x.- Exemplo*
- FIOCRUZ- Fundação Oswaldo Cruz
- FM- Febre Maculosa
- FMB- Febre Maculosa Brasileira
- GO- Goiás
- ITS2- Segundo Espaçador Interno Transcrito (*second internal transcribed spacer*)
- LIRN- Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses
- m- Metro
- Mg- Magnésio
- MG- Minas Gerais
- MgCl₂- Cloreto de magnésio
- min- Minuto
- mM- Milimolar
- MS- Mato Grosso do Sul
- MT- Mato Grosso
- mtDNA- DNA mitocondrial
- N₂- Nitrogênio

NaCl- Cloreto de Sódio

ng- Nanograma

P. A.- Para Análise

pB- Pares de Base

PCR- *Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimerase

PDTIS- Programa de Desenvolvimento Tecnológico em Insumos para Saúde

PGBS- Pós-Graduação em Biodiversidade e Saúde

PR- Paraná

q.s.p.- Quantidade suficiente para

RJ- Rio de Janeiro

RS- Rio Grande do Sul

s- Segundos

SC- Santa Catarina

SP- São Paulo

TO- Tocantins

U- Unidade

UFRJ- Universidade Federal do Rio de Janeiro

1 INTRODUÇÃO

Os carrapatos são ectoparasitos obrigatórios e podem atuar como vetores de diversos patógenos para os animais, incluindo os seres humanos (Estrada-Peña 2015). Além disso, os hospedeiros parasitados podem apresentar perda de peso, desnutrição, redução na produção de leite (Teglas et al. 2005), ou mesmo evoluir ao óbito por ixodidose, caracterizada como paralisia flácida ascendente (Serra-Freire 1983; Vedanarayanan et al. 2004). Esses fatores evidenciam a importância desse artrópode na saúde pública e na economia (McCoy 2008).

O interesse no estudo dos ixodídeos e de seus patógenos aumentou nas últimas décadas. A utilização de ferramentas moleculares, para detecção de fragmentos de DNA de microorganismos, associada a maior atenção na quantificação dos riscos de doença para os seres humanos intensificou o número de estudos sobre a ecoepidemiologia de doenças transmitidas por carrapatos para os seres humanos e outros animais (Estrada-Peña 2015).

As riquetsioses associadas aos carrapatos estão entre as mais antigas doenças transmitidas por vetores que são conhecidas (Parola et al. 2013). No entanto, a importância do reconhecimento e identificação de carrapatos associados às riquetsias aumentou drasticamente nas últimas três décadas.

As doenças causadas por organismos do gênero *Rickettsia* (Rickettsiaceae; Rickettsiales) estão presentes em todos os continentes, em focos endêmicos, podendo emergir em intervalos esporádicos de forma epidêmica na população humana (Azad e Beard 1998). Existem algumas propostas de classificação para as espécies de *Rickettsia*, dentre essas, a mais utilizada é: (i) Grupo Ancestral - com a *Rickettsia canadensis* e *Rickettsia bellii*, de patogenicidade desconhecida; (ii) Grupo Tifo - composto por *Rickettsia prowazekii* e *Rickettsia typhi*, transmitida por piolhos e pulgas respectivamente; (iii) Grupo Transicional - constituído por *Rickettsia felis*, *Rickettsia akari* e *Rickettsia australis*, e (iv) Grupo Febre Maculosa (GFM) - com cerca de 30 espécies sendo, ao menos, 17 com patogenicidade comprovada e potencial para induzir, em humanos, a Febre Maculosa (FM), que apresenta características clínica e evolução variáveis, segundo a espécie do bioagente envolvido (Stothard et al. 1994; Roux et al. 1997; Roux e Raoult 2000; Paddock et al. 2004; Gillespie et al. 2008; Parola et al. 2013; Fang et al. 2017).

Os carrapatos atuam como reservatórios, amplificadores e principais vetores de riquetsias do GFM. Eventualmente, animais sinantrópicos e/ou domésticos, que atuam como hospedeiros de carrapatos podem introduzir e manter linhagens infectadas em ambientes antrópicos (Parola et al. 2005; Labruna 2009).

Em um dado ecótopo, a disponibilidade de espécies de hospedeiros bem como sua suscetibilidade a infestações por carrapatos e a infecções por riquetsias podem variar no espaço e ao longo do tempo. Além desta dinâmica, riquetsias do GFM envolvendo múltiplos grupos de vetores e mamíferos podem coexistir na mesma área, compartilhando ou não de elementos epidemiológicos (Rudakov et al. 2003, Szabó et al. 2013a). Adicionalmente, os diferentes tipos de atividades humanas, e sua conexão com a atividade sazonal dos carrapatos, influenciam a manifestação epidêmica da riquetsiose no foco natural (Szabó et al. 2013a). Todos estes fatores contribuem para o aumento da complexidade da epidemiologia das riquetsioses.

No Brasil, a principal doença em humanos na qual os carrapatos atuam como vetores é a FM (Santos et al. 2012a). A FM é uma doença infecciosa febril aguda, cujos agentes etiológicos são bactérias gram-negativas intracelulares obrigatórias do gênero *Rickettsia*. A apresentação clínica da FM pode variar desde formas leves até formas graves, com taxa de letalidade média superior a 30% (Oliveira et al. 2016; Ministério da Saúde 2017).

Em nosso país, os registros de FM datam do início do século XX (Dias e Martins 1939). Entretanto, só em 2001 foi incluída na lista de doenças de notificação compulsória do Ministério da Saúde (Brasil 2001) e, desde 2014, é uma doença de notificação compulsória imediata (Ministério da Saúde 2016). Dessa forma, os profissionais de saúde são responsáveis por reportar casos suspeitos e / ou confirmados da doença ao município, estado e Ministério da Saúde no período de 24 horas. Nos dias de hoje, a FM é considerada uma doença emergente no Brasil pelo aumento de casos diagnosticados e a expansão das áreas de ocorrência. No entanto, ainda é pouco conhecida pelos profissionais de saúde e pelo público em geral (Parola et al. 2013; Oliveira et al. 2016)

Atualmente, há notificações de casos suspeitos de FM em 20 Unidades da Federação e casos confirmados em 12 estados e no Distrito Federal, compreendendo diferentes biomas brasileiros (Barros-Silva et al. 2014; Oliveira et al. 2016). A morbidade é moderada mas a letalidade é alta, podendo atingir 80% nos casos mais graves. No período de 2007 a 2015, as regiões sudeste e sul do Brasil

apresentaram as maiores taxas de incidência da doença no país: 62,33% (776 casos) e 24,90% (310 casos), respectivamente. Os óbitos, porém, concentram-se na região sudeste (81,75% do total de óbitos) (Oliveira et al. 2016).

Angerami et al. (2009) destacaram que os sinais clínicos da FM na região sudeste do Brasil estão associados a uma doença mais grave do que na região sul do país. Dessa forma, diferenças na quantidade de óbitos e sinais clínicos sugerem distintos agentes etiológicos da FM nessas regiões (Angerami et al. 2009; Labruna et al. 2011a). Assim, é possível que uma cepa menos virulenta, ou espécie de riquétsia menos patogênica, possa ser o agente da FM na região sul do Brasil.

Rickettsia rickettsii é uma das riquétsias mais agressivas. Casos de FM ocasionados por essa espécie de riquétsia são severos, caracterizando doença aguda com evolução rápida (Parola et al. 2013). Sem tratamento adequado, os casos clínicos podem desenvolver formas graves da doença e até mesmo evoluir a óbito. Durante o século XX, *R. rickettsii* foi considerada a única riquétsia associada com doença humana cujo bioagente é transmitido por carrapatos nas Américas (Parola et al. 2009). E no Brasil, a FM está comprovadamente relacionada com *R. rickettsii*, sendo considerada a mais importante doença cujo agente etiológico é vetorado por carrapatos (Santos et al. 2012a). Em nosso país, casos de FM que tem *R. rickettsii* como bioagente são atribuídos a região sudeste do Brasil e a parte da região sul (norte do Paraná) (Szabó et al. 2013a; Oliveira et al. 2016). Porém, com o avanço dos estudos de biologia molecular, outras espécies de riquétsias [e.g. *Candidatus Rickettsia andeanae*; *Candidatus Rickettsia asemboensis*; *Rickettsia amblyommatis* (= *Candidatus Rickettsia amblyommii*, Karpathy et al. 2016); *R. bellii*; *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica- geneticamente relacionada com *Rickettsia parkeri*, *Rickettsia africae* e *Rickettsia sibirica*; *R. felis*; *Rickettsia rhipicephali* e *R. parkeri*], associadas ou não com casos clínicos, foram assinaladas em áreas com casos confirmados de FM no Brasil, em diferentes espécies de vetores (e.g. Horta et al. 2007; Labruna et al. 2007; Gehrke et al. 2009; Moraes-Filho et al. 2009; Sabatini et al. 2010; Labruna et al. 2011a; Medeiros et al. 2011; Nunes et al. 2015; Moerbeck et al. 2016; Vizzoni et al. 2016; Weck et al. 2016; Dall'Agnol et al. 2017; Machado 2017; Zeringóta et al. 2017). Esse cenário contextualiza a complexidade do ciclo enzoótico e epidêmico da FM no Brasil, bem como a diversidade de potenciais vetores envolvidos em função da variedade de cenários ecoepidemiológicos.

Em contrapartida, a *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica está presente em diversas regiões do país, gerando uma forma mais branda de FM com sinais

característicos (escaras de inoculação e linfadenopatia) e evolução benigna (Angerami et al. 2009; Spolidorio et al. 2010; Silva et al. 2011; Labruna et al. 2011a; Krawczak et al. 2016a; Oliveira et al. 2016). Na maior parte da região sul do Brasil, a doença é mais branda e a maioria dos casos não requer internação, o que pode estar associado a infecções causadas por *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica. Entretanto, na região norte do Paraná casos fatais de FM relacionados à *R. rickettsii* já foram assinalados (Oliveira et al. 2016).

Para formação do ciclo epidêmico da FM, as espécies de carrapatos, dentre outras características, devem apresentar interação trófica com humanos. Nesse sentido, *Amblyomma sculptum* Berlese 1888, *Amblyomma ovale* Koch 1844 e *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772) são considerados os principais vetores envolvidos no ciclo epidêmico da FM no Brasil, já que não apresentam alta especificidade parasitária de hospedeiros e são antropofílicos, podendo, assim, infestar humanos e transmitir riquetsias patogênicas, desencadeando casos de FM (Szabó et al. 2013a; Oliveira et al. 2016). Apesar desses ixodídeos serem relatados em diversas regiões do país, sua participação em casos associados à FM está restrita a algumas regiões do Brasil (Guglielmone et al. 2003; Szabó et al. 2013a; Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a; Oliveira et al. 2016).

Sabe-se que tanto a diversidade do vetor quanto sua rápida mudança genética podem influenciar fortemente na dinâmica de interação hospedeiro - vetor-patógeno (Fussmann et al. 2007) e, assim, modificar o cenário epidemiológico de transmissão de bioagentes. Portanto, no contexto da FM, é necessário analisar se a diversidade genética do carrapato vetor pode estar relacionada à infectividade, virulência e / ou patogenicidade das riquetsias. Ou ainda, se a diversidade do ixodídeo pode estar interferindo na relação entre o hospedeiro e a riquetsia, no que se refere à ação do sistema imunogênico do hospedeiro, ou do mecanismo de escape da riquetsia. Ainda nesse contexto, também é necessário analisar a diversidade de cepas de *Rickettsia*, sua interação com carrapatos vetores e o cenário epidemiológico da FM. Essa é uma área importante de estudo em carrapatos vetores - patógenos transmitidos, mas com uma lacuna na literatura.

Estudos de genética de populações de carrapatos podem atuar como um conector entre conhecimentos básicos da biologia desse vetor e a investigação de patógenos transmitidos por esses ixodídeos, uma vez que: 1) as análises de estruturação genética e dispersão de carrapatos podem auxiliar nas estimativas de dispersão de patógenos transmitidos por esses artrópodes; 2) esses estudos podem

demonstrar a existência de populações de ixodídeos estruturadas para diferentes hospedeiros, o que acarretaria importantes implicações na transmissão de patógenos (e.x. aumento da estruturação genética entre as populações de vetores com limitação da dispersão de patógenos, propiciando a existência de cenários específicos para ocorrência de ciclos de doença); e 3) estudos que combinam a análise do hospedeiro, vetor e patógeno auxiliam a compreensão dos processos evolutivos que ligam as espécies através dos níveis tróficos (Araya-Anchetta et al. 2015).

Os marcadores moleculares têm sido bastante utilizados em estudos filogenéticos e populacionais de carrapatos (e.g. Norris et al. 1996; Mixson et al. 2006; Nava et al. 2010; Beati et al. 2012; 2013; Bitencourth et al. 2016; Lado et al. 2016; Ogrzewalska et al. 2016). Uma etapa essencial em qualquer estudo genético é a escolha dos genes a serem analisados. Eles devem ter uma taxa de mutação apropriada para a escala evolutiva alvo do estudo (Araya-Anchetta et al. 2015).

Atualmente, existem diversas ferramentas moleculares usadas no estudo de inferências filogenéticas e populacionais de carrapatos. Entre os métodos mais utilizados está a análise de sequências nucleotídicas dos genes mitocondriais. O DNA mitocondrial (mtDNA) é, particularmente, adequado para estudos populacionais porque esses genes evoluem, em média, mais rapidamente do que os genes nucleares e, devido ao seu tamanho reduzido e abundância de mitocôndrias nas células, é mais fácil de sequenciar do que o genoma nuclear (Shao e Barker 2007). Dessa forma, os genes mitocondriais são considerados marcadores robustos para desenvolver estudos sobre a história de populações e padrões evolutivos (Zink e Barrowclough 2008).

Estudos demonstraram que as sequências de mtDNA são úteis para distinguir espécies de carrapatos estreitamente relacionadas, e também são adequadas para identificar populações distintas dentro de uma espécie (Xu et al. 2003; Beati et al. 2012; 2013; Araya-Anchetta et al. 2015). Este é particularmente o caso da região controle (D-loop), que é uma das regiões mais variáveis do genoma mitocondrial (Zhang e Hewitt 1997). A variabilidade do D-loop o tornou um dos marcadores mais utilizados para os estudos de relação abaixo do nível da espécie (Simon et al. 1994; Li 1997; Casati et al. 2008; Beati et al. 2012; Mandal et al. 2014).

Relatos na literatura sugerem que o 12S rDNA é uma ferramenta mais eficiente para estudos de filogenia de carrapatos que sofreram eventos de especiação recente, do que para estudos de espécies que sofreram especiação a

um tempo maior (Murrell et al. 1999; Norris et al. 1999; Beati e Keirans 2001; Beati et al. 2013). Esse marcador, juntamente com o D-loop e citocromo oxidase subunidade II (COII) apresentam características que os tornam eficientes no estudo das relações filogenéticas e de estrutura de populações de carrapatos (Barker e Murrell 2004; Mixson et al. 2006; Casati et al. 2008; Krakowetz et al. 2011; Kovalev e Mukhacheva 2012; Beati et al. 2012; 2013; Bitencourth et al. 2016; Lado et al. 2016). Por outro lado, genes como o 18S rDNA (nuclear) e o 16S rDNA (mitocondrial) mudam mais lentamente ao longo do tempo. Portanto, esses marcadores são mais adequados para observar divergências mais antigas entre as espécies (Avisé 2004).

A variabilidade genética nos carrapatos pode estar associada com sua habilidade em transmitir patógenos (McCoy 2008; Ketchum et al. 2009), e a variação filogeográfica dentro de uma espécie pode influenciar a capacidade de adquirir, manter e transmitir agentes patogênicos (McLain et al. 1995). Nesse sentido, em condições de laboratório, *A. sculptum* (proveniente de São Paulo) não foi capaz de manter de forma eficiente a infecção por *R. rickettsii* (Soares et al. 2012), utilizando a cepa Taiacu dessa bactéria isolada de *A. aureolatum* (de São Paulo) (Pinter e Labruna 2006). Porém, ao utilizar cepa de *R. rickettsii* originária de *A. sculptum* foi observada diferença na manutenção da infecção (seja por perpetuação transestadial ou transmissão transovariana) em diferentes populações geográficas desse ixodídeo infectados com essa bactéria (Gerardi 2016). Esses resultados podem sugerir que há uma correlação entre a cepa de riquetsia e o carrapato vetor. E ainda, o polimorfismo genético que ocorre nas populações de *A. sculptum* no Brasil (Beati et al. 2013; Bitencourth et al. 2016) pode influenciar na susceptibilidade desse ixodídeo à infecção por *R. rickettsii*. Dessa forma, populações geneticamente diversas de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* podem ter competências vetoriais distintas. Nossa hipótese é que exista variação genética nas populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* nos diferentes biomas do Brasil, e que essa diversidade influencie na circulação/ ocorrência de espécies de riquetsias.

1.1 A espécie *Amblyomma sculptum* Berlese 1888

Até recentemente, a espécie *A. sculptum* era considerada sinônimo de *Amblyomma cajennense* (Fabricius 1787). A taxonomia de *A. cajennense* sempre foi muito questionada, evidenciada por uma extensa lista de sinônimos (Tabela 1).

A espécie *A. cajennense* foi determinada com base em exemplar coletado na cidade de Cayena (Guiana Francesa), de onde derivou seu nome específico. Foi descrita por Fabricius (1787) como *Acarus cajennensis*. Contudo, essa designação foi alterada, em 1794, para *Ixodes cajennensis*.

Em 1844, Koch propôs o gênero *Amblyomma* e incluiu a espécie proposta por Fabricius (1787) nesse gênero, com a denominação de *Amblyomma cajennense*. No entanto, alguns autores descreveram espécies morfológicamente parecidas com *A. cajennense*, que Neumann (1899; 1911), Aragão (1911) e Robinson (1926) colocaram como sinônimas de *A. cajennense*.

Tabela 1. Lista de sinônimas e alterações no nome de *Amblyomma cajennense* (Fabricius 1787) segundo Robinson (1926) e Aragão e Fonseca (1953).

Espécie	Autor (es) e Ano
<i>Acarus cajennensis</i>	(Fabricius 1787)
<i>Ixodes cajennensis</i>	(Fabricius 1794)
<i>Ixodes crenatus</i>	Say 1821
<i>Amblyomma tenellum</i>	Koch 1844
<i>Amblyomma mixtum</i>	Koch 1844
<i>Ixodes herrerae</i>	Dugès 1887
<i>Amblyomma sculptum</i>	Berlese 1888
<i>Amblyomma parviscutatum</i>	Neumann 1899
<i>Amblyomma versicolor</i>	Nuttall e Warburton 1908
<i>Amblyomma tapiri</i>	Tonelli-Rondelli 1937
<i>Amblyomma finitimum</i>	Tonelli-Rondelli 1937

Porém, Tonelli-Rondelli (1937) continuara acreditando que esses pesquisadores tinham ignorado características importantes das espécies consideradas sinônimas de *A. cajennense*. Desta forma, ela validou seis espécies independentes: *A. cajennense*, *Amblyomma tenellum* Koch 1844, *Amblyomma mixtum* Koch 1844, *A. sculptum*, *Amblyomma tapiri* Tonelli-Rondelli 1937 e *Amblyomma finitimum* Tonelli-Rondelli 1937 (Tonelli-Rondelli 1937). Contudo, Aragão e Fonseca (1953) consideraram que essa autora destacou diferenças morfológicas entre tais espécies que são evidentes em populações de *A. cajennense* distintas geograficamente. Assim sendo, Aragão e Fonseca (1953) colocaram todas as espécies propostas por Koch (1844), Berlese (1888) e Tonelli-Rondelli (1937) como sinônimas de *A. cajennense*.

Esses fatos evidenciam que há tempos era notada a existência de variações intraespecíficas em *A. cajennense*. Nesse sentido, Aragão e Fonseca (1953) enfatizaram o tempo de alimentação, hospedeiro e área geográfica como fatores de influência nessas variações. Burkman (2009), com base em sequências de genes mitocondriais de *A. cajennense* de alguns países das Américas do Norte, Central e do Sul, concluiu que essa espécie está dividida em cinco clados monofiléticos fortemente suportados. Cada um correspondendo a populações distintas geograficamente ou ecologicamente.

Análises de dados morfológicos reforçam a existência de variação intraespecífica em *A. cajennense*. Bitencourth (2010), usando essa base de dados para estudar amostras dessa espécie provenientes de diferentes regiões fisiográficas do Rio de Janeiro/ Brasil, demonstrou haver variação intraespecífica de acordo com a ecorregião, sugerindo a existência de diferentes populações, as quais podem influenciar no potencial de transmissão de patógenos.

Estudo envolvendo cruzamento entre populações de *A. cajennense* do Brasil (São Paulo e Rondônia) e Colômbia, e Argentina e Brasil (São Paulo) concluiu que as populações do Brasil (São Paulo) e Argentina foram as únicas que apresentaram sucesso reprodutivo, com os ovos resultantes desse cruzamento tendo alta taxa de eclosão (Labruna et al. 2011b). Ainda nesse sentido, foram realizados testes de fertilidade de híbridos de duas populações de *A. cajennense* de diferentes regiões ecológicas do norte da Argentina. Resultados revelaram que o cruzamento dessas populações apresentou índice de eficiência da fertilidade muito baixo (Mastro Paolo et al. 2011).

Beati et al. (2013), com base em dados moleculares de genes mitocondriais e um nuclear, evidenciaram que *A. cajennense* é um clado monofilético que pode ser separado em seis unidades genéticas, definidas pela presença de haplótipos exclusivos e associação de habitats. E ainda, os valores de divergência genética demonstraram que essas seis linhagens são tão distintas umas das outras como espécies diferentes pertencentes ao mesmo gênero.

Em seguida, Nava et al. (2014) analisaram e compararam morfológicamente espécimes representativos de cada clado identificado por Beati et al. (2013) para verificar se a divisão genética observada poderia ou não estar associada a características fenotípicas distintas. Dessa forma, o status taxonômico de *A. cajennense* e das espécies incluídas como sinônimas foram reavaliados. Nava et al. (2014) concluíram que as análises morfológicas são congruentes com os resultados

moleculares, comportamentais e de cruzamento em laboratório (Labruna et al. 2011b; Mastropaolo et al. 2011; Beati et al. 2013), indicando que *A. cajennense* é um complexo de seis espécies com: *Amblyomma cajennense sensu stricto* (s.s.) (Fabricius 1787) encontrado predominantemente na região amazônica da América do Sul (Venezuela, Guianas, e no Brasil nos estados do Pará, Roraima, Rondônia, Maranhão, Tocantins, Mato Grosso e Goiás); a descrição da espécie *Amblyomma interandinum* n. sp. Beati et al. 2014 reportado apenas para a região inter-Andina do Peru; revalidação de *A. mixtum* que ocorre desde o Texas (Estados Unidos da América) até o oeste do Equador e na Colômbia; *Amblyomma patinoi* n. sp. Labruna et al. 2014 exclusivo da Colômbia; *A. sculptum* com distribuição desde áreas úmidas do norte da Argentina, Bolívia e Paraguai até as áreas peri-amazônicas do Brasil (estados do Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Espírito Santo, Minas Gerais, Pernambuco, Bahia, Piauí, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Rondônia, Pará, Goiás e também no Distrito Federal); e *Amblyomma tonelliae* n. sp. Nava et al. 2014 reportado nas áreas mais secas da região do Chaco, no centro-norte da Argentina, Bolívia e Paraguai (Beati et al. 2013; Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a; Rivera-Páez et al. 2016; Machado 2017) (Figura 1).

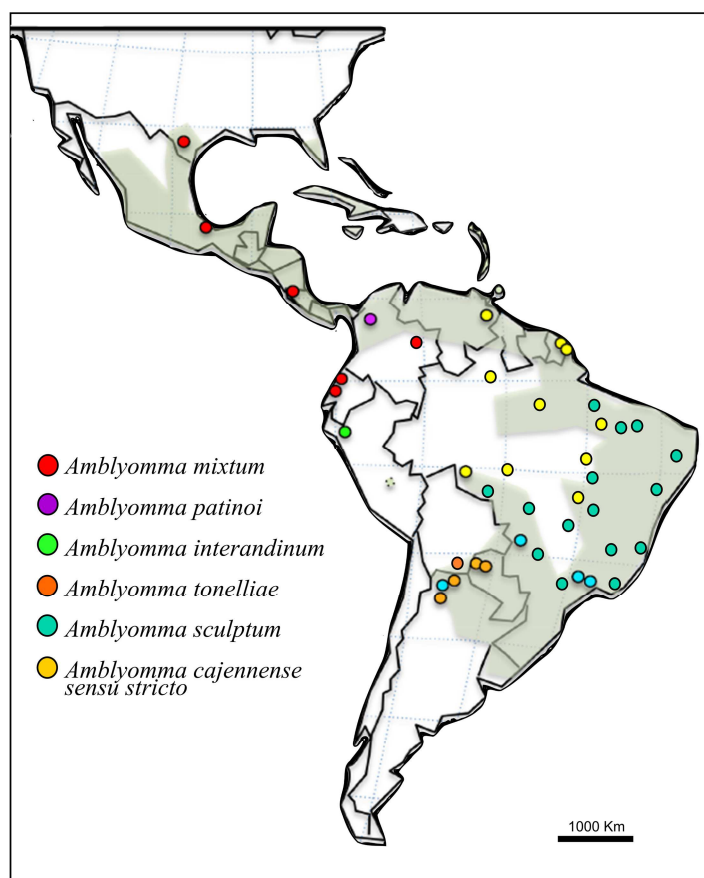


Figura 1. Distribuição geográfica das espécies do complexo *Amblyomma cajennense* nas Américas (Adaptado de Beati et al. 2013, segundo Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a; Rivera-Páez et al. 2016; Machado 2017).

Como a descrição do complexo *A. cajennense* é recente, os autores destacam que as informações sobre distribuição e sobreposição geográfica das espécies podem estar incompletas, salientando que são necessários também estudos relacionados à competência vetorial das espécies propostas.

No Brasil, das seis espécies do complexo *A. cajennense* ocorrem *A. cajennense* s.s. e *A. sculptum*. Dessas, *A. cajennense* s.s. é predominantemente relatado na região amazônica, e no seu clima equatorial, não havendo evidências da sua participação em ciclos de transmissão de bioagentes comprovadamente patogênicos para humanos (Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a). Por outro lado, *A. sculptum* é relatado em áreas com clima tropical, como em parte do Cerrado, da Mata Atlântica, do Pantanal e da Caatinga. Nesses habitats, é o carrapato mais frequente encontrado parasitando humanos e o principal vetor da *R. rickettsii*, bioagente da Febre Maculosa Brasileira (FMB), a principal doença humana associada a carrapatos no país (Szabó et al. 2013a). Sua baixa especificidade parasitária, comportamento trioxênio e antropofílico (Guglielmone et al. 2006), associados com sua ampla distribuição geográfica (Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a), enfatizam a importância desse ixodídeo nos ciclos da FM no Brasil.

Em áreas de transição entre os biomas Cerrado e Amazônia, *A. cajennense* s.s. e *A. sculptum* podem ocorrer em simpatria. Morfologicamente, a distinção entre essas espécies pode ser feita pelo formato da abertura genital das fêmeas, entretanto, ninfas e machos das duas espécies são muito parecidos (Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a). Nessas circunstâncias, identificar as duas espécies corretamente pode ser difícil, e, conseqüentemente, podem ocorrer erros em estudos epidemiológicos. Assim sendo, a combinação de dados morfológicos e moleculares pode ser necessária para a correta identificação desses ixodídeos.

Apesar de *A. sculptum* ser relatado em praticamente todas as regiões do Brasil (Nava et al. 2014; Martins et al. 2016a), essa espécie é comprovadamente encontrada participando do ciclo da FMB apenas na região sudeste do país, onde está incriminada como vetor de *R. rickettsii* (e.g. Guedes et al. 2005; Labruna et al. 2011a; Szabó et al. 2013a). Não há relatos de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica (filogeneticamente próxima a *R. parkeri*) nesse ixodídeo, apesar dessa espécie ser susceptível a infecção por *R. parkeri* em laboratório (Sangioni et al. 2005). É curioso que mesmo em locais com grandes populações de *A. sculptum* e capivaras (que poderiam atuar como amplificadores de *R. rickettsii*, Souza et al. 2009) não há relatos de FMB associada a esse ixodídeo. Assim sendo, outros fatores podem ser

responsáveis por determinar o estabelecimento ou restringir a endemicidade da FMB relacionada à *A. sculptum* e *R. rickettsii* (Szabó et al. 2013a). Nesse sentido, o polimorfismo genético das populações de *A. sculptum* e a distribuição de casos de FM poderiam estar associados à suscetibilidade diferenciada à riquetsia das diferentes populações desse ixodídeo.

Apesar da região sudeste do Brasil só ter o registro da espécie *A. sculptum* do complexo *A. cajennense*, há distintas variações genéticas entre as populações desse ixodídeo nessa região (Beati et al. 2013; Bitencourth et al. 2016). Isso reforça a necessidade de analisar se a diversidade genética desse ixodídeo poderia estar associada a diferentes susceptibilidades à infecção por riquetsias e à distribuição dos casos de FM no país.

Diante desse cenário, a variabilidade genética de *A. sculptum* ao longo da sua extensa área de distribuição pode estar influenciando sua capacidade vetorial e, conseqüentemente, nos casos de FM associados a essa espécie de carrapato e *R. rickettsii*. Com a recente descrição do complexo *A. cajennense*, e a escassez de pesquisas quanto à diversidade intraespecífica de *A. sculptum* e seu potencial na transmissão de riquetsias, são necessários estudos de genética de populações e pesquisa de riquetsias nas diferentes populações desse ixodídeo no Brasil.

1.2 A espécie *Amblyomma ovale* Koch 1844

A taxonomia de *A. ovale* foi motivo de muito questionamento e estudo no passado. Aragão e Fonseca (1961) destacaram que as divergências de opinião com relação aos *Amblyomma* do grupo *ovale*, entre os pesquisadores europeus e os nacionais, estavam relacionadas à escassez do material neotrópico analisado. Onde, pequenas alterações na morfologia dessa espécie eram interpretadas como outras tantas formas derivadas de especiação por pesquisadores que não possuíam material abundante e experiência no estudo do grupo (Aragão e Fonseca 1961).

Sendo assim, Aragão e Fonseca (1961) analisaram numeroso material neotrópico e validaram duas espécies, *A. ovale* e *A. aureolatum*, que passaram a denominar de complexo *ovale*, pela estreita semelhança morfológica entre as duas. Ainda com base nesse material, fizeram a redescrição de machos e fêmeas das duas espécies. Portanto, todas as outras espécies descritas a partir de variações intraespecíficas (como por exemplo, o contorno mais estreitado do macho, espinho

menos encurvado da coxa IV e pequenas diferenças de pontuações) foram consideradas sinônimas de *A. ovale* (Tabela 2). Posteriormente, análises de sequências de DNA corroboraram a validade das duas espécies (Guglielmone et al. 2003).

Tabela 2. Lista de sinônimas de *Amblyomma ovale* Koch 1844 segundo Aragão e Fonseca (1961).

Espécie	Autor e Ano
<i>Amblyomma confine</i>	Koch 1844
<i>Amblyomma auronitens</i>	Berlese 1888
<i>Amblyomma fozsum</i>	Neumann 1899
<i>Amblyomma quasistriatum</i>	Tonelli Rondelli 1937
<i>Amblyomma ovale krieg</i>	Schulze 1941

A espécie *A. ovale* tem ampla distribuição geográfica nas Américas, sendo considerada uma espécie Neotropical, relatada em diferentes tipos de habitats. É encontrada desde o centro-norte da Argentina até o norte do México, destacando seus registros de ocorrência para Bolívia, Paraguai, Peru, Equador, Guiana Francesa, Suriname, Guiana, Trindade e Tobago, Venezuela, Colômbia, Panamá, Costa Rica, Nicaraguá, Belize e Guatemala. No Brasil, essa espécie ocorre nos estados do Amazonas, Ceará, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Pará, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e São Paulo (Guglielmone et al. 2003; Barros-Battesti et al. 2006; Ferreira et al. 2013). Há alguns relatos de *A. ovale* para certas localidades dos Estados Unidos, embora esse ixodídeo pareça não estar estabelecido nesse país. Apesar da ampla distribuição Neotropical, não foi encontrada nenhuma associação significativa entre tipo de vegetação e a presença de *A. ovale* (Guglielmone et al. 2003).

De acordo com a literatura, *A. ovale* é no Brasil uma espécie de hábito silvestre, raramente encontrada em área urbana. Entretanto, quando encontrada na cidade, estaria parasitando o cão, que pode entrar na mata, se infestar e voltar para o ambiente doméstico (Aragão e Fonseca 1961; Barbieri et al. 2015). Nesse sentido, espécimes adultos de *A. ovale* são encontrados com maior frequência em canídeos, com destaque para o cão doméstico (*Canis lupus familiaris* Linnaeus 1758). Todavia, também podem ser relatados em felídeos [como na *Panthera onca* (Linnaeus 1758)] e em tapirídeos [com relevância para *Tapirus terrestris* (Linnaeus 1758)]

(Guglielmone et al. 2003; Labruna et al. 2005). Já que machos e fêmeas de *A. ovale* podem infestar animais domésticos, o parasitismo humano pelo estágio adulto desse ixodídeo também pode ser observado (Guglielmone et al. 2003; 2006). Por outro lado, os estádios imaturos de *A. ovale* podem ser encontrados parasitando, além do cão doméstico, o quati [*Nasua nasua* (Linnaeus 1766)], certos roedores [e.x. *Proechimys semispinosus* (Tomes 1860) e *Zygodontomys brevicauda* (Allen e Chapman 1893)], e com alguns relatos em aves (Guglielmone et al. 2003; Ogrzewalska et al. 2009; Maturano et al. 2015; Ramos et al. 2015; Martins et al. 2016b).

De forma geral, estudos indicam que *A. ovale* é importante parasito do cão doméstico (Guglielmone et al. 2003; Szabó et al. 2012; Ferreira et al. 2013; Barbieri et al. 2014; Krawczak et al. 2016b). Há tempos é destacado o aumento do relato de *A. ovale* nesse hospedeiro no Brasil (Evans et al. 2000; Guglielmone et al. 2003). Esse fato associado ao seu comportamento antropofílico são relevantes, uma vez que esse carrapato pode atuar como vetor de patógenos para humanos. Nesse contexto, há relatos da detecção molecular de *R. bellii* e *R. amblyommatis* em *A. ovale* (Labruna et al. 2004a; Pacheco et al. 2008; Sabatini et al. 2010; Labruna et al. 2011a; Szabó et al. 2013b; Costa et al. 2015; Blanco et al. 2016; Moerbeck et al. 2016), além de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica (que é geneticamente próxima a *R. africae*, *R. parkeri* e *R. sibirica*, que são bioagentes de doenças associadas a carrapatos em diferentes países, Spolidorio et al. 2010). Dessa forma, *A. ovale* é apontado como principal vetor de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica em alguns estados do Brasil (e.g. Sabatini et al. 2010; Medeiros et al. 2011; Szabó et al. 2013a; Barbieri et al. 2014; Krawczak et al. 2016b; Luz et al. 2016; Melo et al. 2016; Moerbeck et al. 2016; Nieri-Bastos et al. 2016; Vizzoni et al. 2016; Witter et al. 2016).

Rickettsia sp. cepa Mata Atlântica é considerada bioagente de uma nova riquetsiose do GFM emergente no país, com o primeiro relato de caso clínico humano em 2010 para região de Mata Atlântica em São Paulo (Spolidorio et al. 2010), e relatos posteriores para Bahia e Santa Catarina (Silva et al. 2011; Krawczak et al. 2016a). A riquetsiose causada por essa bactéria está associada a um quadro clínico mais brando (quando comparada à *R. rickettsii*), caracterizada pela escara de inoculação e linfadenopatia. Possui relatos para as regiões sul, sudeste e nordeste do país (Spolidorio et al. 2010; Silva et al. 2011; Krawczak et al. 2016a).

A detecção de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica em *A. ovale* não está restrita às regiões de bioma Mata Atlântica, havendo relatos também para o Pantanal e em

áreas de fragmentos característicos de Mata Atlântica inseridos no bioma Caatiga no Brasil (Melo et al. 2016; Moerbeck et al. 2016; Witter et al. 2016), com registros também na Colômbia (Londoño et al. 2014) e em Belize (Lopes et al. 2016). Portanto, a *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica foi identificada em diferentes locais das Américas associada ao *A. ovale*.

Recentemente, foi comprovado em condições de laboratório que *A. ovale* é um eficiente vetor de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica no Brasil. Essa espécie de carrapato é capaz de fazer transmissão transestadial e transovariana de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, indicando que esse ixodídeo deve ser reservatório dessa riquetsia na natureza. Entretanto, *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica pode apresentar efeito deletério nas populações de *A. ovale*. Dessa forma, ao longo de sucessivas gerações, a infecção por essa bactéria poderia desaparecer das populações de *A. ovale*, ao menos que novas linhagens de carrapatos infectados sejam geradas por transmissão horizontal através de hospedeiros vertebrados amplificadores (Krawczak et al. 2016c).

Apesar da ampla distribuição de *A. ovale* no Brasil, não são em todas as suas áreas de ocorrência que esse ixodídeo é detectado infectado por riquetsias. Espécies de ampla distribuição geográfica estão sujeitas a variações que devem ser consideradas no êxito da adaptação, especiação e capacidade vetorial (McLain et al. 1995). E ainda, a distância genética entre populações pode resultar em variações genéticas que, entre outros fatores, podem aumentar ou diminuir o potencial de carreamento de patógenos, influenciando na formação de focos ou riscos de infecção. Nesse sentido, Aragão e Fonseca (1961) salientaram a presença de variações intraespecíficas em *A. ovale* (como por exemplo, a robustez do espécime, variações na forma do peritrema, distribuição das pontuações no escudo, a falta de afilamento e encurvamento do espinho externo da coxa I, a curvatura atenuada do espinho da coxa IV e a presença de sulcos cervicais longos e profundos em certas fêmeas) que poderiam ser observadas em espécimes provenientes de diferentes hospedeiros e locais do Brasil, ou mesmo em exemplares dessa espécie de um único lote.

Apesar da relevância de *A. ovale* para saúde pública, não há trabalhos que investiguem variações intraespecíficas associadas à presença de riquetsias nesse ixodídeo. Assim sendo, é relevante a realização de estudos que analisem a diversidade genética de *A. ovale*, ao longo da sua área de distribuição no Brasil, e a

presença de riquetsias nesse carrapato. Contribuindo, assim, com o entendimento da variabilidade genética, capacidade vetorial e ocorrência de casos de FM no país.

1.3 A espécie *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772)

A espécie *A. aureolatum* foi descrita primeiramente por Pallas em 1772. Entretanto, Koch (1844) sem conhecer esse trabalho descreveu *Amblyomma striatum* Koch 1844, que por muito tempo foi considerada espécie válida. Porém, posteriormente, observou-se que se tratava da mesma espécie descrita por Pallas (1772), e, dessa forma *A. striatum* passou a ser sinônimo de *A. aureolatum*.

As variações intraespecíficas em *A. aureolatum* e a estreita semelhança morfológica com *A. ovale* muitas vezes levavam os pesquisadores a considerarem as duas espécies como uma só, ou até mesmo descrever novas espécies com base em variações esperadas dentro do limite de diversidade intraespecífica. Frequentemente, a dificuldade na taxonomia de *A. aureolatum* estava relacionada ao número insuficiente de exemplares analisados, bem como a pouca experiência com o estudo do grupo e as variações intraespecíficas observadas (Aragão e Fonseca 1961).

Aragão e Fonseca (1961), dispendo de abundante material neotrópico, validou a espécie *A. aureolatum* e destacou a similaridade fenotípica com *A. ovale*, que também considerou como espécie válida. Portanto, colocaram todas as outras descrições específicas posteriores a de Pallas (1772), usadas para se referir a *A. aureolatum*, como sinônimas dessa espécie (Tabela 3). Estudos moleculares confirmam a validade de *A. aureolatum* e *A. ovale* (Guglielmo et al. 2003).

Tabela 3. Lista de sinônimas de *Amblyomma aureolatum* (Pallas 1772) segundo Aragão e Fonseca (1961).

Espécie	Autor e Ano
<i>Acarus aureolatus</i>	Fabricius 1794, <i>pro parte</i>
<i>Amblyomma aureolatum</i>	(Fabricius 1794), <i>pro parte</i>
<i>Amblyomma striatum</i>	Koch 1844
<i>Amblyomma oblongum</i>	Koch 1844
<i>Amblyomma ovale</i>	Koch 1844, <i>pro parte</i>

Apesar da proximidade morfológica entre as duas espécies, elas podem ser distinguidas pelo padrão de ornamentação do escudo das fêmeas, o sulco marginal nos machos (incompleto no *A. aureolatum* e completo no *A. ovale*) e a diferença dos espinhos da coxa I em ambos os sexos (Aragão e Fonseca 1961). Além disso, também diferem com relação à distribuição geográfica: enquanto *A. ovale* tem ampla distribuição nas Américas, os encontros de *A. aureolatum* são mais restritos a América do Sul, do Uruguai ao Suriname, havendo ainda relatos para o nordeste da Argentina, parte do Paraguai, Guiana Francesa e Brasil, com registros para parte dos estados do sul e leste do país (Guglielmone et al. 2003). Assim como *A. ovale*, a presença de *A. aureolatum* parece não ter relação com nenhum tipo de vegetação (Guglielmone et al. 2003). Entretanto, sua ocorrência pode estar associada com a altitude, como observado para São Paulo e para Santa Catarina no Brasil- quanto maior a altitude, maior a probabilidade do encontro de *A. aureolatum*. Dessa forma, em municípios entre 101-700 m de altitude a chance de encontrar esse ixodídeo é nove vezes maior, e em locais acima de 700 m é 31,5 vezes superior do que em municípios até 100 m de altitude (Barbieri et al. 2015).

No Brasil o hábitat natural do *A. aureolatum* parece ser a Mata Atlântica, onde encontra condições ótimas de umidade e temperatura ao longo de todo o ano para o seu desenvolvimento (Pinter et al. 2004; Barbieri et al. 2015). O estágio adulto de *A. aureolatum* tem maior probabilidade de ser encontrado infestando representantes da ordem Carnívora, entre eles: o cão doméstico, o cachorro do mato [*Cerdocyon thous* (Linnaeus 1766)], o mão-pelada [*Procyon cancrivorus* (Cuvier 1798)] e o gato doméstico (*Felis catus* Linnaeus 1758). Por outro lado, larvas e ninfas desse ixodídeo são relatadas predominantemente em aves, como exemplo em *Turdus rufiventris* Vieillot 1818 (sabiá-laranjeira) e *Troglodytes aedon* Vieillot 1808 (curruíra), mas também podem parasitar alguns pequenos roedores (Guglielmone et al. 2003; Ogrzewalska et al. 2012).

Machos e fêmeas de *A. aureolatum* podem ser relatados parasitando o cão doméstico em áreas rurais próximas a bordas de mata, não longe de centros populosos. Esse hospedeiro desempenha um importante papel em transportar esse ixodídeo de dentro da floresta para o ambiente doméstico (Aragão e Fonseca 1961; Guglielmone et al. 2003; Pinter et al. 2008). Dessa forma, pode ocorrer o parasitismo humano pelo estágio adulto de *A. aureolatum*. Em 1961, Aragón e Fonseca abordaram o parasitismo humano pela fase adulta de *A. aureolatum* relacionado a caso de FMB, determinada por *R. rickettsii* em São Paulo. Trabalhos posteriores

também incriminam o estágio adulto de *A. aureolatum* como vetor do bioagente da FMB para humanos (Guimarães et al. 2001; Guglielmone et al. 2003; Ogrzewalska et al. 2012; Labruna et al. 2014).

O carrapato *A. aureolatum* é vetor natural da bactéria *R. rickettsii*, agente etiológico da FMB (Gomes 1933; Dias e Martins 1939; Pinter e Labruna 2006). Considerando a habilidade que *A. aureolatum* tem de parasitar humanos e a sua capacidade de transmitir riquetsia, essa espécie de carrapato assume importante papel epidemiológico na FMB (Szabó et al. 2013a). Apesar da FMB ser a mais importante doença humana associada a carrapatos na América do Sul, algumas questões permanecem sem resposta com relação a ecologia dos vetores e epidemiologia da doença.

Em condições de laboratório, *A. aureolatum* é mais susceptível a infecção por *R. rickettsii* do que *A. sculptum*, e também mais eficiente em manter a infecção, com 100% de transmissão transestadial e transovariana (Labruna et al. 2008; 2011c). Entretanto, em áreas endêmicas para FMB, as taxas de infecção de *A. aureolatum* por *R. rickettsii* são baixas (entre 1-10%) (Pinter e Labruna 2006; Ogrzewalska et al. 2012), o que pode estar associado ao efeito deletério que essa bactéria causa nos carrapatos (Niebylski et al. 1999; Labruna et al. 2011c). Nesse cenário epidemiológico, até o momento, nenhum hospedeiro vertebrado amplificador foi determinado para *R. rickettsii*, embora se suspeite do cão (Scinachi et al. 2017).

Ainda com relação à relevância de *A. aureolatum* como vetor, estudos em laboratório demonstraram que quando esse ixodídeo infectado com *R. rickettsii* é previamente alimentado em um hospedeiro, ao parasitar um próximo hospedeiro pode fazer a transmissão dessa bactéria em cerca de dez minutos (Saraiva et al. 2014). São altas as taxas (em torno de 60%) de casos fatais de FMB associadas à transmissão por *A. aureolatum* e nenhum padrão sazonal da doença pode ser observado para esse contexto epidemiológico (Angerami et al. 2012).

Apesar das populações de *A. aureolatum* estarem distribuídas em diversos locais do Brasil, em condições ambientais similares (habitações humanas próximas a áreas de Mata Atlântica e a presença de *A. aureolatum* infestando o cão), a distribuição de casos de FMB associados a esse ixodídeo parece estar restrita a região metropolitana de São Paulo (Pinter e Labruna 2006; Pinter et al. 2008), onde as regiões endêmicas para a doença são diferentes de locais não endêmicos pela presença de áreas menores e mais degradadas de Mata Atlântica, com baixa abundância e riqueza de vertebrados (Ogrzewalska et al. 2012; Scinachi et al. 2017).

É possível que ocorra variações na susceptibilidade de diferentes populações de carrapatos a patógenos (Estrada-Peña et al. 1996). Dessa forma, diferenças regionais na epidemiologia de doenças associadas a carrapatos, como a FMB, podem estar relacionadas ao comportamento do patógeno e a variações entre populações desse vetor (Gray 2002). Estudos de genética de populações de *A. aureolatum* podem fornecer informações sobre seu padrão reprodutivo (fluxo gênico), estruturação e expansão populacional, bem como gerar conhecimento referente à epidemiologia e auxiliar na vigilância da doença com a qual está relacionado (Araya-Anchetta et al. 2015). Entretanto, o conhecimento sobre a diversidade genética, estruturação populacional de *A. aureolatum* e a relação com os casos de FM ainda é escasso, com trabalho exclusivo para a região de São Paulo no Brasil (Ogrzewalska et al. 2016).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar a diversidade genética intraespecífica e infecção por riquetsias em populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* de diferentes biomas do Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

- Obter sequências parciais dos genes 16S rDNA, 12S rDNA, COII e da região D-loop do genoma mitocondrial de espécimes de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* provenientes de unidades federativas de diferentes biomas do Brasil.
- Realizar análises filogenéticas, filogeográficas e de estrutura populacional para as sequências obtidas de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum*.
- Pesquisar e identificar molecularmente riquetsias presentes em diferentes espécimes de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* estudados.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de estudo e amostragem

3.1.1 *Amblyomma cajennense sensu lato*

No período de 2005 a 2015, durante investigação e vigilância de casos de FM em diferentes unidades federativas e biomas do Brasil, foram coletados 461 espécimes de *Amblyomma cajennense sensu lato* (s.l.) (Tabela 4).

Tabela 4. Total de espécimes de *Amblyomma cajennense sensu lato* coletados, no período de 2005 a 2015, segundo os biomas, unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.

Bioma	Unidade Federativa	Município	Estádio
Caatinga	Ceará	Aratuba	1F, 1M
	Distrito Federal	Brasília	1N, 5F, 2M
Cerrado	Goiás	Goiânia	30F, 30M
		Jandaia	2F, 1M
		Indiara	1F
		Cavalcante	2N
		Inhumas	2M
		Minaçu	1N, 1M
	Minas Gerais	Padre Bernardo	1M
		Pedro Leopoldo	1N, 4F, 3M
		Belo Horizonte	9F
	Mato Grosso	Bom Despacho	1N
		Poxoréu	15F
	Mato Grosso do Sul	Cuiabá	1N, 3F, 10M
		Dois Irmãos do Buriti	1N, 1M
	Tocantins	Palmas	1N, 16F, 16M
		Porto Nacional	2F, 2M
Dueré		1F, 1M	
Monte do Carmo		2F, 2M	
Pium		5F, 4M	
Marianópolis do Tocantins		1N	
Espírito Santo	Guaçuí	1M	
	Ibatiba	7N, 5M	
	Pancas	11N, 3M	
	Vila Valério	1F, 6M	
	Reduto	2N	
	Minas Gerais	Juiz de Fora	5N, 6F, 4M
		Andirá	1N
		Cambará	1F
	Paraná	Dr. Camargo	1N
		Jacarezinho	1F, 1M
Porto Rico		7F, 6M	
Ribeirão Claro		1M	
São Carlos do Ivai		5F, 5M	
Mata Atlântica	Sertaneja	1N, 1M	
	Rio de Janeiro	2N, 6F, 11M	
	Itatiaia	2N, 1F	
	Petrópolis	5N, 14F, 16M	
	Paracambi	1M	
	Porto Real	1N	
	Resende	1M	
	Trajano de Moraes	17N, 4F, 1M	
	São José do Vale do Rio Preto	1N, 5F, 2M	
	Porciúncula	5N, 2F, 1M	
	Rio de Janeiro	Itaocara	6N
		Seropédica	1N, 3F, 3M
		Itaguaí	1N
		Mangaratiba	6N, 1M
		Mendes	12F, 8M
Rio Bonito		1N	
Saquarema		6N	
Piraí		1N	
Barra do Piraí		1N	
Volta Redonda		2F, 1M	
São Paulo	Amparo	4N	
	Campinas	22F, 11M	
	Paulínea	7M	
	Santo André	1F	
			98N, 189F, 174M
			461 espécimes

N, ninfa; F, fêmea; M, macho.

Esses ixodídeos foram coletados em 11 unidades federativas do país, correspondendo aos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Figura 2). As amostras analisadas do Rio de Janeiro (RJ) são referentes ao trabalho de Bitencourth et al. (2016), com as sequências obtidas no *GenBank* (Apêndice A). Essas áreas apresentam características diversas, que podem propiciar a existência de populações de carrapatos distintas e focos de FM que necessitam de informações sobre as formas de manutenção e transmissão de riquetsias.

