

UFRRJ

**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA,
TECNOLOGIA E INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

TESE

**Coccídios de Saltatorinae (Passeriformes:
Thraupidae) como Biomarcadores Ecológicos no
Parque Nacional do Itatiaia, RJ**

CARLA MARONEZI

2024



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E
INOVAÇÃO EM AGROPECUÁRIA**

**COCCÍDIOS DE SALTATORINAE (PASSERIFORMES: THRAUPIDAE)
COMO BIOMARCADORES ECOLÓGICOS NO PARQUE NACIONAL
DO ITATIAIA, RJ**

CARLA MARONEZI

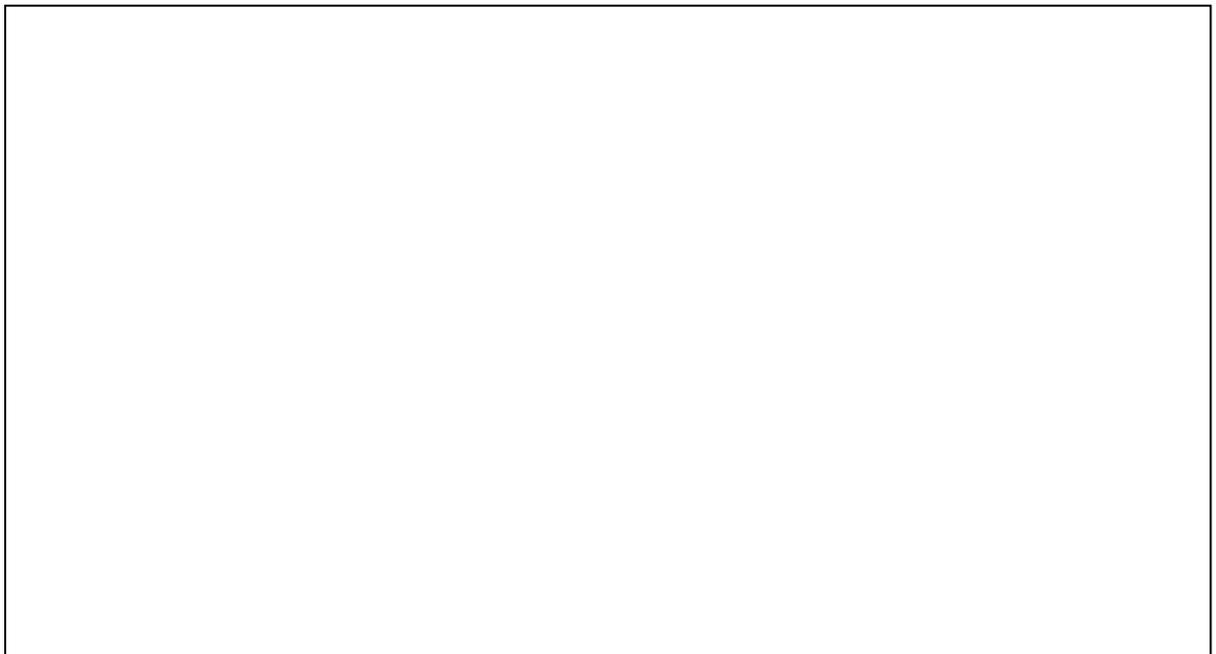
Sob a orientação do Professor

Bruno Pereira Berto

Tese como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Área de Concentração em Recursos Naturais e Proteção Ambiental.

Seropédica, RJ
Agosto de 2024

SUBSTITUIR O QUADRO ABAIXO PELA FICHA CATALOGRÁFICA



O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

É permitida a cópia parcial ou total desta Tese, desde que seja citada a fonte.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO
EM AGROPECUÁRIA**

CARLA MARONEZI

Tese submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutora**, no Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, área de Concentração em Recursos Naturais e Proteção Ambiental.

TESE APROVADA EM 01/08/2024.

Bruno Pereira Berto. Dr. UFRRJ
(Orientador)

Viviane Moreira de Lima. Dra. UFRRJ

Ildemar Ferreira. Dr. UFRRJ

Sergian Vianna Cardozo. Dr. UNIGRANRIO

Patricia Barizon Cepeda. Dra. UNESA

Michelle Daniele dos Santos Clapp. Dra. UFRRJ

DEDICATÓRIA

A Deus, que me permite viver no Parque Nacional de Itatiaia, comprometo-me a estar sempre pronta e entusiasmada para servir na proteção da sua preciosa biodiversidade, especialmente a fauna.

Aos meus pais, Edson Maronezi e Maria Devanice Daniel, por toda a dedicação, apoio e amor que me deram ao longo da vida. Vocês foram meus primeiros mestres, meus maiores incentivadores e meu porto seguro em todos os momentos.

Ao meu companheiro, Duílio, por seu amor incondicional, apoio constante e por estar sempre ao meu lado, compartilhando cada desafio e conquista.

Aos meus filhos, André e Leonardo, que ressignificaram a minha vida. Vocês são a fonte inesgotável de alegria e inspiração.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço sinceramente a todos que, de alguma forma, contribuíram para a formulação e conclusão deste trabalho. Em especial, ao Professor Dr. Bruno Pereira Berto (Laboratório de Biologia de Coccídios - LABICOC, Departamento de Biologia Animal - DBA, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - ICBS, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ), pela sua excepcional dedicação à Ciência, pelos valiosos ensinamentos, pela orientação cuidadosa e, especialmente, pelo trabalho de campo, que não apenas enriqueceu este estudo, mas também fortaleceu os laços de amizade e me proporcionou o privilégio de ser guiada com generosidade e empatia.

Ao Dr. Léo Nascimento, médico veterinário (analista ambiental aposentado do Instituto Chico Mendes, ICMBio), expressei profunda gratidão pela sua fraternidade inigualável, pelo incentivo diário, pela dedicação à pesquisa e pelo seu imenso amor dedicado ao nosso Parque Nacional de Itatiaia. Aos Analistas Ambientais do ICMBio, especialmente Luiz Sergio Sarahyba, Elisabete Hulgado, Walter Behr, Marcelo Souza Motta e minha amiga Gisely Carreiro Botelho expressei minha profunda admiração e gratidão pela nossa jornada compartilhada.

À UFRRJ e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária (PPGCTIA), manifesto meu sincero reconhecimento pelo suporte institucional essencial e pelo ambiente propício oferecido para o desenvolvimento deste projeto. Em especial, gostaria de expressar meus agradecimentos ao Prof. Dr. Mauro Antonio Homem Antunes, ex-coordenador do PPGCTIA, pela orientação exemplar e liderança inspiradora, e ao atual coordenador, pela continuidade e apoio contínuo. À Secretária Renata Gomes de Souza, pela dedicação e eficiência administrativa que foram fundamentais durante todo o processo. O apoio da UFRRJ e do PPGCTIA foi essencial para o sucesso desta pesquisa.

Aos colegas do LABICOC: Dra. Mariana de Souza Oliveira, Dr. Lucas de Assis Silva Andrade, Jhon Lennon Genovez Oliveira, Carlos Nei Ortúzar Ferreira e Jennifer Oliveira Melo, gostaria de expressar meu profundo apreço por todo o ensinamento e a troca de aprendizado que generosamente me proporcionaram. Foi uma experiência enriquecedora trabalhar ao lado de vocês.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), expressei meu sincero reconhecimento pelo apoio financeiro que viabilizou integralmente o desenvolvimento deste projeto. Sem o apoio fundamental da CAPES, este trabalho não teria sido possível. A dedicação da CAPES à pesquisa científica é essencial para o avanço do conhecimento e para o progresso acadêmico no Brasil.

BIOGRAFIA

Carla Maronezi, filha de Edson Maronezi e Maria Devanice Daniel, brasileira, nasceu em 24 de maio de 1985 no município de Jaú, São Paulo. Iniciou sua formação profissional em 2006, ingressando no Curso de Medicina Veterinária na Universidade Anhembi Morumbi (UAM), Campus Mooca, São Paulo, SP. Trabalhou como funcionária no Parque Nacional de Itatiaia, Instituto Chico Mendes na conservação da Biodiversidade (ICMBio) de 2011 a 2016. Em agosto de 2016, retomou seus estudos no Curso de Medicina Veterinária na Universidade Barra Mansa (UBM), Barra Mansa, RJ. Após graduar-se como Médica Veterinária em dezembro de 2018, Carla ingressou em março de 2020 no PPGCTIA, na UFRRJ, na Área de Concentração de Recursos Naturais e Proteção Ambiental.

"Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o que é impossível."

São Francisco de Assis.

RESUMO GERAL

MARONEZI, Carla. **Coccídios de Saltatorinae (Passeriformes: Thraupidae) como biomarcadores ecológicos no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.** 2024. 126f. Tese (Doutorado em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária). Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2024.

O Parque Nacional do Itatiaia (PNI), o primeiro criado no Brasil, situado na Serra da Mantiqueira e integrado ao bioma Mata Atlântica, abriga uma rica avifauna que inclui espécies endêmicas. *Saltator* spp. são amplamente distribuídas no PNI, incluindo o trinca-ferro (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837), o qual é frequentemente alvo de tráfico ilegal. Os coccídios são parasitas frequentemente relatados em pássaros, incluindo *Saltator* spp., das quais são potencialmente associados a doença severa. Neste contexto, esta tese visa avaliar a prevalência e densidade de coccídios de *Saltator* spp. de vida livre e cativos próximos ao PNI. A utilização de aves como bioindicadores de conservação ambiental de um ecossistema é amplamente reconhecida, enquanto os coccídios são considerados biomarcadores da saúde das aves e, conseqüentemente, do ambiente onde habitam. A metodologia adotada neste estudo envolve a coleta de amostras fecais de *Saltator* spp. mantidos em cativeiro nas proximidades do PNI e de aves silvestres capturadas dentro do PNI utilizando redes de neblina. As amostras coletadas foram processadas no Laboratório de Biologia de Coccídios da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para identificação morfológica dos caracteres taxonômicos dos oocistos e molecular por meio de sequenciamentos de determinados *loci* gênicos mitocondriais e nucleares. As espécies *Isospora similisi* Coelho, Berto, Neves, Oliveira, Flausino & Lopes, 2013, *Isospora saltatori* Berto, Balthazar, Flausino & Lopes, 2008 e *Isospora trincaferri* Berto, Balthazar, Flausino & Lopes, 2008 foram identificadas e caracterizadas de *Saltator* spp. de vida livre e cativeiro nas proximidades do PNI. *Saltator aurantirostris* foi registrado como um novo hospedeiro para *I. similisi* expandindo sua distribuição e dispersão na região Neotropical. A prevalência e densidade de coccídios de *Saltator* spp. no PNI foi baixa a moderada, tendo apenas um único espécime de *S. similis* com alta densidade associada a sinais clínicos de coccidiose. Finalmente, este trabalho contribui para o conhecimento da diversidade e distribuição de coccídios de *Saltator* spp. na região Neotropical, incluindo a sugestão de rearranjos taxonômicos, e destaca o bom estado de conservação do PNI em correspondência a enzootia dos coccídios em *Saltator* spp., apesar do risco eminente decorrente das altas prevalências e densidades de coccídios de *Saltator* spp. de cativeiros nas proximidades no PNI.

Palavras chave: *Isospora*. *Saltator*. Parque Nacional de Itatiaia.

GENERAL ABSTRACT

MARONEZI, Carla. **Coccidia of Saltatorinae (Passeriformes: Thraupidae) as ecological biomarkers in the Parque Nacional do Itatiaia, RJ.** 2024. 126p. Thesis (Doctorate in Science, Technology and Innovation in Agriculture). Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brazil, 2024.

The Itatiaia National Park (PNI), the first national park created in Brazil, is located in the Serra da Mantiqueira and is part of the Atlantic Forest biome, housing a rich avifauna that includes endemic species. *Saltator* spp. are widely distributed in the PNI, including the green-winged saltator (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837), which is frequently targeted by illegal trafficking. Coccidia are parasites frequently reported in birds, including *Saltator* spp., and are potentially associated with severe disease. In this context, this thesis aims to evaluate the prevalence and density of coccidia in free-living and captive *Saltator* spp. in the surroundings of the PNI. The use of birds as bioindicators of environmental conservation of an ecosystem is widely recognized, while coccidia are considered biomarkers of bird health and, consequently, of the environment they inhabit. The methodology adopted in this study involves the collection of fecal samples from *Saltator* spp. kept in captivity near the PNI and from wild birds captured within the PNI using mist nets. The collected samples were processed at the Coccidia Biology Laboratory of the Federal Rural University of Rio de Janeiro for morphological identification of the taxonomic characteristics of the oocysts and molecular identification through sequencing of certain mitochondrial and nuclear gene *loci*. The species *Isospora similisi* Coelho, Berto, Neves, Oliveira, Flausino & Lopes, 2013, *Isospora saltatori* Berto, Balthazar, Flausino & Lopes, 2008, and *Isospora trincaferri* Berto, Balthazar, Flausino & Lopes, 2008 were identified and characterized from free-living and captive *Saltator* spp. in the surroundings of the PNI. *Saltator aurantirostris* was recorded as a new host for *I. similisi*, expanding its distribution and dispersion in the Neotropical region. The prevalence and density of coccidia in *Saltator* spp. in the PNI was low to moderate, with only a single specimen of *S. similis* showing high density associated with clinical signs of coccidiosis. Finally, this work contributes to the knowledge of the diversity and distribution of coccidia in *Saltator* spp. in the Neotropical region, including suggestions for taxonomic rearrangements, and highlights the good conservation status of the PNI in correspondence to the enzootic presence of coccidia in *Saltator* spp., despite the imminent risk arising from the high prevalence and densities of coccidians from *Saltator* spp. of captivity in the surroundings of the PNI.

Keywords: *Isospora*. *Saltator*. Itatiaia National Park.

RESUMEN EXPANDIDO

MARONEZI, Carla. **Ooquistes de Saltatorinae (Passeriformes: Thraupidae) como biomarcadores ecológicos en el Parque Nacional do Itatiaia, RJ.** 2024. 126h. Tese (Doctorado en Ciencia, Tecnología e Innovación en la Agricultura) Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, Brasil, 2024.

1. Introducción

La Mata Atlántica, uno de los biomas más importantes de Brasil, abarca 17 estados y desempeña un papel importante al ofrecer servicios esenciales como suministro de agua, regulación climática, agricultura, pesca, generación de energía eléctrica y turismo. Este bioma es el hogar del 72% de la población brasileña y contribuye con el 80% del Producto Interno Bruto nacional. Sin embargo, enfrenta serias amenazas debido a la deforestación, urbanización y otras actividades humanas, lo que subraya la necesidad urgente de monitorear su biodiversidad para reforzar la legislación protectora y preservar su riqueza biológica.

El Parque Nacional de Itatiaia (PNI), creado en 1937, es la primera Unidad Federal de Conservación en Brasil, situado en la Serra da Mantiqueira, entre los estados de Minas Gerais y Río de Janeiro. El parque está dividido en dos secciones principales: la Parte Alta, caracterizada por campos de altitud y valles suspendidos, y la Parte Baja, que alberga densos bosques y ríos. Este parque es un refugio para numerosas especies de aves, muchas de ellas endémicas de la Mata Atlántica y en peligro de extinción.

Entre las aves que habitan el PNI, se destaca el género *Saltator spp.*, representado por nueve especies en Brasil. Particularmente, *Saltator similis*, reconocido por su canto melodioso y atractivo plumaje, es la especie más abundante en el parque. Sin embargo, también es una de las principales víctimas del tráfico ilegal de aves silvestres, una actividad criminal que amenaza gravemente la biodiversidad y pone en peligro las poblaciones nativas.

Las aves capturadas ilegalmente enfrentan condiciones de cautiverio que generan estrés extremo, debilitando su sistema inmunológico y aumentando su susceptibilidad a enfermedades infecciosas, como la coccidiosis. Esta enfermedad, causada por coccidios del género *Isospora spp.*, es común en aves silvestres y puede provocar diarrea severa, deshidratación e incluso la muerte. Comprender los impactos de la coccidiosis en aves silvestres y capturadas es esencial para desarrollar estrategias de manejo, mejorar las tasas de supervivencia en centros de rehabilitación y garantizar la liberación adecuada de las aves en su hábitat natural.

Dado que las aves son bioindicadores clave de la salud de los ecosistemas, el monitoreo de su estado sanitario y parasitológico puede revelar cambios ambientales significativos. En este contexto, los coccidios actúan como biomarcadores sensibles, reflejando tanto las condiciones de vida en cautiverio como las alteraciones en los hábitats silvestres. Este estudio se centra en el análisis de *Isospora spp.* en *Saltator spp.* del PNI, abordando aspectos taxonómicos, ecológicos y de salud, con el objetivo de contribuir al manejo sostenible de la biodiversidad en la región.

2. Materiales y Métodos

2.1 Área de Estudio

El Parque Nacional de Itatiaia (PNI) está ubicado en la Serra da Mantiqueira, abarcando áreas de los estados de Minas Gerais y Río de Janeiro, Brasil. El parque posee dos secciones principales: la Parte Alta, con altitudes superiores a los 2.000 metros y vegetación típica de campos de altitud; y la Parte Baja, caracterizada por densos bosques tropicales y cursos de agua.

Ambas áreas presentan condiciones ecológicas únicas que influyen en la biodiversidad local, especialmente en las comunidades de aves y sus parásitos asociados.

Procedimientos de Muestreo ocurrió entre 2017 y 2024, se realizaron 18 expediciones en diferentes estaciones del año, cubriendo tanto la Parte Alta como la Parte Baja del parque. Durante estas expediciones, las aves del género *Saltator* spp. fueron capturadas utilizando redes de niebla colocadas estratégicamente en hábitats preferenciales. Cada ave capturada fue identificada, anillada con anillos metálicos numerados provistos por el Centro Nacional de Investigación y Conservación de Aves Silvestres (CEMAVE), y sometida a una evaluación biométrica y clínica.

Posteriormente, las aves fueron colocadas en cajas individuales forradas con papel limpio para recolectar muestras de heces durante un período de dos horas. Estas muestras fueron procesadas utilizando técnicas de flotación y centrifugación con solución de dicromato de potasio al 2,5%, permitiendo la identificación y cuantificación de ooquistes de *Isospora* spp. bajo un microscopio óptico.

2.2 Identificación Morfológica y Molecular

La identificación morfológica de los ooquistes se basó en características previamente descritas, como la forma, tamaño y estructura de los esporocistos. Adicionalmente, se extrajo ADN de las muestras para realizar análisis moleculares mediante la secuenciación del gen mitocondrial de la subunidad 1 de la citocromo c oxidasa (COI) y del gen de ARN ribosómico 18S. Los datos genéticos obtenidos fueron comparados con secuencias disponibles en bases de datos públicas para confirmar la identidad de las especies de *Isospora* spp. y analizar su filogenia. Los datos de prevalencia y densidad de ooquistes fueron analizados estadísticamente utilizando pruebas no paramétricas para comparar diferencias entre especies, áreas del parque y condiciones de salud de las aves. Además, se utilizaron análisis de correlación para evaluar la relación entre la densidad de ooquistes y la presencia de signos clínicos de coccidiosis.

3. Resultados y Discusión

3.1 Diversidad y Distribución de *Isospora* spp. en el Parque Nacional de Itatiaia

Los análisis realizados entre 2017 y 2024 identificaron tres especies de *Isospora* spp. asociadas a *Saltator* spp. en el PNI: *Isospora saltatori*, *I. trincaferri* e *I. similisi*. Estas especies mostraron alta prevalencia en aves capturadas, especialmente en *S. similis*, la especie más abundante en el parque. Se observó que la densidad de ooquistes variaba significativamente entre las especies y los ambientes (Parte Alta y Parte Baja), con mayores densidades registradas en áreas más degradadas. Esto sugiere que el impacto antrópico influye en la proliferación de los parásitos.

El análisis molecular confirmó la identidad de las especies y demostró que *I. similisi*, descrita originalmente en *S. similis*, podría considerarse sinónimo de *I. formarum* debido a la alta similitud genética encontrada entre los hospedadores de la región Neotropical. Este hallazgo amplía el conocimiento sobre la distribución y dispersión de coccidios en el continente.

3.2 Impacto de la Coccidiosis en Aves Silvestres

Los resultados destacaron un caso clínico de coccidiosis severa en un juvenil de *S. similis*, capturado en la transición entre campos de altitud y bosques densos. Este individuo presentó una densidad de 6.500 ooquistes por gramo de heces, una carga parasitaria excepcionalmente alta asociada a señales clínicas como diarrea mucosa verdosa. Este caso demuestra que las infecciones por coccidios, aunque generalmente asintomáticas, pueden alcanzar niveles patogénicos bajo condiciones específicas, como en juveniles con inmunidad reducida o expuestos a factores ambientales estresantes.

Los datos refuerzan el rol de los coccidios como biomarcadores ecológicos, siendo indicadores sensibles de alteraciones ambientales. Los ambientes bien conservados del PNI presentaron aves con baja densidad de ooquistes y ausencia de signos clínicos, mientras que las áreas con mayor impacto humano, como bordes de bosque y zonas de transición, revelaron densidades significativamente mayores.

3.3 Comparación entre Aves en Cautiverio y Silvestres

Las aves en cautiverio analizadas mostraron prevalencias y densidades de *Isospora* spp. superiores a las registradas en aves silvestres del PNI. El estrés del cautiverio, la alimentación inadecuada y las condiciones higiénicas deficientes fueron factores que contribuyeron a la mayor carga parasitaria. Además, la proximidad entre individuos en cautiverio facilita la transmisión directa de coccidios, exacerbando los índices de infección.

Esta diferencia sugiere que la reintroducción de aves provenientes del tráfico sin una adecuada evaluación sanitaria puede representar un riesgo para la salud de las poblaciones nativas, ya que los individuos liberados podrían introducir parásitos resistentes en ecosistemas naturales.

3.4 Nuevos Registros e Implicancias para la Conservación

Se registró por primera vez un ejemplar de *S. aurantirostris* como hospedador de *I. similisi* en la región del PNI. Este registro, junto con la suplementación molecular de nuevos loci genéticos, evidencia la complejidad de las interacciones hospedador-parásito y refuerza la necesidad de investigaciones continuas para establecer relaciones taxonómicas más precisas entre los coccidios de *Saltator* spp.

Además, se identificó un nuevo morfotipo de *Isospora* sp. en *S. maxillosus*, indicando el posible descubrimiento de una nueva especie de coccidio. Este hallazgo resalta el potencial del PNI como un hotspot no solo de biodiversidad, sino también de microorganismos aún desconocidos.

3.5 Relevancia de los Coccidios como Bioindicadores

La utilización de coccidios como indicadores de la salud ambiental demostró ser una herramienta prometedora para el monitoreo ecológico. En ambientes conservados, los coccidios coexisten en equilibrio con sus aves hospedadoras, reflejando la estabilidad ecológica. En cambio, en áreas impactadas por actividades humanas, como la deforestación y la urbanización, se observó una mayor prevalencia de infecciones, indicando estrés ambiental.

Esta información es crucial para las estrategias de manejo de unidades de conservación, permitiendo identificar áreas prioritarias para intervención y garantizar la salud de las poblaciones de aves.

4. Conclusiones

Este estudio reafirma la importancia del monitoreo sanitario y ecológico de las aves silvestres como herramienta esencial para la conservación de la biodiversidad. En el Parque Nacional de Itatiaia (PNI), se identificaron tres especies de *Isospora* spp. en *Saltator* spp., siendo destacables los hallazgos de *I. saltatori*, *I. trincaferri* y *I. similisi*. Estos parásitos, además de su relevancia en la salud de las aves, se consolidaron como indicadores clave del estado de conservación ambiental y del impacto de las actividades humanas en los ecosistemas locales.

Los resultados evidenciaron que las condiciones de cautiverio agravan la susceptibilidad de las aves a la coccidiosis, incrementando significativamente la densidad de ooquistes y los signos clínicos. Por otro lado, las aves en estado silvestre del PNI mostraron una prevalencia de infecciones parasitarias dentro de niveles esperados en un entorno bien conservado, aunque algunas especies, como *S. similis*, actúan como dispersores importantes de ooquistes en su hábitat.

El hallazgo de un nuevo huésped para *I. similisi*, *S. aurantirostris*, amplía nuestra comprensión sobre la distribución y ecología de este parásito en la región Neotropical. Asimismo, el descubrimiento de un posible nuevo morfotipo de *Isospora* sp. en *S. maxillosus* subraya la necesidad de investigaciones taxonómicas más profundas para determinar si se trata de una nueva especie.

Las implicancias de estos hallazgos para la gestión de aves rescatadas del tráfico ilegal son significativas. Liberar aves sin una evaluación sanitaria adecuada podría introducir cepas de parásitos en ambientes naturales, exacerbando los desafíos de conservación. Este estudio refuerza la necesidad de implementar protocolos estrictos de manejo sanitario y de reintroducción, priorizando criterios epidemiológicos y ecológicos sólidos.

En conclusión, este trabajo destaca la interconexión entre la salud de las aves silvestres, los parásitos que las afectan y la calidad del ecosistema. La vigilancia continua de coccidios como *Isospora* spp. en *Saltator* spp. es fundamental no solo para la salud de las aves, sino también para garantizar la integridad de los ecosistemas del PNI y de la Mata Atlántica en su conjunto.

Palabras clave: *Isospora*. *Saltator*. Parque Nacional de Itatiaia.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Espécime de <i>Saltator maximus</i> . Fonte: Marcus, 2013.	4
Figura 2. Espécime de <i>Saltator coerulescens</i> . Fonte: Affonseca, 2010.	5
Figura 3. Espécime de <i>Saltator similis</i> no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Soares, 2015. .	6
Figura 4. Espécime de <i>Saltator maxillosus</i> no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Costa, 2015.	6
Figura 5. Espécime de <i>Saltator aurantirostris</i> . Fonte: Fenalti, 2010.	7
Figura 6. Espécime de <i>Saltator grossus</i> . Fonte: Licco, 2011.	8
Figura 7. Espécime de <i>Saltator fuliginosus</i> no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Antunes, 2020.	8
Figura 8. Espécime de <i>Saltator atricollis</i> registrado em São Roque de Minas, MG. Fonte: Souto, 2015.	9
Figura 9. Espécime de <i>Saltator olivascens</i> . Fonte: Piedrahita, 2019.	10
Figura 10. Localização dos principais parasitas encontrados em aves. Fonte: Foreyt, 2005. .	12
Figura 11. Morfologia básica de um oocisto de <i>Isospora</i> sp. Fonte: Maronezi et al., 2022. .	14
Figura 12. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora pityli</i> de <i>Saltator grossus</i> . Fonte: McQuiston e Capparella, 1992.	15
Figura 13. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora formarum</i> de <i>Saltator grossus</i> . Fonte: McQuiston e Capparella, 1992.	16
Figura 14. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora vanriperorum</i> de <i>Saltator similis</i> . Fonte: Lopes et al., 2007.	17
Figura 15. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora saltatori</i> de <i>Saltator similis</i> . Destaques: Corpo de sub-Stieda (ponta de seta vazia) e resíduo de esporocisto (ponta de seta preenchida). Fonte: Berto et al., 2008.	17
Figura 16. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora trincaferri</i> de <i>Saltator similis</i> . Destaque: Corpo de sub-Stieda (ponta de seta). Fonte: Berto et al., 2008.	18
Figura 17. Desenho e fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora similisi</i> de <i>Saltator similis</i> . Fonte: Coelho et al., 2013.	19
Figura 18. Fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora ferri</i> de <i>Saltator similis</i> . Destaques: Corpo de Stieda (ponta de seta), corpo de sub-Stieda (seta à direita) e resíduo do esporocisto (seta à esquerda). Fonte: Barreto et al., 2020.	19
Figura 19. Fotomicrografia do oocisto de <i>Isospora beagai</i> de <i>Saltator similis</i> . Destaques: Grânulo Polar (ponta de seta à esquerda), Corpo de Stieda (seta à esquerda e ponta de seta à direita) e resíduo do esporocisto (seta à direita). Fonte: Barreto et al., 2020.	20
Figura 20. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de <i>Isospora saltatori</i> de trinca-ferros <i>Saltator similis</i> . Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); e corpo refrátil posterior (prb). Escala: 10 µm. Fonte: Maronezi et al., 2022.	29
Figura 21. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de <i>Isospora trincaferri</i> de trinca-ferros <i>Saltator similis</i> . Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol)	

da parede do oocisto; micrópila (m); núcleo (n); grânulo polar (pg); Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); corpos refráteis anterior (arb) e posterior (prb). Escala: 10 µm. Fonte: Maronezi et al., 2022.	30
Figura 22. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de <i>Isospora similis</i> de trinca-ferros <i>Saltator similis</i> . Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; grânulos polares (pg); Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); corpo refrátil posterior (prb). Escala: 10 µm. Fonte: Maronezi et al., 2022.	31
Figura 23. Árvore de "Maximum likelihood" estimada a partir das sequências COI. Os números nos nós representam o suporte de "bootstrap" (1.000 réplicas; somente valores > 50% mostrados) para "Neighbor-Joining" e "Maximum Likelihood", respectivamente. A escala representa o número de substituições de nucleotídeos por sítio. Fonte: Maronezi et al., 2022.	32
Figura 24 Regressões lineares comparativas de oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de <i>Isospora saltatori</i> (preto), <i>Isospora trincaferri</i> (cinza escuro) e <i>Isospora similis</i> (cinza claro) recuperados de trinca-ferros <i>Saltator similis</i> . Fonte: Maronezi et al., 2022.	37
Figura 25. (1) Espécime de <i>Saltator similis</i> capturado no km 5 da Travessia Ruy Braga do Parque Nacional de Itatiaia, identificado como juvenil devido à presença de comissura labial, despigmentação do bico (B) e plumagem bastante opaca com pouca pigmentação. O espécime apresentou sinais clínicos típicos de coccidiose, como (A) penas eriçadas e (C) cloaca e penas da cauda manchadas com fezes diarreicas. (D) As amostras foram coletadas por defecação depositadas em papel, (E) continuamente examinadas e substituídas por duas horas enquanto o espécime era mantido em uma caixa apropriada. Fonte: Maronezi et al., 2024a.....	44
Figura 26. Fotomicrografias de oocistos esporulados de (a-b) <i>Isospora saltatori</i> , (c-d) <i>Isospora trincaferri</i> e (e-f) <i>Isospora similis</i> associados a sinais clínicos de coccidiose em um trinca-ferro <i>Saltator similis</i> de vida livre no Parque Nacional de Itatiaia no sudeste do Brasil. Barra = 10µm. Fonte: Maronezi et al., 2024a.	47
Figura 27. Flutuação da densidade total e específica de <i>Isospora</i> spp. durante um período de 2h de defecação sequenciais de um trinca-ferro de vida livre com sinais clínicos de coccidiose no Parque Nacional do Itatiaia Sudeste Brasil. Fonte: Maronezi et al., 2024a.	48
Figura 28. Fotomicrografias de oocistos esporulados de <i>Isospora similis</i> de um bico-duro, <i>Saltator aurantiirostris</i> . Destacam-se as camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; grânulos polares (pg); corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo do esporocisto (sr); e corpo refrátil (rb). Barra de escala: 10 µm 101x63mm. Fonte: Maronezi et al., 2024b.....	58
Figura 29. Relação filogenética de <i>Isospora similis</i> do trinca-ferro (<i>Saltator similis</i>) inferida por análise bayesiana para um locus (MAVCOXI) dentro do gene <i>cox1</i> do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,05). Os rótulos dos ramos nos nós mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma <i>Choleoeimeria</i> sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). 555x370mm. Fonte: Maronezi et al., 2024b.	60

- Figura 30.** Relação filogenética de *Isozona similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantirostris*) inferida por análise bayesiana para um locus (MACOIII) dentro do gene *cox3* do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,2). Os rótulos dos ramos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma *Choleoemia* sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). Fonte: Maronezi et al., 2024b. 61
- Figura 31.** Relação filogenética de *Isozona similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantirostris*) inferida por análise bayesiana para um locus (MARI) dentro de fragmentos das subunidades pequena e grande do rDNA do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,03). Os rótulos dos ramos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma *Choleoemia* sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). Fonte: Maronezi et al., 2024b. 62
- Figura 32.** Relação filogenética de *Isozona similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantirostris*) inferida por análise bayesiana para um locus (1NF) dentro da subunidade pequena do RNA ribossomal 18S. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,003). Os rótulos dos ramos nos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando *Toxoplasma gondii* (número de acesso do GenBank: L24381). Fonte: Maronezi et al., 2024b. 63
- Figura 33.** Faixa geográfica de várias espécies de *Saltator* na região Neotropical (com base em dados do BirdLife International (2024)). O hospedeiro-tipo de *Isozona formarum* é o Bico Encarnado (*Saltator grossus*), e o hospedeiro-tipo de *Isozona similisi* é o trinca-ferro (*Saltator similis*). O novo hospedeiro de *I. similisi* é o bico-duro (*Saltator aurantirostris*). *Saltator grossus* possui populações trans-Andinas e cis-Andinas. *Saltator similis* e *S. aurantirostris* são simpátricos entre si no centro-sul da América do Sul, mas ambos são alopátricos em relação a *S. grossus*. O asterisco e o sinal de suspenso indicam aproximadamente as localidades-tipo de *I. formarum* (trans-Andina) e *I. similisi* (cis-Andina), respectivamente. Fonte: Maronezi et al., 2024b. 64
- Figura 34.** Mapa de imagem de satélite em 3D do território do Parque Nacional do Itatiaia com indicadores das localidades de expedições realizadas onde foram capturados *Saltator* spp. de 2017 a 2024. Fonte: Google Earth, 2024. 73

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Morfologia comparativa de <i>Isospora</i> spp. registradas de <i>Saltator</i> spp. (Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae).....	34
Tabela 2. Flutuação da densidade total e específica de <i>Isospora</i> spp. durante um período de 2h de defecações sequenciais de um trinca-ferro de vida livre com sinais clínicos de coccidiose no Parque Nacional do Itatiaia Sudeste Brasil.....	46
Tabela 3. Prevalência e densidade de coccídios do gênero <i>Isospora</i> de amostras fecais de <i>Saltator</i> spp. silvestres capturados no Parque Nacional do Itatiaia.....	75

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA GERAL	3
2.1 <i>Saltator</i> spp.....	3
2.1.1. Classificação.....	3
2.1.2. Espécies que ocorrem no Brasil.....	4
2.1.3. Captura ilegal e o trinca-ferro como ave de gaiola.....	10
2.1.4. Doenças e parasitoses comuns.....	11
2.1.5. A coccidiose em trinca-ferros e demais <i>Saltator</i> spp.	13
2.2. Os Coccídios.....	13
2.2.1. Classificação.....	13
2.3. Morfologia.....	14
2.3.1. <i>Isospora</i> spp. de Saltatorinae.....	15
2.4 Coccídios como Biomarcadores Ecológicos	20
3. CAPÍTULO I <i>ISOSPORA</i> SPP. (EIMERIIDAE) DE TRINCA-FERROS (<i>SALTATOR SIMILIS</i> D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) THRAUPIDAE) DE CATIVEIRO PRÓXIMOS À UNIDADE DE CONSERVAÇÃO DO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA.....	22
3.1 RESUMO	23
3.2 ABSTRACT	24
3.3 INTRODUÇÃO.....	25
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.4.1. Coleta de amostras.....	26
3.4.2. Análises morfológicas	26
3.4.3. Análises moleculares	26
3.4.4. Análises de sequências de DNA.....	27
3.5 RESULTADOS	28
3.5.1 <i>Isospora saltatori</i> (BERTO et al, 2008).....	28
3.5.2 <i>Isospora trincaferri</i> (BERTO et al, 2008).....	29
3.5.3 <i>Isospora similisi</i> (COELHO et al, 2013).....	30
3.5.4 Análise filogenética	31
3.6 DISCUSSÃO.....	33
3.7 CONCLUSÃO.....	39
4. CAPÍTULO II COCCIDIOSE EM TRINCA-FERRO DE VIDA LIVRE (<i>SALTATOR SIMILIS</i> D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA.....	40
4.1 RESUMO	41
4.2 ABSTRACT	42
4.3 INTRODUÇÃO.....	43
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	44
4.4.1 Coleta de amostras.....	44

4.4.2 Análises laboratoriais	45
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.6 CONCLUSÃO.....	51
5. CAPÍTULO III <i>ISOSPORA SIMILISI</i> DE UM NOVO HOSPEDEIRO, <i>SALTATOR AURANTIROSTRIS</i> , COM DADOS MOLECULARES SUPLEMENTARES E NOTAS SOBRE SUA TAXONOMIA E DISTRIBUIÇÃO NA REGIÃO NEOTROPICAL	52
5.1 RESUMO	53
5.2 ABSTRACT	54
5.3 INTRODUÇÃO.....	55
5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	56
5.4.1 Coleta de amostras.....	56
5.4.2. Análise morfológica	56
5.4.3. Obtenção de espécimes representativos de <i>Isospora similisi</i>	56
5.4.4. Análise molecular	56
5.4.5. Análise de sequência de DNA	57
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	58
5.4.1 Análise morfológica	58
5.4.2 Análise molecular	59
5.4.3 Análise filogenética	60
5.5 CONCLUSÃO.....	67
6. CAPÍTULO IV PREVALÊNCIA E DENSIDADE DE COCCÍDIOS DE SALTATORINAE (PASSERIFORMES: THRAUPIDAE) NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA	68
6.1 RESUMO	69
6.2 ABSTRACT	70
6.3. INTRODUÇÃO.....	71
6.4. MATERIAL E MÉTODOS.....	73
6.4.1. Local de estudo, pontos de captura de aves e coleta de amostras.....	73
6.4.2. Processamento das amostras.....	74
6.4.3. Visualização, fotomicrografia e quantificação dos oocistos.....	74
6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
6.6. CONCLUSÃO.....	78
7. CONCLUSÕES GERAIS	79
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
10. ANEXOS.....	91

1. INTRODUÇÃO GERAL

A Mata Atlântica é um patrimônio nacional que abrange 17 estados brasileiros que dependem de seus serviços essenciais como abastecimento de água, regulação do clima, agricultura, pesca, energia elétrica e turismo. Atualmente 72% da população brasileira está concentrada em regiões de domínio do Bioma Mata Atlântica, a qual corresponde a geração de 80% do PIB nacional. No Bioma Mata Atlântica existem 131 Unidades de Conservação Federais, 443 estaduais, 14 municipais e 124 privadas (SOSMA, 2024). A área remanescente nativa da Mata Atlântica está inserida como *hotspot*, classificação dada a regiões do planeta que possuem altos níveis de biodiversidade e elevado grau de ameaça, mesmo com o aumento de Unidades de Conservação ainda se mostra vulnerável devido as atividades humanas. A importância do monitoramento de Unidades de Conservação é fortalecer a legislação que a protege, contribuindo para a preservação da biodiversidade do bioma (SNUC, 2000).

