

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA
VETERINÁRIA

DISSERTAÇÃO

CARACTERIZAÇÃO DOS OOCISTOS DE *Tyzzeria parvula* (KÓTLAN, 1933) KLIMES, 1963 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) DO GANSO DOMÉSTICO (*Anser anser*) NO BRASIL

BRUNO PEREIRA BERTO

2008



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

**CARACTERIZAÇÃO DOS OOCISTOS DE *Tyzzeria parvula* (KÓTLAN, 1933)
KLIMES, 1963 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) DO GANSO DOMÉSTICO (*Anser
anser*) NO BRASIL**

BRUNO PEREIRA BERTO

Sob a orientação do Professor

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

Dissertação submetida como requisito parcial
para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,
no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia
Veterinária.

Seropédica, RJ

Fevereiro de 2008

636.089601

B545c

T

Berto, Bruno Pereira, 1984-

Caracterização dos oocistos de Tyzzeria parvula (Kótlán, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) do ganso doméstico (*Anser anser*) no Brasil / Bruno Pereira Berto. - 2008.

52 f. : il.

Orientador: Carlos Wilson Gomes Lopes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária.

Bibliografia: f. 40-44.

1. Microbiologia veterinária - Teses.
2. Coccídio - Teses. 3. Ganso - Teses. 4. Coccidiose - Teses. I. Lopes, Carlos Wilson Gomes. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Instituto de Veterinária. III. Título.

Bibliotecário: _____

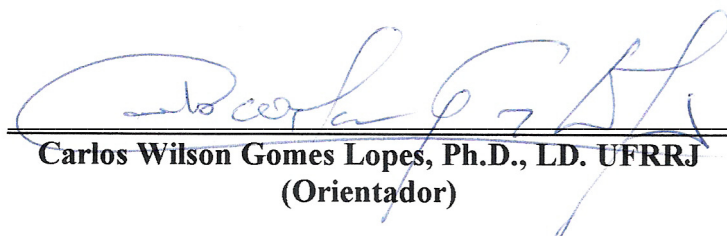
Data: ___/___/___

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA VETERINÁRIA

BRUNO PEREIRA BERTO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**,
no Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária.

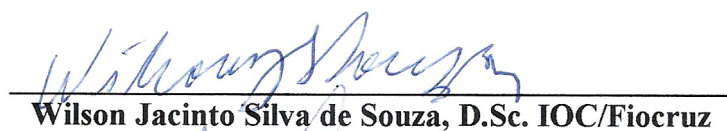
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 14/02/2008



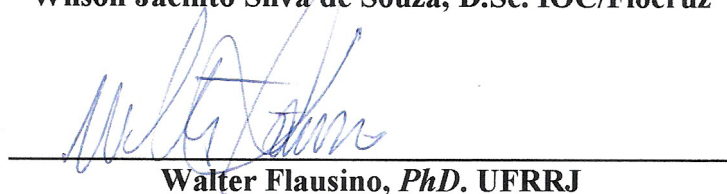
Carlos Wilson Gomes Lopes, Ph.D., LD. UFRRJ
(Orientador)



Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, Ph.D. UENF



Wilson Jacinto Silva de Souza, D.Sc. IOC/Fiocruz



Walter Flausino, Ph.D. UFRRJ

DEDICATÓRIA

*A Deus, o Senhor da minha vida, que me fortalece e me direciona no caminho
que for da Sua Vontade.*

*A minha noiva, Maria de Fátima, e aos meus pais, Benedito e Lúcia,
pelo amor e dedicação, sem os quais não poderia ter dado mais este passo.*

Aos meus familiares, pelo carinho, apoio e incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a formulação e conclusão deste trabalho.

Em especial, ao Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes (Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia, UFRuralRJ), pela orientação, amizade e dedicação.

Aos Drs. Walter Flausino e Walter Leira Teixeira Filho (Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia, UFRuralRJ), pelo companheirismo e por todas recomendações e sugestões.

A Dra. Simoni Machado de Medeiros (Uniabeu, Belford Roxo), pelo apoio e confiança ao me indicar para o Laboratório de Coccídios e Coccidioses (Departamento de Parasitologia, UFRuralRJ).

Aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses, especialmente a aluna de graduação Janaína da Soledad Rodrigues, as mestrandas Gisele Santos de Meireles e Landreani Ramirez Gonçalves, aos doutorandos Sergian Vianna Cardozo e Fabiana Valadão Massad e ao Dr. Marcel Teixeira, por toda compreensão, acessoria e paciência.

Ao médico veterinário Cláudio Rogério Rocha de Almeida (Emater-RJ, Rio Claro), por possibilitar as coletas no município de Rio Claro.

A todos os proprietários das criações e dos pontos de comercialização de gansos, por permitirem o acesso e a coleta das amostras.

BIOGRAFIA

BRUNO PEREIRA BERTO, filho de Benedito das Graças Berto e Lucia Pereira Berto, brasileiro, nasceu em 13 de julho de 1984, no município do Rio de Janeiro, RJ.

Iniciou sua formação profissional em 1999, ingressando no Curso Técnico em Informática do Colégio Nossa Senhora da Piedade, onde diplomou-se em Técnico em Informática no ano de 2001. No ano seguinte, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Estácio de Sá (UNESA). Foi monitor da disciplina de Parasitologia nesta mesma instituição e, no 2º semestre de 2005 e 1º semestre de 2006 foi estagiário do Setor de Integração Escola-Empresa-Governo (SINTEEG) no Laboratório de Coccídios e Coccidioses do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob orientação do Professor Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes.

Após graduar-se como Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas em fevereiro e julho de 2006, respectivamente, ingressou-se no mês seguinte, no Mestrado do Curso de Pós-graduação em Microbiologia Veterinária da UFRRJ.

"Àquele (DEUS) que é poderoso para fazer infinitamente mais do que tudo quanto pedimos, ou pensamos, conforme o seu poder que opera em nós, a Ele seja a glória, na igreja, e em Cristo Jesus, por todas as gerações, para todo o sempre."

Epístola de Paulo aos Efésios, cap. 3. v. 20-21, Bíblia Sagrada.

RESUMO

Berto, Bruno Pereira. **Caracterização dos oocistos de *Tyzzeria parvula* (Kótlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) do ganso doméstico (*Anser anser*) no Brasil.** 2008. 52p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

Este trabalho teve como objetivo principal descrever um coccídio encontrado nas fezes de gansos domésticos *Anser anser* Linnaeus, 1758, identificado com base na análise morfométrica de seus oocistos esporulados como *Tyzzeria parvula* (Kótlan, 1933) Klimes, 1963. Este protozoário é descrito pela primeira vez no Brasil em áreas urbana e rural do estado do Rio de Janeiro. Os oocistos observados tinham aparência sub-esférica a elipsóide, medindo cerca de 11,28 a 16,44 por 9,15 a 14,44µm, com parede dupla e sem micrúpila, grânulo polar e esporocisto. O corpo residual foi observado ao redor dos esporozoítas ou formando uma massa granular. Os esporozoítas, em número de oito, tinham uma das extremidades arredondada, e a outra estreita e levemente curva. O teste de susceptibilidade nos anatídeos *Cairina moschata* e *Anas platyrhynchos* foi realizado, entretanto *T. parvula* não desenvolveu infecção. Através da comparação dos oocistos provenientes dos gansos das regiões rural e urbana do estado do Rio de Janeiro, pôde-se concluir que as influências dos sistemas de criação e o repetitivo grau de infecção natural sobre os gansos domésticos *A. anser* foram responsáveis pelo pleomorfismo dos oocistos esporulados de *T. parvula* encontrados nas fezes de gansos domésticos no Brasil.

Palavras chave: Coccídio; Anatídeos; Coccidiose; Anseriformes.

ABSTRACT

Berto, Bruno Pereira. **Characterization of *Tyzzeria parvula* (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 oocysts (Apicomplexa: Eimeriidae) of the greylag goose (*Anser anser* Linnaeus, 1758) in Brazil.** 2008. 52p. Dissertation (Master in Veterinary Microbiology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2008.

The principal objective of this research was to describe an coccidium found in the feces of greylag goose *Anser anser* Linnaeus, 1758. Based on morphometric analysis of these sporulated oocysts, they were classified as *Tyzzeria parvula* (Kótlan, 1933) Klimes, 1963. This coccidium was described for the first time in goose of Brazil at rural and urban areas from the State of Rio de Janeiro. The oocysts were sub-spherical to ellipsoidal, measuring 11.28 to 16.44 for 9.15 to 14.44µm, with double-layer and without micropile, polar granule and sporocysts. The residuum was observed around the sporozoites or forming a granular mass. Eight sporozoites were presents with one of the extremities rounded, and other one narrows and lightly curved. The sensitivity test in *Cairina moschata* and *Anas platyrhynchos* was done, however *T. parvula* did not develop infection. Through the comparison of the sporulated oocysts from goose of the rural and urban areas of the state of the Rio de Janeiro, it could be concluded that influences of the breeding systems and continuous natural infection degree in the greylag goose (*A. anser*) were responsible for pleomorphism of the dimensions of the *T. parvula* sporulated oocysts found in the feces of domestic goose of Brazil.

Keywords: Coccidium; Anatids; Coccidiosis; Anseriformes.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Localidade e data das coletas das amostras de fezes de gansos domésticos <i>Anser Anser</i> na região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro, RJ.....	15
Tabela 2. Localidade e data das coletas das amostras de fezes de gansos domésticos <i>Anser Anser</i> na região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro, RJ.....	16
Tabela 3. Diagnóstico de <i>Tyzzeria parvula</i> em fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i>	23
Tabela 4. Aspectos comparativos das descrições dos oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i>	29
Tabela 5. Comparação dos oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados de três gansos domésticos <i>Anser anser</i> provenientes do Sítio Meu Refúgio, município de Rio Claro na região rural do estado do Rio de Janeiro	32
Tabela 6. Comparação morfométrica de oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados de gansos domésticos <i>Anser anser</i>	36

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Desenho da espécie *Anser anser*, de acordo com Osthöver e Clasbrummel (1992)..... 12
- Figura 2.** Principais estruturas morfológicas do gênero *Tyzzeria*. Oocisto esporulado desenhado em corte transversal: diâmetros maior (DM) e menor (dm), espessura da parede do oocisto (EP), esporozoítas (E) e resíduo do oocisto (R). Adaptado de Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2007)..... 18
- Figura 3.** Desenho de um oocisto esporulado de *Tyzzeria parvula* recuperado das fezes de um ganso doméstico *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. Câmara clara. Escala = 10µm..... 24
- Figura 4.** Fotomicrografias (A e B) de oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. Solução saturada de açúcar. Escala = 10µm..... 25
- Figura 5.** Desenho de um oocisto esporulado de *Tyzzeria parvula* recuperado das fezes de um ganso doméstico *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. Câmara clara. Escala = 10µm..... 25
- Figura 6.** Fotomicrografias (A e B) de oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. Escala = 10µm..... 26

Figura 7. Oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados das fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i> da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. As diferentes formas e dimensões demonstram o pleomorfismo dos oocistos esporulados desta espécie. Câmara clara. Escala = 10µm.....	30
Figura 8. Oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados das fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i> da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. As diferentes formas e dimensões demonstram o pleomorfismo dos oocistos esporulados desta espécie. Câmara clara. Escala = 10µm.....	31
Figura 9. Distribuição dos diâmetros maior (A) e menor (B), e índice morfométrico (C) dos oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados das fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i> da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro.....	33
Figura 10. Distribuição dos diâmetros maior (A) e menor (B) e índice morfométrico (C) dos oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados das fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i> da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.....	34
Figura 11. Distribuição dos oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i> recuperados das fezes de gansos domésticos <i>Anser anser</i> , procedentes da região rural (A), município de Rio Claro e da região urbana (B), municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.....	38

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1. O PARASITO.....	3
2.1.1. Classificação.....	3
2.1.2. Histórico.....	3
2.1.3. Morfologia.....	4
2.1.4. Biologia.....	5
2.1.5. Hospedeiros.....	6
2.1.5. Demais espécies do gênero <i>Tyzzeria</i>.....	6
2.2. OS GANSOS.....	9
2.2.1. Classificação.....	9
2.2.2. Histórico.....	10
2.2.3. Sistemática, ecologia e distribuição geográfica.....	11
2.2.4. A coccidiose em gansos.....	13
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	14
3.2. ORIGEM DAS AMOSTRAS.....	14
3.3. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS.....	14
3.4. VISUALIZAÇÃO DOS OOCISTOS.....	17
3.5. MENSURAÇÃO E DESCRIÇÃO DOS OOCISTOS.....	18
3.6. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS.....	19
3.7. DESENHO E FOTOMICROGRAFIA DOS OOCISTOS.....	19
3.8. TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE NO PATO (<i>Cairina moschata</i>) E MARRECO (<i>Anas platyrhynchos</i>).....	19
3.9. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA.....	20
3.9.1. Histograma.....	20
3.9.2. Teste <i>t</i> de Student.....	20
3.9.3. Regressão linear.....	21

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1. SITUAÇÃO DAS ÁREAS DE COLETA.....	22
4.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS EXAMINADAS.....	22
4.3. DESCRIÇÃO DOS OOCISTOS.....	23
4.3.1. Oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i> de <i>Anser anser</i> da região rural.....	23
4.3.2. Oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i> de <i>Anser anser</i> da região urbana.....	24
4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS ESPORULADOS DE <i>Tyzzeria parvula</i>.....	26
4.5. DIAGNOSE.....	27
4.6. SUSCEPTIBILIDADE DE <i>Cairina moschata</i> E <i>Anas platyrhynchos</i> A INFECÇÃO POR <i>Tyzzeria parvula</i>.....	27
4.7. PLEOMORFIA DOS OOCISTOS.....	28
4.8. RELAÇÃO PARASITO HOSPEDEIRO.....	32
4.8.1. Frequência na distribuição dos oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i> em <i>Anser anser</i>.....	32
4.8.2. Aspectos morfométricos comparativos dos oocistos de <i>Tyzzeria parvula</i>.....	35
4.8.3. Distribuição dos oocistos esporulados de <i>Tyzzeria parvula</i>...	37
5. CONCLUSÃO.....	39
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
7. ANEXOS.....	45
7.1. ANEXO A – Artigo científico: BERTO, B. P.; TEIXEIRA, M.; LOPES, C. W. G. <i>Tyzzeria parvula</i> (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the greylag goose (<i>Anser anser</i> Linnaeus, 1758) in Southeastern Brazil. <i>Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária</i>, v. 16, n. 3, p. 156-158, 2007.....	46
7.2. ANEXO B – Artigo científico: LOPES, B.; BERTO, B. P.; MASSAD, F.; LOPES, C. W. G. <i>Isospora vanriperorum</i> Levine, 1982 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the green-winged saltator, <i>Saltator similes</i> Lafresnaye and D'Orbigny, 1837 (Passeriformes: Emberizidae) in Eastern Brazil. <i>Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária</i>, v. 16, n. 4, p. 211-214, 2007.....	49

1. INTRODUÇÃO

A constante busca de consumidores, cada vez mais exigentes, por uma qualidade de vida melhor tem intensificado o esforço de indústrias, empresas e criadores em geral a se modernizar e explorar novas atividades. Com a avicultura isto também ocorre e aves como gansos (gêneros *Anser* Brisson, 1760 e *Branta* Scopoli, 1769), faisões (gêneros *Phasianus* Linnaeus, 1758 e *Chrysolophus* Gray, 1834), codornas (gênero *Coturnix* Bonnaterre, 1791), patos (*Cairina moschata* Linnaeus, 1758), marrecos (gênero *Anas* Linnaeus, 1758) e galinhas d' Angola (*Numida meleagris* Linnaeus, 1758), antes normalmente importadas, atualmente são produzidas nacionalmente.