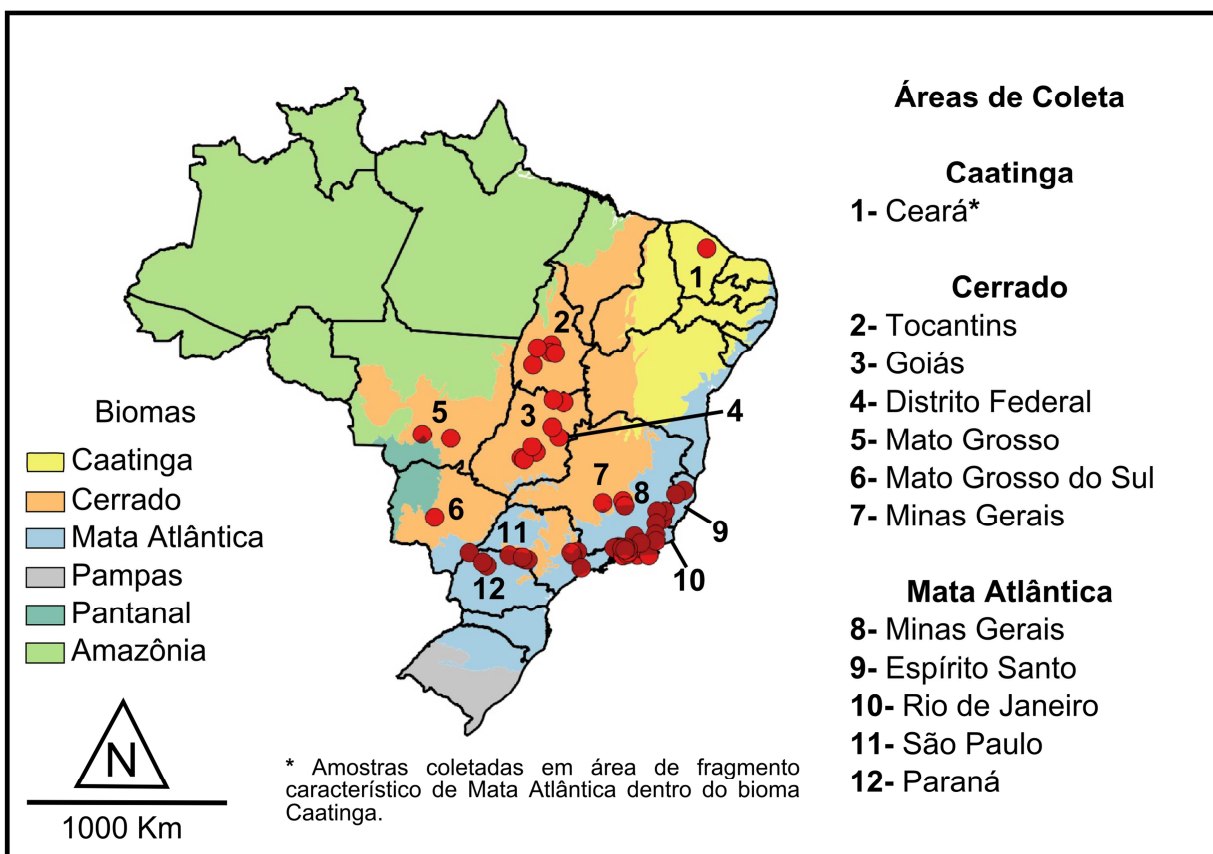


Figura 2. Mapa do Brasil com indicação (●) das áreas de coleta, de acordo com os biomas e unidades federativas do país, de *Amblyomma cajennense sensu lato* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos *OSM Land TF Outdoors*. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

As amostras coletadas no Ceará são provenientes da região do Maciço de Baturité. Essa região apresenta características particulares, incluindo uma série de áreas de floresta, que se assemelham à floresta de Mata Atlântica, dentro do bioma Caatinga. Assim, esta localidade é uma área excepcional em uma região de clima semi-árido, pois sua floresta de alta altitude, com alta umidade e condições de temperatura moderada, difere das áreas vizinhas (Tabarelli e Santos 2004; Andrade-Lima 2007; Santos et al. 2012b). Possivelmente, a ocorrência de variações

climáticas no Pleistoceno permitiu que a Mata Atlântica costeira penetrasse no domínio da Caatinga. Posteriormente, a floresta costeira voltou ao seu local de origem e as ilhas da Mata Atlântica permaneceram em locais com microclimas favoráveis, criando refúgios florestais de alta altitude para as espécies da Mata Atlântica no nordeste do Brasil, dentro do bioma Caatinga (Moerbeck et al. 2016).

3.1.2 *A. ovale*

No período de 2011 a 2015, durante investigação e vigilância de casos de FM em diferentes unidades federativas e biomas do Brasil, foram coletados 140 espécimes de *A. ovale* (Tabela 5).

Tabela 5. Total de espécimes de *Amblyomma ovale* coletados, no período de 2011 a 2015, segundo os biomas, unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.

Bioma	Unidade Federativa	Município	Estádio
Caatinga	Ceará	Pacoti	2F, 2M
		Guaramiranga	5F, 6M
		Baturité	2F, 4M
		Aratuba	9F, 16M
		Mulungu	3F, 8M
		Redenção	1F
Cerrado	Goiás	Goiânia	2F, 1M
Mata Atlântica	Paraná	Paranaguá	4F, 4M
	Rio de Janeiro	Paraty	4F, 20M
	Rio Grande do Sul	Igrejinha	1F
	Santa Catarina	Guaramirim	19F, 14M
		São José	1M
		Brusque	1F
		Joinville	2F, 2M
		Jacinto Machado	1F
		Florianópolis	5M
		Paulo Lopes	1M
Total			56F, 84M
			140 espécimes

F, fêmea; M, macho.

Esses carrapatos foram coletados em seis unidades federativas que contemplam três biomas do território brasileiro: Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (Figura 3).

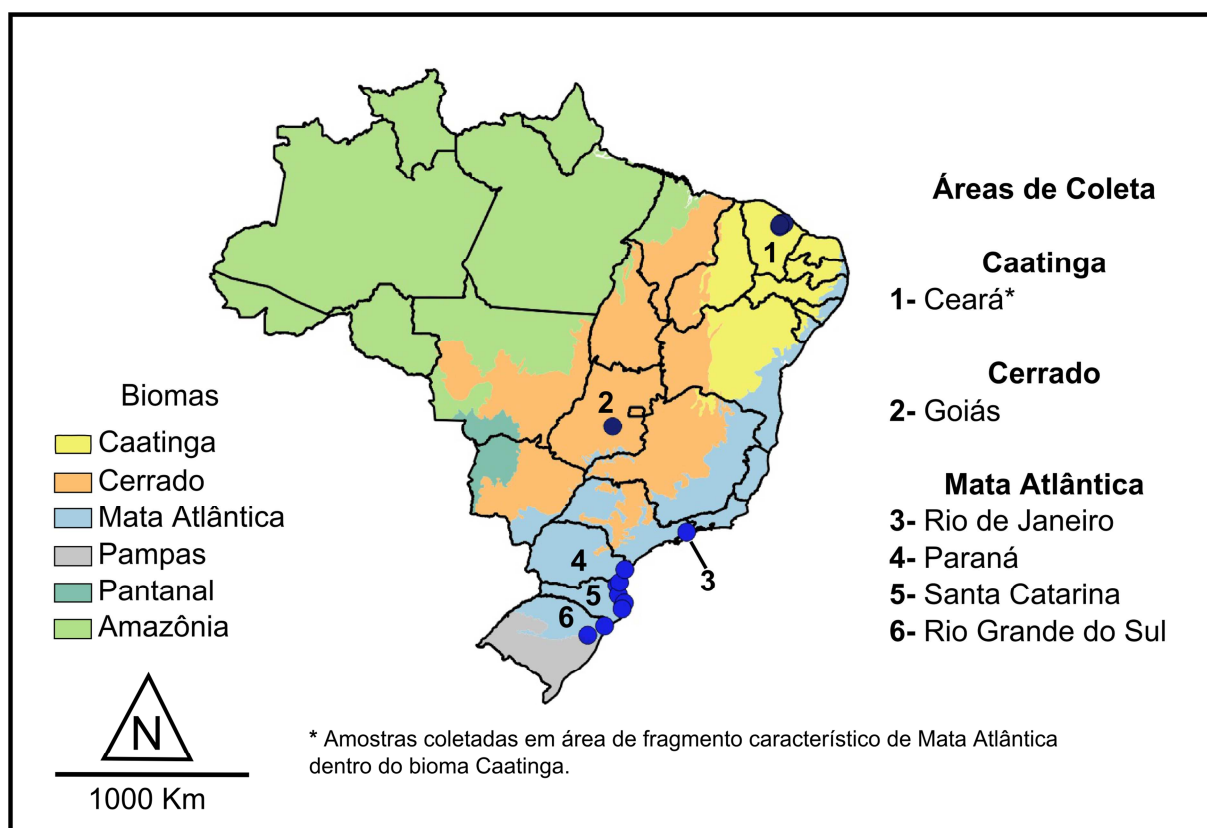


Figura 3. Mapa do Brasil com indicação (●) das áreas de coleta, de acordo com os biomas e unidades federativas do país, de *Amblyomma ovale* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos *OSM Land TF Outdoors*. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

3.1.3 *A. aureolatum*

No período de 2012 a 2015, durante investigação e vigilância de casos de FM em diferentes unidades federativas do bioma Mata Atlântica no Brasil, onde *A. aureolatum* é comprovadamente vetor do bioagente da FMB e em áreas onde isso não ocorre, foram coletados 96 espécimes desse ixodídeo (Tabela 6).

Esses carrapatos foram coletados em cinco unidades federativas do bioma Mata Atlântica (Figura 4). Desses locais, apenas em parte da região metropolitana do estado de SP (incluindo o município de Santo André, de onde são procedentes os espécimes analisados no presente estudo) *A. aureolatum* é considerado vetor de *R.*

rickettsii. Nos outros locais, apesar da presença desse vetor, ainda não houve a detecção do bioagente da FMB nesse ixodídeo.

Tabela 6. Total de espécimes de *Amblyomma aureolatum* coletados, no período de 2012 a 2015, no bioma Mata Atlântica segundo as unidades federativas e municípios do Brasil, submetidos aos estudos de biologia molecular.

Unidade Federativa	Município	Estádio
Paraná	Irati	1F
Rio de Janeiro	Itatiaia	1M
	Petrópolis	11F, 5M
Rio Grande do Sul	Viamão*	1F
	São Francisco de Paula	1F, 4M
	Erechim	1M
	Canela	1M
Santa Catarina	Igrejinha	6F, 11M
	Lages	2F, 4M
	Joinville	2F, 1M
	Jacinto Machado	3F, 2M
	Balneário Piçarras	1M
	Florianópolis	1M
	Jaraguá do Sul	1M
Tijucas	1M	
São Paulo	Santo André	25F, 10M
Total		52F, 44M
		96 espécimes

F, fêmea; M, macho.

*Área de transição entre os biomas Mata Atlântica e Pampas.

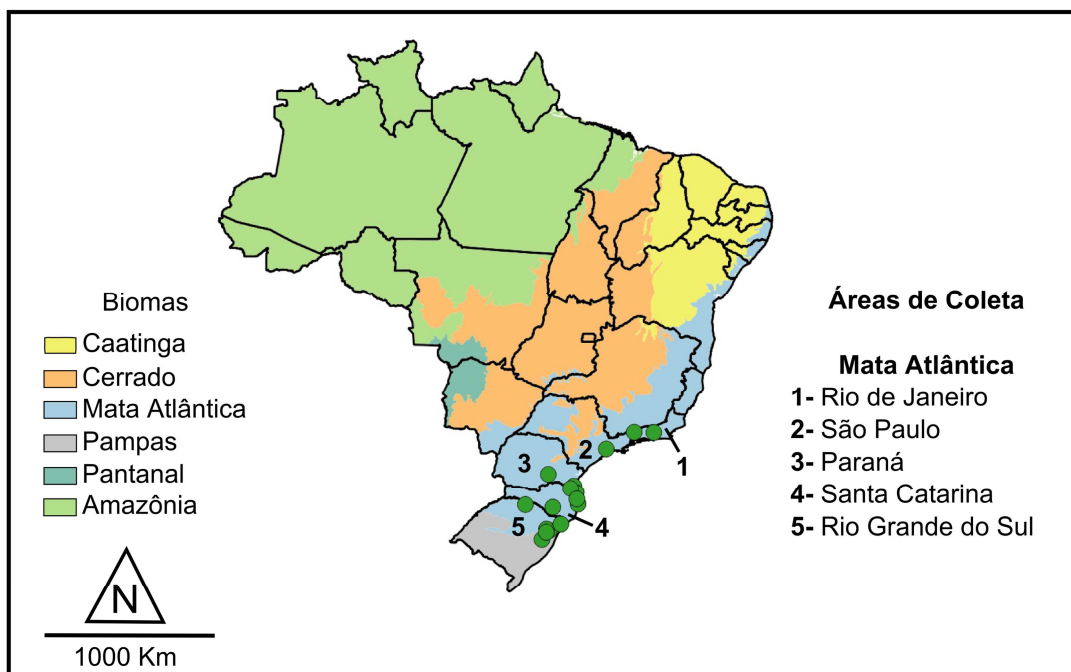


Figura 4. Mapa do Brasil com indicação (●) das unidades federativas de coleta, no bioma Mata Atlântica, dos espécimes de *Amblyomma aureolatum* analisados no presente estudo. O mapa foi elaborado no programa QGIS, utilizando os recursos OSM Land TF Outdoors. As delimitações das unidades federativas e biomas foram extraídas do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

3.2 Coleta dos carrapatos

As coletas desse artrópode foram realizadas durante a investigação e a vigilância de casos de FM em áreas com casos suspeitos ou confirmados da doença, pelas equipes das Secretarias Estaduais de Saúde de cada unidade federativa do país analisada.

A busca e coleta desses vetores foram realizadas nos ambientes (domicílio, peridomicílio e em áreas de borda de mata) e nos hospedeiros residentes no local provável de infecção (LPI). Nos hospedeiros (*A. cajennense* s.l.- bovinos, caninos, equinos, felinos, humanos, roedores, suínos e tapirídeos; *A. ovale*- caninos, felinos, humanos e quati; e *A. aureolatum*- caninos, bovinos, felinos, humanos e quati; Apêndice B), os ixodídeos foram retirados por torção contínua em torno do próprio eixo longitudinal do idiossoma. No ambiente, a coleta foi realizada pela técnica de arrasto de flanela, armadilha de gelo seco (CO₂) e busca ativa (Sonenshine 1993). As unidades amostrais de coleta foram constituídas por espécimes oriundos de um mesmo hospedeiro ou ambiente.

Os carrapatos coletados foram acondicionados em tubos plásticos estéreis contendo isopropanol P.A., e encaminhados ao Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses (LIRN), do Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ/ RJ, juntamente com as fichas de coleta das amostras. No LIRN, seguindo o fluxo de recebimento de amostras de vetores da Referência, esses ixodídeos foram triados, identificados taxonomicamente através de morfologia e submetidos a estudos de biologia molecular.

3.3 Identificação morfológica dos carrapatos coletados

As amostras de ixodídeos foram identificadas seguindo o Procedimento Operacional Padrão para a Identificação Taxonômica de Vetores das Riquetsioses (POP- LIRN- 017), elaborado e implementado no LIRN. Para isso, foram utilizados estereomicroscópio, chaves dicotômicas e descrições de Martins et al. (2010; 2016a) para ninfas, Aragão e Fonseca (1961), Barros-Battesti et al. (2006) e Nava et al. (2014) para adultos. Amostras de larvas não foram incluídas no trabalho porque, em geral, precisam ser molecularmente analisadas em *pool* e o atual estudo prioriza analisar espécimes individualmente.

3.4 Estudos de biologia molecular

Para os estudos de biologia molecular, as 461 amostras de *A. cajennense s.l.*, as 140 amostras de *A. ovale* e as 96 amostras de *A. aureolatum* foram individualmente analisadas (Tabelas 4-6).

3.4.1 Extração de DNAg

Todas as amostras de carrapato foram submetidas à extração total de DNA genômico (DNAg). Inicialmente os ixodídeos foram triturados em banho de N₂, e em seguida submetidos à extração total de DNAg através da técnica de extração por sal NaCl (Aljanabi e Martinez 1997). O DNAg extraído foi armazenado a – 20°C até a amplificação pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR- do inglês *Polymerase Chain Reaction*).

3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

3.4.2.1 Identificação molecular, análise filogenética e estudo da diversidade genética intraespecífica dos carrapatos

Para a identificação molecular, análise filogenética e estudo da diversidade genética intraespecífica dos espécimes de *A. cajennense s.l.*, *A. ovale* e *A. aureolatum* coletados, todas as amostras foram submetidas à PCR para amplificação de sequências parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA, COII e da região D-loop. Adicionalmente, para a identificação molecular e um melhor entendimento das relações filogenéticas entre *A. ovale* de diferentes locais do país e das Américas, algumas amostras de cada população estudada dessa espécie foram escolhidas, aleatoriamente, para a amplificação de fragmento do gene mitocondrial 16S rDNA. Esse marcador foi utilizado por ser o que tem mais sequências de *A. ovale* disponíveis no *GenBank*. Entretanto, ele não apresenta variabilidade intraespecífica adequada para utilização em estudos populacionais (Paternina et al. 2016). Para a PCR, foram utilizados iniciadores (Tabela 7) e protocolos de amplificação previamente descritos na literatura (Mangold et al. 1998; Bitencourth et

al. 2016) (Tabela 8). Como controle negativo, em todas as reações, foi utilizada água Milli-Q livre de DNA.

Tabela 7. Iniciadores utilizados na amplificação de sequências parciais dos genes e da região mitocondrial analisados de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*.

Gene/ Região	Pares de Iniciadores	Sequência de nucleotídeos	Tamanho aproximado do produto amplificado	Referência
12S rDNA	T2A T1B	5'-AAAGAGTGACGGCGGATATGT-3' 5'-AAACTAGGATTAGATACCCT-3'	340 pb	Beati e Keirans 2001
16S rDNA	16S+1 16S-1	5'-CCGGTCTGAAGTCAAGT-3' 5'-GCTCAATGATTTTTAAATTGCTGT-3'	460 pb	Mangold et al. 1998
D-loop	Dloop3-1x Dloop4-1x	5'-TAACCGCTGCTGCTGGCACA-3' 5'-TAACCCCTTTATTCAGGCAT-3'	440 pb	Burkman 2009
Citocromo oxidase subunidade II	Ac COXII F Ac COXII R	5'-AATGTGTGRTTWTARTCGNCTGGRA-3' 5'-AAATTCWCCHATYATRSARCAAT-3'	501 pb	Bitencourth et al. 2016

Tabela 8. Composição do mix e ciclos de amplificação da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) dos genes e da região mitocondrial analisados de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*, de acordo com Mangold et al. (1998) e Bitencourth et al. (2016).

	12S rDNA	D-loop	Citocromo Oxidase subunidade II	16S rDNA
MIX DA PCR	dH ₂ O q.s.p. 25,00µL 10X Taq Buffer 2,50µL 25 mM MgCl ₂ 1,50µL Primer T1B 0,20 µM Primer T2A 0,20 µM dNTP 10mM 0,50µL Taq DNA Polimerase ¹ 1,00 U Amostra 40 ng	dH ₂ O q.s.p. 25,00µL 10X PCR Buffer Menos Mg 2,50µL 50 mM MgCl ₂ 1,50µL Primer Dloop3-1x 0,20 µM Primer Dloop4-1x 0,20 µM dNTP 10mM 0,50µL Platinum Taq DNA Polimerase ² 1,00 U Amostra 40 ng	dH ₂ O q.s.p. 25,00µL 10X High Fidelity PCR Buffer 2,50µL 25 mM MgCl ₂ 1,50µL Primer Ac COXII F 0,20 µM Primer Ac COXII R 0,20 µM dNTP 10mM 0,50µL High Fidelity PCR Enzyme ³ 1,25 U Amostra 40 ng	dH ₂ O q.s.p. 25,00µL 10X PCR Buffer Menos Mg 2,50µL 50 mM MgCl ₂ 0,80µL Primer 16S+1 0,20 µM Primer 16S-1 0,20 µM dNTP 10mM 0,50µL Platinum Taq DNA Polimerase ² 1,00 U Amostra 40 ng
CICLOS DE AMPLIFICAÇÃO DA PCR	Desnaturação Inicial 5 min à 94°C 5 Ciclos de: Desnaturação por 25s à 94°C Anelamento por 35s à 50°C Alongamento por 30s à 68°C 30 Ciclos de: Desnaturação por 25s à 94°C Anelamento por 30s à 53°C Alongamento por 30s à 70°C Alongamento Final por 5 min à 70°C 4°C ∞	Desnaturação Inicial 5 min à 94°C 8 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 94°C Anelamento por 25s à 65°C (-1,5°C/ Ciclo) Alongamento por 45s à 72°C 10 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 94°C Anelamento por 30s à 53°C (-0,4°C/ Ciclo) Alongamento por 45s à 70°C (-0,2°C/ Ciclo) 17 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 94°C Anelamento por 35s à 51°C Alongamento por 40s à 69°C Alongamento Final por 5 min à 69°C 4°C ∞	Desnaturação Inicial 5 min à 93°C 5 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 93°C Anelamento por 30s à 55°C (-1,0°C/ Ciclo) Alongamento por 1 min à 72°C (-0,2°C/ Ciclo) 20 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 93°C Anelamento por 45s à 50°C (-0,5°C/ Ciclo) Alongamento por 45s à 70°C (-0,4°C/ Ciclo) 20 Ciclos de: Desnaturação por 20s à 93°C Anelamento por 55s à 40°C Alongamento por 1 min à 67°C Alongamento Final por 5 min à 67°C 4°C ∞	Desnaturação Inicial 2 min à 94°C 7 Ciclos de: Desnaturação por 45s à 94°C Anelamento por 45s à 48°C (+ 0,3 °C/ Ciclo) Alongamento por 45s à 72°C 21 Ciclos de: Desnaturação por 45s à 94°C Anelamento por 45s à 50°C Alongamento por 45s à 72°C Alongamento Final por 10 min à 72°C 4°C ∞

q.s.p., quantidade suficiente para; min, minutos; s, segundos; ∞, infinito.

¹- Taq DNA Polimerase- Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA.

²- Platinum Taq DNA Polimerase- Invitrogen- Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA.

³- High Fidelity PCR Enzyme Mix- Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA.

3.4.2.2 Pesquisa de riquétsia

Todas as amostras desses ixodídeos também foram submetidas à pesquisa de riquétsias através da PCR. Essa busca foi realizada utilizando os genes citrato

sintase (*gltA*), o gene da proteína externa de membrana A (*ompA*- do inglês *outer membrane protein A*), o gene da proteína de superfície de 17 kilodaltons (*htrA*), o gene da proteína externa de membrana B (*ompB*- do inglês *outer membrane protein B*) e o Gene D/ antígeno de superfície celular 4 (*sca4*- do inglês *surface cell antigen 4*). Nessas ampliações foram empregados oligonucleotídeos (Tabela 9) e protocolos de amplificação (Tabela 10) disponíveis na literatura. Em todas as reações foi utilizado como controle positivo DNA de *R. rickettsii*, e água Milli-Q livre de DNA como controle negativo.

Tabela 9. Iniciadores utilizados para a pesquisa de riquetsias nas amostras de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum* analisadas e respectivas referências.

Gene	Iniciador	Sequência de nucleotídeo (5'-3')	Fragmento (pb)	Referência		
<i>gltA</i>	CS2-78	5'-GCAAGTATCGGTGAGGATGTAAT-3'	401	Labruna et al. 2004b		
	CS2-323	5'-GCTTCCTTAAAATTCATAAATCAGGAT-3'				
<i>Rickettsia</i> sp. (Gênero específico)	Gene D	D1738f	5'-GTATCTGAATTAAGCAATGCG-3'	744	Sekeyova et al. 2001	
		D2482r	5'-CTATAACAGGATTAACAGCG-3'			
	<i>htrA</i> (PCR nested)	1 ^o round	17k-5	5'-GCTTTACAAAATTCTAAAAACCATATA-3'	549	Labruna et al. 2004c
			17k-3	5'-TGTCTATCAATTCACAACTTGCC-3'		
	2 ^o round	17Kd1	5'-GCTCTTGCAACTTCTATGTT-3'	434	Webb et al. 1990	
		17Kd2	5'-CATTGTTCTGTCAGGTTGCG-3'			
<i>Rickettsia</i> sp. GFM + GT	<i>ompB</i>	<i>ompB</i> 3064-F <i>ompB</i> 4271-R	5'-GGTATAGCCGGAATAGGTTTTGACG-3' 5'-TCAGTTTTAGTGATACCGATAGCAGC-3'	1200	Nunes et al. 2015	
<i>Rickettsia</i> sp. GFM	<i>ompA</i>	<i>Rr</i> 190.70p <i>Rr</i> 190.602n	5'-ATGGCGAATATTTCTCCAAAA-3' 5'-AGTGCAGCATTTCCTCCCCT-3'	532	Regnery et al. 1991	

GFM, Grupo Febre Maculosa; GT, Grupo Tifo.

As ampliações através da PCR, dos marcadores mitocondriais dos carrapatos e dos genes de riquetsias, foram realizadas no termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (Applied Biosystems, Carlsbad, Califórnia, EUA).

3.4.3 Eletroforese

Após a amplificação, de cada gene, as amostras foram submetidas à eletroforese (89 volts por 90 minutos) em gel de agarose 2%, coradas por brometo de etídio (Sambrook e Russell 2001).

Tabela 10. Composição do mix e ciclos de amplificação da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) dos genes utilizados na pesquisa de riquetsias nas amostras de *Amblyomma cajennense sensu lato*, *Amblyomma ovale* e *Amblyomma aureolatum*.

	<i>gltA</i>		<i>Gene D (sca4)</i>		<i>htrA</i>		<i>ompA</i>		<i>ompB</i>	
MIX DA PCR	dH ₂ O	q.s.p. 25,00µL	dH ₂ O	q.s.p. 25,00µL	dH ₂ O	q.s.p. 25,00µL	dH ₂ O	q.s.p. 25,00µL	dH ₂ O	q.s.p. 25,00µL
	10X <i>Taq Buffer</i>	2,50µL	10X PCR <i>Buffer</i> Menos Mg	2,50µL	10X PCR <i>Buffer</i> Menos Mg	2,50µL	10X PCR <i>Buffer</i> Menos Mg	2,50µL	10X <i>Taq Buffer</i>	2,50µL
	25 mM MgCl ₂	0,80µL	50 mM MgCl ₂	0,80µL	50 mM MgCl ₂	0,80µL	50 mM MgCl ₂	0,80µL	25 mM MgCl ₂	0,80µL
	<i>Primer CS2-78</i>	0,20 µM	<i>Primer Gene D 1738F</i>	0,20 µM	<i>Primer 17k-3</i>	0,20 µM	<i>Primer 17Kd1</i>	0,20 µM	<i>Primer Rr 190.70p</i>	0,20 µM
	<i>Primer CS2-323</i>	0,20 µM	<i>Primer Gene D 2482R</i>	0,20 µM	<i>Primer 17k-5</i>	0,20 µM	<i>Primer 17Kd2</i>	0,20 µM	<i>Primer Rr 190.602n</i>	0,20 µM
	dNTP 10mM	0,50µL	dNTP 10mM	0,50µL	dNTP 10mM	0,50µL	dNTP 10mM	0,50µL	dNTP 10mM	0,50µL
	<i>Taq DNA Polimerase</i> ¹	1,00 U	Platinum <i>Taq DNA Polimerase</i> ²	1,00 U	Platinum <i>Taq DNA Polimerase</i> ²	1,00 U	Platinum <i>Taq DNA Polimerase</i> ²	1,00 U	<i>Taq DNA Polimerase</i> ¹	1,00 U
	Amostra	60 ng	Amostra	60 ng	Amostra	60 ng	Amostra	60 ng	Amostra	60 ng
CICLOS DA PCR	Desnaturação Inicial 3 min à 95°C		Desnaturação Inicial 3 min 30s à 94°C		Desnaturação Inicial 3 min à 94°C		Desnaturação Inicial 3 min à 94°C		Desnaturação Inicial 5 min à 95°C	
	40 Ciclos de:		40 Ciclos de:		35 Ciclos de:		35 Ciclos de:		35 Ciclos de:	
	Desnaturação por 15s à 95°C		Desnaturação por 30s à 94°C		Desnaturação por 45s à 94°C		Desnaturação por 45s à 94°C		Desnaturação por 40s à 95°C	
	Anelamento por 30s à 48°C		Anelamento por 30s à 54°C		Anelamento por 60s à 56°C		Anelamento por 30s à 56°C		Anelamento por 30s à 54°C	
	Alongamento por 30s à 72°C		Alongamento por 90s à 72°C		Alongamento por 90s à 72°C		Alongamento por 90s à 72°C		Alongamento por 45s à 65°C	
	Alongamento Final por 7 min à 72°C		Alongamento Final por 7 min à 72°C		Alongamento Final por 10 min à 72°C		Alongamento Final por 10 min à 72°C		Alongamento Final por 10 min à 72°C	
12°C ∞		12°C ∞		12°C ∞		12°C ∞		12°C ∞		

q.s.p., quantidade suficiente para; min, minutos; s, segundos; ∞, infinito.

¹. *Taq DNA Polimerase*- Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA.

². Platinum *Taq DNA Polimerase*- Invitrogen- Thermo Fisher Scientific™, Waltham, MA, EUA.

Posteriormente, os géis foram examinados em scanner de gel, com luz ultravioleta, para a observação dos fragmentos de DNA amplificados. Imagens digitais de cada gel foram geradas e arquivadas utilizando o equipamento MiniBis Pro (DNR Bio- Imaging Systems Ltd., Jerusalém, Israel).

Todos os produtos da PCR (*amplicons*) obtidos correspondendo ao tamanho de DNA esperado, para cada gene, foram selecionados para purificação e sequenciamento.

3.4.4 Purificação dos produtos da PCR e sequenciamento

A purificação dos produtos da PCR foi realizada com o kit *Wizard® SV Gel and PCR Clean up System* (Promega, Corp., Madison, WI, EUA), de acordo com o manual do fabricante, para posterior sequenciamento de DNA.

O sequenciamento do DNA foi realizado na Plataforma de sequenciamento de DNA (PDTIS) da FIOCRUZ/ RJ. As reações de sequenciamento foram executadas utilizando o BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, Califórnia, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante. Nessas reações foram empregados os mesmos iniciadores utilizados na PCR para determinação das sequências em ambas as direções (3'- 5' e 5'- 3'). Posteriormente, as amostras foram precipitadas, ressuspendidas em formamida e aplicadas em sequenciador automático ABI 3730 (Applied Biosystems, Carlsbad, Califórnia, EUA) para leitura das sequências.

Todos os haplótipos das sequências de carrapatos e riquétsias foram depositadas no *GenBank* (Apêndices B e C).

3.5 Análise de dados das sequências de nucleotídeos

3.5.1 Edição, identificação e alinhamento das sequências de DNA

Todas as sequências obtidas, para cada gene, foram editadas manualmente e as sequências consenso geradas no programa ChromasPro 1.5 (Technelysium Pty Ltd, Tewantin, Qld, Austrália). Inicialmente as sequências de DNA foram identificadas por avaliação de similaridade, através de análise comparativa com as

sequências depositadas no *GenBank*, com auxílio do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*).

As sequências obtidas de cada gene foram automaticamente alinhadas através do algoritmo de alinhamento múltiplo ClustalW (Thompson et al. 1994), disponível no programa MEGA 6.0 (Tamura et al. 2013). Todos os alinhamentos foram inspecionados manualmente e os genes codificantes de proteínas foram traduzidos para aminoácidos para verificar a existência de pseudogenes e confirmar a existência de homologia, onde nenhum códon de parada foi observado.

3.5.2 Análise de dados de genética de populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum*

As análises de genética de populações foram realizadas apenas para as sequências de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum*, separadamente para cada gene em cada espécie. As populações de cada espécie de ixodídeo foram definidas de acordo com as unidades federativas do Brasil onde foram realizadas as coletas dessas amostras.

Para cada gene foram criados arquivos contendo os alinhamentos, com as sequências separadas por populações. Esses arquivos foram submetidos a análises estatísticas das sequências no programa Arlequin versão 3.0 (Excoffier e Lischer 2010). Foram definidos os haplótipos e ainda parâmetros básicos de variação genética, representados pelo número de sítios polimórficos (s), número de haplótipos (n), diversidade haplotípica (h) e nucleotídica (nd), e o número médio de diferenças nucleotídicas (k).

Para testar a hipótese de mutação neutra e equilíbrio populacional, as populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* foram analisadas através dos testes de neutralidade: D de Tajima (Tajima 1989) e F_s de Fu (Fu 1997), no programa Arlequin, e a partir do teste R_2 de Ramos-Onsins e Rozas (Ramos-Onsins e Rozas 2002) no programa DnaSP versão 5 (Librado e Rozas 2009). Todos os testes foram calculados a partir de 1000 gerações aleatórias de amostras.

Valores de estruturação F_{ST} de Wright (1951), estimados par a par para as populações de cada espécie, foram calculados para avaliar a diferenciação molecular entre as populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* analisadas. O teste de Mantel (Mantel 1967) foi realizado considerando as matrizes de distância genética par a par (F_{ST}) e geográfica (obtidas através do *Google Earth*) de cada

espécie de ixodídeo estudada. A análise de variância molecular (AMOVA) (Excoffier et al. 1992) foi realizada para detectar a diferenciação genética entre as populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* analisadas do Brasil. Todas essas análises também foram executadas no programa Arlequin, cada uma com 1000 réplicas. Posteriormente, no teste de F_{ST} foi realizada a correção de múltiplos testes de Bonferroni (1936).

Adicionalmente, nos testes de F_{ST} e AMOVA além das análises realizadas nas populações, foram estabelecidos níveis hierárquicos supra-populacionais (entre populações) que foram denominados de “Grupos de Populações”, organizados da seguinte forma: *A. sculptum*- Grupo I com amostras do Cerrado (Distrito Federal- DF, Mato Grosso- MT, Tocantins- TO, Mato Grosso do Sul- MS, Goiás- GO e Minas Gerais-MG- Cerrado), Grupo II com amostras da Mata Atlântica (Espírito Santo- ES, São Paulo- SP, Paraná- PR, Rio de Janeiro-RJ e Minas Gerais- MG- Mata Atlântica) e Grupo III com amostras da Caatinga (Ceará- CE); *A. ovale*- Grupo I com amostras da Mata Atlântica (Paraná- PR, Rio de Janeiro- RJ, Rio Grande do Sul- RS e Santa Catarina- SC), Grupo II com amostras da Caatinga (Ceará- CE) e Grupo III com amostras do Cerrado (Goiás- GO); e *A. aureolatum*- Grupo I com amostras de unidades federativas do Brasil onde *A. aureolatum* não é apontado como vetor do bioagente causador da FMB (Paraná- PR, Santa Catarina- SC, Rio de Janeiro- RJ e Rio Grande do Sul- RS) e Grupo II com amostras de unidade federativa onde *A. aureolatum* é apontado como vetor do bioagente causador da FMB (São Paulo- SP). Esses níveis hierárquicos foram estabelecidos para verificar se há diferenciação genética e estruturação populacional entre os diferentes grupos (biomas- *A. sculptum* e *A. ovale*; cenário epidemiológico da FM- *A. aureolatum*) de populações de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* analisados. Assim sendo, a partir da AMOVA também foram calculados índices da Estatística Φ (Excoffier et al. 1992; Excoffier 2001): Φ_{CT} - entre grupos populacionais, Φ_{SC} - entre subpopulações/ dentro dos grupos e Φ_{ST} - entre todas as subpopulações.

Para a análise filogeográfica de cada espécie, as relações entre os haplótipos foram investigadas pela construção de redes de haplótipos, para cada marcador, utilizando o algoritmo *median-joining* no programa Network versão 5.0.0.0 (Bandelt et al. 1999).

3.5.3 Distância evolutiva em *A. ovale*

Foi calculada a distância evolutiva par a par, para as sequências dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, entre diferentes espécies de carrapatos (sequências obtidas no *GenBank*) e os haplótipos de *A. ovale* identificados no presente trabalho. Essas análises foram realizadas no programa MEGA 6.0 (Tamura et al. 2013) e os modelos evolutivos utilizados nesses cálculos foram indicados pelo mesmo programa (através do *Bayesian Information Criterion*) (12S rDNA e D-loop- T92+G, COII- TN93+G+I). Foi empregado o teste de *bootstrap* (Felsenstein 1985) com 1000 réplicas em cada análise.

3.5.4 Análises filogenéticas dos carrapatos e das riquetsias

Para analisar as relações entre os haplótipos de *A. sculptum* do Brasil, da Argentina e outras espécies do complexo *A. cajennense*, foram realizadas análises filogenéticas para as sequências dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, geradas no atual trabalho e sequências disponíveis no *GenBank* (Apêndices A e B).

A fim de investigar as relações entre as amostras de *A. ovale* coletadas em diferentes locais do Brasil no presente estudo (para os genes 12S rDNA, COII e D-loop) e também amostras dessa espécie de outras regiões do país e de outros locais das Américas (para o gene 16S rDNA) foram realizadas análises filogenéticas para as sequências dos genes mitocondriais estudados. Para isso, foram utilizadas sequências geradas no atual trabalho e sequências disponíveis no *GenBank* que especificavam a procedência geográfica da amostra (Apêndice B).

Em *A. aureolatum*, para investigar as relações entre os espécimes estudados desse ixodídeo dos diferentes contextos epidemiológicos da FM no Brasil, foi realizada análise filogenética concatenada para as sequências obtidas dos genes mitocondriais 12S rDNA, COII e da região D-loop (Apêndice B).

Nas análises concatenadas, o programa SeaView (Gouy et al. 2010) foi utilizado para concatenar os alinhamentos dos genes investigados. Para cada espécie de carrapato estudada as inferências filogenéticas, através de análise de máxima verossimilhança, foram realizadas no programa PhyML 3.0 (Guindon et al. 2010) utilizando o modelo evolutivo (através do *Bayesian Information Criterion*) indicado pelo programa MEGA 6.0 (Tamura et al. 2013) (*A. sculptum*- T92+G para o 12S rDNA e D-loop, e o HKY+G para o COII; *A. ovale*- T92+G para a análise

concatenada do 12S rDNA+ D-loop+ COII, e T92+I para o 16S rDNA; e *A. aureolatum*- T92+G para a análise concatenada do 12S rDNA+ D-loop+ COII) que melhor se ajustava ao conjunto de dados analisados. Valores de apoio estatístico dos ramos internos foram estimados com o teste *aLRT* (*approximate likelihood ratio test*) com 1000 réplicas (Anisimova e Gascuel 2006).

Para aprofundar o conhecimento de identificação das riquetsias detectadas em *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* foi realizada reconstrução filogenética concatenada [*A. sculptum*- para os genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e Gene D (*sca4*) com modelo evolutivo GTR+G; *A. ovale*- para os genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB* com modelo evolutivo GTR+G; e *A. aureolatum*- para os genes *gltA* e *htrA* com modelo evolutivo T92+G] para as sequências de riquetsias obtidas em cada espécie de carrapato estudada. Nas inferências filogenéticas das riquetsias foram empregadas as mesmas análises e critérios aplicados nas reconstruções filogenéticas dos carrapatos. Para essas análises, foram utilizadas sequências de riquetsias do *GenBank* e sequências detectadas no presente trabalho (Apêndice C).

4 RESULTADOS

4.1 Confirmação molecular da identificação dos carrapatos

4.1.1 *A. cajennense s.l.*

Os 461 espécimes de *A. cajennense s.l.* submetidos às técnicas moleculares geraram 262 sequências para o gene 12S rDNA (389 pb), 253 sequências para o COII (485 pb) e 215 sequências para a região D-loop (447 pb). O algoritmo BLASTN indicou a presença de quatro amostras para o COII e uma sequência para o D-loop de *A. cajennense s.s.* com 99% similaridade (*GenBank* KF527358 e KF787610). Todas as outras amostras tiveram altos valores de similaridade (97-100%) com sequências de *A. sculptum* depositadas no *GenBank* (EU791609, EU791610, JX573118, KX622791, KF787611, KF787613, KF787616, KF787619 e KF787621).

4.1.2 *A. ovale*

Dos 140 espécimes de *A. ovale* submetidos aos estudos moleculares foram obtidas 128 sequências para o gene 12S rDNA (367 pb), 81 sequências para o COII (473 pb), 11 sequências para o 16S rDNA (409 pb) e 94 sequências para a região D-loop (455 pb). O algoritmo BLASTN, com base nas sequências do 12S rDNA e 16S rDNA (dos marcadores utilizados, são os únicos com sequências de *A. ovale* disponíveis no *GenBank*), apresentou valores de similaridade entre 97-99% com sequências de *A. ovale* do Brasil (SC, PR, RS e SP) depositadas no *GenBank* (AY342273, KR605466, KU894377- 79, KU894382, KU894384, KU894386 e KX137898).

4.1.3 *A. aureolatum*

As 96 amostras de *A. aureolatum* que foram submetidas às técnicas moleculares geraram 66 sequências para o gene 12S rDNA (372 pb), 39 sequências para o COII (485 pb) e 82 sequências para a região D-loop (447 pb). A identificação molecular de sequências do marcador 12S rDNA (dos genes utilizados, é o único com sequências disponíveis no *Genbank* para essa espécie de ixodídeo), através de

buscas utilizando o algoritmo BLASTN, permitiu observar amostras com identidade de 99-100% com sequências de *A. aureolatum* do Brasil (*GenBank* AY277248 e AY277249).

4.2 Genética de populações dos carrapatos

4.2.1 Análises intrapopulacionais em *A. sculptum*

4.2.1.1 Diversidade genética de *A. sculptum* no Brasil

No total, 19, 47 e 38 haplótipos dessa espécie foram identificados com base nas variações das sequências dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, respectivamente. Como apenas duas sequências foram obtidas para as populações do MS (em todos os marcadores), MG- Mata Atlântica (D-loop) e CE (12S rDNA) os dados estatísticos referentes a essas sequências têm que ser interpretados com cautela pois podem não representar toda a diversidade dessas populações de *A. sculptum*.

Dos 19 haplótipos (hI-hXIX) do gene 12S rDNA não houve nenhum compartilhado por todas as populações. Entretanto, o hI (40,08%) (DF, MT, MS, GO, TO, ES, SP e RJ), hII (18,71%) (DF, GO, TO, SP, PR, CE e RJ) e hVII (18,32%) (ES, MG- Cerrado, MG- Mata Atlântica, CE e RJ) foram os haplótipos mais frequentes e amplamente encontrados entre as diferentes populações de *A. sculptum* analisadas. As populações de *A. sculptum* do MT (hIII), TO (hIV), GO (hV), SP (hVIII, hX e hXI), PR (hXII-hXIV), MG- Cerrado (hXV e hXVII) e RJ (hXIX) possuem haplótipos exclusivos e de baixa frequência, em geral (Tabela 11).

A diversidade haplotípica variou de <0,001 (MS) a 1,000 (CE), enquanto a diversidade nucleotídica foi de <0,0001 (MS) a 0,0404 (CE). Dos 389 nucleotídeos analisados, o maior número de sítios polimórficos observados foi para o RJ (14) e o menor para o DF e MT (um). A população do MS não apresentou sítios polimórficos. Comumente, as populações de *A. sculptum* coletadas em área de Mata Atlântica apresentaram os maiores valores nos índices supracitados (Tabela 12).

Tabela 11. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Bioma	População	Ns	Haplótipos 12S rDNA (389 pb)																		
			hI	hII	hIII	hIV	hV	hVI	hVII	hVIII	hIX	hX	hXI	hXII	hXIII	hXIV	hXV	hXVI	hXVII	hXVIII	hXIX
Cerrado	Distrito Federal	9	2	7																	
	Mato Grosso	20	14		6																
	Mato Grosso do Sul	2	2																		
	Goiás	30	6	22		2															
	Tocantins	15	13	1		1															
Mata Atlântica	Minas Gerais (Cerrado)	14							10							1	1	1	1		
	Espírito Santo	27	20					6	1												
	São Paulo	27	1	1				20		1	2	1	1								
	Paraná	19		10				5			1			1	1	1					
	Minas Gerais (Mata Atlântica)	16																1		3	
Caatinga	Rio de Janeiro	81	47	7																1	2
	Ceará	2		1						1											
Total		262	105	49	6	1	2	31	48	1	3	1	1	1	1	1	1	2	1	5	2
Frequência (%)		100,00	40,08	18,71	2,29	0,38	0,76	11,84	18,32	0,38	1,15	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,76	0,38	1,91	0,76

Ns = número de sequências.

Tabela 12. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Gene/ Região	Bioma	População	Tamanho amostral	n	s	k ± SD	h ± SD	nd ± SD	F _s de Fu (valor do P)	D de Tajima (valor do P)	R ₂ (valor do P)	
12S rDNA	Mata Atlântica	Espírito Santo	27	3	9	3,33 ± 1,76	0,416 ± 0,095	0,0089 ± 0,0053	6,148 (0,98)	1,268 (0,93)	0,173 (0,88)	
		Minas Gerais- Mata Atlântica	16	3	2	0,45 ± 0,42	0,425 ± 0,133	0,0012 ± 0,0012	-0,571 (0,22)	-0,648 (0,26)	0,146 (0,19)	
		Paraná	19	6	13	4,33 ± 2,24	0,678 ± 0,093	0,0142 ± 0,0082	1,877 (0,83)	0,474 (0,73)	0,108 (0,83)	
		São Paulo	27	7	13	2,88 ± 1,56	0,456 ± 0,118	0,0076 ± 0,0046	5,322 (0,97)	-0,762 (0,28)	0,091 (0,16)	
		Rio de Janeiro	81	5	14	5,53 ± 2,69	0,574 ± 0,042	0,0180 ± 0,0097	10,352 (0,99)	2,562 (0,99)	0,192 (1,00)	
	Cerrado	Goiás	30	3	4	1,34 ± 0,85	0,432 ± 0,094	0,0044 ± 0,0031	1,169 (0,89)	0,800 (0,80)	0,165 (0,80)	
		Mato Grosso	20	2	1	0,44 ± 0,41	0,442 ± 0,087	0,0011 ± 0,0012	1,169 (0,59)	1,026 (0,88)	0,221 (0,85)	
		Mato Grosso do Sul	2	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.	
		Minas Gerais- Cerrado	14	5	4	0,69 ± 0,56	0,505 ± 0,158	0,0018 ± 0,0017	-2,604 (0,00)*	-1,481 (0,05)	0,108 (0,00)*	
		Tocantins	15	3	4	0,54 ± 0,47	0,257 ± 0,142	0,0018 ± 0,0017	-0,312 (0,28)	-1,816 (0,01)*	0,249 (0,92)	
	Caatinga	Ceará	Distrito Federal	9	2	1	0,39 ± 0,40	0,389 ± 0,164	0,0010 ± 0,0012	0,477 (0,42)	0,156 (0,76)	0,194 (0,43)
				2	2	12	12,41 ± 9,12	1,000 ± 0,500	0,0404 ± 0,0420	2,485 (0,58)	<0,001 (1,00)	0,500 (1,00)
	COII	Mata Atlântica	Espírito Santo	11	3	25	8,18 ± 4,11	0,582 ± 0,142	0,0169 ± 0,0096	7,609 (1,00)	-0,190 (0,45)	0,164 (0,59)
			Minas Gerais- Mata Atlântica	4	3	25	12,67 ± 7,27	0,833 ± 0,222	0,0261 ± 0,0179	4,312 (0,95)	-0,73 (0,25)	0,416 (0,96)
Paraná			22	6	29	6,53 ± 3,22	0,476 ± 0,128	0,0135 ± 0,0074	3,026 (0,86)	-0,685 (0,27)	0,112 (0,30)	
São Paulo			20	7	30	7,30 ± 3,57	0,689 ± 0,105	0,0150 ± 0,0082	3,173 (0,92)	-0,536 (0,32)	0,116 (0,32)	
Rio de Janeiro			91	10	32	9,61 ± 4,45	0,692 ± 0,039	0,0198 ± 0,0101	10,342 (0,97)	1,630 (0,94)	0,149 (0,97)	
Cerrado		Goiás	35	10	13	1,71 ± 1,02	0,531 ± 0,101	0,0035 ± 0,0023	-3,457 (0,04)	-1,462 (0,06)	0,061 (0,01)*	
		Mato Grosso	17	8	8	1,04 ± 0,73	0,728 ± 0,114	0,0021 ± 0,0017	-5,360 (0,00)*	-1,976 (0,00)*	0,076 (0,00)*	
		Mato Grosso do Sul	2	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.	
		Minas Gerais- Cerrado	14	8	29	4,60 ± 2,40	0,868 ± 0,076	0,0095 ± 0,0056	-0,660 (0,95)	-2,120 (0,00)*	0,218 (0,94)	
		Tocantins	27	8	8	1,86 ± 1,10	0,849 ± 0,034	0,0038 ± 0,0025	-1,745 (0,15)	-0,319 (0,38)	0,112 (0,35)	
		Distrito Federal		6	2	6	2,00 ± 1,88	0,333 ± 0,215	0,0041 ± 0,0031	2,996 (0,92)	-1,367 (0,05)	0,372 (1,00)
D-loop		Mata Atlântica	Espírito Santo	10	4	22	7,98 ± 4,06	0,644 ± 0,152	0,0183 ± 0,0105	4,484 (0,97)	-0,067 (0,50)	0,170 (0,60)
			Minas Gerais- Mata Atlântica	2	2	1	1,00 ± 1,00	1,000 ± 0,500	0,0023 ± 0,0032	<0,001 (0,25)	<0,001 (1,00)	0,500 (1,00)
	Paraná		12	5	24	7,45 ± 3,75	0,758 ± 0,093	0,0171 ± 0,0097	3,413 (0,92)	-0,428 (0,35)	0,139 (0,36)	
	São Paulo		29	11	26	5,04 ± 2,52	0,788 ± 0,072	0,0116 ± 0,0064	-0,458 (0,47)	-0,945 (0,17)	0,087 (0,15)	
	Rio de Janeiro		63	10	27	10,41 ± 4,81	0,741 ± 0,046	0,0239 ± 0,0122	8,627 (0,98)	2,368 (1,00)	0,183 (1,00)	
	Cerrado	Goiás	30	8	8	1,63 ± 0,99	0,556 ± 0,106	0,0037 ± 0,0025	-2,031 (0,11)	-0,600 (0,32)	0,103 (0,32)	
		Mato Grosso	19	9	8	1,13 ± 0,77	0,678 ± 0,121	0,0026 ± 0,0020	-6,291 (0,00)*	-1,742 (0,02)*	0,061 (0,00)*	
		Mato Grosso do Sul	2	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.	
		Minas Gerais- Cerrado	14	6	22	3,74 ± 2,01	0,747 ± 0,112	0,0086 ± 0,0052	0,604 (0,63)	-2,003 (0,00)*	0,220 (0,95)	
		Tocantins	33	8	9	1,10 ± 0,74	0,544 ± 0,971	0,0025 ± 0,0019	-3,378 (0,02)	-1,540 (0,05)	0,076 (0,07)	

n, número de haplótipos; s, número de sítios polimórficos; k, número médio de diferenças nucleotídicas; h, diversidade genética/ haplotípica; nd, diversidade nucleotídica /loci; SD, desvio padrão; N. A., não se aplica; R₂, Estatística de Ramos-Onsins e Rozas R₂; P < 0,05, exceto para F_s de Fu onde P < 0,02; *, significativo; COII, citocromo oxidase subunidade II.

O bioma que apresentou a maior diversidade de haplótipos para o 12S rDNA foi a Mata Atlântica (14). Nesse sentido, os haplótipos hVI, hVIII-hXIV e XIX foram exclusivos do bioma Mata Atlântica, enquanto os haplótipos hII e hVII foram encontrados em todos os biomas estudados. As populações de *A. sculptum* que apresentaram maior quantidade de haplótipos foram as de SP (sete), PR (seis), MG-Cerrado (cinco) e RJ (cinco) (Figura 5).