O Parque Nacional do Itatiaia (PNI) é o primeiro Parque Nacional criado no Brasil, foi fundado em 1937, é classificado como uma Unidade de Conservação Federal de Proteção Integral, considerada de extrema importância para a conservação da biodiversidade pelo Ministério do Meio Ambiente (MMA). A gestão do PNI é representada pelo órgão federal executor Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio), que monitora e fiscaliza a conservação das variedades de espécies biológicas, os recursos genéticos e águas jurisdicionais. O PNI fica localizado na Serra da Mantiqueira entre os estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, nos municípios de Itatiaia/RJ, Resende/RJ, Bocaina de Minas/MG e Itamonte/MG (BARCELLOS, 2022). Sua paisagem é dividida em Parte Alta caracterizada por campos de altitudes, vales suspensos e elevações rochosas como cume, o Pico das Agulhas Negras (2.791m), berço de inúmeras nascentes que drenam para 12 bacias hidrográficas, sendo uma delas a do rio Paraíba do Sul, já a Parte Baixa é caracterizada por floresta ombrófila densa, com rios e cachoeiras. A Parte Baixa do PNI é um dos principais destinos de observação de aves do Brasil devido ao grande número de espécies e facilidade de observação (ICMBIO/PARNAITATIAIA, 2024).

A avifauna brasileira possui cerca de 1.971 espécies registradas pelo Comitê Brasileiro de Registro Ornitológico (CBRO) (PACHECO et al., 2021). A distribuição geográfica das espécies é heterogênea, apresentando sobreposição com outros biomas, entretanto a Mata Atlântica apresenta 893 aves em seu território, sendo 215 espécies endêmicas. O bioma tem o maior número de táxons ameaçados de extinção, devido a perda de fragmento do habitat e do tráfico de aves silvestres (ICMBIO, 2024). O tráfico de animais silvestres é considerado a terceira maior atividade ilícita do mundo, atrás somente o tráfico de drogas e armas. Esta prática criminosa atinge sobretudo as aves que são as mais exploradas no comércio ilegal, sendo em primeiro lugar os psitacídeos, por serem aves de companhia, e os pássaros, especialmente pelo seu canto. O trinca-ferro (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) é um pássaro da família Thraupidae e sub-família Saltatorinae, considerada uma das espécies preferidas para criação em cativeiro. Esta espécie é um dos principais alvos do contrabando ilegal de aves silvestres. A espécie tem ocorrência exclusivamente brasileira, mas pode ocorrer nas fronteiras como Argentina, Uruguai, Bolívia e Paraguai. As aves mantidas em cativeiros estão mais suscetíveis a infecções devido ao estresse e manejo que são submetidas. Dentre as principais doenças que acometem pássaros de cativeiro estão os distúrbios nutricionais, as doenças virais, bacterianas, micóticas e parasitárias. Dentre as enfermidades anteriormente citadas, as parasitárias são as mais frequentes. Elas podem manifestar-se de forma subclínica e até mesmo levar a morte súbita das aves (COELHO et al., 2012).

As parasitoses mais frequentes em aves são as coccidioses. Os coccídios são frequentemente observados em amostras fecais de aves silvestres. Tratam-se de parasitas intestinais que podem causar redução do ganho de peso, afetar a reabsorção intestinal de nutrientes e reduzir a fertilidade, imunossupressão, alterações fisiológicas no período reprodutivo e de muda das penas, além de má nutrição, deficiências no manejo ou presença de infecções concomitantes que podem predispor a recidivas e surgimento de quadro clínico agudo (COELHO et al., 2013).

Neste contexto, este estudo teve por objetivo maior identificar e quantificar coccídios de trinca-ferros, bicos-grossos, bicos-de-pimenta, e outros *Saltator* spp. dentro e nas proximidades do PNI, relacionando estes coccídios com aspectos biológicos e ecológicos de *Saltator* spp. e, desta forma, indicar os coccídios como biomarcadores de distribuição e dispersão e conservação ambiental. Os objetivos específicos foram: (i) Identificar e caracterizar, de forma morfológica e morfométrica, os oocistos esporulados de coccídios de *Saltator* spp.; (ii) Avaliar e/ou comprovar a distribuição e dispersão de determinadas espécies de coccídios, através do registro de novos hospedeiros e/ou localidades; (iii) Avaliar a densidade das populações componentes de coccídios através da quantificação de seus oocistos obtidos de amostras fecais de diferentes *Saltator* spp.; e (iv) Correlacionar as densidades dos coccídios com as respectivas condições biológicas de seus hospedeiros e do ambiente.

Neste sentido, esta tese apresenta uma Revisão da Literatura nos temas de Ecologia e Taxonomia de Coccídios de *Saltator* spp., mais quatro capítulos que abordam os temas de: (1) Identificação e caracterização morfológica e molecular de *Isospora* spp. de trinca-ferros de cativeiros próximos ao PNI; (2) Correlação de sinais clínicos da coccidiose com alta densidade de oocistos de *Isospora* spp. em um trinca-ferro capturado dentro do PNI; (3) Registro de um novo hospedeiro *Saltator* sp. para uma espécie de *Isospora* originalmente descrita de trinca-ferros, ampliando assim a distribuição dos coccídios de *Saltator* spp. na região Neotropical, além da suplementação molecular através do sequenciamento de novos *loci* gênicos; e (4) Prevalência e densidade de *Isospora* spp. de *Saltator* spp. capturados no período de 2017 até 2024 nas Partes Alta e Baixa do PNI. Estes capítulos correspondem a artigos científicos publicados, aceitos, submetidos e a submeter para periódicos científicos indexados (ver ANEXOS).

2. REVISÃO DE LITERATURA GERAL

2.1 *Saltator* spp.

As excepcionais qualidades canoras de *Saltator* spp. fazem com que estes pássaros sejam bastante conhecidos. Ocorrem cantos e melodias que são compostos como perguntas e respostas, formando uma completa harmonia, como em *Saltator maximus* Statius Muller, 1776. Cantam geralmente da ponta de algum galho ou colmo de capim. Ocasionalmente *S. similis*, espécie florestal, canta durante o voo enquanto dirige-se de uma copa de árvore para outra. Nas diferentes espécies de *Saltator* spp. há diferença entre os cantos de cada sexo e o casal pode cantar sincronizadamente. Há bastante variação individual e geográfica do canto (SICK, 1997).

O bico é outras das características mais destacáveis em *Saltator* spp., mesmo que seu formato tenha variação considerável nas diferentes espécies (SICK, 1997). O tamanho do sistema digestório está altamente ligado ao tipo de alimentação, e seu estudo é amplamente importante para a nutrição de *Saltator* spp. em cativeiro. Segundo Dyce et al. (2010), o esôfago dessas aves é um tubo muscular alongado, localizado entre os músculos cervicais e a traqueia, possuindo grande distensão de suas paredes. Segundo Rodrigues et al. (2019) espécies de aves granívoras possuem uma porção do esôfago em forma de saco, justificado pela composição da dieta de *S. similis*, estes são onívoros e se alimentam de frutas, sementes e pequenos insetos (SICK, 1997). As características anatômicas de *Saltator* spp. são pouco estudadas, assim como as suas relações ecológica, é necessário aprofundamento da pesquisa na área da biometria para compreender melhor a fisiologia, ecologia e evolução de *Saltator* spp. (BUGONI et al., 2002).

Esses pássaros têm hábitos alimentares amplamente generalistas. Estão entre os numerosos consumidores dos frutos das palmeiras e brotos. *Saltator similis* tem como hábito alimentar comer folhas de canema (*Solanum* spp.) e petiscar um líquido adocicado excretado por pulgões. Em banhos de areia alimentam-se de formigas. Durante a reprodução vivem estritamente aos casais, onde o macho traz comida para fêmea (SICK, 1997).

Estão descritas 19 espécies de *Saltator* spp. com distribuição geográfica Neotropical (CHAVES et al. 2013). Destas, nove espécies com ocorrência no Brasil: *Saltator grossus* Linnaeus, 1766; *Saltator fuliginosus* Daudin, 1800; *Saltator maximus*; *Salltator similis*; *Saltator aurantiirostris* Vieillot, 1817; *Saltator maxillosus* Cabanis, 1851; *Saltator atricollis* Vieillot, 1817; *Saltator coerulescens* Vieillot, 1817 e *Saltator olivascens* Cabanis, 1849. Na América Central temos a ocorrência de três espécies que não ocorrem na América do Sul. Outras sete espécies são distribuídas na América do Sul sem ocorrência no Brasil (BIRDLIFE INTERNACIONAL, 2022).

2.1.1. Classificação

O gênero *Saltator* segue a seguinte classificação taxonômica de acordo com a Lista das Aves do Brasil publicada pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PACHECO et al., 2021):

Reino: Animalia (LINNAEUS, 1758)
Filo: Chordata (BATESON, 1885)
Classe: Aves (LINNAEUS, 1758)
Ordem: Passeriformes (LINNAEUS, 1758)
Subordem: Passeri (LINNAEUS, 1758)
Parvodem: Passerida (LINNAEUS, 1758)
Família: Thraupidae (CABANIS, 1847)

Subfamília: Saltatorinae (BONAPARTE, 1853)

Gênero: *Saltator* (VIEILLOT, 1816)

2.1.2. Espécies que ocorrem no Brasil

a) *Saltator maximus* (STATIUS MULLER, 1776)

Conhecido popularmente como tempera-viola (Figura 1) tem comprimento total de aproximadamente 19,5 centímetros. Não apresenta dimorfismo sexual e seu canto é uma estrofe curta e suave. É um pássaro comum em regiões úmidas como florestas, capoeiras e plantações, não penetra em regiões serranas, vive aos pares ou de forma solitária. Pode ser avistado em toda a Amazônia, região central, sul matogrossense, com registros no estado do Rio de Janeiro e São Paulo, porém não há registros no PNI. Encontrado também do México ao Panamá, Peru, Bolívia, Venezuela, Equador e Paraguai (SICK, 1997).



Figura 1. Espécime de *Saltator maximus*. Fonte: Marcus, 2013.

b) *Saltator coerulescens* (VIEILLOT, 1817)

Conhecido popularmente como trinca-ferro-gonga (Figura 2), tem comprimento total de aproximadamente 20 centímetros. Sem dimorfismo sexual. Quando juvenil apresenta costas e peito esverdeados e bico com manchas cinzentas. Vivem em pequenos grupos e os casais cantam sincronizadamente, fácil de observar através do canto. É comum em florestas secas, áreas arbustivas e pastagens abandonadas, pode ser avistado em jardins de cidades e margem de rio. Presente em muitas regiões do Brasil, por toda a Amazônia até o leste da Bahia e em direção sul até Minas Gerais, Goiás e Mato Grosso, sem registro no Rio de Janeiro. Registros também do México à Costa Rica e em grande parte dos os países da América do Sul, com exceção do Chile (SICK, 1997).



Figura 2. Espécime de *Saltator coerulescens*. Fonte: Affonseca, 2010.

c) *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837)

Popularmente conhecido como o trinca-ferro (Figura 3) é o menor do que outras espécies do gênero *Saltator*, identificado pelo bico negro e forte onde se originou o nome comum dessa ave. Apresenta o dorso verde, cauda e lados da cabeça cinza. A listra superciliar é marcante e mais longa nessas espécies e região ventral do pescoço completamente branca. Ventralmente, domina o cinza e nas laterais marrom alaranjado e branco no centro do abdômem, as asas esverdeadas. Quando juvenil a listra não é extensa, pode não existir ou aparecer falhada. Ao abandonarem o ninho o bico é fortificado e bastante enérgico fazendo juz ao nome trinca-ferro. Não há dimorfismo sexual e seu canto, ou dialeto assim chamado, pode variar um pouco de região a região, mas mantem o mesmo timbre. Vivem em Matas fechadas e bordas de mata, capoeiras e clareiras. Está sempre associado às matas, ocupando o estrato médio e superior. Muito observado na Parte Alta, Parte Baixa e entorno do PNI. Ocorre na parte central do Brasil e nordeste, da Bahia ao sul do País, no Rio Grande do Sul e toda a região Sudeste. Além de fronteiras vizinhas internacionais como Argentina, Bolívia, Paraguai e Uruguai (SICK, 1997).



Figura 3. Espécime de *Saltator similis* no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Soares, 2015.

d) *Saltator maxillosus* (CABANIS, 1851)

Popularmente conhecido como bico-grosso (Figura 4) apresenta em média 19 centímetros. Reconhecido pelo bico muito grosso, alto e amarelo na base. Região dorsal sua cor predominante é cinza-escura, quase sem verde, sobrancelha branca iniciando-se na base do bico, partes inferiores ferrugíneas. Há dimorfismo sexual onde as fêmeas tem costas verdes; quando juvenil apresenta partes superiores verdes e o bico negro. A sua vocalização é por estrofe de quatro pios fortes e no terceiro é o mais alto, o canto é comum de agosto em diante. Vivem na orla da mata e comum nas altas serras do Sudeste do Brasil. Distribui-se pelo Espírito Santo ao Rio de Janeiro e nordeste do Rio Grande do Sul e leste da Argentina (SICK 1997).



Figura 4. Espécime de *Saltator maxillosus* no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Costa, 2015.

e) *Saltator aurantiirostris* (VIEILLOT, 1817)

Popularmente conhecido como bico-duro (Figura 5), apresenta 20 centímetros de comprimento, apresenta dimorfismo sexual na coloração do bico. Está presente na região Sul e do sudoeste do Pantanal, principalmente avistado durante o verão e também até o litoral sul de São Paulo em restingas e na Mata Atlântica de Baixada. (SICK, 1997). Não há registro no Itatiaia.



Figura 5. Espécime de *Saltator aurantiirostris*. Fonte: Fenalti, 2010.

f) *Saltator grossus* (LINNAEUS, 1766)

Popularmente conhecido como bico-encarnado (Figura 6), tem aproximadamente 19 centímetros de comprimento. Apresenta dimorfismo sexual, sendo o macho cinza-azulado com a garganta branca com preto na face, já a fêmea apresenta coloração cinza claro e não tem o preto na face e na garganta. Muito comum nos estratos médio e superior de florestas úmidas, principalmente em seu interior e não avistado nas bordas. Pode viver solitário ou aos pares e também em bandos mistos de pássaros. Muito mais se escuta o seu conto do que é observado. Ocorre por toda a Amazônia brasileira. Também é facilmente encontrado de Honduras ao Panamá e em todos os demais países amazônicos, as Guianas, Colômbia, Equador, Peru, Venezuela e Bolívia (SICK, 1997).



Figura 6. Espécime de *Saltator grossus*. Fonte: Licco, 2011.

g) *Saltator fuliginosus* (DAUDIN, 1800)

Popularmente conhecido como pimentão ou bico-de-pimenta (Figura 7) apresenta comprimento total de 22 centímetros de comprimento. Com o corpo negro e seu bico vermelho-pimenta bem evidente facilita sua identificação. Os machos são cinza e azul-escuros com a face e garganta pretos, contrastando com bico vermelho. As fêmeas são mais opacas chumbo e não possuem o preto na face, porém, possuem o bico vermelho. Na região dorsal os jovens apresentam a coloração preta e ao longo do corpo a cor chumbo, assim como as fêmeas. Quando jovens o bico tem coloração enegrado, já na fase adulta o bico é totalmente vermelho pimenta. Encontrados na Mata Atlântica e nos vestígios das matas no Sudeste. Vive em casal no interior da mata primária ou em matas secundárias altas. Seu canto é desenvolvido, muito observado pelo seu canto e podem aparecer dialetos regionais. Distribuído nas florestas do sul da Bahia ao Rio Grande do Sul, Paraguai e nordeste da Argentina (SICK, 1997).



Figura 7. Espécime de *Saltator fuliginosus* no Parque Nacional do Itatiaia. Fonte: Antunes, 2020.

h) *Saltator atricollis* (VIEILLOT, 1817)

Saltator atricollis (Figura 8), conhecido como batuqueiro, é uma ave que mede cerca de 20 centímetros de comprimento. Possui máscara e pescoço anteriores negros, com partes superiores em tons de cinza pardacentos, adornados com reflexos anilados, especialmente no dorso e nas asas. As partes inferiores são claras, em tons de cinza amarelado, com penas primárias negras e bordas interiores brancas. Suas penas caudais também são negras, e seu bico é robusto e laranja avermelhado. As fêmeas têm cores mais suaves, com um bico vermelho pálido. Os jovens apresentam partes superiores, cabeça e pescoço em tons de marrom claro, com o bico escurecido e partes inferiores estriadas. Durante a época de reprodução, o batuqueiro constrói seu ninho em forma de taça sobre galhos de árvores ou em moitas de capim, utilizando raminhos, talos e ervas, e forrando a cavidade com talos de capim. Essa espécie é encontrada desde o Mato Grosso do Sul até a Bahia, Rio de Janeiro, Mato Grosso e Goiás, nas regiões Sudeste e Nordeste do Brasil. Também pode ser encontrado no Paraguai e na Bolívia. Embora ocorra em áreas de Mata Atlântica, o batuqueiro está principalmente associado ao bioma Cerrado. (SICK, 1997)



Figura 8. Espécime de *Saltator atricollis* registrado em São Roque de Minas, MG. Fonte: Souto, 2015.

j) *Saltator olivascens* (CABANI, 1849)

Saltator olivascens, também conhecido como trinca-ferro da Guiana (Figura 9), é uma ave encontrada em partes da América do Sul, especialmente em regiões de floresta tropical e subtropical. Com cerca de 21-23 centímetros de comprimento, apresenta uma coloração verde-oliva distintiva, com a cabeça e o pescoço mais escuros e uma máscara negra ao redor dos olhos. Suas asas e cauda são mais escuras, e o bico é grosso e laranja avermelhado. Esta espécie é conhecida por habitar principalmente a região amazônica e partes da Mata Atlântica no Brasil, além de países como Colômbia, Venezuela, Guianas e Peru. Prefere áreas com vegetação densa e variada, onde pode ser encontrado em pares ou pequenos grupos familiares. O trinca-ferro da

Guiana tem um canto melodioso usado para marcar território e atrair parceiros durante a época de reprodução. Sua dieta é composta principalmente por frutos, sementes e insetos, desempenhando um papel importante na dispersão de sementes na floresta.



Figura 9. Espécime de *Saltator olivascens*. Fonte: Piedrahita, 2019.

2.1.3. Captura ilegal e o trinca-ferro como ave de gaiola

O Brasil possui 8,5 milhões de km² de extensão territorial com a maior biodiversidade do planeta sendo detentor de 20% do número total de espécies vivas. T tamanha riqueza faz do Brasil um grande alvo de exploração clandestina de seus recursos naturais (MMA, 2023). A biopirataria é uma atividade ilícita que acessa o patrimônio genético de um determinado país e os conhecimentos tradicionais associados a tais recursos, sem autorização do país de origem e de suas comunidades locais que mantem o conhecimento ao longo do tempo (SILVA-NETO e ZANTUT 2017) A biopirataria desrespeita os princípios da conservação da Biodiversidade. No entanto, nem todo tráfico de animais e seus produtos são biopirataria, mas toda biopirataria é tráfico. (RENTAS, 2001).

O tráfico internacional de fauna silvestre exportados ilegalmente do Brasil, têm modalidades de acordo com o tipo de fauna envolvida, as espécies raras da fauna brasileira têm como destino principais: (1) Os zoológicos e colecionadores particulares, sendo as araras, papagaio-de-cara-roxa *Amazona brasiliensis* Linnaeus, 1758, e mico-leão-dourado *Leontopithecus rosalia* Linnaeus, 1766, as espécies mais cobiçadas; (2) Animais para fins científicos, a qual é a clássica modalidade que é classificada como biopirataria, onde pesquisadores extraem produtos e substâncias químicas das espécies da fauna do território brasileiro para patentear produtos em outros países, sendo as principais espécies envolvidas as serpentes, anfíbios, aranhas, besouros e vespas; (3) Animais de companhia os quais movimentam o tráfico internacional de animais silvestres englobando boa parte da faunística brasileira; (4) A modalidade dos subprodutos como couro, penas, peles, garras e presas como adornos para comércio da moda e *souvenir* (RENTAS, 2001).

A cultura da criação de aves de gaiola no Brasil é uma tradição antiga, onde as aves Passeriformes canoras são as mais representativas no tráfico de animais silvestres, a agência Senado divulgou dados do Instituto Brasília Ambiental (IBRAM) que em 2019 foram realizadas

668 fiscalizações relacionadas a fauna, onde dos animais resgatados, 80% eram Passeriformes. (SILVA et al., 2019). A intensa captura de pássaros na natureza é direcionada para alimentar o tráfico interno, pois o hábito da criação de pássaros cresceu tanto que atualmente existem até clubes de criação de pássaros (RENCTAS, 2001). Um estudo de levantamento de apreensão da avifauna de Itajubá MG, e região mostra *S. similis* como a espécie mais capturada (SOUZA et al., 2019). Outro estudo da estimativa de tráfico de aves silvestres em Brasília, DF, mostrou *S. similis* como a terceira espécie mais apreendida (NEVES & ERBESDOBLER, 2021). O estudo de Destro et al. (2012), sobre o combate ao tráfico de animais, reúne dados do Ibama e instituições parceiras sendo que as aves representam 80% dos animais apreendidos, sendo *S. similis* a segunda espécie mais apreendida. *Saltator similis* não está na lista nacional de espécies ameaçadas de extinção, entretanto é uma das espécies mais apreendidas no território nacional (PORTUGAL et al., 2012) com potencial declínio populacional em áreas de proteção ambiental (MARQUES et al., 2009).

Pássaros oriundos do tráfico são submetidos a altos níveis de estresse com péssimas condições de manejo e alojamento, baixa ventilação, animais aglomerados em espaços restritos por longos períodos, contribuindo com a eliminação e dispersão de agentes etiológicos favorecendo infecções e com alta mortalidade. Atualmente existem leis e instruções normativas que permitem a criação de animais em cativeiros, a Instrução Normativa IBAMA 01/2003 regula as atividades de criadores amadoristas de pássaros da fauna silvestre brasileira, coordenado pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). O criador amadorista é a pessoa física que mantém em cativeiro pássaros autorizados, com o objetivo de zelar pelo patrimônio genético sem a intenção de comercialização. O criador deve ter uma autorização do Sistema de Cadastramento de Passeriformes (SISPASS). Portando essa documentação registrada, e a ave estando devidamente anilhada, o criador pode transitar com a ave em território nacional para fins de concursos e treinamentos autorizados. A Instrução Normativa IBAMA 10/2011 revoga IN 01/2003, traz novas regras para o criador amador e a nova categoria que regula a atividade de criadores comerciais de Passeriformes da fauna silvestre nativa. Estes são cadastrados na categoria específica “Cadastro Técnico Federal”, tendo como definição: Pessoa física ou jurídica que mantém e reproduz, com finalidade comercial, indivíduos das espécies de aves nativas da Ordem Passeriformes, sendo que todas as espécies envolvidas nas criações amadora ou comerciais devem obrigatoriamente ter origem de cativeiro registrado. No anexo I da IN 10/2011 há uma lista das espécies de pássaros da fauna silvestre nativa cuja criação e comercialização podem ser autorizadas em cativeiros. Do gênero *Saltator* as seguintes espécies são contempladas no anexo I: *S. similis*, *S. fuliginosus*, *S. aurantirostris*, *S. atricollis* e *S. maximus*. *Saltator coerulescens* e *S. maxillosus* estão presentes no anexo II. Essas são permitidas apenas para criadores amadores, restringindo os criadores comerciais.

2.1.4. Doenças e parasitoses comuns

Na literatura brasileira há poucos estudos de doenças de pássaros de vida livre, sendo mais comum estudo de pássaros mantidos em cativeiros. É fundamental ampliar os estudos da causa morte de aves de vida livre e a identificação de patógenos de aves recuperadas do tráfico. Esses dados podem melhorar a taxa de sobrevivência das aves que são encaminhadas aos centros de triagens de animais silvestres, pois muitas vão a óbito, e das sobreviventes nem todas estão aptas a soltura na natureza (GODOY, 2006). Conhecer os patógenos que acometem as aves de vida livre e de aves recuperadas, auxiliam na melhor indicação de soltura dessas aves, atualmente a soltura se faz em locais inapropriados e sem critérios de sanidade, os impactos dessa ação ainda são desconhecidos podendo ocorrer disseminação de patógenos no ambiente das aves de vida livre (WOODFORD & ROSSITER, 1993).

As principais doenças que podem acometer pássaros mantidos em cativeiro são as de origem não infecciosa, os distúrbios nutricionais e doenças metabólicas. As de origem infecciosa são doenças virais, bacterianas, micóticas e parasitárias (Figura 10) (COELHO et al., 2012). As principais doenças metabólicas e nutricionais em pássaros de cativeiro são: hipotireoidismo, obesidade, lipidose hepática, amiloidose, gota úrica, hemocromatose, hipovitaminose A. As principais doenças infecciosas de origem viral são: poxvirose, herpesvirose, influenza aviária e doença de Newcastle. As principais doenças bacterianas que acometem os pássaros, mas que também podem infectar outras espécies são: colibacilose, salmonelose, klebsielose, estafilococose e enterococose as quais estão associadas ao trato gastrointestinal. As bacterioses de trato respiratório são: pasteurelose, pseudomonose, aeromonose e bordetelose. As doenças causadas por fungos mais comuns que acometem passeriformes são a candidíase e aspergilose (SANCHES & GODOY, 2014).

As principais doenças parasitárias de pássaros são acometidas por: (1) Ectoparasitas como piolhos, carrapatos e ácaros; e (2) Endoparasitas que podem ser classificados entre os hemoparasitas como *Leucocytozoon* spp., *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. e os entereoparasitas, cujo os mais comuns de pássaros são os coccídios (GODOY, 2010).

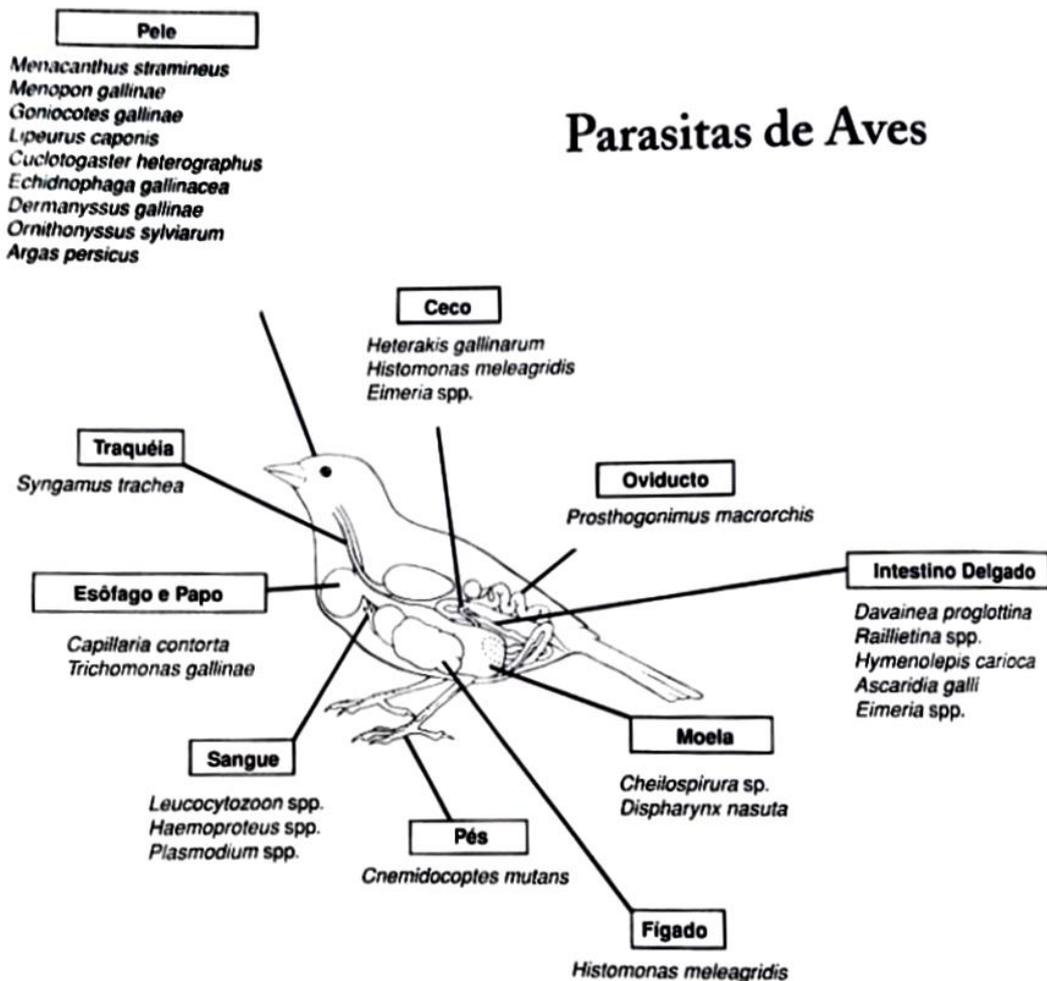


Figura 10. Localização dos principais parasitas encontrados em aves. Fonte: Foreyt, 2005.

2.1.5. A coccidiose em trinca-ferros e demais *Saltator* spp.

As parasitoses mais frequentes em aves são as coccidioses. Estes protozoários são frequentemente observados em amostras fecais de aves silvestres (OLIVEIRA et al., 2017). Trata-se de parasitas intestinais que podem causar redução do ganho de peso, afetar a reabsorção intestinal de nutrientes e reduzir a fertilidade, imunossupressão, alterações fisiológicas no período reprodutivo e de muda das penas, além de má nutrição, deficiências no manejo ou presença de infecções concomitantes que podem predispor a recidivas e surgimento de quadro clínico agudo (SILVA et al., 2014). Em pássaros, a coccidiose é considerada uma importante causa de enterite e morte (FREITAS et al. 2003).

Nos últimos anos, muitos estudos parasitológicos vêm sendo realizados em aves de cativeiro. Uma avaliação coproparasitológica e clínica realizada por Carneiro et al. (2011) constatou uma alta frequência de parasitoses nos pássaros examinados associada a ausência de sintomatologia clínica. Adicionalmente, Marieto-Gonçalves et al. (2009) determinaram a prevalência de endoparasitas em amostras fecais de aves silvestres e exóticas e identificaram os coccídios como as estruturas parasitárias mais presentes, onde os passáros em cativeiro foram os mais parasitados. Estes mesmos autores concluíram que os manejos sanitários deficientes foram, provavelmente, os principais fatores que contribuíram para a ocorrência desta parasitose. Na ordem Passeriformes, o gênero *Isospora Schneider*, 1881 é o mais prevalente (BERTO et al., 2011). O estudo realizado por Vasconcellos et al. (2013) demonstrou que das amostras analisadas de *S. similis* no município de Valença, RJ, 90% apresentaram oocistos do gênero *Isospora*. Atualmente são registradas três *Isospora* spp. de *S. similis* (MARONEZI et al., 2022).

Os pássaros silvestres são comumente portadores saudáveis de coccídios, que podem se tornar altamente patogênicos em aves imunossuprimidas e/ou animais jovens. Sob condições estressantes a forma clínica da doença pode ser manifestada, tornando os coccídios como oportunistas nesse caso (CASTRO et al., 2016). Os pássaros com sinais clínicos podem ter letargia, dispneia, perda de peso, crescimento atrasado, diarreia aquosa, de esverdeada até sanguinolenta (GODOY, 2010). Recentemente, Oliveira et al. (2018) publicaram um estudo caracterizando os aspectos patológicos e achados moleculares em casos de isosporose sistêmica em trinca-ferro em cativeiro, afirmando que trata-se de uma doença que afeta principalmente o baço, fígado e intestino delgado, onde os merozoítos do parasita podem ser encontrados no endotélio de células epiteliais e no sistema monocítico-fagocítico de vários órgãos, incluindo o cérebro. Estes autores concluíram que mais estudos são necessários para caracterizar a agente etiológico específico responsável por esta doença em *S. similis* e o real impacto da presença deste agente em populações de *S. similis* livres (OLIVEIRA et al., 2018).

2.2. Os Coccídios

2.2.1. Classificação

Os coccídios do gênero *Isospora* podem ter a seguinte classificação segundo Ruggiero et al. (2015):

Super-Reino Eukaryota (WHITTAKER & MARGULIS, 1978)
Reino: Chromista (CAVALIER-SMITH, 1981)
Sub-Reino: Harosa (CAVALIER-SMITH, 2010)
Infra-Reino: Halvaria (CAVALIER-SMITH, 2010)
Super-Filo: Alveolata (CAVALIER-SMITH, 1991)
Filo: Miozoa (CAVALIER-SMITH, 1987)
Sub-Filo: Myxozoa (CAVALIER-SMITH & CHAO, 2004)

Infra-Filo: Apicomplexa (LEVINE, 1970)
Super-Classe: Sporozoa (LEUCKART, 1879)
Classe: Coccidiomorpha (DOFLEIN, 1901)
Subclasse: Coccidia (LEUCKART, 1879)
Ordem: Eimeriida (LÉGER, 1911)
Família: Eimeriidae (MINCHIN, 1903)
Gênero: *Isoospora* (SCHNEIDER, 1881)

2.3. Morfologia

Os oocistos (forma exógena) de *Isoospora* são estruturas circulares, com sua parede composta por duas camadas, além de uma membrana externa, a qual não é visível em oocistos maduros (Figura 11). A textura é de lisa a rugosa variando entre as espécies. Em alguns oocistos, infreqüentemente em *Isoospora* spp., na camada externa pode ocorrer uma descontinuidade, chamada de micrópila e capuz polar. Dentro do oocisto de *Isoospora* há dois esporocistos; entre eles pode ocorrer uma massa chamada de resíduo do oocisto, ou um grânulo polar, o qual é uma massa menor que o resíduo de oocisto variando seu formato entre as espécies (BERTO et al., 2014).

Os esporocistos possuem estruturas em seu ápice chamadas de corpo de Stieda e sub-Stieda, os quais são uma estrutura chave da identificação e diferenciação morfológica para o gênero *Isoospora* e demais gêneros de Eimeriidae. Existem inúmeros formatos e tipos de Stieda e sub-Stieda e algumas redescritções de espécies tem sido fundamentada com base nessas estruturas. Dentro do esporocisto podem ocorrer também grânulos que são uma estrutura difusa ou mais compacta chamada de resíduo de esporocisto, que é variável em quantidade e forma de acordo com a espécie (BERTO et al., 2014). Os esporocistos de *Isoospora* spp. possuem 4 esporozoítos em seu interior, estes esporozoítos que são a unidade infectante, possuem corpos refráteis, que se apresentam únicos ou em pares, classificados como anterior e posterior. Ao centro do esporozoítos é encontrado seu núcleo notoriamente menor que os corpos refráteis. As estrias podem ou não serem observadas na extremidade anterior do esporozoítos (BERTO et al., 2014).

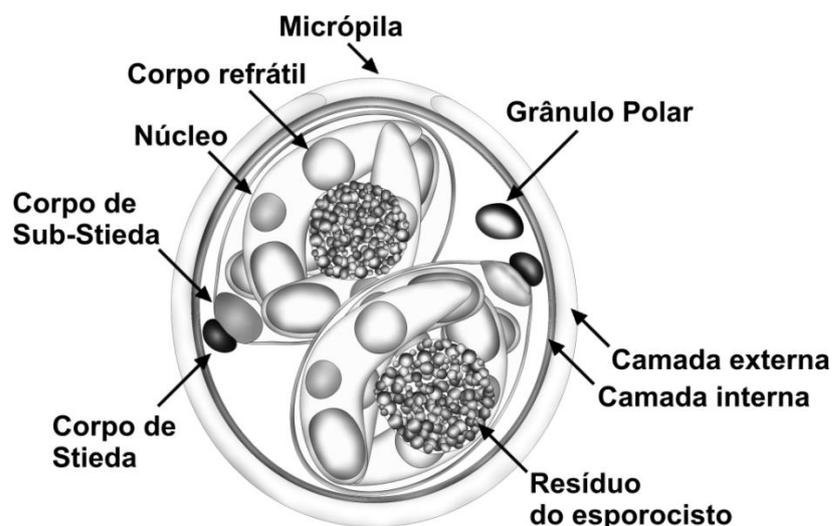


Figura 11. Morfologia básica de um oocisto de *Isoospora* sp. Fonte: Maronezi et al., 2022.

2.3.1. *Isospora* spp. de Saltatorinae

a) *Isospora pityli*

Isospora pityli e *Isospora formarum* foram descritas na década de 1990 por McQuiston e Capparella (1992), a partir de amostras fecais de bicos-encarnados (*S. grossus*) capturados em uma floresta tropical do Equador. Os oocistos de *I. pityli* são subsféricos, medindo 20 x 19 µm. Micrópila, resíduo do oocisto e grânulos polares estão ausentes. Esporocisto ovóide, medindo 15 x 9 µm. Corpo de Stieda pequeno e mamiliforme, sem corpo de sub-Stieda. Resíduo do esporocisto formado por grânulos não uniformes. Esporozoíta grande e alongado com um único corpo refrátil grande (Figura 12).

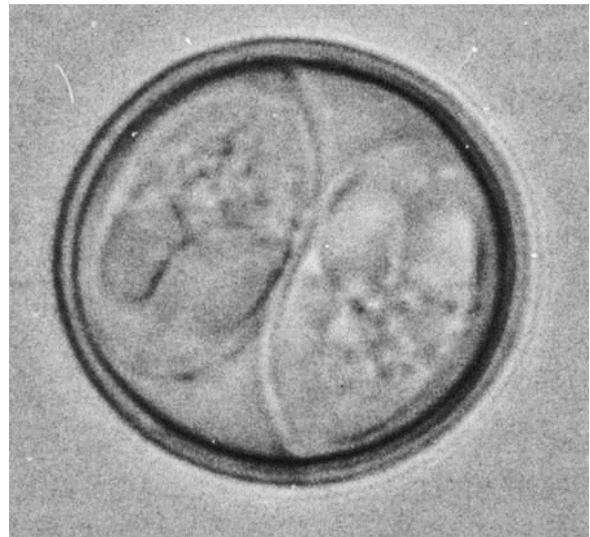
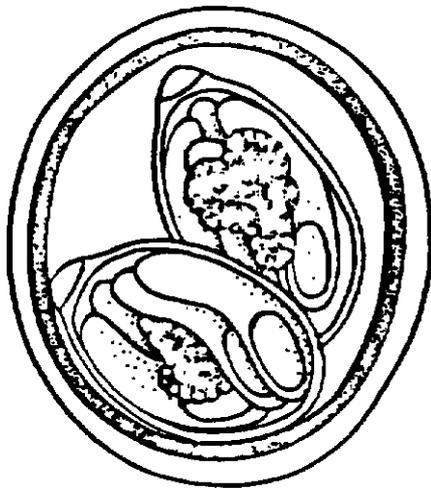


Figura 12. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora pityli* de *Saltator grossus*. Fonte: McQuiston e Capparella, 1992.

b) *Isospora formarum*

Isospora formarum (MCQUISTION E CAPPARELLA, 1992), a qual também foi descrita de bicos-encarnados (*S. grossus*) do Equador por McQuiston e Capparella (1992) tem oocistos subsféricos, medindo 25 x 23 µm. Micrópila, resíduo do oocisto e grânulos polares estão ausentes. Esporocisto ovóide, medindo 16 x 11 µm. Corpo de Stieda pequeno e mamiliforme, e corpo de sub-Stieda grande e triangular ou cônico. Resíduo do esporocisto formado por grânulos delimitados por membrana (Figura 13).