Atualmente, varias espécies de gansos são criadas em diversas regiões do país, com objetivos de ornamentação, vigilância, corte, industrialização de penas e, até mesmo, por estimação. Na região sul do Brasil são encontrados os maiores criatórios confinados e tecnificados. As principais espécies criadas são: *Anser anser* Linnaeus, 1758 (ganso doméstico), *A. cygnoides* Linnaeus, 1758 (ganso sinaleiro) e *Branta canadensis* Linnaeus, 1758 (ganso do Canadá). A produção destas espécies tem como finalidade, principalmente, o corte, por ser exótico, logo de alto custo, atendendo os consumidores de maior poder aquisitivo. Existe ainda, o interesse na industrialização de penas, pois possuem boa aceitação e chegam a alcançar bons preços desde que tiradas a seco e com cuidado.

No Brasil, o ganso doméstico (*A. anser*) é o mais comum. Na América do norte e Europa, esta e outras espécies da subfamília Anatinae, como: *A. albifrons* Scopoli, 1789 (ganso grande de testa branca), *A. caerulescens* Linnaeus, 1758 (ganso das neves), *B. canadensis* (ganso do Canadá), *A. rossii* Cassin, 1861 (ganso de Ross) e *B. bernicla* Linnaeus, 1758 (ganso de faces negras), são freqüentemente parasitadas por *Tyzzeria parvula* (Kótlán, 1933) Klimes, 1963, espécie mais comum dentro do grupo das coccidioses intestinais em gansos, embora, até hoje, não descrita no Brasil.

Tyzzeria parvula pode infectar severamente os gansos destruindo vilosidades do intestino e deteriorar pequenos capilares. Gansos de todas as idades são susceptíveis a infecção, podendo assim, estar associado a prejuízos econômicos em pequenas e grandes criações.

Baseando-se nestes fatos, este trabalho teve por objetivos identificar e caracterizar morfometricamente os oocistos esporulados de *T. parvula* de infecções naturais em gansos da

espécie *A. anser*, verificar a possibilidade de transmissão experimental para um pato *C. moschata* e um marreco *Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758 e avaliar a influência do sistema de criação sobre os oocistos esporulados de *T. parvula* recuperados de gansos mantidos em duas regiões, uma rural e outra urbana, no estado do Rio de Janeiro.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O PARASITO

2.1.1. Classificação

O coccídio da espécie *T. parvula*, segundo Upton (2000), possui a seguinte classificação:

Super-reino: Eukaryota Whittaker & Margulis, 1978

Reino: Protozoa (Goldfuss, 1818) R. Owen, 1858

Filo: Apicomplexa Levine, 1970

Classe: Conoidasida Levine, 1988

Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879

Ordem: Eucoccidiorida Léger & Duboscq, 1910

Sub-ordem: Eimeriorina Léger, 1911

Família: Eimeriidae Minchin, 1903

Gênero: *Tyzzeria* Allen, 1936

Espécie: *Tyzzeria parvula* (Kótlán, 1933) Klimes, 1963

2.1.2. Histórico

O gênero *Tyzzeria* foi descrito, pela primeira vez, por Allen (1936) parasitando marrecos (*A. platyrhynchos*). O nome do gênero foi proposto em homenagem ao Dr. Edward Ernest Tyzzer, da Escola Médica de Harvard, EUA pela sua ampla contribuição ao estudo de protozoários parasitas de pássaros, especialmente coccídios de galináceos (ALLEN, 1936).

Tyzzeria parvula foi originalmente descrita por Kótlán (1933) como *Eimeira parvula* no ganso doméstico (*A. anser*). A justificativa para o erro de gênero pode ser explicada pelo fato do gênero *Tyzzeria* ter sido descrito apenas por Allen em 1936 (GAJADHAR et al., 1983). Nieschulz (1947), encontrando este coccídio e desconhecendo a publicação de Kótlán,

nomeou-o como *T. anseris*. Klimes (1963) ao encontrar o mesmo coccídio no ganso doméstico considerou os achados de Kótlán (1933) e Nieschulz (1947) como sendo o mesmo protozoário, e o descreveu como *T. parvula* (GAJADHAR et al., 1983).

Outras espécies observadas e descritas parasitando aves da ordem Anseriformes foram consideradas como válidas. Além disso, descrições de espécies de *Tyzzeria* podem ser observadas em outras ordens de vertebrados, embora pareçam ser identificações equivocadas (LEVINE, 1985; DUSZYNSKI et al., 1999).

2.1.3. Morfologia

De acordo com Levine (1985) no gênero *Tyzzeria* encontram-se coccídios cujos oocistos não possuem esporocistos. Cada oocisto é constituído por oito esporozoítas.

Segundo a descrição feita por Kotlán (1933) os oocistos esporulados de *T. parvula* são esféricos a elipsóides, medindo o diâmetro maior de 10 a 15 μ m e o diâmetro menor de 10 a 14 μ m, com parede fina e incolor.

Nieschulz (1947) descreveu estes oocistos como moderadamente elipsóides, medindo o diâmetro maior médio de 14,0 μ m, variando de 12 a 16 μ m, e o diâmetro menor médio de 11,5 μ m, variando de 10 a 12,5 μ m, com muito resíduo e parede não muito grossa e incolor. Os esporozoítas apresentavam uma extremidade arredondada e a outra afilada.

Levine (1952) identificou oocistos elipsóides, medindo o diâmetro maior médio de 12,8 μ m, variando de 10,5 a 15,1 μ m, e o diâmetro menor médio de 10,8 μ m, variando de 8,8 a 12,4 μ m, com parede lisa, incolor e aparentemente dupla com espessura de aproximadamente 0,6 μ m. Os esporozoítas apresentavam formato de “banana” e cercavam um grande, irregular e granular corpo residual.

Quando observado por Klimes (1963) os oocistos foram descritos como moderadamente esféricos a elipsóides, medindo o diâmetro maior médio de 14,8 μ m, variando de 12 a 17 μ m, e o diâmetro menor médio de 12,8 μ m, variando de 11 a 15 μ m, com parede incolor e espessura medindo aproximadamente 0,5 μ m. Os esporozoítas apresentavam uma extremidade arredondada enquanto a outra apresentava-se estreita e levemente curva. O resíduo formava uma grande massa granular arredondada.

2.1.4. Biologia

Como modelo da biologia de *T. parvula*, pode-se utilizar àquele observado por Allen (1936), na descrição do gênero *Tyzzeria* e da espécie-tipo *T. pernicioso* Allen, 1936, cujas fases foram bem caracterizadas.

Todo o ciclo de vida ocorre em um único hospedeiro. O oocisto, ao ser eliminado nas fezes por um hospedeiro infectado, leva um período de esporulação de 24h onde se torna infectivo para outro hospedeiro. A mucosa e submucosa da moela até o ceco são invadidas pelos esporozoítas liberados dos oocistos esporulados. Ao penetrar nas células do intestino começam a se dividir. Em algumas infecções dois ou três trofozoítos por célula.

Após 24h forma-se a primeira geração de esquizontes, medindo cerca de 8,3 a 11,6µm. Pelo 5º dia após a ingestão (DAI), os esquizontes ocupam quase totalmente a célula intestinal. No 9º DAI o núcleo é empurrado para um dos lados da célula intestinal que ocupa apenas uma fração do citoplasma. Os maiores esquizontes medem cerca de 15 a 16 por 14 a 15µm e são normalmente esféricos. Allen (1936) afirma que podem ser observadas três gerações de esquizontes, mas Versényi (1967) as caracteriza simplesmente como duas.

Os gametócitos começam seu desenvolvimento rapidamente. A primeira geração de microgametócitos inicia-se no 2º DAI. Eles medem 7,5 por 5,8µm, são constituídos por um núcleo central onde minúsculos microgametas são acoplados.

O desenvolvimento do macrogametócito é irregular, pois seu tamanho está relacionado ao tamanho da célula hospedeira. Em muitos, corpos cromatóides são encontrados, inclusive no protoplasma do parasito.

Os primeiros oocistos são formados e encontrados nas fezes do hospedeiro no final do 5º ao 6º DAI.

A biologia da espécie *T. parvula* foi determinada, de forma simplificada, por Klimes (1963), numa infecção experimental em cinco gansos domésticos (*A. anser*). Segundo este autor, a liberação dos oocistos de *T. parvula* nas fezes do hospedeiro ocorre em média no 5º DAI. Os primeiros oocistos são liberados após o 3º DAI e prolonga-se até o 14º DAI. O local de infecção concentra-se nas vilosidades do intestino delgado, onde os esquizontes e gametócitos são encontrados, onde destroem completamente a camada epitelial. No ceco, o desenvolvimento ocorre em casos isolados na superfície das células, sem penetração e sem destruição epitelial.

Os esquizontes apresentam coloração clara na presença da hematoxilina-eosina, medem de 12,2 por 9,0µm e possuem cerca de 16 a 22 merozoítas. Os macrogametócitos,

quando jovens, apresentam forma esférica, coloração violeta na hematoxilina-eosina, núcleo escuro e medem aproximadamente 5 a 6µm. Após desenvolvimento, o plasma do macrogametócito torna-se granular e o tamanho aumenta para 8 por 6µm.

Os microgametócitos são maiores, medindo 9,5 por 7,0µm. Estes penetram nas células em grande número, completam a gametogonia e passam a destruir a camada superficial das células epiteliais das vilosidades em diversas regiões do intestino delgado do hospedeiro. As porções superficiais das vilosidades destruídas expõem capilares finos que ficam expostos à deterioração.

Diferentemente do que ocorre em *T. pernicioso*, no ciclo de *T. parvula* determinado por Klimes (1963), as fases são bem delimitadas, ou seja, a esquizogonia não ocorre durante ou após a gametogonia.

2.1.5. Hospedeiros

Os hospedeiros relacionados ao parasitismo da espécie *T. parvula* pertencem a Família Anatidae, Subfamília Anserinae. A transmissão para a Subfamília Anatinae foi testada previamente por Klimes (1963) através de uma infecção experimental em marrecos da espécie *A. platyrhynchos*, entretanto estes animais não desenvolveram a infecção.

As identificações de *T. parvula* foram feitas, até hoje, nos anseriformes das espécies *A. albifrons*, *A. anser*, *A. caerulescens*, *A. rossi*, *B. bernicla*, *B. canadensis* e *Cygnus columbianus* Ord, 1815. Recentemente, Dolnik e Loonen (2006) descreveram um novo hospedeiro, o ganso de faces brancas *B. leucopsis* Bechstein, 1805.

2.1.5. Demais espécies do gênero *Tyzzeria*

Diversas espécies foram descritas no gênero *Tyzzeria*, entretanto, algumas destas descritas fora da ordem Anseriformes, são consideradas identificações equivocadas por Levine (1985) e Duszynski et al. (1999).

A primeira espécie descrita foi denominada como *T. pernicioso*, parasitando marrecos *A. platyrhynchos* no ano de 1935 (ALLEN, 1936). Esta espécie é patogênica a ponto de causar a mortalidade de 10% dos animais em alguns processos agudos da doença (SOULBY, 1987).

Segundo Allen (1936) os oocistos *T. pernicioso* são elípticos medindo o diâmetro maior de 10 a 13,3µm, e o diâmetro menor de 9 a 10,8µm. A parede do oocisto é densa, incolor e constituída de duas camadas, sendo que a externa é mais fina e transparente, conseqüentemente, de difícil visualização e sem micrópila. Os esporozoítas possuem uma porção mais redonda e mais larga que a outra. Corpo residual presente composto de grânulos de vários tamanhos, normalmente esféricos.

Os hospedeiros possíveis são: *A. acuta* Linnaeus, 1758, *A. platyrhynchos*, *Aythya fuligula* Linnaeus, 1758, *Oxyura leucocephala* Scopoli, 1769, *Tadorna tadorna* Linnaeus, 1758 (SOULBY, 1987; DUSZYNSKI et al., 1999).

A segundo espécie descrita foi *T. natrrix* Matubayasi, 1937. Esta espécie tem como sinonímia *Koidzumiella natrrix* e foi encontrada parasitando *Rhabdophis tigrinus* Linnaeus, 1758, serpente esta da família Colubridae (MATUBAYASI, 1937). Seus oocistos são esféricos, medindo o diâmetro maior médio de 16,1µm e o diâmetro menor médio de 11,7µm. Duszynski et al. (1999) sugerem que esta espécie foi descrita erroneamente, pois o oocisto observado, deve ser um exemplar do gênero *Isospora* Schneider, 1881 que teve esporulação anormal.

Tyzzeria alleni Chakravarty e Basu, 1946 possui como sinonímia *T. alleniae* e foi encontrada parasitando o ganso pigmeu *Chenicus (Nettapus) coromandelianus* Gmelin, 1789 na Índia. Seus oocistos são ovóides medindo o diâmetro maior de 14,5 a 17,3µm, e o diâmetro menor de 9,6 a 11,5µm. A parede do oocisto é dupla e sem micrópila. Possui corpo residual que mede cerca de 6,4µm. Os esporozoítas são afinados em uma das extremidades, medem cerca de 6,5 por 5,3µm e possuem um núcleo central (CHAKRAVARTY; BASU, 1946).

Tyzzeria peromysci Levine e Ivens, 1960 foi à primeira descrição do gênero *Tyzzeria* em mamíferos. Seus hospedeiros são roedores das espécies: *Peromyscus leucopus* Rafinesque, 1818 e *P. maniculatus* Wagner, 1845. Os oocistos são elípticos, medindo o diâmetro maior médio de 12,6µm, variando de 11 a 14 µm, e o diâmetro menor médio de 10,1µm, variando de 9 a 11µm, com parede única, amarelada, lisa e espessura de aproximadamente 0,6µm. Os esporozoítas possuem forma de “banana”, medindo cerca de 9 a 11 por 3,5µm. Corpo residual ausente, porém um ou dois grânulos polares estão presentes (LEVINE; IVENS, 1960). Segundo Duszynski et al. (1999) esta espécie foi descrita erroneamente, pois o oocisto observado aparenta ser um coccídio de invertebrado (ex. *Pfeifferinella* Wasielewski, 1904) ingerido pelo roedor.

A sexta espécie descrita foi *T. pellerdyi* Bhatia e Pande, 1966 parasitando anseriformes como: *A. acuta* Linnaeus, 1758, *A. americana* Gmelin, 1789, *A. clypeata* Linnaeus, 1758, *A.*

crecca Linnaeus, 1758, *A. discors* Linnaeus, 1766, *A. platyrhynchos*, *A. strepera* Linnaeus, 1758 e *A. nyroca* Gldenstdt, 1769. Os oocistos são sub-esféricos a ovóides, medindo o diâmetro maior médio de 13µm, variando de 11 a 16µm, e o diâmetro menor médio de 10µm, variando de 8 a 11µm, com parede lisa, espessura variando de 0,5 a 0,7µm e sem micrpila. Os esporozoítas possuem forma de “banana”, medindo cerca de 8,5 por 2,0µm, com núcleo central e um corpo refrtil proeminente em uma das extremidades. Corpo residual presente, medindo cerca de 4 a 5µm (BHATIA; PANDE, 1966).