Os 485 pb do fragmento alinhado do gene COII de *A. sculptum* identificou zero (MS) a 32 (RJ) sítios polimórficos, os quais definiram 47 haplótipos (h1-h47) analisados para as populações dessa espécie no Brasil (Tabelas 12 e 13). Desses haplótipos, os mais frequentes foram o h24 (20,89%) presente no ES e RJ, e o h25

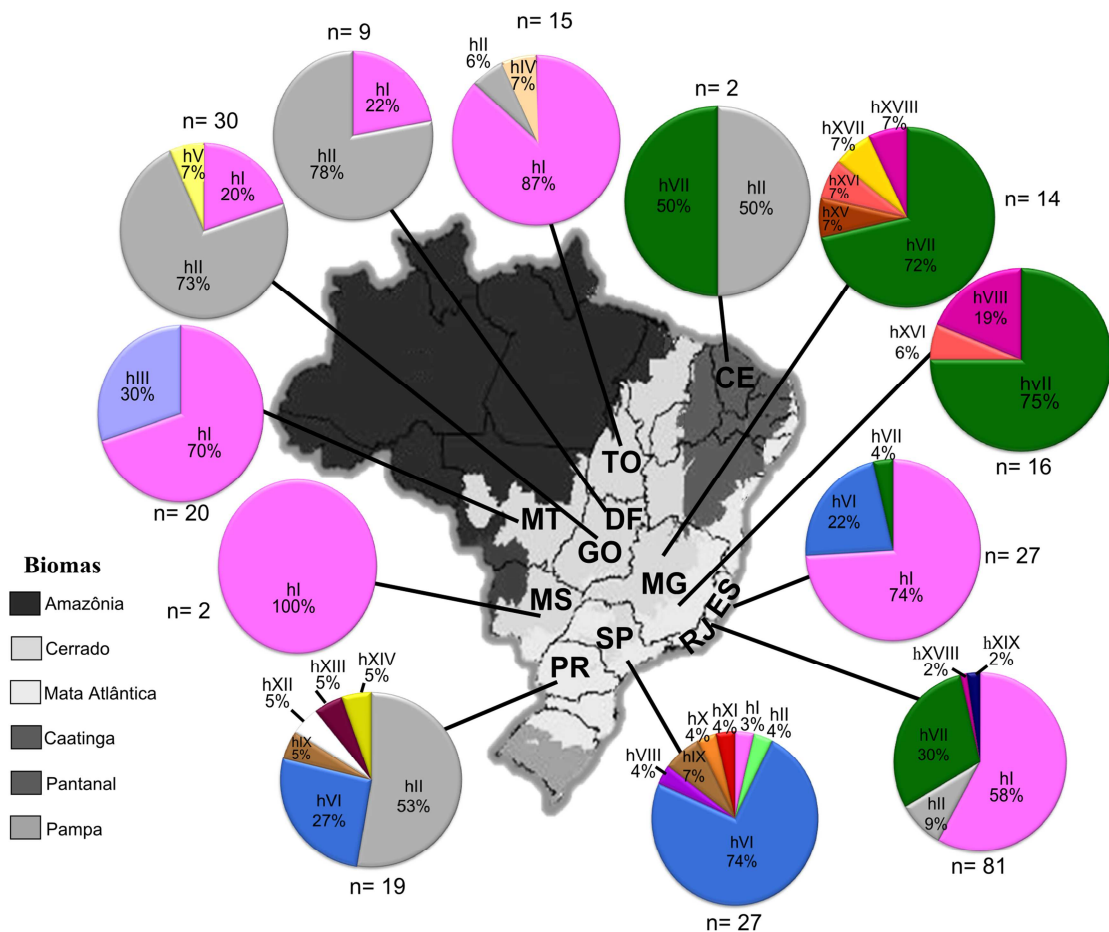


Figura 5. Distribuição dos 19 haplótipos (hI ao hXIX) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

(16,47%) que também foi o mais encontrado entre diferentes populações estudadas de *A. sculptum* (ES, SP, PR, MG- Cerrado, MG- Mata Atlântica e RJ). Ainda nesse sentido, haplótipos compartilhados por mais de uma população foram: h1 (DF, GO e MG- Cerrado), h2 (DF, ES e RJ), h3 (MT, MS e TO), h6 (MT e TO), h8 (MT, GO, TO e RJ), h19 (GO, SP e PR) e h26 (MG- Cerrado e SP). Haplótipos exclusivos foram detectados para as populações de *A. sculptum* do Cerrado (MT- h4, h5, h7, h9 e h10; TO- h11- h15; GO- h16- h18 e h20- h23; e MG- Cerrado- h35- h39) e da Mata Atlântica (SP- h27- h30; PR- h31- h34; MG- Mata Atlântica h40 e h41; e RJ- h42- h47) (Tabela 13).

A diversidade haplótípica observada para o COII foi de <0,001 (MS) a 0,868 (MG- Cerrado), enquanto os maiores valores de diversidade nucleotídica observados foram para as populações de *A. sculptum* da Mata Atlântica (0,0135 PR- 0,0261 MG- Mata Atlântica) e os menores para as populações do Cerrado (<0,0001 MS- 0,0095 MG- Cerrado) (Tabela 12).

Tabela 13. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Bioma	População	Ns	Haplótipos Citocromo oxidase subunidade II (485 pb)																							
			h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h9	h10	h11	h12	h13	h14	h15	h16	h17	h18	h19	h20	h21	h22	h23	h24
	Distrito Federal	6	5	1																						
Cerrado	Mato Grosso	17			9	1	1	1	1	2	1	1														
	Mato Grosso do Sul	2			2																					
	Goiás	35	24								3							1	1	1	1	1	1	1	1	
	Tocantins	27			5				6		7			4	1	1	2	1								
	Minas Gerais (Cerrado)	14	1																							
Mata Atlântica	Espírito Santo	11		2																						7
	São Paulo	20																			3					
	Paraná	22																			16					
	Minas Gerais (Mata Atlântica)	4																								
	Rio de Janeiro	91		7						1																45
	Total	249	30	10	16	1	1	7	1	13	1	1	4	1	1	2	1	1	1	1	20	1	1	1	1	52
	Frequência (%)	100,00	12,05	4,03	6,43	0,40	0,40	2,82	0,40	5,23	0,40	0,40	1,61	0,40	0,40	0,80	0,40	0,40	0,40	0,40	8,04	0,40	0,40	0,40	0,40	20,89

Ns = número de sequências.

Tabela 13. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil (continuação).

Bioma	População	Ns	Haplótipos Citocromo oxidase subunidade II (485 pb) (continuação)																							
			h25	h26	h27	h28	h29	h30	h31	h32	h33	h34	h35	h36	h37	h38	h39	h40	h41	h42	h43	h44	h45	h46	h47	
	Distrito Federal	6																								
Cerrado	Mato Grosso	17																								
	Mato Grosso do Sul	2																								
	Goiás	35																								
	Tocantins	27																								
	Minas Gerais (Cerrado)	14	5	2									1	1	1	1	2									
Mata Atlântica	Espírito Santo	11	2																							
	São Paulo	20	11	1	2	1	1	1																		
	Paraná	22	2						1	1	1	1														
	Minas Gerais (Mata Atlântica)	4	2																1	1						
	Rio de Janeiro	91	19																		1	13	1	1	2	1
	Total	249	41	3	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	13	1	1	2	1	
	Frequência (%)	100,00	16,47	1,20	0,80	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,80	0,40	0,40	0,40	0,40	5,23	0,40	0,40	0,80	0,40	

Ns = número de sequências.

O bioma com maior quantidade de haplótipos (30) foi o Cerrado, e os haplótipos encontrados em todos os biomas foram: h2, h19, h25 e h26. As populações de *A. sculptum* que apresentaram a maior quantidade de haplótipos foram: GO (10), RJ (10), MT (oito), TO (oito), MG- Cerrado (oito), SP (oito) e PR (seis) (Figura 6).

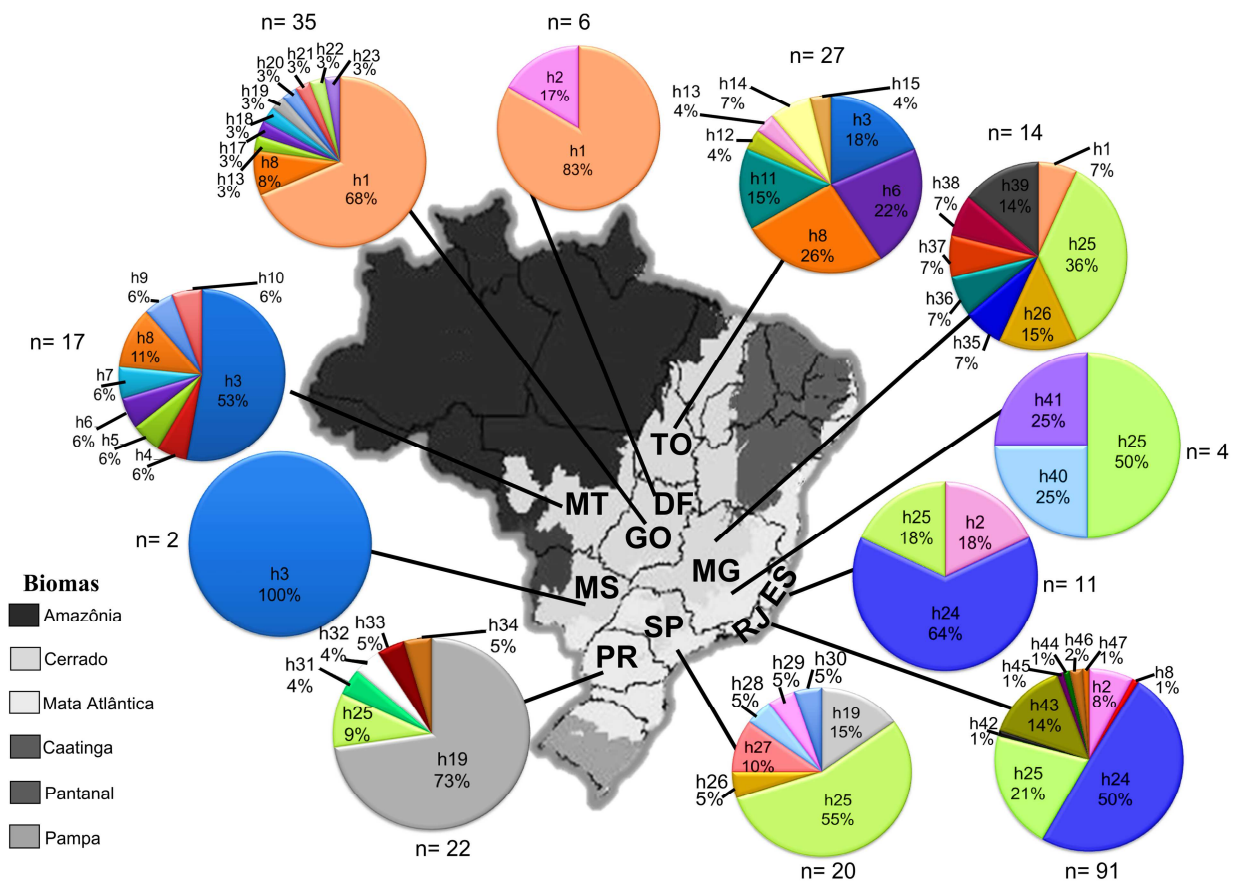


Figura 6. Distribuição dos 47 haplótipos (h1 ao h47) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

A análise das sequências da região D-loop identificou a presença de haplótipos exclusivos para o bioma Cerrado (hB, hD-hF, hH-hP, hR-hU e hI1) e para a Mata Atlântica (hX, hY, hA1-hD1, hF1-hH1 e hJ1-hL1). Entretanto, também foram verificados haplótipos compartilhados entre populações de *A. sculptum* de diferentes biomas: hA (MT, ES e RJ), hC (MT, MS, GO, TO, ES e RJ), hG (MT, GO e RJ), hQ (GO, MG- Cerrado, SP, PR e RJ), hV (MG- Cerrado, ES, SP, PR, MG- Mata Atlântica e RJ), hW (MG- Cerrado, ES e SP), hZ (MG- Cerrado e SP) e hE1 (MG- Cerrado e Mata Atlântica e SP). Entre os haplótipos de *A. sculptum* compartilhados pelos biomas, também estão os de maior frequência observada: hC (23,83%), hA (14,95%), hQ (14,95%) e hV (13,55%) (Tabela 14).

Tabela 14. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Bioma	Populações	Ns	Haplótipos D-loop (447 pb)																			
			hA	hB	hC	hD	hE	hF	hG	hH	hI	hJ	hK	hL	hM	kN	hO	hP	hQ	hR	hS	hT
Cerrado	Mato Grosso	19	1	1	11	1	1	1	1	1	1											
	Mato Grosso do Sul	2			2																	
	Goiás	30			1				1									2	20	1	2	1
	Tocantins	33			22	1						1	1	1	5	1	1					
	Minas Gerais (Cerrado)	14																				1
Mata Atlântica	Espírito Santo	10	2		6																	
	São Paulo	29																				3
	Paraná	12																				5
	Minas Gerais (Mata Atlântica)	2																				
	Rio de Janeiro	63	29		9				1													3
	Total	214	32	1	51	2	1	1	3	1	1	1	1	1	5	1	1	2	32	1	2	1
	Frequência (%)	100,00	14,95	0,47	23,83	0,93	0,47	0,47	1,40	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	2,34	0,47	0,47	0,93	14,95	0,47	0,93	0,47

Ns = número de sequências.

Tabela 14. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil (continuação).

Bioma	Populações	Ns	Haplótipos D-loop (447 pb) (continuação)																			
			hU	hV	hW	hX	hY	hZ	hA1	hB1	hC1	hD1	hE1	hF1	hG1	hH1	hI1	hJ1	hK1	hL1		
Cerrado	Mato Grosso	19																				
	Mato Grosso do Sul	2																				
	Goiás	30	2																			
	Tocantins	33																				
	Minas Gerais (Cerrado)	14		7	2			2					1								1	
Mata Atlântica	Espírito Santo	10		1	1																	
	São Paulo	29		13	3	2	1	1	1	1	1	1	2									
	Paraná	12		1										1	1	4						
	Minas Gerais (Mata Atlântica)	2		1									1									
	Rio de Janeiro	63		6		2	10														1	1
	Total	214	2	29	6	4	11	3	1	1	1	1	4	1	1	4	1	1	1	1	1	
	Frequência (%)	100,00	0,93	13,55	2,80	1,86	5,14	1,40	0,47	0,47	0,47	0,47	1,86	0,47	0,47	1,86	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47	

Ns = número de sequências.

A diversidade haplotípica, da região D-loop, para as populações de *A. sculptum* da Mata Atlântica (0,644 no ES- 1,000 em MG- Mata Atlântica) e Cerrado (<0,001 no MS- 0,747 em MG- Cerrado) teve valores elevados. Porém, a diversidade nucleotídica para as populações de *A. sculptum* da Mata Atlântica foi maior (0,0023 para MG- Mata Atlântica- 0,0239 no RJ) do que a observada para as populações do Cerrado (<0,0001 no MS- 0,0086 para MG- Cerrado). Desta forma, dos 447 nucleotídeos analisados, o menor número de sítios polimórficos observados foi para as populações de *A. sculptum* do Cerrado (MS sem sítios polomórficos- 22 para MG- Cerrado) quando comparados aos da Mata Atlântica (um para MG- Mata Atlântica- 27 no RJ) (Tabela 12).

Para a região D-loop, as populações de *A. sculptum* do Cerrado (26) apresentaram maior quantidade de haplótipos do que as da Mata Atlântica (20). Entretanto, a população de *A. sculptum* de SP (11) foi a que apresentou a maior quantidade de haplótipos, seguida por RJ (10), MT (nove), GO (oito) e TO (oito) (Figura 7).

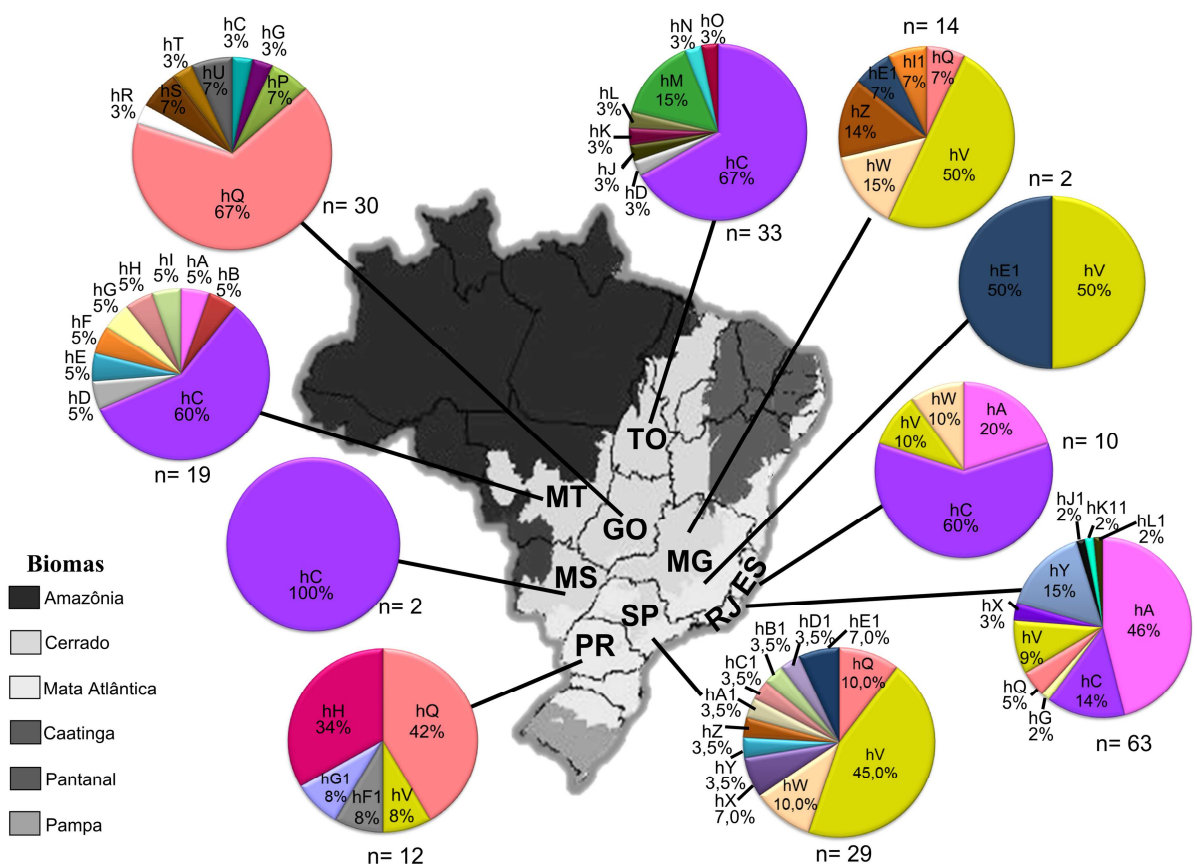


Figura 7. Distribuição dos 38 haplótipos (hA ao hL1) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

4.2.1.2 História evolutiva de *A. sculptum* com base na rede de haplótipos

Na rede de haplótipos do gene 12S rDNA de *A. sculptum*, o haplótipo mais frequente (40,08%) e encontrado em um maior número de populações (RJ, SP, ES, GO, MS, MT, TO e DF) é o hI. E, os haplótipos hIII, hVI e hVII tendem a ser mais antigos quando comparados aos haplótipos hIV, hV, hVIII, hX, hXI, hXII, hXIII, hXIV, hXV, hXVII e hXIX, que são haplótipos exclusivos de determinadas populações, com baixa frequência e diferem em poucas mutações dos haplótipos aos quais estão relacionados. Os demais haplótipos diferem uns dos outros por um número considerável de passos mutacionais. Se traçarmos uma diagonal, a maior parte dos haplótipos exclusivos do Cerrado fica de um lado, enquanto os da Mata Atlântica ficam em outro lado (Figura 8).

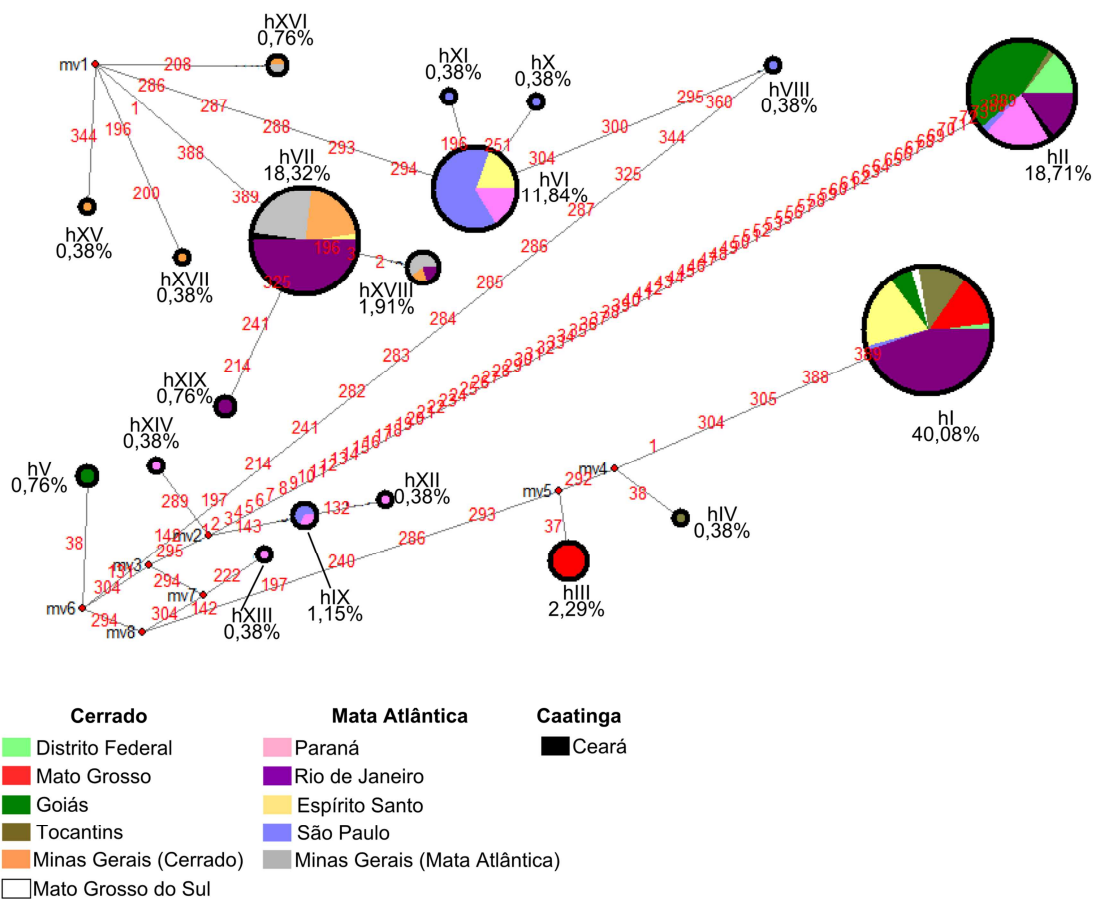


Figura 8. Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).

A topologia da rede de haplótipos do gene COII tem formato de estrela, indicando que a maioria dos haplótipos difere uns dos outros por poucas mutações. Isso é observado, principalmente, para os haplótipos exclusivos e que ocorrem em baixa frequência nas populações de *A. sculptum* de SP, PR e RJ (Mata Atlântica); MG- Cerrado, GO, MT e TO (Cerrado). Este fato é corroborado pelo baixo valor de diversidade nucleotídica observado em relação à diversidade haplotípica, principalmente para as populações do Cerrado. O haplótipo h25, provavelmente, é o mais antigo: é o encontrado em mais populações (RJ, SP, PR, ES, MG- Cerrado e Mata Atlântica) e está entre os mais frequentes (16,47%) (Figura 9).

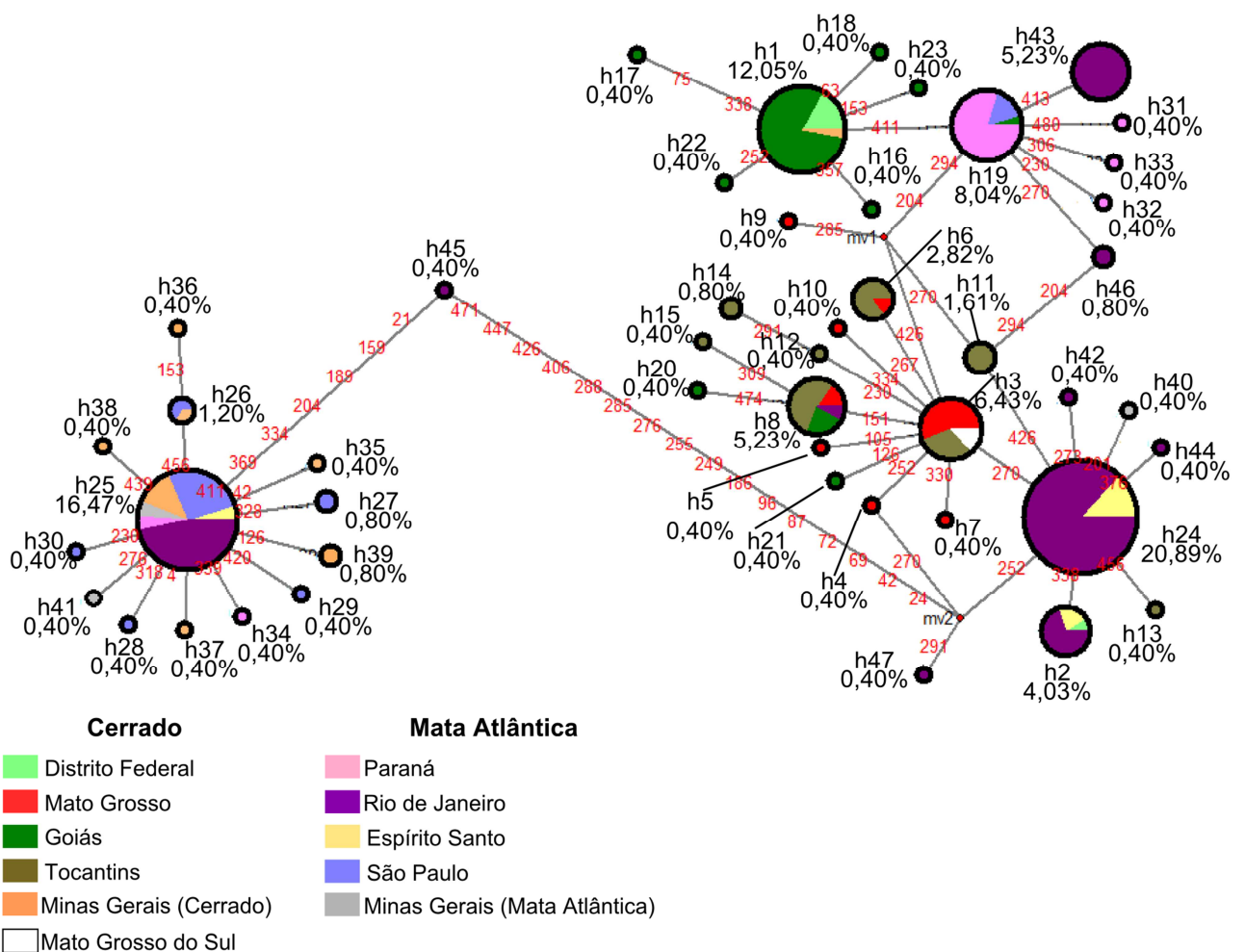


Figura 9. Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).

Na rede dos haplótipos da região D-loop de *A. sculptum*, a maior parte dos haplótipos das populações da Mata Atlântica fica do lado esquerdo da imagem, enquanto a maioria dos haplótipos do Cerrado está do lado direito da figura, embora haja haplótipos compartilhado entre os biomas. Esses dois haplogrupos são separados pelo maior número de mutações observadas para essa rede. O haplótipo hC pode ser o haplótipo ancestral: é o mais frequente (23,83%), possui múltiplas conexões, e está presente em diversas populações (TO, MT, MS, GO, RJ e ES). Alguns haplótipos exclusivos e com baixa frequência do TO, MT, GO, PR e SP aparecem separados dos haplótipos mais frequentes por poucas mutações, refletindo a baixa diversidade nucleotídica (0,0025- 0,0171) e alta diversidade haplotípica (0,544- 0,788) observada para essas populações (Figura 10).

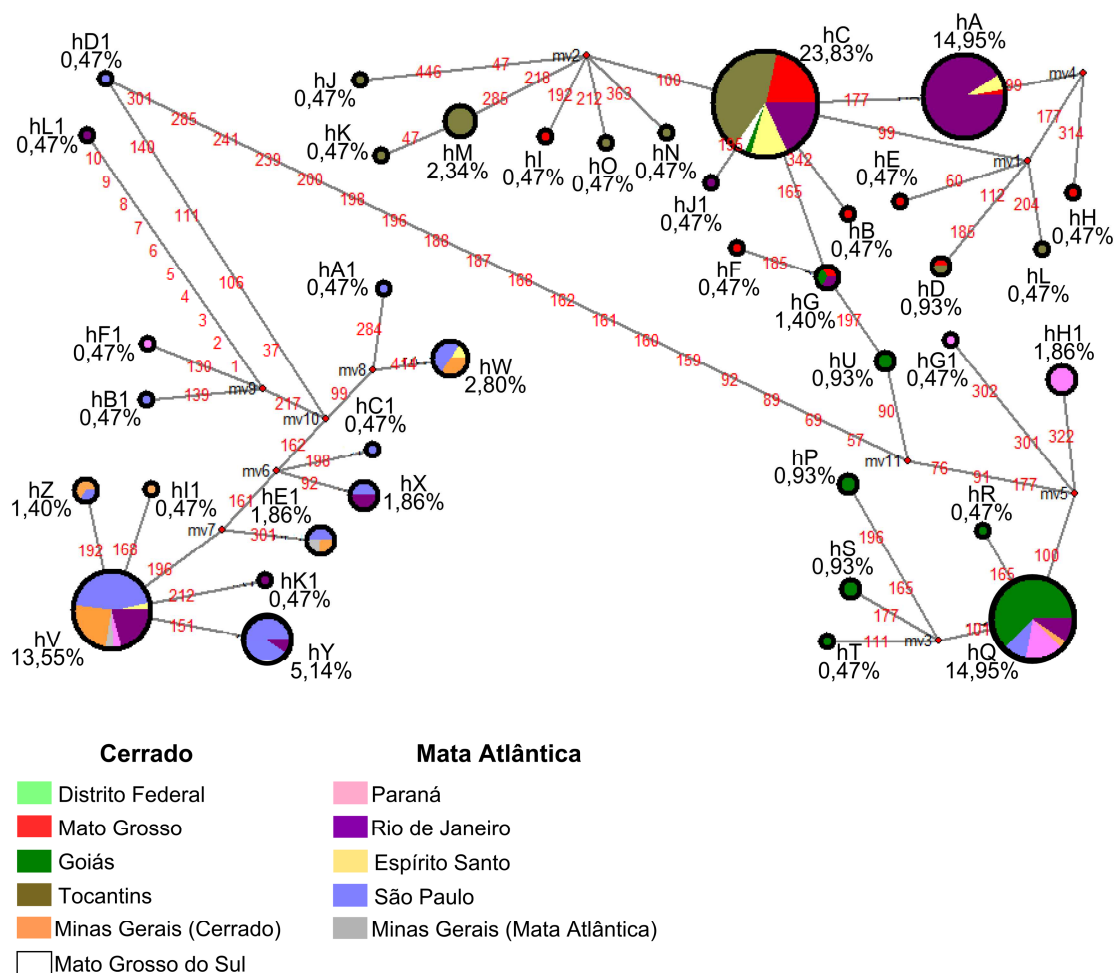


Figura 10. Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma sculptum*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (*mv- median vectors*).

4.2.1.3 Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de *A. sculptum* do Brasil

Os testes de neutralidade podem indicar expansão populacional. Isso ocorre quando a hipótese nula de neutralidade é rejeitada devido a valores negativos e significativos nos testes D de Tajima e F_s de Fu, e valores baixos e significativos na estatística R_2 . Esses resultados foram observados para o D de Tajima no TO (12S rDNA), MG- Cerrado e MT (COII e D-loop); no teste F_s de Fu para as populações de *A. sculptum* de MG- Cerrado (12S rDNA) e MT (COII e D-loop); e na estatística R_2 para MG- Cerrado (12S rDNA), GO (COII) e MT (COII e D-loop) (Tabela 12).

As estimativas de diferenciação genética entre as populações de *A. sculptum* do Brasil, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, indicaram que muitas populações (principalmente quando consideramos as populações do DF, MT, TO, GO, ES, SP, PR, RJ, CE e MG- Cerrado e Mata Atlântica) apresentaram valores significativos nessa análise, o que pode ser indicativo de algum nível de estruturação entre populações de *A. sculptum* de diferentes áreas do Brasil (Tabela 15). Adicionalmente, a análise de F_{ST} feita par a par entre os grupos de populações indicou que os Grupos I (amostras do Cerrado) e II (amostras da Mata Atlântica) são geneticamente distintos, o mesmo não foi observado com o Grupo III (amostras Caatinga) (Tabela 16). Entretanto, o teste de Mantel demonstrou haver associação não significativa entre as distâncias genéticas e geográficas, nos três marcadores avaliados, das populações de *A. sculptum* analisadas no Brasil (Tabela 17).

Os resultados da AMOVA apontaram que a maior parte da variância molecular dos haplótipos de *A. sculptum* (55,31% no 12S rDNA, 55,71% no COII e 57,10% no D-loop) ocorreu entre as populações dessa espécie dentro dos grupos analisados. Porém, os valores observados para variância dentro das populações também foram altos em todos os marcadores estudados. Já a variância molecular entre grupos foi não expressiva (Tabela 18). Esses resultados, quando associados aos valores obtidos na estatística Φ , indicam que não há estruturação de *A. sculptum* de acordo com os grupos (biomas) analisados: Φ_{CT} com valor baixo e não significativo. Entretanto, pode ser que haja algum tipo de estruturação entre as populações analisadas de *A. sculptum*, de acordo com as áreas/ períodos de coleta, já que os índices Φ_{SC} e Φ_{ST} foram significativos, mas sem valores elevados (Tabela 18).

Tabela 15. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de *Amblyomma sculptum* analisadas do Brasil.

Populações	Gene/ Região	Distrito Federal	Mato Grosso	Tocantins	Mato Grosso do Sul	Goiás	Minas Gerais-Cerrado	Espírito Santo	São Paulo	Paraná	Rio de Janeiro	Minas Gerais-Mata Atlântica
Mato Grosso	12S rDNA	<0,00001										
	COII	0,67435*										
	D-loop	-										
Tocantins	12S rDNA	-0,03789	0,01984									
	COII	0,57562*	0,03949									
	D-loop	-	0,05740									
Mato Grosso do Sul	12S rDNA	<0,00001	<0,00001	-0,32911								
	COII	0,57539	-0,31773	-0,17730								
	D-loop	-	-0,30283	-0,24164								
Goiás	12S rDNA	0,70540*	0,75952*	0,66292*	0,63415							
	COII	-0,06300	0,64757*	0,60781*	0,59670							
	D-loop	-	0,75814*	0,78327*	0,74477							
Minas Gerais-Cerrado	12S rDNA	0,95507*	0,97012*	0,94325*	0,93309	0,91326*						
	COII	0,83763*	0,89239*	0,88898*	0,83053	0,89277*						
	D-loop	-	0,88937*	0,90541*	0,83182	0,88425*						
Espírito Santo	12S rDNA	0,12430	0,19509	0,15121	-0,10739	0,48861*	0,68330*					
	COII	0,29993	0,28283*	0,28398*	-0,05774	0,53807*	0,68312*					
	D-loop	-	0,14756	0,21591	-0,21532	0,56024*	0,66303*					
São Paulo	12S rDNA	0,73952*	0,79219*	0,75311*	0,67158	0,77051*	0,35256*	0,48744*				
	COII	0,72366	0,80308*	0,81578*	0,70564	0,82242*	-0,02235	0,58242*				
	D-loop	-	0,82577*	0,84971*	0,76278	0,82601*	-0,04095	0,63206*				
Paraná	12S rDNA	0,44048*	0,54244*	0,44930*	0,26406	0,16950	0,67877*	0,28673	0,48071*			
	COII	0,05350	0,38510*	0,40536*	0,16248	0,18178*	0,72896*	0,24854	0,64430*			
	D-loop	-	0,59699*	0,67525*	0,35761	0,13508	0,68026*	0,29478*	0,64703*			
Rio de Janeiro	12S rDNA	0,16434	0,20604	0,17739	-0,01869	0,35687*	0,49897*	0,01304	0,35990*	0,21412		
	COII	0,17884	0,16830	0,17695	-0,04310	0,28783*	0,56915*	-0,03357	0,50600*	0,15659		
	D-loop	-	0,19950	0,24016*	-0,01519	0,33921*	0,44992*	-0,01186	0,44074*	0,20775		
Minas Gerais-Mata Atlântica	12S rDNA	0,96914*	0,97895*	0,95520*	0,95581	0,92207*	-0,04739	0,70203*	0,37629*	0,70071*	0,51026*	
	COII	0,67585	0,82739*	0,82505	0,52944	0,84347*	0,02413	0,39592	-0,08744	0,55663	0,35403	
	D-loop	-	0,94588	0,94658	0,97527	0,92637	-0,26001	0,59276	-0,23365	0,63293	0,39478	
Ceará	12S rDNA	0,73585	0,86833*	0,73747	0,15751	0,59636	0,61326	0,16569	0,17083	-0,11612	-0,05429	0,68536
	COII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	D-loop	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo (12S rDNA $P < 0,00075$, COII $P < 0,0009$, D-loop $P < 0,0011$ após a correção de Bonferroni).

Tabela 16. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de *Amblyomma sculptum* analisadas do Brasil.

População	Gene/ Região	Grupo I	Grupo II
Grupo II	12S rDNA	0,13368*	
	COII	0,08675*	
	D-loop	0,15151*	
Grupo III	12S rDNA	0,02379	-0,12969
	COII	-	-
	D-loop	-	-

Grupo I- Amostras do Cerrado (Distrito Federal, Mato Grosso, Tocantins, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais- Cerrado); Grupo II- Amostras da Mata Atlântica (Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro, Minas Gerais- Mata Atlântica); Grupo III- Amostras da Caatinga (Ceará); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo (COII e D-loop $P < 0,05$; 12S rDNA $P < 0,0167$ após a correção de Bonferroni).

Tabela 17. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de *Amblyomma sculptum* estudadas do Brasil.

Teste de Mantel	12S rDNA	COII	D-loop
Coefficiente de regressão (b)	-0,000063	0,000034	0,000064
Coefficiente de correlação (r)	-0,128710	0,050752	0,085946
P	0,747	0,376	0,276

COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,05$).

Tabela 18. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de *Amblyomma sculptum* estudadas do Brasil.

Análise	Gene/ Região analisados			
		AMOVA	(Estatística Φ)	
Entre grupos		12S rDNA	COII	D-loop
	(Φ_{CT})	-4,01% (-0,040)	-9,70% (-0,097)	-3,07% (-0,031)
Entre populações dentro dos grupos	(Φ_{SC})	55,31% (0,532*)	55,71% (0,508*)	57,10% (0,554*)
Dentro das populações	(Φ_{ST})	48,70 (0,513*)	53,99% (0,460*)	45,97% (0,540*)

Grupo I- Amostras do Cerrado (Distrito Federal, Mato Grosso, Tocantins, Mato Grosso do Sul, Goiás, Minas Gerais- Cerrado); Grupo II- Amostras da Mata Atlântica (Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Rio de Janeiro, Minas Gerais- Mata Atlântica); Grupo III- Amostras da Caatinga (Ceará); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,0001$).

4.2.2 Análises intrapopulacionais em *A. ovale*

4.2.2.1 Diversidade genética de *A. ovale* no Brasil

No total, 16, 29 e 10 haplótipos de *A. ovale* foram identificados com base nas variações das sequências dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, respectivamente. Como apenas uma sequência foi obtida para as populações do RS (12S rDNA e D-loop), três (12S rDNA)/ duas (COII e D-loop) sequências para a população de GO e três sequências para a população de *A. ovale* do PR (COII), os dados estatísticos referentes a essas sequências têm que ser interpretados com cautela pois podem não representar toda a diversidade dessas populações de *A. ovale*.

Dos 16 haplótipos (hI-hXVI) do gene 12S rDNA, não houve nenhum compartilhado por todas as populações. Com exceção dos haplótipos hI (PR, RS e SC) e hII (PR e SC), todos os outros haplótipos são exclusivos de determinadas populações: hIII-hV (SC), hVI-hVIII (CE), hIX e hX (GO) e hXI-hXVI (RJ). O hVI (CE) foi o mais frequente (36,72%), seguido pelo hI (30,47%) que é compartilhado pelas populações do sul do Brasil (Tabela 19). A menor diversidade haplotípica encontrada foi no CE (0,150) e a maior em GO (0,667), essas populações também apresentaram o menor e maior valor, respectivamente, de diversidade nucleotídica. Dos 367 nucleotídeos analisados, o menor número de sítio polimórfico observado foi para o PR (um) e o maior para GO e RJ (sete) (Tabela 20).

A Mata Atlântica foi o bioma que apresentou maior quantidade de haplótipos (11) para o gene 12S rDNA. Os haplótipos hI-hV e hXI-hXVI foram exclusivos da Mata Atlântica, hVI-hVIII foram encontrados apenas na Caatinga e hIX e hX foram identificados apenas no Cerrado (Figura 11).

A análise dos 473 nucleotídeos do gene COII de *A. ovale* detectou seis (PR) a 22 (GO) sítios polimórficos que definiram os 29 haplótipos (h1-h29) identificados nas populações de *A. ovale* estudadas no Brasil. Todos os haplótipos, exceto o h5 (PR e SC), foram encontrados apenas em uma população: h1- h4, h6 e h7 (SC); h8- h16 (CE); h17 e h18 (GO); h19 e h20 (PR) e h21- h29 (RJ). Os haplótipos mais frequentes foram encontrados nas populações de SC (h3- 21,00%), CE (h8- 19,76%) e RJ (h21- 11,12%) (Tabelas 20 e 21).

Tabela 19. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Biomas	População	Ns	Haplótipos 12S rDNA (367 pb)																
			hI	hII	hIII	hIV	hV	hVI	hVII	hVIII	hIX	hX	hXI	hXII	hXIII	hXIV	hXV	hXVI	
Caatinga	Ceará	51						47	3	1									
Cerrado	Goiás	3											2	1					
Mata Atlântica	Paraná	8	3	5															
	Rio de Janeiro	23												7	1	1	12	1	1
	Rio Grande do Sul	1	1																
	Santa Catarina	42	35	4	1	1	1												
	Total	128	39	9	1	1	1	47	3	1	2	1	7	1	1	12	1	1	
	Frequência (%)	100,00	30,47	7,04	0,78	0,78	0,78	36,72	2,34	0,78	1,56	0,78	5,47	0,78	0,78	9,38	0,78	0,78	

Ns = número de sequências.

Tabela 20. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Gene/ Região	Bioma	População	Tamanho amostral	n	s	k ± SD	h ± SD	nd ± SD	Fs de Fu (valor do P)	D de Tajima (valor do P)	R ₂ (valor do P)
12S rDNA	Caatinga	Ceará	51	3	2	0,15 ± 0,22	0,150 ± 0,066	0,0004 ± 0,0007	-1,854 (0,02)	-1,168 (0,08)	0,075 (0,24)
	Cerrado	Goiás	3	2	7	4,77 ± 3,19	0,667 ± 0,314	0,1300 ± 0,0109	2,884 (0,86)	<0,001 (0,75)	0,471 (1,00)
	Mata Atlântica	Paraná	8	2	1	0,54 ± 0,50	0,536 ± 0,123	0,0015 ± 0,0015	0,866 (0,56)	1,166 (0,94)	0,268 (0,56)
		Rio de Janeiro	23	6	7	1,03 ± 0,71	0,656 ± 0,079	0,0028 ± 0,0022	-1,961 (0,06)	-1,454 (0,06)	0,111 (0,22)
		Santa Catarina	42	5	5	0,41 ± 0,38	0,302 ± 0,089	0,0011 ± 0,0012	-2,762 (0,02)	-1,639 (0,02)*	0,074 (0,14)
COII	Caatinga	Ceará	32	9	10	1,74 ± 1,03	0,722 ± 0,074	0,0036 ± 0,0024	-2,642 (0,06)	-0,962 (0,20)	0,083 (0,14)
	Cerrado	Goiás	2	2	22	23,36 ± 16,87	1,000 ± 0,500	0,0494 ± 0,0504	3,091 (0,59)	<0,001 (1,00)	0,500 (1,00)
	Mata Atlântica	Paraná	3	3	6	4,05 ± 2,75	1,000 ± 0,272	0,0085 ± 0,0073	0,133 (0,26)	<0,001 (0,79)	0,235 (0,16)
		Rio de Janeiro	19	9	13	3,54 ± 1,88	0,772 ± 0,094	0,0075 ± 0,0044	-1,385 (0,24)	-0,220 (0,44)	0,118 (0,31)
		Santa Catarina	25	8	9	1,72 ± 1,04	0,537 ± 0,115	0,0036 ± 0,0024	-1,267 (0,25)	-0,926 (0,21)	0,094 (0,14)
D-loop	Caatinga	Ceará	39	2	1	0,05 ± 0,12	0,051 ± 0,048	0,0001 ± 0,0003	-1,429 (0,04)	-1,126 (0,14)	0,158 (0,90)
	Cerrado	Goiás	2	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.
	Mata Atlântica	Paraná	4	2	1	0,50 ± 0,52	0,500 ± 0,265	0,0011 ± 0,0014	0,172 (0,34)	-0,612 (0,36)	0,433 (1,00)
		Rio de Janeiro	22	5	9	1,98 ± 1,16	0,532 ± 0,121	0,0044 ± 0,0028	-0,159 (0,50)	-0,689 (0,28)	0,109 (0,22)
		Santa Catarina	26	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.

n, número de haplótipos; s, número de sítios polimórficos; k, número médio de diferenças nucleotídicas; h, diversidade genética/haplotípica; nd, diversidade nucleotídica/loci; SD, desvio padrão; N. A., não se aplica; R₂, Estatística de Ramos-Onsins e Rozas R₂; P < 0,05, exceto para F_s de Fu P < 0,02; *, significativo; COII, citocromo oxidase subunidade II.

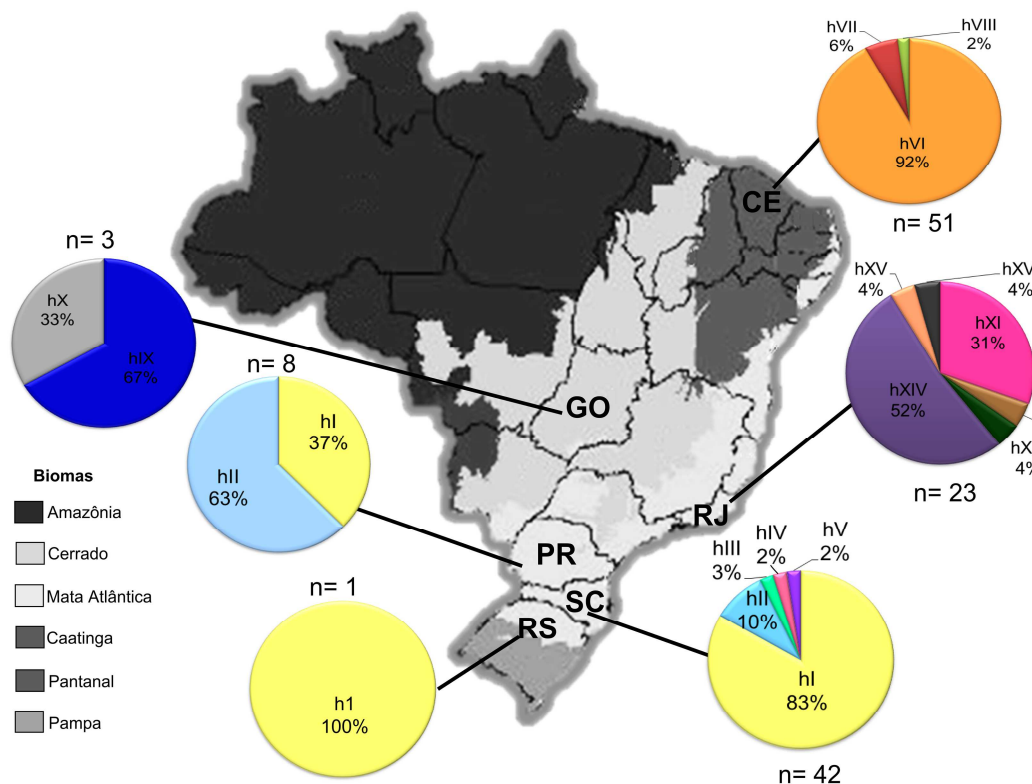


Figura 11. Distribuição dos 16 haplótipos (hI ao hXVI) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

Tabela 21. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Bioma	População	Ns	Haplótipos Citocromo oxidase subunidade II (473 pb)																														
			h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h9	h10	h11	h12	h13	h14	h15	h16	h17	h18	h19	h20	h21	h22	h23	h24	h25	h26	h27	h28	h29		
Caatinga	Ceará	32							16	6	1	2	2	1	2	1	1																
Cerrado	Goiás	2																	1	1													
	Paraná	3					1														1	1											
Mata Atlântica	Rio de Janeiro	19																				9	1	1	3	1	1	1	1	1			
	Santa Catarina	25	1	1	17	1	3	1	1																								
	Total	81	1	1	17	1	4	1	1	16	6	1	2	2	1	2	1	1	1	1	1	1	1	9	1	1	3	1	1	1	1	1	
	Frequência (%)	100,00	1,23	1,23	21,00	1,23	4,95	1,23	1,23	19,76	7,42	1,23	2,48	2,48	1,23	2,48	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23	11,12	1,23	1,23	3,71	1,23	1,23	1,23	1,23	1,23		

Ns= número de sequências.

A diversidade haplotípica nas populações de GO e PR atingiu o nível máximo do índice (1,000), enquanto a população de SC apresentou o menor valor (0,537) dentre as analisadas. A diversidade nucleotídica também seguiu esse padrão: maior nas populações de GO (0,0494) e PR (0,0085), e menor nas populações de SC e CE (0,0036) (Tabela 20).

As populações do RJ (Mata Atlântica) e CE (Caatinga) foram as que apresentaram a maior quantidade de haplótipos (nove) nesse marcador. As populações da Mata Atlântica apresentaram maior diversidade de haplótipos (18), seguida pela Caatinga (nove) e por último o Cerrado que apresentou apenas dois haplótipos. Os haplótipos foram exclusivos para os biomas, sem haplótipos compartilhados entre eles (Figura 12).