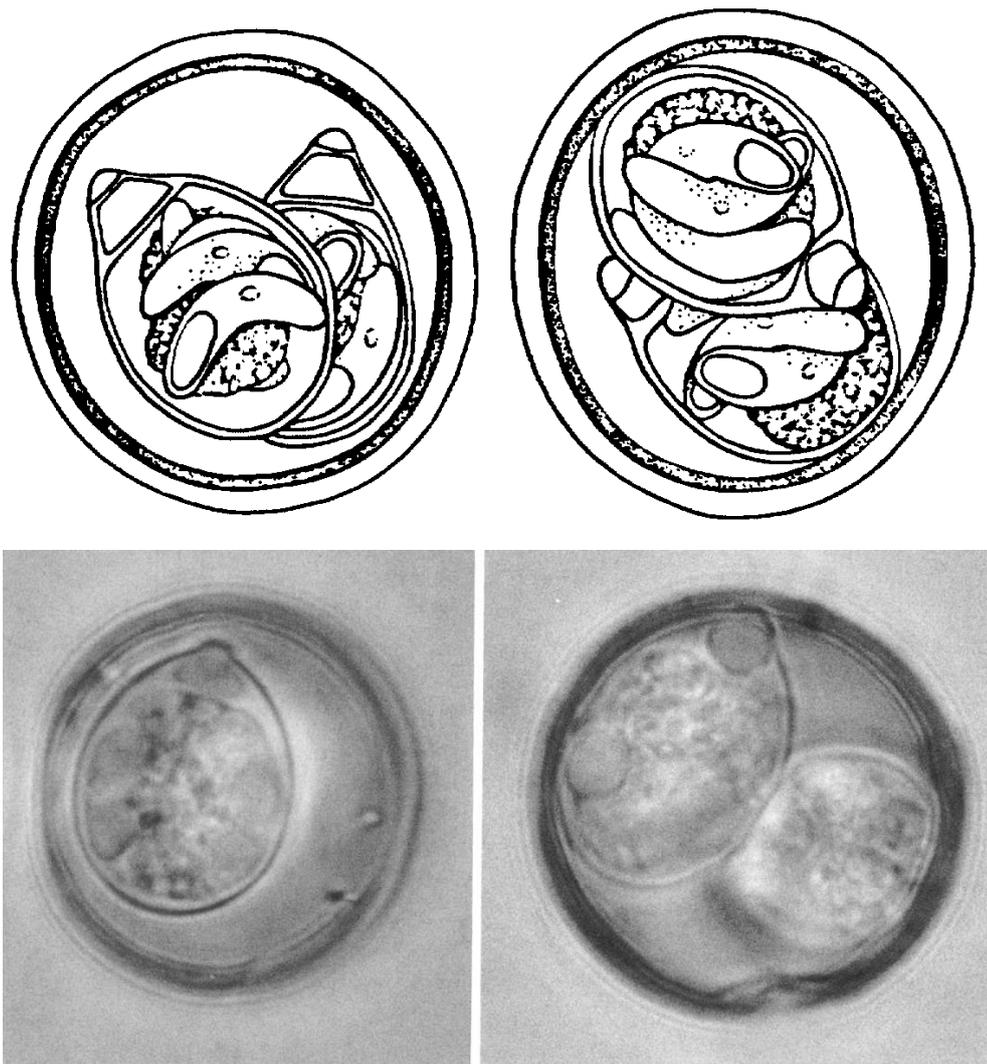


Figura 13. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora formarum* de *Saltator grossus*.
 Fonte: McQuiston e Capparella, 1992.

c) *Isospora vanriperorum*

Isospora vanriperorum (LEVINE, 1982) foi descrita primeiramente por Levine et al. (1980) de *Cardinalis cardinalis* (LINNAEUS, 1758) no Hawai. Duas décadas depois, Lopes et al. (2007) identificaram *I. vanriperorum* no sudeste do Brasil parasitando o *S. similis*. No relato de Lopes et al. (2007) os oocistos foram identificados como subesféricos, medindo 23 x 22 µm. Micrópila e resíduo do oocisto ausentes, mas um grânulo polar presente. Esporocisto ovóide, medindo 16 x 11 µm. Corpo de Stieda prominente, e corpo de sub-Stieda mal discernível. Resíduo do esporocisto centralizado e granular (Figura 14).

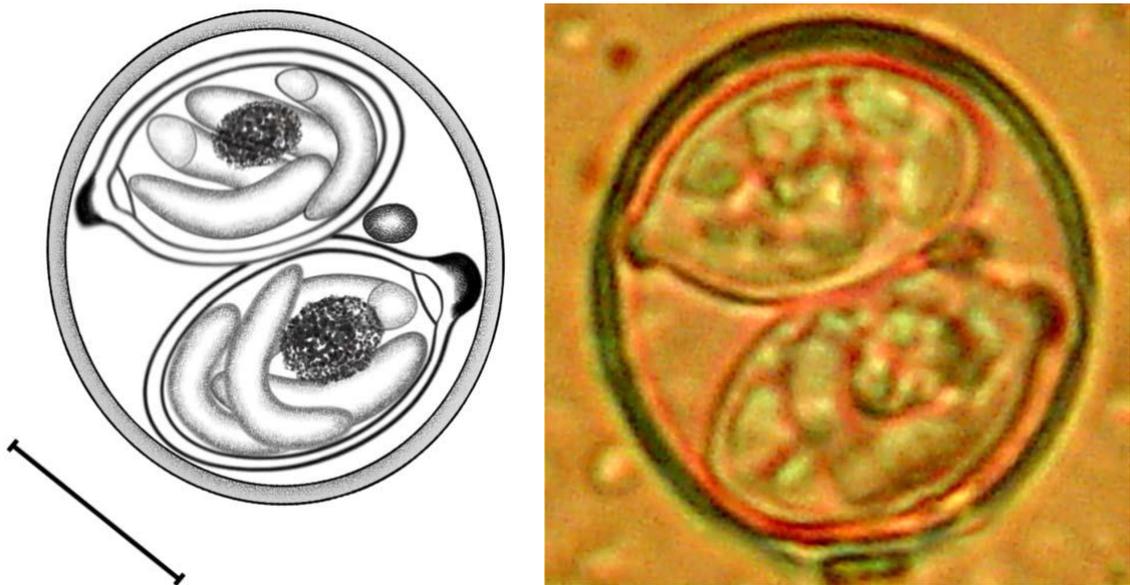


Figura 14. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora vanriperorum* de *Saltator similis*.
Fonte: Lopes et al., 2007.

d) *Isospora saltatori*

Esta espécie foi descrita por Berto et al. (2008) em uma criação de *S. similis* de cativeiro na cidade de Teresópolis, RJ. Das 15 aves examinadas, 13 foram positivas para as espécies descritas como *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008) e *Isospora trincaferri* (BERTO et al, 2008). Os oocistos de *I. saltatori* são subsféricos, medindo 18 x 18 μm . Micrópila, resíduo do oocisto e grânulos polares estão ausentes. Esporocisto ovóide, medindo 13 x 9 μm . Corpo de Stieda pequeno e achatado e corpo de sub-Stieda pequeno. Resíduo do esporocisto formado por uma massa de grânulos. Esporozoíta grande e alongado com corpo refrátil (Figura 15).

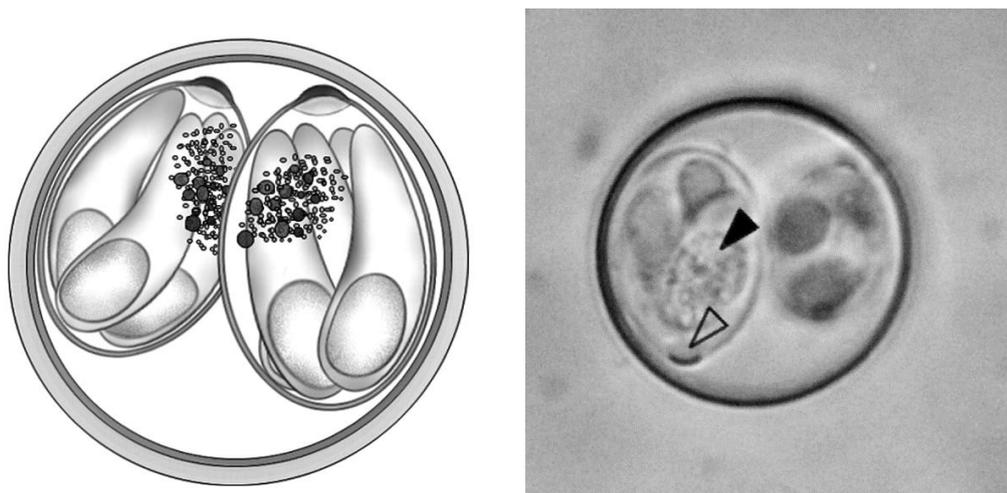


Figura 15. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora saltatori* de *Saltator similis*.
Destaques: Corpo de sub-Stieda (ponta de seta vazia) e resíduo de esporocisto (ponta de seta preenchida). Fonte: Berto et al., 2008.

e) *Isospora trincaferri*

A segunda espécie descrita em Berto et al. (2008), denominada como *I. trincaferri*, em homenagem ao nome em português da espécie, tem oocistos subsféricos a elipsóides, medindo 26 x 24 µm. Micrópila e resíduo do oocisto ausentes, mas um grânulo polar presente. Esporocisto ovóide, medindo 18 x 12 µm. Corpo de Stieda em forma de bolha e corpo de sub-Stieda grande e prominente. Resíduo do esporocisto formado grânulos dispersos. Esporozoíta com corpos refráteis em ambas extremidades (Figura 16).

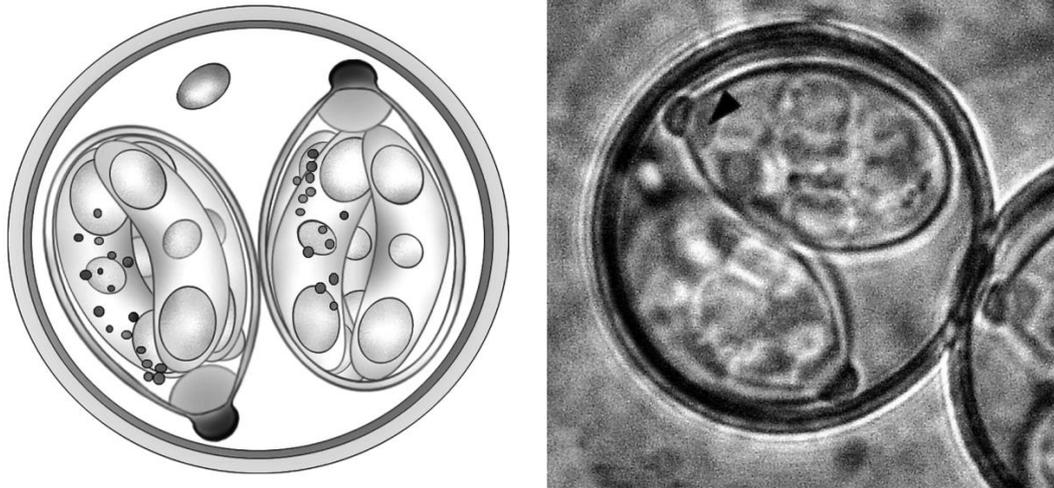


Figura 16. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora trincaferri* de *Saltator similis*. Destaque: Corpo de sub-Stieda (ponta de seta). Fonte: Berto et al., 2008.

f) *Isospora similisi*

Isospora similisi foi descrita por Coelho et al. (2013) em um estudo de eliminação de oocistos por trinca-ferros. Foi analisado um total de 220 amostras fecais de 164 pássaros recuperados do tráfico de animais destinados ao CETAS (Centro de Triagem de Animais Silvestres), localizado no município de Seropédica, RJ. Destas 220 amostras, 73 foram positivas para *Isospora* spp. Foram identificados e descritos os morfotipos *I. vanriperorum*; *I. saltatori*; *I. trincaferri* e o próprio *Isospora similisi* (COELHO et al, 2013). Estes oocistos foram subsféricos, medindo 28 x 26 µm. Micrópila e resíduo do oocisto ausentes, mas grânulos polares em forma de vírgula e estilhaço presentes. Esporocisto elipsoide a levemente ovóide, medindo 17 x 12 µm. Corpo de Stieda em forma de botão e corpo de sub-Stieda grande e homogêneo. Resíduo do esporocisto formado grânulos dispersos. Esporozoíta com um corpo refrátil posterior e um núcleo centralizado (Figura 17).



Figura 17. Desenho e fotomicrografia do oocisto de *Isospora similisi* de *Saltator similis*. Fonte: Coelho et al., 2013.

g) *Isospora ferri*

As últimas duas espécies descritas de Saltatorinae foram *Isospora ferri* (BARRETO et al, 2020) e *Isospora beagai* (BARRETO et al. 2020), as quais foram recuperadas de amostras fecais de trinca-ferros mantidos no CETAS de Belo Horizonte, MG, para recuperação e reintrodução na natureza. Os oocistos de *I. ferri* foram descritos como subsféricos, medindo 20 x 18 μm . Micrópila e resíduo do oocisto ausentes, mas grânulo polar presente. Esporocisto ovóide, medindo 18 x 11 μm . Corpo de Stieda proeminente e em forma de taco. Resíduo do esporocisto compacto (Figura 18).

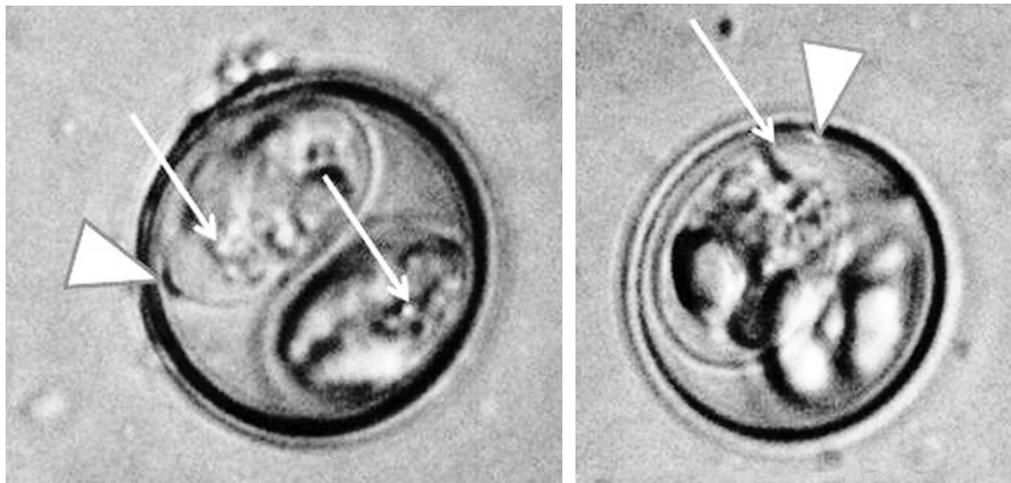


Figura 18. Fotomicrografia do oocisto de *Isospora ferri* de *Saltator similis*. Destaques: Corpo de Stieda (ponta de seta), corpo de sub-Stieda (seta à direita) e resíduo do esporocisto (seta à esquerda). Fonte: Barreto et al., 2020.

h) *Isospora beagai*

A segunda espécie descrita por Barreto et al. (2020) dos trinca-ferros mantidos no CETAS de Belo Horizonte, MG foi a *I. beagai*. Seus oocistos são elipsóides, medindo 28 x 25 µm. Micrópila, resíduo do oocisto e grânulo polar ausentes. Esporocisto elipsoide, medindo 14 x 8 µm. Corpo de Stieda achatado e corpo de sub-Stieda prominente (Figura 19).

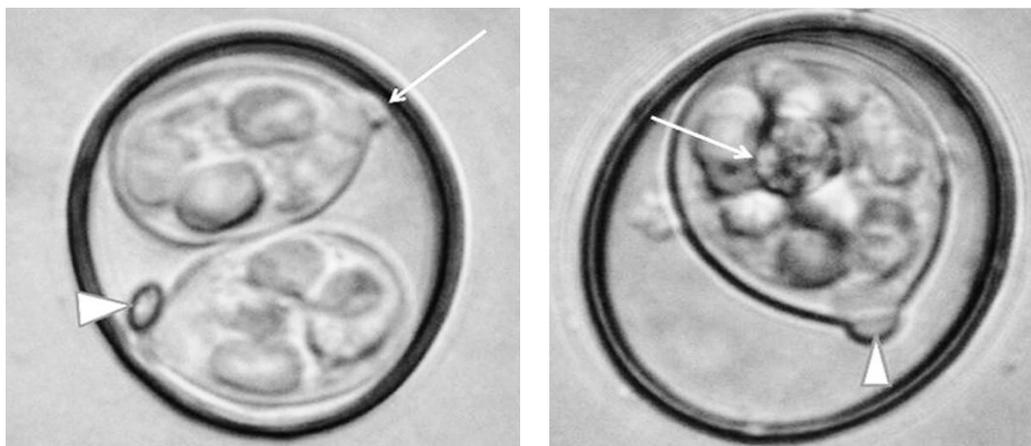


Figura 19. Fotomicrografia do oocisto de *Isospora beagai* de *Saltator similis*. Destaques: Grânulo Polar (ponta de seta à esquerda), Corpo de Stieda (seta à esquerda e ponta de seta à direita) e resíduo do esporocisto (seta à direita). Fonte: Barreto et al., 2020.

2.4 Coccídios como Biomarcadores Ecológicos

As aves silvestres são bioindicadores de um ecossistema, ou seja, a diversidade e distribuição das populações de aves indicam o grau de preservação de um determinado ambiente. Algumas espécies de aves podem ser mais específicas de uma localidade enquanto outras espécies podem ter uma maior distribuição geográfica, sendo assim são consideradas mais generalistas. Alterações no ambiente podem impactar o ecossistema causando a redução da população local, principalmente de espécies especialistas, que são mais suscetíveis a impactos e alterações ambientais em um ecossistema. Fatores como parasitismo, alteração de comportamento e patologias podem ser considerados como biomarcadores da saúde do pássaro, pois são sinais que ocorrem previamente nas aves quando os ambientes são impactados. Desta forma, estes fatores potencialmente indicam que impactos ambientais afetam o nicho ecológico das aves silvestres de forma precoce, ou seja, antes do aumento da morbidade e/ou mortalidade das populações de aves silvestres (BERTO & LOPES, 2020).

Neste contexto os coccídios são biomarcadores ecológicos da saúde do pássaro, pois são os parasitas intestinais mais abundantes em pássaros. Esses cromistas podem parasitar o hospedeiro desde uma infecção assintomática até uma doença severa evoluindo para óbito. A importância do monitoramento da densidade e prevalência dos coccídios, apontam sinais de que a ave está imunossuprimida/estressada por fatores ambientais. Deste modo, entender e monitorar a relação parasita-hospedeiro em áreas de preservação e conservação ambiental fornece segurança para o monitoramento da biodiversidade estudada, ou seja, um aumento da densidade de coccídios em áreas constantemente monitoradas, alerta que impactos ambientais podem estar ameaçando as aves silvestres (BERTO & LOPES, 2020).

Em Unidades de Conservação onde as aves silvestres vivem em ambientes ecologicamente equilibrados, os coccídios parasitam as aves num “quase comensalismo”, ou seja, o parasita causa o mínimo prejuízo ao hospedeiro, pois a imunocompetência da ave garante

a saúde da mesma. Em contrapartida, em aves imunodeprimidas, como naquelas interceptadas do comércio ilegal submetidas a altos níveis de estresse e péssimas condições de manejo, há uma altíssima densidade e prevalência parasitária, além de sinais clínicos severos e óbito pela coccidiose (BERTO & LOPES, 2020).

Um estudo de Giraudeau et al. (2014) avaliou a infecção de coccídios em tentilhões ao longo do gradiente de urbanização no Arizona, EUA. Perceberam que a mudança no uso do solo tem associação com a prevalência e densidade de parasitas. Neste sentido, observou-se que os tentilhões examinados no ambiente com uso do solo para agricultura tiveram sua massa corporal mais pesada e que as aves mais pesadas são também as mais parasitadas. A justificativa para estes resultados foi que a disponibilidade de alimento na paisagem agrícola é mais abundante e talvez mais concentrada que de ambientes naturais. Com relação aos coccídios foi constatado que a prevalência e densidade de oocistos aumentou em relação ao aumento da densidade populacional humana e a diminuição da cobertura vegetal natural do solo, ou seja, o deflorestamento tanto para a agricultura quanto para urbanização, predispôs as aves aos coccídios e coccidioses (GIRAUDEAU et al., 2014).

As aves apreendidas do comércio ilegal em CETAS tem alta prevalência e densidade de oocistos devido ao estresse e maus tratos a que são submetidas. O destino dessas aves sobreviventes geralmente é a reintrodução. Nesse caso, sem o correto diagnóstico das espécies de coccídios nestas aves, estes coccídios podem ser introduzidos, junto de seus hospedeiros, em ambientes livres ou com baixa abundância/densidade desta determinada espécie, alterando a enzootia em uma determinada localidade. As infecções primárias nesta nova localidade podem ser mais agudas e desafiadoras para a imunidade das aves, aumentando a densidade no ambiente e nos hospedeiros podendo causar altas taxas de morbidade e mortalidade das aves (BERTO & LOPES, 2020).

O estudo de Lopes et al. (2013), identificou três espécimes de *S. maximus* parasitadas por oocistos de *I. trincasferri*, originalmente descrito parasitando *S. similis*. As aves do estudo eram oriundas do comércio ilegal de animais silvestres, estavam engaioladas individualmente e eram recém-chegadas no CETAS de Seropédica. Esses dados mostram que o tráfico de animais silvestres é um potencial dispersor de coccídios, evidenciando os riscos da reintrodução de aves silvestres na dispersão e introdução de “novos coccídios” em uma localidade.

Os coccídios, ao atuarem como marcadores biológicos, revelam-se essenciais na avaliação da saúde das aves silvestres e na integridade dos ecossistemas. A variação na prevalência e densidade desses parasitas reflete diretamente nas condições ambientais, com aumento significativo em situações de estresse, como no tráfico ilegal de aves. Monitorar esses parasitas permite identificar precocemente impactos ambientais adversos e implementar medidas de mitigação, assim, os coccídios são uma ferramenta importante para monitoramento do bioindicador e conseqüentemente para a conservação da biodiversidade, além de assegurar a eficácia das estratégias de preservação ambiental. (BERTO & LOPES, 2020).

3. CAPÍTULO I

***ISOSPORA* SPP. (EIMERIIDAE) DE TRINCA-FERROS (*SALTATOR SIMILIS* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) THRAUPIDAE) DE CATIVEIRO PRÓXIMOS À UNIDADE DE CONSERVAÇÃO DO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA**

Capítulo publicado como artigo na Syst Parasitol. Springer Nature.

MARONEZI, C.; OLIVEIRA, M. S.; OLIVEIRA, J. L. G.; MELLO, E. R.; CEPEDA, P. B.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, V. M.; BERTO, B. P. *Isospora* spp (Eimeriidae) from green-winged saltators *Saltator similis* d'Orbigny & Lafresnaye, 1837 (Thraupidae) from captivity near the conservation unit of the Itatiaia National Park in southeastern Brazil. **Syst. Parasitol**, Nov 2022. <https://doi.org/10.1007/s11230-022-10025-9>

3.1 RESUMO

Este capítulo identifica três espécies de *Isospora* registradas em amostras fecais de trincas-ferros-verdadeiros (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) mantidos em cativeiro nos arredores do Parque Nacional de Itatiaia, uma Unidade de Conservação com alto grau de vulnerabilidade localizada na Serra da Mantiqueira, na divisa dos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008), *Isospora trincaferri* (BERTO et al, 2008) e *Isospora similisi* (COELHO et al, 2013) foram compatíveis em todas as características com suas respectivas descrições originais, apesar de algumas divergências discutidas neste estudo. Além da identificação morfológica preliminar, este estudo forneceu uma identificação genotípica preliminar dessas três espécies de *Isospora* por meio do sequenciamento do gene mitocondrial da subunidade 1 da citocromo c oxidase (cox1), que foi adequado para a diferenciação genotípica desses três coccídios, mas inconclusivo na análise filogenética. Por fim, este capítulo discute os riscos ambientais desses coccídios em aves mantidas em cativeiro nos arredores do Parque Nacional de Itatiaia.

Palavras-chave: *Isospora*. Coccídios. *Saltator similis*. Análise filogenética. Riscos ambientais. Parque Nacional de Itatiaia. Serra da Mantiqueira.

3.2 ABSTRACT

This chapter identifies three *Isospora* species recorded from faecal samples of green-winged saltators (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) kept in captivity in the surroundings of the Itatiaia National Park, a Conservation Unit with a high degree of vulnerability located in the Serra da Mantiqueira, on the border of the States of Rio de Janeiro and Minas Gerais. *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008), *Isospora trincaferri* (BERTO et al, 2008), and *Isospora similisi* (COELHO et al, 2013) were compatible in all characteristic features with their respective original descriptions, despite some divergences discussed in this study. In addition to the preliminary morphological identification, this study provided a preliminary genotypic identification of these three *Isospora* species via sequencing of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 gene (cox1), which was suitable for the genotypic differentiation of these three coccidians but inconclusive in the phylogenetic analysis. Finally, this chapter discusses the environmental risks of these coccidians in captive birds in the surroundings of the Itatiaia National Park.

Keywords: *Isospora*. Coccidians. *Saltator similis*. Phylogenetic analysis. Environmental risks. Itatiaia National Park. Serra da Mantiqueira.

3.3 INTRODUÇÃO

O PNI está localizado na Serra da Mantiqueira, abrangendo o território dos municípios de Itatiaia, Resende, Itamonte e Bocaina de Minas nos Estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, com altitudes que variam entre 540m e 2.791m no Pico das Agulhas Negras, ponto mais alto do Estado do Rio de Janeiro e 5º mais alto do Brasil. Este foi o primeiro Parque Nacional do Brasil, constituído em 14 de junho de 1937, como Unidade de Conservação de Proteção Integral (ICMBIO, 2022).

Os trinca-ferros *S. similis* são pássaros da família Thraupidae e subfamília Saltatorinae, que fazem parte da comunidade de aves que ocorre ao redor e dentro do PNI (MAIA-GOUVÊA et al., 2005; BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022). Esta espécie é uma das aves silvestres mais apreciadas no Brasil, principalmente por sua vocalização, sendo considerada um dos pássaros preferidos para reprodução em cativeiro, devido a um contexto cultural estabelecido pelos brasileiros, que mantêm aves canoras silvestres em gaiolas (SICK, 1997). Nesse sentido, os trinca-ferros estão classificados entre os principais pássaros apreendidos do comércio ilegal de animais silvestres por fiscalização ambiental (DESTRO et al., 2012).

O confinamento em que os pássaros são submetidos no tráfico ilegal causam estresse constante que favorece a ocorrência de doenças (MAIA-GOUVÊA et al., 2005; BERTO & LOPES, 2020). Entre as doenças que acometem os pássaros de gaiola estão os distúrbios nutricionais, doenças virais, bacterianas, fúngicas e parasitárias (COELHO et al., 2012); no entanto, as doenças parasitárias são as mais frequentes, podendo variar de subclínicas até mortais (FREITAS et al., 2002). Entre os parasitas de importância em pássaros estão os coccídios, que são protozoários intestinais que podem causar redução no ganho de peso, afetar a reabsorção intestinal de nutrientes, reduzir a fertilidade das aves e até levar à morte, sendo frequentemente observados em amostras fecais (OLIVEIRA et al., 2017).

Nesse contexto, o presente estudo identifica três *Isospora* spp. previamente registradas de *S. similis*, a partir de amostras fecais de trinca-ferros mantidos em gaiolas por criadores no entorno do PNI, registrando novas localidades e destacando a possibilidade de transmissões ocasionais ou mesmo epizooticas em populações de *S. similis* e outros *Saltator* spp. de vida livre no PNI. Adicionalmente, este estudo fornece uma identificação genotípica preliminar destes três *Isospora* spp. via sequenciamento do gene mitocondrial COI.

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

3.4.1. Coleta de amostras

Amostras fecais foram coletadas de oito espécimes de *S. similis* mantidos isolados em gaiolas de cinco diferentes locais de criadores de trinca-ferros localizados próximos do PNI (22°30'S, 44°34'W). O fundo das gaiolas foi previamente coberto com papel absorvente e as fezes coletadas imediatamente após a defecação. As fezes coletadas foram então colocadas em tubos de centrifuga contendo uma solução de dicromato de potássio 2,5% (K₂Cr₂O₇) a 1:6 (v/v). Toda metodologia foi autorizada pela Comissão de Ética CEUA/UFRRJ protocolos IV-036/2014, IB-008/2015 e IV-6606250616 (ANEXOS).

3.4.2. Análises morfológicas

As amostras foram levadas ao Laboratório de Biologia de Coccídios (LABICOC) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). As amostras foram incubadas à temperatura ambiente (25°C) por 10 dias ou até ~70% dos oocistos estarem esporulados. Os oocistos foram isolados por flutuação em solução saturada de açúcar (densidade de 1,20) pelo método de Sheather e examinados microscopicamente usando a técnica descrita por Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2014). As observações morfológicas, desenhos, fotomicrografias e medidas foram feitas usando um microscópio binocular Olympus BX (Olympus Optical, Tóquio, Japão) acoplado a uma câmera digital Eureka 5.0 (BEL Photonics, Monza, Itália). Os desenhos foram desenvolvidos usando os programas de editoração gráfica Corel DRAW® e Corel PHOTO-PAINT (Corel Draw Graphics Suite, Versão 2020, Corel Corporation, Canadá). Todas as medições foram feitas em micrômetros e são dadas como a amplitude de medidas seguida pela média entre parênteses. A regressão linear foi utilizada para determinar a distribuição dos oocistos utilizando métodos propostos por Norton & Joyner (1981) e, posteriormente, modificados por Berto et al. (2014). Os gráficos e o coeficiente de reta de regressão foram obtidos por meio do software Microsoft Excel 2013® (Microsoft, Redmond, Washington).

3.4.3. Análises moleculares

Um oocisto individual de cada amostra fecal de *S. similis* foi isolado a partir de diluições seriadas dos oocistos em gotas em uma lâmina de microscópio usando uma micropipeta estéril. Este oocisto isolado foi ressuspenso em PBS e lavado por centrifugação até que o sobrenadante se tornasse claro (DOLNIK et al., 2009). O DNA foi extraído dos oocistos purificados usando o Qiagen DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, São Paulo, Brasil) de acordo com as instruções do fabricante. A fim de lisar completamente o oocisto, quatro ciclos de congelamento-descongelamento foram aplicados antes da extração de DNA. A amplificação por PCR para o gene COI foi realizada por meio de um nested PCR, conforme descrito anteriormente por Dolnik et al. (2009) e Yang et al. (2015). Os iniciadores externos COIbF1 (5'-GWT CAT TAG TAT GGG CAC ATC A-3') e COIbR1 (5'-CCA AGA GAT AAT ACR AAR TGG AA-3') produziram um produto de PCR de 302 pb de tamanho. Os iniciadores internos COIbF2 (5'-GGG CAC ATC ATA TGA TGA C-3') e COIbR2 (5'-ATA GTA TGT ATC ATG TAR WGC AA-3') produziram um amplicon de 257 pb de tamanho. A reação de PCR continha 12,5µL de GoTaq® G2 Hot Start Colorless Master Mix (Promega Labs) (1X), 0,25µL de cada Primer (0,2µM), 9µL de Nuclease Free Water, 3µL de DNA (para reação primária) ou 3µL de produto de PCR primário (para a reação secundária). Tanto a PCR primária quanto a secundária foram conduzidas usando as mesmas condições de ciclagem: 1 ciclo de 94°C por 5 min, seguido por

35 ciclos de 94°C por 30 s, 47°C por 45 s e 72°C por 1 min e uma extensão final de 72°C por 5 min. Os amplicons da segunda rodada de PCR foram purificados usando o Qiagen MinElute PCR Purification (Qiagen, São Paulo, Brasil).

3.4.4. Análises de sequências de DNA

Todos os produtos de PCR foram sequenciados usando os primers direto e reverso de PCR da Ludwig Biotechnology, onde um analisador genético ABI-Prism 3500 (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia) foi usado para o sequenciamento de Sanger. Os resultados das reações de sequenciamento foram analisados e editados no programa Chromas 2.6. As sequências foram comparadas com outros parasitas coccídios disponíveis no banco de dados do GenBank usando a Ferramenta de Busca de Alinhamento Local Básico (BLAST). Árvores filogenéticas foram construídas para espécies de coccídios nas sequências COI alinhadas com isolados adicionais do GenBank. Análises de distância e filogenias foram realizadas usando o programa de computador MEGA X (KUMAR et al., 2018). Resumidamente, os arquivos de cromatograma de sequenciamento de Sanger foram importados para MEGA X e as sequências de nucleotídeos de cada região gênica foram curadas, analisadas e alinhadas com sequências de referência do GenBank usando Clustal W (<http://www.clustalw.genome.jp>). Árvores de “Maximum likelihood” (ML) e “Neighbor-Joining” (NJ) foram construídas e as distâncias foram calculadas usando o método Tamura-Nei com base na seleção de modelos usando “ModelTest” no MEGA X. As análises de “bootstrap” foram conduzidas usando 1.000 réplicas para avaliar a confiabilidade da árvore.

3.5 RESULTADOS

Oito espécies de *S. similis* foram examinados e sete deles (88%) estavam positivos para coccídios. Três morfotipos distintos foram observados e morfologicamente identificados como *I. saltatori*, *I. trincaferri* e *I. similisi*. As morfologias desses oocistos são especificamente relatadas abaixo:

3.5.1 *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008)

Hospedeiro: *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Aves: Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae) saltador de asas verdes.

Localidade: Cinco criações de trinca-ferros no entorno do PNI (22°30'S, 44°34'W), Sudeste do Brasil.

Espécimes representativos: As fotomicrografias estão depositadas e disponíveis na Coleção de Parasitologia do Laboratório de Biologia de Coccídios, da UFRRJ, sob o repositório número 116/2021 (<http://r1.ufrj.br/labicoc/colecao.html>). Fotografias dos espécimes hospedeiros estão depositados na mesma coleção.

Local de infecção: Desconhecido; oocistos recuperados das fezes. Prevalência: 75% (6/8). Sequência de DNA representativa: As sequências COI representativas foram depositadas no banco de dados do GenBank sob o número de acesso OK631535.

a) Morfologia

Oocistos (n= 56) subesféricos, 16–21 × 16–20 (18,7 × 18,0); índice morfométrico 1,0–1,1 (1,04). Parede bicamada, 1,1–1,7 (1,4) de espessura, camada externa lisa, cerca de 2/3 da espessura total. Micrópila, resíduo de oocisto e grânulo polar ausentes. Esporocistos (n= 56) ovóides a elipsóides, 12–15 × 7–10 (13,6 × 8,5); índice morfométrico 1,4–1,8 (1,61). Corpo de Stieda presente, achatado em forma de meia-lua, 0,4–0,6 × 1,2–1,6 (0,5 × 1,4); corpo de sub-Stieda presente, arredondado, 0,8–1,2 × 1,6–1,8 (1,0 × 1,7); corpo parastieda ausente; resíduo de esporocisto presente, composto por grânulos de diferentes tamanhos ligeiramente agrupados, mas também dispersos entre os esporozoítos. Esporozoítos com corpo refrátil posterior robusto, mas núcleo indiscernível (Figura 20).

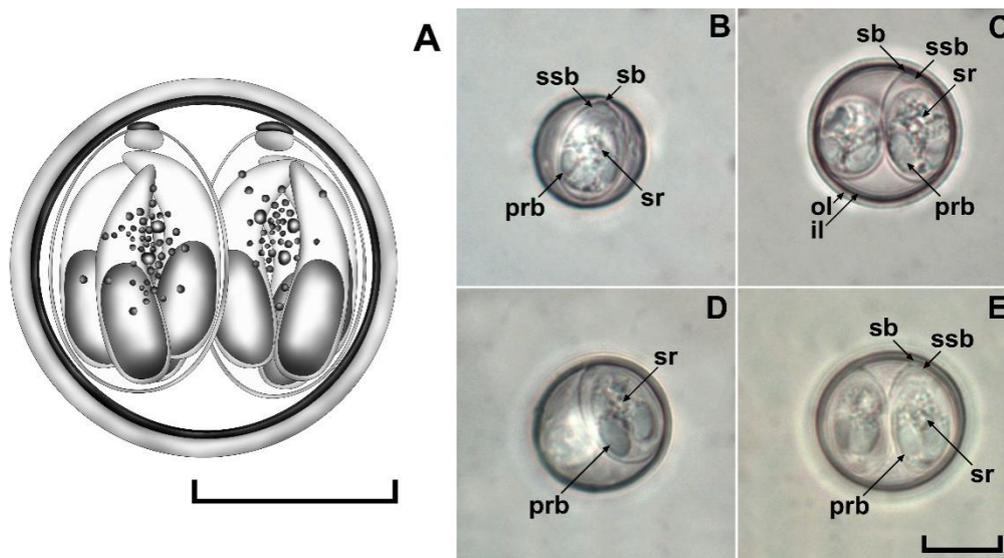


Figura 20. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de *Isospora saltatori* de trinca-ferros *Saltator similis*. Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); e corpo refrátil posterior (prb). Escala: 10 μ m. Fonte: Maronezi et al., 2022.

3.5.2 *Isospora trincaferri* (BERTO et al, 2008)

Hospedeiro: *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Aves: Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae) saltador de asas verdes.

Localidade: Cinco criações de trinca-ferros no entorno do PNI (22°30'S, 44°34'W), Sudeste do Brasil.

Espécimes representativos: As fotomicrografias estão depositadas e disponíveis na Coleção de Parasitologia do Laboratório de Biologia de Coccídios, da UFRRJ, sob o repositório número 117/2021 (<http://r1.ufrj.br/labioc/colecao.html>). Fotografias dos espécimes hospedeiros estão depositados na mesma coleção.