Tyzzeria chenicusae Ray e Sarkar, 1967 foi descrita inicialmente como *E. chenicusae*. Possui como hospedeiro o ganso pigmeu *Chenicus (Nettapus) coromandelianus*. Seus oocistos são cilíndricos, medindo o diâmetro maior médio de 24,8µm, variando de 20,4 a 27,6µm, e o diâmetro menor médio de 16,8µm, variando de 14,4 a 20,4µm e possuem ndice morfométrico de 1,0 a 1,5. A parede do oocisto  dupla, sendo que a externa  escura e a interna  fina e clara. Os esporozoítas medem cerca de 13,2 por 4,2µm e possuem um corpo refrtil em uma das extremidades. Corpo residual presente composto de uma massa compacta (RAY; SARKAR, 1967).

Tyzzeria typhlopis Ovezmukhamedov, 1968 foi descrita como parasita de serpentes da espécie *Typhlops vermicularis* Merrem, 1820. Seus oocistos são elipsoidais, medindo o diâmetro maior de 31,5 a 32,4µm, e o diâmetro menor de 18,9 a 20,7µm (OVEZMUKHAMEDOV, 1968).

Tyzzeria galli Fernando e Remmler, 1973 foi descrita como primeiro parasita do gênero *Tyzzeria* em galliformes. O hospedeiro, cuja provável nova espécie foi encontrada  *Gallus lafayetii* Lesson, 1831. Seus oocistos são esferóides medindo o diâmetro médio de 13,8µm, variando de 12 a 15µm. A parede do oocisto  simples e delicada. Os esporozoítas circundam uma massa granular, são elipsóides, medem cerca de 4 por 2µm e apresentam superfície achatada, um núcleo claramente visível e uma das extremidades afilada e a outra arredondada (FERNANDO; REMMLER, 1973). Segundo Duszynski et al. (1999) esta descrição foi equivocada, pois o oocisto observado deve ser um pseudoparasita de invertebrado, ou o resultado de uma esporulação anormal de uma espécie de *Eimeria* Schneider, 1875.

Tyzzeria chalcides Probert, Roberts e Wilson, 1988 foi descrita parasitando o camaleão egípcio *Chalcides ocellatus* Forskal, 1775 em Abu-Rawash no Egito. Seus oocistos são cilíndricos e esferóides nas extremidades medindo o diâmetro maior médio de 35µm, variando de 32 a 37µm, e o diâmetro menor médio de 18,6µm, variando de 17 a 20,4µm. O ndice morfométrico foi de 1,88. A parede do oocisto  lisa e sem micrpila. Grânulo polar e

resíduo estão ausentes. Os esporozoítas medem cerca de 13,4 a 14 por 4,6 a 5,1µm, com média de 13,7 por 4,8µm (PROBERT et al., 1988). Ball et. al. (1994) considerou esta espécie como *E. chalcides* e considerou que a descrição de Probert et. al. (1988) foi de um oocisto com esporulação anormal.

Tyzzeria boae Lainson e Paperna, 1994 foi mais uma espécie do gênero *Tyzzeria* descrita em serpentes. Seu hospedeiro é a *Boa constrictor* Linnaeus, 1758. Seus oocistos são esféricos a sub-esféricos, medindo o diâmetro maior médio de 19µm e o diâmetro menor médio de 18µm. O índice morfométrico foi de 1,0 a 1,1. A parede do oocisto é clara, extremamente delicada e sem micrópila. Corpo residual está presente composto de grânulos de vários tamanhos. Os esporozoítas medem cerca de 11,0 por 1,8µm, possuem forma de “banana” e dois corpos refrateis um posterior e o outro anterior ao núcleo (LAINSON; PAPERNA, 1994). Duszynski et al. (1999) afirmam que esta espécie, na verdade, é uma espécie do gênero *Klossiella* Smith & Johnson, 1902 ou de algum outro coccídio.

2.2. OS GANSOS

2.2.1. Classificação

Segundo os dados apresentados pela “Birdlife International”, o ganso doméstico pode ter a seguinte classificação de acordo com Ekstrom e Butchart (2004):

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Aves

Ordem: Anseriformes

Família: Anatidae

Subfamília: Anserinae

Gênero: *Anser*

Espécie: *Anser anser* Linnaeus, 1758

2.2.2. Histórico

O ganso tem convivido com o homem há séculos, fornecendo carne, penas, ovos entre outros produtos (SANTOS et. al., 2006). Em seu estado selvagem, são encontrados nos velho e novo mundo, reproduzindo-se no norte e migrando para o sul no inverno (SHARPE, 2001).

Eles foram domesticados, provavelmente antes do marreco, na China ou no Sudeste Asiático, há 5.000 anos. O ganso doméstico (*A. anser*) é, provavelmente, a espécie ancestral. Pensa-se que eles foram inicialmente domesticados para a alimentação e produção de óleo. Os egípcios, cerca de 1500 a.C., foram os primeiros a fazer alimentação forçada com o objetivo de hipertrofiar o fígado (APPLEBY et. al., 2004; KEAR, 2005).

Eram bem conhecidos na Europa no período de 700 a.C. No Império Romano, os gansos do Capitólio tinham a função de vigilantes, de modo que, em 390 a.C. protegeram a sede do Senado ao grasnarem, denunciando a infiltração silenciosa dos Gauleses e evitando que as tropas de Roma fossem atacadas (APPLEBY et. al., 2004).

Assim como, em galinhas, foram os romanos que desenvolveram um sistema de produção de gansos, onde eles passavam por um processo de alimentação, engorda e abate. Com a queda do Império Romano, os gansos regrediram ao estado selvagem (APPLEBY et. al., 2004). Entretanto, conforme ocorreu com desenvolvimento humano e, conseqüentemente, a redescoberta destas espécies e exploração de outros produtos originados destes animais, retornou-se o interesse por domesticá-los. Além da carne e óleo que já ofereciam, as penas foram utilizadas na produção de vestimentas e a gordura, foi utilizada em candelabros, candeeiros e outros artefatos com o intuito de oferecer luz e calor (KEAR, 2005).

As principais espécies, até então, domesticadas foram *A. anser* e *A. cygnoides* (ganso sinalheiro). Através da domesticação de *A. cygnoides*, duas novas raças são oriundas desta espécie, as variedades chinesa e africana (KEAR, 2005).

Suspeita-se que a introdução dos gansos no Brasil tenha ocorrido na época do descobrimento. Ao estabelecer-se em definitivo no Brasil, os portugueses recriaram o ambiente familiar, cercando-se dos recursos de curral, quintal e horta. Com isto, os gansos foram trazidos e criados, pois eram bem requisitados na culinária portuguesa da época (SEIXAS, 2003).

Em tempos modernos, os gansos têm sido criados para ornamentação, vigilância, corte, industrialização de penas e, até mesmo, por estimação. Vivem em fazendas, sítios ou chácaras, onde podem ser encontrados pastando, como os bois, e engrossando o plantel de muitos criadores de aves (QUEVEDO et al., 2004).

Sistemas de produção para corte, com criatório confinado e tecnificado, são encontrados em toda Europa, principalmente na França, e encontra-se em expansão na região sul do Brasil (QUEVEDO et al., 2004).

Muitas raças foram produzidas, cada uma com sua especialidade. A de maior importância na produção é a raça Toulouse (*A. anser*), de origem francesa, que produz a carne de melhor qualidade e também é bastante conhecida pela produção de pasta de fígado. A raça Embden (*A. anser*), é a preferida para industrialização de penas, devido a serem inteiramente brancas (QUEVEDO et al., 2004).

O ganso chinês (*A. cygnoides*) é muito bonito e elegante. Possui variedades brancas e pardas com bico, pernas e pés alaranjados lembrando o porte dos cisnes. O ganso africano (*A. cygnoides*) é, principalmente, criado para vigilância e ornamentação. O ganso do Canadá (*B. canadensis*) é branco, com pescoço e cabeça pretos. É também muito utilizado para ornamentação.

Atualmente, os gansos são criados no mundo inteiro para diversas finalidades. Sua taxonomia e ecologia são as mais conhecidas, quando comparados aos outros grupos de aves. São os mais admirados, devido à beleza e, principalmente, ao mistério de suas migrações.

2.2.3. Sistemática, ecologia e distribuição geográfica

A ordem Anseriformes compreende marrecos, patos, gansos e cisnes. As principais espécies de ganso estão relacionadas, principalmente, ao gênero *Anser*, mas podem ser considerados, os gêneros: *Branta*, Chen Miller, 1925, *Chloephaga* Eyton, 1838, *Alopochen* Stejneger, 1885, *Neochen* Oberholser, 1918, *Cereopsis* Latham, 1802, *Plectropterus* Stephens, 1824, *Cygnus* Bechstein, 1803, *Cyanochen* Bonaparte, 1856 e *Nettapus* Brandt, 1836 (EKSTROM; BUTCHART, 2004). Alguns gêneros têm uma escala de variação grande ou desenvolvem como *B. canadensis* um grande número de subespécies (OSTHÖVER; CLASBRUMMEL, 1992).

O gênero *Anser* compreende gansos com bico mais curto do que a cabeça, embora comprido se relacionado com a base, possui formato cônico, comprimido e arredondado na extremidade. A mandíbula superior inclina-se dorsalmente sobre a inferior. O sulco nasal é oblongo, preenchido pela membrana macia do bico. As narinas medial, lateral e longitudinal, estreitam a mandíbula. O pescoço é longo e delgado. O corpo, comprimido ligeiramente (AUDUBON, 1967).

Os pés são curtos. O dedo traseiro é pequeno e elevado, enquanto o terceiro é o mais longo. O quarto dedo é maior que o segundo. Todos são reticulados na base, com uma pequena membrana interdigital. A plumagem é compacta na parte superior e misturada na inferior. As asas compridas e convexas. A cauda é muito pequena, com dezesseis ou mais penas (AUDUBON, 1967).

As cores do bico e pé são usualmente utilizadas na classificação quanto à espécie do gênero *Anser*, entretanto, devido às hibridizações, apenas estas características não podem ser consideradas distintivas (SHARPE, 2001).

A espécie *A. anser* (Figura 1) é a espécie-tipo e a mais comum dentro do gênero *Anser*. É cosmopolita e possui uma ampla distribuição global. Sua população mundial está estimada em 920.000 a 970.000 indivíduos que ocupam uma área com cerca de 1.000.000 a 10.000.000 km² (EKSTROM; BUTCHART, 2004).

Reside em sua forma selvagem, principalmente, no norte da Europa e na Ásia. Não possui dimorfismo sexual, pelo menos, no que se refere à coloração. O bico é alaranjado, sem marcas pretas. Na base do bico, freqüentemente uma estreita linha branca está presente (OSTHÖVER; CLASBRUMMEL, 1992).



Figura 1. Desenho da espécie *Anser anser*, de acordo com Osthöver e Clasbrummel (1992).

2.2.4. A coccidiose em gansos

Coccidiose é uma importante doença, causada por protozoários em animais domésticos. A doença se manifesta com sintomas caracterizados por diarreia, desidratação, e morte principalmente em animais jovens (ARSLAN et. al., 2002).

Em gansos, as coccidioses não são relacionadas diretamente como problemas em sua criação, principalmente, devido a sua produção encontrar-se, ainda, em crescimento no Brasil. Entretanto, na América do Norte, existem vários relatos de populações de gansos doentes com alto índice de mortalidade devido ao parasitismo por coccídios. Na Europa, onde eles possuem grande importância econômica, a coccidiose é frequentemente relatada (HANSON et. al., 1957; GAJADHAR et al., 1983).

Os principais coccídios parasitas de ganso são: *E. truncata* (Railliet e Lucet, 1891) Wasielewski, 1904, espécie parasita de rim; *E. anseris* Kótlan, 1932, *E. brantae* Levine, 1953, *E. clarkei* Hanson, Levine e Ivens, 1957, *E. crassa* Farr, 1963, *E. farri* Hanson, Levine e Ivens, 1957, *E. fulva* Farr, 1953, *E. hermani* Farr, 1953, *E. kotlani* Gräfner e Graubmann, *E. magnalabia* Levine, 1951, *E. nocens* Kótlan, 1933, *E. pulchella* Farr, 1963, *E. stigmosa* Klimes, 1933, *E. striata* Farr, 1953, *Isospora anseris* Skene, Remmler e Fernando e *T. parvula*, espécies parasitas de intestino (HANSON et. al., 1957; GAJADHAR et al., 1983; ARSLAN et. al., 2002).

Segundo Hanson et. al. (1957), na América do Norte, e Arslan et. al. (2002), na Província de Kars, na Turquia, *T. parvula* é a espécie mais prevalente em gansos, seguida de *E. truncata* e *E. stigmosa* (ARSLAN et. al., 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento e a obtenção bibliográfica foram realizados regularmente durante o período de desenvolvimento da pesquisa que deu origem a esta dissertação. Estas foram realizadas, na Biblioteca Central da Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ. Os artigos foram analisados e selecionados através da base de dados “PubMed”, “Web of Science” e das referências citadas no banco de dados “Coccidia of the World” de Duszynski et al. (1999).

3.2. ORIGEM DAS AMOSTRAS

Os pontos de coleta foram selecionados de acordo com a quantidade, a disponibilidade, o modo de contenção, as interações intra e interespecíficas e a disponibilidade dos recursos os quais os gansos domésticos *A. anser* apresentaram-se na localidade. Foram selecionadas duas localidades por conveniência no estado do Rio de Janeiro, distantes e que tivessem características de criações rurais, município de Rio Claro (Tabela 1) e urbanas, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias (Tabela 2).

3.3. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

Um total de 45 amostras de fezes foi coletada. Na região rural as fezes foram coletadas diretamente do solo e na região urbana foram coletadas do fundo das gaiolas. Em ambas regiões estas amostras foram obtidas logo após a defecação dos gansos, com cautela e descartando a parte das fezes que estivesse em contato direto com o solo ou com o fundo da gaiola para que não houvesse contaminação.

Tabela 1. Localidade e data das coletas das amostras de fezes de gansos domésticos *Anser Anser* na região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro, RJ.

Nº da Amostra	Localidade	Data
1	Sítio Mata Verde	21/08/07
2	Sítio Mata Verde	21/08/07
3	Sítio Mata Verde	21/08/07
4	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
5	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
6	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
7	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
8	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
9	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
10	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
11	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
12	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
13	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
14	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
15	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
16	Sítio Meu Refúgio	21/08/07
17	Sítio Nossa Senhora da Aparecida	28/08/07
18	Sítio Nossa Senhora da Aparecida	28/08/07
19	Sítio Nossa Senhora da Aparecida	28/08/07
20	Sítio Coração de Maria	27/09/07
21	Sítio Coração de Maria	27/09/07
22	Sítio Coração de Maria	27/09/07

Tabela 2. Localidade e data das coletas das amostras de fezes de gansos domésticos *Anser Anser* na região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro, RJ.