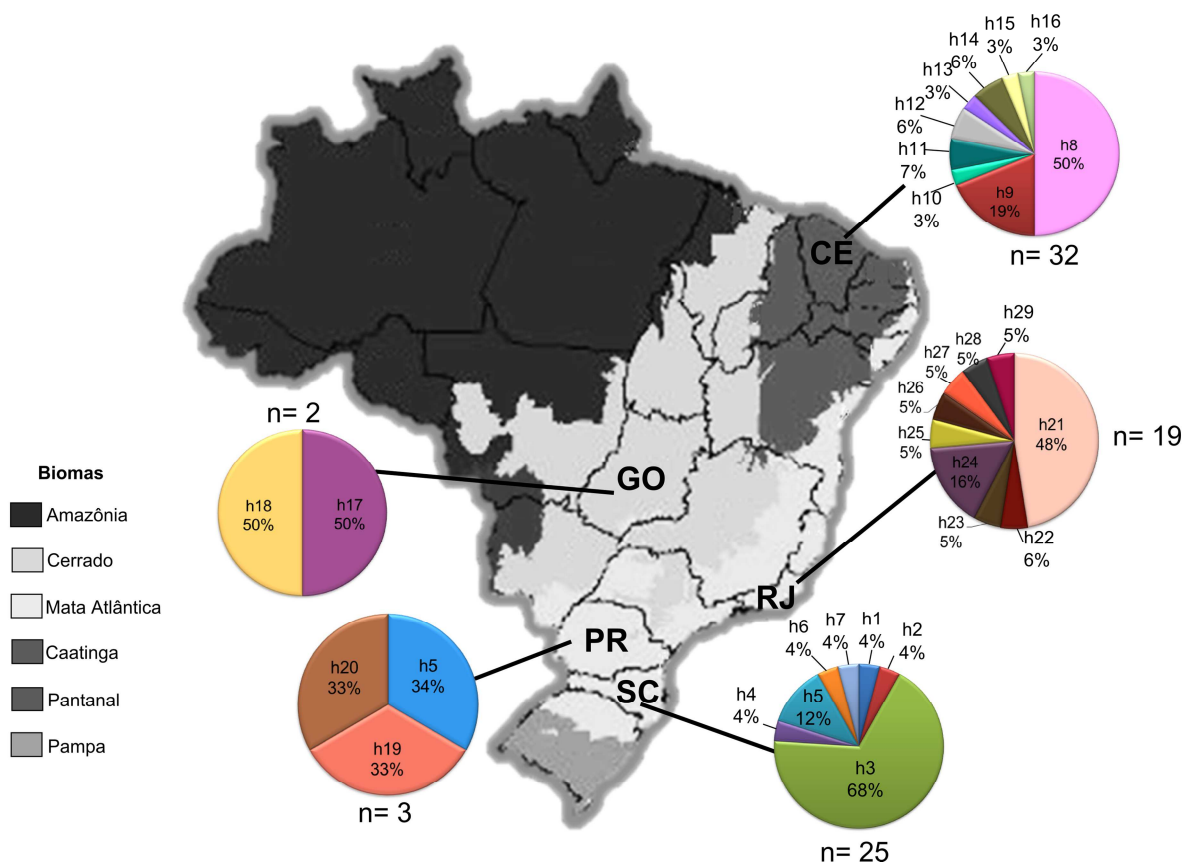


Figura 12. Distribuição dos 29 haplótipos (h1 ao h29) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

Das 94 sequências analisadas da região D-loop foram identificados 10 haplótipos (hA-hJ). Destes, o hA foi o compartilhado por mais populações, sendo encontrado em todas as populações analisadas da Mata Atlântica (PR, RJ, RS e SC). Entretanto, o haplótipo mais frequente (hB- 40,43%) foi exclusivo do CE (Caatinga). Nem todas as populações apresentaram haplótipos exclusivos. Entre as populações que tiveram haplótipos exclusivos estão: CE (hB e hC), GO (hD), PR (hE) e RJ (hF-hJ) (Tabela 22).

Tabela 22. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil.

Bioma	Populações	Ns	Haplótipos D-loop (455 pb)									
			hA	hB	hC	hD	hE	hF	hG	hH	hI	hJ
Caatinga	Ceará	39		38	1							
Cerrado	Goiás	2				2						
Mata Atlântica	Paraná	4	3				1					
	Rio de Janeiro	22	1					15	1	3	1	1
	Rio Grande do Sul	1	1									
	Santa Catarina	26	26									
	Total	94	31	38	1	2	1	15	1	3	1	1
	Frequência (%)	100,00	32,98	40,43	1,06	2,13	1,06	15,96	1,06	3,20	1,06	1,06

Ns = número de sequências.

A maior diversidade haplótipica e nucleotídica observada no D-loop foi para a população do RJ (0,532 e 0,0044 respectivamente) e a menor para as populações de GO e SC (<0,001 e <0,0001 respectivamente). As populações de GO e SC não apresentaram sítios polimórficos. A população de *A. ovale* que apresentou maior quantidade de sítios polimórficos foi a do RJ (nove) (Tabela 20).

A população de *A. ovale* da Mata Atlântica foi a que exibiu a maior quantidade de haplótipos (sete), com destaque para o RJ com seis haplótipos. O haplótipo hA foi predominante na região sul do Brasil. O Cerrado apresentou unicamente o hD, enquanto na Caatinga teve o predomínio do hB. Os haplótipos detectados foram exclusivos dos biomas analisados (Figura 13).

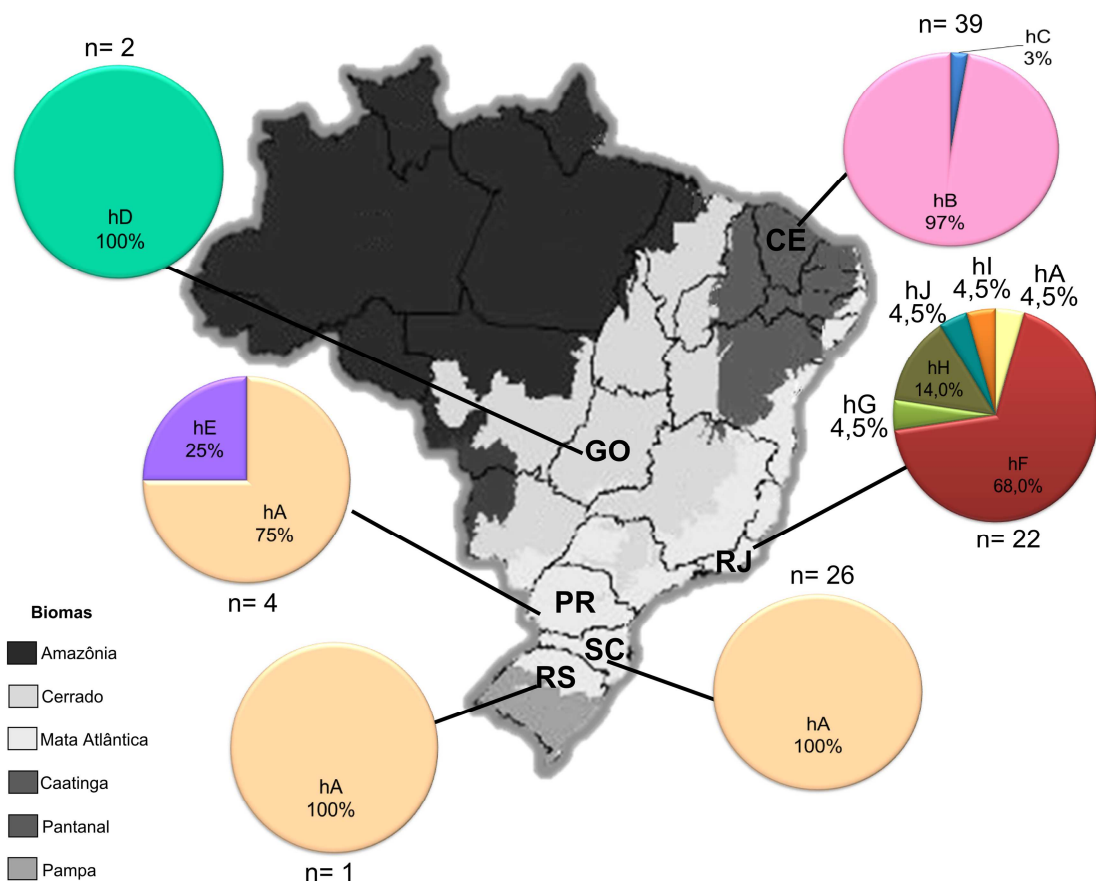


Figura 13. Distribuição dos 10 haplótipos (hA ao hJ) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, n= número amostral.

4.2.2.2 História evolutiva de *A. ovale* com base na rede de haplótipos

Na rede de haplótipos do gene 12S rDNA de *A. ovale* foi possível observar dois haplogrupos: um para as populações da área de Mata Atlântica [RJ, SC, PR e RS] e outro para as populações do Cerrado e Caatinga [GO e CE]. O maior número de mutações (sete- 16) observadas nessa rede separa os dois haplogrupos identificados. As populações do RJ, SC, PR e RS estão diretamente relacionadas (separados pela mutação na base 37). Ainda nesse haplogrupo, está presente um haplótipo do RJ (hXV) o qual difere do hII (SC e PR) por um passo mutacional. É provável que o hI seja o haplótipo ancestral das populações do haplogrupo [RJ, SC, PR e RS]. As populações de GO e CE estão relacionadas, já que o hIX (GO) difere do hVI (CE, e provável haplótipo ancestral do haplogrupo CE- GO) por apenas uma

mutação. Porém, o hX (GO) está mais distante (sete passos mutacionais) dos haplótipos do CE. De forma geral, podemos observar que as populações da Mata Atlântica estão geneticamente relacionadas, assim como ocorre entre as populações do Cerrado e Caatinga. (Figura 14).

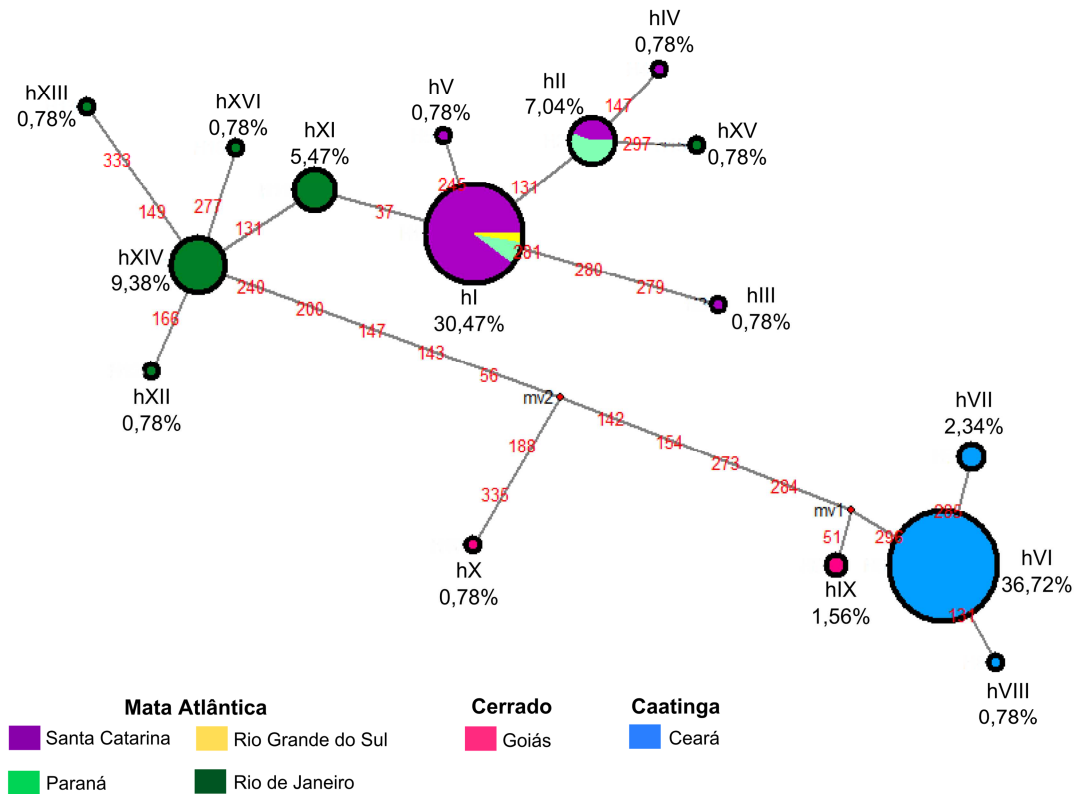


Figura 14. Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (*mv- median vectors*).

Na topologia da rede de haplótipos do gene COII de *A. ovale* (Figura 15) também é possível observar os dois haplogrupos identificados para a rede de haplótipos do 12S rDNA. Entretanto, esses haplogrupos estão separados por uma maior quantidade de passos mutacionais (21- 33) do que observado na Figura 14. As populações do RJ, SC e PR são separadas por poucas mutações. A maior quantidade de passos mutacionais observados separa os haplogrupos [RJ, SC e PR] e [GO e CE]. Os haplótipos do CE são geneticamente próximos (separados por um a seis passos mutacionais), e o h8 pode ser o haplótipo ancestral. Os haplótipos de GO são os que estão separados um do outro por um maior número de mutações (22- 24), e ainda, indicam a presença de haplótipos não amostrados/ intermediários

(mv). Também é possível observar a presença de haplótipos não amostrados/intermediários (mv) para o haplogrupo [RJ, SC e PR]. Com a exceção de GO, os haplótipos de cada população estão geneticamente próximos, separados por poucos passos mutacionais (um a oito). Como para o gene 12S rDNA, também é possível observar a proximidade entre as populações de *A. ovale* da Mata Atlântica, assim como acontece entre as populações do Cerrado e Caatinga (Figura 15).

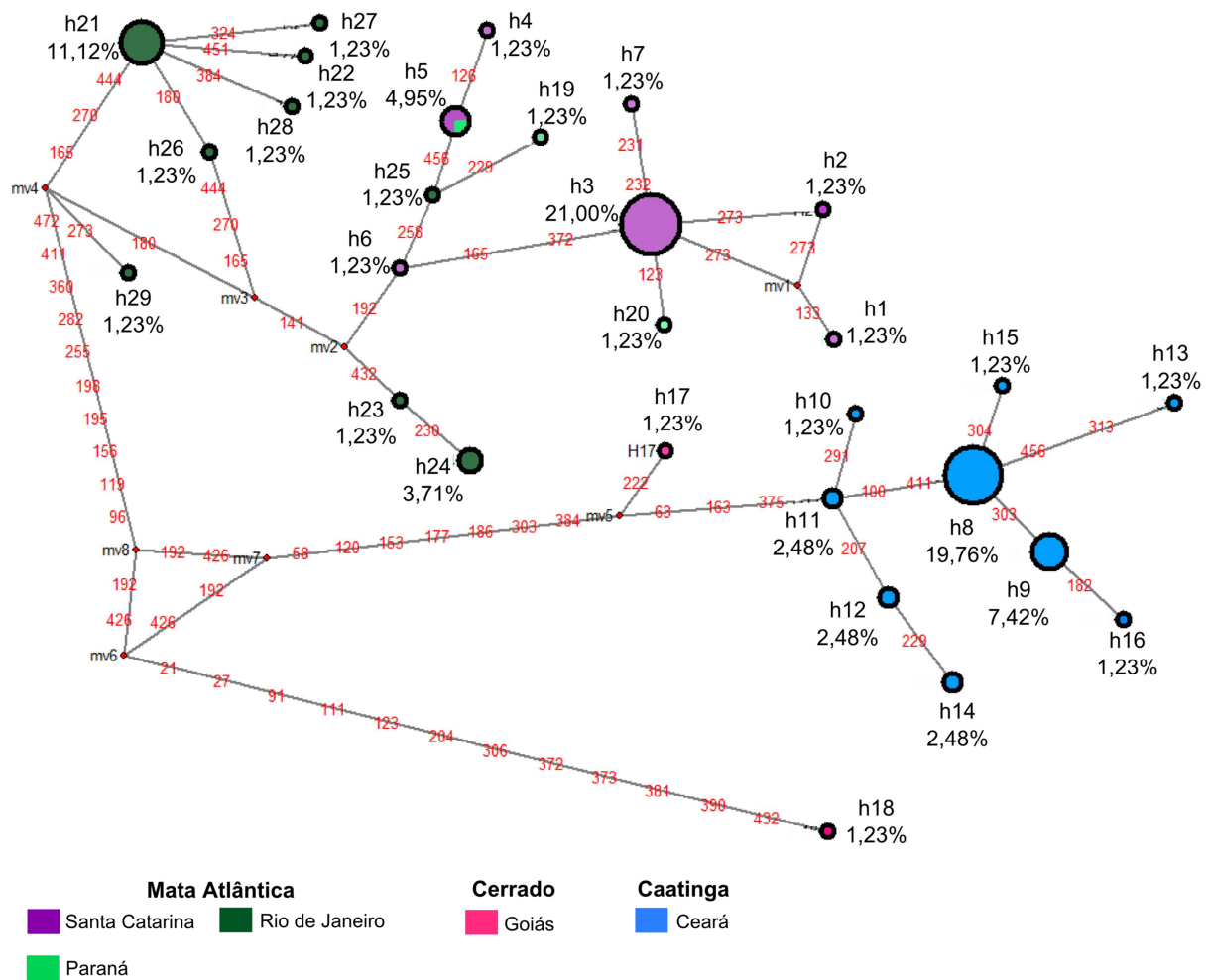


Figura 15. Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).

A rede de haplótipos da região D-loop de *A. ovale* indicou que os haplótipos do CE e GO são geneticamente próximos (uma- três mutações) (haplogrupo CE e

GO), e distantes (10- 15 passos mutacionais) dos haplótipos do RJ, SC, PR e RS (haplogrupo RJ, SC, PR e RS). O hB é o provável haplótipo ancestral do haplogrupo [CE e GO], já para o haplogrupo [RJ, SC, PR e RS] provavelmente o hA é o ancestral. Como observado nas redes de haplótipos dos outros marcadores analisados (Figuras 14 e 15), os haplótipos da Mata Atlântica (RJ, SC, PR e RS) estão geneticamente próximos (uma- sete mutações), e separados dos haplótipos do Cerrado e Caatinga, que são adjacentes (Figura 16).

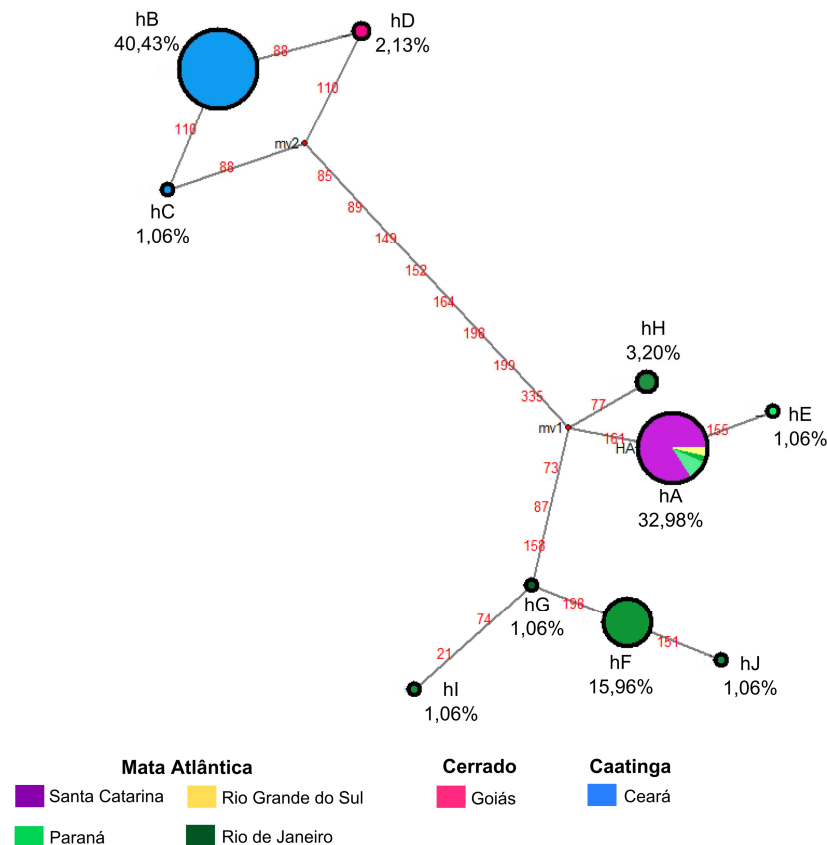


Figura 16. Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma ovale*, de diferentes biomas e unidades federativas do Brasil, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).

4.2.2.3 Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de *A. ovale* do Brasil

Dos testes de neutralidade realizados, o *D* de Tajima foi o único que apresentou valor significativo: no gene 12S rDNA para a população de *A. ovale* de

SC. Esse resultado negativo e significativo pode ser indicativo de expansão populacional (Tabela 20).

As estimativas de diferenciação genética entre as populações de *A. ovale* do Brasil, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, apresentaram valores significativos principalmente quando a população da Caatinga (CE) foi comparada com as populações do Cerrado (GO) e Mata Atlântica (SC, PR e RJ). A população do Cerrado (GO) também apresentou valores significativos de diferenciação genética quando comparada com as populações da Mata Atlântica (com exceção do RS) e Caatinga (CE). Entre as populações da Mata Atlântica, a população do RJ apresentou valores significativos na análise de F_{ST} par a par quando comparada com as populações de SC e PR (Tabela 23).

Tabela 23. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de *Amblyomma ovale* analisadas do Brasil.

Populações	Gene/ Região	Santa Catarina	Paraná	Rio de Janeiro	Rio Grande do Sul	Ceará
Paraná	12S rDNA	0,34798				
	COII	0,24277				
	D-loop	0,50555				
Rio de Janeiro	12S rDNA	0,67468*	0,57658*			
	COII	0,62204*	0,49163*			
	D-loop	0,79309*	0,64788*			
Rio Grande do Sul	12S rDNA	-0,89200	0,14286	0,45230		
	COII	-	-	-		
	D-loop	<0,00001	-1,00000	0,55481		
Ceará	12S rDNA	0,97855*	0,98376*	0,96114*	0,98771	
	COII	0,93875*	0,93241*	0,91019*	-	
	D-loop	0,99723*	0,99255*	0,93876*	0,99541	
Goiás	12S rDNA	0,93949*	0,86100*	0,84874*	0,57856	0,86329*
	COII	0,88074	0,59263	0,79415	-	0,79879*
	D-loop	1,00000*	0,96425	0,83894	1,00000	0,95179*

COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo (12S rDNA e D-loop $P < 0,0033$; COII $P < 0,005$ após a correção de Bonferroni).

Os resultados significativos na análise de F_{ST} par a par entre os grupos de populações de *A. ovale* reitera que as populações da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica são geneticamente distintas entre si (Tabela 24). Adicionalmente, o teste de Mantel demonstrou haver associação significativa, nos três marcadores analisados, entre as distâncias genéticas e geográficas das populações de *A. ovale* estudadas do Brasil (Tabela 25).

Tabela 24. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de *Amblyomma ovale* analisadas do Brasil.

População	Gene/ Região	Grupo I	Grupo II
Grupo II	12S rDNA	0,93619*	
	COII	0,8765*	
	D-loop	0,87288*	
Grupo III	12S rDNA	0,86798*	0,86329*
	COII	0,77351*	0,79879*
	D-loop	0,77627*	0,95179*

Grupo I- Amostras da Mata Atlântica (12Sr DNA e D-loop- Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Santa Catarina); COII- Paraná, Rio de Janeiro e Santa Catarina); Grupo II- Amostras da Caatinga (Ceará); Grupo III- Amostras do Cerrado (Goiás); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,0167$ após a correção de Bonferroni).

Tabela 25. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de *Amblyomma ovale* estudadas do Brasil.

Teste de Mantel	12S rDNA	COII	D-loop
Coefficiente de regressão (b)	0,000238	0,000159	0,000222
Coefficiente de correlação (r)	0,587540	0,825154	0,498915
P	0,015*	0,008*	0,048*

COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,05$).

Os resultados da AMOVA, em todos os marcadores avaliados, indicaram que a maior parte da variância molecular dos haplótipos de *A. ovale* (86,70% no 12S rDNA, 76,12% no COII e 69,54% no D-loop) foi observada entre os diferentes grupos (biomas) analisados (Tabela 26). Esses resultados quando associados aos valores altos e significativos obtidos na estatística Φ (Tabela 26) e aos resultados do F_{ST} (Tabela 23) são um indicativo de estruturação populacional de *A. ovale* entre os biomas Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga do Brasil.

Tabela 26. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de *Amblyomma ovale* estudadas do Brasil.

Análise	Gene/ Região analisados				
		(Estatística Φ)	12S rDNA	COII	D-loop
Entre grupos		(Φ_{CT})	86,70% (0,867*)	76,12% (0,761*)	69,54% (0,695*)
Entre populações dentro dos grupos		(Φ_{SC})	8,95% (0,673*)	14,14% (0,592*)	25,89% (0,850*)
Dentro das populações		(Φ_{ST})	4,35% (0,956*)	9,74% (0,903*)	4,57% (0,954*)

Grupo I- Amostras da Mata Atlântica (Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Santa Catarina); Grupo II- Amostras da Caatinga (Ceará); Grupo III- Amostras do Cerrado (Goiás); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,0001$).

4.2.2.4 Distância evolutiva em *A. ovale*

Para o gene 12S rDNA, a distância evolutiva entre espécies reconhecidamente diferentes dos carrapatos analisados do *GenBank* variou de 0,05 [*Amblyomma sabanerae* Stoll 1890 x *Amblyomma humerale* Koch 1844, *Amblyomma dissimile* Koch 1844 x *Amblyomma rotundatum* (Koch 1844)] a 0,30 [*A. cajennense* s.s. x *Dermacentor nitens* (Neumann 1897), *Amblyomma elaphense* Price 1959 x *A. dissimile*, *A. elaphense* x *A. ovale*]. Para os haplótipos de *A. ovale* identificados no Brasil e a sequência dessa espécie do *GenBank*, a distância evolutiva variou de 0,00 (*A. ovale* x hX) a 0,03 (*A. ovale* x hV, *A. ovale* x hXIII e *A. ovale* x hXV). Entre os haplótipos identificados no Brasil, a distância foi de 0,00 (haplótipos de um mesmo bioma) a 0,04 (haplótipo CE x haplótipos Mata Atlântica, haplótipo SC x haplótipos CE e GO, haplótipos CE x haplótipos RJ, e haplótipo GO x haplótipos RJ) (Tabela 27).

Os resultados do gene COII demonstraram que a menor distância entre espécies sabidamente distintas de ixodídeos foi observada para *A. dissimile* x *Amblyomma scutatum* Neumann 1899 (0,07), e a maior para *A. interandinum* x *D. nitens* (0,35). Entre os haplótipos de *A. ovale* do Brasil, essa distância variou de 0,00 (haplótipos de um mesmo bioma) a 0,07 (haplótipos SC x haplótipos CE, haplótipo PR x haplótipos CE) (Tabela 28).

Na matriz de distância evolutiva da região D-loop (Tabela 29) a menor distância entre espécies de carrapatos consideradas diferentes foi de 0,08 (*A. tonelliae* x *A. interandinum*, *A. cajennense* s.s. x *A. mixtum*, *A. cajennense* s.s. x *A. patinoi*), já a maior foi de 0,62 (*D. nitens* x *A. elaphense*). Quanto aos haplótipos de *A. ovale* do Brasil, essa distância genética variou de 0,00 (haplótipos de um mesmo bioma e haplótipos CE x haplótipo GO) a 0,03 (haplótipos da Mata Atlântica x haplótipos CE e GO).

Tabela 28. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais do gene citocromo oxidase subunidade II (473 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de *Amblyomma ovale* identificados no Brasil.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1 <i>Amblyomma ovale</i> h1	0,00																									
2 <i>Amblyomma ovale</i> h2	0,00	0,00																								
3 <i>Amblyomma ovale</i> h3	0,02	0,01	0,01																							
4 <i>Amblyomma ovale</i> h4	0,01	0,01	0,01	0,00																						
5 <i>Amblyomma ovale</i> h5	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00																					
6 <i>Amblyomma ovale</i> h6	0,01	0,01	0,00	0,01	0,00																					
7 <i>Amblyomma ovale</i> h7	0,01	0,01	0,00	0,02	0,01	0,01																				
8 <i>Amblyomma ovale</i> h8	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,07																			
9 <i>Amblyomma ovale</i> h9	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,00																		
10 <i>Amblyomma ovale</i> h10	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,01	0,01																	
11 <i>Amblyomma ovale</i> h11	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,00	0,01	0,00																
12 <i>Amblyomma ovale</i> h12	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,01	0,01	0,00	0,00															
13 <i>Amblyomma ovale</i> h13	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01														
14 <i>Amblyomma ovale</i> h14	0,07	0,07	0,06	0,07	0,06	0,06	0,07	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01													
15 <i>Amblyomma ovale</i> h15	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01												
16 <i>Amblyomma ovale</i> h16	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01											
17 <i>Amblyomma ovale</i> h17	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02										
18 <i>Amblyomma ovale</i> h18	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05									
19 <i>Amblyomma ovale</i> h19	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06								
20 <i>Amblyomma ovale</i> h20	0,01	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,06	0,07	0,06	0,06	0,01							
21 <i>Amblyomma ovale</i> h21	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,02						
22 <i>Amblyomma ovale</i> h22	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,02	0,00					
23 <i>Amblyomma ovale</i> h23	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,01	0,01	0,01	0,02				
24 <i>Amblyomma ovale</i> h24	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,02	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,01	0,01	0,02	0,02	0,00			
25 <i>Amblyomma ovale</i> h25	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,00	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
26 <i>Amblyomma ovale</i> h26	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,02	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01
27 <i>Amblyomma ovale</i> h27	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,06	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02
28 <i>Amblyomma ovale</i> h28	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,05	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06	0,06	0,06	0,05	0,05	0,06	0,02	0,02	0,00	0,00	0,02	0,02	0,02	0,02
29 <i>Amblyomma ovale</i> h29	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,06	0,05	0,05	0,05	0,06	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
30 <i>Amblyomma mixtum</i> (KF787595)	0,21	0,21	0,21	0,20	0,20	0,21	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
31 <i>Amblyomma interandinum</i> (KF787627)	0,23	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,22	0,22	0,23	0,22	0,22	0,23	0,22	0,23
32 <i>Amblyomma patinoi</i> (KF787596)	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,20	0,23	0,23	0,23	0,24	0,23	0,23	0,24	0,23	0,24	0,23	0,24	0,21	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21
33 <i>Amblyomma tonelliae</i> (KF787623)	0,19	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,19	0,19	0,18	0,18	0,18	0,18	0,18
34 <i>Amblyomma sculptum</i> (KF614684)	0,19	0,19	0,19	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,20	0,19	0,20	0,19	0,20
35 <i>Amblyomma cajennense</i> s.s. (KF787599)	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22	0,21	0,23	0,22	0,22	0,21	0,22	0,21	0,21	0,21	0,22
36 <i>Amblyomma dissimile</i> (FJ917644)	0,22	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,22	0,22	0,23	0,21	0,24	0,23	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22
37 <i>Amblyomma rotundatum</i> (FJ917664)	0,23	0,24	0,23	0,24	0,24	0,24	0,23	0,25	0,24	0,26	0,25	0,25	0,24	0,24	0,25	0,24	0,26	0,24	0,24	0,24	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24
38 <i>Amblyomma scutatum</i> (FJ917654)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,21	0,22	0,22	0,21	0,23	0,22	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
39 <i>Amblyomma argentiniae</i> (FJ917643)	0,19	0,19	0,19	0,20	0,20	0,20	0,19	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,21	0,20	0,19	0,19	0,20	0,19	0,20	0,19	0,19
40 <i>Amblyomma humerale</i> (FJ917670)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,25	0,25	0,25	0,26	0,26	0,25	0,26	0,25	0,26	0,26	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,23	0,23
41 <i>Amblyomma americanum</i> (DQ168132)	0,20	0,19	0,19	0,18	0,18	0,19	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,21	0,22	0,19	0,20	0,18	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19
42 <i>Amblyomma elaphense</i> (JN863729)	0,29	0,29	0,29	0,29	0,28	0,29	0,26	0,26	0,27	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,26	0,27	0,27	0,30	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29	0,29
43 <i>Amblyomma triguttatum</i> (NC_005963)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,25	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,25	0,25	0,24	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
44 <i>Amblyomma sabanerae</i> (FJ917669)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,26	0,25	0,25	0,24	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,24	0,24
45 <i>Haemaphysalis humerosa</i> (JX573138)	0,33	0,32	0,33	0,31	0,32	0,33	0,33	0,31	0,30	0,32	0,31	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,31	0,32	0,33	0,33	0,33	0,32	0,32	0,32	0,32
46 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (AF081829)	0,32	0,32	0,32	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32	0,33	0,32	0,31	0,32	0,32	0,32	0,34	0,31	0,31	0,32	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30	0,31
47 <i>Dermacentor nitens</i> (NC_023349)	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,31	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32	0,31	0,31	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31
48 <i>Rhipicephalus microplus</i> (KP143546)	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,33	0,34	0,34	0,34	0,34	0,33	0,33	0,34	0,34	0,34	0,34

Tabela 28. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais do gene citocromo oxidase subunidade II (473 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de *Amblyomma ovale* identificados no Brasil (continuação).

	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	
26 <i>Amblyomma ovale</i> h26	0,01																							
27 <i>Amblyomma ovale</i> h27	0,02	0,00																						
28 <i>Amblyomma ovale</i> h28	0,02	0,00	0,00																					
29 <i>Amblyomma ovale</i> h29	0,01	0,01	0,01	0,01																				
30 <i>Amblyomma mixtum</i> (KF787595)	0,20	0,21	0,22	0,21	0,21																			
31 <i>Amblyomma interandinum</i> (KF787627)	0,23	0,22	0,23	0,23	0,23	0,19																		
32 <i>Amblyomma patinoi</i> (KF787596)	0,21	0,20	0,21	0,20	0,20	0,11	0,21																	
33 <i>Amblyomma tonelliae</i> (KF787623)	0,19	0,18	0,18	0,18	0,18	0,16	0,19	0,16																
34 <i>Amblyomma sculptum</i> (KF614684)	0,19	0,19	0,19	0,19	0,19	0,15	0,20	0,13	0,17															
35 <i>Amblyomma cajennense</i> s.s. (KF787599)	0,21	0,21	0,22	0,22	0,22	0,12	0,25	0,10	0,18	0,13														
36 <i>Amblyomma dissimile</i> (FJ917644)	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21	0,18	0,23	0,19	0,20	0,19	0,19													
37 <i>Amblyomma rotundatum</i> (FJ917664)	0,24	0,22	0,23	0,23	0,24	0,20	0,27	0,19	0,19	0,20	0,18	0,08												
38 <i>Amblyomma scutatum</i> (FJ917654)	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,26	0,21	0,21	0,19	0,21	0,07	0,10											
39 <i>Amblyomma argentiniae</i> (FJ917643)	0,20	0,19	0,19	0,19	0,19	0,18	0,24	0,19	0,18	0,19	0,21	0,13	0,15	0,15										
40 <i>Amblyomma humerale</i> (FJ917670)	0,24	0,23	0,24	0,24	0,23	0,18	0,21	0,18	0,19	0,19	0,23	0,18	0,21	0,19	0,16									
41 <i>Amblyomma americanum</i> (DQ168132)	0,18	0,18	0,19	0,18	0,18	0,18	0,21	0,19	0,18	0,16	0,21	0,18	0,20	0,22	0,17	0,21								
42 <i>Amblyomma elaphense</i> (JN863729)	0,29	0,28	0,29	0,28	0,28	0,30	0,31	0,29	0,27	0,30	0,32	0,29	0,32	0,31	0,28	0,29	0,26							
43 <i>Amblyomma triguttatum</i> (NC_005963)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,25	0,21	0,25	0,20	0,21	0,22	0,20	0,22	0,24	0,26	0,23	0,22	0,25	0,30						
44 <i>Amblyomma sabanerae</i> (FJ917669)	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,19	0,22	0,20	0,19	0,19	0,20	0,15	0,19	0,18	0,16	0,10	0,19	0,30	0,21					
45 <i>Haemaphysalis humerosa</i> (JX573138)	0,32	0,32	0,33	0,33	0,32	0,23	0,29	0,25	0,24	0,26	0,25	0,26	0,26	0,29	0,26	0,23	0,25	0,23	0,23	0,22				
46 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (AF081829)	0,31	0,30	0,30	0,30	0,30	0,24	0,32	0,28	0,28	0,28	0,29	0,26	0,26	0,29	0,26	0,24	0,23	0,25	0,30	0,24	0,24			
47 <i>Dermacentor nitens</i> (NC_023349)	0,31	0,30	0,30	0,30	0,30	0,24	0,35	0,25	0,28	0,27	0,26	0,24	0,24	0,26	0,25	0,25	0,24	0,27	0,28	0,26	0,26	0,25		
48 <i>Rhipicephalus microplus</i> (KP143546)	0,35	0,32	0,33	0,32	0,34	0,27	0,32	0,30	0,28	0,29	0,30	0,22	0,23	0,25	0,24	0,27	0,27	0,31	0,32	0,28	0,26	0,22	0,18	

Tabela 29. Distância evolutiva, par a par, observada entre sequências parciais da região D-loop (345 pb) de diferentes espécies de carrapatos e dos haplótipos de *Amblyomma ovale* identificados no Brasil.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1 <i>Amblyomma ovale</i> hA																					
2 <i>Amblyomma ovale</i> hB	0,03																				
3 <i>Amblyomma ovale</i> hC	0,03	0,00																			
4 <i>Amblyomma ovale</i> hD	0,03	0,00	0,00																		
5 <i>Amblyomma ovale</i> hE	0,00	0,03	0,03	0,03																	
6 <i>Amblyomma ovale</i> hF	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01																
7 <i>Amblyomma ovale</i> hG	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,00															
8 <i>Amblyomma ovale</i> hH	0,00	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,00														
9 <i>Amblyomma ovale</i> hI	0,01	0,03	0,03	0,03	0,01	0,00	0,00	0,00													
10 <i>Amblyomma ovale</i> hJ	0,01	0,03	0,03	0,03	0,02	0,00	0,01	0,01	0,01												
11 <i>Amblyomma mixtum</i> (KF527344)	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,27	0,27	0,27	0,29											
12 <i>Amblyomma interandinum</i> (KF527408)	0,24	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,24	0,24	0,24	0,25	0,10										
13 <i>Amblyomma patinoi</i> (KF527364)	0,27	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,27	0,27	0,27	0,28	0,09	0,10									
14 <i>Amblyomma tonelliae</i> (KF527389)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,26	0,25	0,25	0,25	0,26	0,12	0,08	0,11								
15 <i>Amblyomma sculptum</i> (KF614685)	0,25	0,24	0,24	0,24	0,25	0,25	0,25	0,24	0,25	0,26	0,10	0,10	0,09	0,11							
16 <i>Amblyomma cajennense</i> s.s. (KF527356)	0,28	0,27	0,27	0,27	0,28	0,28	0,28	0,27	0,28	0,28	0,08	0,11	0,08	0,10	0,09						
17 <i>Amblyomma rotundatum</i> (KU720249)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,22	0,23	0,22	0,22	0,22	0,22	0,25	0,20	0,20	0,22	0,20	0,22					
18 <i>Amblyomma elaphense</i> (JN863729)	0,39	0,41	0,41	0,41	0,38	0,40	0,39	0,39	0,39	0,40	0,47	0,39	0,42	0,39	0,43	0,42	0,39				
19 <i>Haemaphysalis humerosa</i> (JX573138)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,38	0,36	0,36	0,36	0,36	0,37	0,45	0,42	0,43	0,45	0,42	0,48	0,42	0,36			
20 <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (AF081829)	0,36	0,37	0,37	0,37	0,37	0,38	0,37	0,37	0,37	0,39	0,35	0,33	0,35	0,31	0,33	0,36	0,36	0,53	0,49		
21 <i>Dermacentor nitens</i> (NC 023349)	0,44	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45	0,44	0,44	0,44	0,46	0,43	0,40	0,43	0,46	0,39	0,45	0,49	0,62	0,49	0,27	
22 <i>Rhipicephalus microplus</i> (KP143546)	0,40	0,42	0,42	0,42	0,40	0,42	0,41	0,40	0,41	0,43	0,35	0,35	0,37	0,37	0,38	0,36	0,36	0,46	0,49	0,17	0,31

4.2.3 Análises intrapopulacionais em *A. aureolatum*

4.2.3.1 Diversidade genética de *A. aureolatum* no Brasil

De todas as sequências analisadas, foram identificados cinco, 10 e 12 haplótipos para os genes 12S rDNA, COII e para a região D-loop de *A. aureolatum*, respectivamente. Uma única sequência foi obtida para a população do PR, em todos os marcadores. Portanto os dados estatísticos referentes a essa amostra têm que ser interpretados com cautela, pois podem não representar toda a diversidade de *A. aureolatum* no PR.

Nas sequências do 12S rDNA, dos cinco haplótipos identificados (hI-hV), o hII está presente em todas as populações analisadas (PR, RJ, RS, SC e SP), embora o haplótipo mais frequente tenha sido o hI (51,52%- RS, SC e SP). Os outros haplótipos (hIII-hV) foram exclusivos da população de *A. aureolatum* do RS (Tabela 30). As diversidades haplotípica (<0,001) e nucleotídica (<0,0001) apresentaram os menores valores para a população do RJ, enquanto a população de *A. aureolatum* do RS apresentou os maiores valores nesses índices (0,800 e 0,0047, respectivamente). Os valores desses índices podem ser entendidos quando observamos que a população do RJ não apresentou sítios polimórficos (como na população do PR, que só teve uma sequência) e a do RS foi a que apresentou o maior número de sítios polimórficos (cinco) dentre todas as populações de *A. aureolatum* estudadas (Tabela 31).

Tabela 30. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.

População	Ns	Haplótipos 12S rDNA (372 pb)				
		hI	hII	hIII	hIV	hV
Paraná	1		1			
Rio de Janeiro	4		4			
Rio Grande do Sul	16	5	5	1	2	3
Santa Catarina	16	8	8			
São Paulo*	29	21	8			
Total	66	34	26	1	2	3
Frequência (%)	100,00	51,52	39,39	1,52	3,03	4,54

* Única população onde *Amblyomma aureolatum* é vetor comprovado de *Rickettsia rickettsii*; Ns= número de sequências.

Tabela 31. Síntese da distribuição, variabilidade, diversidade genética e história demográfica dos haplótipos dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop das populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.

Gene/ Região	População	Tamanho amostral	n	s	k ± SD	h ± SD	nd ± SD	Fs de Fu (valor do P)	D de Tajima (valor do P)	R ₂ (valor do P)
12S rDNA	Paraná	1	1	0	<0,01 ± 0,00	1,000 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.
	Rio de Janeiro	4	1	0	<0,01 ± 0,00	<0,001 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.
	Rio Grande do Sul	16	5	5	1,76 ± 1,08	0,800 ± 0,057	0,0047 ± 0,0032	-0,027 (0,49)	0,532 (0,73)	0,203 (0,86)
	Santa Catarina	16	2	2	1,07 ± 0,74	0,533 ± 0,046	0,0029 ± 0,0022	2,875 (0,90)	1,970 (0,99)	0,267 (1,00)
	São Paulo [†]	29	2	2	0,83 ± 0,61	0,414 ± 0,077	0,0022 ± 0,0018	2,787 (0,90)	1,293 (0,89)	0,207 (0,91)
COII	Paraná	1	1	0	<0,01 ± 0,00	1,000 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.
	Rio de Janeiro	4	2	2	1,34 ± 1,03	0,667 ± 0,204	0,0027 ± 0,0025	1,530 (0,70)	1,893 (0,97)	0,123 (0,11)
	Rio Grande do Sul	9	5	7	1,84 ± 1,16	0,833 ± 0,098	0,0038 ± 0,0027	-1,043 (0,17)	-1,285 (0,12)	0,190 (0,92)
	Santa Catarina	10	4	3	0,78 ± 0,62	0,533 ± 0,180	0,0016 ± 0,0014	-1,404 (0,03)	-0,959 (0,23)	0,137 (0,17)
	São Paulo [†]	15	5	4	0,76 ± 0,60	0,638 ± 0,129	0,0016 ± 0,0014	-2,233 (0,01)*	-1,220 (0,11)	0,080 (0,08)
D-loop	Paraná	1	1	0	<0,01 ± 0,00	1,000 ± 0,000	<0,0001 ± 0,0000	<0,001 (N. A.)	<0,001 (1,00)	N. A.
	Rio de Janeiro	16	4	3	0,58 ± 0,49	0,517 ± 0,132	0,0013 ± 0,0012	-1,478 (0,06)	-1,055 (0,15)	0,333 (0,44)
	Rio Grande do Sul	24	3	5	1,95 ± 1,14	0,518 ± 0,073	0,0042 ± 0,0028	3,419 (0,95)	1,297 (0,91)	0,119 (0,01)*
	Santa Catarina	14	4	3	0,43 ± 0,41	0,396 ± 0,159	0,0009 ± 0,0010	-2,288 (0,00)*	-1,670 (0,03)*	0,229 (0,54)
	São Paulo [†]	27	6	6	0,64 ± 0,52	0,399 ± 0,117	0,0014 ± 0,0013	-3,205 (0,01)*	-1,718 (0,02)*	0,117 (0,03)*

n, número de haplótipos; s, número de sítios polimórficos; k, número médio de diferenças nucleotídicas; h, diversidade genética/ haplotípica; nd, diversidade nucleotídica /loci; SD, desvio padrão; N. A., não se aplica; R₂, Estatística de Ramos-Onsins e Rozas R₂; P < 0,05, exceto para Fs de Fu P < 0,02; *, significativo; †, Única população onde *Amblyomma aureolatum* é vetor comprovado de *Rickettsia rickettsii*; COII, citocromo oxidase subunidade II.

A população que apresentou a maior quantidade de haplótipos foi a do RS (cinco). As populações do PR e RJ (hII), e SP e SC (hI e hII) são semelhantes quanto a composição dos haplótipos (Figura 17).

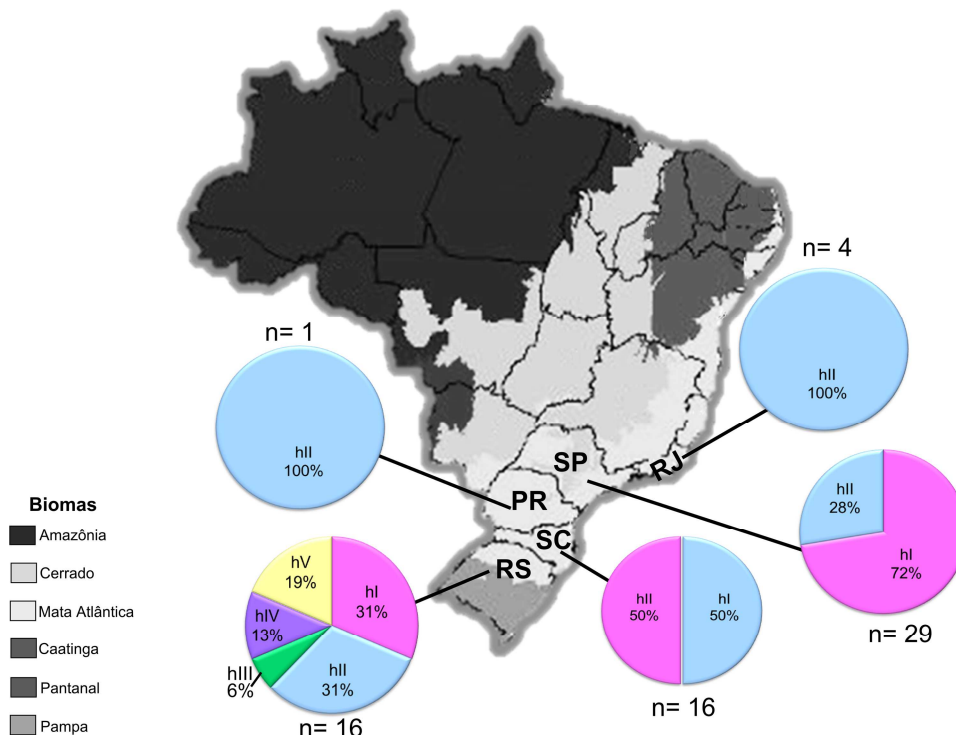


Figura 17. Distribuição dos cinco haplótipos (hI ao hV) do gene 12S rDNA identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.

O estudo dos 485 pb do gene COII identificou a presença de dois (RJ) a sete (RS) sítios polimórficos que definiram os 10 haplótipos (h1–h10) detectados nas populações de *A. aureolatum* analisadas da Mata Atlântica no Brasil. Desses haplótipos, o mais frequente (56,42%) e que foi identificado em todas as populações (PR, RJ, RS, SC e SP) foi o h1. O h4 também foi compartilhado por diferentes populações (RS, SC e SP). As populações que apresentaram haplótipos exclusivos foram: RJ (h5), RS (h8- h10), SC (h3) e SP (h6 e h7) (Tabela 32). A diversidade haplotípica variou de 0,533 (SC) a 0,833 (RS), e a diversidade nucleotídica de 0,0016 (SC e SP) a 0,0038 (RS) (Tabela 31).

Tabela 32. Distribuição e frequência dos haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.

População	Ns	Haplótipos Citocromo oxidase subunidade II (485 pb)									
		h1	h2	h3	h4	h5	h6	h7	h8	h9	h10
Paraná	1	1									
Rio de Janeiro	4	2				2					
Rio Grande do Sul	9	3			3				1	1	1
Santa Catarina	10	7	1	1	1						
São Paulo*	15	9	1		2		2	1			
Total	39	22	2	1	6	2	2	1	1	1	1
Frequência (%)	100,00	56,42	5,13	2,56	15,39	5,13	5,13	2,56	2,56	2,56	2,56

* Única população onde *Amblyomma aureolatum* é vetor comprovado de *Rickettsia rickettsii*; Ns = número de sequências.

As populações do RS e SP apresentaram a maior quantidade de haplótipos (cinco), com alguns desses haplótipos compartilhados e outros exclusivos. A população de *A. aureolatum* de SC teve a composição de haplótipos mais parecida com a de SP, e a população do RJ (excluindo a do PR, onde só foi obtida uma sequência) foi a que apresentou menor quantidade de haplótipos (dois) (Figura 18). Dessa forma, o número de haplótipos observados é proporcional à amostragem de *A. aureolatum* por população.

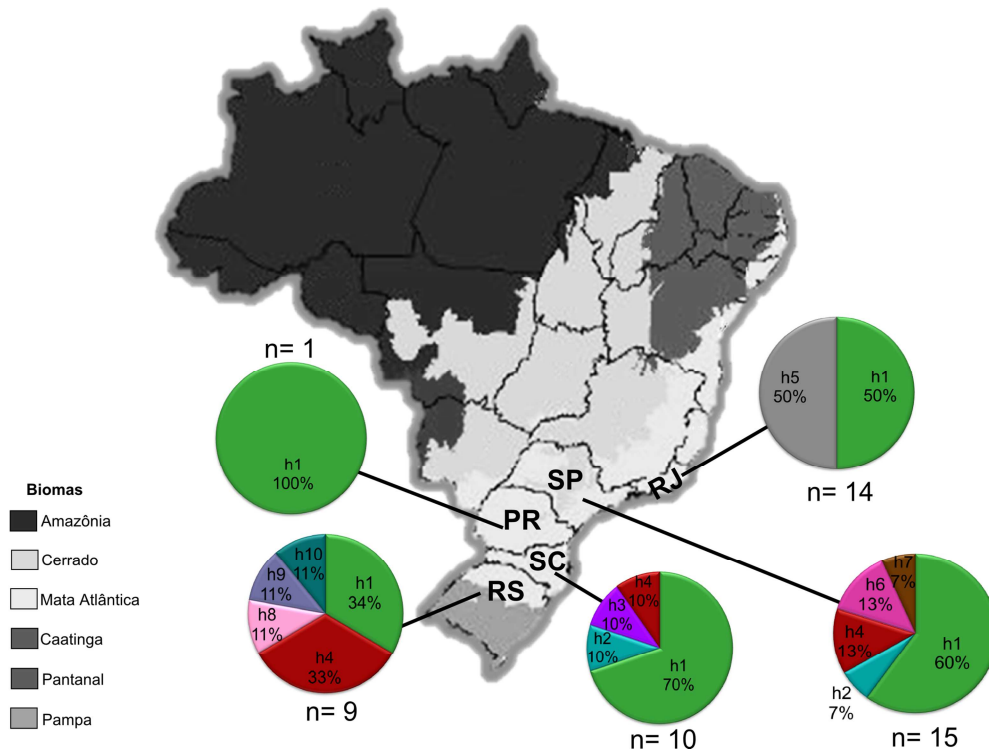


Figura 18. Distribuição dos 10 haplótipos (h1 ao h10) do gene citocromo oxidase subunidade II identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.