Local de infecção: Desconhecido; oocistos recuperados das fezes. Prevalência: 38% (3/8). Sequência de DNA representativa: As sequências COI representativas foram depositadas no banco de dados do GenBank sob o número de acesso OK631536.

a) Morfologia

Oocistos (n = 44) subsféricos a ovóides, 20–26 \times 19–24 (21,4 \times 19,8); índice morfométrico 1,0–1,2 (1,08). Parede bicamada, 1,2–1,8 (1,6) de espessura, camada externa lisa, cerca de 2/3 da espessura total. Micrópila discreta, sendo observada discretamente em apenas alguns oocistos. Resíduo de oocisto ausente, mas 1–2 (geralmente apenas 1) grânulos polares estão presentes. Esporocistos (n = 44) ovóides a elipsóides, 14–19 \times 8–12 (15,6 \times 9,7); índice morfométrico 1,4–1,9 (1,61). Corpo de Stieda presente, em forma de botão ou forma de bolha, 1,1–1,4 \times 2,0–2,8 (1,3 \times 2,3); corpo de sub-Stieda presente, arredondado a trapezoidal, 1,8–2,5 \times 3,0–3,6 (2,1 \times 3,4); corpo parastieda ausente; resíduo de esporocisto presente, geralmente como um corpo distintamente subsferoidal a elipsoidal consistindo de numerosos grânulos pequenos que parecem ser delimitados por membrana, 5,3–7,4 \times 4,7–5,3 (5,9 \times 5,0). Esporozoítos vermiformes, com corpos refráteis posterior e anterior e núcleo localizado centralmente (Figura 21).

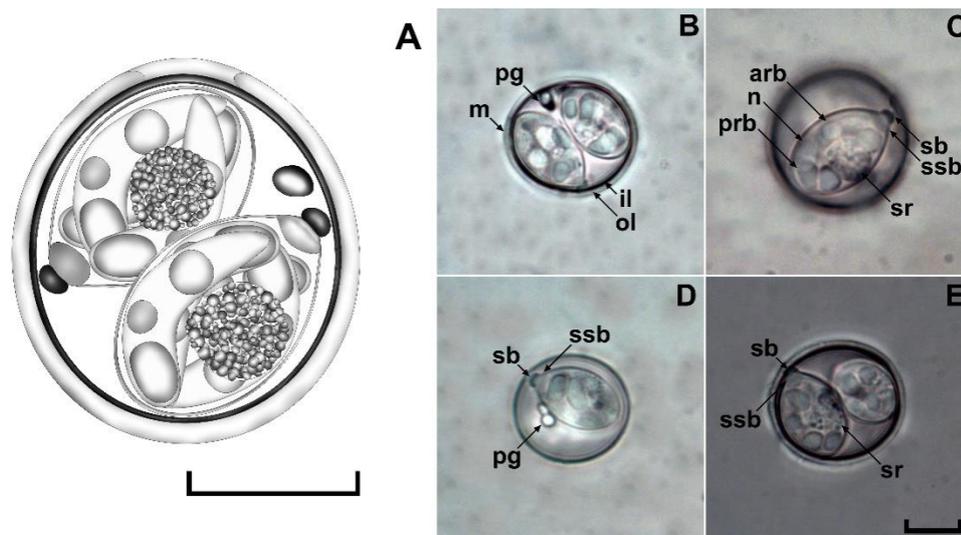


Figura 21. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de *Isospora trincaferri* de trinca-ferros *Saltator similis*. Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; micrópila (m); núcleo (n); grânulo polar (pg); Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); corpos refráteis anterior (arb) e posterior (prb). Escala: 10 μ m. Fonte: Maronezi et al., 2022.

3.5.3 *Isospora similis* (COELHO et al, 2013)

Hospedeiro: *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Aves: Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae) trinca-ferro.

Localidade: Cinco criações de trinca-ferros no entorno do PNI (22°30'S, 44°34'W), Sudeste do Brasil.

Espécimes representativos: As fotomicrografias estão depositadas e disponíveis (<http://r1.ufrj.br/labioc/colecao.html>) na Coleção de Parasitologia do Laboratório de Biologia de Coccídios, da UFRRJ, sob o repositório número 118/2021. Fotografias dos espécimes hospedeiros estão depositados na mesma coleção.

Local de infecção: Desconhecido; oocistos recuperados das fezes. *Prevalência:* 38% (3/8). *Sequência de DNA representativa:* As sequências COI representativas foram depositadas no banco de dados do GenBank sob o número de acesso OK631537.

a) Morfologia

Oocistos (n= 48) subsféricos, 20–26 \times 19–24 (23,3 \times 22,0); índice morfométrico 1,0–1,1 (1,06). Parede bicamada, 1,4–1,8 (1,7) de espessura, camada externa lisa, cerca de 2/3 da espessura total. Micrópila e resíduo de oocisto estão ausentes, mas grânulos polares semelhantes a lascas ou vírgulas estão presentes. Esporocistos (n= 48) ovóides a levemente piriformes, 15–18 \times 10–12 (16,6 \times 11,0); índice morfométrico 1,4–1,7 (1,51). Corpo de Stieda presente, em forma de meia-lua a forma de botão, 0,7–1,6 \times 2,1–2,7 (1,0 \times 2,4); corpo de sub-Stieda presente, arredondado a trapezoidal, 2,3–3,4 \times 3,3–4,8 (2,7 \times 4,1), raramente com variações de densidade assemelhando-se a um corpo de sub-Stieda compartimentado; corpo parastieda ausente; resíduo de esporocisto presente, composto por esférulas de diferentes tamanhos. Esporozoítos vermiformes, com corpo refrátil posterior e núcleo localizado centralmente (Figura 22).

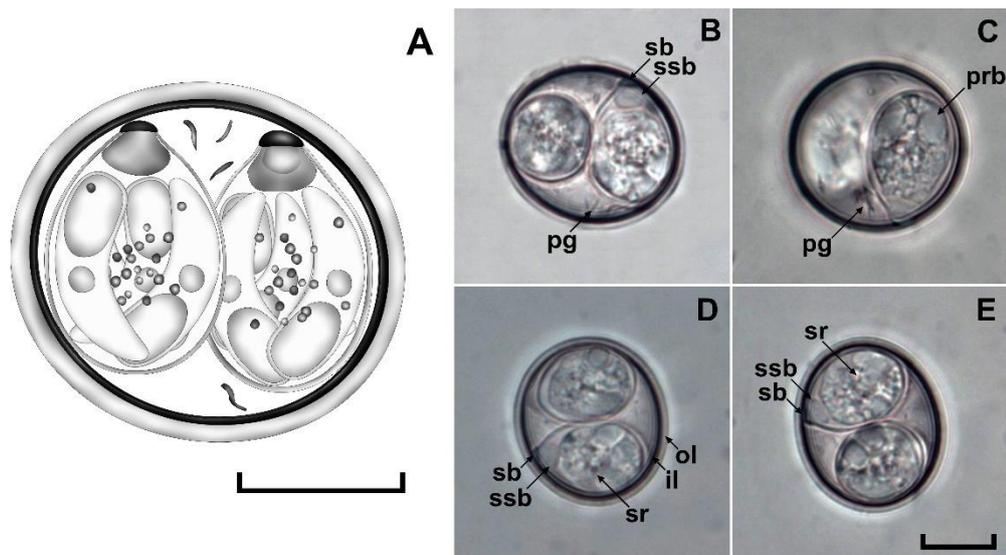


Figura 22. Desenho (A) e fotomicrografias (B–E) de oocistos esporulados de *Isospora similis* de trinca-ferros *Saltator similis*. Destaques: Camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; grânulos polares (pg); Corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo de esporocisto (sr); corpo refrátil posterior (prb). Escala: 10 µm. Fonte: Maronezi et al., 2022.

3.5.4 Análise filogenética

A amplificação do DNA do oocisto de *I. saltatori*, *I. trincaferri* e *I. similis* mostrou bandas claras de cerca de 250 pb. A análise filogenética incluiu 31 sequências para *Isospora* spp. disponíveis no GenBank (Figura 23). *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) foi usado como grupo externo. As três *Isospora* spp. do presente estudo apresentaram sequências COI diferentes entre si: *I. saltatori* foi 91% semelhante com *I. trincaferri* e 93% com *I. similis*; e *I. trincaferri* foi 97% semelhante a *I. similis*. Estas *Isospora* spp. de *S. similis* ficaram separadas umas das outras na análise filogenética, em clados contendo *Isospora* spp. de pássaros neotropicais, mas também de pássaros do Velho Mundo e da Oceania. *Isospora trincaferri* e *I. similis* têm as maiores semelhanças de 97% com *Isospora serinuse* (YANG et al, 2015) e *Serinus canaria* (LINNAEUS, 1758); enquanto *I. saltatori* apresentou a maior similaridade de 94% com *Isospora manorinae* (YANG et al, 2016) da mineradora *Manorina flavigula* (GOULD, 1840).

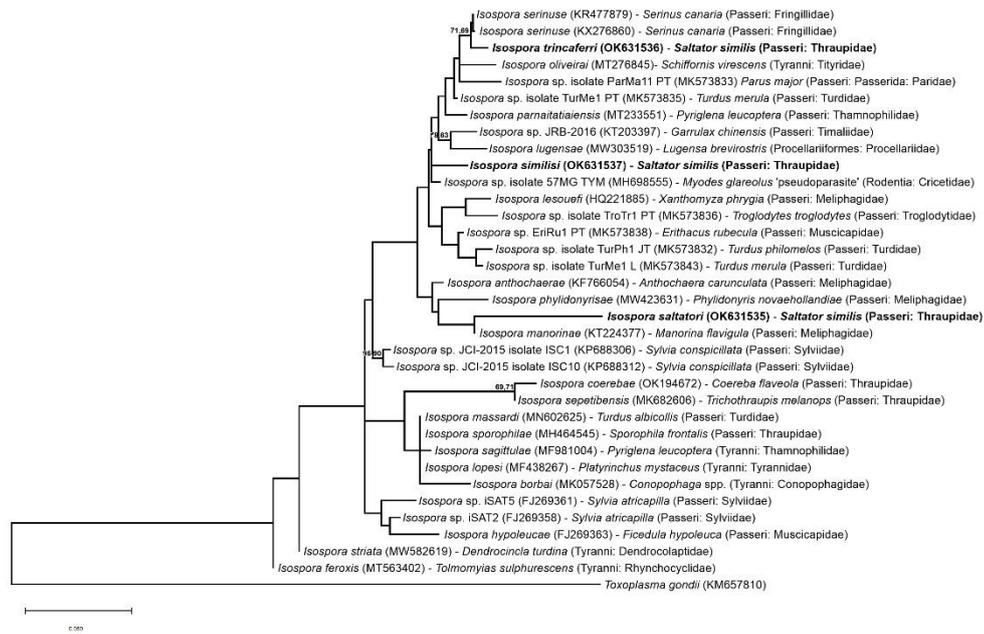


Figura 23. Árvore de "Maximum likelihood" estimada a partir das sequências COI. Os números nos nós representam o suporte de "bootstrap" (1.000 réplicas; somente valores > 50% mostrados) para "Neighbor-Joining" e "Maximum Likelihood", respectivamente. A escala representa o número de substituições de nucleotídeos por sítio. Fonte: Maronezi et al., 2022.

3.6 DISCUSSÃO

As três *Isospora* spp. relatadas no presente estudo foram compatíveis em todas as características morfológicas com suas respectivas descrições originais, apesar da grande variação morfométrica observada nos oocistos das amostras deste estudo, bem como na comparação com a morfometria das descrições originais e/ou anteriores (Tabela 1).

Isospora saltatori apresentou a menor amplitude morfométrica e a maior similaridade com relatos anteriores. No entanto, vale ressaltar que, em Barreto et al. (2020), oocistos morfologicamente identificáveis como *I. saltatori*, obtidos de trinca-ferros de um centro de reabilitação no sudeste do Brasil, foram descritos como *Isospora ferri* (BARRETO et al., 2020). As medidas e fotomicrografias apresentadas neste trabalho são totalmente compatíveis com *I. saltatori*, principalmente devido aos robustos corpos refráteis posteriores dos esporozoítos, que são típicos da espécie. Além disso, esses autores não detalharam as diferenças que justificariam uma nova espécie e não apresentaram um desenho.

Isospora trincaferri é a espécie com mais relatos desde sua descrição original, incluindo mais de um hospedeiro: O tempera-viola *S. maximus*. Entretanto, mesmo antes da descrição original desta espécie, seus oocistos já haviam sido observados, uma vez que o relato de *I. vanriperorum* é indicado neste estudo como um erro de identificação. A fotomicrografia e o desenho apresentados em Lopes et al. (2007) são morfologicamente compatíveis com *I. trincaferri* e, principalmente, a identificação de *I. vanriperorum* de *S. similis* no Brasil é bastante improvável por duas razões: (1) *I. vanriperorum* foi descrita de *Cardinalis cardinalis* Linnaeus nos EUA, portanto este coccídio é registrado na família hospedeira Cardinalidae, que é distinta da família Thraupidae (Saltatorinae) (vale ressaltar que *S. similis* foi classificado como Cardinalidae em 2007); e (2) *C. cardinalis* tem distribuição geográfica restrita à América do Norte em contraste com *Saltator* spp. que são estritamente neotropicais, portanto, as transmissões de *C. cardinalis* para *S. similis* são improváveis, mesmo considerando introduções por tráfico ilegal ou para criação comercial legalizada.

A morfometria de *I. trincaferri* teve ampla variação, não só observando os oocistos das amostras deste estudo, mas também em relação às medidas dos demais estudos (Tabela 1). Esta ampla gama de medidas deve ser um fator inerente à espécie de coccídios, mas também pode resultar de fatores ambientais associados ao estresse, imunossupressão, etc. (BERTO & LOPES, 2020). De fato, a maioria dos relatos de coccídios de *S. similis* foram feitos de aves de gaiola e/ou aves recentemente recuperadas do tráfico ilegal, portanto aves submetidas a fatores ambientais que sabidamente influenciam na morfologia dos oocistos (BERTO & LOPES, 2020). Ressalta-se também que certos antibióticos e/ou medicamentos coccidiostáticos frequentemente utilizados pelos criadores de aves interferem no processo de esporogonia, resultando na formação de oocistos morfologicamente e morfometricamente alterados e/ou mutantes (LI et al., 2010). Nesse contexto, Barreto et al. (2020) identificaram erroneamente *I. trincaferri* e descreveram uma nova espécie, *I. beagai*, a partir de oocistos potencialmente alterados, mas que são identificáveis como *I. trincaferri* pelas fotomicrografias apresentadas. Dentre essas fotomicrografias observa-se um oocisto mutante com apenas um esporocisto, que é uma mutação comumente associada a aves tratadas com certas drogas e que também pode ter sido a causa das maiores medidas de oocistos por Barreto et al. (2020) (Tabela 1).

Tabela 1. Morfologia comparativa de *Isospora* spp. registradas de *Saltator* spp. (Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae).

Espécies	Hospedeiro	Referência	Oocisto						Esporcocisto					
			Forma	Tamanho (µm)	Índice morfométrico	Grânulo polar	Parede	Micrópila	Forma	Tamanho (µm)	Índice morfométrico	Corpo de Stieda	Corpo de sub-Stieda	Resíduo
<i>Isospora pityli</i> McQuiston, Capparella, 1992	<i>Saltator grossus</i> (Linnaeus)	McQuiston & Capparella (1992)	subesférico	20–21 × 17–20 (20,1 × 18,8)	1,0–1,2 (1,07)	ausente	lisa, (1,5)	ausente	ovóide	12–17 × 8–11 (14,7 × 9,4)	1,3–1,7 (1,57)	pequeno, mamiliforme	ausente	aglomerado amorfo de grânulos, 4,0–5,0
<i>Isospora formarum</i> McQuiston, Capparella, 1992	<i>Saltator grossus</i> (Linnaeus)	McQuiston & Capparella (1992)	subesférico	21–27 × 20–25 (24,6 × 23,5)	1,0–1,1 (1,05)	ausente	lisa, (1,5)	ausente	ovóide	14–17 × 10–13 (15,7 × 11,3)	1,2–1,5 (1,4)	pequeno, mamiliforme	triangular ou cônica grande, com borda inferior irregular	grande, quase esférico, composto de grânulos finos e uniformes, (7,0)
<i>Isospora saltatori</i> Berto et al, 2008	<i>Saltator similis</i> d'Orbigny & Lafresnaye	Berto et al. (2008)	subesférico	17–20 × 16–20 (18,3 × 17,9)	1,0–1,1 (1,0)	ausente	lisa, 1,0–1,2 (1,1)	ausente	ovóide	12–15 × 8–10 (13,4 × 8,9)	1,4–1,7 (1,5)	pequeno, achatado, (0,5 × 1,5)	pequeno, (0,7 × 1,8)	massa de grânulos
	<i>S. similis</i>	Barreto et al. (2020) ¹	subesférico	16–22 × 15–22 (20 × 18)	1,0–1,2 (1,0)	ausente	lisa, (1,0)	ausente	ovóide	12–20 × 7–11 (14 × 8)	1,3–2,5 (1,6)	achatado, (1,0 × 2,0)	prominente, (2,0 × 3,0)	difuso
	<i>S. similis</i>	presente estudo	subesférico	16–21 × 16–20 (18,7 × 18,0)	1,0–1,1 (1,04)	ausente	lisa, 1,1–1,7 (1,4)	ausente	ovóide a elipsóide	12–15 × 7–10 (13,6 × 8,5)	1,4–1,8 (1,61)	achatado a forma de meia-lua, 0,4–0,6 × 1,2–1,6 (0,5 × 1,4)	arredondado, 0,8–1,2 × 1,6–1,8 (1,0 × 1,7)	grânulos ligeiramente agrupados e dispersos
<i>Isospora trincaferri</i> Berto et al, 2008	<i>S. similis</i>	Lopes et al. (2007) ²	subesférico	19–26 × 18–26 (23,1 × 22,4)	(1,04)	presente, 1	lisa	ausente	ovóide	14–20 × 8–13 (16,3 × 10,8)	(1,53)	prominente	mal discernível	centrado e granuloso
	<i>S. similis</i>	Berto et al. (2008)	subesférico a elipsóide	24–29 × 22–25 (26,2 × 23,6)	1,0–1,2 (1,1)	presente, 1	lisa, 1,0–1,3 (1,2)	ausente	ovóide	17–18 × 10–13 (17,5 × 11,5)	1,3–1,6 (1,5)	forma de bolha, (1,7 × 2,7)	grande e prominente, (2,8 × 4,2)	grânulos dispersos
	<i>Saltator maximus</i> Müller	Lopes et al. (2013)	subesférico a elipsóide	24–27 × 23–26 (25,0 × 24,0)	1,0–1,1 (1,04)	presente, 1–2	lisa, (1,2)	ausente	ovóide	17–20 × 10–12 (18,4 × 11,4)	1,6–1,7 (1,62)	forma de bolha, (1,5 × 2,5)	grande e arredondado, (2,5 × 3,5)	grânulos dispersos ou agrupados

Continua...

Continuação da Tabela 1.

Espécies	Hospedeiro	Referncia	Oocisto						Esporocisto					
			Forma	Tamanho (µm)	Índice morfométrico	Grânulo polar	Pare de	Micrópila	Forma	Tamanho (µm)	Índice morfométrico	Corpo de Stieda	Corpo de sub-Stieda	Resíduo
	<i>Saltator maximus</i> Müller	Lopes et al. (2013)	subesférico a elipsóide	24–27 × 23–26 (25,0 × 24,0)	1,0–1,1 (1,04)	presente, 1–2	lisa, (1,2)	ausente	ovóide	17–20 × 10–12 (18,4 × 11,4)	1,6–1,7 (1,62)	forma de bolha, (1,5 × 2,5)	grande e arredondado, (2,5 × 3,5)	grânulos dispersos ou agrupados
	<i>S. similis</i>	Barreto et al. (2020) ³	ovóide	17–32 × 16–29 (28,0 × 25,0)	1,0–1,5 (1,1)	presente	lisa, (1,0)	ausente	ovóide	12–23 × 9–15 (18,0 × 11,0)	1,2–2,2 (1,5)	forma de bolha, forma de bolha, (2,0 × 3,0)	não relatado	compacto
	<i>S. similis</i>	presente estudo	subesférico a elipsóide a ovóide	20–26 × 19–24 (21,4 × 19,8)	1,0–1,2 (1,08)	presente, 1–2 (usualmente 1)	lisa, 1,2–1,8 (1,6)	inconspícua	ovóide a elipsóide	14–19 × 8–12 (15,6 × 9,7)	1,4–1,9 (1,61)	forma de botão a bolha, 1,1–1,4 × 2,0–2,8 (1,3 × 2,3)	arredondado a trapezoidal, 1,8–2,5 × 3,0–3,6 (2,1 × 3,4)	pequenos grânulos delimitados por membrana, 5,3–7,4 × 4,7–5,3 (5,9 × 5,0)
<i>Isoospora similis</i> Coelho et al, 2013	<i>S. similis</i>	Coelho et al. (2013)	subesférico	26–29 × 24–28 (27,5 × 25,9)	1,0–1,1 (1,1)	presente, grânulos semelhantes a lascas ou vírgulas	lisa, 1,1–1,3 (1,2)	ausente	elipsóide ou levemente ovóide	15–19 × 11–13 (17,4 × 12,2)	1,2–1,7 (1,4)	forma de botão, (1,4 × 2,6)	grande, (2,6 × 4,5)	grânulos de tamanhos diferentes
	<i>S. similis</i>	presente estudo	subesférico	20–26 × 19–24 (23,3 × 22,0)	1,0–1,1 (1,06)	presente, grânulos semelhantes a lascas ou vírgulas	lisa, 1,4–1,8 (1,7)	ausente	ovóide a levemente piriforme	15–18 × 10–12 (16,6 × 11,0)	1,4–1,7 (1,51)	forma de meia-lua a forma de botão, 0,7–1,6 × 2,1–2,7 (1,0 × 2,4)	arredondado a trapezoidal, às vezes heterogêneo, 2,3–3,4 × 3,3–4,8 (2,7 × 4,1)	esferas de tamanhos diferentes

¹Originalmente identificada como *Isoospora ferri* Barreto, Vilela, Hour, Lara, Torres, Silva, Castro-Filho, Costa & Martins, 2020; ²Originalmente identificada como *Isoospora vanriperorum* (LEVINE, 1982); ³Originalmente identificada como *Isoospora beagai* Barreto, Vilela, Hour, Lara, Torres, Silva, Castro-Filho, Costa & Martins, 2020.

Os oocistos de *I. similisi* identificados nas amostras deste estudo apresentavam todas as características da descrição original de Coelho et al. (2013), que são bastante típicos, principalmente em relação a grânulos polares do tipo lasca ou vírgula. No entanto, eles eram menores que os da descrição original, confirmando as afirmações de Berto e Lopes (2020), de que quanto mais estressadas/imunossuprimidas as aves hospedeiras estiverem, há uma tendência de seus oocistos serem eliminados em maior número e tamanho. Considerando que os oocistos na descrição de Coelho et al. (2013) foram provenientes de trinca-ferros recentemente recuperados do tráfico ilegal, conclui-se que deveriam estar mais estressados/imunossuprimidos liberando mais e maiores oocistos em comparação com os obtidos dos criadores de trinca-ferros deste estudo, que apesar de estarem em gaiolas, foram mais bem tratados do que os sujeitos ao comércio ilegal.

Sob outro ponto de vista, apesar das amplas gamas de medidas de oocistos das três espécies identificadas neste estudo, esses coccídios foram uniformes na distribuição das larguras sobre os comprimentos de seus oocistos, que foram avaliados por regressão linear obtendo valores de R^2 (coeficiente de determinação) superiores a 0,5 (Figura 24) (BERTO et al. 2014). Adicionalmente, pode-se inferir que os oocistos e esporocistos de *I. trincaferri* e *I. similisi* não são diferenciados por seus tamanhos, pois há proximidade de suas retas de regressão, ao contrário dos oocistos e esporocistos de *I. saltatori* que são menores, portanto, as retas de regressão estão abaixo e à esquerda no gráfico da Figura 24. A reta de regressão menos inclinada de *I. trincaferri* também pode ser destacada, que coincide com seus oocistos ovóides, ou seja, mais longos que os de *I. similisi* e *I. saltatori* (Figura 24) (BERTO et al. 2014).

Algumas características foram atualizadas e/ou detalhadas nos relatos de *I. trincaferri* e *I. similisi* no presente estudo, que não foram mencionadas em estudos anteriores devido à falha de observação ou ao menor número de oocistos observados. Destaca-se na descrição de *I. trincaferri* a inclusão de uma micrópila inconspícua em alguns oocistos e, em *I. similisi*, a observação de oocistos com corpos sub-Stieda heterogêneos, ou seja, com densidades diferentes, assemelhando-se a um corpo de sub-Stieda compartimentado. Essas inclusões não são essenciais para a identificação dessas espécies, mas fornecem mais detalhes para suas descrições.

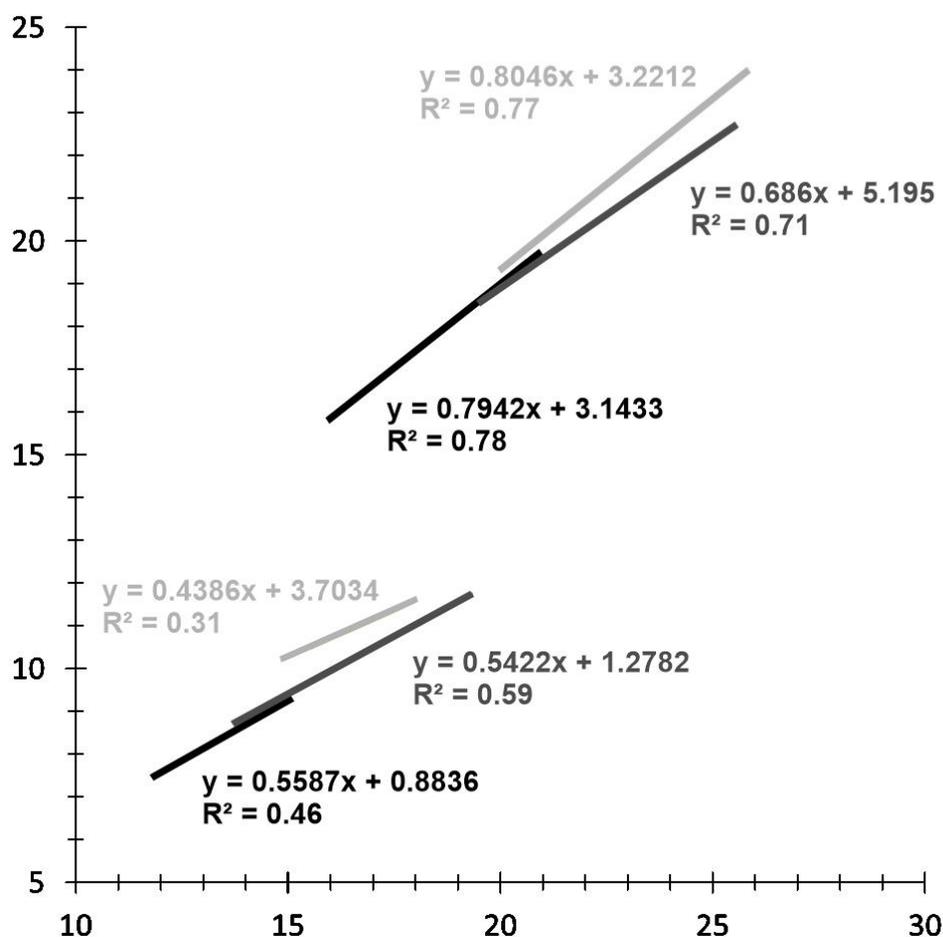


Figura 24 Regressões lineares comparativas de oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de *Isospora saltatori* (preto), *Isospora trincaferri* (cinza escuro) e *Isospora similisi* (cinza claro) recuperados de trinca-ferros *Saltator similis*. Fonte: Maronezi et al., 2022.

Isospora pityli e *I. formarum* McQuiston, Capparella, 1992 foram descritos de bicos-encarnados *S. grossus* à leste (cis-andina) e oeste (trans-andina) da Cordilheira dos Andes no Equador (MCQUISTION; CAPPARELLA, 1992). *Saltator similis* não é simpátrico com *S. grossus*, tornando improvável a transmissão direta de coccídios entre esses Saltatorinae, embora o tempera-viola *S. maximus* tenha uma ampla distribuição geográfica no Brasil central e seja simpátrico com *S. similis* e *S. grossus* (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022). Esta informação é relevante, pois *I. pityli* é semelhante a *I. saltatori*, assim como *I. formarum* é semelhante a *I. similisi*, e desde que a recente classificação de passeriformes reclassificou *Pitylus grossus* (Linnaeus) (sinonímia de *S. grossus* e anteriormente classificado na família Emberizidae) no gênero *Saltator* e a subfamília Saltatorinae na família Thraupidae foi estabelecida (PACHECO et al., 2021), essas espécies de coccídios de *S. grossus* foram aproximadas aos coccídios de *S. similis*. Com exceção de alguns detalhes morfológicos, como os grânulos polares em forma de lasca ou em forma de vírgula de *I. similisi* e a presença de sub-Stieda em *I. saltatori*, essas espécies são morfológicas e morfometricamente compatíveis (Tabela 1). Assim, *I. saltatori* se tornaria sinonímia júnior de *I. pityli* e *I. similisi* uma sinonímia júnior de *I. formarum*. No entanto, devido à alopatría entre *S. similis* e *S. grossus*, essas pequenas diferenças morfológicas dos oocistos e o fato de *I. saltatori* e *I. similisi* terem sido identificados apenas de *S. similis* até agora, tornam o estabelecimento de *I. saltatori* e *I. similisi* como sinonímias de *I. pityli* e *I. formarum* precoce e imprudente, pelo menos com os dados atualmente disponíveis.

O sequenciamento das três *Isospora* spp. do presente estudo foi adequado para a identificação e diferenciação molecular entre elas e as demais *Isospora* spp. previamente sequenciadas e depositadas no GenBank para esta mesma região gênica do COI. A análise filogenética, por sua vez, não foi conclusiva na determinação de grupos monofiléticos associados a hospedeiros, regiões zoogeográficas, tipos morfológicos, etc. como já observado por outros autores (OLIVEIRA et al. 2021). De fato, essa região gênica de ~250pb do gene COI é facilmente amplificada a partir de oocistos individuais e, portanto, frequentemente utilizada desde o estudo pioneiro de Dolnik et al. (2009), além de ser indicado como o gene do “Código de Barras da Vida” (OGEDENGBE et al. 2011); entretanto, quanto mais *Isospora* spp. são sequenciadas para esta região gênica, mais sua inadequação para conclusões filogenéticas é observada. De qualquer forma, a análise filogenética para estes *Isospora* spp. é apresentada neste estudo para apoiar essas conclusões e, possivelmente, orientar a futura escolha de outras regiões gênicas para o estudo filogenético de *Isospora* spp. de passeriformes.

A criação de trinca-ferro próximo à Unidade de Conservação do PNI é uma atividade perigosa do ponto de vista ambiental, pois seus coccídios parasitas podem ser transmitidos para *S. similis* e outros *Saltator* spp. suscetíveis no Parque. A transmissão para outros *Saltator* spp. seria possível de acordo com o relato de *I. trincaferri* de *S. maximus*; além disso, devido ao conceito amplamente aceito de especificidade em nível de família hospedeira (DUSZYNSKI & WILBER, 1997; BERTO et al. 2011), outros traupídeos, além de *Saltator* spp., também podem ser suscetíveis. Além disso, como em aves de gaiola a densidade de coccídios é potencialmente maior do que em aves na natureza, transmissões subsequentes de um número maior de oocistos do cativado para a natureza poderiam aumentar a população componente de oocistos em determinadas localidades e, conseqüentemente, aumentar a suprapopulação de coccídios no PNI, o que pode levar a epizootias de coccidiose dependendo da espécie e imunidade dos pássaros (BUSH et al. 1997; BERTO & LOPES, 2020).

Nesse contexto, existem 18 *Saltator* spp., todas Neotropicais, das quais 9 ocorrem no Brasil (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022). No PNI são observadas três espécies: (1) o trinca-ferro *S. similis*; (2) o bico-grosso *S. maxillosus* e (3) o bico-de-pimenta *S. fuliginosus* (RIBENBOIM, 2017). Dessas três espécies, *S. similis* é mais comumente observada na Parte Alta do PNI, mas também na Parte Baixa e no entorno do Parque; portanto, é a espécie mais suscetível a se aproximar e se infectar em cativados no entorno do PNI (MAIA-GOUVÊA et al., 2005; RIBENBOIM, 2017). *Saltator fuliginosus* e *S. maxillosus* são, respectivamente, pouco vistos e difíceis de observar no PNI (MAIA-GOUVÊA et al., 2005; RIBENBOIM, 2017). Nesse sentido, *S. fuliginosus* e *S. maxillosus*, que são mais restritos no PNI, possuem alta dependência florestal (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022) e são potencialmente suscetíveis as *Isospora* spp. de *S. similis*, são provavelmente as espécies mais ameaçadas a essa possível transmissão e dispersão de coccídios de *S. similis* do cativado para o ambiente silvestre do PNI.

3.7 CONCLUSÃO

Com base nas características morfológicas e moleculares descritas neste estudo, as espécies *I. saltatori*, *I. trincaferri* e *I. similisi* foram identificadas em cinco criações de *Saltator similis* no entorno do Parque Nacional do Itatiaia. A análise confirmou a consistência com as descrições originais, apesar das variações morfométricas observadas, relacionadas ao manejo e condições ambientais dos cativeiros. Esses achados ressaltam os riscos associados à criação dessas aves próximas ao PNI, incluindo a potencial transmissão de coccídios para *Saltator* spp. silvestres e outros traupídeos neotropicais. A introdução de parasitas do cativeiro no ambiente natural pode levar ao aumento da densidade parasitária, ampliando as chances de epizootias que comprometem a saúde e a conservação das espécies, especialmente as mais restritas e dependentes do habitat florestal no PNI.

4. CAPÍTULO II

COCCIDIOSE EM TRINCA-FERRO DE VIDA LIVRE (*SALTATOR SIMILIS* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA

Capítulo publicado como artigo na Revista Pesquisa Veterinária Brasileira. 2024.
MARONEZI, C.; ORTÚZAR-FERREIRA, C. N.; ANDRADE, L. A. S.; CARUNCHO, C. M. S.; OLIVEIRA, M. S.; BERTO, B. P. Reporto of coccidiosis in a free-living green-winged saltator *Saltator similis* in Itatiaia National Park in southeastern Brazil. **Pesq, Vet. Bras.** 44:e07451, April 2024. DOI: 10.1590/1678-5150-PVB-7451.

4.1 RESUMO

O trinca-ferro (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) é um pássaro muito valorizado por criadores de aves e pelo tráfico ilegal de animais silvestres. Os cromistas coccídios são agentes etiológicos da coccidiose, a qual pode ser assintomática e enzoótica em populações de aves quando as condições ambientais são favoráveis, mas surtos epizoóticos com doença grave podem ocorrer como resultado de mudanças ambientais. Nesse contexto, este artigo relata um caso de coccidiose em um espécime juvenil de vida livre de *S. similis* capturado no Parque Nacional de Itatiaia, no sudeste do Brasil. Foram observados sinais clínicos típicos de coccidiose, associados a diarreia mucóide esverdeada contendo alta densidade de oocistos. Três *Isospora* spp. foram especificamente identificadas em 14 defecações coletadas durante um período de duas horas. *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008) foi a espécie com maior densidade e positividade durante a maior parte do período de coleta. Por fim, este artigo discute a importância da avaliação contínua da saúde das aves como bioindicadores, e de seus biomarcadores ecológicos coccídios, como uma das estratégias para avaliação do estado de conservação do Parque Nacional de Itatiaia.

Palavras-chave: Trinca-ferro. *Saltator similis*. Conservação. Isosporose. Oocistos. Parque Nacional do Itatiaia.

4.2 ABSTRACT

The green-winged saltator (*Saltator similis* D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) is a bird highly valued by bird breeders and targeted by the illegal wildlife trade. Coccidian chromists are etiological agents of coccidiosis, which can be asymptomatic and enzootic in bird populations under favorable environmental conditions, but epizootic outbreaks with severe disease can occur as a result of environmental changes. In this context, this article reports a case of coccidiosis in a free-living juvenile specimen of *S. similis* captured in the Itatiaia National Park, southeastern Brazil. Clinical signs typical of coccidiosis were observed, including greenish mucoid diarrhea containing a high density of oocysts. Three *Isospora* spp. were specifically identified in 14 droppings collected over a two-hour period. *Isospora saltatori* (BERTO et al, 2008) was the species with the highest density and positivity during most of the collection period. Finally, this article discusses the importance of continuous health assessment of birds as bioindicators, and their ecological biomarkers (coccidians), as one of the strategies for assessing the conservation status of the Itatiaia National Park.

Keywords: Green-winged saltator. *Saltator similis*. Conservation. Isosporiasis. Oocysts. Itatiaia National Park.

4.3 INTRODUÇÃO

Coccidiose é uma das doenças parasitárias mais comuns que afetam animais domésticos e silvestres. É uma doença cosmopolita e prevalente em diversos ecossistemas ou sistemas de produção animal, sendo relatada em uma ampla gama de hospedeiros de todos os grupos de vertebrados (DUSZYNSKI, 2021).

Os coccídios, os agentes etiológicos da coccidiose, são cromistas parasitas intracelulares obrigatórios que podem causar intenso parasitismo intestinal (e possivelmente extraintestinal) em seus hospedeiros (BOX et al., 1981; RUGGIERO et al., 2015). O principal sinal clínico da coccidiose é a diarreia, que pode ser acompanhada secundariamente por desidratação, prostração e caquexia (ATKINSON et al., 2008).

Nas aves passeriformes, esta doença é causada principalmente por coccídios do gênero *Isospora Schneider*, 1881, razão pela qual também é conhecida como isosporose (ATKINSON et al., 2008; BERTO et al., 2011).

O trinca-ferro (*S. similis*) é uma ave da ordem Passeriformes, família Thraupidae e subfamília Saltatorinae, que possui ampla distribuição geográfica nas regiões tropicais e subtropicais do da América do Sul (BIRDLIFE INTERNACIONAL, 2022). Esta espécie possui um canto melodioso, sendo por isso muito valorizada pelos criadores de aves e alvo do tráfico ilegal de vida selvagem (LOPES et al., 2013; MARONEZI et al., 2022). Nesse contexto, o objetivo deste capítulo foi relatar um caso de coccidiose em um espécime de vida livre de *S. similis* capturado no PNI, Unidade de Conservação Federal de alta relevância ecológica no sudeste do Brasil.