Nº da amostra	Localidade	Data
1	Bairro Parada Angélica	23/03/06
2	Bairro Parada Angélica	23/03/06
3	Bairro Parada Angélica	23/03/06
4	Bairro Parada Angélica	23/03/06
5	Bairro Parada Angélica	23/03/06
6	Bairro Madureira	09/06/06
7	Bairro Madureira	09/06/06
8	Bairro Madureira	09/06/06
9	Bairro Madureira	09/06/06
10	Bairro Madureira	27/12/06
11	Bairro Madureira	27/12/06
12	Bairro Madureira	27/12/06
13	Bairro Madureira	13/01/07
14	Bairro Madureira	13/01/07
15	Bairro Madureira	13/01/07
16	Bairro Madureira	13/01/07
17	Bairro Santa Cruz da Serra	31/03/07
18	Bairro Santa Cruz da Serra	31/03/07
19	Bairro Madureira	02/04/07
20	Bairro Madureira	02/04/07
21	Bairro Madureira	02/04/07
22	Bairro Santa Cruz da Serra	19/05/07
23	Bairro Santa Cruz da Serra	19/05/07

As amostras foram diluídas em uma solução aquosa de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5% e colocadas em recipientes para coleta de fezes contendo a relação de 1/6 de fezes para 5/6 de solução aquosa. Este material foi transportado para o Laboratório de Coccídios e Coccidioses do Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ). No laboratório o material fecal foi mantido em placas de Petri contendo a solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a temperatura ambiente variando entre 20°C a 23°C por 10 dias. Para que os oocistos permanecessem viáveis e esporulassem, as placas de Petri não foram vedadas assegurando constante presença de oxigênio atmosférico.

Após a esporulação dos oocistos, estes puderam ser separados da solução contendo as fezes e o dicromato de potássio pela técnica modificada de flutuação com solução de açúcar (500g sacarose, 350ml água, 5ml fenol) via centrifugação (5min a 2.000 rpm) descrita por Sheather (1923) e modificada por Duszynski e Wilber (1997).

Nesta técnica, a solução foi suspensa em água destilada em tubos cônicos e centrifugada, repetidamente, visando retirar o excesso de dicromato de potássio. Após isto, este material foi suspenso em solução de açúcar e, novamente, centrifugado.

Depois da centrifugação, o conteúdo do tubo cônico foi elevado com solução de açúcar até o limite da abertura até formar-se um menisco convergente, onde foi colocada uma lamínula de 24,00 x 24,00mm e deixada por um período aproximado de 10min. Após este período, a lamínula foi retirada e depositada cuidadosamente na superfície de uma lâmina limpa e seca.

3.4. VISUALIZAÇÃO DOS OOCISTOS

Para observação dos oocistos utilizou-se um microscópio triocular JENAPOL/Carl Zeiss Jena (antiga República Democrática Alemã) ou um microscópio binocular Wild M-20 (Suíça) em objetiva de 100X e óleo de imersão, com o intuito de caracterizar morfológicamente as estruturas presentes e identificar os oocistos.

3.5. MENSURAÇÃO E DESCRIÇÃO DOS OOCISTOS

Os oocistos recuperados das amostras provenientes das duas regiões rural e urbana do estado do Rio de Janeiro foram mensurados e descritos separadamente por motivos de comparação.

Mensuraram-se apenas oocistos esporulados e com total integridade. Para tanto, utilizou-se uma ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia), utilizando as objetivas de 40X e 100X. Em cada oocisto procurou-se observar e mensurar os diâmetros maior (DM) e menor (dm), índice morfométrico (IM) (diâmetro maior/ diâmetro menor) e espessura da parede do oocisto, além da forma, presença e ausência de estruturas morfológicas destacadas por Duszynski e Wilber (1997) (Figura 2).

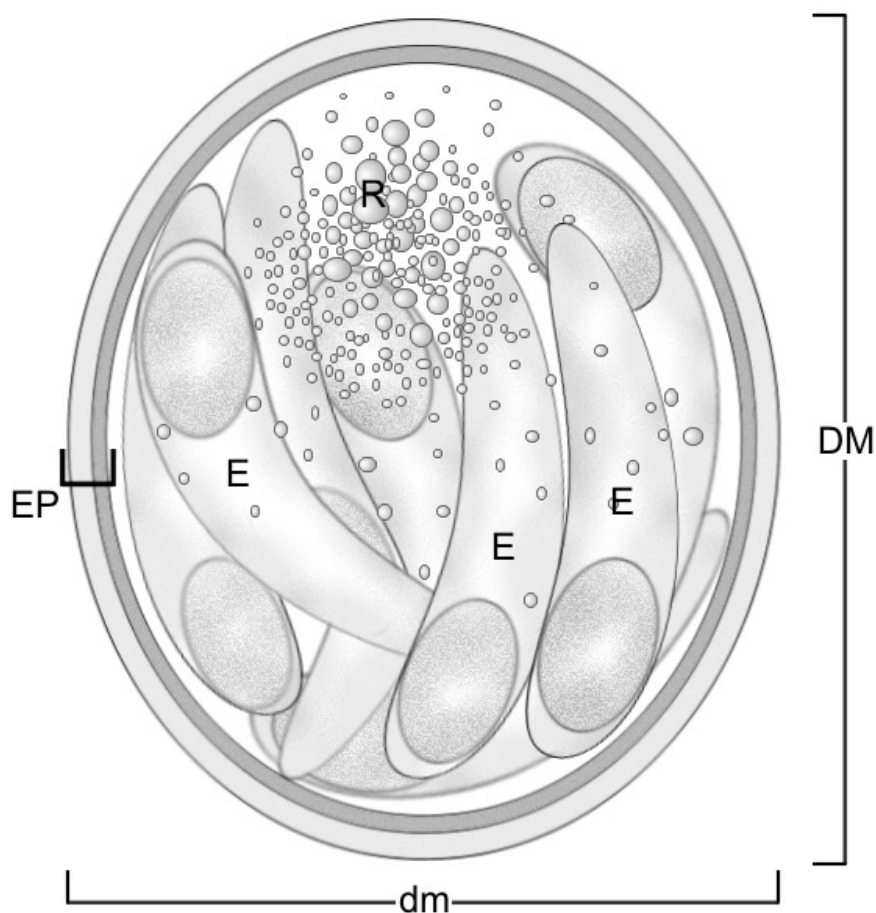


Figura 2. Principais estruturas morfológicas do gênero *Tyzzeria*. Oocisto esporulado desenhado em corte transversal: diâmetros maior (DM) e menor (dm), espessura da parede do oocisto (EP), esporozoítas (E) e resíduo do oocisto (R). Adaptado de Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2007).

3.6. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS

Para identificação dos oocistos recuperados utilizou-se como base as características fenotípicas, destacadas por Tenter et al. (2002) e as características morfológicas dos oocistos esporulados assinaladas por Duszynski e Wilber (1997) que auxiliam na classificação de coccídios.

3.7. DESENHO E FOTOMICROGRAFIA DOS OOCISTOS

Alguns oocistos foram esquematizados com auxílio de uma câmara clara acoplada a um microscópio binocular Wild M-20 e fotografados com auxílio de um microscópio triocular JENAPOL/Carl Zeiss Jena acoplado com câmara fotográfica modelo f-KAS Automatic-2 (RDA) e filmes Kodakcolor ISO 100 (21 DINA) (Kodak, México) ou câmara digital Sony® Mavica modelo MVC-CD250 (Japão).

3.8. TESTE DE SUSCEPTIBILIDADE NO PATO (*Cairina moschata*) E MARRECO (*Anas platyrhynchos*)

Com o intuito de verificar a susceptibilidade do pato e marreco frente à infecção experimental com oocistos esporulados de *Tyzzeria* encontrados nas fezes do ganso doméstico concentrou-se um maior número de oocistos utilizando-se a técnica de Sheather (1923) com modificações de Duszynski e Wilber (1997). Neste sentido, utilizaram-se placas de Petri com a solução de açúcar até o limite da abertura para formação de um menisco convergente, onde foram colocadas de maneira inversa as suas respectivas tampas. Após cinco a 10min, as tampas foram retiradas e a superfície que teve contacto com o menisco convergente foi lavada com água destilada, formando assim, uma solução concentrada de oocistos que foram lavadas com água destilada por mais de duas vezes para remoção do dicromato de potássio e da solução de Sheather.

Antes de serem os oocistos esporulados inoculados em *C. moschata* e *A. platyrhynchos*, uma estimativa da quantidade de oocistos foi calculada em cada 500µl através da contagem destes em 10µl da solução colocada entre lâmina e lamínula com auxílio de um microscópio binocular Carl Zeiss (RFA).

Após a inoculação por via oral dos oocistos, exames de fezes dos dois animais foram feitos diariamente por um período superior a 10 DAI para verificar a eliminação de oocistos não esporulados de *T. parvula* nas fezes, visto que o período pré-patente deste protozoário varia entre quatro e cinco DAI (GAJADHAR et al., 1983; LEVINE, 1985).

3.9. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

3.9.1. Histograma

O histograma confeccionado objetivou representar graficamente os valores observados dos diâmetros, maior e menor e índice morfométrico com suas respectivas frequências, de acordo com Sampaio (2002).

Neste sentido, adquiriu-se o valor do intervalo de classe através da razão da amplitude dos valores obtidos na amostra pelo número ideal de classes que é representado pelo produto da multiplicação da raiz quarta do número total de amostras por 2,5.

Enfim, distribuíram-se as frequências nas classes de valores de diâmetros maior e menor e índice morfométrico. A seguir, pôde-se preparar um gráfico, onde a reta Y representou as frequências enquanto a reta X representou os intervalos de classes de medidas de oocistos.

3.9.2. Teste *t* de Student

Para comparação entre as medidas dos diâmetros maiores e menores e índices morfométricos dos oocistos recuperados de gansos domésticos *A. anser* oriundos das duas localidades selecionadas no estado do Rio de Janeiro foi utilizado o software Microsoft Excel 2000[®] para calcular as médias, variâncias, grau de liberdade e valor de “P”, através do teste *t* de Student, presumindo variâncias equivalentes.

3.9.3. Regressão linear

A análise de regressão linear simples teve o objetivo de avaliar as medidas dos diâmetros menores sobre os diâmetros maiores dos oocistos recuperados de gansos domésticos *A. anser* oriundos de cada uma das duas localidades selecionadas no estado do Rio de Janeiro.

O método utilizado foi segundo Norton e Joyner (1981), onde as medidas de diâmetro menor foram organizadas na reta Y e as medidas de diâmetro maior na reta X. Os gráficos com os resíduos, bem como os coeficientes de inclinação das retas de regressão foram obtidos através do software Microsoft Excel 2000[®].

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. SITUAÇÃO DAS ÁREAS DE COLETA

As áreas de coleta selecionadas por conveniência localizaram-se nas regiões urbana e rural do estado do Rio de Janeiro. As localidades caracterizadas como rurais no município de Rio Claro e as como urbanas nos municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias.

Os gansos localizados no ambiente urbano tinham como finalidade a comercialização. Estes foram encontrados aprisionados em número de três ou quatro em gaiolas inadequadas e em mal estado de conservação, alimentados com farelo ou rações e, em alguns casos, encontravam-se extremamente agitados por estarem expostos diretamente ao público. Pôde-se observar escoriações causadas pela disputa de espaço e alimento, visto que não havia espaço suficiente na gaiola.

No ambiente rural os gansos foram caracterizados por viverem livres em áreas extensivas, pastando e alimentando-se de grãos. Observou-se que estas aves eram mais saudáveis em comparação com àquelas encontradas no meio urbano.

4.2. ANÁLISE DAS AMOSTRAS EXAMINADAS

Após a coleta e processamento das 45 amostras de fezes do ganso doméstico *A. anser*, pôde-se observar coccídios semelhantes a *T. parvula* em algumas destas amostras examinadas. A frequência de animais positivos na totalidade, assim como nas regiões rural e urbana do estado do Rio de Janeiro podem ser vistos na tabela 3.

Tabela 3. Diagnóstico de *Tyzzeria parvula* em fezes de gansos domésticos *Anser anser*.

Regiões	n	<i>Tyzzeria parvula</i>	
		Positivos	Frequências
Rural ^a	22	9	40,90%
Urbana ^b	23	11	47,83%
Total	45	20	44,45%

^aAmostras da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro.

^bAmostras da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.

4.3. DESCRIÇÃO DOS OOCISTOS

Foram recuperados oocistos nas amostras provenientes da região rural e urbana do estado do Rio de Janeiro. Eles não se encontravam esporulados inicialmente, entretanto, após quatro a sete dias, a maioria dos oocistos, esporulou.

A forma, presença e ausência das estruturas foram semelhantes nas duas regiões. Apenas foram observadas distinções nas dimensões dos oocistos.

4.3.1. Oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* de *Anser anser* da região rural

Um total de 100 oocistos proveniente da região rural do estado do Rio de Janeiro foi mensurado e descrito. Os oocistos (Figura 3 e 4) variaram de sub-esféricos a elipsóides medindo diâmetro maior médio de $12,84 \pm 0,81\mu\text{m}$, variando de 11,28 a $14,68\mu\text{m}$, e diâmetro menor médio de $10,85 \pm 0,74\mu\text{m}$, variando de 9,15 a $12,55\mu\text{m}$. O índice morfométrico foi $1,19 \pm 0,08$. A parede do oocisto teve espessura de aproximadamente 0,6 a $0,9\mu\text{m}$ e apresentava-se em dupla camada, sendo, a externa lisa e translúcida e a interna levemente esverdeada. A micrópila e o grânulo polar estavam ausentes. O corpo residual foi encontrado, algumas vezes, ao redor dos esporozoítas e, outras vezes, formando uma massa granular. Os esporozoítas apresentaram-se em número de oito e caracterizaram-se por terem uma das extremidades arredondada, e a outra estreita e levemente curva.

4.3.2. Oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* de *Anser anser* da região urbana

Cem oocistos provenientes da região urbana do estado do Rio de Janeiro foram, também, mensurados e descritos. Os oocistos (Figuras 5 e 6) apresentaram-se sub-esféricos a elipsóides medindo diâmetro maior médio de $14,27 \pm 1,06\mu\text{m}$, variando de 11,78 a $16,44\mu\text{m}$, e diâmetro menor médio de $12,49 \pm 0,93\mu\text{m}$, variando de 9,78 a $14,44\mu\text{m}$. O índice morfométrico foi $1,14 \pm 0,07$. A parede do oocisto teve espessura de aproximadamente 0,4 a $0,8\mu\text{m}$ e apresentava-se dupla, sendo a externa lisa e translúcida e a interna levemente esverdeada. A micrópila e o grânulo polar estavam ausentes. O corpo residual foi encontrado, algumas vezes, ao redor dos esporozoítas e, outras vezes, formando uma massa granular. Os esporozoítas apresentaram-se em número de oito e caracterizaram-se por terem uma das extremidades arredondada, e a outra estreita e levemente curva.



Figura 3. Desenho de um oocisto esporulado de *Tyzzeria parvula* recuperado das fezes de um ganso doméstico *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. Câmara clara. Escala = $10\mu\text{m}$.