A análise das 82 sequências da região D-loop de *A. aureolatum* identificou a presença de 12 haplótipos (hA-hL). Desses haplótipos, o hA (o mais frequente, 70,73%) (RJ, RS, SC e SP) e o hB (7,31%) (PR, RJ, SC e SP) foram os compartilhados por mais populações. E, os haplótipos exclusivos de determinadas populações foram: hC e hD (SC), hE e hF (RJ), hG-hJ (SP), hK e hL (RS) (Tabela 33).

Tabela 33. Distribuição e frequência dos haplótipos da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica.

Populações	Ns	Haplótipos D-loop (447 pb)											
		hA	hB	hC	hD	hE	hF	hG	hH	hI	hJ	hK	hL
Paraná	1		1										
Rio de Janeiro	16	11	3			1	1						
Rio Grande do Sul	24	15										8	1
Santa Catarina	14	11	1	1	1								
São Paulo*	27	21	1					1	1	2	1		
Total	82	58	6	1	1	1	1	1	1	2	1	8	1
Frequência (%)	100,00	70,73	7,31	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	1,22	2,44	1,22	9,76	1,22

* Única população onde *Amblyomma aureolatum* é vetor comprovado de *Rickettsia rickettsii*; Ns= número de sequências.

As populações de *A. aureolatum* do RS e RJ tiveram valores de diversidade haplótica próximos (0,518 e 0,517, respectivamente), bem como observado para as populações de SC e SP (0,396 e 0,399, respectivamente). Com relação à diversidade nucleotídica observada, o maior valor foi registrado para a população do RS (0,0042) e o menor para SC (0,0009). Os sítios polimórficos variaram de três (RJ e SC) a seis (SP) (Tabela 31).

A população de *A. aureolatum* de SP foi a que apresentou a maior quantidade de haplótipos (seis), seguida pelas populações de SC e RJ (quatro). O haplótipo identificado na população do PR (hB) não foi o háplótipo compartilhado por todas as populações estudadas (Figura 19), como foi observado para os genes 12S rDNA e COII (Figuras 17 e 18).

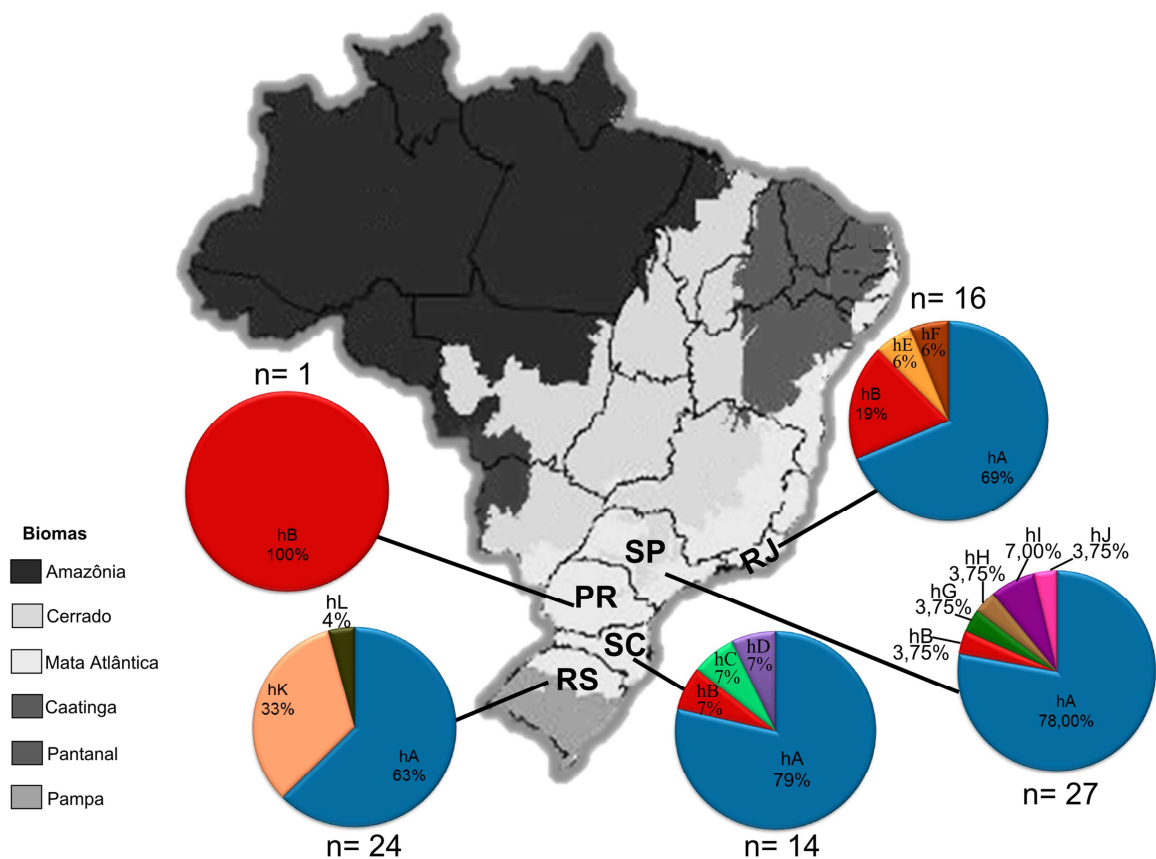


Figura 19. Distribuição dos 12 haplótipos (hA ao hL) da região D-loop identificados nas populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas, provenientes de diferentes unidades federativas do Brasil, do bioma Mata Atlântica, n= número amostral.

4.2.3.2 História evolutiva de *A. aureolatum* com base na rede de haplótipos

Na rede de haplótipos do gene 12S rDNA de *A. aureolatum*, todos os haplótipos foram geneticamente muito próximos, já que foram separados por uma a quatro mutações. O haplótipo hII foi o único encontrado em todas as populações, embora não tenha sido o mais frequente (hI). Dessa forma, é difícil inferir qual seria o haplótipo ancestral. Os haplótipos exclusivos da população do RS (hIII, hIV e hV) foram encontrados nas extremidades da rede, indicando que possivelmente são haplótipos recentes que surgiram por mutação de uma base dos haplótipos compartilhados por diversas populações (hI e hII) (Figura 20).

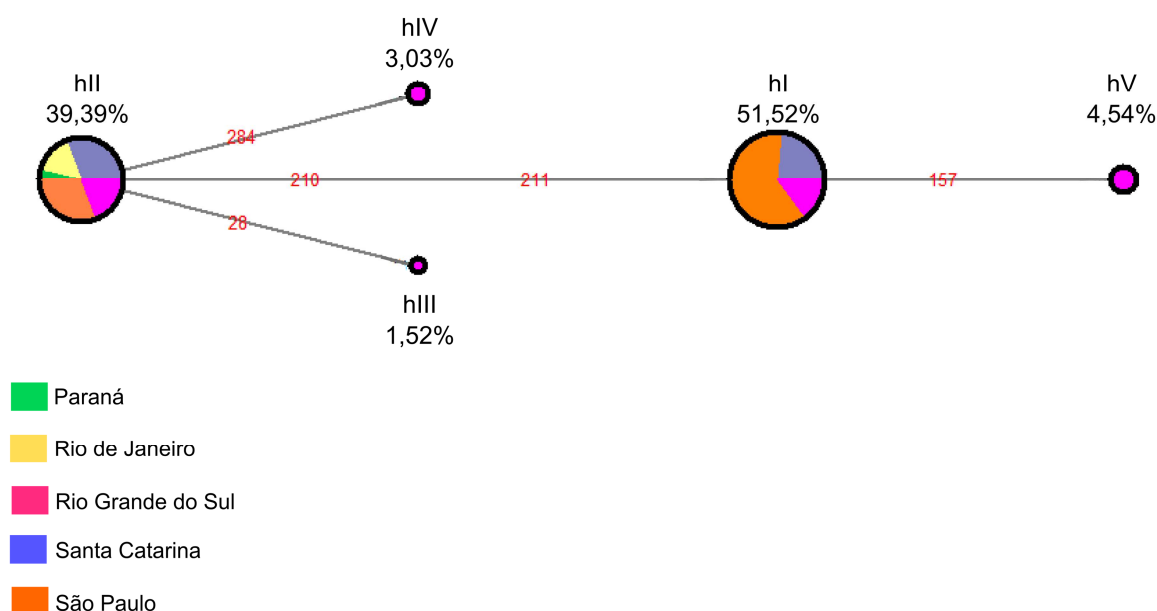


Figura 20. Rede de haplótipos do gene 12S rDNA de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais.

A topologia da rede de haplótipos do gene COII de *A. aureolatum* indica que, provavelmente, o hI é o haplótipo ancestral já que é o haplótipo central, compartilhado por todas as populações e o mais frequente. Essa rede tem um formato próximo ao de estrela, o que pode ser indicativo de expansão populacional para algumas populações de *A. aureolatum*, principalmente aquelas de SP, SC e RS, onde os haplótipos estão na extremidade da rede, com baixa frequência e

separados por poucas mutações do provável haplótipo ancestral. De forma geral, os haplótipos de *A. aureolatum* no COII foram geneticamente próximos, diferindo por uma a sete mutações. Há dois *median vectors* (mv) nessa rede (Figura 21).

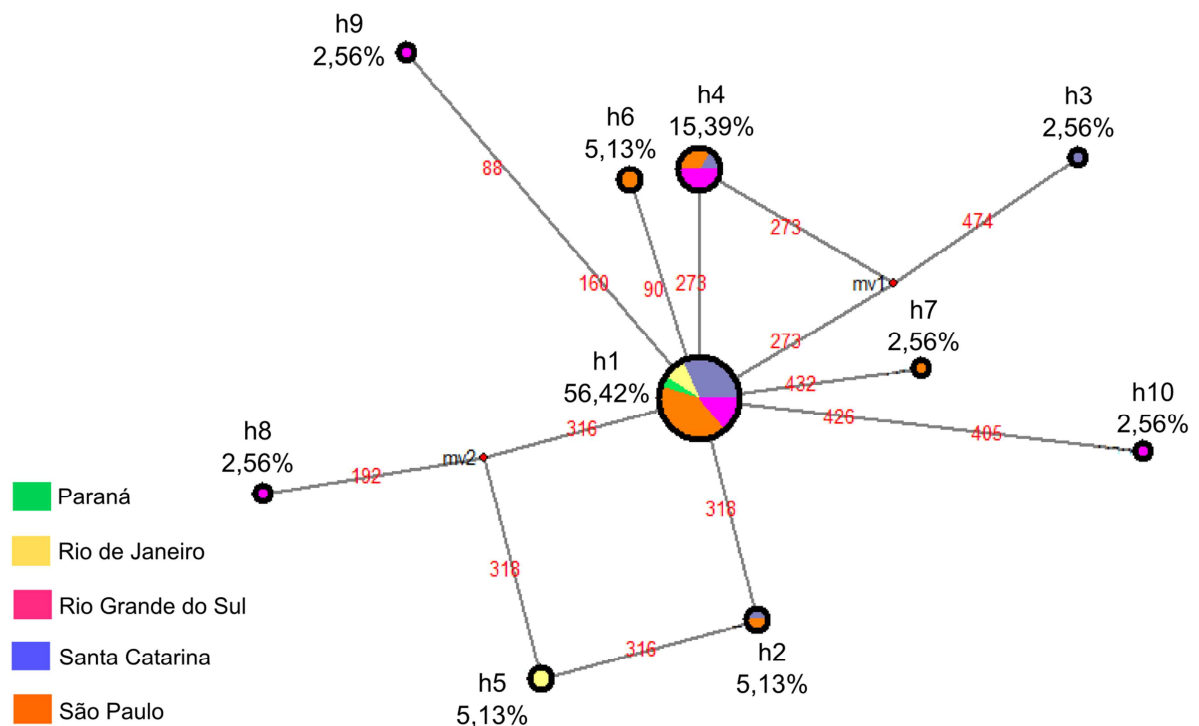


Figura 21. Rede de haplótipos do gene citocromo oxidase subunidade II de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais, e haplótipos não amostrados/ intermediários são indicados por círculo vermelho (mv- *median vectors*).

A rede de haplótipos do D-loop apresentou um haplótipo central (hA), encontrado na maioria das populações e o mais frequente. A partir de mutações nesse haplótipo, foram definidos todos os outros haplótipos observados. Portanto, o hA tende a ser o haplótipo ancestral. Pelos haplótipos diferirem por poucas mutações do hA, terem baixa frequência (a maioria) e construírem uma rede em formato de estrela pode ser indicativo de expansão populacional de *A. aureolatum* em algumas áreas estudadas (RJ, RS, SC e SP). O hK (RS) é o único haplótipo que está mais distante do haplótipo central (hA), quatro a seis mutações. Todos os outros haplótipos estão diretamente relacionados ao hA, separados por uma a três mutações. Não há *median vectors* (mv) nessa rede (Figura 22).

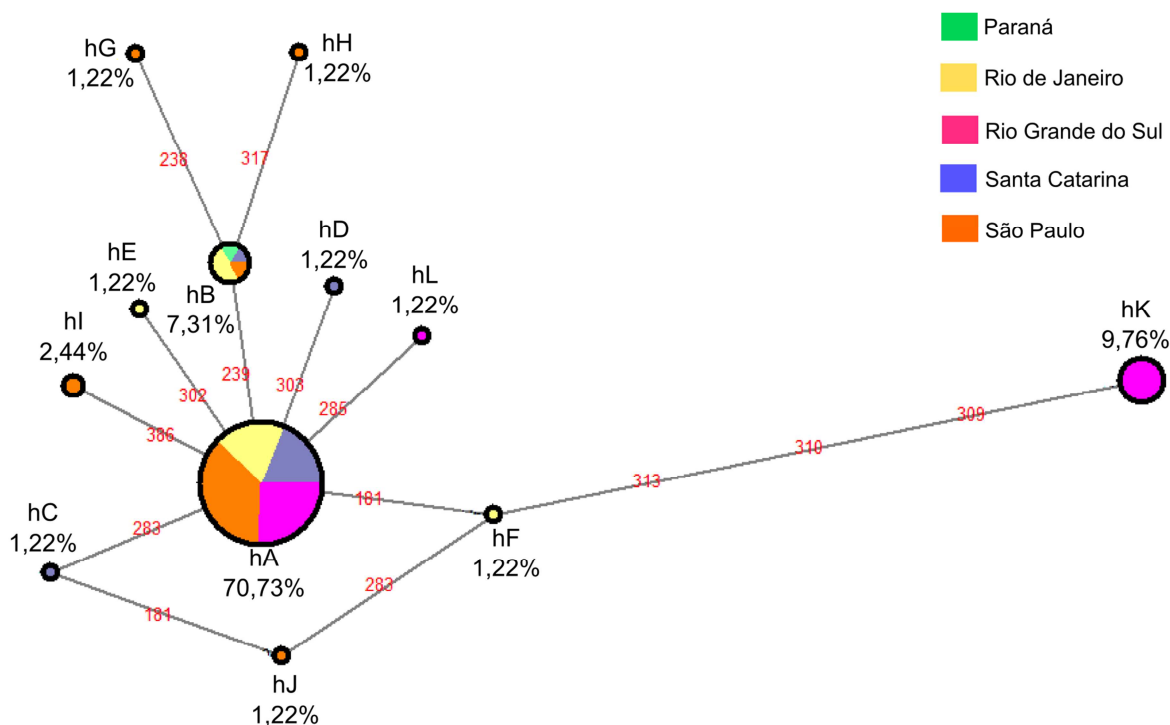


Figura 22. Rede de haplótipos da região D-loop de populações de *Amblyomma aureolatum*, de diferentes unidades federativas do Brasil do bioma Mata Atlântica, e suas frequências relativas, gerada pelo método de *median-joining* com pós-processamento pelo método de máxima parcimônia. O tamanho dos círculos corresponde a frequência de cada haplótipo, números em vermelho indicam passos mutacionais.

4.2.3.3 Dinâmica demográfica e diferenciação genética nas populações de *A. aureolatum* do Brasil

A população de SP, para a região D-loop, apresentou resultados significativos nos três testes de neutralidade realizados, bem como no gene COII para o teste F_s de Fu. Ainda para o D-loop, as populações de *A. aureolatum* de SC (F_s de Fu e D de Tajima) e RS (R_2) também apresentaram valores significativos. Esses resultados rejeitam a hipótese nula de neutralidade, e podem sugerir expansão nessas populações (Tabela 31).

Os resultados do F_{ST} na comparação par a par indicaram que apenas as populações de *A. aureolatum* de SP e do RS, para a região D-loop, apresentaram diferenciação genética significativa (Tabela 34).

A análise do F_{ST} par a par entre grupos demonstrou haver diferenciação genética significativa (no gene 12S rDNA e para a região D-loop) entre as populações de *A. aureolatum* de áreas (PR, RJ, RS e SC) onde esse ixodídeo não é

apontado como vetor do bioagente causador da FMB em relação à população de área (SP) onde esse carrapato é comprovadamente vetor de *R. rickettsii*. Porém, os valores observados de F_{ST} foram baixos (Tabela 35). O teste de Mantel indicou que a diferenciação genética não está associada à distância geográfica (Tabela 36).

Tabela 34. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre as populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas do Brasil.

Populações	Gene/ Região	Santa Catarina	Paraná	Rio de Janeiro	Rio Grande do Sul
Paraná	12S rDNA	-0,06667			
	COII	-0,94521			
	D-loop	0,59981			
Rio de Janeiro	12S rDNA	0,28889	<0,00001		
	COII	0,24063	-0,33333		
	D-loop	-0,00479	0,38650		
Rio Grande do Sul	12S rDNA	-0,02445	-0,27378	0,18256	
	COII	0,00023	-0,83623	0,13645	
	D-loop	0,21589	0,18337	0,21141	
São Paulo [†]	12S rDNA	0,05820	0,42857	0,55767	0,07944
	COII	-0,03058	-0,90566	0,28403	0,03192
	D-loop	-0,02429	0,41963	-0,01781	0,24069*

[†] Única população onde *Amblyomma aureolatum* é vetor comprovado de *Rickettsia rickettsii*; COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,005$ após a correção de Bonferroni).

Tabela 35. Estimativas de diferenciação genética, representadas pelos valores de F_{ST} na comparação par a par, entre os grupos delimitados de populações de *Amblyomma aureolatum* analisadas do Brasil.

População	Gene/ Região	Grupo I
Grupo II	12S rDNA	0,11693*
	COII	-0,00370
	D-loop	0,04977*

Grupo I- Amostras de unidades federativas do Brasil onde *Amblyomma aureolatum* não é apontado como vetor do bioagente causador da Febre Maculosa Brasileira (Paraná, Santa Catarina, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul); Grupo II- Amostras de unidade federativa do Brasil onde *Amblyomma aureolatum* é apontado como vetor do bioagente causador da Febre Maculosa Brasileira (São Paulo); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,05$).

Tabela 36. Teste de Mantel que avalia a associação entre as distâncias genéticas e geográficas nas populações de *Amblyomma aureolatum* estudadas do Brasil.

Teste de Mantel	12S rDNA	COII	D-loop
Coeficiente de regressão (b)	0,000034	0,000410	-0,000078
Coeficiente de correlação (r)	0,057847	0,354041	-0,159426
<i>P</i>	0,435	0,066	0,607

COII, citocromo oxidase subunidade II; Significativo ($P < 0,05$).

Entretanto, a AMOVA apontou que a maior parte da variância molecular (no 12S rDNA 85,92%, no COII 97,56% e no D-loop 85,59%) ocorreu dentro de cada população analisada de *A. aureolatum*. Esse resultado associado aos baixos e não significativos (na maioria) valores obtidos na estatística Φ sugerem ausência de estruturação populacional para *A. aureolatum* (Tabela 37).

Tabela 37. Análise de Variância Molecular (AMOVA) para as sequências genéticas analisadas dos genes 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop de grupos e populações de *Amblyomma aureolatum* estudadas do Brasil.

Análise	Gene/ Região analisado		
		AMOVA	(Estatística Φ)
Entre grupos	12S rDNA	6,67%	(-0,067)
Entre populações dentro dos grupos	COII	7,41%	(0,079)
Dentro das populações	D-loop	85,92%	(-0,141)

Grupo I- Amostras de unidades federativas do Brasil onde *Amblyomma aureolatum* não é apontado como vetor do bioagente causador da Febre Maculosa Brasileira (Paraná, Santa Catarina, Rio de Janeiro e Rio Grande do Sul); Grupo II- Amostras de unidade federativa do Brasil onde *Amblyomma aureolatum* é apontado como vetor do bioagente causador da Febre Maculosa Brasileira (São Paulo); COII, citocromo oxidase subunidade II; *Significativo ($P < 0,0001$).

4.3 Análises filogenéticas dos carrapatos

4.3.1 *A. cajennense* s.l.

Com base no gene COII e na região D-loop, as amostras de *A. cajennense* s.s. identificadas no TO são filogeneticamente mais próximas as amostras dessa espécie da Guiana Francesa e Venezuela do que as do Brasil (Rondônia) (Figuras 23 e 24).

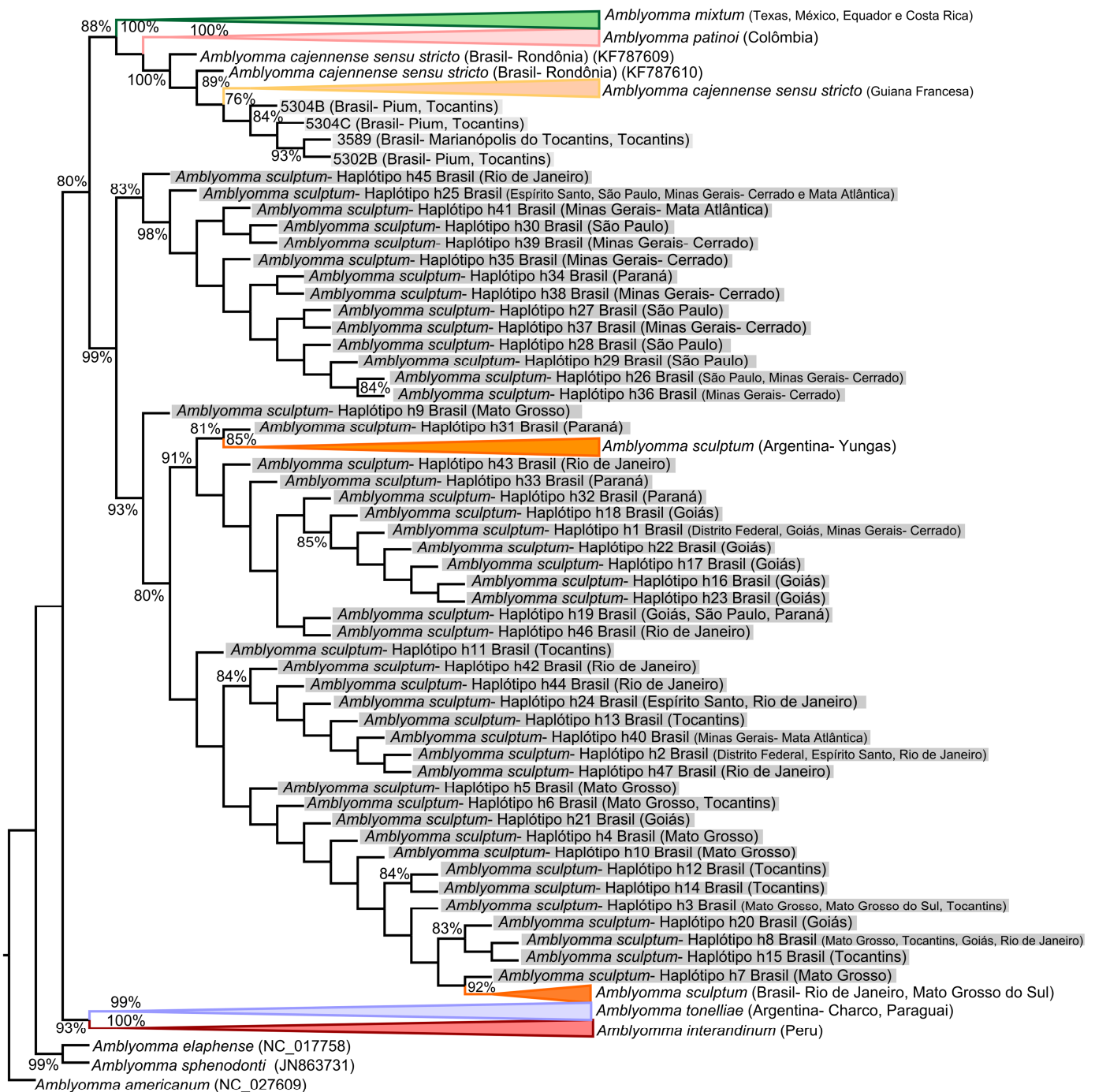


Figura 23. Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo HKY+G, para sequências parciais (561 pb) do gene citocromo oxidase subunidade II, representando as relações entre os 47 haplótipos (h1-h47) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% cut-off).

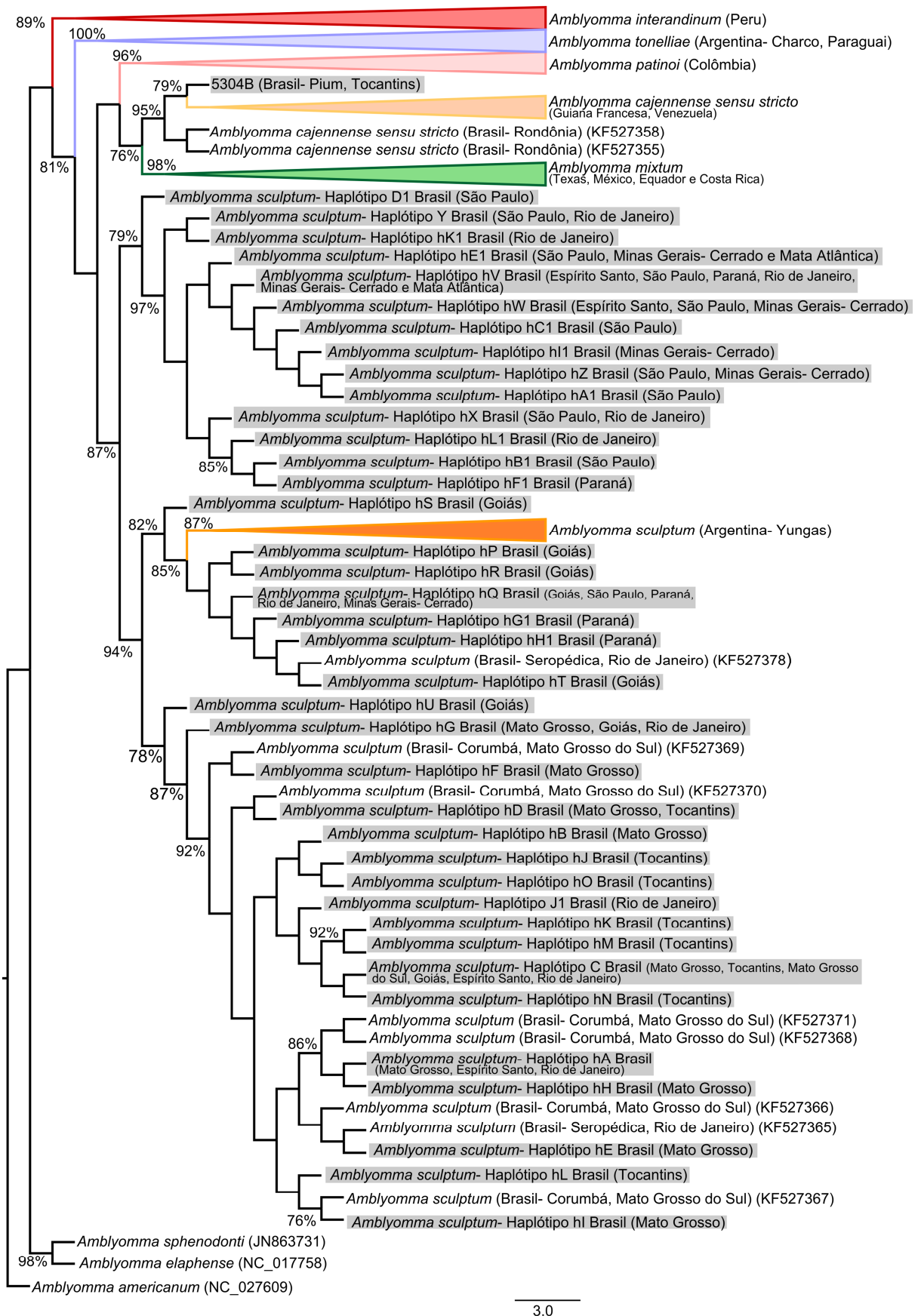


Figura 24. Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, para sequências parciais (480 pb) da região D-loop, representando as relações entre os 38 haplótipos (hA-hL1) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).

Todos os haplótipos submetidos às análises de genética de populações agruparam com sequências de *A. sculptum* do *GenBank*. Nas análises do 12S rDNA, os haplótipos I e II estudados de *A. sculptum* apresentaram 100% de identidade com outras sequências dessa espécie, provenientes do Brasil, depositadas no *GenBank* (EU791609 e EU791612). Na filogenia inferida para o 12S rDNA a maior parte dos haplótipos do PR (Mata Atlântica), e haplótipos de SP (Mata Atlântica) e GO (Cerrado) agruparam com as amostras de *A. sculptum* coletadas em áreas úmidas da Argentina (Yungas). Os demais haplótipos de *A. sculptum* analisados no atual trabalho formaram clados com amostras do *GenBank* oriundas de áreas de Mata Atlântica e Cerrado do Brasil. De acordo com a topologia da árvore do 12S rDNA, não há nenhuma estruturação evidente de *A. sculptum* associada aos biomas estudados (Figura 25).

Na filogenia do COII, amostras de *A. sculptum* da Argentina aparecem entre os haplótipos do Brasil, e tem como grupo irmão *A. sculptum* do PR. Nessa árvore do COII é possível observar dois grandes agrupamentos para *A. sculptum*: um grupo onde estão inseridas amostras dessa espécie da Argentina e também a maior parte dos haplótipos do Cerrado, e outro grupo com predomínio de amostras da Mata Atlântica, entretanto esses grupos não são exclusivos para esses biomas (Figura 23).

Na inferência filogenética do D-loop, assim como na do COII, alguns agrupamentos são observados para as amostras de *A. sculptum*: 1- exemplares da Argentina junto com amostras do Brasil provenientes de GO, SP, PR, RJ e MG-Cerrado; 2- grande parte dos haplótipos identificados do Cerrado juntamente com sequências do *GenBank* da Mata Atlântica e Cerrado; e 3- apenas haplótipos detectados no atual trabalho, em sua maioria coletados em área de Mata Atlântica (Figura 24).

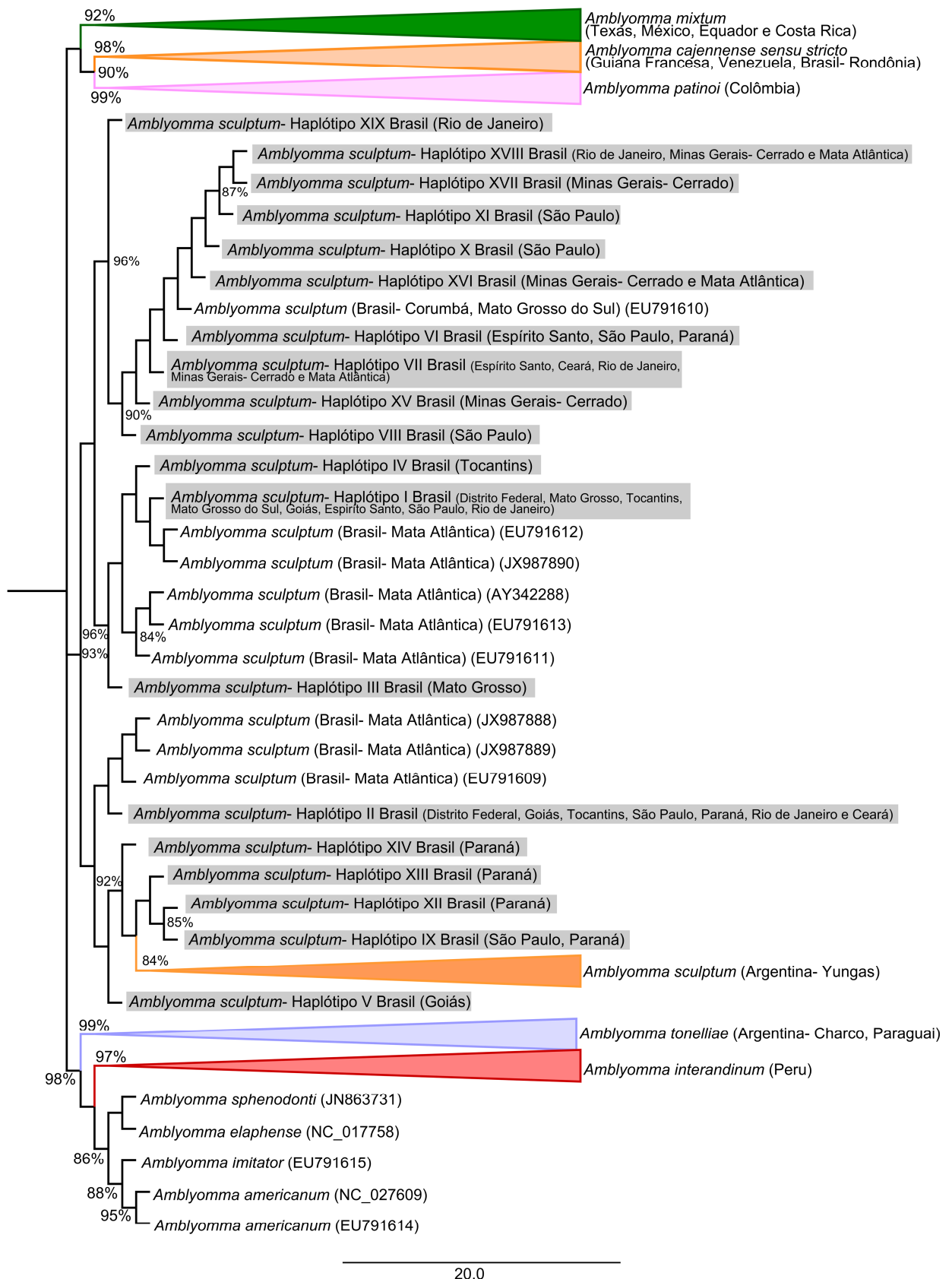


Figura 25. Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, para sequências parciais (399 pb) do gene 12S rDNA, representando as relações entre os 19 haplótipos (hl-hXIX) de *Amblyomma sculptum* identificados no Brasil e as espécies do complexo *Amblyomma cajennense* de diferentes locais das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% cut-off).

4.3.2 *A. ovale*

Na análise filogenética concatenada, dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, de todos os espécimes de *A. ovale* analisados no presente estudo é possível observar um grupo de *A. ovale* para o Cerrado e Caatinga e outro para a Mata Atlântica. Todos esses agrupamentos tiveram alto apoio estatístico (100%) (Figura 26).

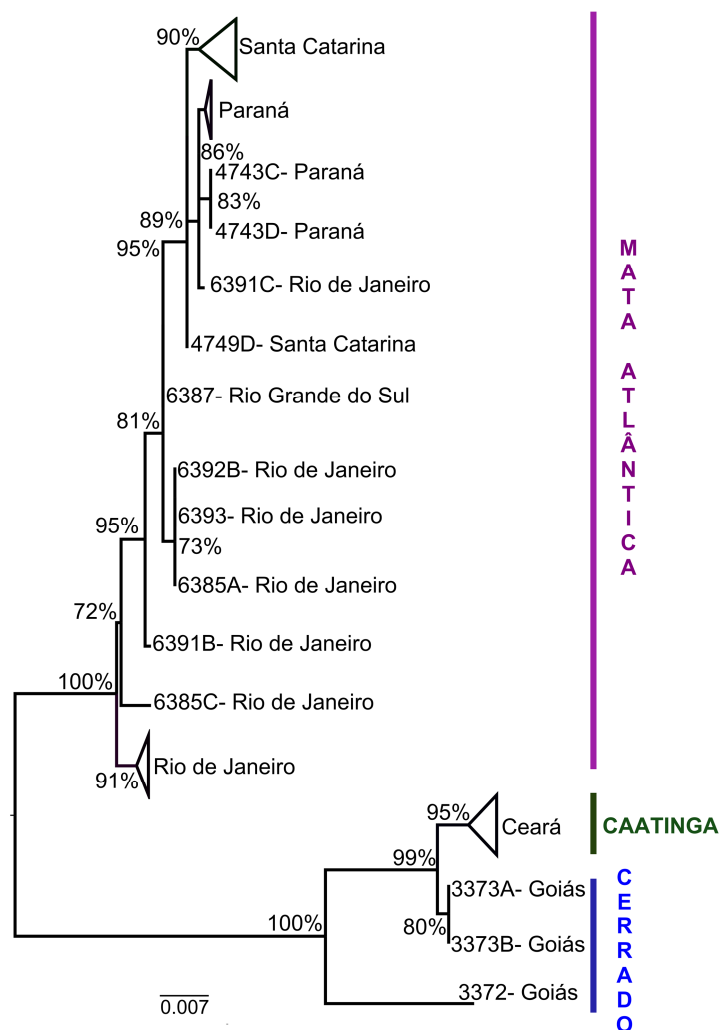


Figura 26. Filogenia concatenada, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, de sequências parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop (367 pb+ 473 pb+ 455 pb) de *Amblyomma ovale*. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% cut-off).

Na filogenia do gene 16S rDNA de *A. ovale*, as sequências geradas no atual trabalho provenientes da Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga ficaram em grupos definidos de acordo com esses biomas. Entretanto, o agrupamento de acordo com os biomas não foi observado para as sequências de *A. ovale* originárias do

GenBank. Também não foi possível observar o agrupamento dos espécimes de *A. ovale* de acordo com a área geográfica (Figura 27).

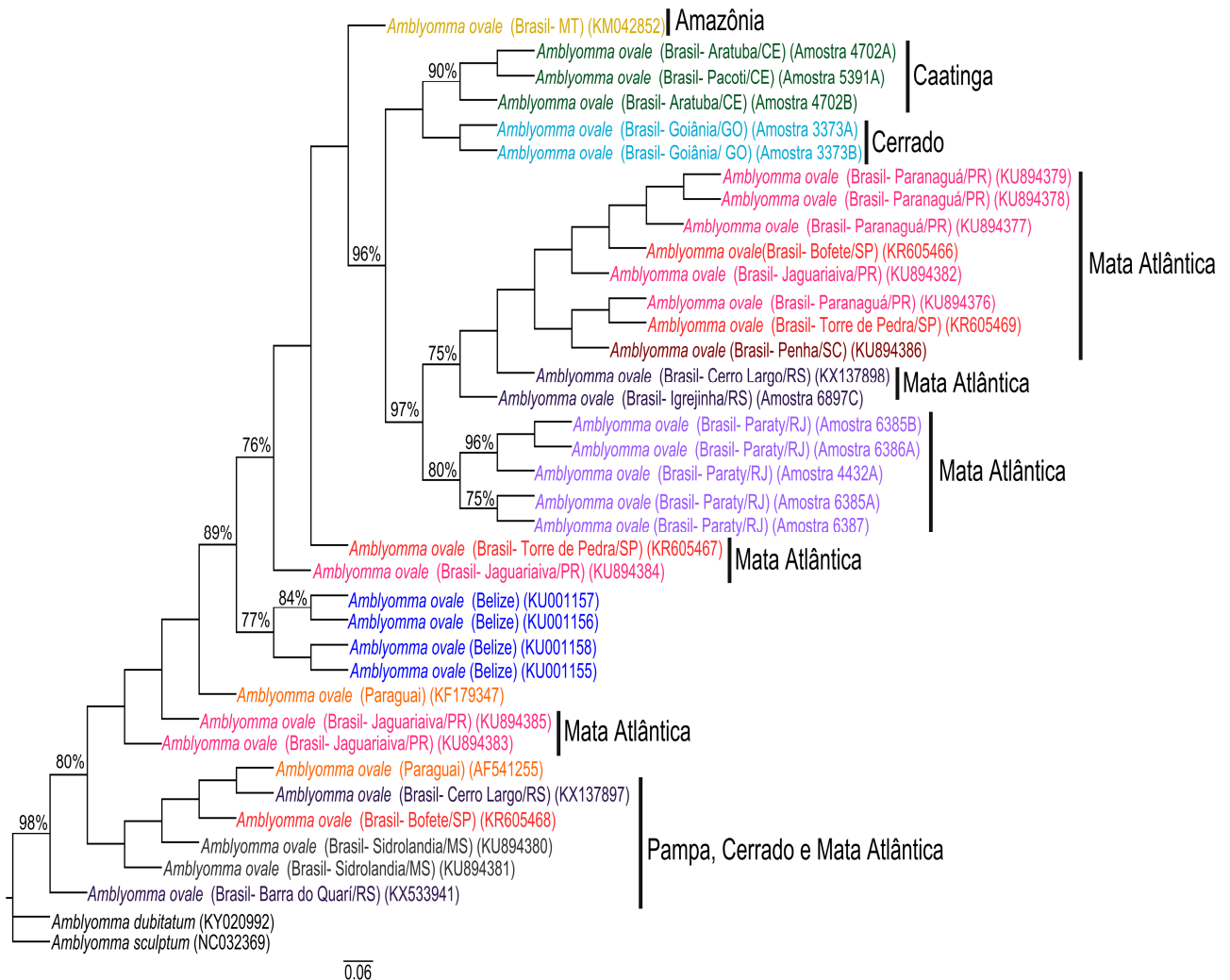


Figura 27. Filogenia, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+I, de sequências parciais do gene mitocondrial 16S rDNA (409 pb) de *Amblyomma ovale* de diferentes locais do Brasil e das Américas. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).

4.3.3 *A. aureolatum*

A inferência filogenética concatenada, dos genes 12S rDNA, COII e da região D-loop, de todas as sequências obtidas para *A. aureolatum* não indicou nenhum agrupamento de acordo com a área de procedência da amostra, ou mesmo de acordo com o contexto epidemiológico da região onde o carrapato foi coletado. Dessa forma, amostras de SP (onde *A. aureolatum* é reconhecidamente vetor de *R.*

rickettsii) agruparam com amostras de outros locais de coleta (onde esse ixodídeo não é apontado como vetor do bioagente da FMB; RJ, RS, PR e SC) (Figura 28).

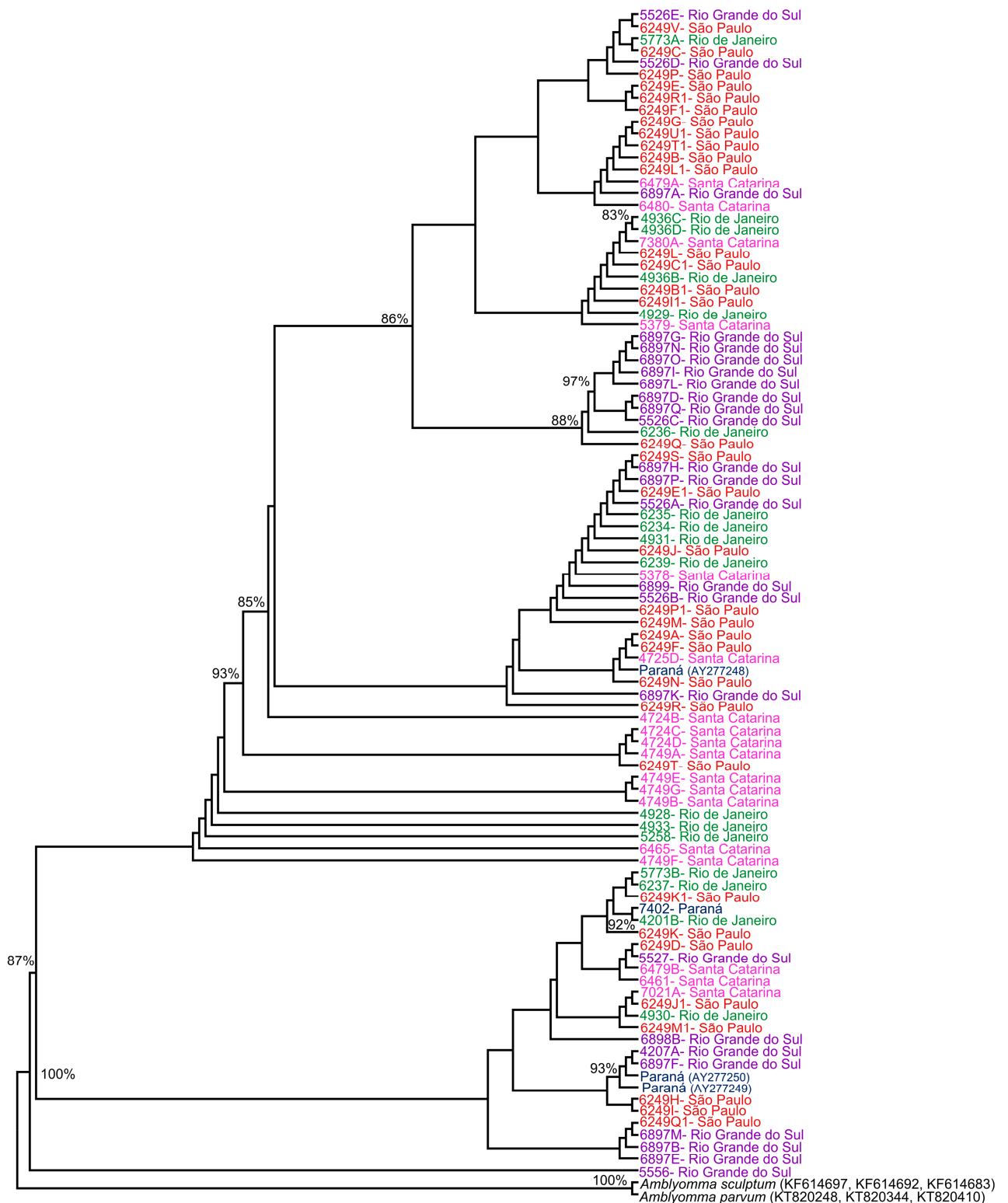


Figura 28. Cladograma, inferido por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G, de sequências concatenadas parciais dos genes mitocondriais 12S rDNA, citocromo oxidase subunidade II e da região D-loop (372 pb+ 485 pb+ 447 pb) de *Amblyomma aureolatum*. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% cut-off).

4.4 Análises das riquétsias detectadas

4.4.1 Riquétsias detectadas em *A. sculptum*

A infecção por riquétsia foi confirmada pela amplificação de fragmentos dos genes: *gltA*, *htrA*, *ompA* e *gene D* em uma fêmea do TO (amostra 5303A; COII h8, D-loop hC), *htrA* em uma fêmea de GO (amostra 6132; COII h1), e *ompA* em outra fêmea de GO (amostra 6340I; COII h1) em área de Cerrado; *gltA* em uma fêmea do PR (amostra 4955C; COII h32), e *htrA* em um macho (amostra 6418C; COII h19, D-loop hQ) e uma fêmea (amostra 6421A; COII h19, D-loop hQ) do PR em área de Mata Atlântica (Tabela 38). Não foi detectado fragmento de gene de riquétsia nas amostras de *A. cajennense* s.s. processadas.

O resultado da identificação (similaridade), utilizando o BLASTN, das amostras que amplificaram fragmentos de genes de riquétsias está na Tabela 38. Na reconstrução filogenética (Figura 29), essas amostras agruparam com as mesmas espécies de riquétsias com as quais tiveram similaridade. Assim sendo, podemos inferir que no Cerrado *A. sculptum* foi encontrado infectado com *R. amblyommatis*, *R. felis* e *Ca. R. andeanae*; e na Mata Atlântica com *Candidatus Rickettsia asemboensis* e *R. felis*.

4.4.2 Riquétsias detectadas em *A. ovale*

Foram amplificados fragmentos dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e *ompB* de riquétsias em 18 amostras de machos e fêmeas de *A. ovale* provenientes da Caatinga (CE). Nas amostras de *A. ovale* coletadas em área de Mata Atlântica foi detectada presença de fragmento do gene *gltA* em macho desse ixodídeo no PR, em oito amostras de *A. ovale* de SC foi observada a presença dos genes *gltA*, *htrA* e *ompA*, e em macho dessa espécie do RJ foi amplificado fragmento do gene *htrA* de riquétsia (Tabela 39).

A partir da utilização do algoritmo BLASTN, que avalia a similaridade entre sequências presentes no banco de dados *GenBank*, oito amostras da Caatinga, que amplificaram fragmento de gene de riquétsia, tiveram entre 98-99% de identidade com *R. bellii*; e 10 amostras apresentaram 99-100% de identidade com *R. parkeri* / *R. sibirica* / *R. africae* / *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica. Do bioma Mata Atlântica, seis amostras tiveram 99-100% de identidade com *R. parkeri* / *R. sibirica* / *R. africae*

/ *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica / *R. rickettsii*; três amostras apresentaram 100% de identidade com *Ca. R. asemboensis*; e uma amostra exibiu 100% de identidade com *R. felis* (Tabela 39).

A maior parte dos espécimes de *A. ovale* que foram detectados com riquetsias na Caatinga e Mata Atlântica pertencem aos haplótipos mais frequentes para as populações de *A. ovale* desses biomas: Caatinga hVI (12S rDNA), h8 (COII) e hB (D-loop); Mata Atlântica em SC e PR- hl e hII (12S rDNA), h3 (COII) e hA (D-loop); e para o RJ o hXIV (12S rDNA) e hF (D-loop). Para um mesmo bioma, a mesma espécie de riquetsia foi encontrada em diferentes haplótipos e um mesmo haplótipo foi encontrado com diferentes espécies de riquetsia (Tabela 39).

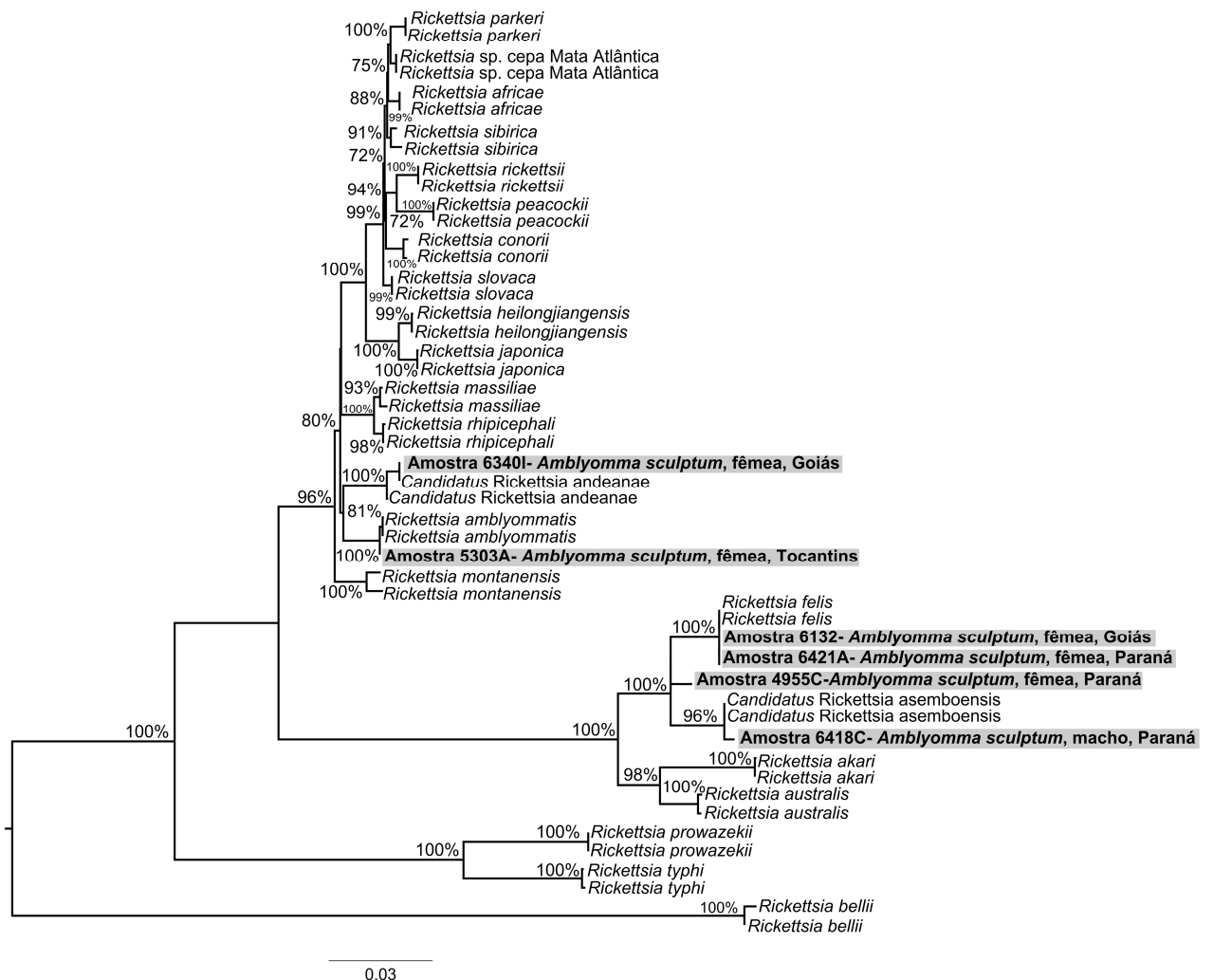


Figura 29. Filogenia concatenada de fragmento dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA* e gene D (*sca4*) de riquetsia (405 pb+ 411 pb+ 516 pb+ 719 pb) detectados em *Amblyomma sculptum* no Brasil, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo GTR+G. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).