4.4 MATERIAL E MÉTODOS

4.4.1 Coleta de amostras

De 1º até 3 de julho de 2022 foi realizada uma expedição ao PNI, especificamente ao longo do 5º km da Travessia Ruy Braga (22°25'39,9"S; 44°37'49,4"W; altitude 1.378m), que é uma trilha de 21 km que vai da Parte Baixa até a Parte Alta do Parque, com altitude cerca de 1.400m. O objetivo desta expedição foi capturar aves silvestres com redes de neblina, avaliá-las, anilha-las e coletar amostras fecais. Apenas um trinca-ferro *S. similis* foi capturado. Este espécime foi anilhado no tarso com um anel de metal numerado 'F61663' fornecido pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres do Brasil (CEMAVE), fotografado, medido, avaliado, e suas características biométricas (comprimento e massa total), biológicas (sexo, dados clínicos, muda, teor de gordura acumulada e placa de incubação) e ecológicos (presença de ectoparasitas como carrapatos, piolhos, ácaros, etc.), seguindo as orientações propostas por Sousa & Serafini (2020). A ave foi então mantida em uma caixa forrada com papel absorvente por um período de 2 horas para a coleta de suas fezes. Após isto, a ave foi liberada no mesmo local de sua captura (Figura 25). Cada defecação foi colocada individualmente em um tubo falcon 15ml com solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5% (DOLNIK, 2006).



Figura 25. (1) Espécime de *Saltator similis* capturado no km 5 da Travessia Ruy Braga do Parque Nacional de Itatiaia, identificado como juvenil devido à presença de comissura labial, despigmentação do bico (B) e plumagem bastante opaca com pouca pigmentação. O espécime apresentou sinais clínicos típicos de coccidiose, como (A) penas eriçadas e (C) cloaca e penas da cauda manchadas com fezes diarreicas. (D) As amostras foram coletadas por defecação depositadas em papel, (E) continuamente examinadas e substituídas por duas horas enquanto o espécime era mantido em uma caixa apropriada. Fonte: Maronezi et al., 2024a.

4.4.2 Análises laboratoriais

As amostras foram examinadas no LABICOC da UFRRJ. Todas as amostras foram incubadas à temperatura ambiente (25 °C) durante sete dias. Os oocistos foram isolados por flutuação em solução de açúcar de Sheather (densidade específica: 1,20) e examinados microscopicamente utilizando a técnica descrita por Duszynski & Wilber (1997) e Berto et al. (2014). Os oocistos foram quantificados como estimativas do número de oocistos por defecação (OoPD), contando o número total de oocistos recuperados de uma defecação em lâmina de microscópio, seguindo as orientações de Dolnik (2006). Este número de OoPD conferiu com a densidade do parasita (BUSH et al., 1997). Observações morfológicas foram feitas e fotomicrografias realizadas utilizando um microscópio binocular Olympus BX (Olympus Optical, Tóquio, Japão) equipado com uma câmera digital Eureka 5.0 (BEL Photonics, Monza, Itália). As figuras foram editadas utilizando dois programas de software (Corel DRAW e Corel PHOTO-PAINT) da CorelDRAW® (Corel Draw Graphics Suite, Versão 2020, Corel Corporation, Canadá).

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O trinca-ferro (*S. similis*) capturado neste estudo media 221 mm de comprimento total, 48,6 g de massa, sem placa de incubação, sem muda, moderado teor de gordura acumulada e estava livre de ectoparasitas. Sinais clínicos típicos de coccidiose foram observados durante esse processo de avaliação, como penas eriçadas na cloaca e penas da cauda manchadas com fezes diarreicas. Adicionalmente, o espécime foi identificado como de sexo indeterminado e estágio de vida juvenil com base na observação da presença de comissura labial, despigmentação do bico e plumagem bastante opaca e com pouca pigmentação (Figura 25) (SOUSA & SERAFINI, 2020).

Quatorze amostras fecais (defecações) foram obtidas deste espécime juvenil de *S. similis* em um breve período de 2 horas entre 16h e 18h do primeiro dia de julho de 2022. Todas essas defecações eram de diarreia mucóide esverdeada. Das 14 defecações, 13 (93%) testaram positivo para oocistos de *Isospora* spp. A densidade parasitária por defecação variou de 3 a 6.500 oocistos, com média de 1.454 oocistos por defecação. Oito defecações continham mais de 100 oocistos, e um total de 20.361 oocistos foram eliminados nessas duas horas de coleta (14 defecações) (Tabela 2).

Tabela 2. Flutuação da densidade total e específica de *Isospora* spp. durante um período de 2h de defecações sequenciais de um trinca-ferro de vida livre com sinais clínicos de coccidiose no Parque Nacional do Itatiaia Sudeste Brasil.

Amostra fecal	Oocisto por defecação – OoPD total e densidade específica			
	<i>Isospora saltatori</i>	<i>Isospora tincaferri</i>	<i>Isospora similisi</i>	Total
1°	2	0	1	3
2°	2.708	1.250	1.042	5.000
3°	2.826	2.543	1.130	6.500
4°	13	4	13	31
5°	438	984	328	1,750
6°	16	16	20	52
7°	82	14	41	137
8°	0	0	0	0
9°	8	5	10	23
10°	41	51	10	102
11°	2.250	2.000	1.250	5,500
12°	174	348	58	580
13°	274	187	159	620
14°	11	29	23	63
Positividade	13/14 (93%)	12/14 (86%)	13/14 (93%)	13/14 (93%)
Densidade média	632	531	292	1.454
Densidade total	8.843	7.431	4.085	20.361

Três *Isospora* spp. foram identificadas especificamente nas defecações coletadas do espécime juvenil de *S. similis* neste estudo. Esta identificação baseou-se numa comparação morfológica com o trabalho recente de Maronezi et al. (2022): *I. saltatori*, *I. tincaferri* e *I. similisi* (Figuras 26 e 27). A espécie com maior densidade e positividade foi *I. saltatori*, seguida por *I. tincaferri* e *I. similisi* (Tabela 2). A Figura 27 mostra a variação destas três *Isospora* spp. durante um período de 2 horas de coleta sequencial de defecações. Como pode ser observado, *I. saltatori* foi mais denso na maior parte do tempo, embora substituído por *I. tincaferri* em alguns momentos (em 4 das 14 defecações) no início e no final do período de coleta. No geral,

houve dois picos de eliminação de oocistos, um na primeira hora (2^a e 3^a defecações) e outro na segunda hora (11^a defecação), que compreendeu 83% dos oocistos eliminados.



Figura 26. Fotomicrografias de oocistos esporulados de (a-b) *Isospora saltatori*, (c-d) *Isospora trincaferri* e (e-f) *Isospora similisi* associados a sinais clínicos de coccidiose em um trincaferro *Saltator similis* de vida livre no Parque Nacional de Itatiaia no sudeste do Brasil. Barra = 10µm. Fonte: Maronezi et al., 2024a.

Fotografias deste espécime juvenil de *S. similis* deste estudo, sintomático para coccidiose, suas defecações diarreicas, bem como fotomicrografias de oocistos de três *Isospora* spp. identificados, estão disponíveis na Coleção de Parasitologia do LABICOC da UFRRJ, sob Repositório nº 134/2023 (<http://r1.ufrj.br/labicoc/colecao.html>).

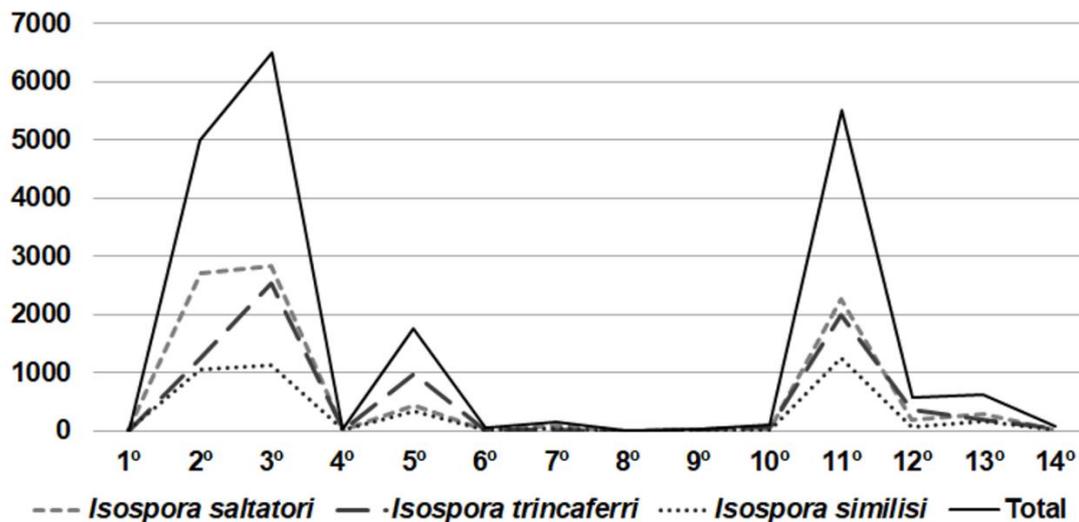


Figura 27. Flutuação da densidade total e específica de *Isospora* spp. durante um período de 2h de defecação sequenciais de um trinca-ferro de vida livre com sinais clínicos de coccidiose no Parque Nacional do Itatiaia Sudeste Brasil. Fonte: Maronezi et al., 2024a.

A coccidiose é raramente encontrada em aves de vida livre, ao contrário do que é observado em aves de cativeiro, que comumente sofrem desta parasitose (COELHO et al., 2013; VASCONCELLOS et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2018; BARRETO et al., 2020). Isso pode ser explicado pelo fato de que, em um ambiente natural conservado e em equilíbrio ecológico, os coccídios fazem parte da biota intestinal de seus hospedeiros imunocompetentes, sem causar grandes danos, uma vez que as aves infectadas são quase sempre assintomáticas (BERTO & LOPES, 2020). Por outro lado, aves em ambientes silvestres alterados ou mantidas em confinamento ou cativeiro (por criadores legais ou por tráfico ilegal de vida silvestre) são altamente suscetíveis a coccídios e outros agentes etiológicos oportunistas, devido à baixa imunidade resultante do estresse crônico imposto por condições ambientais desfavoráveis. (COELHO et al., 2013; VASCONCELLOS et al., 2013; CAMPOS et al., 2017; BERTO & LOPES 2020). Nesse contexto, vale ressaltar que o PNI encontra-se em excelente estado de conservação e, exatamente por isso, qualquer observação que possa indicar alterações ambientais precoces deve ser avaliada; como neste caso, sinais clínicos em uma ave bioindicadora e altas densidades de seus coccídios biomarcadores ecológicos (BERTO & LOPES, 2020). Ao mesmo tempo, deve-se notar também que o trinca-ferro aqui capturado era um espécime juvenil. Os passeriformes juvenis são mais susceptíveis a doenças em geral, uma vez que o seu sistema imune ainda está em desenvolvimento; portanto, os sinais clínicos de coccidiose facilmente observados em nosso espécime estão presumivelmente relacionados ao seu estágio de vida (DOLNIK, 1998; SCHOENER et al., 2013; BERTO & LOPES, 2020). No entanto, este trabalho é altamente relevante no contexto da conservação do PNI, uma vez que os sinais clínicos associados à coccidiose em aves silvestres que vivem em florestas conservadas são raramente encontrados, mesmo entre passeriformes juvenis (DOLNIK, 2010).

Os achados clínicos atribuídos à coccidiose foram reforçados pela alta densidade de oocistos de *Isospora* spp. nas defecações da ave. Esse grande número de mais de 20.000 oocistos seria lançado no ambiente por onde circulava esse exemplar de *S. similis*, obviamente considerando que os sintomas da coccidiose não afetaram a aptidão da ave e, conseqüentemente, sua mobilidade neste período a partir das 16h. às 18h, quando as amostras foram coletadas. Nesse contexto, vale ressaltar que o intervalo de tempo em que foram coletadas as fezes das aves neste estudo foi o mais aconselhável, uma vez que a coleta de amostras fecais no final da tarde é prioritária nos estudos sobre prevalência e densidade de *Isospora* spp. de

passeriformes, dada a reconhecida periodicidade diurna de eliminação de oocistos, que é exponencialmente maior no final da tarde (DOLNIK, 2010; COELHO et al., 2013; BIARD et al., 2022). Sabe-se que o sucesso do parasitismo de *Isospora* spp., que é fecal-oral, depende diretamente do número de suas formas infecciosas exógenas (oocistos) liberadas no ambiente e da sua eficiência em serem ingeridas pelo próximo hospedeiro suscetível. Portanto, este espécime de *S. similis* é um potencial transmissor/dispersor de *Isospora* spp., devido ao grande número de oocistos eliminados no horário de pico de alimentação (e possivelmente localização) de *Saltator* spp. (FAYER, 1980; DOLNIK et al., 2010; COELHO et al., 2013; BERTO & LOPES, 2020; BIARD et al. 2022). Além disso, uma vez que a dose infectante está presumivelmente diretamente associada à gravidade da coccidiose, a eliminação de um grande número de oocistos e a consequente ingestão por hospedeiros suscetíveis pode causar epizootias e aumentar a morbidade e mortalidade em aves silvestres (FAYER, 1980; BERTO & LOPES, 2020).

A positividade e densidades específicas de três *Isospora* spp. identificados neste estudo (Tabela 2) diferiram dos achados relatados por Coelho et al. (2013). Esses autores observaram maior densidade e prevalência de *I. similisi*, seguida de *I. saltatori* e *I. trincaferri*, em trinca-ferro resgatados do tráfico ilegal de vida selvagem e mantidos em quarentena em um centro de reabilitação de vida selvagem no município de Seropédica Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS/ Seropédica) no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Nestes dois estudos, a prevalência (positividade) e densidade de *I. saltatori* foram consistentes, enquanto aqueles de *I. similisi* e *I. trincaferri* foram completamente opostos nestes dois estudos, que são os únicos que relatam taxas de prevalência e densidades específicas de *Isospora* spp. eliminado por *Saltator* spp.. Neste sentido, é possível que a dissimilaridade das condições ambientais nestes estudos (vida livre e resgatadas do tráfico ilegal de vida silvestre) a que estas aves foram submetidas possa ter influenciado a prevalência e densidades específicas destas três *Isospora* spp. de *Saltator* spp. (BERTO & LOPES, 2020).

Apesar do registro taxonômico atualmente válido de três *Isospora* spp. de *S. similis* (MARONEZI et al. 2022), pouco se sabe sobre a patogenicidade dessas espécies, períodos pré-patentes/patentes, ou mesmo seus padrões de ciclo de vida. Oliveira et al. (2018) relataram extraintestinal isosporose em *S. similis*, avaliando as características patológicas e moleculares da doença. Os achados patológicos incluíram hepatomegalia, esplénomegalia, necrose de folículos linfóides, necrose hepática e enterite grave; com merozoítos encontrados no coração, intestino delgado, proventrículo, cérebro, fígado, baço e rins. A identificação molecular de merozoítos neste estudo (OLIVEIRA et al., 2018) indicou uma similaridade de 99% com *Isospora* spp. pelo gene 23S; e de 97% com *Isospora greineri* Hafeez, Stasiak, Delnatte, El-Sherry, Smith & Barta, 2014 pelo gene mitocondrial *cox1*. Entretanto, apesar da significativa contribuição desse estudo, nenhum oocisto foi identificado morfológicamente ou especificamente. Campos et al. (2017) também relataram coccidiose extraintestinal em *S. similis*, mas, como este estudo, foram limitados no diagnóstico de atoxoplasmose (sistêmica/extraintestinal isosporose) pelo achado de merozoítos no sangue periférico e alterações hematológicas (leucocitose, monocitose e linfocitose), sem identificação específica do agente etiológico. Coelho et al. (2012) diagnosticaram coccidiose em *S. similis*, mas seu estudo teve como objetivo avaliar diferentes tratamentos para isosporose, demonstrando a eficácia da Sulfaquinoxalina e do Diclazuril. Vasconcellos et al. (2013) relatam coccidiose associada a diarreia e alta densidade de oocistos não identificados em trinca-ferro criados em cativeiro com o propósito de participar de competições de canto de pássaros. Todos estes estudos envolveram aves em cativeiro; portanto, este é o primeiro relato de coccidiose em um trinca-ferro de vida livre.

Outro ponto de discussão é o fato do presente estudo relatar coccidiose em ave de vida livre, causada pela coinfeção das mesmas três *Isospora* spp. recentemente caracterizadas por

Maronezi et al. (2022) em trinca-ferro vivendo em cativeiro próximo ao PNI. Nesse contexto, conforme Maronezi et al. (2022) apontaram que manter aves silvestres em cativeiro próximo a Unidades de Conservação representa um risco ambiental para a vida silvestre por diversos motivos. (1) Aves de vida livre podem ser infectadas ao se aproximarem e brigarem com aves em cativeiro, principalmente devido à competição territorial representada pelo canto dos pássaros, que pode atingir longas distâncias. (2) As aves em cativeiro, com densidades parasitárias potencialmente mais elevadas (OoPD), fornecem presumivelmente uma dose infecciosa mais elevada e, portanto, aumentariam a densidade parasitária das aves de vida livre, causando desequilíbrio ecológico e possíveis epizootias. (3) De acordo com o conceito de especificidade parasitária de *Isoospora* spp. ao nível da família hospedeira (BERTO et al., 2011), qualquer outra ave da família Thraupidae (ou pelo menos da subfamília Saltatorinae) seria suscetível à infecção transmitida por trinca-ferro de cativeiro, ampliando a distribuição e dispersão destes *Isoospora* spp. em ambientes naturais e conservados, e até mesmo pressionando os ameaçados de extinção (BERTO & LOPES, 2020). Coelho et al. (2013) também afirmam que é essencial estimar a densidade de coccídios para evitar impactos do parasitismo nas populações naturais de aves, especialmente antes da reintrodução/soltura de aves resgatadas do tráfico ilegal de vida silvestre. Da mesma forma, Lopes et al. (2013) destacaram o papel do tráfico ilegal de vida silvestre e da reintrodução/soltura por centros de reabilitação de vida silvestre na dispersão de coccídios, uma vez que oocistos de *I. trincaferri* já foram identificados em tempera-viola *S. maximus* resgatados do tráfico de vida silvestre e mantido em quarentena no CETAS/ Seropédica.

4.6 CONCLUSÃO

Concluindo, este Capítulo relata, pela primeira vez, sinais clínicos de coccidiose associados a um grande número de oocistos de *Isospora* spp. em amostras fecais de trinca-ferro de vida livre no PNI, relacionando esse achado à recente descoberta de *Isospora* spp. de trinca-ferro vivendo em cativeiro perto do PNI. Assim, este estudo enfatiza a importância da avaliação contínua da saúde das aves como bioindicadores, e de seus biomarcadores ecológicos coccídios, como uma das estratégias para avaliação do estado de conservação do PNI.

5. CAPÍTULO III

***ISOSPORA SIMILISI* DE UM NOVO HOSPEDEIRO, *SALTATOR AURANTIROSTRIS*, COM DADOS MOLECULARES SUPLEMENTARES E NOTAS SOBRE SUA TAXONOMIA E DISTRIBUIÇÃO NA REGIÃO NEOTROPICAL**

Capítulo publicado como artigo na Brazilian Journal Veterinary Parasitology. MARONEZI, C.; ORTÚZA-FERREIRA, C. N.; OLIVEIRA, M. S.; CEPEDA, P. B.; LIMA, V. M.; BERTO, B. P. *Isospora similisi* recovered from a new host, *Saltator aurantirostris*, with supplementary molecular data and notes on its taxonomy and distribution in the Neotropical region. **Braz. J. Vet. Parasitol.** 2024; 33(3): e011324, Aug 2024. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612024060>

5.1 RESUMO

Este capítulo relata um bico-duro *Saltator aurantiirostris* (VIEILLOT, 1817), mantido em cativeiro fora de sua área de distribuição natural, nas proximidades do Parque Nacional de Itatiaia, como novo hospedeiro de *Isospora similisi* (COELHO et al, 2013). Adicionalmente, uma identificação molecular suplementar foi fornecida por intermédio do sequenciamento de três loci não sobrepostos de DNA mitocondrial e um locus da subunidade pequena do gene 18S do RNA ribossômico (18S). Todos os caracteres taxonômicos dos oocistos de *I. similisi*, eliminados por *S. aurantiirostris*, foram equivalentes àqueles originalmente descritos de *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837). Os novos loci sequenciados foram idênticos, ou tiveram 99,9% de similaridade, com as amostras de *I. similisi* de *S. similis* e *S. aurantiirostris*, confirmando a mesma espécie de ambos os hospedeiros. Por fim, *I. similisi* foi estimada como sinônimo júnior de *Isospora formarum* (MCQUISTION & CAPPARELLA, 1992), devido às semelhanças morfológicas e ampla distribuição de seus hospedeiros na região Neotropical. Portanto, este estudo incentiva futuras investigações taxonômicas sobre *I. similisi*, recuperados de outros *Saltator* spp., a fim de estabelecer essa sinonimização de *I. formarum* com *I. similisi* e, conseqüentemente, sua ampla distribuição e dispersão na região Neotropical, inclusive Cordilheira dos Andes.

Palavras-chave: Coccídios. Oocistos. Taxonomia. Sequenciamento. Filogenia. Parque Nacional de Itatiaia.

5.2 ABSTRACT

This chapter reports a green-winged saltator *Saltator aurantirostris* (VIEILLOT, 1817), kept in captivity outside its natural distribution area, near the Itatiaia National Park, as a new host of *Isospora similisi* (COELHO et al, 2013). Additionally, a supplementary molecular identification was provided through the sequencing of three non-overlapping mitochondrial DNA loci and one locus of the small subunit 18S ribosomal RNA gene (18S). All the taxonomic characters of the oocysts of *I. similisi* excreted by *S. aurantirostris* were equivalent to those originally described from *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837). The newly sequenced loci were identical, or had 99.9% similarity, with *I. similisi* samples from *S. similis* and *S. aurantirostris*, confirming the same species in both hosts. Finally, *I. similisi* was estimated as a junior synonym of *Isospora formarum* (MCQUISTION & CAPPARELLA, 1992), due to the morphological similarities and the broad distribution of its hosts in the Neotropical region. Therefore, this study encourages future taxonomic investigations on *I. similisi* recovered from other *Saltator* spp. to establish this synonymization of *I. formarum* with *I. similisi* and, consequently, its broad distribution and dispersion in the Neotropical region, including the Andes Mountain Range.

Keywords: Coccidians. Oocysts. Taxonomy. Sequencing, phylogeny. Itatiaia National Park.

5.3 INTRODUÇÃO

O saltatoríneos (*Saltator* spp.) são pássaros da família Thraupidae e subfamília Saltatorinae com diversidade de 19 espécies e distribuição exclusivamente Neotropical. Deste total, apenas nove *Saltator* spp. ocorrem no Brasil. (CHAVES et al., 2013; BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2024). O trinca-ferro *S. similis* é o mais conhecido e valorizado no Brasil para reprodução em cativeiro, devido ao seu repertório vocal, por isso é uma das principais espécies de aves silvestres capturadas e traficadas ilegalmente (NUNES et al., 2012; FREITAS et al., 2015).

A coccidiose destaca-se entre as doenças parasitárias dos pássaros, incluindo *Saltator* spp.. Alguns relatos de coccidiose sintomática e grave em animais em cativeiro são relatados em trinca-ferro, *S. similis* e tempera-viola, *S. maximus* (COELHO et al., 2012; VASCONCELLOS et al., 2013; MARONEZI et al., 2022), e também na natureza (MARONEZI et al., 2024a). Contudo, na literatura científica não há relatos de coccídios recuperado das fezes de outras espécies de *Saltator*. São pássaros de difícil captura na vida livre e também pouco valorizadas na criação de cativeiro (NUNES et al., 2012; FREITAS et al., 2015; MARONEZI et al., 2022).

Neste contexto este capítulo descreve um bico-duro *S. aurantirostris*, vivendo em cativeiro fora de sua área de distribuição natural, no município de Resende, nas proximidades do PNI, no estado do Rio de Janeiro. Este pássaro é identificado como um novo hospedeiro para *I. similisi*, que é uma espécie de coccídio registradas até agora apenas em trinca-ferros *S. similis*.

Além disso, uma identificação molecular suplementar é fornecida através do sequenciamento de três *loci* não sobrepostos de DNA mitocondrial e um *locus* do gene da subunidade ribossomal pequena (18S). São também incluídas notas taxonômicas sobre a forte evidência de sinônimia entre *Isoospora* spp. recuperadas de *Saltator* spp., com base no novo registro atual, na equivalência morfológica e na ampla área de distribuição do hospedeiro *Saltator* spp. na região Neotropical.

5.4 MATERIAL E MÉTODOS

5.4.1 Coleta de amostras

Amostras fecais foram coletadas de um espécime macho adulto de bico-duro *S. aurantirostris* de propriedade de criador localizado próximo ao PNI (22°28'0''S, 44°27'56''W), que inclui parte dos municípios de Itatiaia e Resende no estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil. Este Parque é uma Unidade de Conservação Federal Brasileira com altíssima prioridade para conservação da biodiversidade (ICMBIO, 2024).

O fundo da gaiola onde o trinca-ferro estava alojado, foi forrado com papel absorvente por um período de 5 horas (14h às 19h) para coleta de fezes. Durante este período, o papel foi examinado e substituído diversas vezes, a fim de obter defecações separadas. Cada defecação foi colocada individualmente em um tubo de centrífuga com solução de dicromato de potássio a 2,5% (K₂Cr₂O₇) (DOLNIK, 2006).

5.4.2. Análise morfológica

Amostras foram examinadas no LABICOC da UFRRJ. Todas as amostras foram incubadas à temperatura ambiente (25 °C) durante 7 dias. Oocistos foram isolados por flutuação em solução saturada de açúcar de Sheather (gravidade específica: 1,20), (DUSZYNSKI & WILBER, 1997). A densidade da amostra foi calculada como o número de oocistos por fezes/defecação (DOLNIK, 2006; BUSH et al., 1997). Observações morfológicas e medições foram feitas seguindo as orientações de Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2014), através do Microscópio binocular 90 BX (Olympus Optical, Tóquio, Japão) equipado com um digital Eurekam 5.0 Câmera 91 (BEL Photonics, Monza, Itália). As fotomicrografias e demais figuras foram editadas em dois programas de software (Corel DRAW e Corel PHOTO-PAINT) do CorelDRAW® (Corel Draw Graphics Suite, versão 2020, Corel Corporation, Canadá).

5.4.3. Obtenção de espécimes representativos de *Isospora similisi*

Alguns dos espécimes representativos de *I. similisi* coletados de *S. similis* identificados em Maronezi et al. (2022), que estão depositados na Coleção Parasitológica do LABICOC na UFRRJ sob repositório nº 118/2021 (<http://r1.ufrrj.br/labicoc/colecao.html>), foram solicitados para identificação e comparação molecular suplementar.

5.4.4. Análise molecular

Oocistos individuais identificados morfológicamente como *I. similisi*, ambos da coleção original (espécimes representativos de *S. similis*) depositados por Maronezi et al. (2022), e de *S. aurantirostris* do presente estudo foram fotomicrografadas em microscopia óptica isoladas ressuspensos em solução salina tamponada com fosfato a 0,9% (PBS) e lavados por centrifugação até a sobrenadante tornar-se claro (DOLNIK et al., 2009). O DNA foi extraído dos oocistos individuais, usando um kit Quick-DNA Micropep da Zymo Research Corporation de acordo com as especificações da instruções do fabricante. Quatro ciclos de congelamento e descongelamento foram aplicados antes da extração de DNA para garantir a lise completa dos oocistos. A amplificação por PCR foi realizada para três *loci* não sobrepostos em genes *cox1* (MAVCOXI), *cox3* (MACOIII) e fragmentos de rDNA de subunidade pequena e grande (MARI) de DNA mitocondrial (ORTÚZAR-FERREIRA et al., 2024), e um locus da pequena subunidade 18S RNA ribossômico (1NF/18S) (ANDRADE et al., 2024). Para amplificação, uma reação de PCR de 25 µl foi preparado usando 3 µl de DNA genômico (<1 µg), 12,5 µl de

GoTaq® G2 Hot Start Colorless Master Mix (Promega Labs) (1X), 0,25 µl de cada Primer (0,2 µM) e 9 µL de Nuclease Free Water. PCR Foram realizadas ampliações utilizando as condições de ciclagem originalmente descritas por Ortúzar-Ferreira et al. (2024) e Andrade et al. (2024).

5.4.5. Análise de sequência de DNA

Todos os produtos de PCR foram sequenciados com primers diretos e reversos de PCR produzidos por Ludwig Biotechnology, usando um analisador genético ABI-Prism 3500 (Applied Biosystems, Foster City, Califórnia) para sequenciamento Sanger. Os resultados das reações de sequenciamento foram analisados e editado no programa Chromas 2.6. As sequências foram comparadas com outros coccídios disponíveis na base de dados GenBank, utilizando a ferramenta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). Os alinhamentos foram criados em MEGA v10.2.6 usando Clustal W ([//www.clustalw.genome.jp](http://www.clustalw.genome.jp)). A filogenética relacionada foi reconstruída usando Inferência Bayesiana no software MrBayes v3.2.7 (RONQUIST et al., 2012) e o método de Máxima Verossimilhança no software MEGA (KUMAR et al., 2018). O modelo evolutivo que melhor se ajustou a todas as análises filogenéticas foi selecionado usando o Model Selection ferramenta do software MEGA. A análise de inferência bayesiana foi conduzida sob o modelo evolutivo GTR+G para 1.000.000 de gerações, e as árvores foram resumidas após a remoção de 25% da “burnin”. A análise de máxima verossimilhança foi conduzida sob o modelo evolutivo TN93+G, e os valores de “bootstrap” foram calculados usando 1.000 réplicas. As árvores filogenéticas resultantes foram visualizadas nos programas MrBayes e MEGA e exportadas no FigTree v1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/>).

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.4.1 Análise morfológica

Quatro amostras (defecações) do bico-duro (*S. aurantiirostris*) foram examinadas e positivas para oocistos de coccídios, que foram identificadas morfológicamente como *I. similisi*. As características taxonômicas observadas são descritas abaixo:

a) *Isospora similisi* (COELHO et al., 2013)

- Morfologia

Oocisto (n= 22) subesféricos, 20–25 × 20–22 (22,8 × 21,3); índice morfométrico 1,0–1,2 (1,09). Parede bicamada, 1,3–2,0 (1,6) de espessura, camada externa lisa, c.2/3 da espessura total. A micrópila e o resíduo de oocisto estão ausentes, mas estão presentes grânulos polares semelhantes a lascas ou vírgulas. Esporocisto (n = 16) ovóide a levemente piriforme, 14–17 × 10–11 (15,7 × 10,6); Relação L/W 1,4–1,6 (1,50). Corpo Stieda presente, em forma de meia-lua a protuberante, 0,8–1,2 de altura x 2,0–2,4 de largura (1,0x2,2). Corpo Sub-Stieda presente, arredondado a trapezoidal, 1,5–2,4 de altura x 3,9–4,4 de largura (2,0x4,1), frequentemente com variações de densidade que lembram um sub-Stieda compartimentado. Corpo de Para-Stieda ausente, resíduo de esporocisto presente, constituído por esférulas espalhadas entre os esporozoítos. Esporozoítos vermiformes, com corpo refrátil posterior e núcleo central (Figura 28).

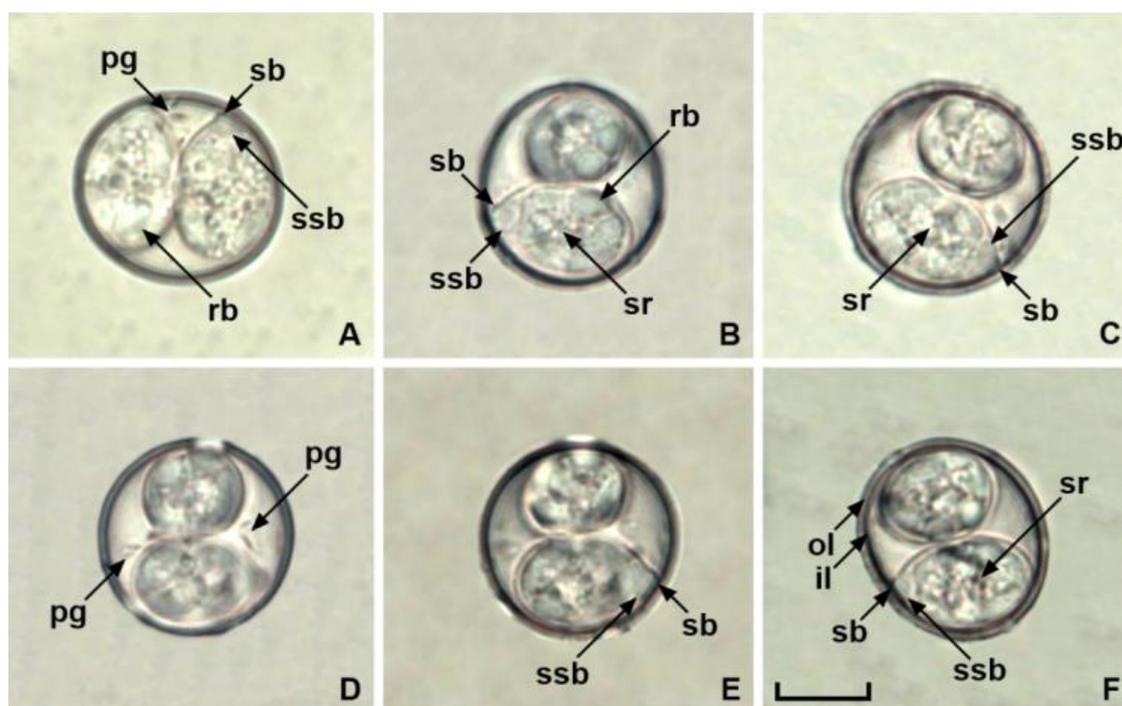


Figura 28. Fotomicrografias de oocistos esporulados de *Isospora similisi* de um bico-duro, *Saltator aurantiirostris*. Destacam-se as camadas interna (il) e externa (ol) da parede do oocisto; grânulos polares (pg); corpos de Stieda (sb) e sub-Stieda (ssb); resíduo do esporocisto (sr); e corpo refrátil (rb). Barra de escala: 10 µm 101x63mm. Fonte: Maronezi et al., 2024b.

b) Resumo taxonômico

Hospedeiro-tipo: *Saltator similis* d'Orbigny & Lafresnaye, 1837. (Aves: Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae), trinca-ferro (COELHO et al., 2013; MARONEZI et al., 2022; 2024a).

Outro hospedeiro: *Saltator aurantiirostris* Vieillot, 1817. (Aves: Passeriformes: Thraupidae: Saltatorinae), bico-duro (estudo atual).

Localidade-tipo: Centro de Triagem de Animais Silvestres – CETAS- Centro no município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, sudeste do Brasil (22°43'24''S, 43°42'37''W) (COELHO et al., 2013). Demais localidades: Cinco locais de cativeiro nas proximidades do PNI (22°30'S, 44°34'W), sudeste do Brasil (MARONEZI et al. 2022). Quilômetro 5 da 'Travessia Ruy Braga' (Travessia Ruy Braga) no PNI (*S. similis* de vida livre capturado) (22°25'39,9''S;44°37'49.4''W), sudeste do Brasil (MARONEZI et al. 2024a). Local de cativeiro no município de Resende, adjacente ao PNI, no estado do Rio de Janeiro (22°28'0''S, 44°27'56''W), sudeste do Brasil (estudo atual).

Material-tipo: Fotos de síntipos e desenhos de linha estão depositados e disponíveis (<http://r1.ufrj.br/laboc/colecao.html>) na Coleção de Parasitologia do LABICOC da UFRRJ, sob repositório nº P-41/2011 (COELHO et al., 2013). Material físico (ocistos preservados) foi perdido ou não está disponível.

Espécimes representativos: Fotomicrografias, desenho de linha e oocistos em K₂Cr₂O₇ 2,5% soluções estão depositadas e disponíveis (<http://r1.ufrj.br/laboc/colecao.html>) na Parasitologia Acervo do LABICOC da UFRRJ, sob Repositório nº 118/2021 (MARONEZI et al. 2022) e 137/2024b. Fotografias dos espécimes hospedeiros são depositadas na mesma coleção.

Sequências representativas de DNA: amplificação de DNA dos oocistos de *S. similis* por Maronezi et al. (2022) e *S. aurantiirostris* no presente estudo, no MAVCOXI, MACOIII, MARI. Os loci e 1NF / 18S mostraram bandas claras em torno de ~ 653 pb, ~ 632 pb, ~ 824 pb e ~ 444 pb, respectivamente. Sequências representativas são depositadas no banco de dados GenBank sob os números de acesso PP723065 (MAVCOXI, *S. similis*); PP723066 (MACOIII, *S. similis*); PP723067 (MACOIII, *S. aurantiirostris*); PP723068 (MARI, *S. similis*); PP723069 (MARI, *S. aurantiirostris*); PP716360 (1NF/18S; *S. similis*); e PP716361 (1NF/18S; *S. Aurantiirostris*).

Local de infecção: Desconhecido, oocistos foram recuperados das fezes. Prevalência: 100% (1/1). Densidade: Média de 5.786 (variando de 3.358 a 9.000) oocistos em 4 defecações coletadas do bico-duro, *S. aurantiirostris* durante o período de 3 horas, das 14h às 19h.

5.4.2 Análise molecular

As sequências nos quatro locos gênicos obtidos de oocistos identificados morfologicamente como *I. similisi* diferiram em vários nucleotídeos quando comparados com sequências de coccídios de eimerídeos depositados no GenBank. As sequências dos oocistos de *I. similisi* recuperadas de *S. similis* por Maronezi et al. (2022), em comparação com os obtidos de *S. aurantiirostris*, foram idênticos (1NF/18S) ou apresentou similaridade de 99,9% (MACOIII e MARI), dependendo do locus analisado. Apenas os espécimes representativos de *I. similisi* de *S. similis* recuperados da coleção do depósito amplificado no locus MAVCOXI; portanto, não foi possível compará-los com amostras de *S. aurantiirostris* para este locus. Em comparação com sequências depositadas no GenBank *I. similisi* apresentou as maiores semelhanças, ou seja, aproximadamente 98%, com *Isospora* spp., coletado de *Lamprotornis superbus* Hafeez & Barta, 2017 no Canadá. No locus MACOIII, as sequências de *I. similisi* de *S. similis* e *S. aurantiirostris* foram diferentes na substituição de apenas dois nucleotídeos. No

GenBank, essas sequências foram aproximadamente 98% semelhante a *Isospora* spp. descrito/relatado de *Serinus canaria* Linnaeus, 1758 (OGEDENGBE et al., 2016), *L. superbus* e *Passerina cyanea* Linnaeus, 1766 (dados não publicados; número de acesso do GenBank MW645337).