Figura 4. Fotomicrografias (A e B) de oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. Solução saturada de açúcar. Escala = 10 μ m.

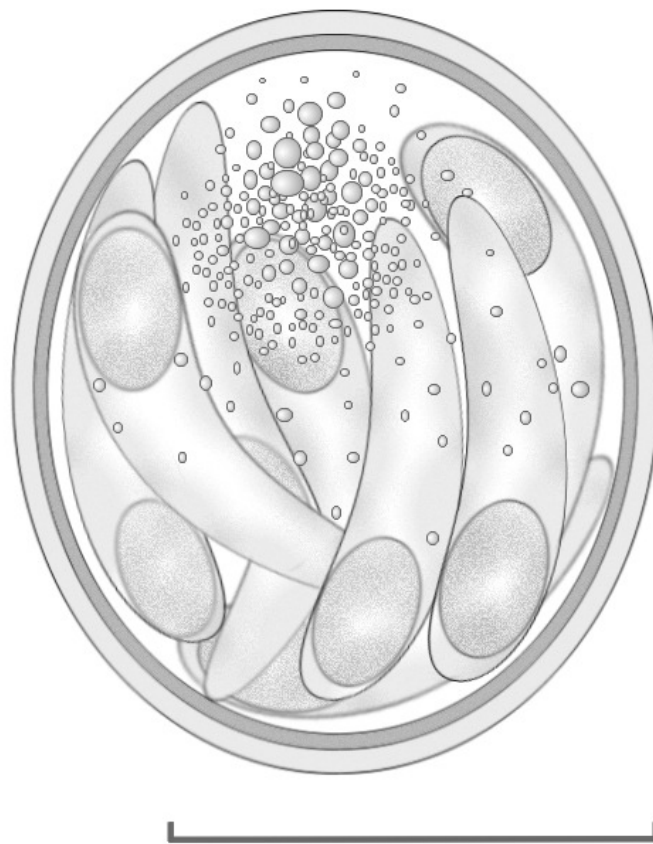


Figura 5. Desenho de um oocisto esporulado de *Tyzzeria parvula* recuperado das fezes de um ganso doméstico *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. Câmara clara. Escala = 10 μ m.

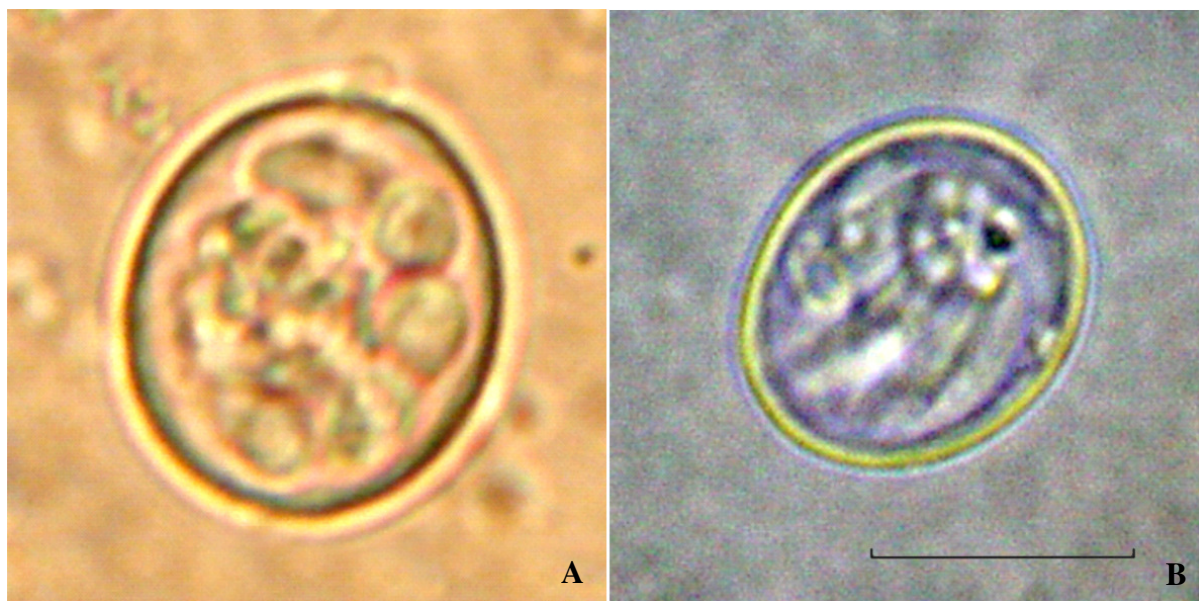


Figura 6. Fotomicrografias (A e B) de oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. Escala = 10µm.

4.4. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS ESPORULADOS DE *Tyzzeria parvula*

Segundo Duszynski e Wilber (1997), para identificação de uma espécie de coccídio, os oocistos recuperados devem ser comparados detalhadamente com as descrições dos coccídios parasitas da família do hospedeiro.

Os coccídios do gênero *Tyzzeria* descritos na família Anatidae são *T. perniciosa*, *T. alleni*, *T. parvula*, *T. pellerdyi* e *T. chenicusae*.

Tyzzeria alleni, apesar de possuir as dimensões de seus oocistos semelhantes àquelas obtidas neste estudo, pode ser diferenciado por possuir esporozoítas elipsóides e com núcleo central, enquanto que, os esporozoítas deste trabalho apresentaram-se alongados e sem núcleo visível.

Tyzzeria chenicusae, distingue-se por possuir oocistos com dimensões consideravelmente maiores daquelas obtidas no estudo atual.

Tyzzeria perniciosa e *T. pellerdyi* são muito semelhantes aos oocistos recuperados neste trabalho. Entretanto, o coccídio observado neste estudo não pode pertencer a estas espécies, pois, o marreco *A. platyrhynchos*, hospedeiro o qual estas espécies foram descritas, não mostrou-se susceptível a infecção experimental testada nesta dissertação.

Após a comparação com as descrições da espécie *T. parvula*, segundo Kotlán (1933), Nieschulz (1947), Levine (1952) e Klimes (1963) pôde-se confirmar que os oocistos observados nas infecções naturais nas regiões rural e urbana pertencem à espécie *T. parvula*.

4.5. DIAGNOSE

Espécie: *Tyzzeria parvula* (Kótlán, 1933) Klimes, 1963

Hospedeiro: O ganso doméstico *Anser anser* (Anatidae: Anserinae).

Sinonímia: *Eimeria parvula*, *Tyzzeria anseris*.

Lugar da infecção: não investigado.

Local: Rio de Janeiro, Brasil.

Distribuição Geográfica do hospedeiro: Cosmopolita.

Tempo de esporulação: quatro a sete dias.

Exemplares de espécimes: oocistos em solução salina de formaldeído armazenado na Coleção Parasitológica, Departamento de Parasitologia Animal, UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil. O número do repositório é P-013/2007, que inclui desenhos e fotomicrografia.

4.6. SUSCEPTIBILIDADE DE *Cairina moschata* E *Anas platyrhynchos* A INFECÇÃO POR *Tyzzeria parvula*

Foram inoculados 500µl de uma solução concentrada de oocistos infectantes de *T. parvula* em um pato e um marreco. Pôde-se contar 31 oocistos em 10µl desta solução. Desta maneira, a solução inoculada apresentou, aproximadamente, 1550 oocistos e como cada oocisto apresenta oito esporozoítas, 12400 formas infectantes foram inoculadas.

Até o décimo DAI, não houve eliminação de oocistos nas fezes o que demonstra que *C. moschata* e *A. platyrhynchos* não são susceptíveis a coccidiose provocada por *T. parvula*.

Experimentos utilizando transmissões cruzadas são importantes, pois determinaram quais são os hospedeiros potenciais do parasita. Nieschulz (1947), Klimes (1963) e Svanbaev e Rakhmatullina (1967) descreveram, previamente, que *T. parvula* não é transmissível de gansos para marrecos. Igualmente, neste trabalho, comprovou-se esta afirmação e constatou-se, pela primeira vez, que patos não são susceptíveis a infecção por *T. parvula*.

4.7. PLEOMORFIA DOS OOCISTOS

Os oocistos descritos neste trabalho foram semelhantes àqueles descritos por Nieschulz (1947) e Klimes (1963). Levine (1952) e Kotlàn (1933), por sua vez, observaram oocistos menores (Tabela 4).

Este pleomorfismo encontrado nas dimensões dos oocistos de *T. parvula* foi percebido previamente e descrito por Levine (1952). Este afirma que, as dimensões dos oocistos são semelhantes em cada hospedeiro e que, o pleomorfismo, apenas é percebido quando se comparam oocistos de hospedeiros distintos. Tal afirmativa pôde também ser percebida nos oocistos esporulados de um único hospedeiro vertebrado oriundo tanto da região rural, quanto da urbana do estado do Rio de Janeiro.

Baseando-se nesta assertiva, pode-se afirmar que o pleomorfismo encontrado na observação de oocistos de hospedeiros distintos seja resultado da dificuldade, ou facilidade, do desenvolvimento dos oocistos frente aos mecanismos de defesa do hospedeiro, das re-infecções, ou de fatores de diapausa que variam entre espécies de coccídios em um mesmo e/ou diferentes hospedeiros (FAYER, 1980; JOYNER, 1982). Entretanto, quando se comparou isoladamente oocistos recuperados de três gansos provenientes de uma mesma localidade, Sítio Meu Refúgio, localizado no município de Rio Claro na região rural do estado do Rio de Janeiro, este pleomorfismo, embora menos acentuado, pôde ser observado, visto que os limites superiores e inferiores das medidas de DM, dm e IM mantiveram-se distantes nos três hospedeiros testados (Tabela 5).

Nos 20 gansos positivos analisados, observaram-se oocistos com pleomorfismo muito variado, tanto na região rural quanto na urbana do estado do Rio de Janeiro, principalmente nos DM, dm e IM. Nas figuras 7 e 8 visualizam-se o pleomorfismo encontrado nos oocistos esporulados de *T. parvula* dos gansos domésticos provenientes da região rural e urbana, respectivamente, do estado do Rio de Janeiro.

Tabela 4. Aspectos comparativos das descrições dos oocistos de *Tyzzeria parvula*.

Características	Kotlán, 1933	Nieschulz, 1947	Levine, 1952	Klimes, 1963	Presente trabalho	
					Rural ^a	Urbana ^b
Forma	Esférico a elipsóide	Moderadamente elipsóide	Elipsóide	Moderadamente esférico a elipsóide	Sub-esférico a elipsóide	Sub-esférico a elipsóide
Diâmetro maior (µm)	(10-15) ^c	14,0 (12-16)	12,8 (10,5-15,1)	14,8 (12-17)	12,84 (11,28-14,68)	14,27 (11,78-16,44)
Diâmetro menor (µm)	(10-14)	11,5 (10-12,5)	10,8 (8,8-12,4)	12,8 (11-15)	10,85 (9,15-12,55)	12,49 (9,78-14,44)
Parede	Fina e incolor	Não muito grossa e incolor	Dupla, lisa e incolor (0,6µm)	Incolor (0,5µm)	Dupla, translúcida e internamente esverdeada	Dupla, translúcida e internamente esverdeada
Micrópila	-	-	-	-	Ausente	Ausente
Grânulo polar	-	-	-	-	Ausente	Ausente
Corpo residual	-	-	Grande e irregular	Grande, compacto e arredondado	Disperso ou formando uma massa granular	Disperso ou formando uma massa granular
Esporozoítas	-	Uma extremidade arredondada e a outra afilada	Formato de “banana”	Uma extremidade arredondada e outra estreita e curva	Uma extremidade arredondada e outra estreita e curva	Uma extremidade arredondada e outra estreita e curva

^aAmostras da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro.

^bAmostras da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.

^cDados entre parênteses equivalem as maiores e menores medidas obtidas.

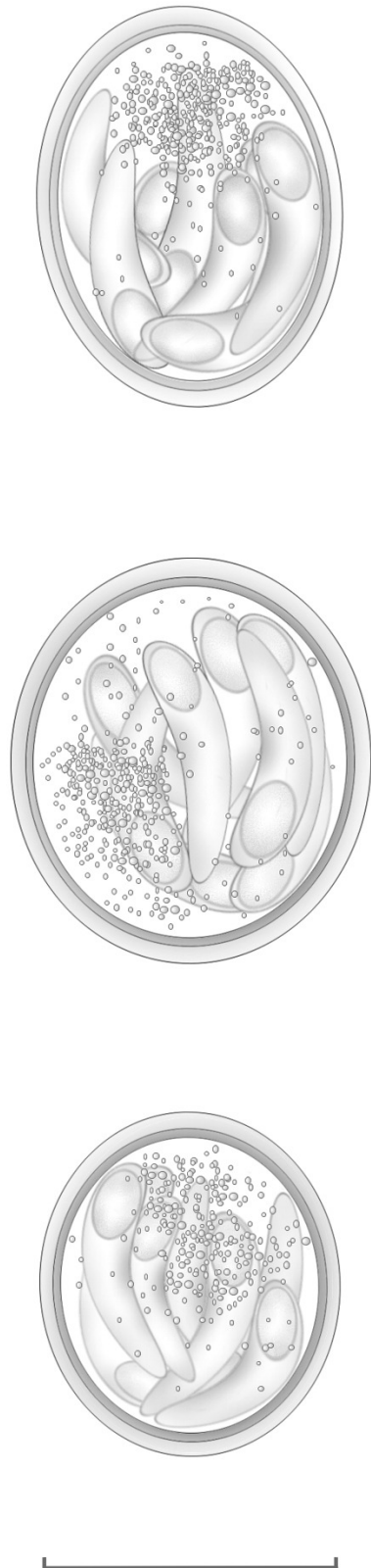


Figura 7. Oocistos de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro. As diferentes formas e dimensões demonstram o pleomorfismo dos oocistos esporulados desta espécie. Câmara clara. Escala = 10 μ m.



Figura 8. Oocistos de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro. As diferentes formas e dimensões demonstram o pleomorfismo dos oocistos esporulados desta espécie. Câmara clara. Escala = 10 μ m.

Tabela 5. Comparação dos oocistos de *Tyzzeria parvula* recuperados de três gansos domésticos *Anser anser* provenientes do Sítio Meu Refúgio, município de Rio Claro na região rural do estado do Rio de Janeiro.

Hospedeiro	Oocistos		
	Diâmetros (μm)		Índice Morfométrico
	maior	menor	
1°	11,5 a 13,8	10,4 a 11,1	1,10 a 1,25
2°	12,1 a 14,0	9,8 a 11,5	1,15 a 1,29
3°	11,7 a 13,8	10,0 a 12,3	1,08 a 1,28

4.8. RELAÇÃO PARASITO HOSPEDEIRO

Através do estudo estatístico das mensurações dos oocistos recuperados das fezes de gansos domésticos *A. anser* provenientes das regiões rural e urbana do estado do Rio de Janeiro, pôde-se comprovar que a espécie é altamente pleomórfica.

4.8.1. Frequência na distribuição dos oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* em *Anser anser*

Analisando a figura 9, que se refere aos oocistos dos gansos da região rural frente à figura 10, das medidas dos oocistos dos gansos da região urbana, observa-se que as frequências nas classes aumentam e diminuem gradativamente, ou seja, as medidas dos oocistos apresentam-se em menor quantidade nos limites dos valores e em maior quantidade nos valores medianos, caracterizando, assim, apenas uma espécie, apesar das diferenças entre os oocistos das regiões rural e urbana.