Tabela 38. Dados das amostras de *Amblyomma sculptum* que amplificaram fragmentos de genes de riquetsias, e a identificação molecular dessas riquetsias através do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*).

Espécie	Bioma	Unidade Federativa	Dados do carrapato vetor				Dados da riquetsia detectada no carrapato					
			Amostra	Estádio/ Sexo	Hospedeiro	Haplótipo		Gene da riquetsia	Identidade			Número de acesso GenBank
						12S rDNA	COII D-loop		Espécie	%		
A m b l y o m m a	Cerrado	Tocantins	5303A	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	-	h8	hC	<i>gltA</i>	<i>Candidatus</i> <i>Rickettsia amblyommii</i> strain Ac37	100%	CP012420
									<i>htrA</i>	<i>Candidatus</i> <i>Rickettsia amblyommii</i> strain Ac37	99%	CP012420
									<i>ompA</i>	<i>Candidatus</i> <i>Rickettsia amblyommii</i> clone Mato Grosso 3	100%	KT722804
	Goiás	6132	Fêmea	Ambiente	-	h1	-	<i>htrA</i>	<i>Rickettsia felis</i> URRWXCα2	100%	CP000053	
								<i>ompA</i>	<i>Candidatus</i> <i>Rickettsia andeanae</i> isolate Agripino Enciso	99%	KF179352	
									<i>gltA</i>	<i>Rickettsia</i> sp. <i>Candidatus</i> <i>Rickettsia asemboensis</i>	99%	JN982949
Mata Atlântica	Paraná	4955C	Fêmea	Ambiente	-	h32	-	<i>gltA</i>	<i>Rickettsia</i> sp. SE313 17 kD antigen protein gene	99%	JN315968	
								<i>htrA</i>	<i>Rickettsia</i> sp. cf1and5 17 kDa antigen gene	99%	AY953286	
									<i>htrA</i>	<i>Rickettsia felis</i> URRWXCα2	100%	CP000053

Tabela 39. Dados das amostras de *Amblyomma ovale* que amplificaram fragmentos de genes de riquetsias, e a identificação molecular dessas riquetsias através do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*).

		Dados do carrapato vetor					Dados da riquetsia detectada no carrapato										
Espécie	Bioma	Unidade Federativa	Amostra	Estádio/ Sexo	Hospedeiro	Haplótipo			Gene da riquetsia	Identidade							
						12S rDNA	COII	D-loop									
									Espécie	%	Número de acesso Genbank						
A m b l y o m m a o v a l e	Caatinga	Ceará	4299	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778					
										<i>Rickettsia parkeri</i>		CP003341					
										<i>Rickettsia africae</i>		HQ335126					
									<i>htr A</i>	<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica		99%	KJ855084				
						<i>omp B</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	99%	CP003341								
						<i>omp A</i>	<i>Rickettsia africae</i>	99%	CP001612								
										<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778				
										<i>Rickettsia parkeri</i>	CP003341						
										<i>Rickettsia africae</i>	HQ335126						
										<i>omp A</i>	<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Ubatuba		100%	KJ174528			
						4702A	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVIII	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	98%	CP000087		
						4702B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087		
						4708B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087		
						4709B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVII	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087		
						4963A	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	–	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778		
												<i>omp B</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>		99%	CP003341	
												<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778		
												<i>Rickettsia parkeri</i>	HQ335126				
						4966B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h9	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	CP003341		
													<i>Rickettsia parkeri</i>		HQ335126		
													<i>htr A</i>		<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	99%	KJ855084
													<i>omp B</i>		<i>Rickettsia parkeri</i>	99%	CP003341
												<i>omp A</i>	<i>Rickettsia africae</i>	99%	CP001612		
						5391A	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	–	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	98%	CP000087		
						5391C	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h8	–	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087		
						5398A	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778		
				<i>Rickettsia parkeri</i>	CP003341												
									<i>Rickettsia africae</i>	HQ335126							
			5398B	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778					
										<i>Rickettsia parkeri</i>		CP003341					
										<i>Rickettsia africae</i>		HQ335126					
										<i>htr A</i>		<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	99%	KJ855084			
									<i>omp B</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	99%	CP003341					
			5398C	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h9	hB	<i>htr A</i>	<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	99%	KJ855084					
			5407	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778					
										<i>Rickettsia parkeri</i>		CP003341					
										<i>Rickettsia africae</i>		HQ335126					
										<i>htr A</i>		<i>Rickettsia rickettsii</i>	99%	DQ176856			
									<i>omp B</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	99%	CP003341					
									<i>omp A</i>	<i>Rickettsia africae</i>	99%	CP001612					
			5438B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h9	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087					
			5440B	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hVI	–	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778					
										<i>Rickettsia parkeri</i>		CP003341					
										<i>Rickettsia africae</i>		HQ335126					
										<i>htr A</i>		<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	99%	KJ855084			
									<i>omp B</i>	<i>Rickettsia parkeri</i>	99%	CP003341					
			5440D	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h8	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i>	100%	KX227778					
										<i>Rickettsia parkeri</i>		CP003341					
									<i>Rickettsia africae</i>	HQ335126							
									<i>htr A</i>	<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	99%	KJ855084					
			5442A	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hVI	h12	hB	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087					

Tabela 39. Dados das amostras de *Amblyomma ovale* que amplificaram fragmentos de genes de riquétsias, e a identificação molecular dessas riquétsias através do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*) (continuação).

Espécie	Bioma	Dados do carrapato vetor					Dados da riquétsia detectada no carrapato					
		Unidade Federativa	Amostra	Estádio/ Sexo	Hospedeiro	Haplótipo			Gene da riquétsia	Identidade		Número de acesso Genbank
						12S rDNA	COII	D-loop		Espécie	%	
A m b l y o m m a o v a l e	Mata Atlântica	Paraná	4741G	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hll	h5	hA	<i>glt A</i>	<i>Rickettsia sibirica</i> <i>Rickettsia parkeri</i> <i>Rickettsia africae</i>	100%	KX227778 CP003341 HQ335126
			4713A	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hl	h3	hA	<i>glt A</i>	<i>Candidatus Rickettsia asemboensis</i>	100%	KX196267
			4716	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hl	h3	hA	<i>glt A</i>	<i>Candidatus Rickettsia asemboensis</i>	100%	KX196267
		4287B	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hlll	h3	hA	<i>htr A</i>	<i>Rickettsia</i> sp. Aa46 (<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica)	100%	KJ855084	
		4711A	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hl	-	hA	<i>htr A</i>	<i>Rickettsia rickettsii</i>	99%	DQ176856 KJ855084	
									<i>Rickettsia</i> sp. cepa Mata Atlântica	100%		
		4711B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hll	h3	hA	<i>omp A</i>	<i>Rickettsia africae</i>	99%	CP001612	
									<i>Rickettsia parkeri</i> cepa Ubatuba	100%	KJ174528	
		4718	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hl	-	-	<i>omp A</i>	<i>Rickettsia</i> sp., provavelmente <i>Candidatus Rickettsia asemboensis</i>	100%	AY953286	
		4719B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hll	-	-	<i>htr A</i>	<i>Rickettsia africae</i>	99%	CP001612	
4749D	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	-	h6	hA	<i>omp A</i>	<i>Rickettsia felis</i>	100%	CP000053			
4434B	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hXIV	-	hF	<i>htr A</i>	<i>Rickettsia felis</i>	100%	CP000053			

4.4.3 Riquétias detectadas em *A. aureolatum*

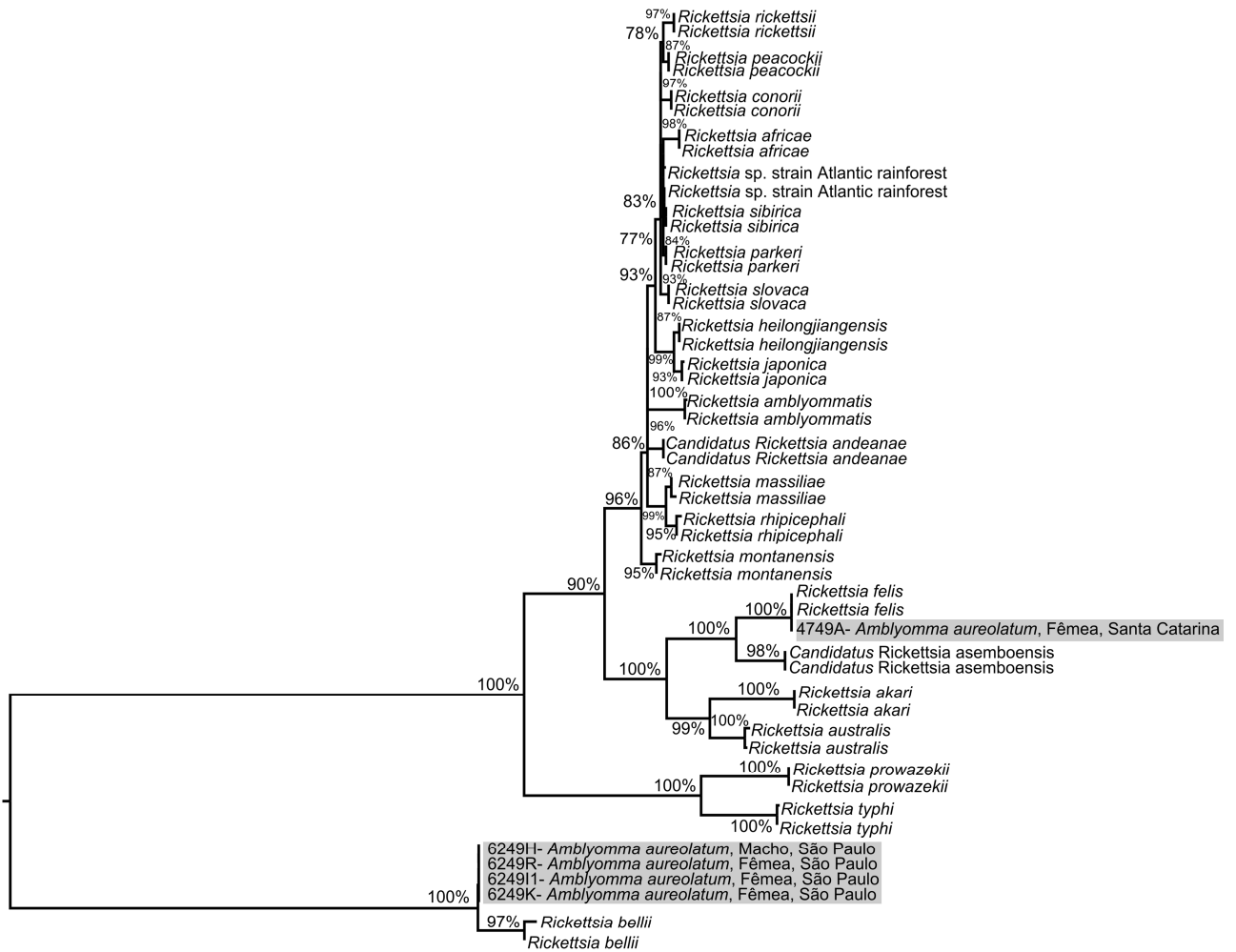
Foi detectado fragmento do gene *gltA* em quatro amostras de *A. aureolatum* de SP, e a presença de fragmento do gene *htrA* foi observada em duas amostras de SP e em uma de SC. Todas as amostras de *A. aureolatum* de SP infectadas com riquétia tiveram 99-100% de identidade com sequências de *R. bellii* disponíveis no *GenBank*. A amostra de SC demonstrou 100% de identidade com *R. felis* do *GenBank* (Tabela 40).

Diferentes haplótipos de *A. aureolatum* em SP, em todos os genes analisados, foram identificados com a *R. bellii*. Em SC, os haplótipos do *A. aureolatum* infectados com *R. felis* corresponderam a alguns dos haplótipos desse ixodídeo encontrados infectados com *R. bellii* em SP (Tabela 40).

Na reconstrução filogenética, as amostras de *A. aureolatum* que amplificaram fragmentos de genes de riquétias ficaram no mesmo clado com as espécies de riquétia com as quais tiveram identidade, através de busca no BLASTN. O valor de apoio estatístico desses cladogramas, das sequências de riquétias detectadas no atual trabalho e as sequências do *GenBank*, foi de 100% (Figura 31).

Tabela 40. Dados das amostras de *Amblyomma aureolatum* que amplificaram fragmentos de genes de riquétias, e a identificação molecular dessas riquétias através do BLASTN (*Basic Local Alignment Search Tool- Nucleotide*).

Espécie	Bioma	Unidade Federativa	Dados do carrapato vetor			Haplótipo		Gene da riquétia	Dados da riquétia detectada no carrapato				
			Amostra	Estádio/ Sexo	Hospedeiro	12S rDNA COII D-loop			Espécie	Identidade	Número de acesso <i>GenBank</i>		
<i>Amblyomma aureolatum</i>	Mata Atlântica	São Paulo	6249H	Macho	<i>Canis familiaris</i>	hII	h1	hA	<i>gltA</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087	
									<i>htrA</i>	<i>Rickettsia bellii</i> cepa Mogi	100%	DQ115891	
			6249K	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hII	h1	hB	<i>gltA</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087	
			6249R	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hI	h4	hA	<i>gltA</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087	
										<i>htrA</i>	<i>Rickettsia bellii</i> cepa Mogi	100%	DQ115891
			6249I1	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hI	-	hA	<i>gltA</i>	<i>Rickettsia bellii</i>	99%	CP000087	
	Santa Catarina	4749A	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	hI	h1	hA	<i>htrA</i>	<i>Rickettsia felis</i> URRWXCal2	100%	CP000053		



0.02

Figura 31. Filogenia concatenada de fragmento dos genes *gltA* e *htrA* de riquétisia (405 pb+ 411 pb) detectados em *Amblyomma aureolatum* no Brasil, inferida por análise de máxima verossimilhança com modelo evolutivo T92+G. Os números nos ramos indicam valores de apoio estatístico (70% *cut-off*).

5 DISCUSSÃO

Há poucos estudos sobre a diversidade genética intraespecífica de ixodídeos vetores de patógenos para humanos. A análise das três espécies (*A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum*) que são incriminadas como principais vetores dos bioagentes da FM no Brasil apresentaram resultados distintos entre si, com relação à diversidade genética intraespecífica e estruturação populacional. Porém, nas três espécies estudadas não foi observada relação entre os haplótipos identificados, com os marcadores mitocondriais avaliados, e a detecção de riquetsias nesses carrapatos. O que ressalta a complexidade dos cenários ecoepidemiológicos da FM existentes no Brasil.

5.1 *A. sculptum*

O número de haplótipos (19- 47) identificados para *A. sculptum* no Brasil foi maior do que previamente relatado (Burkman 2009; Bitencourth et al. 2016). Foram observados haplótipos exclusivos para as populações dos biomas Mata Atlântica e Cerrado, e também haplótipos compartilhados entre as populações desses biomas (Figuras 5-7; Tabelas 11, 13 e 14). De forma geral, as populações de *A. sculptum* no Cerrado têm haplótipos exclusivos em baixa frequência, e que diferem uns dos outros por poucos passos mutacionais (com exceção da população de MG- Cerrado) (Figuras 8-10), o que resultou em altos valores de diversidade haplotípica e baixos valores de diversidade nucleotídica para as populações desse bioma (Tabela 12). Esses resultados podem ser indicativos de uma rápida expansão populacional de *A. sculptum* no Cerrado (Tajima 1989).

Em algumas populações de *A. sculptum* da Mata Atlântica (principalmente SP, PR e RJ), apesar de também terem sido observados haplótipos exclusivos, alguns deles em baixa frequência e diferindo em poucas mutações de outros haplótipos, essas populações apresentaram altos valores de diversidade haplotípica e nucleotídica (Figuras 5-10, Tabelas 11-14). Esse resultado difere do observado para a maioria das populações de *A. sculptum* do Cerrado, e como já observado anteriormente para amostras de *A. sculptum* provenientes de área de Mata Atlântica (Bitencourth et al. 2016).

Entre as estatísticas comumente utilizadas para avaliar a dinâmica demográfica populacional, os testes de neutralidade F_s de F_u e R_2 estão entre os mais apropriados para detectar crescimento populacional. Desses, o R_2 é mais indicado para análise de populações pequenas, enquanto o F_s de F_u é mais adequado para populações maiores (Ramos-Onsins e Rozas 2002). Dessa forma, os testes de neutralidade indicaram que as populações de *A. sculptum* do MT, MG-Cerrado, TO e GO, no Cerrado, estão expandindo (Tabela 12), corroborando os resultados discutidos no primeiro parágrafo para esse bioma. Entretanto, os resultados dos testes de neutralidade diferem dos obtidos por Beati et al. (2013), onde não foi observada expansão populacional para nenhuma espécie do complexo *A. cajennense*, o que os autores usaram como justificativa para a estabilidade populacional, por longos períodos, dessas espécies.

Áreas mais propensas a mudanças climáticas e degradação ambiental podem favorecer o estabelecimento e expansão de espécies de carrapatos vetores (Monzón et al. 2011; Khatchikian et al. 2015; Monzón et al. 2016). Nesse sentido, o Cerrado é um dos biomas brasileiros mais ameaçados pela degradação ambiental. Depois da Mata Atlântica, é o segundo bioma mais impactado no Brasil em termos de extensão e impacto das ações humanas e da agricultura em sua vegetação e bens naturais e serviços (Brasil 2016). Esses fatores podem auxiliar no entendimento das evidências de expansão observadas de algumas populações de *A. sculptum* nesse bioma. Adicionalmente, Martins et al. (2016a) destacaram a possibilidade de expansão de *A. sculptum* no bioma Amazônia. De acordo com esses autores, essa expansão provavelmente estaria associada à contínua degradação da floresta amazônica, e substituição da cobertura original por vegetação que é encontrada em área de Cerrado, favorecendo a existência de habitats adequados para a presença de hospedeiros, e, conseqüentemente, o estabelecimento de populações de *A. sculptum*. Isso pode ser reforçado por estudo de populações de *A. sculptum* em área de Mata Atlântica (Bitencourth et al. 2016), bem como com os resultados observados para esse bioma no presente trabalho. Os registros de *A. sculptum* na Mata Atlântica estão geralmente associados a áreas de degradação da cobertura vegetal original da floresta (Szabó et al. 2009; Martins et al. 2016a). A Mata Atlântica foi o bioma brasileiro mais impactado no passado (Brasil 2017), onde atualmente não é observada a expansão populacional de *A. sculptum*. Provavelmente, essa expansão ocorreu no passado durante a intensa degradação desse bioma.

Considerando as análises realizadas, *A. sculptum* não é delimitado geograficamente ou por bioma: amostras do Cerrado (GO, DF e MG- Cerrado) e Mata Atlântica (SP, PR e RJ) do Brasil agruparam com sequências de área úmida da Argentina (Yungas) (Figuras 23-25), que são regiões com características climáticas, geográficas e biológicas distintas. Também foi observado agrupamento de populações de *A. sculptum* do Cerrado, Mata Atlântica e Caatinga (Brasil) (Figuras 23-25). Esta ausência de estruturação filogeográfica em *A. sculptum* pode ser em consequência à baixa especificidade parasitária dessa espécie, associada à presença de hospedeiro preferenciais (equinos e capivaras), que aumentam em disponibilidade em áreas de degradação ambiental e antropização (Szabó et al. 2013a). A dispersão por migração, através do transporte de hospedeiros infestados com *A. sculptum* por longas áreas, também pode ser responsável pelo fluxo gênico (Bitencourth et al. 2016). Adicionalmente, eventos biogeográficos históricos podem ter influenciado o padrão demográfico observado nas populações de *A. sculptum*. Nesse sentido, Beati et al. (2013) propôs uma hipótese onde considera que parte das espécies do complexo *A. cajennense* gradualmente se moveram para a periferia da floresta tropical quando o ambiente se tornou desfavorável para esses ixodídeos, com ecossistemas lacustres e pântanos transformando o ambiente em o que se tornaria a Amazônia. Assim, *A. sculptum* se estabeleceu na Mata Atlântica (ao longo da costa leste do Brasil), e em parte do Cerrado. Da mesma forma, a presença de *A. sculptum* em florestas da Argentina (em Yungas) pode ser entendida por relatos de floresta contínua que anteriormente ligava a Amazônia e as florestas atlânticas (Beati et al. 2013).

Embora não haja delimitação filogeográfica nas populações de *A. sculptum* (Figuras 8-10, 23-25; Tabelas 11, 13 e 14), os resultados do F_{ST} entre grupos indicaram que as populações do Cerrado e Mata Atlântica são geneticamente diferentes entre si (Tabela 16), o que não é confirmado pelos resultados significativos no F_{ST} par a par, no qual tanto populações do mesmo bioma como populações de diferentes biomas são geneticamente distintas entre si (Tabela 15). Entretanto os valores significativos encontrados no F_{ST} foram baixos, que poderiam ser explicados pela alta presença de haplótipos não compartilhados entre os biomas. É importante destacar que a população do CE diferiu praticamente de todas as populações do Cerrado, mas apenas de uma população (SP) da Mata Atlântica, o que pode estar associado à procedência das amostras, que foram coletadas em

área de fragmentos característicos de Mata Atlântica inseridos na Caatinga (Tabela 15) (Borsato et al. 2015).

O isolamento por distância não é responsável pela diferenciação genética observada entre as populações estudadas (Tabela 17), como verificado para as populações de *A. sculptum* no RJ (Bitencourth et al. 2016). Esse resultado pode estar associado à ação antropogênica, com o transporte de *A. sculptum* em cavalos infestados, já que esse é o mais importante hospedeiro desse ixodídeo, e por séculos foi um dos principais meios de transporte no Brasil.

Ainda nesse sentido, os resultados da AMOVA corroboram a ausência de estruturação populacional de acordo com os biomas - a maior parte da variância molecular foi observada entre populações de *A. sculptum* dentro de cada bioma e dentro de cada população analisada, além do Φ_{CT} ter apresentado valor baixo e não significativo (Tabela 18). Porém, pode ser que haja alguma estruturação da diversidade molecular entre as populações de *A. sculptum* que ainda não é reconhecida, já que os valores do Φ_{SC} e Φ_{ST} foram significativos (Tabela 18). Nesse sentido, estudo de modelagem ambiental com algumas espécies do complexo *A. cajennense* (incluindo *A. sculptum*) evidenciou padrões divergentes de preferências ambientais, como vegetação e temperatura sendo fatores que direcionam a distribuição das espécies estudadas (Estrada- Peña et al. 2014).

O microclima é um fator limitante para a sobrevivência dos carrapatos (Estrada-Peña et al. 2004). A presença e transição entre biomas ou ecorregiões podem gerar condições específicas e microclimas que promovem o estabelecimento, desenvolvimento e diferenciação observada entre as populações de *A. sculptum* analisadas. Adicionalmente, análises filogenéticas corroboram a coexistência de *A. sculptum* e *A. cajennense* s.s. na zona de transição entre os biomas Cerrado e Amazônia no TO (Figuras 23 e 24).

A pesquisa de genes de riquetsia em *A. sculptum* detectou a presença de *Ca. R. andeanae* (GO), *R. felis* (GO) e *R. amblyommatis* (TO) no Cerrado; e na Mata Atlântica foi identificada *Ca. R. asemboensis* (PR) e *R. felis* (PR) (Figura 29). No Brasil, *R. amblyommatis* já foi detectada em *A. sculptum* no Pantanal (MT) (Alves et al. 2014; Melo et al. 2016) e na Mata Atlântica (MG) (Nunes et al. 2015). Há relatos de *Ca. R. andeanae* em *A. sculptum* no Cerrado (MT) (Witter et al. 2016), e, há cerca de uma década *R. felis* foi identificada em *A. cajennense* s.l. (provavelmente *A. sculptum*) na Mata Atlântica (MG) (Cardoso et al. 2006). No PR, *R. felis* já foi detectada por sorologia em cães, mas sem relato em *A. sculptum* (Fortes et al.

2010). Em nosso país, os relatos de *Ca. R. asemboensis* são recentes, com registros para *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille 1806) e *Ctenocephalides felis* (Bouché 1835) (Dall'Agnol et al. 2017; Silva et al. 2017). Assim sendo, o presente estudo faz o primeiro registro de *R. amblyommatis* e *R. felis* em *A. sculptum* no Cerrado, bem como a detecção de *R. felis* em *A. sculptum* pela primeira vez no PR e de *Ca. R. asemboensis* nesse ixodídeo.

A fêmea de *A. sculptum* encontrada infectada com *R. amblyommatis* (amostra 5303A) (Figura 29, Tabela 38) foi coletada em equino, durante vigilância de FM em área onde um caso brando da doença havia sido registrado anteriormente. Na mesma área outro equino estava infestado com espécimes de *A. cajennense* s.s. (amostras 5304B e C; Figuras 23 e 24) e *A. sculptum* (amostras 5304A e E; Apêndice B), ambos foram negativos para infecção com riquetsia. Essa fêmea infectada pertence à haplótipos (h8 no COII, e hC no D-loop) de *A. sculptum* encontrados no Cerrado (em MT, MS, TO e GO) e na Mata Atlântica (ES e RJ) (Apêndice B). Já que esses haplótipos podem ser encontrados em diferentes áreas, eles são comuns no Brasil e, provavelmente, representam um perfil genético antigo de *A. sculptum* no país. Como apenas um carrapato foi encontrado infectado com *R. amblyommatis* no TO, não é possível inferir uma associação entre essa riquetsia e esses haplótipos de *A. sculptum*.

A bactéria *R. amblyommatis* já foi suspeita de estar associada com caso de FM nos Estados Unidos (Apperson et al. 2008) e recentemente demonstrou ser levemente patogênica para cobaias, especialmente quando comparada com *R. rickettsii* (Rivas et al. 2015). Atualmente, passou a ser considerada como bioagente de infecção assintomática ou doença autolimitada com soroconversão subsequente (Fang et al. 2017). A infecção por *R. amblyommatis* parece ser comum em *A. cajennense* s.s., com taxas de infecção entre 26,8-69,4% (Labruna et al. 2004a; Soares et al. 2015). Entretanto essa infecção é, geralmente, ausente em populações de *A. sculptum*, com exceção de relatos para o Pantanal (Alves et al. 2014; Melo et al. 2016), Mata Atlântica (Nunes et al. 2015) e a detecção no atual trabalho para o Cerrado, onde as taxas de infecção são bem menores do que as observadas para *A. cajennense* s.s.. No Brasil, essa riquetsia já foi sorologicamente detectada em cães (Labruna et al. 2007; Melo et al. 2011) e em equinos (Alves et al. 2014), e em área endêmica para FM ela foi molecularmente identificada em *A. sculptum* de MG (Nunes et al. 2015). Embora todos estes dados indiquem que *R. amblyommatis* pode ser patogênica para animais, incluindo seres humanos, seu papel nos casos de FM

permanece não esclarecido. A caracterização dessa riquetsia em casos de FM é necessária, incluindo os casos de FM que envolvem a variedade mais leve desse agravo, como observado no Cerrado.

A *R. felis* é o agente causador da FM transmitida por pulgas, uma riquetsiose humana emergente (Brown e Macaluso 2016). No entanto, o conhecimento de sua biologia e da doença associada ainda é incipiente no Brasil, com o registro de um único caso no país (Raoult et al. 2001). Por outro lado, não há conhecimento sobre a patogenicidade de *Ca. R. andeanae*, embora ela possa provocar a diminuição ou exclusão da riquetsiose associada a *R. parkeri* (Paddock et al. 2015). Isso torna *Ca. R. andeanae* de interesse para a prática da saúde pública. Em GO, *R. felis* (durante vigilância de FM) e *Ca. R. andeanae* (durante investigação de caso de FM) foram identificadas no mesmo perfil genético de *A. sculptum* (h1- COII). Até a presente pesquisa, este haplótipo só foi encontrado no Cerrado (GO, DF e MG- Cerrado) (Figura 29, Tabelas 13 e 38).

Ca. R. asemboensis, recentemente descrita, é uma bactéria emergente transmitida por carrapatos e pulgas associados a animais domésticos e roedores. Esse patógeno já foi detectado em ectoparasitos na Ásia, África e nas Américas (Jiang et al. 2013; Oteo et al. 2014; Rzotkiewicz et al. 2015; Billeter et al. 2016; Faccini-Martínez et al. 2016; Kolo et al. 2016; Troyo et al. 2016; Dall'Agnol et al. 2017; Silva et al. 2017), sendo encontrado principalmente em áreas endêmicas para FM transmitida por pulgas (Jiang et al. 2013). *Ca. Rickettsia asemboensis* é geneticamente relacionada à *R. felis*, que é patogênica para humanos (Raoult et al. 2001). Entretanto, os dados de FM relacionados à *R. felis* são escassos no Brasil (Szabó et al. 2013a). Em área de Mata Atlântica, essa nova riquetsia (na amostra 6418C) e *R. felis* (na amostra 6421A) foram detectadas no mesmo perfil genético de *A. sculptum* (h19- COII, hQ- D-loop) (PR, SP, GO e MG- Cerrado), durante investigação de caso de FM no PR (Figura 29, Tabela 38). O presente estudo aumenta as espécies de vetores detectadas infectadas com *Ca. R. asemboensis* e a área geográfica de relato no país. Novos estudos devem ser realizados para investigar a prevalência dessas infecções, entender o envolvimento do *A. sculptum* na infecção e transmissão de *Ca. R. asemboensis* e *R. felis*, bem como conhecer a relação entre essas riquetsias e casos de FM no Brasil.

Ainda que a amostra 4955C (coletada durante vigilância de FM no PR) (h32- COII, exclusivo do PR) tenha apresentado 99% de identidade com *Ca. R. asemboensis* (Tabela 38), na reconstrução filogenética não houve resolução para

determinar se a bactéria dessa amostra é *R. felis* ou *Ca. R. asemboensis*, ou ainda, se é uma riquetsia associada a esse grupo ainda não descrita (Figura 29). Essa amostra será submetida a novas análises moleculares para tentar esclarecer qual a riquetsia presente nesse ixodídeo.

Embora *A. sculptum* seja apontado como principal vetor de *R. rickettsii* na região sudeste do Brasil, e o presente trabalho ter realizado coletas desse ixodídeo em áreas de investigação ou vigilância de caso de FM nessa região, a ausência de detecção dessa bactéria pode estar associada ao fato do *A. sculptum* não ser capaz de manter infecção por *R. rickettsii* de forma eficiente por gerações consecutivas, já que menos de 50% desses carrapatos mantêm a infecção pelas vias transovariana e transtadial (Soares et al. 2012). Assim como a presença de outras espécies de riquetsias, nessa área, poderia impedir o estabelecimento de *R. rickettsii*, já que a presença de uma riquetsia não patogênica em carrapatos, também infectados com *R. rickettsii*, poderia impedir a transmissão dessa última bactéria, principalmente por eficiente competição na transmissão vertical (Burgdorfer et al. 1981; Macaluso et al. 2002).

Estudo que avaliou o perfil genético e suscetibilidade de diferentes populações de *A. sculptum* à infecção por *R. rickettsii* demonstrou haver diferenças na susceptibilidade à infecção por essa bactéria entre as seis populações (Itu, Piracicaba, Pirassununga/ SP; Poconé/ MT; Chapada Gaúcha e Belo Horizonte/ MG) de *A. sculptum* estudadas, embora todas elas demonstrem ser parcialmente refratárias a infecção por essa riquetsia (Gerardi 2016). A susceptibilidade diferenciada nas populações de *A. sculptum* analisadas não teve relação com a endemicidade da área de coleta para FM. De maneira semelhante, também não foi encontrada divergência genética, para os marcadores 16S rDNA e o segundo espaçador interno transcrito (ITS2) (do inglês *second internal transcribed spacer*), entre *A. sculptum* infectados com *R. rickettsii* e não infectados (que foram expostos a infecção) em uma mesma população ou entre diferentes populações estudadas. Assim sendo, em tal estudo não foi possível correlacionar o perfil genético de *A. sculptum* com a suscetibilidade à infecção por *R. rickettsii* (Gerardi 2016). Entretanto, esse resultado pode estar associado à baixa diversidade molecular intraespecífica que os marcadores utilizados são capazes de detectar (Avisé 2004; Beati et al. 2012; Paternina et al. 2016). Todavia, também pode ser que fatores ecológicos, e não genéticos, possam estar associados à presença ou ausência de riquetsia em

diferentes populações de *A. sculptum*, como hipótese já proposta para *A. aureolatum* (Ogrzewalska et al. 2012; Scinachi et al. 2017).

Estudos adicionais são necessários para elucidar a associação entre os perfis genéticos de *A. sculptum* e riquétsias, uma vez que há haplótipos exclusivos de determinadas regiões que foram encontrados infectados com riquétsias, bem como a mesma riquétsia foi observada em diferentes perfis genéticos de *A. sculptum*. O entendimento da relação entre o perfil genético do carrapato vetor e riquétsia associada poderá auxiliar as ações de vigilância, investigação e controle de vetores da FM no Brasil.

Os resultados relatados trazem novos conhecimentos sobre a diversidade e estrutura populacional de *A. sculptum* e riquétsia nos biomas Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica no Brasil, demonstrando que os padrões de diversidade genética nessa espécie não são delimitados geograficamente ou por biomas. Esses resultados, associados à expansão do *A. sculptum* no Cerrado, têm importantes implicações epidemiológicas. *A. sculptum* é o principal vetor de *R. rickettsii*, bioagente da FMB, a riquetsiose mais letal. A expansão dos carrapatos com um perfil genético compatível também pode levar à dispersão de patógenos, gerando novos focos de FMB. No entanto, até o momento, no Cerrado há relatos de *A. sculptum* infectado por *R. rickettsii* somente nos estados de MG e SP (Szabó et al. 2013a), apontando para uma possível capacidade vetorial diferente de *A. sculptum* nesse bioma. Porém, na Mata Atlântica há diversos relatos de *A. sculptum* detectado com *R. rickettsii* (e.g. Guedes et al. 2005; Labruna et al. 2011a; Labruna et al. 2017).

5.2 *A. ovale*

Apesar da relevância de *A. ovale* para a saúde pública no Brasil, esse é o primeiro trabalho que analisa a diversidade genética intraespecífica desse ixodídeo na tentativa de auxiliar o entendimento da epidemiologia da FM. O número de haplótipos detectados (10- 29) está dentro do observado para outras espécies de *Amblyomma* (e.g. Mixson et al. 2006; Beati et al. 2012; Bitencourth et al. 2016). Os haplótipos identificados foram exclusivos de cada bioma analisado, com a Mata Atlântica apresentando a maior quantidade de haplótipos (Tabelas 19, 21, 22; Figuras 11- 13). O marcador COII foi o que detectou maior diversidade dentre os utilizados, e o fragmento analisado da região D-loop demonstrou ser conservado

para *A. ovale* (Tabelas 19, 21, 22). Em geral, foram observados valores altos de diversidade haplotípica e nucleotídica para as populações de *A. ovale*, indicando estabilidade populacional (Tabela 20). O maior número de mutações detectadas separou os haplótipos de cada bioma (Figuras 14- 16). Para as populações do RJ, SC e GO há haplótipos intermediários/ não amostrados, sugerindo que a diversidade nessas populações pode ser ainda maior do que o observado (Figuras 14- 16).

O teste de neutralidade D de Tajima, para a população de SC, apresentou valor significativo (Tabela 20). Entretanto, o conjunto dos resultados das análises genéticas de *A. ovale* não são condizentes com expansão populacional. Assim, o resultado do teste de neutralidade pode ter sido influenciado pelos haplótipos intermediários/ não amostrados dessa população (Figuras 14- 16), ou ainda, devido a fatores distintos de pressão seletiva (Aris- Brosou e Excoffier 1996; Tajima 1996).

As análises indicaram diferenciação genética entre as populações de *A. ovale* de acordo com os biomas Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (Tabelas 23 e 24). Essa diferenciação genética está associada às distâncias geográficas entre as populações dos biomas analisados (Tabela 25). Nesse sentido, os resultados da AMOVA reforçam a estruturação populacional de *A. ovale*: a maior parte da diversidade molecular foi observada entre as populações desse ixodídeo de diferentes biomas (Tabela 26). Os valores altos e significativos na estatística F_{ST} também indicam alta estruturação populacional ($F_{ST} > 0,25$; Holsinger e Weir 2009) entre *A. ovale* da Mata Atlântica, Caatinga e Cerrado (Tabelas 23 e 24). Assim sendo, pode ser que pela redução do fluxo gênico, as populações de diferentes biomas estão fixando alelos de forma independente (Holsinger e Weir 2009). A estruturação populacional de *A. ovale* se assemelha aos dois grupos de *Amblyomma variegatum* (Fabricius 1794) identificados na África (Beati et al. 2012), mas difere de outras espécies de *Amblyomma* que apesar da ampla distribuição não apresentam estruturação populacional (e.g. Mixson et al. 2006; Ogrzewalska et al. 2016; Bitencourth et al. 2016).

Corroborando a estruturação filogeográfica e ecológica de *A. ovale*, na análise filogenética concatenada (12S rDNA, COII e D-loop) das amostras analisadas no atual trabalho houve agrupamento de *A. ovale* para os biomas Caatinga e Cerrado, e Mata Atlântica (Figura 26). Porém quando são incluídas seqüências do *GenBank* (para o gene 16S rDNA), provenientes de diferentes pontos de coleta nos biomas, só há indícios de estruturação por biomas para as amostras do atual trabalho (Figura 27). Não foi identificado nenhum fator de estruturação para

as amostras de *A. ovale* oriundas do *GenBank*. Como essas amostras apresentam maior diversidade de pontos de coleta dentro de um mesmo bioma, fica evidente que a estruturação de *A. ovale* não ocorre por biomas. Em contrapartida, a maior parte das sequências geradas no atual trabalho foi proveniente de um ponto (unidade federativa) de coleta dentro do bioma, com a exceção da Mata Atlântica. Portanto, a distância geográfica pode ser a principal responsável pela estruturação populacional de *A. ovale* e não as diferenças ecológicas. Até porque, as amostras analisadas do bioma Caatinga foram coletadas em área de fragmentos característicos de Mata Atlântica inseridos nesse bioma (Borsato et al. 2015). Assim, se a estruturação de *A. ovale* ocorresse por características ecológicas, nesse caso, amostras analisadas da Caatinga e Mata Atlântica deveriam ser próximas geneticamente. Ou ainda, a ausência de estruturação de *A. ovale* na filogenia do gene 16S rDNA pode estar associada a baixa variabilidade genética desse marcador para analisar relações intraespecíficas (Avice 2004; Paternina et al. 2016). Dessa forma, os resultados do teste de Mantel reforçam a hipótese de que a estruturação entre as populações de *A. ovale* pode estar ocorrendo pelo isolamento por distância geográfica dessas populações (Tabela 25).

Carrapatos são artrópodes que não possuem grande capacidade de dispersão por si só. Entretanto, a dispersão desse ectoparasito pode ocorrer através de seus hospedeiros (Rohr 1909). Na fase imatura, entre os principais hospedeiros de *A. ovale* estão os pequenos roedores silvestres e na adulta os canídeos, com destaque para os cães domésticos (Guglielmone et al. 2003). Parte dos hospedeiros desse ixodídeo não realizam grandes dispersões, permitindo assim entender a estruturação genética observada em *A. ovale*. Porém, os cães domésticos, através da ação antrópica, podem transportar *A. ovale* por grandes distâncias. Assim sendo, cães infestados com *A. ovale* podem ser os responsáveis por manter o fluxo gênico entre as populações desse ixodídeo. De forma geral, esses resultados diferem dos obtidos para *A. sculptum*, onde a ausência de estruturação populacional está associada à baixa especificidade parasitária dessa espécie, a presença de hospedeiro preferenciais que aumentam em disponibilidade em áreas degradadas, além da ação antrópica do transporte de hospedeiros infestados com esse ixodídeo por longas distâncias (Bitencourth et al. 2016).

Para o gene COII, a distância evolutiva entre haplótipos de *A. ovale* de SC e PR quando comparados com haplótipos do CE apresentaram valores compatíveis com espécies reconhecidamente distintas dentro do gênero *Amblyomma* (Tabela

28). O mesmo não foi observado para o gene 12S rDNA e para a região D-loop (Tabelas 27 e 29). Esses resultados, associados aos altos e significativos valores de F_{ST} observados (Tabelas 23) (e aos outros resultados de análises genéticas intraespecíficas de *A. ovale*) podem ser um indicativo de que a estruturação por distância geográfica (Tabela 25) pode estar gerando a diminuição de fluxo gênico entre as populações de *A. ovale* de SC e PR quando comparadas com a população do CE (são as populações analisadas mais distantes geograficamente). No entanto, os valores de distância evolutiva devem ser considerados com cautela ao delimitar espécies (Lado et al. 2016), até porque esses resultados não foram congruentes para todos os genes analisados de *A. ovale*.

Os resultados obtidos para *A. ovale* diferem dos observados no trabalho de Beati et al. (2013), que evidenciou que *A. cajennense* é um complexo de espécies nas Américas. Em tal trabalho, além de valores elevados e significativos na estatística F_{ST} , na análise filogenética de todos os genes (nuclear e mitocondrial) foi observada a presença de seis clados, de acordo com os habitats, que correspondem às seis espécies identificadas do complexo. Ainda nesse sentido, os valores de divergência genética (em todos os marcadores) mostraram que os seis clados (espécies) identificados são tão diferentes uns dos outros como espécies reconhecidamente distintas do mesmo gênero (Beati et al. 2013). Resultados comportamentais e morfológicos corroboraram a existência dessas seis espécies (Labruna et al. 2011b; Mastropaolo et al. 2011; Nava et al. 2014).

Por outro lado, estudo genético realizado para *Amblyomma parvum* Aragão 1908, que possui distribuição geográfica disjunta no Novo Mundo com dois principais *clusters* separados pela bacia amazônica, não teve resultado congruente entre as análises de genes mitocondriais e nuclear (Lado et al. 2016). Embora todas as análises tenham identificado, pelo menos, dois principais *clusters*: um para a América Central e outro Brasil-Argentina. O alto apoio estatístico dos clados e a distância evolutiva entre eles sugeriram fortemente que os dois *clusters* correspondiam a diferentes entidades taxonômicas (Lado et al. 2016). Entretanto, como os dados moleculares não foram totalmente congruentes, estudos de compatibilidade reprodutiva, análises morfológicas e comparação das distribuições populacionais em nichos ecológicos foram realizados para as populações de *A. parvum* do Brasil e Argentina (Nava et al. 2016). Essas análises não detectaram diferenças morfológicas entre os espécimes analisados, ixodídeos dos diferentes países apresentaram compatibilidade reprodutiva e não foram encontradas

diferenças significativas nas distribuições ecológicas que justificassem a separação de *A. parvum* em grupos distintos (Nava et al. 2016). Portanto, embora o fluxo gênico entre as populações de *A. parvum* da Argentina e Brasil seja limitado, a ausência de barreiras reprodutivas, diferenças morfológicas significativas e preferências de nicho indicam que as populações de *A. parvum* da Argentina e Brasil devem ser tratadas como uma única espécie (Nava et al. 2016).

Como nos estudos realizados para *A. parvum* (Lado et al. 2016; Nava et al. 2016), são necessárias novas abordagens para verificar se o isolamento por distância geográfica entre as populações de *A. ovale* pode estar gerando espécies distintas desse ixodídeo. Portanto, além dos estudos genéticos devem ser realizadas análises morfológicas, comportamentais e de preferências de nichos ecológicos para verificar se há algum padrão de diferenciação entre as populações de *A. ovale*. Dessa forma, com a combinação dos resultados de todas as pesquisas será possível analisar com maior amplitude e tentar concluir se *A. ovale* é um complexo de espécies ou não, bem como definir tais espécies e sua área de ocorrência geográfica.

A pesquisa de riquetsias identificou a presença de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica em espécimes de *A. ovale* da Mata Atlântica (SC e PR) e Caatinga (CE); *Ca. R. asemboensis* (SC) e *R. felis* (RJ) em espécimes da Mata Atlântica; e *R. bellii* em *A. ovale* da Caatinga (CE) (Figura 30). Nos espécimes de *A. ovale* analisados do Cerrado não foi detectada a presença de nenhuma riquetsia.

A detecção de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica em *A. ovale* parece ser frequente, já que esse ixodídeo é apontado como o principal vetor dessa bactéria (e.g. Sabatini et al. 2010; Medeiros et al. 2011; Szabó et al. 2013a; Barbieri et al. 2014; Krawczak et al. 2016b; c; Luz et al. 2016; Melo et al. 2016; Moerbeck et al. 2016; Nieri-Bastos et al. 2016; Vizzoni et al. 2016; Witter et al. 2016). Essa riquetsia já foi detectada anteriormente nesse ixodídeo na mesma área onde os espécimes analisados no atual trabalho foram coletados na Caatinga (Moerbeck et al. 2016), durante vigilância de caso de FM. Em SC e PR, onde essa bactéria foi identificada em *A. ovale* durante investigação de caso de FM, também há relatos prévios de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica nesse ixodídeo (Medeiros et al. 2011; Barbieri et al. 2014; Nieri-Bastos et al. 2016). Assim sendo, os resultados confirmam que a *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica é comumente encontrada em *A. ovale* (em diferentes haplótipos), em áreas de vigilância e investigação de caso de FM, e não

somente em área de Mata Atlântica como já reportado anteriormente (Melo et al. 2016; Witter et al. 2016) (Tabela 39, Figura 30).

As bactérias *R. felis* e *Ca. R. asemboensis* são geneticamente próximas, e relatadas em pulgas e carrapatos. Dessas, *R. felis* é patogênica para humanos com caso confirmado no Brasil (Raoult et al. 2001). Os relatos de detecção de *Ca. R. asemboensis* em artrópodes no país são recentes (Dall’Agnol et al. 2017; Silva et al. 2017). Entretanto, pouco se sabe sobre a biologia e doença associada a essas riquetsias no Brasil. *Ca. R. asemboensis* foi anteriormente relatada em *A. ovale* na Costa Rica (Troyo et al. 2016), e, até então, não há registro de *R. felis* em *A. ovale*. Portanto, o presente trabalho traz o primeiro relato de *R. felis* em *A. ovale* (RJ), bem como de *Ca. R. asemboensis* (SC) nesse ixodídeo no Brasil.

A detecção de *R. felis* e *Ca. R. asemboensis* em diferentes haplótipos de *A. ovale*, em áreas distintas de Mata Atlântica, foi realizada durante investigação de caso de FM (Tabela 39, Figura 30). Esse achado pode ser resultante de um processo de coinfeção durante a alimentação em cães. Entretanto, a detecção dessas riquetsias em *A. ovale* precisa ser investigada já que evidencia a possibilidade de *A. ovale* participar do ciclo de diferentes riquetsias. Comprovadamente esse ixodídeo é um eficiente vetor de *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica (Krawczak et al. 2016c), mas ainda é necessário pesquisar a participação de *A. ovale* em casos relacionados à *Rickettsia felis* bem como avaliar se há algum agravo associado a *Ca. R. asemboensis* e esse ixodídeo. Assim, a FM relacionada à *R. felis* pode não ter como vetor somente pulgas, bem como observado com *Ca. R. asemboensis*. E ainda, é necessário avaliar se a detecção dessas riquetsias em *A. ovale* foi um caso isolado, e se esse carrapato tem capacidade de transmitir essas riquetsias, ou se apresenta apenas habilidade de se infectar. Esses resultados enfatizam a relevância de *A. ovale* para a saúde pública, bem como a necessidade de estudos para entender a participação desse ixodídeo no ciclo de riquetsias.

R. bellii é considerada uma riquetsia de patogenicidade desconhecida para humanos (Parola et al. 2013; Fang et al. 2017). Entretanto, há relatos de sintomatologia em cobaias infectadas com essa bactéria em condições de laboratório (Ogata et al. 2006). Essa riquetsia pode assumir importante papel na ecoepidemiologia das riquetsioses, através da inibição da infecção por outras riquetsias patogênicas quando o carrapato está previamente infectado com *R. bellii* (Burgdorfer et al. 1981; Macaluso et al. 2002; Pacheco et al. 2009). Há relatos prévios de *R. bellii* em *A. ovale* de diferentes biomas do Brasil: Mata Atlântica

(Pacheco et al. 2008; Sabatini et al. 2010; Szabó et al. 2013b; Blanco et al. 2016), Caatinga (em área de fragmento característico de Mata Atlântica) (Moerbeck et al. 2016), Amazônia (Labruna et al. 2004a) e Cerrado (Costa et al. 2015). A identificação de *R. bellii* em *A. ovale* no CE, durante vigilância de caso de FM, corrobora a ocorrência dessa riquetsia em *A. ovale* na Caatinga (Figura 30).

A dispersão e o fluxo gênico são importantes mecanismos que afetam a dinâmica dos vetores e seus patógenos (Araya-Anchetta et al. 2015). Ainda que os resultados das análises de genética de populações indiquem que há estruturação populacional para *A. ovale*, de acordo com as distâncias geográficas, essa estruturação filogeográfica parece não influenciar a capacidade de *A. ovale* adquirir riquetsias, já que diferentes haplótipos desse ixodídeo, em diferentes biomas, foram detectados com a mesma riquetsia, ou ainda, o mesmo haplótipo foi identificado com diferentes espécies de riquetsia (Tabela 39, Figura 30).

Novos estudos são necessários para verificar se os diferentes haplótipos de *A. ovale*, apesar de terem capacidade de adquirir riquetsias, têm também capacidade de manter e transmitir essas riquetsias, e assim influenciar na formação de focos de FM ou riscos de infecção. Os resultados apontam para a necessidade de investigar a participação de *A. ovale* no ciclo de diferentes riquetsias que ocorrem no país, já que esse ixodídeo foi encontrado infectado com *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica, *R. felis* e *Ca. R. asemboensis* em áreas com casos confirmados de FM. Entretanto em algumas dessas áreas, como no RJ (Paraty), ainda não havia sido identificado a espécie do bioagente circulante no carrapato. Portanto, o trabalho enfatiza a importância de *A. ovale* na ecoepidemiologia das riquetsias no Brasil, e que a estruturação desse ixodídeo não impede que diferentes haplótipos se infectem com riquetsias. Consequentemente, considerando também dados da literatura, os bioagentes da FM podem ocorrer em *A. ovale* em diferentes biomas, o que alerta para a possibilidade de ocorrência de FM associada à riquetsias patogênicas ao longo da área de distribuição de *A. ovale* no país.