No *locus* MARI, uma comparação de *I. similisi* dos dois hospedeiros indicou que as sequências eram diferentes por um único nucleotídeo. No GenBank, as maiores semelhanças entre *Isospora* spp. descritos/relatados de *S. canaria* e *L. superbus* neste *locus* eram aproximadamente 99%. As sequências de *I. similisi* dos dois hospedeiros eram idênticas no *locus* 1NF/18S e apresentou as maiores semelhanças, ou seja, 99,7%, com *Isospora* spp. descrito/relatado de *Neochmia temporalis* Latham, 1801 (YANG et al., 2016), *L. superbus* e *Sturnus vulgaris* (dados não publicados; Nº de acesso do GenBank MW667591), *Colaptes auratus* Linnaeus, 1758 (dados não publicados; número de acesso do GenBank MW618926), *Columba livia* Gmelin, 1789 (MATSUBARA et al., 2017) e *Turdus falcklandii* Quoy & Gaimard, 1824 (MARTINEZ et al., 2015).

5.4.3 Análise filogenética

Análise filogenética baseada nos *loci* MAVCOXI, MACOIII, MARI e 1NF/18S incluídos sequências de coccídios eimerídeos disponíveis no GenBank (Figuras 29-32). *Choleoeimeria* sp. não identificada.



Figura 29. Relação filogenética de *Isospora similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) inferida por análise bayesiana para um *locus* (MAVCOXI) dentro do gene *cox1* do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,05). Os rótulos dos ramos nos nós mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma *Choleoeimeria* sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). 555x370mm. Fonte: Maronezi et al., 2024b.

Análise filogenética baseada nos *loci* MAVCOXI, MACOIII, MARI e 1NF/18S incluiu sequências de coccídios da família Eimeriidae disponíveis no GenBank (Figuras 29-32). Um espécime não nomeado *Choleoeimeria* sp. (Número de Acesso do GenBank KT203395) foi utilizado como grupo externo nas filogenias dos *loci* mitocondriais (Figuras 29-31), e *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1908 (Número de Acesso do GenBank L24381) foi utilizado como grupo externo na análise filogenética do *locus* 1NF/18S (Figura 32).

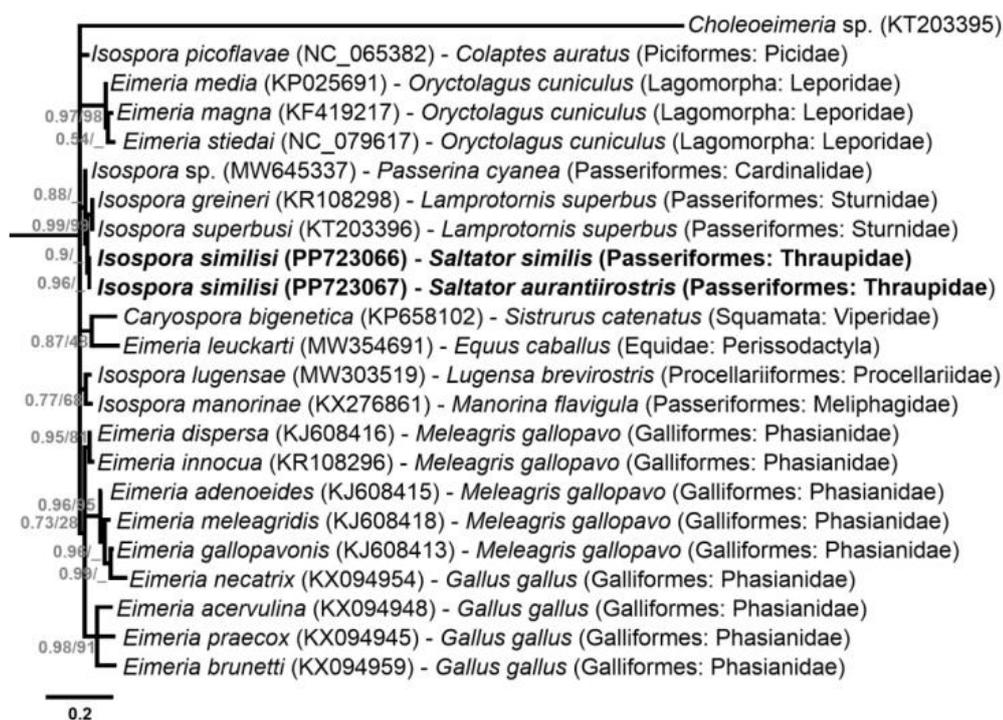


Figura 30. Relação filogenética de *Isospora similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantiirostris*) inferida por análise bayesiana para um *locus* (MACOIII) dentro do gene *cox3* do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,2). Os rótulos dos ramos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma *Choleoeimeria* sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). Fonte: Maronezi et al., 2024b.

No cladograma produzido pela análise filogenética do *locus* MAVCOXI (Figura 29), *I. similisi* mostrou monofilia com dois *Isospora* spp. de *L. superbus* e, em um grupo monofilético maior, com outros *Isospora* spp. de passeriformes e *Eimeria* spp. de coelhos. Os cladogramas dos *loci* MACOIII e MARI (Figuras 30-31) resultaram em grupos monofiléticos coerentes para *Eimeria* spp. de Galliformes e *Eimeria* spp. de coelhos, além de outros grupos de *Isospora* spp. de passeriformes, incluindo *I. similisi* de *S. similis* e *S. aurantiirostris*. Por fim, a análise filogenética do *locus* 1NF/18S (Figura 32) resultou em grupos monofiléticos coerentes para *Cyclospora* spp., *Eimeria* spp. de bovinos, *Eimeria* spp. de roedores, *Isospora* spp. de passeriformes, e *Lankesterella* sp. e *Caryospora* sp., que são gêneros relacionados, além de *Eimeria* spp. de morcegos e esquilos que não foram agrupados monofileticamente.

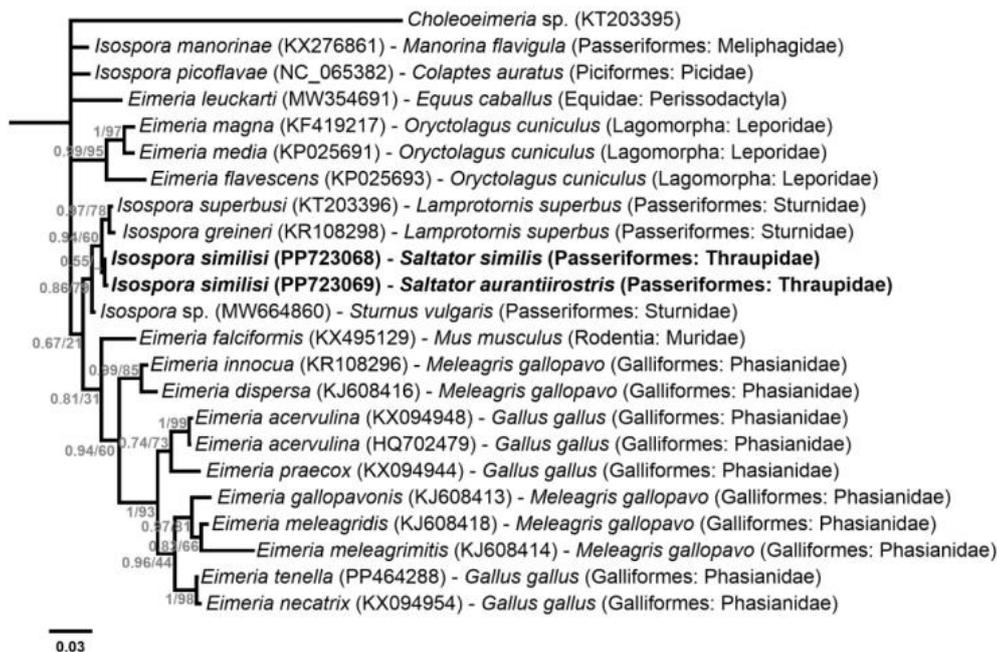


Figura 31. Relação filogenética de *Isospora similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantiirostris*) inferida por análise bayesiana para um locus (MARI) dentro de fragmentos das subunidades pequena e grande do rDNA do genoma mitocondrial. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,03). Os rótulos dos ramos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando uma *Choleoeimeria* sp. não identificada (número de acesso do GenBank: KT203395). Fonte: Maronezi et al., 2024b.



Figura 32. Relação filogenética de *Isospora similisi* do trinca-ferro (*Saltator similis*) e do bico-duro (*Saltator aurantirostris*) inferida por análise bayesiana para um locus (1NF) dentro da subunidade pequena do RNA ribossomal 18S. Os comprimentos dos ramos correspondem às estimativas posteriores médias das distâncias evolutivas (barra de escala: 0,003). Os rótulos dos ramos nos mostram as probabilidades posteriores sob a análise de Inferência Bayesiana e os valores de bootstrap derivados da análise de Máxima Verossimilhança. Apenas probabilidades posteriores superiores a 0,5 são exibidas. Os filogramas foram enraizados usando *Toxoplasma gondii* (número de acesso do GenBank: L24381). Fonte: Maronezi et al., 2024b.

Aves silvestres são reconhecidas como bioindicadores da conservação ambiental, pois a presença de certas espécies especialistas e com alta dependência de florestas indica ambientes preservados/conservados. Os coccídios de aves silvestres, por sua vez, podem ser considerados biomarcadores, uma vez que o aumento em suas densidades e/ou sinais clínicos em aves silvestres determina mudanças precoces no ambiente (BERTO & LOPES, 2020; MARONEZI et al., 2024a). Esta associação é facilmente observada em aves em cativeiro ou resgatadas do tráfico de vida silvestre, que frequentemente mostram densidades muito altas de coccídios associadas à coccidiose grave (COELHO et al., 2012; 2013; VASCONCELLOS et al., 2013; MARONEZI et al., 2022; BERTO & LOPES, 2020). Neste contexto, Maronezi et al. (2022) destacam o risco do cativeiro de aves silvestres em torno de Unidades de Conservação, como o PNI, já que aves em cativeiro eliminam altas densidades de oocistos de coccídios em suas fezes, que podem ser facilmente transmitidos diretamente ou indiretamente para aves de vida livre. Posteriormente, Maronezi et al. (2024a) destacaram essa possibilidade no primeiro relato de um trinca-ferro de vida livre no PNI apresentando sinais clínicos de coccidiose e alta densidade de oocistos de coccídios. Por fim, o capítulo III relata um bico-duro vivendo em cativeiro nas proximidades do PNI como um novo hospedeiro para uma das três espécies de *Isospora* spp. registradas em trinca-ferro expandindo assim a especificidade de hospedeiros de *I. similisi* e, consequentemente, sua distribuição na região Neotropical (Figura 33) (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2024).

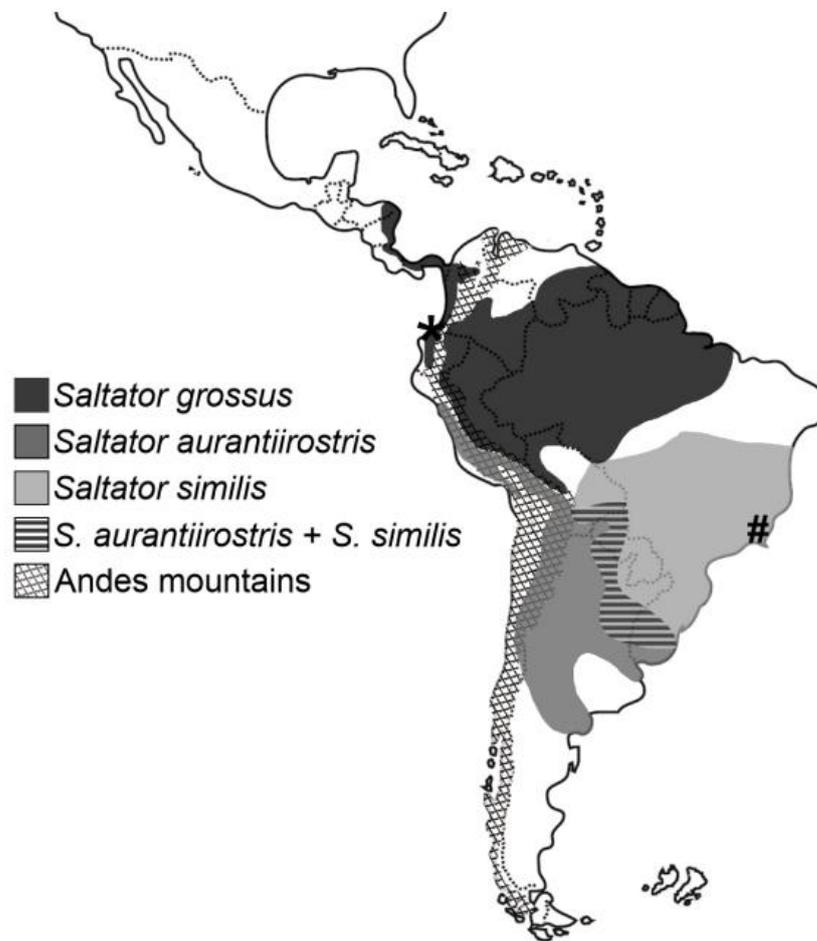


Figura 33. Faixa geográfica de várias espécies de *Saltator* na região Neotropical (com base em dados do BirdLife International (2024)). O hospedeiro-tipo de *Isoospora formarum* é o Bico Encarnado (*Saltator grossus*), e o hospedeiro-tipo de *Isoospora similisi* é o trinca-ferro (*Saltator similis*). O novo hospedeiro de *I. similisi* é o bico-duro (*Saltator aurantiirostris*). *Saltator grossus* possui populações trans-Andinas e cis-Andinas. *Saltator similis* e *S. aurantiirostris* são simpátricos entre si no centro-sul da América do Sul, mas ambos são alopatrícos em relação a *S. grossus*. O asterisco e o sinal de sustenido indicam aproximadamente as localidades-tipo de *I. formarum* (trans-Andina) e *I. similisi* (cis-Andina), respectivamente. Fonte: Maronezi et al., 2024b.

O bico-duro *S. aurantiirostris* é naturalmente distribuído pela região do Chaco, Pampas e porção central dos Andes na região Neotropical, através da Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Paraguai, Peru e Uruguai. No Brasil, é observado apenas no Rio Grande do Sul e no sudoeste de Mato Grosso do Sul (Figura 33) (BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2024). O local de cativeiro do bico-duro no estudo atual está localizado no sudeste do Brasil; em outras palavras, longe de sua área natural de distribuição geográfica (Figura 33). Esse achado destaca, portanto, a importância da dispersão antropomórfica de coccídios (BERTO & LOPES, 2020), ou seja, o papel do tráfico, venda e criação de aves silvestres na transmissão de coccídios entre aves alopatricas. Além disso, a possibilidade de transmissão entre aves em cativeiro ou delas para aves livres suscetíveis é aumentada exponencialmente considerando a alta densidade de oocistos de coccídios nesses pássaros; em outras palavras, além do tráfico e do cativeiro

permitirem transmissões que são muito improváveis, se não impossíveis, em condições naturais, o grande número de oocistos eliminados por essas aves nessas condições intensifica a transmissão/dispersão bem-sucedida de coccídios (BERTO & LOPES, 2020; MARONEZI et al., 2022; 2024a). Conseqüentemente, a densidade parasitária no bico-duro do estudo atual foi muito alta, embora ele parecesse saudável e não apresentasse sinais clínicos observáveis de coccidiose. Nesse sentido, esse achado revela o potencial de transmissão e dispersão de *I. similisi* por este espécime de *S. aurantirostris*.

O número máximo de 9.000 oocistos por defecação do bico-duro foi ainda maior do que o número máximo (3.668) obtido de *S. similis* recuperado do tráfico ilegal e mantido em quarentena em um centro de reabilitação de animais silvestres, onde as densidades mais altas são frequentemente observadas em aves enfraquecidas (COELHO et al., 2013). É possível que *S. aurantirostris* seja uma espécie hospedeira evolutivamente mais recente, em um período inicial de adaptação parasito-hospedeiro (ODUM, 1998; GARDNER & DUSZYNSKI, 1990; BERTO & LOPES, 2020). Por outro lado, talvez este espécime esteja passando por uma infecção primária onde a ausência de memória imunológica permite muitas merogonias e gametogonias com a geração e eliminação de um grande número de oocistos (KRAUTWALD-JUNGHANN et al., 2009; MERINO, 2010). Esta alta densidade de oocistos, associada à ausência de sinais clínicos observáveis, sugere que *I. similisi*, que foi a única espécie ou pelo menos a espécie predominante encontrada em amostras fecais, possui uma patogenicidade muito baixa. Essa inferência é respaldada pelos sinais clínicos observados em juvenis de *S. similis* que testaram positivo para os três *Isospora* spp., conforme relatado por Maronezi et al. (2024a), indica que *I. saltatori*, mais abundante neste estudo, e que *I. trincaferri*, deveria ser mais patogênica (causando doença grave). Seja como for, essas descobertas ocasionais de coccidiose e/ou alta densidade de oocistos coccidianos em um único ou vários espécimes de *Saltator* spp. não permitem conclusões definitivas.

Cinco *Isospora* spp. são registrados até o momento em *Saltator* spp. (MARONEZI et al. 2022). *I. pityli* e *I. formarum* foram as duas primeiras espécies descritas do bico-encarnado, *S. grossus* na província de Esmeraldas, no Equador (Figura 33). Estas duas *Isospora* spp. não foram relatados desde suas descrições originais por McQuiston & Capparella (1992). As outras três *Isospora* spp. de *Saltator* spp. foram identificadas em *S. similis* vivendo em cativeiro ou em um centro de reabilitação no sudeste do Brasil, e posteriormente foram relatadas em outras localidades, também no sudeste do Brasil, coletados de cativeiros e aves de vida livre, incluindo o tempera-viola *S. maximus* infectado com *I. trincaferri* (COELHO et al. 2013; LOPES et al., 2013; MARONEZI et al. 2022; 2024a).

Como apontado anteriormente por Maronezi et al. (2022), *I. pityli* e *I. formarum* são morfologicamente semelhantes a *I. saltatori* e *I. similisi*, respectivamente, com exceção de algumas pequenas diferenças em algumas características taxonômicas. Neste sentido, o principal critério de diferenciação destes *Isospora* spp. é ecológico, pois *I. pityli* e *I. formarum* foram descritos no Equador, na região transandina; enquanto *I. saltatori* e *I. similisi* foram relatados até agora no sudeste do Brasil, na região cis-andina (Figura 33). Ou seja, numa abordagem conservadora, a forte barreira geográfica da cordilheira dos Andes que separa os locais onde estas *Isospora* spp. foram relatadas e descritas impede o estabelecimento de sinonímia para estas espécies. Por outro lado, a ampla distribuição geográfica de *Saltator* spp., como *S. grossus* que possui populações cis-andinas e transandinas, além da distribuição de *S. similis* e *S. aurantirostris*, sendo este último um novo hospedeiro para *I. similisi* no presente estudo, possibilita a distribuição e dispersão de seus parasitas coccídios pela maior parte da região Neotropical (Figura 33) (BERTO & LOPES, 2020). Vale ressaltar que *S. similis* e *S. aurantirostris* não são simpátricos com *S. grossus*, embora a distribuição de *S. aurantirostris* faz fronteira com a população cis-andina de *S. grossus* na Cordilheira dos Andes e a distribuição de *S. similis* faz fronteira com a de *S. grossus* no centro-oeste do Brasil (Figura 33).

Nesse contexto, os achados do presente estudo reforçam a possibilidade de *I. similisi* ser estabelecido como sinonímia júnior de *I. formarum*. A dispersão de coccídios pela cordilheira dos Andes, facilitada pela distribuição e dispersão natural de seus hospedeiros, foi feita na identificação de *Isospora sagittulae* McQuiston & Capparella, 1992 em formigueiros (BERTO et al., 2014b; SILVA-CARVALHO et al., 2018) e *Isospora bellicosa* Upton, Stamper & Whitaker, 1995 de aves icterídeos (SILVA et al. 2017). Em contraste, o presente estudo apenas demonstrou a suscetibilidade de *S. aurantirostris* a *I. similisi* em cativeiro, embora sem identificá-la em bico-duro de vida livre em sua área de distribuição natural. Numa abordagem conservadora, isto não favorece o estabelecimento de *I. similisi* como sinonímia júnior de *I. formarum*. A estratégia ideal para esse fim seria a identificação morfológica e molecular de oocistos de *I. pityli* e *I. formarum* de seu hospedeiro tipo *S. grossus* no Equador, em comparação direta com oocistos identificados como *I. saltatori* e *I. similisi* de *S. similis* no sudeste do Brasil. Além disso, o encontro destas *Isospora spp.* do tempera-viola *S. maximus*, que é um dos *Saltator sp.* com a distribuição mais ampla no reino Neotropical, desde a região transandina até a costa atlântica da América do Sul, confirmaria esta suposição de dispersão de coccídios entre *Saltator spp* trans e cis-andinos.

5.5 CONCLUSÃO

As análises moleculares realizadas complementaram a caracterização molecular de *I. similisi* e confirmaram a descoberta desta espécie de coccídios no novo hospedeiro *S. aurantiistrostris*. As diferenças muito pequenas nas sequências de *I. similisi* de *S. similis* e *S. aurantiistrostris* observadas nos *loci* MACOIII (2 nucleotídeos) e MARI (1 nucleotídeo) devem ser considerado intraespecífico e possivelmente resultante de adaptação a outro hospedeiro (BERTO & LOPES 2020; ORTÚZAR-FERREIRA et al. 2024). Esta conclusão pode ser explicada pelo fato de que estas diferenças em comparação com outras *Isospora* spp. provenientes de passeriformes depositados no GenBank são consideravelmente maiores, além de estes exibirem monofilia nas análises filogenéticas para estes locos (Figuras 29-31). Sabe-se que os genes mitocondriais são menos conservados e, portanto, os mais adequados para delimitar espécies, pois indicam até diferenças intraespecíficas (OGEDENGBE et al., 2011; EL-SHERRY et al., 2013; ORTÚZAR-FERREIRA et al. 2024). Análises filogenéticas de locos mitocondriais resultaram em grupos monofiléticos com bom suporte de valores de máxima verossimilhança bootstrap e probabilidades posteriores bayesianas, principalmente para *Eimeria* spp. de coelhos e *Eimeria* spp. de Galliformes e algumas *Isospora* spp. de passeriformes. No entanto, outras *Isospora* spp. de passeriformes foram desagrupadas, ou agrupadas incongruentemente, nos cladogramas dos três *loci* mitocondriais (Figuras 29-31).

As variações genotípicas significativas que eram esperadas para genes mitocondriais, ou algum outro fator desconhecido para *Isospora* spp. de passeriformes, pode estar associada à incongruência desses resultados filogenéticos. As mesmas observações foram descritas por Ogedengbe et al. (2018), que demonstraram a parafilia de *Isospora* spp. e *Eimeria* spp. de diferentes táxons hospedeiros em uma análise filogenética abrangente envolvendo genes mitocondriais e 18S. Com base em suas descobertas, Ogedengbe et al. (2018) concluíram que os ajustes taxonômicos necessários visando uma congruência dos fenótipos com os genótipos de Eimeriidae exigiriam a criação de pelo menos 9 novos gêneros não baseados na proporção de esporocistos e esporozoítos nos quais a taxonomia de coccídios se baseia tradicionalmente. As amostras de *S. similis* e *S. aurantiistrostris* apresentaram sequências idênticas para o *locus* 1NF/18S. Na verdade, sabe-se que o gene 18S é mais conservado que os genes mitocondriais e, portanto, mais adequado para a reconstrução filogenética de gêneros ou táxons superiores (OGEDENGBE et al., 2011; EL-SHERRY et al., 2013; ANDRADE et al., 2024). Uma análise molecular comparativa do *locus* 1NF/18S destaca esta afirmação, uma vez que são observadas diferenças muito pequenas entre diferentes espécies de coccídios de grandes táxons hospedeiros, incluindo *Isospora* spp. de diferentes ordens de Aves que eram 99,7% semelhantes. Na mesma linha, a análise filogenética (Figura 32) mostrou grupos monofiléticos congruentes e bem definidos para táxons superiores, como os diferentes gêneros de Eimeriidae, que foram agrupados em clados separados. No entanto, *Isospora* spp., evolutivamente distante porque parasita diferentes táxons hospedeiros superiores, pertence ao mesmo grupo monofilético. Concluindo, após análise e discussão de todos os resultados obtidos no presente estudo, o bico-duro, *S. aurantiistrostris* é registrado como um novo hospedeiro suscetível a *I. similisi*, cuja caracterização molecular é complementada pelo sequenciamento de três *loci* mitocondriais e um *locus* nuclear. Além disso, estima-se que *I. similisi* seja sinonímia júnior de *I. formarum* devido à ampla distribuição de seus hospedeiros na região Neotropical. Portanto, espera-se que os resultados do presente estudo motivem futuros estudos taxonômicos de *Isospora* spp. de outros *Saltator* spp. a fim de estabelecer a sinonimização de *I. formarum* com *I. similisi* e, assim, sua ampla distribuição e dispersão na região Neotropical, inclusive pela cordilheira dos Andes.

6. CAPÍTULO IV

PREVALÊNCIA E DENSIDADE DE COCCÍDIOS DE SALTATORINAE (PASSERIFORMES: THRAUPIDAE) NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA

6.1 RESUMO

O estudo teve como objetivo investigar a prevalência e a densidade de coccídios do gênero *Isospora* em aves do gênero *Saltator* no Parque Nacional do Itatiaia (PNI), utilizando os coccídios como biomarcadores ecológicos para avaliar a saúde dessas aves de vida livre. Durante 18 expedições, 42 indivíduos de *Saltator spp.* foram capturados e analisados. A espécie *Saltator similis* foi a mais representativa, com 35 exemplares, seguida por *S. maxillosus* (5 exemplares) e *S. fuliginosus* (2 exemplares). A prevalência de coccídios de *Isospora spp.* foi observada em 46% das aves capturadas, com a densidade média de 119 oocistos por defecação (OoPD) na Parte Alta do PNI e 89 OoPD na Parte Baixa. A densidade dos oocistos foi significativamente maior no único espécime com sinais clínicos de coccidiose, que apresentou 6.500 OoPD, sugerindo uma correlação entre a densidade de oocistos e o desenvolvimento de coccidiose em *Saltator spp.*. Essa diferença sugere que a densidade de oocistos é um indicador confiável de saúde, sendo um bom biomarcador para monitoramento ecológico. Além disso, o estudo sugeriu que a área de transição entre a floresta ombrófila e o planalto de altitude no PNI poderia influenciar fatores ambientais como o estresse e a imunidade das aves, afetando a manifestação da coccidiose. Os dados indicaram que *S. similis* pode ser um importante dispersor de coccídios no PNI, sendo um possível vetor da transmissão de *Isospora spp.* para outras espécies de *Saltator*. Comparando os resultados de aves de vida livre com os estudos em cativeiro, verificou-se que a densidade de oocistos em aves de vida livre foi geralmente baixa, indicando um estado de saúde satisfatório das aves, com exceção de casos isolados de coccidiose severa. Os resultados reforçam que os coccídios de *Isospora spp.* em *Saltator spp.* podem atuar como biomarcadores de saúde e conservação ecológica, especialmente em ecossistemas como o PNI.

Palavras-chave: Parque Nacional de Itatiaia. *Saltator spp.* Biomarcadores ecológicos.

6.2 ABSTRACT

The study aimed to investigate the prevalence and density of coccidia of the genus *Isospora* in birds of the genus *Saltator* in the Itatiaia National Park (PNI), using the coccidia as ecological biomarkers to assess the health of these wild birds. During 18 expeditions, 42 individuals of *Saltator spp.* were captured and analyzed. The species *Saltator similis* was the most representative, with 35 specimens, followed by *S. maxillosus* (5 specimens) and *S. fuliginosus* (2 specimens). The prevalence of *Isospora spp.* coccidia was observed in 46% of the captured birds, with an average oocyst density of 119 oocysts per defecation (OoPD) in the Upper Part of the PNI and 89 OoPD in the Lower Part. Oocyst density was significantly higher in the only specimen showing clinical signs of coccidiosis, which had 6,500 OoPD, suggesting a correlation between oocyst density and the development of coccidiosis in *Saltator spp.* This difference suggests that oocyst density is a reliable health indicator and a good biomarker for ecological monitoring. Additionally, the study suggested that the transitional area between the ombrophyllous forest and the high-altitude plateau in PNI could influence environmental factors such as stress and immunity in the birds, affecting the manifestation of coccidiosis. The data indicated that *S. similis* may be an important disperser of coccidia in PNI, possibly a vector for the transmission of *Isospora spp.* to other *Saltator* species. A comparison of the results from wild birds with those from captive studies showed that oocyst density in wild birds was generally low, indicating a satisfactory health status in the birds, with the exception of isolated cases of severe coccidiosis. The results reinforce that *Isospora spp.* coccidia in *Saltator spp.* can act as biomarkers of health and ecological conservation, especially in ecosystems such as the PNI.

Keywords: Itatiaia National Park. *Saltator spp.* Ecological biomarkers.

6.3. INTRODUÇÃO

A preservação da diversidade biológica e dos recursos naturais não renováveis são de extrema importância para a manutenção da sobrevivência humana e suas futuras gerações. Atualmente, 70% da população brasileira vive no bioma da Mata Atlântica. Sua abundância de nascentes e mananciais tem importante relação no abastecimento de água para a população e são fundamentais para a regulação climática. Associado ao recurso genético, são fonte de substâncias para fins medicinais, fonte de renda para atividade da comunidade tradicional, além do seu potencial econômico para o turismo ecológico. A Mata Atlântica é um patrimônio Nacional protegido pela Lei 11.428/2006 e se faz necessário seu monitoramento constante através da pesquisa científica e fiscalização dos órgãos competentes afim de salvaguardar a biodiversidade, garantir a saúde humana, proteção do recurso hídrico e dos valores paisagísticos.

O PNI está localizado no eixo Rio de Janeiro e São Paulo, que são as cidades mais populosas com uma economia bem concentrada no sudeste brasileiro. O PNI por sua vez é o primeiro Parque Nacional do Brasil, os quais estão classificados no Sistema Nacional de Unidades de Conservação da Natureza (SNUC, 2000), como Unidades Federais de Proteção Integral. Os principais objetivos de uma UC Federal são: proteger a natureza sendo permitido apenas o uso indireto dos seus recursos naturais, proteger espécies ameaçadas de extinção, preservar e restaurar a diversidade de um ecossistema, e incentivar a pesquisa científica e fomentar o monitoramento ambiental.

A avifauna do PNI possui significativa importância econômica para o ecoturismo nacional e internacional, sendo um dos principais destinos para observação de aves devido à diversidade de espécies facilmente observáveis. Além disso, as aves desempenham funções essenciais como polinizadoras, dispersoras de sementes e controladoras de insetos, o que destaca sua importância ecológica. O declínio das populações de aves pode resultar em desequilíbrios ecológicos significativos, como aumento de pragas, redução na dispersão de sementes e polinização, afetando a regeneração e a biodiversidade vegetal. Isso também impacta a cadeia alimentar, prejudicando predadores e competidores, e altera ciclos de nutrientes como nitrogênio e fósforo, reduzindo a fertilidade do solo. A falta de locais adequados para nidificação pode prejudicar a reprodução e proteção dos filhotes, contribuindo para um ambiente menos propício à diversidade e estabilidade do ecossistema (WELAN et al., 2011).

As aves são amplamente reconhecidas como bioindicadores da qualidade ambiental e da saúde dos ecossistemas. Os coccídios nos pássaros, por sua vez, são biomarcadores por evidenciarem seus estados de imunidade, mostrando precocemente e indiretamente alterações ambientais que estejam estressando-as. Em outras palavras, em ambientes bem preservados, várias ameaças persistem para as populações de aves, como mudanças climáticas, poluição, fogo, espécies invasoras, doenças e mudanças no uso da terra; portanto, é fundamental o monitoramento contínuo de biomarcadores a fim de compreender e mitigar precocemente esses impactos, garantindo a conservação da diversidade de aves, principalmente em áreas protegidas (MARONEZI et al. 2024b).

Nexte contexto, o presente estudo tem como objetivo identificar e quantificar coccídios parasitas de pássaros do gênero *Saltator* no PNI, conferindo a diversidade e distribuição destes cromistas em diferentes *Saltator* spp. e, assim, avaliando seus potenciais como biomarcadores de conservação ambiental. Atualmente só há registros de três *Saltator* spp. dentro dos limites do PNI: *S. similis*, *S. fuliginosus* e *S. maxillosus*. Aferir a prevalência e densidade de coccídios de *Saltator* spp. em diferentes zoneamentos do PNI pode revelar dados importantes de impactos ambientais e qualidade de preservação ambiental nesta UC, principalmente após o relato das

altas prevalências e densidades de *Isospora* spp. de trinca-ferro de gaiola de criações no entorno do Parque. Portanto, o monitoramento desse biomarcador pode apresentar relatórios de qualidade ambiental em zoneamentos da UC ao longo do seu gradiente altitudinal e uso do solo. Adicionalmente, a identificação de novos hospedeiros de *Saltator* spp. no Parque pode revelar a transmissão/dispersão de *Isospora* spp. no Parque ou até em toda a região Neotropical onde as espécies de *Saltator* estão distribuídas.

6.4. MATERIAL E MÉTODOS

6.4.1. Local de estudo, pontos de captura de aves e coleta de amostras

A localidade selecionada para o desenvolvimento deste estudo foi o PNI, o qual está situado nas divisas dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo. O PNI é uma Unidade de Conservação de Proteção Integral que faz parte do Mosaico de Unidades de Conservação da Serra da Mantiqueira, que abriga uma grande biodiversidade de passeriformes que representam uma amostragem das aves brasileiras observadas na Mata Atlântica (ICMBIO, 2024). O trabalho atual agrupa resultados de 18 expedições para o PNI que objetivaram a captura e coleta de amostras fecais de aves nas seguintes localidades (Figura 34): (1) Trilha das Borboletas (22°26'17"S; 44°37'33"W) nos meses de fevereiro 2023 e janeiro 2024; (2) Trilha Espelho do Céu (22° 26' 49.53" S; 44° 36' 49.91" W) no mês de abril de 2023; (3) Trilha dos 3 Picos (22° 26' 07.41" S; 044° 36' 25.19" W) nos meses julho de 2023 e junho de 2024; (4) Travessia Ruy Braga (Km 1) (22°26'17.00"S, 44°37'33.00"W) no mês de julho de 2017, março de 2019, maio de 2021 e fevereiro de 2022; (5) Travessia Ruy Braga (Km 5) (22° 26' 03.02" S; 44° 37' 35.79" W) no mês de setembro de 2023; (6) Travessia Ruy Braga (Km 2) (22° 25' 39.90" S; 44° 37' 49.41" W) no mês de julho de 2022; (7) Visconde de Mauá (22°20'18.53"S; 44°36'51.08"W) no mês de julho de 2021; (8) Casa de Pedra (22° 22' 07,34" S; 44° 44' 42,63" W) nos meses julho, outubro e dezembro de 2019, junho de 2021, agosto de 2022 e abril de 2024.

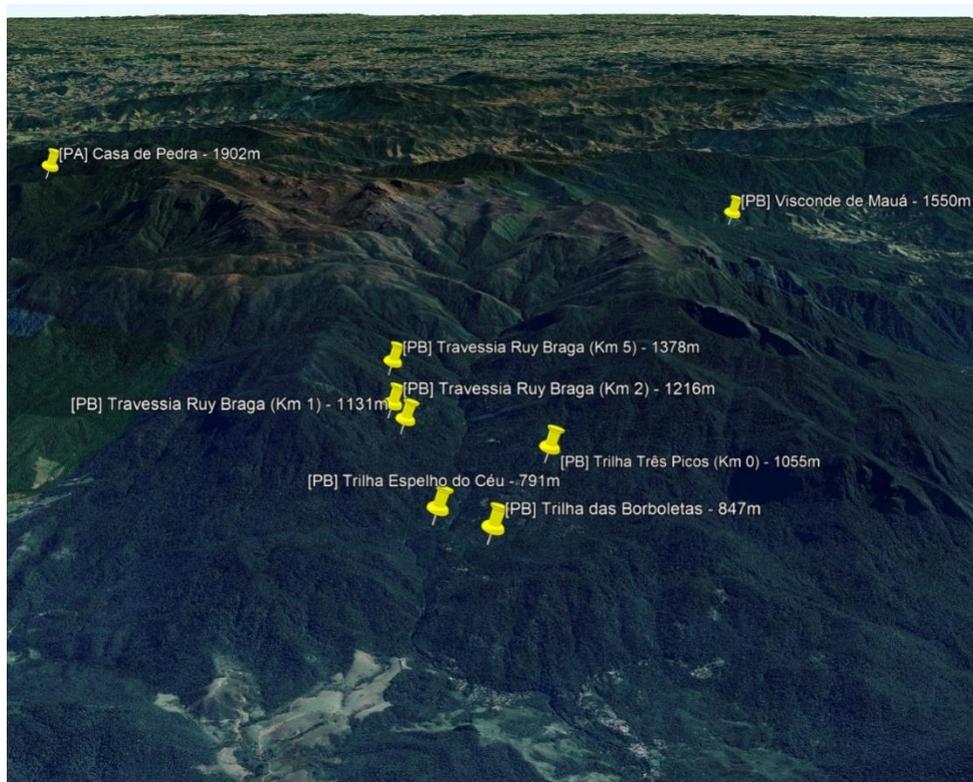


Figura 34. Mapa de imagem de satélite em 3D do território do Parque Nacional do Itatiaia com indicadores das localidades de expedições realizadas onde foram capturados *Saltator* spp. de 2017 a 2024. Fonte: Google Earth, 2024.

Em todas expedições pelo menos um *Saltator* sp. foi capturado. Nos locais de capturas, foram utilizadas redes de neblina com tamanho total de 9m por 3m e 18m por 4m, dimensões

de malha de 20mm e 40mm e fixadas em hastes de alumínio do tipo encaixe ou telescópio, objetivando a captura das aves. A frequência de verificação das redes de neblina foi de, aproximadamente, 20 minutos, conduzindo-se em sequência com a retirada manual da ave, minimizando o estresse (NASCIMENTO et al., 1994). As aves foram inicialmente mantidas em sacos de pano e, em seguida, foram identificadas de acordo com os guias de identificação de aves Sigrist (2014) e Ridgely et. al. (1994) e fotografadas. Logo após a identificação, as aves foram transferidas para caixas de papelão que são tradicionalmente utilizadas para o comércio de aves de pequeno/médio porte. Estas caixas foram previamente forradas com papel absorvente objetivando-se obter as defecações isoladas para a quantificação de oocistos por defecação (OoPD), conferindo assim as densidades (DOLNIK, 2006). Após a obtenção das amostras fecais, as aves foram anilhadas, em seguida, libertadas no próprio ambiente de capturas. Em média, o tempo de acondicionamento para a defecação variou entre 30min até 60min.

Toda metodologia está autorizada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) sob autorização do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO) de nº 45200, 49605 e 54951 e Comissão de Ética CEUA/UFRRJ protocolos IV-036/2014, IB-008/2015 e IV-6606250616 (ANEXOS).