Em 25% a 35% dos oocistos observou-se nítida diferença, onde a variação para a região urbana foi de DM de 13,78 a 14,45 μm , dm de 11,78 a 12,45 μm e IM de 1,12 a 1,18 e para a região rural de DM de 12,74 a 13,23 μm , dm de 10,61 a 11,10 μm e IM de 1,12 a 1,18.

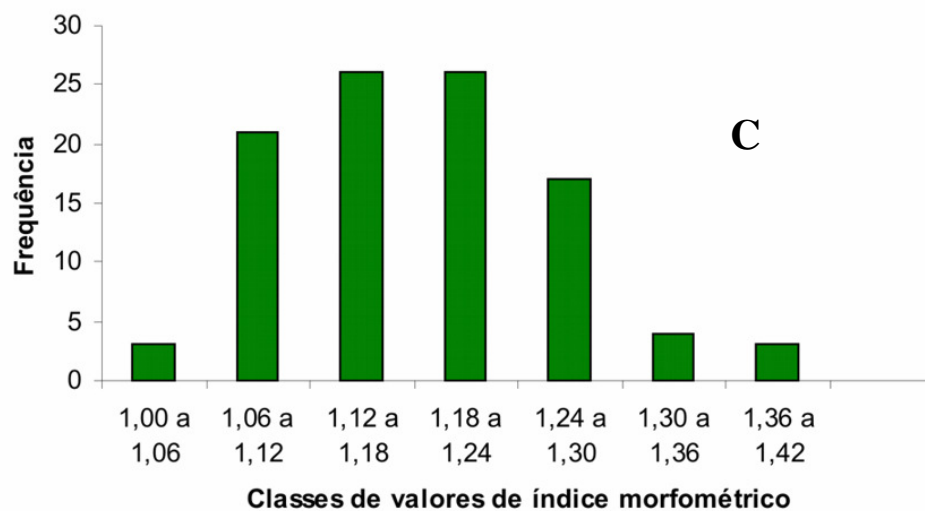
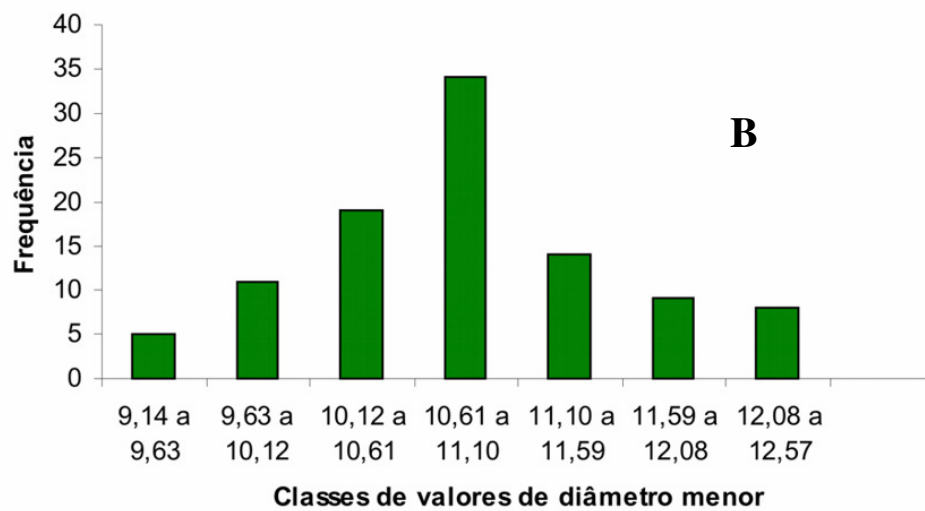
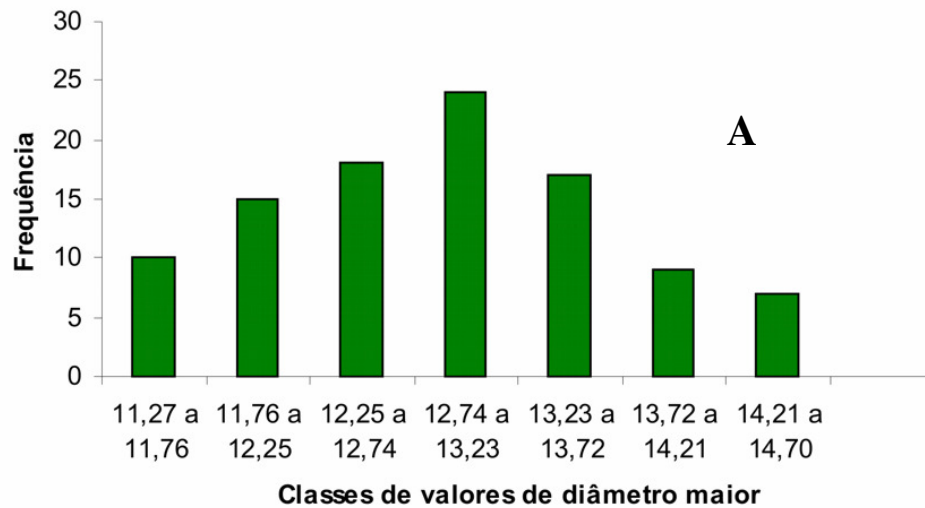


Figura 9. Distribuição dos diâmetros maior (A) e menor (B), e índice morfométrico (C) dos oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro.

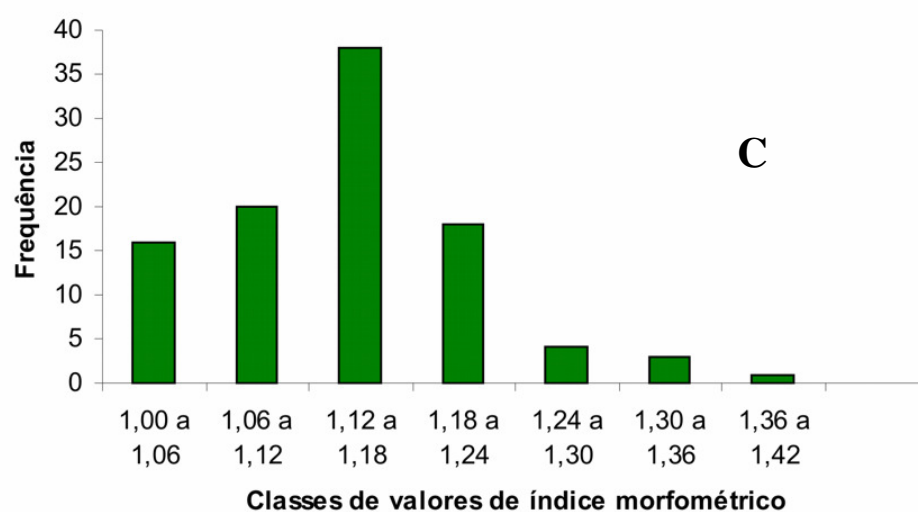
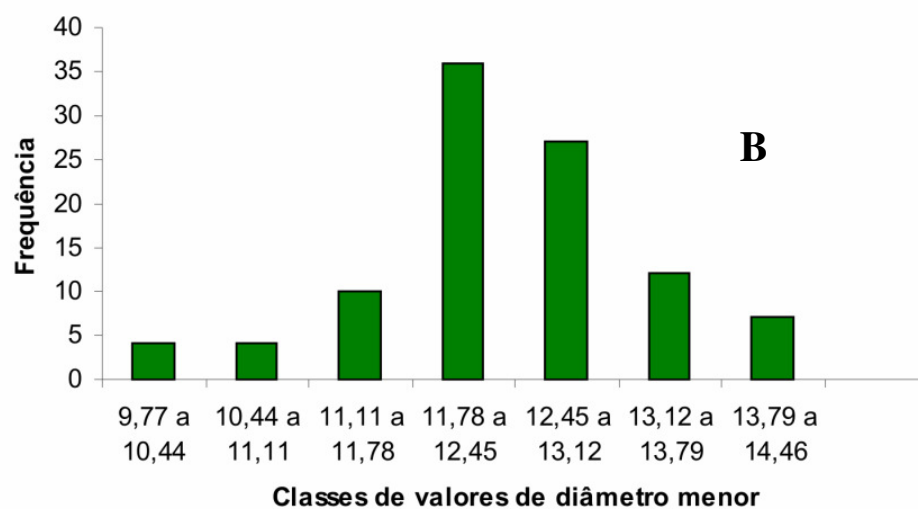
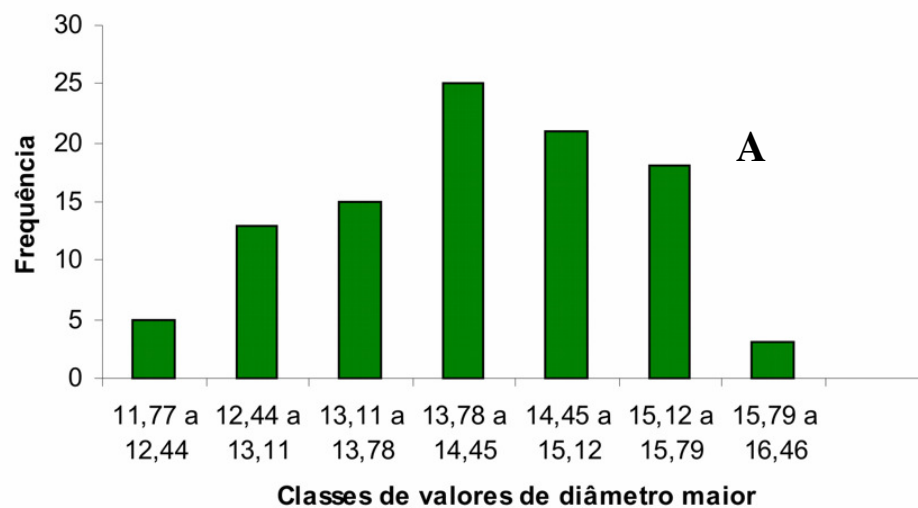


Figura 10. Distribuição dos diâmetros maior (A) e menor (B) e índice morfométrico (C) dos oocistos de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser* da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.

4.8.2. Aspectos morfométricos comparativos dos oocistos de *Tyzzeria parvula*

O teste *t* de Student realizado comparou, isoladamente, as médias dos DM, dm e IM dos oocistos de *T. parvula* das amostras analisadas das fezes de *A. anser* da região rural e urbana do estado do Rio de Janeiro. O teste resultou em diferenças altamente significantes entre os DM, dm e IM das duas regiões respectivamente.

Entretanto, apesar da comparação entre os IM terem diferenças significantes, seu valor de “P” apresentou-se consideravelmente maior quando comparado com os valores de “P” adquiridos das comparações entre os DM e dm. Desta maneira, pode-se concluir que as diferenças entre os IM foram menos significantes do que as diferenças entre os DM e dm (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação morfométrica de oocistos de *Tyzzeria parvula* recuperados de gansos domésticos *Anser anser*.

Valores	Oocistos ^a					
	Diâmetros (µm)				Índice	
	maior		menor		Morfométrico	
	Rural ^b	Urbana ^c	Rural	Urbana	Rural	Urbana
Média:	12,84	14,27	10,85	12,49	1,19	1,14
Variância:	0,66	1,13	0,56	0,87	0,01	0,01
Observações:	100	100	100	100	100	100
Variância agrupada:	0,89		0,71		0,01	
Grau de Liberdade:	198		198		198	
Valor de "P":	P<0,001 (1,62 x 10 ⁻²¹)		P<0,001 (4,62 x 10 ⁻³¹)		P<0,001 (7,47 x 10 ⁻⁰⁵)	

^aDiferenças altamente significativas (Teste “t” de student).

^bAmostras da região rural, município de Rio Claro no estado do Rio de Janeiro.

^cAmostras da região urbana, municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.

Este resultado confirma que as diferenças morfológicas encontradas nos oocistos são, principalmente associadas ao tamanho dos oocistos esporulados, pois a diferença significativa adquirida entre os índices morfométricos pode ser justificada devido aos oocistos terem variações acentuadas entre a forma sub-esférica a elipsóide. Neste pensamento os oocistos da região urbana do estado do Rio de Janeiro são maiores do que os da região rural e as formas variam de sub-esférica a elipsóide nas duas regiões (Tabela 6).

Resultados semelhantes aos encontrados neste estudo foram também observados por Gomez et al. (1982) em oocistos de *Isospora lacazei* Labbé, 1983 parasitas de pardais *Passer domesticus* Linnaeus, 1758 de diferentes áreas da cidade de Córdoba, província de Córdoba na Espanha. Os oocistos provenientes do núcleo urbano da cidade, que apresenta condições ambientais semelhantes à região urbana do estado do Rio de Janeiro, apresentaram-se maiores do que os provenientes da Serra Norte desta mesma província, que apresenta condições ambientais semelhantes à região rural do estado do Rio de Janeiro. Além disso, quando os DM e dm das duas regiões distintas foram comparados, observou-se que as diferenças eram altamente significantes.

Ainda neste mesmo estudo (GOMEZ et al., 1982), os oocistos mensurados em estudos anteriores na mesma região da Serra Norte desta província apresentaram-se maiores do que aqueles mensurados no atual estudo, demonstrando assim, a aparente diminuição contínua dos oocistos.

Neste sentido, pode-se afirmar que os fatores e diferenças ambientais que atuam sobre os hospedeiros influenciam nos parâmetros de seus parasitas coccídios, principalmente, nos DM e dm dos oocistos. Situação esta já mencionada anteriormente por Fayer (1980) em fatores de diapausa ou mesmo em infecções experimentais com oocistos de uma única espécie (COUDERT et al., 1979).

A maior probabilidade de infecções e conseqüentes re-infecções que ocorrem no ambiente natural, como a região rural do estado do Rio de Janeiro e a Serra Norte da província de Córdoba, estaria associada com a constante infecção por oocistos esporulados e, conseqüentemente, ocorreria um maior número de passagens intestinais favorecendo o desenvolvimento de oocistos menores. Outra justificativa seria o fato de que em meio ao esgotamento em animais no meio urbano e do confinamento, a maioria dos hospedeiros tem sua resposta imune comprometida e, por isso, as formas destes parasitos na mucosa intestinal desenvolver-se-iam maiores. Em contrapartida, em meio natural, os hospedeiros encontram-se saudáveis e os oocistos desenvolver-se-iam menores, porém viáveis.

4.8.3. Distribuição dos oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula*

A regressão linear simples realizada confirmou os outros resultados anteriores, observados nos oocistos de *T. parvula* das populações de *A. anser* tanto para os eliminados por gansos da região rural quanto para os da urbana do estado do Rio de Janeiro.

O valor de R^2 nas duas localidades foi menor que 0,5 e, devido a isto, as retas de regressão nos gráficos obtiveram inclinação moderada (Figura 11). Desta maneira, pode-se afirmar que diversas variações podem ocorrer de DM sobre dm de modo que, padrão não pode ser estabelecido para a espécie estudada neste trabalho. Além disso, situações semelhantes foram observadas em *Hammondia heydorni* (Tadros e Laarman, 1976) Dubey, 1977 (PEREIRA et al., 2001) ou em espécies do gênero *Eimeria* parasitas de frangos (JOYNER, 1982).