5.3 *A. aureolatum*

A diversidade intraespecífica observada em *A. aureolatum* ao longo da área de Mata Atlântica no Brasil foi pequena (cinco- 12 haplótipos) quando comparada a outras espécies do gênero *Amblyomma* (Trout et al. 2010; Beati et al. 2012;

Bitencourth et al. 2016). Há haplótipos compartilhados entre todas as populações analisadas e alguns exclusivos, com destaque para as populações de *A. aureolatum* do RJ, RS, SP e SC (Tabelas 30, 32 e 33; Figuras 17- 19). A população do RS apresentou os maiores valores de diversidade haplotípica, enquanto as populações de SC e SP apresentaram valores elevados de diversidade haplotípica e baixos de diversidade nucleotídica (Tabela 31). Os haplótipos de *A. aureolatum* são geneticamente relacionados, já que poucas mutações os separam (Figuras 20- 22).

Os resultados dos testes de neutralidade (Tabela 31) associados aos altos valores de diversidade haplotípica e baixos de diversidade nucleotídica (Tabela 31), presença de alguns haplótipos com baixa frequência e distintos em poucas mutações (Tabelas 30, 32 e 33; Figuras 20- 22), bem como a rede de haplótipos em formato de estrela (Figuras 21 e 22) sugerem que as populações de *A. aureolatum* de SP, SC e RS estão em expansão (Tajima 1989). Muitas vezes, a degradação ambiental e mudanças climáticas podem propiciar a expansão de populações de carrapatos (Monzón et al. 2011; Khatchikian et al. 2015; Monzón et al. 2016).

Pouca diferenciação genética através da análise de F_{ST} par a par foi observada entre as populações de *A. aureolatum* analisadas, com valor significativo (embora baixo e para apenas um marcador) indicando que a população de SP difere da população do RS (Tabela 34). Esses dados divergem dos obtidos por Ogrzewalska et al. (2016), onde *A. aureolatum* não apresentou diferenciação genética significativa entre as populações analisadas da região metropolitana de SP (em áreas endêmicas e não endêmicas para FMB). Assim, é possível que em escalas geográficas maiores essa espécie possa apresentar alguma diferenciação genética entre as populações analisadas.

A princípio, a população de *A. aureolatum* de área onde esse ixodídeo é vetor de *R. rickettsii* é geneticamente diferente de populações onde esse cenário epidemiológico não ocorre, com exceção para o COII onde um número menor de sequências foi obtido (Tabela 35). O teste de Mantel corrobora que a diferenciação genética não está associada à distância geográfica (Tabela 36). Entretanto, os resultados da AMOVA indicaram que a maior parte da variância molecular ocorreu dentro de cada população de *A. aureolatum* analisada (Tabela 37). Esses dados, associados aos baixos e não significativos (na maioria) valores da estatística Φ (Tabela 37) sugerem a existência de fluxo gênico e ausência de estruturação entre as populações analisadas de *A. aureolatum* no Brasil. O mesmo foi observado para

diferentes populações desse ixodídeo analisadas de áreas endêmicas e não endêmicas para a FMB em SP (Ogrzewalska et al. 2016).

Também pode ser observada a falta de delimitação filogeográfica de acordo com a área de coleta e o cenário epidemiológico das populações de *A. aureolatum* analisadas (Figura 31). A ausência de estruturação entre as populações de *A. aureolatum*, associada à expansão desse vetor em SC, SP e RS precisam de atenção da saúde pública, uma vez que a expansão populacional de *A. aureolatum*, competente vetor para *R. rickettsii* (Labruna et al. 2011c), também pode levar à dispersão de patógenos (Araya-Anchetta et al. 2015), possibilitando novos focos de FM.

Muitas vezes, a ausência de estruturação entre populações de espécies de carrapato com ampla distribuição geográfica pode ser associada aos movimentos de seus hospedeiros, já que esse artrópode não possui grande capacidade de dispersão (e.g. Lampo et al. 1998; Madhav et al. 2004; Kempf et al. 2009). Dessa forma, a dispersão através do hospedeiro pode ser o principal fator responsável pela inexistência de estruturação nas populações de *A. aureolatum*. As formas imaturas desse ixodídeo parasitam principalmente passáros, enquanto os adultos são encontrados em canídeos (Guglielmone et al. 2003; Ogrzewalska et al. 2012). Como os canídeos apresentam capacidade de dispersão menor, quando comparados ao potencial de dispersão dos passáros, esses parecem ser os principais responsáveis por manterem o fluxo gênico entre diferentes populações geográficas de *A. aureolatum*. Essa hipótese também já foi proposta para outras espécies de ixodídeos (e.g. McCoy et al. 2003; Mixson et al. 2006; Paulauskas et al. 2006), bem como em um trabalho prévio realizado com *A. aureolatum*, no qual é feita uma ampla abordagem do papel dos passáros em manter o fluxo gênico entre as populações desse ixodídeo (Ogrzewalska et al. 2016).

A pesquisa de riquetsias detectou a presença de *R. bellii*, durante vigilância de caso, em área com registros prévios de casos de FMB em SP (Tabela 40, Figura 31). Há relatos anteriores de *R. bellii* em *A. aureolatum*, todos em SP (Pinter e Labruna 2006; Moraes-Filho et al. 2009; Sabatini et al. 2010). Mesmo essa bactéria sendo considerada de patogenicidade desconhecida para humanos (Parola et al. 2013; Fang et al. 2017), ela pode desempenhar uma importante função na ecoepidemiologia das riquetsioses, ao reduzir a infecção por riquetsias patogênicas no carrapato (Burgdorfer et al. 1981; Macaluso et al. 2002; Pacheco et al. 2009). Dessa forma, a detecção de *R. bellii* na região metropolitana de SP é relevante, já

que nessa área *A. aureolatum* é apontado como principal vetor de *R. rickettsii* (Szabó et al. 2013a).

A *R. felis* é bioagente de uma riquetsiose emergente, associada a pulgas. Como ela é uma bactéria identificada recentemente dentre as riquetsias patogênicas (Brown e Macaluso 2016), o conhecimento básico sobre a biologia da *R. felis* bem como quanto sua ecoepidemiologia ainda é incipiente no Brasil. A presença de um caso confirmado de riquetsiose felis no país (Raoult et al. 2001) evidencia a necessidade de pesquisas relacionadas a essa bactéria. O presente trabalho fez a primeira detecção de *R. felis* em *A. aureolatum* (Tabela 40, Figura 31). O encontro dessa riquetsia pode ser decorrente de um processo de coinfeção durante a alimentação de *A. aureolatum* em cães, já que esses vertebrados atuam como hospedeiros de outros artrópodes (e.x. *C. felis*) que são reconhecidamente encontrados infectados com *R. felis* (Labruna 2011a; Fang et al. 2017). Porém, não podemos descartar a possibilidade de *A. aureolatum* participar do ciclo de *R. felis*. Ainda que esse carrapato atue como um importante vetor de *R. rickettsii* na região metropolitana de SP, pode ser que em outras áreas do país esse ixodídeo tenha papel relevante no ciclo de outras riquetsias. No sul do Brasil, é abundante a presença de *A. aureolatum* (Guglielmone et al. 2003; Barros-Battesti et al. 2006), entretanto sem a identificação, até o momento, de *R. rickettsii* nesse ixodídeo dessa região (Szabó et al. 2013a). A detecção de *R. felis* (bactéria associada a quadros brandos de riquetsiose, Fang et al. 2017) em *A. aureolatum* de SC (região com casos confirmados, mas sem óbitos associados a FM; Oliveira et al. 2016), durante investigação de caso de FM, pode indicar a participação desse carrapato em diferentes cenários ecoepidemiológicos da FM no Brasil. Dessa forma, é possível que o papel de *A. aureolatum* como potencial vetor de riquetsias no sul do Brasil, onde esse ixodídeo já foi detectado infectado com *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica (Medeiros et al. 2011), seja diferente do que é conhecido, até o momento, para a região metropolitana de SP (Szabó et al. 2013a). Mais estudos são necessários para avaliar se *A. aureolatum*, além da capacidade de adquirir, também tem capacidade de transmitir *R. felis*. E ainda, avaliar os agravos associados a essa riquetsia no país bem como a participação de *A. aureolatum*.

Ainda que *A. aureolatum* seja um eficiente vetor para *R. rickettsii* em condições de laboratório (Labruna et al. 2011c), a ausência de detecção dessa espécie de riquetsia em *A. aureolatum* coletados na região metropolitana de SP pode estar associada ao efeito deletério que essa bactéria tem nesse ixodídeo, e por

isso seriam encontradas baixas taxas de infecção (1-10%) de *R. rickettsii* em *A. aureolatum* na natureza (Pinter e Labruna 2006; Ogrzewalska et al. 2012).

De acordo com os resultados, não há indicativo de relação entre os haplótipos dos carrapatos e as riquétsias detectadas em *A. aureolatum*. Uma vez que diferentes haplótipos de *A. aureolatum* foram detectados com riquétsias de espécies semelhantes, bem como diferentes riquétsias foram detectadas no mesmo haplótipo do carrapato (Tabela 40, Figura 31). Isso pode estar associado à ausência de estruturação entre as populações analisadas de *A. aureolatum*. Estudo com populações desse ixodídeo em áreas endêmicas e não endêmicas na região metropolitana de SP também detectou fraca diferenciação e ausência de estruturação entre as populações analisadas, o que não corroborou a hipótese dos autores de que características genéticas das populações de *A. aureolatum* seriam responsáveis pela presença ou ausência de *R. rickettsii* nessas áreas de SP (Ogrzewalska et al. 2016).

Como sugerido anteriormente na literatura, pode ser necessário analisar outras regiões genéticas das populações de *A. aureolatum* que estejam sob forte pressão seletiva relacionadas a algum tipo de resistência natural a infecção por *R. rickettsii* e/ou outras riquétsias (Ogrzewalska et al. 2016). Adicionalmente, fatores ecológicos e ambientais podem ser os responsáveis pela presença ou ausência de riquétsias e seus hospedeiros amplificadores. De acordo com Ogrzewalska et al. (2012), na região metropolitana de SP a degradação florestal (com a presença de fragmentos de mata, distâncias maiores entre eles e menor abundância e riqueza de espécies de animais vertebrados) pode influenciar na ocorrência de *R. rickettsii*. Esse fato é corroborado pelo estudo de Scinachi et al. (2017), cuja a fragmentação da Mata Atlântica está correlacionada com alto risco de ocorrência de FMB. Uma vez que o desmatamento pode resultar em perda de hábitat e criar condições ambientais desfavoráveis para manter populações de grandes carnívoros, tornando os cães domésticos o único hospedeiro para o estágio adulto de *A. aureolatum*. Com acesso à floresta e sem competição com carnívoros silvestres, os cães podem caminhar livres na vegetação, elevando a chance do parasitismo por *A. aureolatum*. Ao retornarem parasitados para as residências, esses animais aumentam os riscos de infecção humana por riquétsia (Scinachi et al. 2017). A recomposição da Mata Atlântica e estabelecimento de corredores ecológicos, conectando essas áreas, são importantes medidas para reduzir a ocorrência da FMB na área metropolitana de SP (Scinachi et al. 2017).

Devido aos efeitos deletérios de *R. rickettsii* em *A. aureolatum* (Labruna et al. 2011c), as populações desses carrapatos não poderiam permanecer infectadas por gerações sucessivas somente através de transmissão transovariana e transestadial, pois o número de carrapatos infectados diminui gradualmente a cada geração (Labruna et al. 2011c). Assim, poderia ser necessária a presença de hospedeiros vertebrados amplificadores (Cooksey et al. 1990). Em condições de laboratório, os cães são competentes para a infecção por *R. rickettsii* (Piranda et al. 2008). Portanto, é necessário testar a hipótese de os cães serem hospedeiros vertebrados amplificadores de *R. rickettsii* para o estágio adulto de *A. aureolatum*, contribuindo para um melhor entendimento da dinâmica da FMB (Scinachi et al. 2017).

O presente estudo contribui com o entendimento da composição genética e ausência de estruturação nas populações de *A. aureolatum*, bem como com a expansão desse vetor em SC, SP e RS e o risco associado de dispersão de patógenos identificados em *A. aureolatum*. O trabalho faz a primeira detecção de *R. felis* nesse ixodídeo, evidenciando a possibilidade de *A. aureolatum* participar de ciclos de diferentes riquetsias na região metropolitana de SP e na região sul do Brasil.

A diversidade dos vetores e a sua rápida mudança genética podem influenciar fortemente a dinâmica de interação hospedeiro - vetor - patógeno (Fussmann et al. 2007), modificando, assim, o cenário epidemiológico da doença. Estudos de genética de populações aprimoram a compreensão dos movimentos de carrapatos e da dispersão de patógenos (Araya-Anchetta et al. 2015), e podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias de vigilância e controle FM. Conseqüentemente, são necessários mais estudos (e.x. utilizando genes relacionados à infecção/ resistência à infecção) para analisar a associação entre o perfil genético dos carrapatos e a sua capacidade vetorial para riquetsias.

6 PERSPECTIVAS

- Novas sequências (para os genes 12S rDNA, COII e para a região D-loop) de *A. aureolatum* do PR foram obtidas e serão inseridas nas análises populacionais.
- Análises morfológicas de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* estão sendo realizadas.
- Será calculado o fluxo gênico entre as populações de *A. ovale*.
- Serão realizadas análises de biogeografia histórica para as espécies *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum*.
- Serão executados testes de cruzamento biológico entre diferentes populações de *A. ovale*.
- Estudo de genética de populações e pesquisa de riquetsia está sendo realizado para espécimes de *Amblyomma dubitatum* Neumann 1899 provenientes de áreas de investigação e vigilância de casos de FM no Brasil.

7 CONCLUSÕES

O presente estudo sobre a diversidade genética e identificação de riquétsias em *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* em diferentes biomas do Brasil permitiu concluir que:

- *A. sculptum* tem grande diversidade genética no Brasil, sem estruturação populacional geográfica ou por biomas.
- *A. sculptum* está em expansão populacional no Cerrado.
- *Ca. R. aseboensis* foi encontrada pela primeira vez em *A. sculptum* (PR- Mata Atlântica).
- *R. amblyommatis* (TO) e *R. felis* (GO) foram registradas pela primeira vez em *A. sculptum* no Cerrado.
- *R. felis* foi detectada pela primeira vez em *A. sculptum* do PR (Mata Atlântica).
- As populações de *A. ovale* estão estruturadas de acordo com as distâncias geográficas.
- As populações de *A. ovale* apresentam baixo fluxo gênico entre si, sugerindo que pode estar ocorrendo processo de especiação, sendo um grupo composto pelas populações do Cerrado e da Caatinga, e outro proveniente da área de Mata Atlântica.
- A estruturação de *A. ovale* não influenciou nas riquétsias detectadas.
- *R. felis* foi relatada pela primeira vez em *A. ovale* (RJ- Mata Atlântica).
- *Ca. R. aseboensis* foi detectada pela primeira vez em *A. ovale* no Brasil (SC- Mata Atlântica).

- *Rickettsia* sp. cepa Mata Atlântica na Caatinga (CE) e na Mata Atlântica (PR e SC), e *R. bellii* na Caatinga (CE) foram identificadas em *A. ovale*.
- *A. aureolatum* tem baixa diversidade genética e ausência de estruturação populacional para área de Mata Atlântica no Brasil.
- *A. aureolatum* de SC, SP e RS estão em expansão populacional.
- *R. felis* foi relatada pela primeira vez em *A. aureolatum* (SC- Mata Atlântica).
- *R. bellii* foi identificada em *A. aureolatum* de área com casos confirmados de FMB em SP.
- Não há relação entre os haplótipos identificados nos genes 12S rDNA, COII e na região D-loop de *A. sculptum*, *A. ovale* e *A. aureolatum* e a detecção de riquetsias nesses ixodídeos.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aljanabi SM, Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR- based techniques. Nucl Acids Res. 1997; 15: 4692-3.

Alves AS, Melo ALT, Amorim MV, Borges AMCM, Gaíva E Silva L, Martins TF, et al. Seroprevalence of *Rickettsia* spp. in equids and molecular detection of '*Candidatus Rickettsia amblyommii*' in *Amblyomma cajennense* sensu lato ticks from the Pantanal region of Mato Grosso, Brazil. J Med Entomol. 2014; 51: 1242-7.

Andrade-Lima D. Estudos fitogeográficos de Pernambuco. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica 2007; 4: 243-74.

Angerami RN, Silva AMR, Nascimento EMM, Colombo S, Wada MY, Santos FCP, et al. Brazilian spotted fever: two faces of a same disease? A comparative study of clinical aspects between an old and a new endemic area in Brazil. Clin Microbiol Infect. 2009; 15 (2): 207-8.

Angerami RN, Câmara M, Pacola MR, Rezende RCM, Duarte RMR, Nascimento EMM, et al. Features of Brazilian spotted fever in two different endemic areas in Brazil. Ticks Tick Borne Dis. 2012; 3: 345-7.

Anisimova M, Gascuel O. Approximate likelihood-ratio test for branches: a fast, accurate, and powerful alternative. Syst Biol. 2006; 55: 539-52.

Apperson CS, Engber B, Nicholson WL, Mead DG, Engel J, Yabsley MJ. Tick-borne diseases in North Carolina: is *Rickettsia amblyommii* a possible cause of rickettsiosis reported as Rocky Mountain spotted fever? Vector Borne and Zoonotic Dis. 2008; 8: 597-606.

Aragão HB. Notas sobre ixódidas brasileiros. Mem Inst Oswaldo Cruz 1911; 3: 145-95.

Aragão HB, Fonseca F. Notas de Ixodologia. V. A propósito da validade de algumas espécies do gênero *Amblyomma* do continente Americano (Acari: Ixodidae). Mem Inst Oswaldo Cruz 1953; 51: 485-92.

Aragão HB, Fonseca F. Notas de Ixodologia. VIII. Lista e chave para os representantes da fauna ixodológica brasileira. Mem Inst Oswaldo Cruz 1961; 59 (2): 115-29.

Araya-Anchetta A, Busch JD, Scoles GA, Wagner DM. Thirty years of tick population genetics: a comprehensive review. *Infect Genet Evol.* 2015; 29: 164-79.

Aris-Brosou S, Excoffier L. The impact of population expansion and mutation rate heterogeneity on DNA sequence polymorphism. *Mol Biol Evol.* 1996; 13: 494-504.

Avice JC. *Molecular Markers, natural history, and evolution.* Sunderland: Sinauer Associates Inc.; 2004.

Azad AF, Beard CB. Rickettsial pathogens and their arthropod vectors. *Emerg Infect Dis.* 1998; 4: 179-86.

Bandelt HJ, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol.* 1999; 16: 37-48.

Barbieri AR, Filho JM, Nieri-Bastos FA, Souza JC, Szabó MP, Labruna MB. Epidemiology of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in a spotted fever- endemic área of Southern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5: 848-53.

Barbieri JM, Rocha CMBMD, Bruhn FRP, Cardoso DL, Pinter A, Labruna MB. Altitudinal assessment of *Amblyomma aureolatum* and *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), vectors of spotted fever group rickettsiosis in the State of São Paulo, Brazil. *J Med Entomol.* 2015; 52: 1170-4.

Barker SC, Murrell A. Systematics and evolution of ticks with a list of valid genus and species names. *Parasitology* 2004; 129: S15-36.

Barros-Battesti DM, Arzua M, Bechara GH. Carrapatos de importância médico-veterinária da região neotropical: Um guia ilustrado para identificação de espécies. São Paulo: Butantan; 2006.

Barros-Silva P, Pereira SVC, Fonseca L, Maniglia FVP, Oliveira SV, Caldas EP. Febre maculosa: uma análise epidemiológica dos registros do sistema de vigilância do Brasil. *Scientia Plena* 2014; 10: 1-9.

Beati L, Keirans JE. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. *J Parasitol.* 2001; 87 (1): 32-48.

Beati L, Patel J, Lucas-Williams H, Adakal H, Kanduma EG, Tembo-Mwase E, et al. Phylogeography and demographic history of *Amblyomma variegatum* (Fabricius) (Acari: Ixodidae), the tropical bont tick. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 12 (6): 514-25.

Beati L, Nava S, Burkman EJ, Barros-Battesti D, Labruna MB, Guglielmone AA, et al. *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae), the Cayenne tick: phylogeography and evidence for allopatric speciation. *BMC Evol Biol.* 2013; 13: 267-306.

Berlese A. Acari austro- americani. *Boll Soc Ent Ital.* 1888; 20: 193.

Billeter SA, Diniz PP, Jett LA, Wournell AL, Kjemtrup AM, Padgett KA, et al. Detection of *Rickettsia* species in fleas collected from cats in regions endemic and nonendemic for flea-borne rickettsioses in California. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16 (3):151-6.

Bitencourth K. Diversidade em populações de *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari: Ixodidae) do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Monografia [Especialização em Entomologia Médica]- Instituto Oswaldo Cruz; 2010.

Bitencourth K, Voloch CM, Serra-Freire NM, Machado-Ferreira E, Amorim M, Gazêta GS. Analysis of *Amblyomma sculptum* haplotypes in an area endemic for Brazilian spotted fever. *Med Vet Entomol.* 2016; 30: 342-50.

Blanco CM, Teixeira BR, Silva AGD, Oliveira RCD, Strecht L, Ogrzewalska M, et al. Microorganisms in ticks (Acari: Ixodidae) collected on marsupials and rodents from Santa Catarina, Paraná and Mato Grosso do Sul, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 8 (1): 90-8.

Bonferroni CE. Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilità. Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze 1936; 8: 3-62.

Borsato R, Loyola R, Lemes P. Ecorregiões do Brasil: prioridades terrestres e marinhas. Paraná: Instituto LIFE; 2015.

Brasil- Portaria nº 1.943, de 18 de outubro de 2001, sobre doenças de notificação compulsória. *Inf Epidemiol SUS* 2001;10 (1): 57-8.

Brasil- Ministério do Meio Ambiente [*homepage* da Internet]. O bioma Cerrado [acesso em 09 nov 2016]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/cerrado>

Brasil- Ministério do Meio Ambiente [*homepage* da Internet]. Mata Atlântica [acesso em 19 maio 2017]. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biomas/mata-atlantica>

Brown LD, Macaluso KR. *Rickettsia felis*, an emerging flea-borne rickettsiosis. *Curr Trop Med Rep*. 2016; 3: 27-39.

Burgdorfer W, Hayes SF, Mavros AJ. Nonpathogenic rickettsiae in *Dermacentor andersoni*: a limiting factor for the distribution of *Rickettsia rickettsii*. In: Burgdorfer W, Anacker RL, editors. *Rickettsiae and rickettsial diseases*. New York: Academic Press; 1981.

Burkman EJ. Genetic structure of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) populations based on mitochondrial gene sequences. Statesboro. Dissertação [Mestrado em Biologia]- Georgia Southern University; 2009 [acesso em 02 set 2010]. Disponível em: http://dspaceprod.georgiasouthern.edu:8080/xmlui/bitstream/handle/10518/1766/burkman_erica_j_200901_ms.pdf?sequence=3

Cardoso LD, Freitas RN, Mafra CL, Neves CV, Figueira FC, Labruna MB, et al. Characterization of *Rickettsia* spp. circulating in a silent peri-urban focus for Brazilian spotted fever in Caratinga, Minas Gerais, Brazil. *Cad Saude Publica* 2006; 22: 495-501.

Casati S, Bernasconi MV, Gern L, Piffaretti JC. Assessment of intraspecific mtDNA variability of European *Ixodes ricinus* sensu stricto (Acari: Ixodidae). *Infect Genet Evol*. 2008; 8 (2): 152-8.

Cooksey LM, Haile DG, Mount GA. Computer Simulation of Rocky Mountain spotted fever transmission by the American dog tick (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol*. 1990; 27: 671-80.

Costa APD, Costa FB, Labruna MB, Silveira I, Moraes-Filho J, Soares JF, et al. A serological and molecular survey of *Babesia vogeli*, *Ehrlichia canis* and *Rickettsia* spp. among dogs in the State of Maranhão, northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2015; 24 (1): 28-35.

Dall'Agnol BS, Webster U, Weck A, Weck B, Stenzel B, Labruna MB, et al. "*Candidatus Rickettsia aseboensis*" in *Rhipicephalus sanguineus* ticks, Brazil. *Acta Trop*. 2017; 167: 18-20.

Dias E, Martins AV. Spotted fever in Brazil. *Am J Trop Med*. 1939; 19: 103-8.

Estrada-Peña A, Gray J, Kahl O. Variability in cuticular hydrocarbons and phenotypic discrimination of *Ixodes ricinus* (Acarina: Ixodidae) from Europe. *Exp Appl Acarol*. 1996; 20: 457-67.

Estrada-Peña A, Guglielmone AA, Mangold AJ. The distribution and ecological 'preferences' of the tick *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae), an ectoparasite of humans and other mammals in the America. *Ann Trop Med Parasit*. 2004; 98 (3): 283-92.

Estrada-Peña A, Tarragona EL, Vesco U, Meneghi D, Mastropaolo M, Mangold A, et al. Divergent environmental preferences and areas of sympatry of tick species in the *Amblyomma cajennense* complex (Ixodidae). *Int J Parasitol*. 2014; 44 (14): 1081-9.

Estrada-Peña A. Ticks as vectors: taxonomy, biology and ecology. *Rev Sci Tech Off Int Epiz*. 2015; 34: 53-65.

Evans DE, Martins JR, Guglielmone AA. A review of the ticks (Acari, Ixodida) of Brazil, their hosts and geographic distribution – 1. The State of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95 (4): 453-70.

Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 1992; 131 (2): 479-91.

Excoffier L. Analysis of population subdivision. In: Balding DJ, Bishop M, Cannings C. *Handbook of statistical genetics*. New York: John Wiley & Sons; 2001. p. 271-307.

Excoffier L, Lischer HEL. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol Ecol Resour*. 2010; 10: 564-7.

Faccini-Martínez ÁA, Ramírez-Hernández A, Forero-Becerra E, Cortés-Vecino JA, Escandón P, Rodas JD, et al. 2016. Molecular evidence of different *Rickettsia* species in Villeta, Colombia. *Vector Borne Zoonotic Dis*. 2016; 16 (2):85-7.

Fang R, Blanton LS, Walker DH. *Rickettsiae* as emerging infectious agents. *Clin Lab Med*. 2017; 37: 383- 400.

Felsenstein J. Phylogenies and the comparative method. *Am Nat*. 1985; 125: 1-15.

Ferreira CGT, Bezerra ACDS, Carvalho OVC, Almeida MR, Mafra C. First occurrence of *Amblyomma ovale* in the State of Rio Grande do Norte, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2013; 22 (1): 167-70.

Fortes FS, Silveira I, Moraes-Filho J, Leite RV, Bonacim JE, Biondo AW, et al. Soroprevalência de *Rickettsia bellii* e *Rickettsia felis* em cães, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil. Ver Bras Parasitol Vet. 2010; 19 (4): 222-7.

Fu YX. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. Genetics 1997; 147: 915-25.

Fussmann GF, Loreau M, Abrams PA. Eco-evolutionary dynamics of communities and ecosystems. Funct Ecol. 2007; 21: 465- 77.

Gehrke FS, Gazeta GS, Souza ER, Ribeiro A, Marrelli MT, Schumaker TTS. *Rickettsia rickettsii*, *Rickettsia felis* and *Rickettsia* sp TwKM03 infecting *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis* collected from dogs in a Brazilian spotted fever focus in the state of Rio de Janeiro/Brazil. Clin Microbiol Infect Dis. 2009; 15 (2): 267-8.

Gerardi M. Perfil genético e suscetibilidade de diferentes populações do carrapato *Amblyomma sculptum* à infecção pelo patógeno *Rickettsia rickettsii*. Tese [Doutorado em Epidemiologia experimental aplicada às zoonoses] – Universidade de São Paulo, 2016.

Gillespie JJ, Williams K, Shukla M, Snyder EE, Nordberg EK, Ceraul SM, et al. *Rickettsia* phylogenomics: unwinding the intricacies of obligate intracellular life. PLoS One 2008; 3 (4): 1-34.

Gomes LS. Thypho exanthematico de São Paulo. Brasil Med. 1933; 17: 919-21.

Gouy M, Guindon S, Gascuel O. SeaView version 4 : a multiplatform graphical user interface for sequence alignment and phylogenetic tree building. Mol Biol and Evol. 2010; 27 (2): 221-4.

Gray J. Biology of *Ixodes* species ticks in relation to tick-borne zoonoses. Wien Klin Wochenschr 2002; 114: 473-8.

Guedes E, Leite RC, Prata MCA, Pacheco RC, Walker DH, Labruna MB. Detection of *Rickettsia rickettsii* in the tick *Amblyomma cajennense* in a new Brazilian spotted fever-endemic area in the state of Minas Gerais. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100: 841-5.

Guglielmone AA, Estrada-Peña A, Mangold AJ, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Martins JR, et al. *Amblyomma aureolatum* (Pallas, 1772) and *Amblyomma ovale* Kock, 1844: hosts, distribution and 16S rDNA sequences. *Vet Parasitol.* 2003; 113: 273-88.

Guglielmone AA, Beati L, Barros-Battesti DM, Labruna MB, Nava S, Venzal JM, et al. Ticks (Ixodidae) on humans in South America. *Exp Appl Acarol.* 2006; 40: 83-100.

Guimarães JH, Tucci EC, Barros-Battesti DM. Ectoparasitos de importância veterinária. Plêiade: São Paulo; 2001.

Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol.* 2010; 59: 307-21.

Holsinger KE, Weir BS. Fundamental concepts in genetics: genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat Rev Genet.* 2009; 10: 639-50.

Horta MC, Labruna MB, Pinter A, Linardi PM, Schumaker TTS. *Rickettsia* infection in five areas of the State of São Paulo, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102: 793-801.

Jiang J, Maina AN, Knobel DL, Cleaveland S, Laudisoit A, Wamburu K, et al. Molecular detection of *Rickettsia felis* and *Candidatus Rickettsia asemboensis* in fleas from human habitats, Asembo, Kenya. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2013; 13 (8):550-8.

Karpathy SE, Slater KS, Goldsmith CS, Nicholson WL, Paddock CD. *Rickettsia amblyommatis* sp. nov., a spotted fever group *Rickettsia* associated with multiple species of *Amblyomma* ticks in North, Central and South America. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2016; 66: 5236-43.

Kempf F, Boulinier T, Meeus T, Arnathau C, McCoy KD. Recent evolution of host-associated divergence in the seabird tick *Ixodes uriae*. *Mol Ecol.* 2009; 18: 4450-62.

Ketchum HR, Teel PD, Coates CJ, Strey OF, Longnecker MT. Genetic variation in 12S and 16S mitochondrial rDNA genes of four geographically isolated populations of gulf coast ticks (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 2009; 46: 482-9.

Khatchikian CE, Prusinski MA, Stone M, Backenson PB, Wang IN, Foley E, et al. Recent and rapid population growth and range expansion of the lyme disease tick vector, *Ixodes scapularis*, in North America. *Evolution* 2015; 69: 1678-89.

Koch CL. Systematische Übersicht über die Ordnung der Zecken. *Archiv für Naturgeschichte* 1844; 10: 217-39.

Kolo AO, Sibeko-Matjila KP, Maina AN, Richards AL, Knobel DL, Matjila PT. Molecular detection of zoonotic Rickettsiae and *Anaplasma* spp. in domestic dogs and their ectoparasites in Bushbuckridge, South Africa. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016; 16 (4):245-52.

Kovalev SY, Mukhacheva TA. Phylogeographical structure of tick *Ixodes persulcatus*: a novel view. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3: 212-18.

Krakovetz CN, Lindsay LR, Chilton NB. Genetic diversity in *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) from six established populations in Canada. *Ticks Tick Borne Dis.* 2011; 2: 143-50.

Krawczak FS, Muñoz-Leal S, Guztazky AC, Oliveira SV, Santos FCP, Angerami RN, et al. *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest infection in a patient from a spotted fever-endemic area in southern Brazil. *Am J Trop Hyg.* 2016a; 95 (3): 551-3.

Krawczak FS, Binder LC, Oliveira CS, Costa FB, Moraes-Filho J, Martins TF, et al. Ecology of a tick-borne spotted fever in Southern Brazil. *Exp Appl Acarol.* 2016b; 70 (2): 219-29.

Krawczak FS, Agostinho WC, Polo G, Moraes-Filho J, Labruna MB. Comparative evaluation of *Amblyomma ovale* ticks infected and noninfected by *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest, the agent of an emerging rickettsiosis in Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016c; 7: 502-7.

Labruna MB, Whitworth T, Bouyer DH, McBride J, Camargo LMA, Camargo EP, et al. *Rickettsia bellii* and *Rickettsia amblyommii* in *Amblyomma* ticks from the State of Rondônia, Western Amazon. *Braz J Med Entomol.* 2004a; 41 (6):1073-81.

Labruna MB, Whitworth T, Horta MC, Bouyer DH, McBride JW, Pinter A, et al. *Rickettsia* species infecting *Amblyomma cooperi* ticks from an area in the state of São Paulo, Brazil, where Brazilian spotted fever is endemic. *J Clin Microbiol.* 2004b; 42: 90-8.

Labruna MB, McBride JW, Bouyer DH, Camargo LMA, Camargo EP, Walker, D.H. Molecular evidence for a spotted fever group *Rickettsia* species in the tick *Amblyomma longirostre* in Brazil. J Med Entomol. 2004c; 41: 533-7.

Labruna MB, Jorge RSP, Sana DA, Jácomo ATA, Kashivakura CK, Furtado MM, et al. Ticks (Acari: Ixodidae) on wild carnivores in Brazil. Exp Appl Acarol. 2005; 36: 143-63.

Labruna MB, Pacheco RC, Richtzenhain LJ, Szabó MP. Isolation of *Rickettsia rhipicephali* and *Rickettsia bellii* from *Haemaphysalis juxtakochi* ticks in the state of São Paulo, Brazil. Appl Environ Microbiol. 2007; 73 (3): 869-73.

Labruna MB, Ogrzewalska M, Martins TF, Pinter A, Horta MC. Comparative susceptibility of larval stages of *Amblyomma aureolatum*, *Amblyomma cajennense*, and *Rhipicephalus sanguineus* to infection by *Rickettsia rickettsii*. J Med Entomol. 2008; 45: 1156-9.

Labruna MB. Ecology of *Rickettsia* in South America. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1166: 156-66.

Labruna MB, Mattar S, Nava S, Bermudez S, Venzal JM, Dolz G, et al. Rickettsioses in Latin America, Caribbean, Spain and Portugal. Rev MVZ Córdoba 2011a; 16: 2435-57.

Labruna MB, Soares JF, Martins TF, Soares HF, Cabrera RR. Cross-mating experiments with geographically different populations of *Amblyomma cajennense* (Acari:Ixodidae). Exp Appl Acarol. 2011b; 54 (1): 41-9.

Labruna MB, Ogrzewalska M, Soares JF, Martins TF, Soares HS, Moraes-Filho J, et al. Experimental infection of *Amblyomma aureolatum* ticks with *Rickettsia rickettsii*. Emerg Infect Dis. 2011c; 17: 829-34.

Labruna MB, Santos FC, Ogrzewalska M, Nascimento EM, Colombo S, Marcili A, et al. Genetic identification of rickettsial isolates from fatal cases of Brazilian spotted fever and comparison with *Rickettsia rickettsii* isolates from the America continents. J Clin Microbiol. 2014; 52: 3788-91.

Labruna MB, Krawczak FS, Gerardi M, Binder LC, Barbieri ARM, Paz GF, et al. Isolation of *Rickettsia rickettsii* from the tick *Amblyomma sculptum* from a Brazilian spotted fever-endemic area in the Pampulha Lake region, southeastern Brazil. Vet Parasitol. 2017; 8: 82-5.

Lado P, Nava S, Labruna MB, Szabó MPJ, Durden, LA, Bermudez S, et al. *Amblyomma parvum* Aragão, 1908 (Acari: Ixodidae): phylogeography and systematic considerations. *Ticks and Tick-Borne Dis.* 2016; 7 (5): 817-27.

Lampo M, Rangel Y, Mata A. Population genetic structure of a three-host tick, *Amblyomma dissimile*, in eastern Venezuela. *J Parasitol.* 1998; 6: 1137-42.

Li WH. *Molecular evolution.* Sunderland: Sinauer Associates; 1997.

Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 2009; 25: 1451-2.

Londoño AF, Díaz FJ, Valbuena G, Gazi M, Labruna MB, Hidalgo M, et al. Infection of *Amblyomma ovale* by *Rickettsia* sp. Atlantic rainforest, Colombia. *Ticks Tick Borne Dis.* 2014; 5: 672-5.

Lopes MG, May JJ, Foster RJ, Harmsen BJ, Sanchez E, Martins TF, et al. Ticks and rickettsiae from wildlife in Belize, Central America. *Parasit Vectors* 2016; 9: 62.

Luz HR, McIntosh D, Furusawa GP, Flausino W, Rozental T, Lemos ER, et al. Infection of *Amblyomma ovale* with *Rickettsia* species Atlantic rainforest in Serra do Mar, São Paulo State, Brazil. *Ticks tick Borne Dis.* 2016; 7 (6): 1265-7.

Macaluso KR, Sonenshine DE, Ceraul SM, Azad AF. Rickettsial infection in *Dermacentor variabilis* (Acari: Ixodidae) inhibits transovarial transmission of a second *Rickettsia*. *J Med Entomol.* 2002; 39: 809-13.

Machado IB. Biodiversidade de riquetsias e potenciais vetores da Febre Maculosa em área de interesse epidemiológico no Cerrado brasileiro, Estado de Goiás. Dissertação [Mestrado em Biodiversidade e Saúde] – Fundação Oswaldo Cruz, 2017.

Madhav NK, Brownstein JS, Tsao JI, Fish D. A dispersal model for the range expansion of blacklegged tick (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 2004; 41: 842-52.

Mandal SD, Chhakchhuak L, Gurusubramanian G, Kumar NS. Mitochondrial markers for identification and phylogenetic studies in insects -A review. *DNA barcodes* 2014; 2: 1-9.

Mangold AJ, Bargues MD, Mas-Coma S. Mitochondrial 16S rDNA sequences and phylogenetic relationships of species of *Rhipicephalus* and other tick genera among Metastriata (Acari: Ixodidae). *Parasitol Res.* 1998; 84 (6): 478-84.

Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. *Cancer Res.* 1967; 27: 209-20.

Martins TF, Onofrio VC, Barros-Battesti DM, Labruna MB. Nymphs of the genus *Amblyomma* (Acari: Ixodidae) in Brazil: descriptions, redescrptions and identification key. *Ticks Tick Borne Dis.* 2010; 1 (2): 75-99.

Martins TF, Barbieri ARM, Costa FB, Terassini FA, Camargo LMA, Peterka CRL, et al. Geographical distribution of *Amblyomma cajennense* (*sensu lato*) ticks (Parasitiformes: Ixodidae) in Brazil, with description of the nymph of *A. cajennense* (*sensu stricto*). *Parasit Vectors* 2016a; 9: 186-99.

Martins TF, Peres MG, Costa FB, Bacchiega TS, Appolinario CM, Antunes JMAP, et al. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting wild small rodents (Rodentia: Cricetidae) in three áreas of the State of São Paulo, Brazil. *Ciênc Rural* 2016b; 46 (5): 871-5.

Mastropaolo M, Nava S, Guglielmone AA, Mangold AJ. Biological differences between two allopatric populations of *Amblyomma cajennense* (Acari: Ixodidae) in Argentina. *Exp Appl Acarol.* 2011; 53 (4): 371-5.

Maturano R, Faccini JL, Daemon E, Fazza PO, Bastos RR. Additional information about tick parasitism in Passeriformes birds in an Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Parasitol Res.* 2015; 114 (1): 4181-93.

McCoy KD, Boulinier T, Tirard C, Michalakis Y. Host dependent genetic structure of parasite populations: differential dispersal of seabird tick host races. *Evolution* 2003; 57: 288-96.

McCoy KD. The population genetic structure of vectors and our understanding of disease epidemiology. *Parasite* 2008; 15: 444-8.

McLain DK, Wesson DM, Oliver JH, Collins FH. Variation in ribosomal DNA internal transcribed spacers 1 among eastern populations of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 1995; 32: 353-60.

Medeiros AP, Souza AP, Moura AB, Lavina MS, Belatto V, Sartor AA, et al. Spotted fever group *Rickettsia* infecting ticks (Acari: Ixodidae) in the state of Santa Catarina, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106: 926-30.

Melo ALT, Martins TF, Horta MC, Moraes-Filho J, Pacheco RC, Labruna MB, et al. Seroprevalence and risk factors to *Ehrlichia* spp. and *Rickettsia* spp. in dogs from the Pantanal Region of Mato Grosso State, Brazil. *Ticks and Tick Borne Dis.* 2011; 2: 213-8.

Melo ALT, Witter R, Martins TF, Pacheco TA, Alves AS, Chitarra CS, et al. A survey of tick-borne pathogens in dogs and their ticks in the Pantanal biome, Brazil. *Med Vet Entomol.* 2016; 30 (1): 112-6.

Ministério da Saúde (Brasil) [*homepage* na Internet]. Portaria nº 204, de 18 de fevereiro de 2016. Gabinete do Ministro/Ministério da Saúde. Define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional, nos termos do anexo, e dá outras providências [acesso em 14 fev 2017]. Disponível em: http://cosemsrs.org.br/imagens/portarias/por_t6h5.pdf

Ministério da Saúde (Brasil) [*homepage* na Internet]. Febre Maculosa [acesso em 14 fev 2017]. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/secretarias/svs/febre-maculosa>

Mixson TR, Lydy SL, Dasch GA, Real LA. Inferring the population structure and demographic history of the tick *Amblyomma americanum* Linnaeus. *J Vector Ecol.* 2006; 31 (1): 181-92.

Moerbeck L, Vizzoni VF, Machado-Ferreira E, Cavalcante RC, Oliveira SV, Soares CAG, et al. *Rickettsia* (*Rickettsiales*: *Rickettsiaceae*) vector biodiversity in high altitude Atlantic forest fragments within a semiarid climate: a new endemic area of spotted-fever in Brazil. *J Med Entomol.* 2016; 53 (6): 1458-66.

Monzón JD, Moyer-Horner L, Palamar MB. Climate change and species range dynamics in protected areas. *Bioscience* 2011; 61: 752-61.

Monzón JD, Atkinson EG, Henn BM, Benach JL. Population and evolutionary genomics of *Amblyomma americanum*, an expanding arthropod disease vector. *Genome Biol Evol.* 2016; 5, 1351-60.

Moraes-Filho J, Pinter A, Pacheco RC, Gutmann TB, Barbosa SO, Gonzáles MARM, et al. New epidemiological data on Brazilian spotted fever in an endemic area of the state of São Paulo, Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2009; 9 (1): 73-8.

Murrell A, Campbell NJH, Barker SC. Mitochondrial 12S rDNA indicates that the Rhipicephalinae (Acari: Ixodida: Ixodidae) is paraphyletic. *Mol Phylogenet Evol.* 1999; 12: 83-6.

Nava S, Venzal JM, Labruna MB, Mastropaolo M, González EM, Mangold AJ, et al. Hosts, distribution and genetic divergence (16S rDNA) of *Amblyomma dubitatum* (Acari: Ixodidae). *Exp Appl Acarol.* 2010; 51: 335-51.

Nava S, Beati L, Labruna MB, Cáceres AG, Mangold AJ, Guglielmone AA. Reassessment of the taxonomic status of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) with the description of three new species, *Amblyomma tonelliae* n. sp., *Amblyomma interandinum* n. sp. and *Amblyomma patinoi* n. sp., and reinstatement of *Amblyomma mixtum* Koch, 1844, and *Amblyomma sculptum* Berlese, 1888 (Ixodida: Ixodidae). *Ticks Tick Borne Dis.* 2014, 5: 253-76.

Nava S, Gerardi M, Szabó MPJ, Mastropaolo M, Martins TF, Labruna MB, et al. Different lines of evidence used to delimit species in ticks: a study of the south American populations of *Amblyomma parvum* (Acari: Ixodidae) *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7 (6): 1168-79.

Neumann LG. Révision de la famille des Ixodidés. *Mém Soc Zool Fr.* 1899; 12: 107-294.

Neumann LG. Ixodidae. *Das Tierreich* 26. Berlin: R. Friedländer und Sohn; 1911.

Niebylski ML, Peacock MG, Schwan TG. Lethal effect of *Rickettsia rickettsii* on its tick vector (*Dermacentor andersoni*). *Appl Environ Microbiol.* 1999; 65 (2): 773-8.

Nieri-Bastos FA, Horta MC, Barros-Battesti DM, Moraes-Filho J, Ramirez DG, Martins TF, et al. Isolation of the pathogen *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest from its presumed tick vector, *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae), from two areas of Brazil. *J Med Entomol.* 2016; 53 (4): 977-81.

Norris DE, Klompen JSH, Keirans JE, Black WC IV. Population genetics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes. *J Med Entomol.* 1996; 33: 78-89.

Norris DE, Klompen JSH, Black WC IV. Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard-ticks (Acari: Ixodidae). *Ann Entomol Soc Am.* 1999; 92: 117-29.

Nunes EC, Vizzoni VF, Navarro DL, Iani FCM, Durães LS, Daemon E, et al. *Rickettsia amblyommii* infecting *Amblyomma sculptum* in endemic spotted fever area from southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015; 8: 1058-61.

Ogata H, Scola BL, Audic S, Renesto P, Blanc G, Robert C, et al. Genome sequence of *Rickettsia bellii* Illuminates the role of Amoebae in gene exchanges between intracellular pathogens. PLoS Genet. 2006; 2 (5):733-44.

Ogrzewalska M, Pacheco RC, Uezu A, Richtzenhain LJ, Ferreira F, Labruna MB, et al. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting birds in na Atlantic rain forest region of Brazil. J Med Entomol. 2009; 46: 1225-9.

Ogrzewalska M, Saraiva DG, Moraes-Filho J, Martin TF, Costa FB, Pinter A, et al. Epidemiology of Brazilian spotted fever in the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil. Parasitol. 2012; 139: 1283-300.

Ogrzewalska M, Schwarcz K, Bajay MM, Bajay SK, Pinheiro JB, Zucchi MI, et al. Characterization of genetic variability and population structure of the tick *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). J Med Entomol. 2016; 53 (4): 843-50.

Oliveira SV, Guimarães JN, Reckziegel GC, Neves BMC, Araújo-Vilges KM, Fonseca LX, et al. An update on the epidemiological situation of spotted fever in Brazil. J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis. 2016; 22: 1-8.

Oteo JA, Portillo A, Portero F, Zavala-Castro J, Venzal JM, Labruna MB. *Candidatus Rickettsia asemboensis* and *Wolbachia* spp. in *Ctenocephalides felis* and *Pulex irritans* fleas removed from dogs in Ecuador. Parasit Vectors 2014; 30 (7): 455.

Pacheco RC, Rosa S, Richtzenhain L, Szabó MPJ, Labruna MB. Isolation of *Rickettsia bellii* from *Amblyomma ovale* and *Amblyomma incisum* ticks from southern Brazil. Rev MVZ Córdoba 2008; 13: 1273-9.

Pacheco RC, Horta MC, Pinter A, Moraes-Filho J, Martins TF, Nardi MS, et al. Pesquisa de *Rickettsia* spp em carrapatos *Amblyomma cajennense* e *Amblyomma dubitatum* no estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 2009; 42 (3):351-3.

Paddock CD, Sumner JW, Comer JA, Zaki SR, Golsmith CS, Goddard J, et al. *Rickettsia parkeri*: A newly reconized cause of spotted fever rickettsiosis in the United States. Clin Infect Dis. 2004; 38 (6): 805-11.

Paddock CD, Denison AM, Dryden MW, Noden BH, Lash RR, Abdelghani SS, et al. High prevalence of “*Candidatus Rickettsia andeanae*” and apparent exclusion of *Rickettsia parkeri* in adult *Amblyomma maculatum* (Acari: Ixodidae) from Kansas and Oklahoma. Ticks and Tick Borne Dis. 2015; 3: 297-302.

Pallas PS. Spicilegia zoologica quibus novae imprimis et obscurae animalium species iconibus, descriptionibus atque commentariis illustrantur. Berolini: Lange; 1772.

Parola P, Davoust B, Raoult D. Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Vet Res.* 2005; 36: 469-92.

Parola P, Labruna MB, Raoult D. Tick-borne rickettsioses in America: unanswered questions and emerging diseases. *Curr Infect Dis Rep.* 2009; 11: 40-50.

Parola P, Paddock CD, Socolovschi C, Labruna MB, Mediannikov O, Kernif T, et al. Update on tick-borne rickettsioses around the world: a geographic approach. *Clin Microbiol Rev.* 2013; 4: 657-702.

Paternina LE, Verbel-Vergara D, Bejarano EE. Comparación y utilidad de las regiones mitocondriales de los genes 16S y COX1 para los análisis genéticos em garrapatas (Acari: Ixodidae). *Biomédica* 2016; 36: 295-302.

Paulauskas A, Radzijeuskaja J, Rosef O, Turcinaviciene J, Ambrasiene D, Makareviciute D. Genetic variation of ticks (*Ixodes ricinus* L.) in the Lithuanian and Norwegian populations. *Exp. Appl. Acarol.* 2006; 40: 259-70.

Pinter A, Dias RA, Gennari SM, Labruna MB. Study of the seasonal dynamics, life cycle, and host specificity of *Amblyomma aureolatum* (Acari: Ixodidae). *J Med Entomol.* 2004; 41: 324-32.

Pinter A, Labruna MB. Isolation of *Rickettsia rickettsii* and *Rickettsia bellii* in cell culture from the tick *Amblyomma aureolatum* in Brazil. *Ann NY Acad Sci.* 2006; 1078: 523-9.

Pinter A, Pacheco RC, Horta MC, Moraes-Filho J, Labruna MB. Seroevaluation on dogs and humans from a Spotted Fever endemic area in the State of São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Publica* 2008; 24: 247-52.

Piranda EM, Faccini JLH, Pinter A, Saito TB, Pacheco RC, Hagiwara MK, Labruna MB. Experimental infection of dogs with a Brazilian strain of *Rickettsia rickettsii*: clinical and laboratory findings. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2008; 103 (7): 696-701.

Ramos DG, Melo AI, Martins TF, Alves ADS, Pacheco TDA, Pinto LB, et al. Rickettsial infection in ticks from wild birds from Cerrado and the Pantanal region of Mato Grosso, midwestern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2015; 6 (6): 836-42.

Ramos-Onsins SE, Rozas J. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Mol Biol Evol.* 2002; 19: 2092–2100.

Raoult D, La Scola B, Enea M, Fournier PE, Roux V, Fenollar F, et al. A flea-associated *Rickettsia* pathogenic for humans. *J Emerg Infect Dis.* 2001; 7: 73-81.

Regnery RL, Spruill CL, Plikaytis BD. Genotypic identification of Rickettsiae and estimation of intraspecies sequence divergence for portions of two rickettsial genes. *J. Bacteriol.* 1991; 173 (5): 1576-89.

Rivas JJ, Moreira-Soto A, Alvarado G, Taylor L, Calderón-Arguedas O, Hun L, et al. Pathogenic potential of a Costa Rican strain of '*Candidatus Rickettsia amblyommii*' in guinea pigs (*Cavia porcellus*) and protective immunity against *Rickettsia rickettsii*. *Ticks and Tick Borne Dis.* 2015; 6: 805-11.

Rivera-Páez FA, Labruna MB, Martins TF, Sampieri BR, Camargo-Mathias MI. *Amblyomma mixtum* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae): first record confirmation in Colombia using morphological and molecular analyses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7: 842-8.