6.4.2. Processamento das amostras

As amostras fecais obtidas foram transportadas em tubos cônicos de centrífuga com capacidade de 15ml, contendo uma defecação inteira diluída em solução aquosa de Dicromato de Potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5% a 1:6 (v/v), possibilitando a manutenção dos oocistos. As mesmas foram transportadas para o LABICOC, no DBA do ICBS da UFRRJ. No laboratório, as amostras foram mantidas nos tubos cônicos de centrífuga e solução de $K_2Cr_2O_7$ em temperatura ambiente. Para garantir a esporulação dos oocistos, os tubos foram abertos e homogeneizados assegurando constante presença de oxigênio atmosférico por um período mínimo de 10 dias.

Após a esporulação dos oocistos, utilizou-se a técnica modificada de flutuação com solução saturada de sacarose à 1,23 g/ml, via centrifugação (10min/2.000 rpm) descrita por Sheather (1923) e modificada por Duszynski e Wilber (1997), onde os oocistos foram separados das fezes e do $K_2Cr_2O_7$.

6.4.3. Visualização, fotomicrografia e quantificação dos oocistos

A visualização e as fotomicrografias dos oocistos recuperados foram realizadas utilizando microscópio binocular Olympus BX (Olympus Ótico, Tóquio, Japão) acoplado a uma câmera digital Eurekam 5.0 (BEL Photonics, Monza, Itália), em objetiva de 100X com o uso de óleo de imersão. A quantificação foi realizada com base na metodologia de Dolnik (2006) e Dolnik et al. (2010), onde a contagem dos oocistos é feita a partir de uma defecação inteira. A lamínula foi observada criteriosamente para quantificação. Esse método promove a densidade por meio da quantificação de OoPD (BUSH et al. 1997). O método facilita a investigação em campo e, principalmente, com pássaros que defecam quantidades muito pequenas de fezes, insuficientes para alcançar 1g. Para identificação específica dos oocistos recuperados utilizou-se como base as diretrizes e estudos morfológicos e morfométricos destacados por Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2014) que auxiliam na classificação dos oocistos esporulados de coccídios.

6.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas 18 expedições realizadas para este estudo foram capturados 42 espécimes de *Saltator* spp. no PNI. A espécie mais representativa foi *S. similis* com 35 espécimes capturadas. O bico-de-pimenta *S. fuliginosus* foi capturado apenas em dois momentos e o bico-grosso *S. maxillosus* foi capturado em cinco momentos. Após a coleta e processamento das amostras destes 42 *Saltator* spp., pôde-se constatar a presença de coccídios de *Isoospora* spp. Observou-se que as aves capturadas estavam aparentemente saudáveis, incluindo aquelas parasitadas por coccídios, exceto um espécime positivo com sinais clínicos de coccidiose. A totalidade de aves capturadas e identificadas, assim como as prevalências de aves positivas, por espécies, podem ser visualizadas na Tabela 3.

Tabela 3. Prevalência e densidade de coccídios do gênero *Isoospora* de amostras fecais de *Saltator* spp. silvestres capturados no Parque Nacional do Itatiaia.

Espécies	Amostras											
	Sem sinais clínicos						Com sinais clínicos			Geral		
	Planalto de Altitude			Parte Baixa			Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total
	Positivo	Negativo	Total	Positivo	Negativo	Total						
<i>Saltator similis</i>	11 (3-652; 163) ¹	11	22(50%) ²	8 (5-311; 100)	4	12(66%)	1(6.500)	0	1 (100%)	20 (6-6500; 455)	15	35(57%)
<i>Saltator maxillosus</i>	2 (1-9; 5)	3	5 (40%)	0	0	0	0	0	0	2 (1-9; 5)	3	5 (40%)
<i>Saltator fuliginosus</i>	0	0	0	1 (1-1; 1)	1	2 (50%)	0	0	0	1 (1-1; 1)	1	2 (50%)
Totais:	13 (1-652; 119)	14	28 (46%)	9 (1-311; 89)	5	14 (64%)	1 (6.500)	0	1 (100%)	23 (0,5-455; 153)	19	42 (54%)

¹Número de positivos seguido da amplitude e média de densidade entre parêntesis. ²Prevalência.

As informações obtidas no presente estudo sobre a prevalência de coccídios de *Isoospora* spp. de *Saltator* spp. no PNI reforçam que a densidade de oocistos de coccídios conferem o estado de saúde dessas aves de vida livre, potencializando a sua utilização como biomarcador de monitoramento de conservação ecológica. Notavelmente, o único indivíduo capturado com sinais clínicos de coccidiose apresentou uma densidade excepcionalmente alta de 6.500 OoPD, em contraste com a média de 119 OoPD observada nas aves sem sinais clínicos evidentes. Essa disparidade sugere uma forte correlação entre a densidade e a coccidiose em *Saltator* spp. de vida livre (BERTO & LOPES, 2020).

Adicionalmente, a localização deste indivíduo na Parte Baixa do PNI, porém já numa área de transição vegetal entre a floresta ombrófila e o planalto de altitude, sugere que os fatores ambientais presentes nesta localidade podem influenciar significativamente no estresse e consequentemente na imunidade e susceptibilidade a coccidiose severa. De fato, esta área de transição pode estar associada a uma maior competitividade inter-específica das aves, por maior disputa de alimentos, território, etc., uma vez que é uma região que contém espécies endêmicas da Parte Baixa, mas também da Parte Alta do PNI (DOLNIK, 2010; BERTO & LOPES, 2020).

Outra suposição é que o relato de *S. similis* com 6.500 OoPD, conforme apresentado no capítulo II indica que, por ser um animal juvenil, pode manifestar sinais clínicos devido a uma primo-infecção ou à imunidade em desenvolvimento (Krautwald-Junghanns et al., 2009; Merino, 2010; BERTO & LOPES, 2020). Em contrapartida, 61% dos trinca-ferros *S. similis*

positivos no presente estudo são igualmente jovens, mas com baixas densidades de média de 145 OoPD. Neste sentido, esse comparativo revela que a fase de vida juvenil não foi um fator determinante para o desenvolvimento de maiores OoPDs ou sinais clínicos de coccidiose.

A comparação entre os estudos em cativeiro dos Capítulos I e III (MARONEZI et al., 2022; 2024b) e as observações do presente estudo de aves de vida livre no PNI revelam diferenças significativas na prevalência e na manifestação clínica de coccídios em *Saltator* spp. Maronezi et al. (2022) identificaram prevalência de 88% de coccídios em *S. similis* mantidos em cativeiro, com densidades de oocistos (OoPD) significativamente maiores que aquelas observadas em *Saltator* spp. de vida livre no presente estudo; entretanto, sem sinais clínicos de coccidiose. Similarmente, Maronezi et al. (2024b) registraram 9.000 OoPD de *S. aurantirostris* em cativeiro, também sem sinais clínicos. Estes resultados contrastam profundamente com os resultados do presente estudo em *Saltator* spp. de vida livre no PNI, onde a alta densidade de 6.500 OoPD observada no único espécime foi diretamente relacionada com sinais clínicos de coccidiose, em comparação com a média de 119 OoPD nas aves assintomáticas. Portanto, no presente estudo os coccídios de *Isospora* spp. de *Saltator* spp. foram observados como biomarcadores da saúde de *Saltator* spp., pois marcaram sensivelmente alterações na imunidade e susceptibilidade à coccidiose em seu ambiente natural, mesmo com uma média de OoPD frequentemente observada como assintomática em cativeiro.

Nessa perspectiva, os resultados indicam que o PNI está em uma condição de enzootia, com uma prevalência de 46% e uma densidade de 119 oocistos por grama de fezes (OoPD) na Parte Alta, e uma prevalência de 64% e densidade de 89 OoPD na Parte Baixa. Tais dados evidenciam que as formas de uso do solo em diferentes gradientes altitudinais não têm alterado significativamente a distribuição e dispersão dos coccídios.

Adicionalmente os dados sugerem que *S. similis*, com uma densidade média de 455 OoPD, pode atuar como um dispersor significativo de coccídios no PNI. Enquanto *S. fuliginosus* e *S. maxillosus* apresentam densidades muito menores (1 e 5 OoPD, respectivamente), *S. similis*, frequentemente criado em gaiolas nas proximidades do parque, pode estar contribuindo para a transmissão em *Saltator* spp. de vida livre. Como *S. fuliginosus* e *S. maxillosus* dependem fortemente de áreas florestais conservadas e são sensíveis a impactos ambientais, a presença de *S. similis* e suas densidades de oocistos podem representar uma ameaça à saúde dessas espécies mais vulneráveis (BERTO & LOPES, 2020).

O bico-de-pimenta *S. fuliginosus* positivo eliminou apenas um oocisto morfológicamente identificado como *I. similisi*. Este achado, juntamente com o estudo de Maronezi et al. (2024b), que identifica essa mesma espécie coccidiana parasitando *S. aurantirostris*, sugere que esta espécie de coccídio possui uma ampla distribuição Neotropical, infectando diversos *Saltator* spp., incluindo o bico-encarnado *S. grossus*, que é o hospedeiro-tipo de *I. formarum*, presente tanto a leste (cis-andina) quanto a oeste (trans-andina) da Cordilheira dos Andes no Equador. (MCQUISTION; CAPPARELLA, 1992). Neste caso, devido a similaridade/compatibilidade morfológica entre *I. formarum* e *I. similisi* e por esta observação de especificidade minimamente em nível de gênero de hospedeiro, *I. similisi* poderia ser considerado como sinonímia júnior de *I. formarum*, obedecendo a lei da prioridade do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Em contrapartida, devido ao único oocisto observado do único bico-de-pimenta *S. fuliginosus* positivo neste estudo, esta reclassificação seria precoce. Assim sendo, conforme mais *Saltator* spp., além de *S. similis*, sejam observados como hospedeiros de *I. similisi*, principalmente *Saltator* spp. simpátricos com o bico-encarnado *S. grossus* (ex.: tempera-viola *S. maximus*), esta reclassificação estaria bem fundamentada.

Os dois espécimes de bico-grosso *S. maxillosus* positivos apresentaram um morfotipo de *Isospora* sp. até então incompatível com as espécies descritas na literatura científica na subfamília Saltatorinae, sugerindo potencialmente a descoberta de uma nova espécie. A

ausência de oocistos descritos em *S. similis* nas amostras de *S. maxillosus* indica que essas espécies podem ter hábitos distintos ou ocupar nichos ecológicos diferentes, o que reduz a probabilidade de transmissão desses oocistos por infecção orofecal entre elas. Outra possibilidade é que *S. maxillosus* esteja num processo de especiação avançado em relação as demais *Saltator* sp., sendo portanto não susceptível a *I. trincaferri*, *I. similisi* e *I. saltatori* (BERTO & LOPES, 2020). Com um maior número amostral e a persistência da ausência destas *Isospora* sp. em *S. maxillosus*, ou preferencialmente por um experimento de infecção experimental, caso esta não suscetibilidade seja comprovada, surge a hipótese de que *S. maxillosus* poderia ser reclassificado em outro gênero.

Finalmente, com base nos resultados obtidos neste estudo, pode-se concluir que *Isospora* spp. estão distribuídas de forma baixa a moderada no PNI, tanto em prevalência, quanto em densidade, indicando o bom estado de saúde de suas aves hospedeiras e, conseqüentemente, o bom estado de conservação do PNI. Adicionalmente, conforme novos dados e resultados sejam obtidos no futuro, uma nova espécie de *Isospora*, rearranjos taxonômicos de *Isospora* spp. de *Saltator* spp., e a determinação da dispersão e distribuição de *Isospora* spp. de *Saltator* spp. na região Neotropical e no PNI podem ser ampliados, intensificando a utilização dos coccídios de *Saltator* spp. como biomarcadores ecológicos.

6.6. CONCLUSÃO

Após obtenção dos resultados e discussão pode se chegar a seguintes conclusões:

- i) *Isospora. trincaferri*, *I. saltatori* e *I. similisi* de *Saltator* spp. foram identificadas e caracterizadas morfológicamente e molecularmente;
- ii) *Saltator. aurantirostris* foi gravado como novo hospedeiro para *I. similisi*, ampliando a identificação molecular dessa espécie no entorno do PNI;
- iii) A prevalência e densidade de *Isospora* spp nas Partes Alta e Baixa do PNI, foram equivalentemente baixas a moderadas indicando o bom estado de conservação do PNI.
- iv) Apenas um pássaro *S. similis* juvenil foi observado com sinais clínicos de coccidiose correlacionada a alta densidade de oocistos.
- v) Os coccídios foram observados como biomarcadores do estado de saúde e imunidade das aves bioindicadoras e, indiretamente, de conservação ambiental.

7. CONCLUSÕES GERAIS

Na delegacia de Itatiaia, há relatos preocupantes sobre a prática de soltura de aves, principalmente *S. similis*, interceptadas do tráfico de animais, devido à falta de capacidade de acolhimento em centros de triagem de animais silvestres. Esta prática ocorre sem considerar o potencial risco para a saúde da população natural de aves do PNI, devido à alta densidade parasitária amplamente conhecida que muitas dessas aves podem ter. A introdução de aves com densidade elevada pode amplificar a presença de parasitas no ambiente natural, impactando negativamente a saúde das aves silvestres locais e exigindo uma abordagem mais cuidadosa e consciente na gestão da vida silvestre. Esse estudo colabora com informações significativas para projetos de monitoramento e reintegração de espécies no PNI.

Além disso, a necessidade de novos centros de triagem e reabilitação é uma urgência, pois a capacidade atual dos órgãos de acolhimento e triagem da fauna silvestre, como o CETAS, não é suficiente para a demanda crescente de animais silvestres resgatados. Por este motivo, alguns desses órgãos se encontram à beira do colapso devido à falta de vagas para acomodar o fluxo contínuo de animais silvestres resgatados. Este problema não é apenas local, mas sim um reflexo de um sistema ambiental sobrecarregado e desafiado. Esta falta de infraestrutura adequada não apenas limita a capacidade de cuidar adequadamente dos animais resgatados, mas também compromete severamente os esforços de reintegração de espécies nativas em seus habitats naturais. Portanto, a criação de novos centros não é apenas uma questão de logística, mas uma medida essencial para preservar a biodiversidade local e garantir a saúde dos ecossistemas naturais.

O Instituto Chico Mendes (ICMBio), órgão federal responsável pela gestão de Unidades de Conservação no Brasil, financia o projeto de reintegração de trinca-ferros no Parque Nacional da Tijuca, provenientes do tráfico de animais e alojados no Cetas-RJ. Com base nessa prática que acontece em outro Parque Nacional, esta tese apresenta dados importantes e significativos que fundamentam cientificamente essa prática, visando reintegrar novos espécimes sem prejudicar a avifauna local. Além disso, a junção, destes modelos podem ser replicados em diferentes Unidades de Conservação no bioma Mata Atlântica.

A legislação inicial, especificamente a Instrução Normativa Ibama 179/2008, que delineava diretrizes para destinação de animais da fauna silvestre apreendidos, resgatados ou entregues às autoridades competentes, incluía critérios para seleção e reintegração à natureza, como exames obrigatórios de coproparasitologia para pesquisa de *Isospora* spp. durante a quarentena. Essa normativa foi revogada e substituída pela IN 5/2021 Ibama, que já não requer mais essa pesquisa específica. Esta mudança, lamentavelmente, traz prejuízos, pois a pesquisa de *Isospora* spp. é fundamental para a avaliação da saúde e qualidade de vida das aves antes da reintegração ao habitat natural.

Neste contexto, esta tese de doutoramento resgata a importância do exame coproparasitológico para quantificação dos coccídios antes da soltura/reintrodução de aves silvestres em ambientes em enzootia. Quando em enzootia os coccídios raramente causam doenças nas aves, entretanto com a introdução de altas densidades de oocistos pela soltura imprudente de aves com coccidiose severa pode comprometer os esforços de conservação da biodiversidade local. Exacerbam os riscos para a saúde das aves, aumentando a vulnerabilidade às doenças parasitárias como a coccidiose.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reintrodução de espécies sem o devido cuidado pode introduzir doenças e aumentar as pressões sobre populações já vulneráveis de aves nativas. A adaptação às condições ambientais alteradas e a promoção de práticas de manejo adaptativas são essenciais para garantir a eficácia dos programas de reintegração. Portanto, é imperativo que políticas de manejo sejam revistas e reforçadas, garantindo que todos os indivíduos reintroduzidos passem por rigorosa avaliação de saúde, incluindo o exame coproparasitológico para detecção de coccídios. A implementação dessas medidas não apenas protege a saúde das aves nativas, mas também fortalece a resiliência dos ecossistemas frente aos desafios ambientais contemporâneos, assegurando um futuro sustentável para as populações de aves no PNI.

Para garantir a proteção e a reabilitação eficaz da fauna resgatada do tráfico na região do PNI, é essencial desenvolver novos centros de triagem. Esses centros, que podem incluir instalações privadas, não apenas asseguram um tratamento digno e respeitoso para os animais, mas também ajudam a reduzir os impactos negativos nos ecossistemas locais, vitais para a manutenção da saúde ambiental. Além disso, a criação de projetos de reintegração deve ser incentivada, com financiamento de empresas ambientalmente responsáveis e embasamento científico em todas as etapas. Com a implementação de novos centros de triagem, mesmo que privados, os órgãos fiscalizadores terão a oportunidade de atuar de forma mais rigorosa no combate ao tráfico de animais. A colaboração entre os setores público, privado e terceiro setor é fundamental para elaborar e executar iniciativas que promovam a reintegração responsável e sustentável das espécies nativas. Tais esforços são indispensáveis para a conservação da biodiversidade na região do PNI, garantindo que os ecossistemas naturais se mantenham equilibrados e saudáveis.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFFONSECA, A. *Saltator coerulences* (VIEILLOT, 1817). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2020. Disponível em: <https://www.wikiaves.com.br/122758> Acesso em: 14 Maio 2024.

ANDRADE, L. D. A. S.; ORTÚZAR-FERREIRA C. N.; OLIVEIRA M. S.; CARDOZO S. V.; LIMA V. M.; BERTO B. P. *Isoospora juruviae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from chivi vireos - *Vireo chivi* (VIEILLOT, 1817) (Passeriformes: Vireonidae) in South America. **Parasitol. Int.** 98: 102806. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2023.102806> 2024.

ANTUNES, B. J. *Saltator fuliginosus* (DAUDIN, 1800). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2020. Disponível em: <<http://www.wikiaves.com/3645579>> Acesso em: 14 Abr 2022.

ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. **Parasitic diseases of wild birds**. Singapore, Wiley-Blackwell. 2008.

BARCELLOS, M. C. **Uma História do Parque Nacional do Itatiaia**: espelho de nacionalidade e reserva da memória Brasileira. 1º Edição, Itatiaia RJ. Instituto Campo Belo, 2022.

BARRETO, C.; VILELA, D. A. R.; HOURI, B. F.; LARA, L. B.; TORRES, A. C. D.; SILVA, A. S. G.; CASTRO-FILHO, R. P. L.; COSTA, C. S.; MARTINS, N. R. S. New *Isoospora* and Host Species in Brazilian Passerines. **Brazilian Journal of Poultry Science**, 2020.

BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Two new coccidian parasites of green-winged saltator (*Saltator similis*) from South America. **Acta Protozool**, v. 47, n. 3, p. 263-267, 2008.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; MCINTOSH, D.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; LOPES, C. W. G. Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). **Systematic Parasitology**, v. 80, p. 159-204, 2011.

BERTO, B. P.; MCINTOSH, D.; LOPES, C. W. G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, p. 1-15, 2014.

BERTO, B. P.; LOPES, B. B.; MELINSKI, R. D.; SOUZA, A.; RIBAS, C.; ABREU, F.; FERREIR, I.; LOPES, C. W. G. Coccidial dispersion across trans- and cis-Andean antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae): *Isoospora sagittulae* McQuiston and Capparella, 1992 (Apicomplexa: Eimeriidae) from non-sympatric hosts. **Can. J. Zool.** 2014b; 92: 383-388. <https://doi.org/10.1139/cjz-2013-0277> 2014.

BERTO, B. P., LOPES, C. W. G. Coccidia of wild birds as ecological biomarkers: Some approaches on parasite-host-environment interaction. **The Journal of Parasitology**, 106(5), 707-713. 2020.

BIARD, C.; MONCEAU, K.; TEIXEIRA, M.; MOTREUIL, S.; BETTENCOURT-AMARANTE, S.; DEVELAY, L.; MOEREAU, J. Coccidial oocyst release: once a day or all

day long? Tropical bird hosts shed new light on the adaptive significance of diurnal periodicity in parasite output. **Parasitol** 149(4): 469-481. 2002.

BIRDLIFE INTERNATIONAL Disponível em: <<http://www.birdlife.org>>. Acessado em: 25 Abr. 2022.

BIRDLIFE INTERNATIONAL IUCN Red List for birds. [cited 2024 Apr 27]. Available from: <https://datazone.birdlife.org>. 2024.

BOX, E. D. Isospora as an Extraintestinal parasite of passerine birds. **J. Protozool.** 28(2):244-246. <https://dx.doi.org/10.1111/j.1550-7408.1981.tb02842.x> 1981.

BRASIL Presidência da República, Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos. **Lei n. 11.428, de 22 de dezembro de 2006.** Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. Brasília, DF, 2006.

BUGONI, L.; MOHR, L. V.; SCHERER, A.; EFE, M. A.; SCHERER, S. B. Biometry, moult and brood patch parameters of birds in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Ornitologia**, São Leopoldo, v. 10, n. 1, p. 85-94, 2002.

BUSH, A. O.; LAFFERTY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, p. 575-583, 1997.

COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; DE OLIVEIRA, V. M.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Diagnóstico e tratamento das coccidioses em trinca-ferros-verdadeiros *Saltator similis* d'Orbigny Lafresnaye, 1837 mantidos em regime de quarentena. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 34, p. 46-54, 2012.

COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; OLIVEIRA, V. M. D.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Oocyst shedding by green-winged-saltator (*Saltator similis*) in the diagnostic of coccidiosis and *Isospora similis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, p. 64-70, 2013.

CAMPOS, S. D. E.; MACHADO, C. S. C.; SOUZA, T. V. T.; CEVAROLLI, R. C.; ALMOSNY, N. R. P. Extraintestinal isosporoid coccidian causing atoxoplasmosis in captive green-winged saltators: clinical and hematological. **Pesq. Vet. Bras** 37(11): 1327-1330. 2017.

CARNEIRO, M. B.; DE CALAIS JÚNIOR, A. F.; MARTINS, I. V. Avaliação Coproparasitológica e Clínica de Aves Silvestres e exótica mantidas em criatórios particulares no município de Alegre-ES. **Ciência Animal Brasileiras, Goiânia**, v. 12, n. 3, p. 525-529, 2011.

CASTRO, V.; FERREIRA A. J. P.; GUIMARAES, M. B. Ocorrência de afecções em picharros (*Saltator similis*) atendidos no ambulatório de aves da FMVZ/USP no período entre 2009 e 2015. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 14, n. 1, p. 43-43, 2016.

CHAVES J. A.; HIDALGO J. R.; KLIČKA J. Biogeography and evolutionary history of the Neotropical genus *Saltator* (Aves: Thraupini). **J. Biogeogr.** 40(11): 2180-2190. <https://doi.org/10.1111/jbi.12150> 2013.

COSTA, J. M. *Saltator maxillosus* (CABANIS, 1851). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2015. Disponível em: <<http://www.wikiaves.com/1718262>> Acesso em: 04 Abr 2022.

DESTRO, G. F. G.; PIMENTEL, T. L.; SABAINI, R. M.; BORGES, R. C.; BARRETO, R. Efforts to combat wild animals trafficking in Brazil. In: LAMEED, G. A. (Ed.), **Biodiversity Enrichment in a Diverse World** (pp. 421-436). Londres, 2012.

DOLNIK, O. V. The relative stability of chronic *Isospora sylvianthina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in blackcaps (*Sylvia atricapilla*): evaluation of a simplified method of estimating isosporan infection intensity in passerine birds. **Parasitol. Res.** 100: 155-160. 2006.

DOLNIK O. V.; PALINAUSKAS, V.; BENSCH, S. Individual oöcysts of *Isospora* (Apicomplexa: Coccidia) parasites from avian feces: from photo to sequence. **J. Parasitol.** 95(1): 169-174. <https://doi.org/10.1645/GE-1873.1> 2009.

DOLNIK O. V.; DOLNIK, V. R.; BAIRLEIN, F. The effect of host foraging ecology on the prevalence and intensity of coccidian infection in wild passerine birds. **Ardea** 98(1): 97-103. 2010.

DUSZYNSKI, D. W.; WILBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. **J. Parasitol.** 83(2): 333-336. <https://doi.org/10.2307/1997>.

DUSZYNSKI, D. W. Biodiversity of the Coccidia (Apicomplexa: Conoidasida) in vertebrates: what we know, what we do not know, and what needs to be done. **Folia Parasitol.** 68: 001. 2021.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 856 p. 2010.

EL-SHERRY, S.; OGEDENGBE, M. E.; HAFEEZ, M. A.; BARTA, J. R. Divergent nuclear 18S rDNA paralogs in a turkey coccidium, *Eimeria meleagrimitis*, complicate molecular systematics and identification. **Int. J. Parasitol.** 43(8), 679-685. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.03.005> 2013.

FAYER R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. **Vet. Parasitol.** 6(1): 75-103. 1980.

FENALTI, O. A. *Saltator aurantiirostris* (VIEILLOT, 1817). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2020. Disponível em: <https://www.wikiaves.com.br/222969&t=s&s=11713> Acesso em: 14 Mai 2024.

FREITAS, M. F. L.; OLIVEIRA, J. B.; CAVALCANTI, M. D. B.; LEITE, A. S.; MAGALHAES, V. S.; OLIVEIRA, R. A.; EVENCIO-SOBRINO, A. Gastrointestinal parasites of captive wild birds in Pernambuco state, Brazil. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 57, p. 50-54, 2002.

FREITAS, M. F.; OLIVEIRA, J. B.; BRITO-CAVALCANTI, M. D.; FREITAS, D. A. Occurrence of coccidiosis in canaries (*Serinus canarius*) being kept in private captivity in the state of Pernambuco, Brazil. **Parasitología latinoamericana**, v. 58, n. 1-2, p. 86-88, 2003

FREITAS, A. C. P. D.; OVIEDO-PASTRANA, M. E.; VILELA, D. A. D. R.; PEREIRA, P. L. L.; LOUREIRO, L. D. O. C.; HADDAD, J. P. A.; MARTINS, N. R. S.; SOARES, D. F. D. M. Diagnóstico de animais ilegais recebidos no centro de triagem de animais silvestres de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, no ano de 2011. **Ciência Rural** 45(1): 163-170. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131212> 2015.

FOREYT, W. J. **Parasitologia Veterinária - Manual de referência**. Tradução e Revisão Técnica de Castro e Aquino. São Paulo: Roca, 2005.

GARDNER, S. L.; DUSZYNSKY, D. W. Polymorphism of eimerian oocysts can be a problem in naturally infected hosts: An example from subterranean rodents in Bolivia. **J. Parasitol.** 76: 805-811. <https://doi.org/10.2307/3282798> 1990.

GIRAUDEAU, M.; MOUSEL, M.; EARL, S.; MCGRAW, K. Parasites in the city: degree of urbanization predicts poxvirus and coccidian infections in house finches (*Haemorhous mexicanus*). **PloS one** 9(2), e86747. 2014.

GODOY, S. N.; MATUSHIMA, E. R. **Patologia comparada de Passeriformes oriundos do tráfico**: implicações na soltura. Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

GODOY S. N.; MATUSHIMA E. R. A survey of diseases in passeriform birds obtained from illegal wildlife trade in São Paulo city, Brazil. **J. Avian Med. Surg.** 24:199-209, 2010.

GOOGLE LLC. **Google Earth – Parque Nacional do Itatiaia**. 2023. Disponível em: <https://earth.google.com/web/search/Parque+nacional+do+Itatiaia%5d/@-22.36688258,44.64426284,2344.57758715a,38368.81061047d,35y,0h,0t,0r/data=C10aMxItCiMweDlInZyYTI2NTk3ZTdiOjB4MjQwYmFjZTVlZDQyOGIyOC0GUGFycXVlGAIgASImCiQJluW5xYx2L0AR_x6MbLfpNsAZWmK1EBjUMEAhoXw1ZlE9VcA6AwoBMA>. Acesso em: julho de 2024.

IBAMA **Instrução Normativa 01/2003**. Dispõe sobre as atividades dos criadores amadoristas de Passeriformes da fauna silvestre brasileira. 2003. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/IN0001-240103.PDF> Acesso em 10/03/2022.

IBAMA **Instrução Normativa 10/2011**. O manejo de Passeriformes da fauna silvestre brasileira será coordenado pelo IBAMA, para todas as etapas relativas às atividades de criação, reprodução, comercialização, manutenção, treinamento, exposição, transporte, transferências, aquisição, guarda, depósito, utilização e realização de torneios. <http://www.ibama.gov.br/sophia/cnia/legislacao/IBAMA/IN0010-190911.pdf> Acesso em 10/03/2022 2011.

ICMBIO **Parque Nacional do Itatiaia**. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia>>. 2022. Acesso em: 25 abr 2022.

ICMBIO **Plano Ação Nacional para a Conservação das aves da Mata Atlântica**. Instituto Chico Mendes da Biodiversidade. Brasília, 2018. Disponível em <

<https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/pan/pan-aves-da-mata-atlantica/1-ciclo/pan-aves-da-mata-atlantica-sumario.pdf>> Acesso em Maio 2024.

ICMBIO PARNA ITATAIA. **Site do Parque Nacional do Itatiaia**. 2024. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia/> Acesso em: Maio 2024

KRAUTWALD-JUNGHANNS, M. E.; ZEBISCH, R.; SCHMIDT, V. Relevance and treatment of coccidiosis in domestic pigeons (*Columba livia* forma domestica) with particular emphasis on toltrazuril. **J. Avian Med. Surg.** 23: 1-5. <https://www.jstor.org/stable/27670700> 2009.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, p. 1547-1549, 2018.

LEVINE, N. D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. **The Journal of Parasitology**, 830-834. 1980.

LI, J.; XING, T.; WANG, L.; TAO, J.; LIU, Z. Inhibitory effect of S-nitroso-glutathione on *Eimeria tenella* oocysts was mainly limited to the early stages of sporogony. **Veterinary Parasitology**, v. 173, p. 64-69, 2010.

LICCO, S. ***Saltator grossus* (LINNAEUS, 1766)**. Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2020. Disponível em: <<https://www.wikiaves.com.br/527608&t=s&s=11707>> Acesso em: 14 Mai 2024.

LOPES, B. D. B.; BERTO, B. P.; MASSAD, F. V.; LOPES, C. W. G. *Isospora vanriperorum* (LEVINE, 1982) (apicomplexa: eimeriidae) in the green-winged saltator, *Saltator similis* and (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Passeriformes: cardinalinae) in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, p. 211-214, 2007.

LOPES, B. D. B.; BALTHAZAR, L. M. C.; COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; LOPES, C. W. G. Trafficking in wild passerines, reintroduction and coccidial transmission: *Isospora trincapferri* (BERTO, 2008) (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buff-throated saltator *Saltator maximus* Müller (Passeriformes: Cardinalidae). **Coccidia**, 1(1), 6-9. 2013.

MAIA-GOUVÊA, E. R.; GOUVÊA, E.; PIRATELLI, A. Comunidade de aves de sub-bosque em uma área de entorno do Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, p. 859-866, 2005.

MARCUS, W. ***Saltator maximus* (STATIUS MULLER, 1776)**. Wiki Aves. A Enciclopédia das Aves do Brasil, 2020. Disponível em: <<https://www.wikiaves.com.br/953832&t=s&s=11709&tag=FOTOADULTO>> Acesso em 20 de maio de 2024.

MARIETO-GONÇALVES, G. A.; MARTINS, T. F.; LIMA E. T.; SOUZA-LOPES, R.; ANDREATTI, L. R. F. Prevalência de Endoparasitas em Amostras Fecais de Aves Silvestres e Exóticas Examinadas no Laboratório de Ornitopatologia e no Laboratório de Enfermidades Parasitárias da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP. Botucatu, São Paulo, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 349-354, 2009.

MARONEZI, C.; OLIVEIRA, M. S.; GENOVEZ-OLIVEIRA, J. L.; MELLO, E. R.; CEPEDA, P. B.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, V. M.; BERTO, B. P. *Isospora* spp. (Eimeriidae) from green-winged saltators *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Thraupidae) from captivity near the Conservation Unit of the Itatiaia National Park in Southeastern Brazil. **Syst. Parasitol.** 99: 285-297. <https://doi.org/10.1007/s11230-022-10025-4> 9 2022.

MARONEZI, C.; ORTUZAR-FERREIRA, C. N.; ANDRADE, L. A. S.; CARUNCHO, C. M. S.; OLIVEIRA, M. S.; BERTO, B. P. Report of coccidiosis in a free-living green-winged saltator *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Passeriformes) in Itatiaia National Park in southeastern Brazil. **Pesqui. Vet. Bras.** (in press). 2024a.

MARONEZI, C.; ORTUZAR-FERREIRA, C. N.; OLIVEIRA M. S.; LIMA V. M.; CEPEDA P. B.; BERTO B. P. *Isospora similisi* recovered from a new host, *Saltator aurantiirostris*, with supplementary molecular data and notes on its taxonomy and distribution in the Neotropical Region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (in press). 2024b

MARQUES, A. B. **Avaliação do canto do trinca-ferro - *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) em relação ao processo de domesticação e suas implicações na conservação das aves canoras.** Tese de Doutorado, 2009. Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Brasil. 2009.

MARTINEZ, J.; VASQUEZ, R. A.; VENEGAS, C.; MERINO, S. Molecular characterisation of haemoparasites in forest birds from Robinson Crusoe Island: is the Austral Thrush a potential threat to endemic birds? **Bird Conserv. Int.** 25(2): 139-152. <https://doi.org/10.1017/S0959270914000227> 2015.

MATSUBARA, R.; FUKUDA, Y.; MURAKOSHI, F.; NOMURA, O.; SUZUKI, T.; TADA, C.; NAKAI, Y. Detection and molecular status of *Isospora* sp. from the domestic pigeon (*Columba livia domestica*). **Parasitol. Int.** 66(5): 588-592. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.05.004> 2017.

MERINO, S. Immunocompetence and parasitism in nestlings from wild populations. **Open Ornithol. J.** 3: 27-132. 2010.

MCQUISTION, T. E.; CAPPARELLA, A. Two new coccidian parasites from the slate-colored grosbeak (*Pitylus grossus*) of South America. **Journal of Parasitology**, v. 78, p. 805-80, 1992.

MMA Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade brasileira.** Disponível em < <https://antigo.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira.html> > Acesso em: Janeiro de 2023.

NASCIMENTO, I. L. S.; NASCIMENTO, J. L. X.; ANTAS, P. T. Z. **Manual de Anilhamento de Aves no Brasil.** 2ª ed. Brasília: Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 146p. 1994.

NEVES, F. M.; ERBESDOBLER, E. A. Estimativa do Tráfico de Aves Silvestres no Distrito Federal, Brasil. **Biodiversidade Brasileira-BioBrasil**, n. 1, 2021.

NORTON, C. C.; JOYNER, L. P. *Eimeria acervulina* and *E. mivati*: oocysts, life-cycle and ability to develop in the chicken embryo. **Parasitology**, v. 83, p. 269-279, 1981.

NUNES, P. B.; BARRETO, A. S.; FRANCO E. Z. Subsídios à ação fiscalizatória no combate ao tráfico de aves silvestres e exóticas em Santa Catarina. **Ornithologia** 5(1): 26-33. 2012.

ODUM, E. P. **Ecologia**. Rio de Janeiro, Brazil: Guanabara Koogan. 1998.

OGEDENGBE, J. D.; HANNER, R. H.; BARTA, J. R. DNA barcoding identifies Eimeria species and contributes to the phylogenetics of coccidian parasites (Eimeriorina, Apicomplexa, Alveolata). **Int. J. Parasitol.** 41(8): 843-850. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2011.03.007> 2011.

OGEDENGBE, M. E.; BRASH, M.; BARTA, J. R. The complete mitochondrial genome sequence of an *Isoospora* sp. (Eimeriidae, Eucoccidiorida, Coccidiasina, Apicomplexa) causing systemic coccidiosis in domestic Canaries (*Serinus canaria* Linn.). **Mitochondrial DNA A** 27(5): 3315-3317. <https://doi.org/10.3109/19401736.2015.1018201> 2016.

OGEDENGBE, M. E.; EL-SHERRY, S.; OGEDENGBE, J. D.; CHAPMAN, H. D.; BARTA, J. R. Phylogenies based on combined mitochondrial and nuclear sequences conflict with morphologically defined genera in the eimeriid coccidia (Apicomplexa). **Int. J. Parasitol.** 48(1): 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2017.07.008> 2018.

OLIVEIRA, P. S. D.; FERREIRA, M. A.; SILVA, L. M. D.; RODRIGUES, M. B.; CARDOZO, S. V.; BERTO, B. P. Diversity and distribution of coccidia of wild birds in an Atlantic forest fragment area in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, p. 457-464, 2017.

OLIVEIRA, A. R.; SOUZA, T. D.; MOL, J. P. S.; FLECHER, M. C.; HIURA, E.; SANTOS, R. L. Pathological and molecular characterization of systemic isosporosis (atoplasmosis) in captive green-winged saltator (*Saltator similis*). **Vet. Parasitol.** 255: 98-101. 2018.

OLIVEIRA, M. S.; MELLO, E. R.; CARDOZO, S. V.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, V. M.; FERREIRA, I.; BERTO, B. P. Distribution, redescription and molecular identification of *Isoospora striata* (MCQUISTON, 1997) (Eimeriidae) from woodcreepers (Dendrocolaptidae) in South America. **Parasitology Research**, v. 120, p. 2585-2593, 2021.

ORTÚZAR-FERREIRA, C. N.; OLIVEIRA, M. S.; ANDRADE, L. D. A. S.; MELLO, E. R.; LIMA, V. M.; BERTO, B. P. Molecular and statistical approaches to the delimitation of Eimeriidae species: a case of extreme polymorphism in eimerian oocysts from the plumbeous pigeon *Patagioenas plumbea* (VIEILLOT, 1818) (Columbiformes) in South America. **Parasitol. Res.** 123(1): 42. <https://doi.org/10.1007/s00436-023-08045-5> 2024.

PACHECO, J. F.; SILVEIRA, L. F.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; BENCKE, G. A.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; COHN-HALF, M.; MAURICIO G. N.; NAKA, L. N.; OLMOS, F.; POSSO, S. R.; LESS, A. C.; FIGUEIREDO, L. F. A.; CARRANO, E.; GUEDES R. C.; CESARI, E.; FRANZ, I.; SHUNCK, F.; PIACENTINI, V. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee - second edition. **Ornithology Research**, v. 29, n. 2, p. 94-105, 2021.