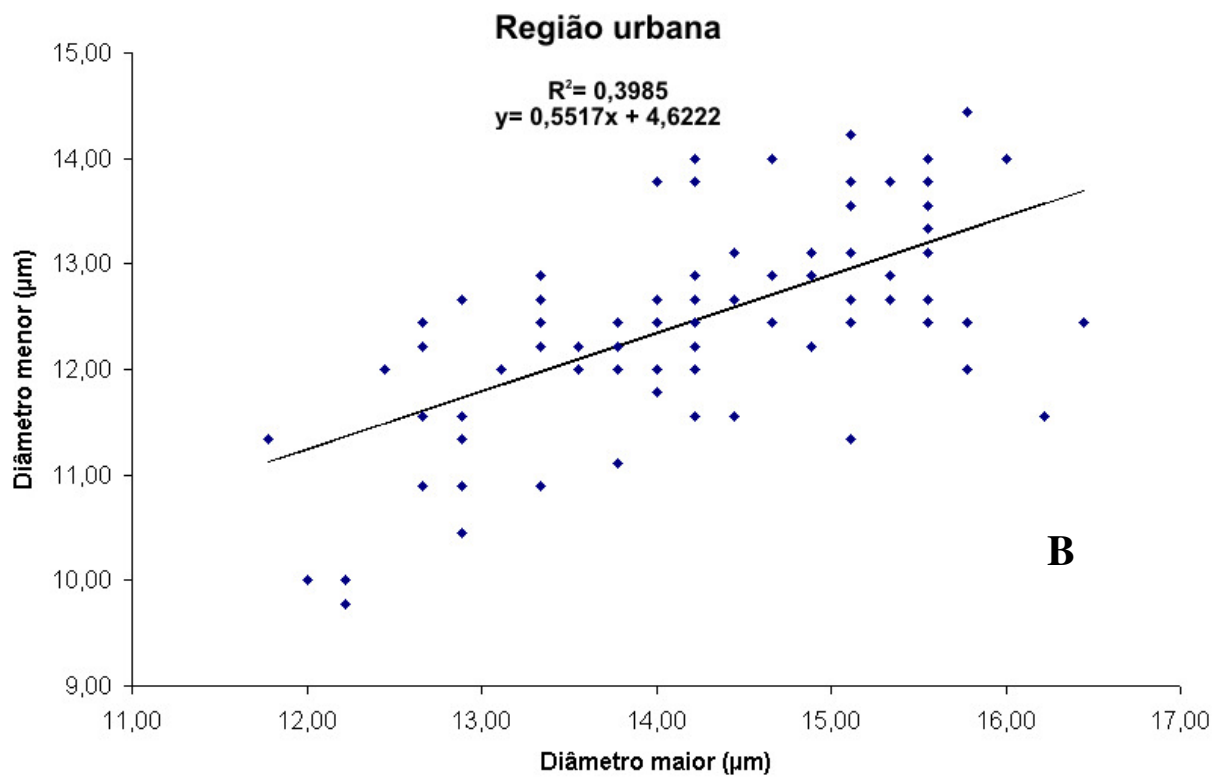
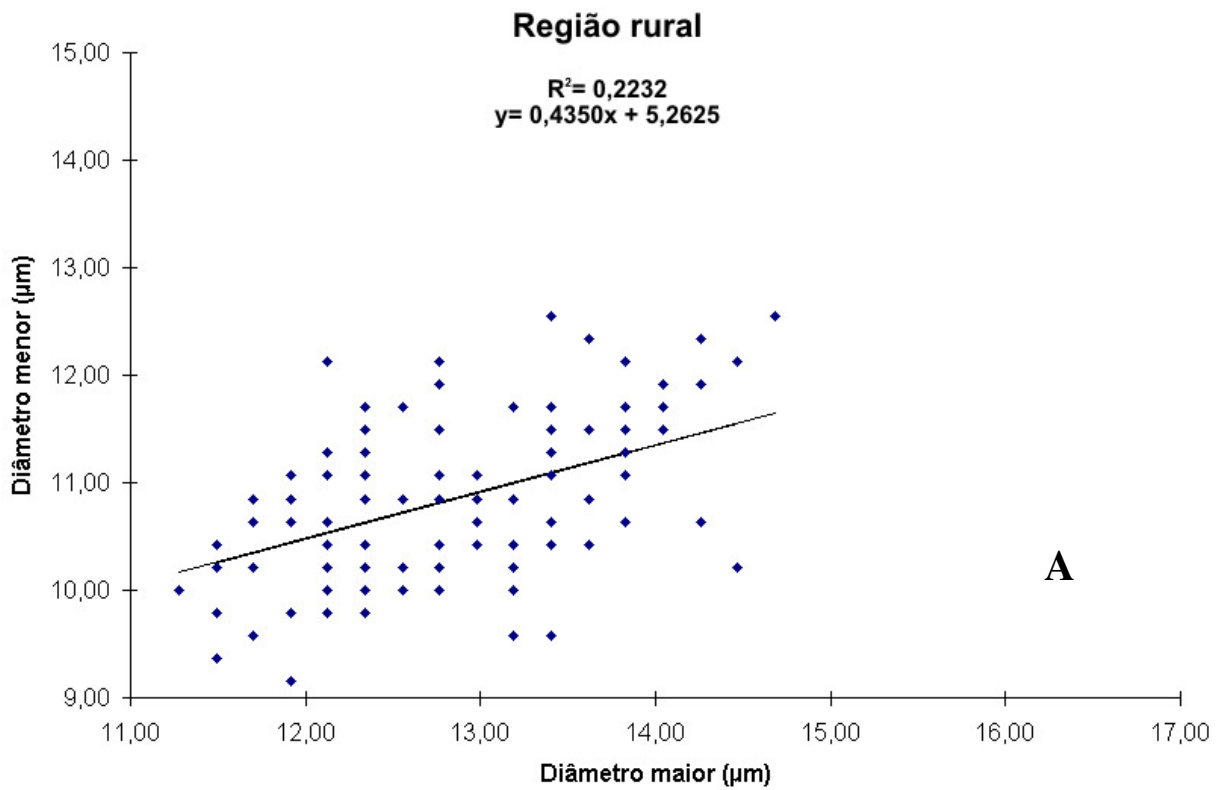


Figura 11. Distribuição dos oocistos esporulados de *Tyzzeria parvula* recuperados das fezes de gansos domésticos *Anser anser*, procedentes da região rural (A), município de Rio Claro e da região urbana (B), municípios do Rio de Janeiro e Duque de Caxias no estado do Rio de Janeiro.

5. CONCLUSÃO

Após a análise dos resultados pôde-se concluir que:

- O coccídio encontrado nas fezes de gansos domésticos *A. anser* foi identificado como *T. parvula*, sendo este o primeiro relato no Brasil;
- Os anatídeos, *C. moschata* (pato) e *A. platyrhynchos* (marreco) utilizados neste trabalho não foram susceptíveis a infecção experimental com oocistos esporulados de *T. parvula* e
- As influências dos sistemas de criação e o repetitivo grau de infecção natural na região urbana e rural do estado do Rio de Janeiro sobre os gansos domésticos *A. anser* foram, provavelmente, os responsáveis pelo pleomorfismo nas dimensões dos oocistos esporulados de *T. parvula* encontrados nas fezes de gansos domésticos no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, E. A. *Tyzzeria pernicioso* gen. et sp. nov., a coccidium from the small intestine of Pekin Duck, *Anas domestica* L. *Archiv für Protistenkunde*, v. 87, p. 262-267, 1936.
- APPLEBY, M. C.; HUGHES, B. O.; MENCH, J. A. *Poultry Behaviour and Welfare*. Cambridge: CABI Publishing, 2004. 288p.
- ARSLAN, M. O.; GICIK, Y.; ÖZCAN, K. The Frequency of Eimeriidae Species in the Domestic Geese in Kars Province of Turkey. *Acta Protozoologica*, v. 41, p. 353-357, 2002.
- AUDUBON, J. J. *Birds of America*. New York: Dover Publications Inc., 1967. 123p.
- BALL, S. J.; DASZAK, P.; PROBERT, A. J. Nomenclatural correction – *Eimeria chalcides* (Probert, Roberts & Wilson, 1988) n. comb. for *Tyzzeria chalcides* (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, v. 29, n. , p. 75-77, 1994
- BERTO, B. P.; TEIXEIRA, M.; LOPES, C. W. G. *Tyzzeria parvula* (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the greylag goose (*Anser anser* Linnaeus, 1758) in Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 156-158, 2007.
- BHATIA, B. B.; PANDE, B. P. On two species of coccidia from wild Anatidae. *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 16, n. 3, p. 335-340, 1966.
- CHAKRAVARTY, M.; BASU, S. P. On a new coccidium *Tyzzeria alleni* n. sp. from the intestine of the bird cotton-teal. *Science and Culture*, v. 16, p. 106, 1946.
- COUDERT, P.; LICOIS, D.; STREUN, A. Characterization of *Eimeria* species: I. Isolation and study of Pathogenicity of a pure strain of *Eimeria perforans* (Leuckart, 1879)

- Sluiter and Swellegrebel, 1912. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 59, p. 227-234, 1979.
- DOLNIK, O. V.; LOONEN, M. J. J. E. First finding of *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 (Protozoa: Coccidiida) in Barnacle Geese (*Branta leucopsis* Bechstein, 1803) on Spitsbergen. *Zoosystematica Rossica*, v. 15, n. 2, p. 214, 2007.
- DUSZYNSKI, D.W.; UPTON, S.J.; COUCH, L. The Coccidian Genus *Tyzzeria*. The Coccidia of the World, 02 mai. 1999. Disponível em: <<http://biology.unm.edu/biology/coccidia/tyzzeria.html>>. Acesso em: 10 out. 2006.
- DUSZYNSKI, D.W.; WILBER, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 333-336, 1997.
- EKSTROM, J.; BUTCHART, S. BirdLife International 2004. *Anser anser*. Disponível em: <<http://www.birdlife.org>>. Acesso em: 5 jan. 2007.
- FAYER, R. Epidemiology of protozoan infection: the Coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.
- FERNANDO, M. A.; REMMLER, O. Four new species of *Eimeria* and one of *Tyzzeria* from the Ceylon jungle fowl *Gallus lafayettei*. *Journal of Protozoology*, v. 20, p. 43-45, 1973.
- GAJADHAR, A. A.; WOBESER, G.; STOCKDALE, P. H. G. Coccidia of domestic and wild waterfowl (Anseriformes). *Canadian Journal of Zoology*, v. 61, p. 1-24, 1983.
- GOMEZ, F. M.; NAVARRETE, I.; RODRIGUEZ, R. L. Influencia de los factores ambientales sobre diferentes poblaciones de *Isospora lacazei* Labbé, 1983 (Protozoa: Apicomplexa). *Revista Ibérica de Parasitología*, v. 42, n. 2, p. 185-196, 1982.
- HANSON, H. C.; LEVINE, N. D.; IVENS, V. Coccidia (Protozoa: Eimeriidae) of North American Wild Geese and Swans. *Canadian Journal of Zoology*, v. 35, p. 715-733, 1957.

- JOYNER, L. O. Host and Site specificity. In. LONG, P. L. *The biology of the Coccidia*. Baltimore: University Park Press. 1982. p. 35–62.
- KEAR, J. *Ducks, Geese, and Swans*, v.1. New York: Oxford University Press, 2005. 910p.
- KLIMES, B. Coccidia of the domestic goose (*Anser anser* dom.). *Zentralblatt für Veterinaermedizin*, v. 10, n. , p. 427-448, 1963.
- KOTLÁN, S. Zur Kenntinis der Kokzidiose des Wassergeflügels. Die Kokzidiose der Hausgans. *Zentralblatt für Bakteriologie. Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, v. 129, n. 1, p. 11-21, 1933.
- LAINSON, R.; PAPERNA, I. *Tyzzeria boae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae), a new coccidium from the kidney of the snake *Boa constrictor constrictor* (Serpentes: Boidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, p. 523-530, 1994.
- LEVINE, N. D. *Eimeria magnalabia* and *Tyzzeria* sp. from que Canada Goose. *Cornell Veterinarian*, v. 42, n. 2, p. 247-252, 1952.
- LEVINE, N. D. *Veterinary Protozoology*. 1^a ed. Ames: Iowa State University Press, 1985. 414 p.
- LEVINE, N. D.; IVENS, V. *Eimeria* and *Tyzzeria* (Protozoa: Eimeriidae) from deermice (*Peromyscus* spp.) in Illinois. *Journal of Parasitology*, v. 46, n. 2, p. 207-212, 1960.
- MATUBAYASI, H. Studies on parasitic protozoa in Japan II. Coccidia parasitic in snakes; with special remarks on *Tyzzeria (Koidzumiella) natrix*, parasitic in *Natrix tigrina*. *Annotationes Zoologica Japonenses*, v. 16, p. 255-268, 1937.
- NIESCHULZ, O. Eine neue Kokzidienart bei der Haungs (*Tyzzeria anseris*). *Zentralblatt für Bakteriologie*, v. 152, p. 74, 1947.
- 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, n. 2, p. 269-279, 1981.

- OSTHÖVER, L.; CLASBRUMMEL, G. Verband der Ziergeflügelzüchter. Graugans *Anser anser*, 31 mai. 1992. Disponível em: <<http://www.vzi.de>>. Acesso em: 24 fev. 2007.
- OVEZMUKHAMEDOV, A. Coccidia of some reptiles in Turkmenistan. *Izvestiya Akademii Nauk Turkmenskoi SSR Seriya Biologicheskikh Nauk*, v.2, p. 67-70, 1968.
- PEREIRA, M. J. S.; FONSECA, A. H.; LOPES, C.W.G. Regressão linear na caracterização de variações morfométricas em Coccidia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n.2, p. 75-78, 2001.
- PROBERT, A. J.; ROBERTS, A. H.; WILSON, I. B. *Tyzzeria chalcides* N. Sp. From the Ocellated Skink, *Chalcides ocellatus*. *Journal of Protozoology*, v. 35, n. , p. 211-213, 1988.
- QUEVEDO, A.C.; ANTUNES, R.; MARQUES, H.L. Pescoço empinado. De cuidados básicos e baixo custo, a criação de gansos serve tanto para ornamentar como para vigília e corte. *Avicultura Industrial*, 20 ago. 2004. Disponível em: <<http://www.aviculturaindustrial.com.br>> Acesso em: 31 jan. 2007.
- RAY, H. N.; SARKAR, A. On a new coccidium, *Tyzzeria chenicusae* n. sp., from cotton teal (*Chenicus coromendelianus*: Aves: Anseriformes). *Journal of Protozoology*, v. 14, p. 27, 1967.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª ed. Belo Horizonte: FEP MVZ Editora, 2002. 265 p.
- SANTOS, T. C.; PEREIRA, C. C. H.; BOMBONATTO, P. P.; MONTERIO FILHO, L. P. C. Origem e ramificação do tronco braquiocefálico e artéria subclávia em gansos domésticos (*Anser domestica*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 43, n. 3, p. 296-301, 2006.
- SEIXAS, M. L. B. *A Natureza Brasileira nas Fontes Portuguesas do Século XVI*. Viséu: Passagem Editores, 2003. 193p.