Robinson LE. The genus *Amblyomma*. Great Britain: Cambridge University Press; 1926.

Rohr CJ. Estudos sobre Ixodidae do Brasil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1909; 1: 110-7.

Roux V, Rydkina E, Ereemeeva M, Raoult D. Citrate synthase gene comparison, a new tool for phylogenetic analysis, and its application for the Rickettsiae. *Intern J Syst Bacteriol.* 1997; 47 (2): 252-61.

Roux V, Raoult D. Phylogenetic analysis of members of the genus *Rickettsia* using the gene encoding the outer-membrane protein rOmpB (OmpB). *Internat J Syst Evol Microbiol.* 2000; 50: 1449-55.

Rudakov NV, Shpynov SN, Samoilenko IE, Tankibae MA. Ecology and epidemiology of spotted fever group rickettsia and new data from their study in Russia and Kazakhstan. *Ann N Y Acad Sci.* 2003; 990: 12-24.

Rzotkiewicz S, Gutiérrez R, Krasnov BR, Morick D, Khokhlova IS, Nachum-Biala Y, et al. Novel evidence suggests that a '*Rickettsia felis*-like' organism is an endosymbiont of the desert flea, *Xenopsylla ramesis*. *Mol Ecol.* 2015; 24 (6):1364-73.

Sabatini GS, Pinter A, Nieri-Bastos FA, Marcili A, Labruna MB. Survey of ticks (Acari: Ixodidae) and their rickettsia in an Atlantic rain forest reserve in the state of São Paulo, Brazil. *J Med Entomol.* 2010; 47: 913-6.

Sambrook J, Russell DW. *Molecular cloning: a laboratory manual.* 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.

Sangioni LA, Horta MC, Vianna MCB, Gennari SM, Soares RM, Galvão MAM, et al. Rickettsial infection in animals and Brazilian spotted fever endemicity. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11: 265-70.

Santos FCP, Nascimento EMM, Katz G, Angerami RN, Colombo S, Souza ER, et al. Brazilian spotted fever: Real-time PCR for diagnosis of fatal cases. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012a; 3: 311-3.

Santos FLA, Medeiros EM, Souza MJN. Contexto hidroclimático do enclave úmido do Maciço de Baturité – Ceará: potencialidades e limitações ao uso da terra. *Rev Geon* 2012b; 2: 1056-65.

Saraiva DG, Soares HS, Soares JF, Labruna MB. Feeding period required by *Amblyomma aureolatum* ticks for transmission of *Rickettsia rickettsii* to vertebrate hosts. *Emerg Infect Dis.* 2014; 20 (9), 1504-10.

Scinachi CA, Takeda GA, Mucci LF, Pinter A. Association of the occurrence of Brazilian spotted fever and Atlantic rain forest fragmentation in the São Paulo metropolitan region, Brazil. *Acta Trop.* 2017; 166: 225-33.

Sekeyova Z, Roux V, Raoult D. Phylogeny of *Rickettsia* spp. inferred by comparing sequences of 'geneD', which encodes an intracytoplasmic protein. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51: 1353-60.

Serra-Freire NM. Tick paralysis in Brazil. *Trop Anim Hlth Prod.* 1983; 15: 124-6.

Shao R, Barker SC. Mitochondrial genomes of parasitic arthropods: implications for studies of population genetics and evolution. *Parasitology* 2007; 134: 153-67.

Silva AB, Vizzoni VF, Costa AP, Costa FB, Moraes-Filho J, Labruna MB. First report of a *Rickettsia asembonensis* related infecting fleas in Brazil. *Acta Trop.* 2017; 172: 44-9.

Silva N, Eremeeva ME, Rozental T, Ribeiro GS, Paddock CD, Ramos EAG, et al. Eschar-associated spotted fever rickettsiosis, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2011; 17: 275-8.

Simon CFF, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann Entomol Soc Am.* 1994; 87: 651-701.

Soares HS, Barbieri AR, Martins TF, Minervino AH, Lima JT, Marcili A, et al. Ticks and rickettsial infection in the wildlife of two regions of the Brazilian Amazon. *Exp Appl Acarol.* 2015; 65: 125-40.

Soares JF, Soares HS, Barbieri AM, Labruna MB. Experimental infection of the tick *Amblyomma cajennense*, Cayenne tick, with *Rickettsia rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted-fever. *Med Vet Entomol.* 2012; 26: 139-51.

Sonenshine DE. *Biology of ticks.* New York: Oxford University Press; 1993.

Souza CE, Moraes-Filho J, Ogrzewalska M, Uchoa FA, Horta MC, Souza SS, et al. Experimental infection of capybaras *Hydrochaeris hydrochaeris* by *Rickettsia rickettsii* and evaluation of the transmission of the infection to ticks *Amblyomma cajennense*. *Vet Parasitol.* 2009; 161: 116-21.

Spolidorio MG, Labruna MB, Mantovani E, Brandão PE, Richtzenhain LJ, Yoshinari NH. Novel spotted fever group rickettsiosis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2010; 6: 521-3.

Stothard DR, Clark JB, Fuerst PA. Ancestral divergence of *Rickettsia bellii* from the spotted fever and typhus groups of *Rickettsia* and antiquity of the genus *Rickettsia*. *Int J Syst Bacteriol.* 1994; 44 (4): 798-804.

Szabó MPJ, Labruna MB, Garcia MV, Pinter A, Castagnolli KC, Pacheco RC, et al. Ecological aspects of free-living ticks (Acari: Ixodidae) on animal trails in an Atlantic rainforest of Southeastern Brazil. *Ann Trop Med Parasit.* 2009; 103: 57-72.

Szabó MPJ, Martins TF, Nieri-Bastos FA, Spolidorio MG, Labruna MB. A surrogate life cycle of *Amblyomma ovale* Koch, 1844. *Ticks Tick Borne Dis.* 2012; 3: 262-4.

Szabó MPJ, Pinter A, Labruna MB. Ecology, biology and distribution of spotted fever tick vectors in Brazil. *Front Cell Infect Microbiol.* 2013a; 27 (3): 1-9.

Szabó MP, Nieri-Bastos FA, Spolidorio MG, Martins TF, Barbieri AM, Labruna MB. In vitro isolation from *Amblyomma ovale* (Acari: Ixodidae) and ecological aspects of the Atlantic rainforest Rickettsia, the causative agente of a novel spotted fever rickettsiosis in Brazil. *Parasitology* 2013b; 140: 719-28.

Tabarelli M, Santos AMM. Uma breve descrição sobre a história natural dos brejos nordestinos. In Porto KC, Cabral JJP, Tabarelli M. Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente; 2004. p. 99-110.

Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 1989; 123: 585-95.

Tajima F. The amount of DNA polymorphism maintained in a finite population when the neutral mutation rate varies among sites. *Genetics* 1996; 143: 1457-65.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA 6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Mol Biol Evol.* 2013; 30: 2725-9.

Teglas M, Matern E, Lein S, Foley P, Mahan SM, Foley J. Ticks and tick-borne disease in Guatemalan cattle and horses. *Vet Parasitol.* 2005; 131: 119-27.

Thompson J, Higgins D, Gibson T. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 1994; 22: 4673-90.

Tonelli-Rondelli M. Ixodoidea. Parte I. *Amblyomma ovale* Koch, *Amblyomma cajennense* Fabricius e le specie a loro affini nuove o poco note. *Riv Parassitol.* 1937; 1 (4): 273- 300.

Trout RT, Steelman CD, Szalanski AL. Population Genetics of *Amblyomma americanum* (Acari: Ixodidae) collected from Arkansas. *J Med Entomol.* 2010; 47 (2): 152-61.

Troyo A, Moreira-Soto RD, Calderon-Arguedas Ó, Mata-Somarribas C, Ortiz-Tello J, Barbieri AR, et al. Detection of rickettsiae in fleas and ticks from areas of Costa Rica with history of spotted fever group rickettsioses. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 7 (6):1128–34.

Vedanarayanan V, Sorey WH, Subramony SH. Tick paralysis. *Semin Neurol.* 2004; 24 (2): 181-4.

Vizzoni VF, Silva AB, Cardoso KM, Santos FB, Stenzel B, Amorim M, et al. Genetic identification of *Rickettsia* sp. strain Atlantic rainforest in an endemic area of a mild spotted fever in Rio Grande do Sul state, southern Brazil. *Acta Trop.* 2016; 162: 142-5.

Webb L, Mitchell C, Malloy DC, Dasch GA, Azad AF. Detection of murine typhus infection in fleas by using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1990; 28: 530-4.

Weck B, Dall'Agnol B, Souza U, Webster A, Stenzel B, Klafke G, et al. Spotted fever group *Rickettsia* in the Pampa biome, Brazil, 2015-2016. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22 (11): 2014-2016.

Witter R, Martins TF, Campos AK, Melo AL, Corrêa SH, Morgado TO, et al. Rickettsial infection in ticks (Acari: Ixodidae) of wild animals in midwestern Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2016; 3: 415-23.

Wright S. The genetical structure of populations. *Ann Eugen.* 1951; 15: 323-54.

Xu G, Fang QQ, Keirans JE, Durden LA. Molecular phylogenetic analyses indicate that the *Ixodes ricinus* complex is a paraphyletic group. *J Parasitol.* 2003; 89: 452-7.

Zeringóta V, Maturano R, Luz HR, Senra TO, Daemon E, Faccini JL, et al. Molecular detection of *Rickettsia rhipicephali* and other spotted fever group *Rickettsia* species in *Amblyomma* ticks infesting wild birds in the state of Minas Gerais, Brazil. *Ticks Tick Borne Dis.* 2017; 8 (1): 81-9.

Zhang DX, Hewitt G. Insect mitochondrial control region: a review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. *Biochem Syst Ecol.* 1997; 25 (2): 99-120.

Zink R, Barrowclough G. Mitochondrial DNA under siege in avian phylogeography. *Mol Ecol.* 2008; 17: 2107-21.

APÊNDICE A - NÚMERO DE ACESSO DO GENBANK DAS SEQUÊNCIAS DE CARRAPATOS UTILIZADAS NAS ANÁLISES GENÉTICAS

Tabela A1. Número de acesso do *GenBank* das sequências utilizadas nas análises populacionais de *Amblyomma sculptum* e nas análises filogenéticas do complexo *Amblyomma cajennense*.

Espécie	Gene	Número de acesso <i>GenBank</i>	Procedência
<i>Amblyomma tonelliae</i>	12S rDNA	EU791602- EU791604, JX987868- JX987873 JX987874, JX987875	Argentina (Chaco) Paraguai
	COII	KF787622, KF787624- KF787626 KF787623	Argentina (Chaco) Paraguai
	D-loop	KF527380- KF527387 KF527388, KF527389	Argentina (Chaco) Paraguai
<i>Amblyomma sculptum</i>	12S rDNA	JX987883- JX987887, EU791607, EU791608 AY342288, EU791609, EU791611-EU791613, JX987888- JX987890	Argentina (Yungas) Brasil (Mata Atlântica)
		KF614694- KF614698 EU791610	Brasil (Rio de Janeiro) Brasil (Corumbá/ Mato Grosso do Sul)
		KF787617, KF787617 KF614677- KF614684 KF787618- KF787621 KF787611- KF787615	Brasil (Mata Atlântica) Brasil (Rio de Janeiro) Brasil (Corumbá/ Mato Grosso do Sul) Argentina (Yungas)
	D-loop	KF527366- KF527371 KF614685- KF614693 KF527365- KF527372 KF527373- KF527379	Brasil (Corumbá/ Mato Grosso do Sul) Brasil (Rio de Janeiro) Brasil (Mata Atlântica) Argentina (Yungas)
		EU791605, JX987809 JX987807, JX987808	Brasil (Rondônia) Venezuela
		JX987796- JX987806, EU791606	Guiana Francesa
<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	COII	KF787609, KF787610 KF787599- KF787608	Brasil (Rondônia) Guiana Francesa
	D-loop	KF527345- KF527354, KF527356 KF527357 KF527355, KF527358	Guiana Francesa Venezuela Brasil (Rondônia)
	12S rDNA	JX987850- JX987867, EU791594- EU 791601	
<i>Amblyomma interandinum</i>	COII	KF787627- KF787631	Peru
	D-loop	KF527390- KF527408	
	12S rDNA	JX987877- JX987882	
<i>Amblyomma patinoi</i>	COII	KF787596- KF787598	Colômbia
	D-loop	KF527359- KF527364 JX987838- JX987842	Texas México
	12S rDNA	JX987845- JX987849, EU791583, EU791585, JX987810- JX987834, JX987837, EU791584, EU791586- EU791589 JX987835, JX987836, JX987843, JX987844, EU791591- EU791593	Equador Costa Rica
<i>Amblyomma mixtum</i>	COII	KF787591- KF787595 KF787582, KF787587- KF787590 KF787572- KF787581 KF787583- KF787586	Texas México Equador Costa Rica
		KF527340- KF527344 KF527330- KF527337	Texas México
		KF527299- KF527309, KF527312, KF527314- KF527326, KF527338, KF527339 KF527310, KF527311, KF527313, KF527327, KF527328	Equador Costa Rica

APÊNDICE B - DADOS DAS AMOSTRAS DE CARRAPATOS COLETADAS E ANALISADAS

Tabela B1. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4219C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Tapirus terrestris</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		KY273542
4231A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4030A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4035B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4035A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4033C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4035K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034E_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034C_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034D_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
3912E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
4031D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
3919C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3915B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3916A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
4461J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
3639A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4475A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
3639B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4474C_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5947B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo		
5297F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5295G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4348B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo	hl	KY273546
4348A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo		
4449C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Tapirus terrestris</i>	2012	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6336C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6118B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Goiás	Cavalcante	Cerrado	Negativo		
6114B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Goiás	Cavalcante	Cerrado	Negativo		
6560A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6548D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6548F1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6548G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6548I1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6560C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6548B1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6560J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6560B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6558B1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6553A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6553A_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6554I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6558C1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6561K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6509A3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo V- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		KF614698

Tabela B2. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4220A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo	hII	KY273543
4232B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4231B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		KY273545
4223D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4220B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		KY273544
4222A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4225A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Sem informação	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4461H_2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
6336D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4449B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Tapirus terrestris</i>	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
6338A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
4438F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453D F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
6337A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6336E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6337B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6134D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Inhumas	Cerrado	Negativo		
4889A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6129D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6129C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6129E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6136B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Inhumas	Cerrado	Negativo		
4898H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6511B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
4958C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
4955D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
4956A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
5650B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Paraná	Jacarezinho	Mata Atlântica	Negativo		
4955B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
4957A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
6418A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo		
4955A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
4955E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
4958D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo		
5389A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4590A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2013	Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	Mata Atlântica	Negativo		
4594F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Porto Real	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo hIV- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		KF614697
3919D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	hIII	KY273547
3912B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3916B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		KY273545
3912C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3913B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
4462	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Sem informação	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	hIV	KY273548
6336A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hV	KY273549
6335	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		

Tabela B3. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquétia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
6558D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo	hVI	MF175627
6558D1_2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6558E1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6553B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6553C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6554A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6513A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6511F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
6511E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
6513E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6513A2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6511G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
6509C3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509B3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390A3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390F1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6511A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
6513M	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390M1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509D3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6513B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
5788C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	São Paulo	Amparo	Mata Atlântica	Negativo		
5788B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	São Paulo	Amparo	Mata Atlântica	Negativo		
5788A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	São Paulo	Amparo	Mata Atlântica	Negativo		
4769	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Andirá	Mata Atlântica	Negativo		
5662	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Paraná	Ribeirão Claro	Mata Atlântica	Negativo		
6419B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo		
5653	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Paraná	Jacarezinho	Mata Atlântica	Negativo		
4879	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Sertaneja	Mata Atlântica	Negativo		
6553C_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo	hVII	KF614695
4157N	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4150	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4157I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4161C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4157M	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4157O	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4157P	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4164B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4157H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4151B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4146D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4145D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4146A_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4029C_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4029E_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4027B_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4146B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4146D_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4147D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
3974	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Sus domesticus</i>	2012	Minas Gerais	Reduto	Mata Atlântica	Negativo		
4147C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4146C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4178	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5791	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Homo sapiens</i>	2014	Rio de Janeiro	Itaiaia	Mata Atlântica	Negativo		
5261F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo hII-RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	-	
6390D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hVIII	MF175628
6390C1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hIX	MF175629
6390B1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
4819A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2013	Paraná	Sertaneja	Mata Atlântica	Negativo		
6513D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hX	MF175630
5789B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	São Paulo	Amparo	Mata Atlântica	Negativo	hXI	MF175631
4958A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo	hXII	MF175632
4956B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo	hXIII	MF175633
4956C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo	hXIV	MF175634
4163D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo	hXV	MF175635
4157J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	hXVI	MF175636
3973A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Reduto	Mata Atlântica	Negativo		
4157L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	hXVII	MF175637
4157G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	hXVIII	KF614696
4147A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4029B_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
4146C_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo hIII-RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	-	-	-	
Haplótipo hI-RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	-	-	hXIX	KF614694

Tabela B4. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do citocromo oxidase subunidade II de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4220A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4225A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Sem informação	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4222A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4231A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4223D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
4890C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4438G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4893	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6129B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6127B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6130B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6132	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Positivo		
6129A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	h1	KY273572
6129D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6127A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6143	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Goias	Mináçu	Cerrado	Negativo		
6129E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6340I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Positivo		
4440I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4890I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
4904D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Indiara	Cerrado	Negativo		
4438E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4438M	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4898H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
4838H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6112	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Minas Gerais	Bom Despacho	Cerrado	Negativo		
4219C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Tapirus terrestris</i>	2012	Distrito Federal	Brasília	Cerrado	Negativo		
6548S1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Espirito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo	h2	KY273573
6554J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espirito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo hD- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica			KF614680
4034B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4035K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4031D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
3919C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3915B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	h3	KY273575
3915C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
5749A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
5752A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Bos taurus</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
5749B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
5617	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo		
4461G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4348A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo		
4348B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo		
4034C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo	h4	KY273574
4034E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo	h5	KY273576
4034D_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4461M	<i>Amblyomma sculptum</i>	15N	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5292D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	h6	KY273577
5297D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5297E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5292A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5292B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
3919B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	h7	KY273578
3919D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
5302A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo		
5303C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo		
5303A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Positivo		
5297A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	h8	KY273579
5297F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5293B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5304E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo		
4889L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4889J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6125B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4946A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Resende	Mata Atlântica	Negativo		

Tabela B5. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do citocromo oxidase subunidade II de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank		
3913B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	h9	KY273580		
3918A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Bos taurus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	h10	KY273581		
4461D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	h11	KY273583		
4461J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo				
5295G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo				
5297B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo				
5607B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo	h12	KY273582		
5303B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	h13	KY273584		
5294A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	h14	KY273585		
5297I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo				
5304A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	h15	KY273586		
4890F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	h16	KY273587		
4890B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	h17	KY273588		
4890A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	h18	KY273589		
6129C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	h19	KY273590		
6511D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo				
6390C1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6249V1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo				
4957A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4958B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4958A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4956A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4958C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4955B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
4955E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo				
6421A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Positivo				
6419B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo				
6421B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo				
6419A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo				
6418C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Positivo				
5704A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Paraná	Cambará	Mata Atlântica	Negativo				
6418E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo				
6418B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo				
4819A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2013	Paraná	Sertaneja	Mata Atlântica	Negativo				
4438D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo			h20	KY273591
6141A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Goias	Minaçu	Cerrado	Negativo			h21	KY273592
4446B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo			h22	KY273593
6145	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Padre Bernardo	Cerrado	Negativo			h23	KY273594
6560A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo	h24	KF614678		
6548G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo				
6548D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo				
6553A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo				
6554H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo				
6554I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo				
6554K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo				
4932	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Felis catus</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo				
6180	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2014	Rio de Janeiro	Itatiaia	Mata Atlântica	Negativo				
6178C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Rio de Janeiro	Itatiaia	Mata Atlântica	Negativo				
Haplótipo hB- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-				
6553C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo			h25	KF614677
6554L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo				
6513D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6513B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6513C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6511A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo				
6390J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6511G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo				
6511E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo				
6390E1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6390G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6513A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
6390M1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo				
4879	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Paraná	Sertaneja	Mata Atlântica	Negativo				
5662	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Paraná	Ribeirão Claro	Mata Atlântica	Negativo				
4157O	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo				
4157M	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo				
4157L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo				
4157J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo				
4150	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo				
4146D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo				
4147D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo				
Haplótipo hA- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-				

Tabela B6. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do citocromo oxidase subunidade II de *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma cajennense sensu stricto* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
6513E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	h26	MF175692
4157I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4161C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
6511C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo	h27	MF175693
6513F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390L1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	h28	MF175694
6511F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo	h29	MF175695
6390F1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	h30	MF175696
4955A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Negativo	h31	MF175697
4955C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Paraná	Porto Rico	Mata Atlântica	Positivo	h32	MF175698
6418A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Itaipava	Mata Atlântica	Negativo	h33	MF175699
5306	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Homo sapiens</i>	2014	Paraná	Dr. Camargo	Mata Atlântica	Negativo	h34	MF175700
4157P	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	h35	MF175701
4157H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	h36	MF175702
4157G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo	h37	MF175703
4169	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo	h38	MF175704
4151A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo	h39	MF175705
4151B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
3973A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Reduto	Mata Atlântica	Negativo	h40	MF175706
4147A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo	h41	MF175707
6181D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Rio de Janeiro	Paracambi	Mata Atlântica	Negativo	h42	MF175708
4594F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Porto Real	Mata Atlântica	Negativo	h43	KF614679
Haplótipo hC- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		
Haplótipo hE- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	h44	KF614681
Haplótipo hF- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	h45	KF614682
Haplótipo hG- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	h46	KF614683
Haplótipo hH- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	h47	KF614684
3589	<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	Ninfa	Ambiente	2011	Tocantins	Marianópolis do Tocantins	Cerrado	Negativo	-	KY284599
5302B	<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	-	KY284602
5304B	<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	-	KY284600
5304C	<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	-	KY284601

Tabela B7. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do D-loop de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
3912E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
6548H1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo	hA	KF614690
6548F1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo h6- RJ										KY273554
4034A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo	hB	KY273557
4035B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		KY273559
4031D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4033C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
3919D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3915C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3912D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
3915B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
4034A_K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4034B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4035K	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo		
4470B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5749B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
4464A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo		
4462	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Sem informação	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4476A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Homo sapiens</i>	2013	Tocantins	Dueré	Cerrado	Negativo		
5303A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Positivo		
4461C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5297C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5297D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5297E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	hC	KY273553
4461A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4470A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
3639B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5749A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
4475B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5607B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo		
5752A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Bos taurus</i>	2014	Tocantins	Monte do Carmo	Cerrado	Negativo		
4475A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
5297I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4348A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo		
4348B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Sem informação	2013	Mato Grosso do Sul	Dois Irmãos de Buriti	Cerrado	Negativo		
4449C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Tapirus terrestris</i>	2012	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6548D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6548G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6548I1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Vila Valério	Mata Atlântica	Negativo		
6560B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Pancas	Mata Atlântica	Negativo		
6558D1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibitiaba	Mata Atlântica	Negativo		
6181D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Rio de Janeiro	Paracambi	Mata Atlântica	Negativo		
4590B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2013	Rio de Janeiro	Rio de Janeiro	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo h5- RJ										KF614689
3912B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	hD	KY273550
4461J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
3919B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	hE	KY273556
3912C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	hF	KY273551
3912C2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo		
6141A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Goias	Minaçu	Cerrado	Negativo	hG	KY273552
6180	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2014	Rio de Janeiro	Itaitiaia	Mata Atlântica	Negativo		
3912E2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Poxoréu	Cerrado	Negativo	hH	KY273555
4034C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Mato Grosso	Cuiabá	Cerrado	Negativo	hI	KY273558
5617	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Tocantins	Porto Nacional	Cerrado	Negativo	hJ	MF197863
4461D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	hK	KY273562
5303B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	hL	KY273564
3639C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	hM	KY273561
4461L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4461J2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo		
4476C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2013	Tocantins	Dueré	Cerrado	Negativo	hN	KY273563
3639A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Tocantins	Palmas	Cerrado	Negativo	hO	KY273560
6125B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hP	KY273566
6124B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		

Tabela B8. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do D-loop de *Amblyomma sculptum* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
6336G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		KY273565
6338C1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6125A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6127D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6130B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6128A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6128D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6128C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6128B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6337A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4453C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Goias	Jandaia	Cerrado	Negativo		
4890I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6338F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hQ	
6338G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
4890F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2013	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		KY273567
6337B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6127B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6127A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6511D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
6509F3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390C1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6419B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo		
6421A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Positivo		
6419A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Negativo		
6418C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivaí	Mata Atlântica	Positivo		
5704A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Paraná	Cambará	Mata Atlântica	Negativo		
6112	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Minas Gerais	Bom Despacho	Cerrado	Negativo		
6178C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Rio de Janeiro	Itaiaia	Mata Atlântica	Negativo		
4594F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Porto Real	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo h4- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	hR	KF614688
6336D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		KY273569
6336F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hS	KY273570
6336E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo		
6336H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hT	KY273571
6340G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	Goias	Goiânia	Cerrado	Negativo	hU	KY273568
6143	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	Ambiente	2014	Goias	Minapu	Cerrado	Negativo		
6561J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Equus caballus</i>	2014	Espírito Santo	Ibatiba	Mata Atlântica	Negativo		
6390F1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390J3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509G3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390G3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509B3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509E3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390L1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390B3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6509D3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
5788C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Canis familiaris</i>	2014	São Paulo	Amparo	Mata Atlântica	Negativo		
6511G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo	hV	KF614685
6390M1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6390G1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
5662	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Paraná	Ribeirão Claro	Mata Atlântica	Negativo		
4151A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4151B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4151B_2	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4169	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4157L	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4157M	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4157H	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4148D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2012	Minas Gerais	Juiz de Fora	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo h1- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		
6552I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2014	Espírito Santo	Guaçuí	Mata Atlântica	Negativo		
6513G	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6513E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hW	MF175659
6509C3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
4161C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo		
4157I	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
6513F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hX	KF614687
6511C	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo		
Haplótipo h3- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		
6390H1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hY	KF614686
Haplótipo h2- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-		
6513D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hZ	MF175660
4157O	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
4157P	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		

Tabela B9. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do D-loop de *Amblyomma sculptum* e *Amblyomma cajennense sensu stricto* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquétsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
6513B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hA1	MF175661
6509I3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hB1	MF175662
6390H3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hC1	MF175663
6390A3	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo	hD1	MF175664
6390I1	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2015	São Paulo	Campinas	Mata Atlântica	Negativo		
6511F	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Hydrochaeris hydrochaeris</i>	2015	São Paulo	Paulínea	Mata Atlântica	Negativo	hE1	MF175665
4157J	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2012	Minas Gerais	Belo Horizonte	Cerrado	Negativo		
3973A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Ninfa	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Reduto	Mata Atlântica	Negativo		
5653	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	Ambiente	2014	Paraná	Jacarezinho	Mata Atlântica	Negativo	hF1	MF175666
6418A	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivai	Mata Atlântica	Negativo	hG1	MF175667
6418B	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivai	Mata Atlântica	Negativo		
6416	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivai	Mata Atlântica	Negativo	hH1	MF175668
6418D	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivai	Mata Atlântica	Negativo		
6418E	<i>Amblyomma sculptum</i>	Fêmea	<i>Equus caballus</i>	2015	Paraná	São Carlos do Ivai	Mata Atlântica	Negativo		
4150	<i>Amblyomma sculptum</i>	Macho	<i>Bos taurus</i>	2012	Minas Gerais	Pedro Leopoldo	Cerrado	Negativo	hI1	MF175669
Haplótipo h7- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	hJ1	KF614691
Haplótipo h8- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	hK1	KF614692
Haplótipo h9- RJ	<i>Amblyomma sculptum</i>	-	-	-	Rio de Janeiro	-	Mata Atlântica	-	hL1	KF614693
5304B	<i>Amblyomma cajennense sensu stricto</i>	Macho	<i>Equus caballus</i>	2014	Tocantins	Pium	Cerrado	Negativo	-	KY284603

Tabela B10. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4748A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
5328D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
53628D_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4717	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4604	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Felis catus</i>	2013	Santa Catarina	Brusque	Mata Atlântica	Negativo		
5381	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Paulo Lopes	Mata Atlântica	Negativo		
4409A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	São José	Mata Atlântica	Negativo		
5328A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
5328B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
5328C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4288C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4288C_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4286A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4285	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4286C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4288B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4713A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo	hI	MF175638
4713A_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4716	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4716_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4747B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4743A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4725C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4725B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4711A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4718	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4288D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4710B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4713B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4719A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4720	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4747A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4295E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4289C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4295G	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
6897C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
4719B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4725A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4711B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4725E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4743D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo	hII	MF175639
4743C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4743B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4741G	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Positivo		
4295F	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4287B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	hIII	MF175640
4746	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	hIV	MF175641
4715	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	hV	MF175642

Tabela B11. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas do Brasil (continuação).

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso <i>GenBank</i>
4708B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
5407	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
5438B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
5398A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
4966B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4299	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4963A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
3895	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Baturité	Caatinga	Negativo		
3898B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Baturité	Caatinga	Negativo		
3579B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Ceará	Pacoti	Caatinga	Negativo		
4272	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4281C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4259	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4321A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4266E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4312B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4312A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4310	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4193A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4193B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4254	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4253	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4258C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4322B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	hVI	MF175643
4322A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4323D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4326	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4275A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
3891D	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4266D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4321B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4266B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
5391A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Pacoti	Caatinga	Positivo		
5440B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5428D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5442A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5453B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5448	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5428A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5389B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5398C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
5398B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
5391C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Pacoti	Caatinga	Positivo		
5440D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5455B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4626	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Mulungu	Caatinga	Positivo		
4702B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4313	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Redenção	Caatinga	Negativo		
4261	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo	hVII	MF175644
4709B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
4702A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo	hVIII	MF175645
3373A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	hIX	MF175646
3373B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
3372	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	hX	MF175647
6385A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6386A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6387	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXI	MF175648
6392B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6393	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394F	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6385B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXII	MF175649
6385C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXIII	MF175650
6385D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6386B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6392A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4432A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXIV	MF175651
6394E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434K	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXV	MF175652
6394C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hXVI	MF175653

Tabela B12. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do citocromo oxidase subunidade II de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquétzia	Haplótipo	Número de acesso <i>GenBank</i>
6472	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	h1	MF175709
4710A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	h2	MF175710
4288B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4713A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4716	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4710B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4715	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4717	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4719A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4720	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4713B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	h3	MF175711
4711B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4747A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4725C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4287B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4288C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4725B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4725E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo	h4	MF175712
4725A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4747B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4746	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	h5	MF175713
4741G	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Positivo		
4749D	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Positivo	h6	MF175714
4748A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	h7	MF175715
4258C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4709B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
5407	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
5391C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Pacoti	Caatinga	Positivo		
5428D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4702B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5389B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5440D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo	h8	MF175716
4702A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5428A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4299	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
3894A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4309B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4259	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4313	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Redenção	Caatinga	Negativo		
4193A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5438B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
4966B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5398C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo	h9	MF175717
3579B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Ceará	Pacoti	Caatinga	Negativo		
4312A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4322B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5448	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	h10	MF175718
5398B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo	h11	MF175719
4266B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
5455B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	h12	MF175720
5442A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4626	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Mulungu	Caatinga	Positivo	h13	MF175721
4272	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	h14	MF175722
4322A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
3891D	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo	h15	MF175723
4321A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	h16	MF175724
3373B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	h17	MF175725
3372	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	h18	MF175726
4743C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo	h19	MF175727
4743A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo	h20	MF175728
4434A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394F	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394G	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6386B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h21	MF175729
6391D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6385D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6386A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434K	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h22	MF175730
6387	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h23	MF175731
6391B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6392B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h24	MF175732
6393	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h25	MF175733
6392A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h26	MF175734
6394B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h27	MF175735
6394C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h28	MF175736
6385C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	h29	MF175737

Tabela B13. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do D-loop de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4409A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	São José	Mata Atlântica	Negativo		
4286C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4711A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4713A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4713A_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4716	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4716_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4289C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4285	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4286A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4288B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4288C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4711B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Positivo		
4747B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo	hA	MF175670
4725B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4725C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4749D	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Positivo		
4725A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4287B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4746	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4747A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4715	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	Ambiente	2013	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4725E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
5328B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4289C_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Santa Catarina	Guaramirim	Mata Atlântica	Negativo		
4295F	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4295G	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo		
4741G	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Positivo		
6391C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6897C	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
4708B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
5407	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
4709B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo		
4702A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
3579B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Ceará	Pacoti	Caatinga	Negativo		
4299	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4253	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4259	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2012	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4258C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4254	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5398B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
4281C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Mulungu	Caatinga	Negativo		
4193B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4309B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4321B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4326	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4966B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4313	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Redenção	Caatinga	Negativo		
4322B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5438B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Baturité	Caatinga	Positivo	hB	MF175671
5398A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Positivo		
4963B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
4976B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Pacoti	Caatinga	Negativo		
4322A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4323D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5398C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
5428A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
4272	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5453B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5455B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5440D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4702B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5442A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
5440B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo		
4626	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Mulungu	Caatinga	Positivo		
5398B_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
5428D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo		
5398C_K	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Guaramiranga	Caatinga	Negativo		
5398B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Aratuba	Caatinga	Negativo	hC	MF175672
3373A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo		
3373B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	hD	MF175673
4743D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Paraná	Paranaguá	Mata Atlântica	Negativo	hE	MF175674
4434A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394F	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394E	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4434K	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
4432A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6385B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6385D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hF	MF175675
6386A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6386B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6392A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6394D	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6391B	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hG	MF175676
6385A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6392B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hH	MF175677
6393	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo		
6385C	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hI	MF175678
6391A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	hJ	MF175679

Tabela B14. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 12S rDNA de *Amblyomma aureolatum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4725D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Nasua nasua</i>	2013	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
4749A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Positivo		
6479A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
6480	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Bos taurus</i>	2014	Santa Catarina	Lajes	Mata Atlântica	Negativo		
7380A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Tijucas	Mata Atlântica	Negativo		
4724B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
4724D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
4724C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
6249P1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249Q	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249L	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249R1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249M	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249F1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hI	MF175654
6249G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249S	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249I1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249B1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249P	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249T1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249T	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249L1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249U1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249R	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249N	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6897K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5526E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
5526D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
6897A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
4749B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
6479B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
6461	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Balneário Piçarras	Mata Atlântica	Negativo		
6465	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Homo sapiens</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
7021A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Jaraguá do Sul	Mata Atlântica	Negativo		
4749F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4749G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4749E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4928	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4933	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Felis catus</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
5258	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4930	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
7402	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2015	Paraná	Irati	Mata Atlântica	Negativo	hII	MF175655
6249Q1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249I	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249J1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249K1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249M1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6898B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5527	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Felis catus</i>	2013	Rio Grande do Sul	Erechim	Mata Atlântica	Negativo		
6897B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897M	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5556	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio Grande do Sul	Canela	Mata Atlântica	Negativo	hIII	MF175656
4207A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2012	Rio Grande do Sul	Viamão	Pampa	Negativo	hIV	MF175657
6897F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897Q	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5526C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo	hV	MF175658
6897D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		

Tabela B15. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do citocromo oxidase subunidade II de *Amblyomma aureolatum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso GenBank
4749A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Positivo		
4749B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4749F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4724D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
4749G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4724C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
7021A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Jaraguá do Sul	Mata Atlântica	Negativo		
4201B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Rio de Janeiro	Itatiaia	Mata Atlântica	Negativo		
5773A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
7402	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2015	Paraná	Irati	Mata Atlântica	Negativo		
6249E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	h1	MF175738
6249F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249I	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249P	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249T	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249V	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6898B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5526D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
5526E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
7380A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Tijucas	Mata Atlântica	Negativo	h2	MF175739
6249L	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
4749E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo	h3	MF175740
4724B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
6249R	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	h4	MF175741
6897H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897M	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
4936C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	Ambiente	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo	h5	MF175742
4936D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	Ambiente	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6249D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	h6	MF175743
6249G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249Q	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	h7	MF175744
5556	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio Grande do Sul	Canela	Mata Atlântica	Negativo	h8	MF175745
6897F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo	h9	MF175746
6897L	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo	h10	MF175747

Tabela B16. Dados das amostras, haplótipos e números de acesso do *GenBank* para as sequências do D-loop de *Amblyomma aureolatum* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Haplótipo	Número de acesso <i>GenBank</i>
4749A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Positivo		
4749E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4749F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
4749G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Jacinto Machado	Mata Atlântica	Negativo		
5378	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
5379	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
4724B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Santa Catarina	Lages	Mata Atlântica	Negativo		
6465	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Homo sapiens</i>	2014	Santa Catarina	Florianópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6461	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Balneário Picarras	Mata Atlântica	Negativo		
6479A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo		
6480	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Bos taurus</i>	2014	Santa Catarina	Lajes	Mata Atlântica	Negativo		
4929	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4936C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	Ambiente	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4936B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	Ambiente	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6235	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Felis catus</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6234	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Felis catus</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
5258	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4928	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4933	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Felis catus</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
5773A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
4936D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	Ambiente	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6239	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Felis catus</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6249Q1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249I1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249U1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249L1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249E1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249P1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249T1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hA	MF175680
6249B1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249J	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249C1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249L	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249S	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249R	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
6249P	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249T	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249I	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
5526A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
6897A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897H	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897M	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897P	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6898B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6899	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5556	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio Grande do Sul	Canela	Mata Atlântica	Negativo		
5526D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
5526B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
5527	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Felis catus</i>	2013	Rio Grande do Sul	Erechim	Mata Atlântica	Negativo		
7380A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Tijucas	Mata Atlântica	Negativo		
7402	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Homo sapiens</i>	2015	Paraná	Iratí	Mata Atlântica	Negativo		
6237	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Felis catus</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo	hB	MF175681
4201B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2012	Rio de Janeiro	Itaiaia	Mata Atlântica	Negativo		
5773B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo		
6249K	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Positivo		
7021A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Santa Catarina	Jaraguá do Sul	Mata Atlântica	Negativo	hC	MF175682
6479B	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2014	Santa Catarina	Joinville	Mata Atlântica	Negativo	hD	MF175683
4931	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo	hE	MF175684
6236	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio de Janeiro	Petrópolis	Mata Atlântica	Negativo	hF	MF175685
6249K1	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hG	MF175686
6249E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hH	MF175687
6249A	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hI	MF175688
6249F	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo		
6249Q	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	São Paulo	Santo André	Mata Atlântica	Negativo	hJ	MF175689
6897D	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897G	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897I	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897L	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo	hK	MF175690
6897N	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897O	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
6897Q	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2015	Rio Grande do Sul	Igrejinha	Mata Atlântica	Negativo		
5526C	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo		
5526E	<i>Amblyomma aureolatum</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio Grande do Sul	São Francisco de Paula	Mata Atlântica	Negativo	hL	MF175691

Tabela B17. Dados das amostras e números de acesso do *GenBank* para as sequências do 16S rDNA de *Amblyomma ovale* analisadas de diferentes biomas do Brasil.

Número da amostra - LIC	Espécie	Estádio	Hospedeiro	Ano de coleta	Estado	Município	Bioma	Presença de riquetsia	Número de acesso <i>GenBank</i>
3373A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	MF416203
3373B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2011	Goiás	Goiânia	Cerrado	Negativo	MF416204
6385A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	MF416205
6385B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	MF416206
6386A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	MF416207
6387	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	MF416208
4432A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Rio de Janeiro	Paraty	Mata Atlântica	Negativo	MF416209
4702A	<i>Amblyomma ovale</i>	Fêmea	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo	MF416210
4702B	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2013	Ceará	Aratuba	Caatinga	Positivo	MF416211
5391A	<i>Amblyomma ovale</i>	Macho	<i>Canis familiaris</i>	2014	Ceará	Pacoti	Caatinga	Positivo	MF416212

APÊNDICE C - NÚMERO DE ACESSO DO GENBANK DAS SEQUÊNCIAS DE RIQUÊTSIAS UTILIZADAS NAS RECONSTRUÇÕES FILOGENÉTICAS

Tabela C1. Números de acesso do *GenBank* das sequências parciais dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB* e *Gene D (sca4)* utilizadas na reconstrução filogenética das riquêtsias.

Espécies	Números de acesso do <i>GenBank</i>				
	<i>glt A</i>	<i>htr A</i>	<i>omp A</i>	<i>omp B</i>	<i>Gene D (sca4)</i>
<i>Rickettsia bellii</i>	CP000087	CP000849	-	-	-
	CP000849	CP000087	-	-	-
<i>Rickettsia typhi</i>	NC006142	CP003397	-	NC0069142	AF188482
	CP003397	CP003398	-	CP003397	CP003398
<i>Rickettsia prowazekii</i>	CP014865	CP004888	-	CP004889	AY964638
	CP004888	CP014865	-	CP001584	CP001584
<i>Rickettsia felis</i>	CP000053	CP000053	-	CP000053	AF196973
	NC007109	AF195118	-	AF182279	GQ329878
<i>Rickettsia australis</i>	CP003338	CP003338	AF179108	CP003338	AF187982
	U59718	M74042	CP003338	AF123709	AF187982
<i>Rickettsia akari</i>	NC009881	CP000847	-	AF133707	AF213016
	U59717	AF445383	-	CP000847	CP000847
<i>Rickettsia amblyommatis</i>	CP012420	CP012420	CP012420	CP003334	CP012420
	CP003334	KT153048	KT153048	EU728827	CP003334
<i>Candidatus Rickettsia andeanae</i>	KT153033	GU395295	KF030932	GU395297	GU395298
	GU169051	GU395295	KF179352	KF030933	GU395298
<i>Rickettsia massiliae</i>	CP000683	CP000683	CP003319	CP000683	CP000683
	U59719	JN871848	KR401146	AF123714	DQ503429
<i>Rickettsia rhipicephali</i>	CP003342	CP003342	CP003342	CP003342	CP003342
	U59721	U11020	U43803	AF123719	AF155053
<i>Rickettsia montanensis</i>	NC017043	CP003340	FM883670	CP003340	AF163002
	CP003340	U11017	CP003340	AF123716	CP003340
<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>	CP002912	CP002912	KT006593	CP002912	CP002912
	AY285776	EU503184	AH012829	AY260451	AY331396
<i>Rickettsia japonica</i>	AP011533	AP011533	AP011533	AP011533	AP011533
	U59724	LC101441	U83442	AB003681	FJ358502
<i>Rickettsia slovacica</i>	CP002428	CP002428	CP002428	CP002428	CP002428
	CP003375	CP003375	CP003375	CP003375	CP003375
<i>Rickettsia sibirica</i>	AABW01000001	AABW01000001	U43807	AABW01000001	HM050295
	HM050296	AF445384	HM050280	AF123722	AF155057
<i>Rickettsia africae</i>	CP001612	CP001612	CP001612	CP001612	CP001612
	HM050288	EU072685	EU622980	AF123706	AF151724
<i>Rickettsia parkeri</i>	CP003341	CP003341	CP003341	CP003341	CP003341
	U59732	EF689732	KP861344	AF123717	CP003341
<i>Rickettsia sp. strain Atlantic rainforest</i>	KT153032	KJ855084	KJ174528	-	KX034216
	GQ855235	KJ855084	KX137902	-	KX034216
<i>Rickettsia conorii</i>	AE006914	AE006914	NC003103	AE006914	AE006914
	NC003103	M28480	AY346453	AF123726	AY643092
<i>Rickettsia peacockii</i>	CP001227	CP001227	FM883671	CP001227	CP001227
	HF935076	HF912417	HF912418	HF548206	CP001227
<i>Rickettsia rickettsii</i>	CP006010	CP000848	CP006009	CP006010	CP006010
	CP003305	CP003305	CP000848	CP003305	CP006009
<i>Candidatus Rickettsia asemboensis</i>	KY445726	KX196268	-	-	-
	KY445726	JN315969	-	-	-
Amostras 5440B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175763	MF175780	-	MF175794	-
Amostra 4966B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175756	MF175776	MF175797	MF175791	-
Amostra 4963A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175755	-	-	MF175790	-
Amostra 5398B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175760	MF175777	-	MF175792	-
Amostra 5407 (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175761	MF175779	MF175798	MF175793	-
Amostra 4299 (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175749	MF175775	MF175795	MF175789	-
Amostra 5440D (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175764	MF175781	-	-	-
Amostra 5442A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175765	-	-	-	-

Tabela C2. Números de acesso do *GenBank* das sequências parciais dos genes *gltA*, *htrA*, *ompA*, *ompB* e *Gene D (sca4)* utilizadas na reconstrução filogenética das riquetsias (continuação).

Espécies	Números de acesso do <i>GenBank</i>				
	<i>glt A</i>	<i>htr A</i>	<i>omp A</i>	<i>omp B</i>	<i>Gene D (sca4)</i>
Amostra 4716 (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175768	-	-	-	-
Amostra 4713A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175767	-	-	-	-
Amostra 4702B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175752	-	-	-	-
Amostra 4709B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175754	-	-	-	-
Amostra 4709B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175754	-	-	-	-
Amostra 5438B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175762	-	-	-	-
Amostra 5398A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175759	-	-	-	-
Amostra 5391A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175757	-	-	-	-
Amostra 5391C (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175758	-	-	-	-
Amostra 4626 (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175750	-	MF175796	-	-
Amostra 4741G (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175766	-	-	-	-
Amostra 4702A (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175751	-	-	-	-
Amostra 4287B (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	MF175782	-	-	-
Amostra 4434B (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	MF175785	-	-	-
Amostra 4711A (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	MF175783	MF175799	-	-
Amostra 5398C (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	MF175778	-	-	-
Amostra 4719B (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	MF175784	-	-	-
Amostra 4711B (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	-	MF175800	-	-
Amostra 4718 (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	-	MF175801	-	-
Amostra 4749D (<i>Amblyomma ovale</i>)	-	-	MF175802	-	-
Amostra 4708B (<i>Amblyomma ovale</i>)	MF175753	-	-	-	-
Amostras 4955C (<i>Amblyomma sculptum</i>)	MF175748	-	-	-	-
Amostra 6418C (<i>Amblyomma sculptum</i>)	-	MF175773	-	-	-
Amostra 6421A (<i>Amblyomma sculptum</i>)	MF175774	-	-	-	-
Amostra 5303A (<i>Amblyomma sculptum</i>)	KY273595	KY273596	KY273598	-	KY273600
Amostra 6340I (<i>Amblyomma sculptum</i>)	-	-	KY273599	-	-
Amostra 6132 (<i>Amblyomma sculptum</i>)	-	KY273597	-	-	-
Amostra 6249H (<i>Amblyomma aureolatum</i>)	MF175769	MF175786	-	-	-
Amostra 6249K (<i>Amblyomma aureolatum</i>)	MF175770	-	-	-	-
Amostra 6249R (<i>Amblyomma aureolatum</i>)	MF175771	MF175787	-	-	-
Amostra 6249II (<i>Amblyomma aureolatum</i>)	-	-	-	-	-
Amostra 4749A (<i>Amblyomma aureolatum</i>)	-	MF175788	-	-	-

APÊNDICE D - ARTIGOS SUBMETIDOS, ACEITOS E PUBLICADOS DURANTE O DOUTORADO (2013- 2017)

Artigo aceito para publicação referente à tese de doutorado

● **Bitencourth K**, Amorim M, Oliveira SV, Caetano RL, Voloch CM, Gazeta GS. *Amblyomma sculptum*: genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome. *Med Vet Entomol.*; *in press*.

Aceito em 10 de abril de 2017.

2017-6-1 ScholarOne Manuscripts

Medical and Veterinary Entomology

[Home](#)
[Author](#)
[Review](#)

Author Dashboard

- 1 Unsubmitted and Manuscripts in Draft >
- 2 Manuscripts with Decisions >
- 3 Manuscripts I Have Co-Authored >
- Start New Submission >
- Legacy Instructions >
- 5 Most Recent E-mails >
- English Language Editing Service >

Manuscripts with Decisions

ACTION	STATUS	ID	TITLE	SUBMITTED	DECISIONED
	EIC: Otranto, Domenico ADM: HUGHES, ANGELA	MVE-17-1550.R1	<i>Amblyomma sculptum</i> : genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome View Submission	19-Mar-2017	10-Apr-2017
	<ul style="list-style-type: none"> • Accept (10-Apr-2017) • Complete Final File Updates view decision letter				
a revision has been submitted (MVE-17-1550.R1)	EIC: Otranto, Domenico ADM: HUGHES, ANGELA	MVE-17-1550	<i>Amblyomma sculptum</i> : genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome View Submission	21-Jan-2017	04-Mar-2017
	<ul style="list-style-type: none"> • Minor Revision (04-Mar-2017) • a revision has been submitted view decision letter				

© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2017. All Rights Reserved.
 ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.
 ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,767 and #7,263,655.
[@ScholarOneNews](#) | [System Requirements](#) | [Privacy Statement](#) | [Terms of Use](#)

Figura D1. Comprovante de aceite do artigo referente à tese de doutorado.



***Amblyomma sculptum*: genetic diversity and rickettsias in the Brazilian Cerrado biome**

Journal:	<i>Medical and Veterinary Entomology</i>
Manuscript ID	MVE-17-1550.R1
Wiley - Manuscript type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	19-Mar-2017
Complete List of Authors:	Bitencourth, Karla; Fundacao Oswaldo Cruz, Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses Amorim, Marinete; Fundacao Oswaldo Cruz, Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses Oliveira, Stefan; Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde, Unidade Técnica de Vigilância de Zoonoses Caetano, Rebecca; Fundacao Oswaldo Cruz, Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses Voloach, Carolina; Universidade Federal do Rio de Janeiro, Departamento de Genética Gazeta, Gilberto Sales; Fundacao Oswaldo Cruz, Laboratório de Referência Nacional em Vetores das Riquetsioses

Figura D2. Comprovante de submissão e autoria do artigo referente à tese de doutorado aceito para publicação.

Artigos submetidos para publicação

- Navarro DL, Durães LS, Nunes EC, **Bitencourth K**, Cardoso KM, Ramalho FR, Durê AI, Guedes E, Junior J, Daemon E, Gazeta GS. Dynamics of circulation of rickettsia inside a focus of brazilian spotted fever and its surroundings, in a tropical highland area, Atlantic rainforest biome.

Submetido à revista *Parasitology International* em 12 de janeiro de 2017.

- Machado I, **Bitencourth K**, Cardoso KM, Oliveira SV, Santalucia M, Marques S, Amorim M, Gazeta GS. Biodiversity of rickettsia and potential vectors of spotted fever in an area of epidemiological interest in the Central-West region of Brazil, Cerrado biome.

Submetido à revista *Medical and Veterinary Entomology* em 26 de maio de 2017.

Artigos publicados

- **Bitencourth K**, Voloch CM, Serra-Freire NM, Machado-Ferreira E, Amorim M, Gazêta GS. Analysis of *Amblyomma sculptum* haplotypes in an area endemic for Brazilian spotted fever. Med Vet Entomol. 2016; 30: 342-50.
- Montenegro DC, **Bitencourth K**, Oliveira SV, Borsoi AP, Cardoso KM, Sousa MSB, Giordano-Dias C, Amorim M, Serra-Freire NM, Gazeta GS, Brazil RP. Spotted fever epidemiology and vector- rickettsia- host relationship in Rio de Janeiro state. Front Microbiol. 2017; 30 (8): 505.
- Caetano RL, Vizzoni VF, **Bitencourth K**, Carriço C, Sato TP, Pinto ZT, Oliveira SV, Amorim M, Voloch CM, Gazeta GS. Ultrastructural morphology and molecular analyses of tropical and temperate “species” of *Rhipicephalus sanguineus sensu lato* (Acari: Ixodidae) in Brazil. J Med Entomol. 2017; *in press*.