PIEDRAHITA, F. *Saltator olivascens*. **Birds Colombia**. Disponível em: ≤ <https://birdscolumbia.com/2023/06/12/saltator-olivaceo-olive-gray-saltator-saltator-olivascens/>> 2023. Acesso em Mai 2024.

PORTUGAL, G. C.; SIMÕES, C. M.; CARVALHO, A. L. C.; SOARES, P. K. R.; MORAES, L. L. Dados de captura do trinca-ferro verdadeiro (*Saltator similis*) em boletins de ocorrência da Polícia Militar do Meio Ambiente de Viçosa, Minas Gerais: Implicações Conservacionistas. **Anais... Resumos XIX Congresso Brasileiro de Ornitologia**, Maceió, Brasil. 2012.

RENTAS **1º Relatório nacional sobre o tráfico da fauna silvestre**. Brasília: Rede Nacional Contra o Tráfico de Animais Silvestres, 108 p. 2001.

RIBENBOIM, L. C. D. **Aves do Parque Nacional do Itatiaia**. Taubaté: Dica de Turismo Publicações, 67 p. 2017.

RIDGELY, R. S.; TUDOR, G. **The birds of South America. The suboscine passerines**. 1. ed. Texas: University of Texas Press, v. 2, 1994.

RODRIGUES, B.; DE ALMEIDA, D. M.; DA SILVA, L. C. S. Avaliação corpórea, caracterização biométrica externa e do sistema digestório de trinca-ferro - *Saltator similis*, (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) provenientes do tráfico animal. **Biotemas**, v. 32, n. 1, p. 77-84, 2019.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HOHNA, S.; LARTGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. MRBAYER 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Syst. Biol.** 61:539-542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029> 2012.

RUGGIERO, M. A.; GORDON, D. P.; ORRELL, T. M.; BAILLY N.; BOURGOIN T.; BRUSCA R. C.; CAVALIER-SMITH, T.; GUIRY M. D.; KIRK P. M. Correction: A Higher Level Classification of All Living Organisms. **PLoS One**, v. 10, e0130114, 2015.

SANCHES T. C.; GODOY, S. N. Passeriformes (Canário, Sabiá, Pássaro-preto e trinca-ferro). In: CUBAS, Z. S; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds.) **Tratado de animais selvagens: medicina veterinária**, 2 ed. São Paulo: ROCA, 2014

SCHOENER, E. R.; ALLEY, M. R.; HOWE, L.; CASTRO, I. Coccidia species in endemic and native New Zealand passerines. **Parasitol. Res.** 112: 2027-2036. 2013.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **Journal of Comparative Pathology**, v. 36, p. 266 - 275, 1923.

SICK, H. **Ornitologia Brasileira**. Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 1997.

SIGRIST, T. **Avifauna Brasileira: The avis brasilis field guide to the birds of Brazil**, 1ª edição, São Paulo: Editora Avis Brasilis, 2009.

SILVA-CARVALHO, L. M.; PASTURA, D. G. N.; RODRIGUES, M. B.; GOMES, J. V.; OLIVEIRA, M. S.; SIQUEIRA, P. B.; OLIVEIRA, J. L. G.; SOARES, S. S; OLIVEIRA, A A.; LIMA, V. M.; BERTO, B. P. *Isospora sagittulae* (MCQUISTION & CAPPARELLA, 1992)

(Apicomplexa: Eimeriidae) from antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae) in the Amazon and Atlantic Forest of Brazil: With notes on its distribution and dispersion in the Neotropical region. **Parasitol. Res.** 117: 2635-2641. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5955-y> 2018.

SILVA, D. C.; HOMEM, C. G.; NAKAMURA, A. A.; SILVA, V. C. D.; MEIRELES, M. V. Pesquisa de oocistos de *Isospora* spp. em Passeriformes criados em cativeiro. **Ciência Animal Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 484-489, 2014.

SILVA-NETO, O.; ZANTUT, L. T. E. O combate à biopirataria brasileira: uma análise legislativa. **Rev. Ciênc. Juríd. Soc. UNIPAR**. Umuarama. v. 20, n. 1, p. 119-136, 2017.

SILVA, L. M.; RODRIGUES, M. B.; PINHO, I. F.; LOPES, B. B.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G.; BERTO, B. P. Some remarks on the distribution and dispersion of Coccidia from icterid birds in South America: *Isospora guaxi* n. sp. and *Isospora bellicosa* (UPTON et al., 1995) (Apicomplexa: Eimeriidae) from the red-rumped cacique *Cacicus haemorrhous* (L.) (Passeriformes: Icteridae) in Southeastern Brazil. **Syst. Parasitol.** 94: 151-157. <https://doi.org/10.1007/s11230-016-9688-y> 2017.

SNUC Sistema Nacional de Unidades de Conservação. Ministério do Meio Ambiente. **Lei 9.985** de 18 de julho de 2000.

SOARES, H. M. *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2015. Disponível em: <<http://www.wikiaves.com/1956541>> Acesso em: 01 Abr 2022.

SOSMA Fundação SOS Pró Mata Atlântica. **Sítio eletrônico**. 2023. Disponível em: <<https://www.sosma.org.br/>> Acesso em 24 de maio de 2023.

SOUSA A. E. B. A.; SERAFINI P. P. **Manual de Anilhamento de Aves Silvestres**. Brasília: ICMBio/Cemave; 2020.

SOUZA, G.; COSTA, V.; CAMARGO, F. V. Levantamento de avifauna apreendida pela polícia militar ambiental do município de Itajubá-MG e região. **Revista Científica Universitas**, v. 6, n. 1, 2019.

SOUTO, L. *Saltator atricollis* (VIEILLOT, 1817). Wiki Aves - A Enciclopédia das Aves do Brasil. 2020. Disponível em: <https://www.wikiaves.com.br/1962357&t=s&s=11714&tag=FOTOMACHO>> Acesso em: Mai 2024.

VASCONCELLOS, M. D. S. D., L. C. S. O.; VIDAL, L. G. P.; PASSOS, M. M. Intensidade de infecção por *Isospora* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) em trinca-ferros verdadeiros *Saltator similis* (D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837) (Passeriformes: Cardinalidae) mantidos em cativeiro no Município de Valença, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Coccidia**, v. 1, n. 2, p. 39-43, 2013.

WHELAN, C. J.; WENNY, D. G. **Ecology of Birds: Conservation and Management**. University of Chicago Press, 2011.

WOODFORD, M. H.; ROSSITER, P. B Disease risk associated with wildlife translocation projects, **Revue scientifique et technique de l'Office International des Epizooties**, v. 12, n. 1, pp. 115-135, 1993.

YANG, R.; BRICE, B.; ELLIOT, A.; RYAN, U. *Isospora serinuse* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from a domestic canary (*Serinus canaria* forma domestica) (Passeriformes: Fringillidae) in Western Australia. **Experimental Parasitology**, v. 159, p. 59-66, 2015.

10. ANEXOS

10.1 Anexo I – Autorizações para Atividades Científicas



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45200-1	Data da emissão: 08/08/2014 11:16	Data para revalidação* 07/09/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES CIOMSO BIOMABRCADORIESODE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura de aves e coleta de amostras	08/2014	06/2015
2	Identificação dos coccídios	09/2014	07/2015
3	Processamento de amostras	09/2014	07/2015
4	Publicação em periódicos e trabalhos e congressos	09/2014	07/2015
5	Estudo estatístico para caracterização dos oocistos	10/2014	07/2015
6	Estudo estatístico para correlação entre coccídios e impactos ambientais	04/2015	07/2015

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia
2	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 84371796



Página 1/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

1	O PNI SÓ PERMITE USO DE REDE DE NEBLINA PARA COLETA DE AVES, FEZES E OBSERVAÇÕES
---	--

Equipe

#	Nome	Função:	CPF:	Doc. identidade	Nacionalidade
1	Cleide Domingues Coelho	Pesquisador	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira
2	Carlos Wilson Gomes Lopes	Coordenador	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira
3	Bruno do Bomfim Lopes	Pesquisador	[REDACTED]	[REDACTED]	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 84371796



Página 2/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 45200-1	Data da emissão: 08/08/2014 11:16	Data para revalidação* 07/09/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES CIOMSO BIOMABRCADORIESODE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		RJ	PARQUE NACIONAL DE ITATIAIA	UC federal
2	ITATIAIA	RJ	Entorno do Paque Nacional do Itaitiaia (Maromba, etc.)	Fora de UC federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon
1	Captura de animais silvestres in situ	Aves
2	Coleta/transporte de amostras in situ	Aves

Material e métodos

#	Atividade	Táxon
1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UFRRJ – UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	Coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 84371796



Página 3/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Número: 45200-1	Data da emissão: 08/08/2014 11:16	Data para revalidação* 07/09/2015
* De acordo com o art. 33 da IN 154/2009, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno [REDACTED] Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES CIOMSO BIOMABRCADORIESODE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 84371796



Página 5/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49605-1	Data da emissão: 18/06/2015 14:46	Data para revalidação* 17/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZA: APICOMPLEXA) EM AVES NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Captura de aves e coleta de amostras	08/2015	07/2016
2	Identificação dos coccídios	09/2015	07/2016
3	Processamento de amostras	09/2015	07/2016
4	Publicação em periódicos e trabalhos e congressos	10/2015	07/2016
5	Estudo estatístico para caracterização dos oocistos	12/2015	07/2016

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 52541363



Página 1/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA nº 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função:	CPF:	Doc. identidade	Nacionalidade
1	Carlos Wilson Gomes Lopes	Coordenador			Brasileira
2	Bruno do Bomfim Lopes	Pesquisador			Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1		RJ	PARQUE NACIONAL DE ITATIAIA	UC federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 52541363



Página 2/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49605-1	Data da emissão: 18/06/2015 14:46	Data para revalidação* 17/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZA: APICOMPLEXA) EM AVES NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon
1	Captura de animais silvestres in situ	Aves
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Aves

Material e métodos

#	Atividade	Táxon
1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UFRRJ – UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	Coleção

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 52541363



Página 3/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49605-1	Data da emissão: 18/06/2015 14:46	Data para revalidação* 17/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: ██████████
Título do Projeto: IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZA: APICOMPLEXA) EM AVES NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 52541363



Página 4/5



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 49605-1	Data da emissão: 18/06/2015 14:46	Data para revalidação* 17/07/2016
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZA: APICOMPLEXA) EM AVES NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 52541363



Página 5/5



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54951-3	Data da emissão: 20/09/2018 12:43:30	Data para revalidação* 29/09/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Processamento de amostras	08/2016	07/2019
2	Estudo estatístico	10/2016	07/2019
3	Captura de aves e coleta de amostras	07/2016	06/2019
4	Publicação em periódicos e trabalhos e congressos	11/2016	07/2019
5	Identificação dos coocídios	09/2016	07/2019

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0549510320180920

Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

3	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
4	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
5	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
6	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
7	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.
8	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município-UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Parque Nacional do Itatiaia	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Captura de animais silvestres in situ	Aves	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Aves	-

Material e métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0549510320180920

Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54951-3	Data da emissão: 20/09/2018 12:43:30	Data para revalidação* 29/09/2019
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UFRRJ – UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	Coleção

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0549510320180920

Página 3/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70132-6	Data da emissão: 08/11/2021 18:11:24	Data para revalidação* 01/10/2022
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Publicação em periódicos e trabalhos e congressos	02/2019	09/2022
2	Levantamento bibliográfico	09/2019	09/2022
3	Estudo estatístico	09/2019	09/2022
4	Identificação morfológica e molecular	10/2019	09/2022
5	Captura de aves coleta de amostras	09/2019	09/2022
6	Processamento das amostras	10/2019	09/2022

Equipe

#	Nome	Função:	CPF:	Nacionalidade
1	Mariana de Souza Oliveira	Bióloga (Doutoranda PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
2	Carlos Nei Ortúza Ferreira	Bolsista IC Discente de Graduação Veterinária)	[REDACTED]	Brasileira
3	John Lennon G. de Oliveira	Biólogo (Mestrando PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
4	Lucas de Assis Silva Andrade	Biólogo (Doutorando PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
5	Carla Maronezi	Veterinária	[REDACTED]	Brasileira
6	Sergian Viana Cardoso	Veterinário (Professor UNIGRANRIO)	[REDACTED]	Brasileira
7	Ericson Ramos de Mello	Biólogo (Doutorando PPGCV)	[REDACTED]	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 1/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70132-6	Data da emissão: 08/11/2021 18:11:24	Data para revalidação* 01/10/2022
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Este documento NÃO exige o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres.
3	Deve-se observar as as recomendações de prevenção contra a COVID-19 das autoridades sanitárias locais e das Unidades de Conservação a serem acessadas.
4	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Esta autorização NÃO libera o uso da substância com potencial agrotóxico e/ou inseticida e NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
6	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 2/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

7	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
8	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
9	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
10	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
12	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .

Outras ressalvas

1	<p>1. Esta autorização não exige seu titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 27/2002, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres. É obrigatório ao pesquisador portar autorização de anilhamento durante as expedições de campo que envolvam essa atividade.</p> <p>2. O intervalo máximo de tempo para a vistoria de cada rede não pode ultrapassar 20 minutos, se a área for ensolarada. Caso a área seja bem sombreada, os intervalos devem ser de 45 minutos, no máximo, de modo a evitar maior estresse aos animais.</p> <p>3. O número máximo de redes armadas não deve ultrapassar 10 unidades para cada vistoriador experiente presente.</p>	CEMAVE Cabedelo-PB
---	--	--------------------

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 3/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

2	<ul style="list-style-type: none">- Comunicar ao PARNA S. Bocaina, com antecedência de 15 dias, quando serão feitas coletas/registros/amostragens de dados e informações no interior do Parque e em que localidade; e para solicitar apoio/alojamento, entrar em contato com o Parque com 03 semanas de antecedência.- Encaminhar listagem com a localização georreferenciada dos táxons ou dados coletados/registrados no PARNA S. Bocaina, indicando data das coletas/registros.- Encaminhar ao PARNA S. Bocaina cópia (física ou digital) das publicações decorrentes desta pesquisa, com endereço na rede mundial de computadores de onde podem ser encontradas.- Solicita-se a disponibilização de imagens registradas a fim de serem utilizadas em atividades do PARNA S. Bocaina, garantindo-se a indicação da autoria na veiculação. Todas as informações solicitadas e publicações resultantes da execução do projeto no interior do PARNA S. Bocaina deverão ser encaminhadas por meio eletrônico para: pesquisa.pnbocaina@icmbio.gov.br	PARNA da Serra da Bocaina
3	<ul style="list-style-type: none">- Em qualquer trilha utilizada durante a realização da pesquisa o pesquisador deverá fixar uma fita em uma árvore contendo o número da pesquisa no SISBIO;- Ao final da pesquisa o pesquisador deverá remover todas as fitas colocadas nas trilhas e outros objetos colocados em meio à floresta;- Todos os pontos, áreas e/ou caminhos de pesquisas deverão ser georreferenciados e os arquivos espaciais deverão ser fornecidos à equipe da REBIO União, por email (rebiouniao@gmail.com). Neste caso, o pesquisador deverá fornecer o arquivo georreferenciado do local onde as câmeras serão colocadas, bem como as trilhas de acesso a elas;- Caso o pesquisador não identifique as trilhas utilizadas e forneça os arquivos espaciais das áreas de pesquisas, a pesquisa poderá ser suspensa no SISBIO e as marcações ou objetos das pesquisas serem retirados da mata; - Em todas os trabalhos de campo na REBIO União a equipe de pesquisa deverá comunicar previamente à gestão da UC em quais locais andará durante a permanência na UC.	REBIO União
4	<p>"Ressalvas do PARQUE NACIONAL DA SERRA DOS ÓRGÃOS: COVID-19: O pesquisador somente poderá realizar atividade de campo após o término do estado de emergência devido à COVID-19, assim declarado por ato da autoridade competente. Recomendamos a leitura do Guia Elaborado pelo ICMBIO, Biodiversidade e COVID 19 através do link: https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/comunicacao/publicacoes/publicacoes-diversas/recomendacoes_biodiversidade_e_covid19_ucs_e_outros_ambientes_naturais.pdf CONTATO PRÉVIO: dado o grande número de pesquisas em curso no Parque, a grande sobreposição espacial das mesmas e a potencial sobreposição nos focos de coleta de dados, sugerimos que a/o titular da autorização faça contato prévio <pesquisa.parnaso@icmbio.gov.br>, assim que recebê-la. Isso visa minimizar perda de tempo durante as expedições de campo e um melhor planejamento espacial da coleta de dados, evitando todas as possíveis interferências mútuas.</p>	-

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 4/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

4	<p>AGENDAMENTO CAMPO / USO DE ESTRUTURAS: mensagem para <alojamento.icmbioteresopolis@icmbio.gov.br> com 15 dias antecedência. Informar nº autorização, total pessoas, datas (chegada e saída), necessidade ou não de alojamento, laboratório, salas etc.</p> <p>ATIVIDADES DIDÁTICAS: os locais de coleta devem ser informados para a Coordenação de Pesquisa do PARNASO de forma que não se sobreponham com outras pesquisas em andamento no Parque. Não está autorizada a coleta de espécimes da fauna e flora ameaçadas de extinção para atividades didáticas.</p> <p>ALTERAÇÕES EM CAMPO: devem ser discretas e no relatório final deve constar que ""todo o material da pesquisa foi retirado?.</p> <p>REGISTROS DE ESPÉCIES DE INTERESSE PARA A CONSERVAÇÃO (ex: ameaçadas, novos táxons, interesse comercial, cinegético etc.) localizados em áreas de visitação devem ser informados à gestão do Parque para privilegiar sua proteção.</p> <p>PESSOAS E ATIVIDADES ESTRANHAS (ex: caçadores, visitantes fora da área adequada etc.): devem ser reportadas imediatamente à gestão do Parque (Chefia ou Coordenação de Pesquisa).</p> <p>UTILIZAÇÃO DE MÁQUINAS/MOTORES: devem ser feitos todos os esforços para minimizar a poluição visual e sonora. Não é permitido o uso de motores que derramem, mesmo que em quantidades pequenas, combustível ou óleo.</p> <p>PROCESSAMENTO/ARMAZENAMENTO DE MATERIAL: todo o material de coleta deve ser processado ou em campo ou no laboratório, jamais no alojamento, auditório ou refeitório! Materiais que exalem odores ou que obstruam passagem ou locais de assento devem ser retirados imediatamente e não podem ser armazenados também do lado de fora das estruturas por conta do acesso de animais nativos que circulam (ex: quatis, primatas, serpentes, artrópodes).</p> <p>ANIMAIS CAPTURADOS/COLETADOS: O manejo de animais vivos ou mortos devem ser evitados em áreas de visitação/turismo. Só deve ser feito em campo (área sem visitação) ou no laboratório de apoio do Parque.</p> <p>PLANTAS COLETADAS: duplicatas devem ser depositadas no JBRJ e no Herbário do PARNASO (conforme Plano de Manejo, mas recomenda-se antes consultar Coordenação de Pesquisa do Parque).</p> <p>DEFESA PÚBLICAS: solicitamos que todas as defesas públicas (graduação, especialização, mestrado e doutorado, além de apresentações em eventos) relacionadas a esta autorização sejam, quando possível, comunicadas à gestão do Parque para que gestores possam conhecimento dos debates acerca dos dados que estão sendo produzidos pelas pesquisas feitas no PARNASO. Pedimos que as mensagens sejam enviadas para: pesquisa.parnaso@icmbio.gov.br, parnaso@icmbio.gov.br"</p>	-
---	---	---

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 5/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70132-6	Data da emissão: 08/11/2021 18:11:24	Data para revalidação* 01/10/2022
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município – UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	Ilha de Marambaia	Mangaratiba-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
2	Condomínio Parque das Águas	Guapimirim-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
3	Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Cacaria	Piraí-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	Área de Relevante Interesse Ecológico Floresta da Cicuta	Volta Redonda-RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
5	RPPN Reserva Porangaba	Itaguaí-RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
6	Parque Nacional da Serra da Bocaina	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
7	Campus IFRJ Pinheiral	Pinheiral-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
8	Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Santa Rita de Cássia	Barra Mansa-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
9	Floresta Nacional Mario Xavier	Seropédica-RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
10	Campus UFRRJ Seropédica	Rio de Janeiro-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
11	Parque Nacional da Serra dos Órgãos	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
12	Parque Nacional do Itatiaia	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 6/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70132-6	Data da emissão: 08/11/2021 18:11:24	Data para revalidação* 01/10/2022
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Atividades

#	Atividade	Grupo de atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Dentro de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
4	Captura de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal
5	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
6	Marcação de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Marcação de animais silvestres in situ	Aves	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Aves	-
3	Captura de animais silvestres in situ	Aves	-

Material e métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Ectoparasitas, fezes, penas
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina
3	Método de marcação (Aves)	Anilha de Alumínio (padrão CEMAVE), Anilha metálica (padrão CEMAVE)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 7/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 70132-6	Data da emissão: 08/11/2021 18:11:24	Data para revalidação* 01/10/2022
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 8/8



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Publicação em periódicos e trabalhos de congressos	01/2023	10/2025
2	Captura de aves coleta de amostras	11/2022	10/2025
3	Levantamento bibliográfico	11/2022	10/2025
4	Identificação morfológica e molecular	12/2022	10/2025
5	Processamento das amostras	12/2022	10/2025
6	Estudo ecológico e estatístico	01/2023	10/2025

Equipe

#	Nome	Função:	CPF:	Nacionalidade
1	Mariana de Souza Oliveira	Bióloga (Doutoranda PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
2	Carlos Nei Ortúza Ferreira	Bolsista IC Discente de Graduação Veterinária)	[REDACTED]	Brasileira
3	John Lennon G. de Oliveira	Biólogo (Mestrando PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
4	Lucas de Assis Silva Andrade	Biólogo (Doutorando PPGBA)	[REDACTED]	Brasileira
5	Carla Maronezi	Veterinária	[REDACTED]	Brasileira
6	Carolina Mendes S. Cauncho	Bolsista IC de Medicina Veterinária/UFRRJ	[REDACTED]	Brasileira
7	Sergian Viana Cardoso	Veterinário (Professor UNIGRANRIO)	[REDACTED]	Brasileira
8	Gilherme Azzulini Feitosa	Bolsista IC de Medicina Veterinária/UFRRJ	[REDACTED]	Brasileira
9	Jennifer Oliveira Melo	Bolsista IC de Medicina Veterinária/UFRRJ	[REDACTED]	Brasileira
10	Ericson Ramos de Mello	Biólogo (Doutorando PPGCV)	[REDACTED]	Brasileira

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0701320620211108

Página 1/7



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Observações e ressalvas

1	A autorização não eximirá o pesquisador da necessidade de obter outras anuências, como: I) do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador quando as atividades forem realizadas em área de domínio privado ou dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso; II) da comunidade indígena envolvida, ouvido o órgão indigenista oficial, quando as atividades de pesquisa forem executadas em terra indígena; III) do Conselho de Defesa Nacional, quando as atividades de pesquisa forem executadas em área indispensável à segurança nacional; IV) da autoridade marítima, quando as atividades de pesquisa forem executadas em águas jurisdicionais brasileiras; V) do Departamento Nacional da Produção Mineral, quando a pesquisa visar a exploração de depósitos fossilíferos ou a extração de espécimes fósseis; VI) do órgão gestor da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, dentre outras.
2	Este documento NÃO exime o pesquisador titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa nº 7/2021/GABIN/ICMBIO, que Estabelece normas para a atividade de marcação de aves silvestres na natureza no território nacional e para utilização do Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres - SNA
3	Todos os membros da equipe de pesquisa devem estar cientes das recomendações e boas práticas a serem seguidas neste momento de emergência zoonosológica no Brasil devido à gripe aviária. Informe-se na página do CEMAVE na Internet: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cemave/destaques/gripe-aviaria/gripe-aviaria-1 .
4	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).
5	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de atender às exigências e obter as autorizações previstas em outros instrumentos legais relativos ao registro de agrotóxicos (Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, Decreto nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002, entre outros).

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 2/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

6	Este documento não dispensa o cumprimento da Lei nº 13.123/2015, que dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade.
7	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia (Decreto nº 98.830, de 15/01/90).
8	Esta autorização NÃO exige o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena, da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
9	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria Nº748/2022, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
10	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
11	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação do disposto nesta portaria ou em legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, pode, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou cassada pelo Instituto Chico Mendes, por meio da Coordenação Gestora do Sisbio, e está sujeito às sanções previstas na legislação vigente.
12	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infraestrutura da unidade.
13	Caso seja identificada a ocorrência de espécie exótica dentro ou no entorno de UNIDADE DE CONSERVAÇÃO FEDERAL, além de descrever no relatório de atividades, o pesquisador deve informar à equipe gestora com maior brevidade possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 3/7



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Outras ressalvas

1	1. A proporção máxima de redes de neblina é dez redes por pesquisador com experiência no método. O intervalo máximo de revisão de redes deve ser de 20 minutos se a captura ocorrer em local ensolarado e de 45 minutos se ocorrer em local sombreado; 2. Esta autorização não exime seu titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 07/2021, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres. É obrigatório ao pesquisador portar autorização de anilhamento durante as expedições de campo que envolvam essa atividade. É obrigatório o conhecimento e aplicação das recomendações existentes no Manual de Anilhamento de Aves Silvestres, disponível no site do CEMAVE.	CEMAVE Cabedelo-PB
2	Reitero a Ressalva Geral 9ª, entrar em contato com o PNI no prazo mínimo de 20 dias da data de início da expedição de campo, bem como as ressalvas do CEMAVE: 1. A proporção máxima de redes de neblina é dez redes por pesquisador com experiência no método. O intervalo máximo de revisão de redes deve ser de 20 minutos se a captura ocorrer em local ensolarado e de 45 minutos se ocorrer em local sombreado; 2. Esta autorização não exime seu titular da necessidade de atender ao disposto na Instrução Normativa Ibama nº 07/2021, que regulamenta o Sistema Nacional de Anilhamento de Aves Silvestres. É obrigatório ao pesquisador portar autorização de anilhamento durante as expedições de campo que envolvam essa atividade. É obrigatório o conhecimento e aplicação das recomendações existentes no Manual de Anilhamento de Aves Silvestres, disponível no site do CEMAVE.	

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 4/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Descrição do local	Município – UF	Bioma	Caverna?	Tipo
1	RPPN Reserva Porangaba	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
2	Parque Nacional do Itatiaia	RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Federal
3	Ilha da Marambaia	RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
4	Campus IFRJ Pinheiral	Pinheiral-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
5	Floresta Nacional Mario Xavier	Seropédica-RJ	Mata Atlântica	Não	Dentro de UC Estadual
6	Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Santa Rita de Cássia	Barra Mansa-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
7	Campus UFRRJ Seropédica	Seropédica -RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
8	Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Cacaria	Pirá-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal
9	Consomínio Parque das Águas	Guapimirim-RJ	Mata Atlântica	Não	Fora de UC Federal

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 5/7



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Atividades

#	Atividade	Grupo de atividade
1	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Dentro de UC Federal
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Fora de UC Federal
3	Captura de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
4	Captura de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal
5	Marcação de animais silvestres in situ	Fora de UC Federal
6	Marcação de animais silvestres in situ	Dentro de UC Federal

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxon	Qtde.
1	Marcação de animais silvestres in situ	Aves	-
2	Coleta/transporte de amostras biológicas in situ	Aves	-
3	Captura de animais silvestres in situ	Aves	-

A quantidade prevista só é obrigatória para atividades do tipo "Coleta/transporte de espécimes da fauna silvestre in situ". Essa quantidade abrange uma porção territorial mínima, que pode ser uma Unidade de Conservação Federal ou um Município. A quantidade significa: por espécie X localidade X ano.

Material e métodos

#	Tipo de Método (Grupo taxonômico)	Materiais
1	Amostras biológicas (Aves)	Ectoparasitas, fezes, penas
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina
3	Método de marcação (Aves)	Anilha de Alumínio (padrão CEMAVE), Anilha metálica (padrão CEMAVE)

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	Laboratório

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 6/7



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 84721-3	Data da emissão: 27/09/2023 14:03:03	Data para revalidação* 01/08/2024
De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: [REDACTED]
Título do Projeto: DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO	
Nome da Instituição: UFRRJ – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com o art. 31 da Portaria ICMBio nº 748/2022, esta autorização possui vigência equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto e validade de um ano, devendo ser revalidada anualmente, através da apresentação do relatório anual de atividades, no prazo de até 30 dias após o aniversário de sua emissão.

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime do nível taxonômico possível.

Este documento foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 0847210320230927

Página 7/7

10.3 Anexo II – Certificados de Legalidade de Manejo de Animais em Atividades Científicas



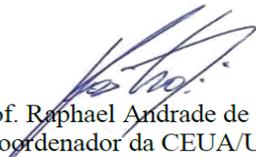
CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BARRA MANSA
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UBM
R. Vereador Pinho de Carvalho, 267, Centro, Barra Mansa – RJ.
Prédio III, 2º andar, Sala 207 - Tel.: (24) 3325-0205.
E-mail: ceua@ubm.br

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “IDENTIFICAÇÃO DE COCCÍDIOS (MIOZOA: EIMERIIDAE) DE TRINCAFERROS SALTATORSIMILIS D'ORBIGNY & LAFRESNAYE, 1837(PASSERIFORMES: THRAUPIDAE: SALTATORINAE) EM CATIVEIROS NOS MUNICÍPIOS DE ITATIAIA E MÉDIO PARAÍBA RJ” protocolo nº 007/2018 sob a responsabilidade da Prof.^a PATRÍCIA BARISON CEPEDA, que envolve a produção, manutenção e /ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS DO CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BARRA MANSA (CEUA-UBM), em reunião de 11/05/2021.

Vigência do projeto	01/06/2018 a 01/06/2021
Espécie / linhagem	Ave / Saltator simili
Nº. de animais	8
Peso / idade	70g / todas
Sexo	8
Origem	Aves de gaiola

Barra Mansa, 12 de maio de 2021.

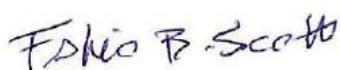

Prof. Raphael Andrade de Castro
Coordenador da CEUA/UBM


Prof.^a Simone Pontes Xavier Salles
Vice- coordenadora CEUA/UBM

Seropédica 16 de abril de 2015

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que foi aprovado o protocolo de número 036/2014 intitulado **“COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES COMO BIOMARCADORES DE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS.”** encaminhado pelo Professor (a) do Departamento de Parasitologia Animal, Carlos Wilson Gomes Lopes. Informamos que foi aprovado em reunião ordinária da CEUA-IV realizada no dia 16 de abril de 2015, após avaliação do plenário da referida Comissão.



Fabio Barbour Scott
Coordenador CEUA-IV



Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador CEUA-IV



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZOA: APICOMPLEXA) EM AVES DO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL”, protocolo nº 008/2015 sob responsabilidade do Pesquisador Bruno Pereira Berto, que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11794, de 8 de outubro de 2008, Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DO INSTITUTO DE BIOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, em reunião de 05/11/2015.

Vigência do projeto	02/01/2018 a 20/12/2016
Nº da solicitação ou autorização SISBIO	42798-1
Atividade(s)	Captura, coleta de fezes
Espécies / grupos taxonômicos	Aves (<i>várias espécies</i>)
Local(is)	Parque Nacional do Itatiaia/RJ

We certify that the protocol nº 008/2015, entitled “IDENTIFICAÇÃO E INTENSIDADE DE INFECÇÃO DE COCCÍDIOS (PROTOZOA: APICOMPLEXA) EM AVES DO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ, BRASIL”, is in accordance with the ethical principles in animal research adopted by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the Local Animal Ethical Committee from the Biology Institute of the Federal Rural University of Rio de Janeiro in 05/11/2015.


Prof. Fábio Fagundes da Rocha
Coordenador CEUA/ICBS/UFRRJ
Prof. Fábio Fagundes da Rocha
SIAPE 1519367

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO”, protocolada sob o CEUA nº 6606250616, sob a responsabilidade de **Bruno Pereira Berto e equipe; Irlane Faria de Pinho; Lidiane Maria da Silva; Mariana Borges Rodrigues; Hermes Ribeiro Luz** – que a envolve produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino – está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 17/10/20216.

We certify that the proposal “TAXONOMY AND ECOLOGY OF COCCIDIA FROM WILD BIRDS FROM SOUTHEASTERN BRAZIL”, utilizing 500 birds (males and females), protocol number CEUA 6606250616, under the responsibility of **Bruno Pereira Berto and team; Irlane Faria de Pinho; Lidiane Maria da Silva; Mariana Borges Rodrigues; Hermes Ribeiro Luz** – which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings) for scientific research purposes or teaching – is in accordance with Law 11,794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 10/17/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **09/2016** a **08/2019** Área: **Biologia Animal**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Avés** Sexo: **Machos e Fêmeas** Idade: **1 a 240 meses** N: **500**

Linhagem: **não se aplica** Peso **10 a 10000 g**

Resumo: A Mata Atlântica é um dos biomas mais importantes para ser preservado na biodiversidade do planeta, sendo as regiões das baixadas do litoral do Sudeste brasileiro, onde está inserido o Estado do Rio de Janeiro, as mais prioritárias para conservação. A perda e fragmentação de habitats e a biopirataria são as principais ameaças, as quais, além dos impactos diretos a fauna, flora e microbiota, indiretamente favorecem a transmissão de parasitas e a susceptibilidade das aves. Neste contexto, surge a importância do conhecimento dos parasitas de aves silvestres, principalmente de alguns grupos pouco estudados como os protozoários coccídios (Apicomplexa: Eucoccidiorida), os quais são de extrema importância, tanto em termos de biodiversidade, quanto em sua dinâmica e especificidade. Neste sentido, este projeto visa identificar e quantificar as espécies de coccídios de aves silvestres em áreas de Mata Atlântica do Estado do Rio de Janeiro, os quais fomentarão estudos complementares sobre a dinâmica do parasitismo entre famílias, hábitos, condições ambientais, etc. As expectativas são que os estudos dos oocistos revelem espécies novas, redescrições e novos hospedeiros, verificando a transmissão de coccídios entre aves de famílias distintas e possibilitando a elaboração de chaves dicotômicas de identificação. As distintas características ambientais e diferentes nichos ecológicos poderão influenciar na distribuição das espécies de coccídios, densidades e nas morfologia e morfometria dos oocistos. Desta forma, espécies distintas, padrões morfométricos e/ou morfológicos dos oocistos, e densidades serão associadas a cada condição ambiental, dado biométrico/biológico e nicho ecológico da ave hospedeira. Finalmente, as identificações e/ou elevadas densidades em determinada família, espécie ameaçada/endêmica ou aves em determinado ambiente poderão ambientar ou priorizar a conservação de determinada ave e/ou localidade.

Local do Experimento: Ambiente Silvestre

Seropédica, 17 de outubro de 2016



UFRRJ
Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro

**Comissão de Ética no
Uso de Animais**
Instituto de Veterinária



Fabio B. Scott

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro

J. P. Paiva

Prof. Dr. Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro



Rio de Janeiro, 30 de agosto de 2019

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Declaramos para os devidos que foi APROVADO o protocolo de número 021/2019 intitulado “**TAXONOMIA E ECOLOGIA DE COCCÍDIOS: IDENTIFICAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE ESPÉCIES EM AVES SILVESTRES DO SUDESTE BRASILEIRO**”, encaminhado pelo pesquisador **Dr. Bruno Pereira Berto** do Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro do Rio de Janeiro (UFRRJ). Informamos que este parecer foi emitido em reunião ordinária da CEUA / UNIGRANRIO realizada no dia 28 de agosto de 2019, após avaliação do plenário da referida Comissão.

Vigência: Setembro/2019 a Agosto/2022
Atividade: Captura e coleta de amostras fecais
Número SISBIO 42798-2
Grupo animal: Aves (várias espécies)

DECLARATION OF APPROVAL

We hereby declare that protocol number 021/2019 entitled “**TAXONOMY AND ECOLOGY OF COCCIDIANS: MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR IDENTIFICATION OF SPECIES IN WILD BIRDS SOUTHEASTERN BRAZIL**” has been APPROVED. This protocol was sent by Dr. Bruno Pereira Berto, Department of Animal Biology, Federal Rural University of Rio de Janeiro (UFRRJ). Please be informed that this opinion was delivered at the regular meeting CEUA / UNIGRANRIO held on August 28, 2019, after evaluation by the plenary of that Committee.

Sergian Vianna Cardozo
Coordenador CEUA | UNIGRANRIO

Prof. Sergian V. Cardozo
Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais
UNIGRANRIO





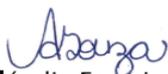
**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS -CEUA/ICBS**

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **“DIVERSIDADE MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE COCCÍDIOS DE AVES SILVESTRES NO SUDESTE BRASILEIRO”** registrada com o no CEUA 09/2022, sob a responsabilidade de Bruno Pereira Berto, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino)- encontra-se de acordo com os preceitos da Lei no. 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto no. 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal -CONCEA, e foi aprovado pela **Comissão de Ética no Uso de animais (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA-ICBS-UFRRJ)**, em reunião de 19 de setembro de 2022.

Finalidade	<input type="checkbox"/> Ensino	<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/11/2022 a 30/10/2025	
Nº da solicitação ou Autorização SISBIO	84721	
Atividade(s)	<input checked="" type="checkbox"/> Captura <input type="checkbox"/> Coleta de espécimes <input type="checkbox"/> Marcação <input type="checkbox"/> Outras _____	
Espécies/Grupos taxonômicos	Aves silvestres	
Local(is) de realização das atividades	Ilha da Marambaia, Mangaratiba-RJ; Condomínio Parque das Águas, Guapimirim-RJ; Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Cacaraia, Piraí-RJ; Floresta da Cicuta, Volta Redonda-RJ; RPPN Reserva Porangaba, Itaguaí-RJ; Espaço Ecológico-Educativo do Campus IFRJ Pinheiral, Pinheiral-RJ; Fragmentos de Mata Atlântica no distrito de Santa Rita de Cássia, Barra Mansa-RJ; Floresta Nacional Mario Xavier, Seropédica-RJ; Campus UFRRJ Seropédica-RJ; Parque Nacional da Serra dos Órgãos e Parque Nacional do Itatiaia.	

We certify that the protocol CEUA number 09/2022 entitled MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR DIVERSITY OF COCCIDIANS OF WILD BIRDS IN SOUTHEASTERN BRAZIL accordance with the Ethical Principles in Animal Research adopted by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the Local Animal thical Committee from Institute of Biological Sciences and Health of Federal Rural University of Rio de Janeiro in September 19, 2022.



Ana Cláudia Ferreira Souza
Coordenadora CEUA-ICBS-UFRRJ