- SHARPE, R. *A Handbook to the Birds of the Great Britain*. v. 2. London: Elibron Classics, 2001. 388 p.
- 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.
- SOULSBY, E.J.L. *Parasitología y enfermedades parasitarias*. 7^a ed. México: Interamericana, 1987. 823 p.
- SVANBAEV, S. K.; RAKHMATULLINA, N.K. New kind of coccidia of wild ducks. *Farm News Science*, v. 10, p. 46-52, 1967.
- UPTON, S. J. Suborder Eimeriorina Léger, 1911. In: LEE, J. J.; LEEDALE, G. F.; BRADBURY, P. *An Illustrated Guide to the Protozoa*. 2^a ed. London: Society of Protozoologists, 2000. p. 318-339.
- VERSÉNYI, L. Studies on the endogenous cycle of *Tyzzeria perniciosa* (Allen, 1935). *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 17, n. 4, p. 449-456, 1967.

7. ANEXOS

A – Artigo científico: BERTO, B. P.; TEIXEIRA, M.; LOPES, C. W. G. *Tyzzeria parvula* (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the greylag goose (*Anser anser* Linnaeus, 1758) in Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 156-158, 2007.

B – Artigo científico: LOPES, B.; BERTO, B. P.; MASSAD, F.; LOPES, C. W. G. *Isospora vanriperorum* Levine, 1982 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the green-winged saltator, *Saltator similis* Lafresnaye and D'Orbigny, 1837 (Passeriformes: Emberizidae) in Eastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 4, p. 211-214, 2007.

Tyzzeria parvula (KOTLAN, 1933) KLIMES, 1963 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) IN THE GREYLAG GOOSE (*Anser anser* LINNAEUS, 1758) IN SOUTHEASTERN BRAZIL*

BRUNO P. BERTO¹; MARCEL TEIXEIRA²; CARLOS WILSON G. LOPES³

ABSTRACT:- BERTO, B.P.; TEIXEIRA, M.; LOPES, C.W.G. *Tyzzeria parvula* (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the greylag goose (*Anser anser* Linnaeus, 1758) in southeastern Brazil. [*Tyzzeria parvula* (Kotlan, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) no ganso cinzento (*Anser anser* Linnaeus, 1758) no sudeste do Brasil]. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 3, p. 156-158, 2007. Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, km 7 da BR-465, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: bertobp@ufrj.br

Tyzzeria parvula from the greylag goose (*Anser anser*) is described in Southeastern Brazil. Oocysts are spherical to subspherical ranging from 12.4-180 to 10.7-15.9µm (15.4 X 13.4 µm), shape index 1.15, with a double layered wall 0.4 to 0.7 µm thick (n=20), outer smooth and colorless, inner pale greenish. Micropyle is absent, but oocyst residuum is present containing numerous granules and spherules. Surrounded by residuum there are eight sporozoites having one end round and other fine and slightly curved.

KEY WORDS: *Tyzzeria parvula*, oocysts, greylag goose, *Anser anser*.

RESUMO

Tyzzeria parvula é descrita no sudeste do Brasil em ganso doméstico, *Anser anser*. Os oocistos com parede constituída de duas membranas, a externa lisa e translúcida, e a interna verde pálido, variando de esféricos a subesféricos e sem micrópila. Os diâmetros, maior e menor mediram de 12,4 a 18,0 por 10,7 a 15,9µm (15,4 x 13,4µm) respectivamente com índice morfométrico de 1,15. Possuíam oito esporozoítas livres dentro do oocisto embebidos pelo corpo residual do oocisto. Uma das extremidades dos esporozoítas era arredondadas, enquanto a outra era estreita e levemente curvada.

PALAVRAS-CHAVE: *Tyzzeria parvula*, oocistos, ganso doméstico, *Anser anser*, Brasil.

INTRODUCTION

The greylag goose, *Anser anser* L., 1758 is a waterfowl very common in Brazil. This species is worldwide, with an estimated global extend of occurrence of 1,000,000-10,000,000 Km² and population of 920,000-970,000 animals (BIRD LIFE INTERNATIONAL, 2006). In Europe and North America, *A. anser* and others species from the family Anatidae (*A. albifrons*, *A. caurelensis*, *A. rossii*, *Branta canadensis* and *B. bernicla*) are frequently found parasitized by the coccidian protozoan *Tyzzeria parvula* (Levine 1985; Arslan et al. 2002). Although *T. parvula* have been considered as the principal causative agent of intestinal coccidiosis in geese, the parasite has not been so far identified in Brazil.

The aim of this paper is to present the morphological description of sporulated oocysts of *T. parvula* from the greylag goose, *A. anser*, in southeastern Brazil.

MATERIAL AND METHODS

Samples

Fecal samples (n=9) were collected from geese of a small farm located in the municipality of Rio de Janeiro, placed into plastic vials containing potassium dichromate solution (K₂Cr₂O₇) at 2.5% 1:6 v/v and transported to Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), De-

*Supported by CNPq.

¹ Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), km 7 da BR-465, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: bertobp@ufrj.br

² Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), km 7 da BR-465, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: teixeira@ufrj.br - bolsista CNPq.

³ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, km 7 da BR-465, Seropédica, RJ 23.890-000. E-mail: lopeswlg@ufrj.br - bolsista do CNPq.

partamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. To permit sporulation, the fecal material was filtrated with double gauze and placed on Petri dishes at laboratory temperature (23-28°C) for ten days until most oocysts (70%) were sporulated. Oocysts for being studied were recovered from the feces using the saturated sugar flotation technique (DUSZYNSKY; WILBER 1997).

Morphology

Morphological observations and measurements were performed using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective and micrometer ocular K-15X PZO (Poland). Line drawings were prepared with a binocular microscope Wild M-20 with drawing tube.

Photographies

Pictures were prepared using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®, and a photographic camera f-KAS Automatic-2 with films ISO 100 (21 DIN) (Kodak, Mexico).

Cross transmission experiment

To determine the transmissibility of this specie from geese to ducks, two waterfowls one month old from the State of Rio de Janeiro and free of coccidia, Muskovy Duck (*Cairina moschata*) and Mallard (*Anas platyrhynchos*) were orally inoculated with 1,550 sporulated oocysts of *T. parvula*/500µL. Oocysts and the infective doses were prepared according to Eckert et al. (1995). After inoculation fecal observations were performed daily during ten days to observe the presence of oocysts in the feces.

RESULTS

Tyzzeria parvula (Kotlan, 1933) Klimes, 1963

Morphology

Oocysts (Figures 1 and 2) are spherical to subspherical ranging from 12.4-18.0 to 10.7-15.9µm (15.4 X 13.4 µm), shape index 1.15, with a double layered wall 0.4 to 0.7 µm thick (n=20), being the outer smooth and colorless, and the inner pale greenish. Micropyle is absent, but oocyst residuum is present containing numerous granules and spherules. Surrounded by residuum there are eight sporozoites having one end round and other fine and slightly curved.

Taxonomic summary

Host: The greylag goose *Anser anser* (Anseriformes: Anatidae).

Synonymy: *Eimeria parvula*, *Tyzzeria anseris*.

Site of infection: not investigated.

Locality: Rio de Janeiro, Brazil.

Geographic distribution of the host: worldwide

Sporulation time: 4-7 days.

Type material and specimens deposited: oocysts in 10% formaldehyde-saline solution deposited at the Parasitology Collection. Laboratory of Coccidios e Coccidioses in the Department of Animal Parasitology, UFRRJ, Seropédica, Rio

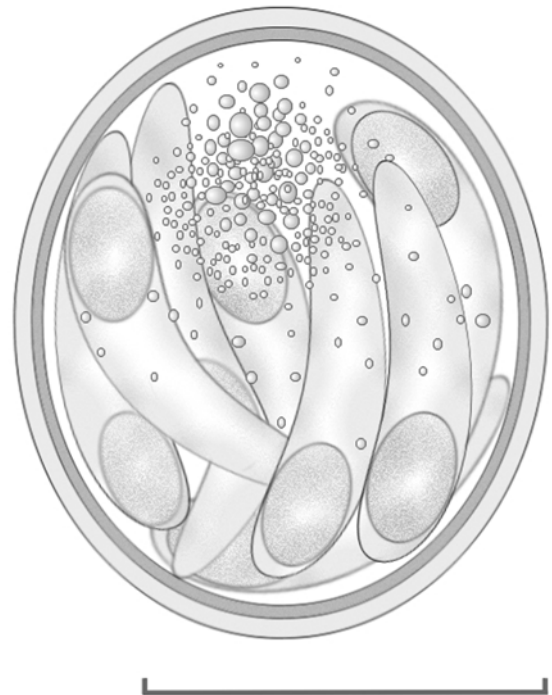


Figure 1: Line drawing of sporulated oocysts of *Tyzzeria parvula* (scale bar = 10µm).

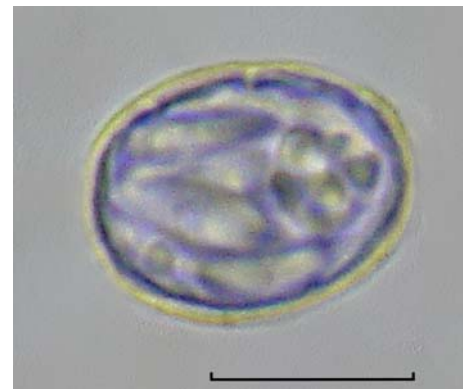


Figure 2: Sporulated oocyst of *Tyzzeria parvula*. Saturated sugar solution (scale bar = 10µm).

de Janeiro, Brazil. Repository number is P-013/2007, including phototypes and line drawings.

Cross transmissibility

Cairina moschata and *A. platyrhynchos* did not shed oocysts in the feces until ten days after inoculation.

Disease

None reported.

DISCUSSION

According to the data presented above the oocysts found in the Brazilian waterfowl *A. anser* belongs to the specie *T. parvula*. This parasite was first observed by Kotlán (1933) who named it as *Eimeria parvula*. Later, Allen (1936) working with the Mallard *A. platyrhynchos* observed the same type of oocysts and established the new genera *Tyzzeria*. Later, the

specie was renamed by Nieschulz (1947) as *T. anseris* and by Klimes (1963) as *T. parvula*, this last accepted until now. After this *T. parvula* was found parasitizing some species of the Subfamily Anserinae around the world but unfortunately, as reported by Gajadhar et al. (1983), this coccidium in geese is still being referred to by old names. As reported by Nieschulz (1947), Klimes (1963) and Svanbaev and Rakhmatullina (1967), the coccidium described here is not transmissible from geese to ducks.

REFERENCES

- ALLEN, E.A. *Tyzzeria perniciosus* gen. et sp. nov., a coccidium from the small intestine of Pekin Duck, *Anas domestica* L. *Archiv für Protistenkunde*, v. 87, p. 262-267, 1936.
- ARSLAN, M.O.; GICIK, Y.; ÖZCAN, K. The Frequency of Eimeriidae Species in the Domestic Geese in Kars Province of Turkey. *Acta Protozoologica*, v. 41, n.4, p. 353-357, 2002.
- BIRD LIFE INTERNATIONAL *Anser anser*. In: IUCN 2006. Red list of Threatened Species. Disponible on: <<http://www.iucnredlist.org>>. Access: 25 jan. 2007.
- DUSZYNSKI, D.W.; WILBER, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 333-336, 1997.
- ECKERT, J.; BRAUN, R.; SHIRLEY, M.; COUDERT, *Biotechnology. Guidelines on techniques in coccidiosis research*, cost 89/820. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 1995. 300p.
- GAJADHAR, A.A.; WOBESER, G.; STOCKDALE, P.H.G. Coccidia of domestic and wild waterfowl (Anseriformes). *Canadian Journal of Zoology*, v. 61, n. 1, p. 1-24, 1983.
- KLIMES, B. Coccidia of the domestic goose (*Anser anser dom.*). *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B*, v. 10, p. 427-448, 1963.
- KOTLÁN, S. Zur Kenntnis der Kokzidiose des Wassergeflügels. Die Kokzidiose der Hausgans. *Zentralblatt für Bakteriologie Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, v. 129, n. 1, p. 11-21, 1933.
- LEVINE, N.D. *Veterinary Protozoology*. 1^a ed. Ames: Iowa State University Press, 1985. 414 p.
- NIESCHULZ, O. Eine neue Kokzidienart bei der Haungs (*Tyzzeria anseris*). *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten*, v.152, p. 74, 1947.
- SVANBAEV, S.; RAKHMATULLINA, N. 1967. New kind of coccidia of wild ducks. *Farm News Science*, v. 10, n. 1, p. 46-52, 1967.

Received on March 12, 2007.

Accepted for publication on July 10, 2007.

***Isoospora vanriperorum* LEVINE, 1982 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE)
IN THE GREEN-WINGED SALTATOR, *Saltator similis* LAFRESNAYE
AND D'ORBIGNY, 1837 (PASSERIFORMES: CARDINALINAE) IN
SOUTHEASTERN BRAZIL ***

BRUNO DO B. LOPES¹; BRUNO P. BERTO²; FABIANA V. MASSAD³; CARLOS WILSON G. LOPES⁴

ABSTRACT:- LOPES, B. DO B.; BERTO, B.P.; MASSAD, F.V.; LOPES, C.W.G. *Isoospora vanriperorum* Levine, 1982 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the green-winged saltator, *Saltator similis* (Passeriformes: Cardinalinae) in southeastern Brazil. [*Isoospora vanriperorum* Levine, 1982 (Apicomplexa: Eimeriidae) no Trinca-ferro *Saltator similis* Lafresnaye and D'orbigny, 1837 (Passeriformes: Cardinalinae) no sudeste do Brasil]. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, n. 4, p. 211-214, 2007. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Km 7 da BR 465, Seropédica, RJ 23.890-000, Brasil. E-mail: lopescwg@ufrj.br

Isoospora vanriperorum from the green-winged saltator (*Saltator similis*) is described in Southeastern Brazil. Oocysts are spherical to subspherical, 19.4-26 by 18.3-26µm (23.1 by 22.4µm), shape index 1.04 with a single layered wall, fine, smooth and yellowish. Micropyle and residuum are absents, but one elliptical polar granule is present. Sporocysts are ovoid, 14.5-20.2 by 8.1-12.5µm (16.3 by 10.8µm), shape index 1.53 with prominent Stieda body, barely discernible substieda body and residuum centered and granulated.

KEY WORDS: *Isoospora vanriperorum*, oocysts, green-winged saltator, *Saltator similis*

RESUMO

Isoospora vanriperorum de trinca-ferro verdadeiro (*Saltator similis*) é descrita no sudeste do Brasil. Os oocistos são esféricos a subesféricos medindo 19,4-26 por 18,3-26µm (23,1 por 22,4µm), índice morfométrico de 1,04 com parede única, fina, lisa e amarelada. A micrópila e o resíduo estão ausentes, mas um grânulo polar elíptico está presente. Os esporocistos são ovóides medindo 14,5-20,2 por 8,1-12,5µm (16,3 por 10,8µm), índice morfométrico de 1,53 com corpo de Stieda proeminente, corpo de substieda mal discernível e resíduo central e granular.

PALAVRAS-CHAVE: *Isoospora vanriperorum*, oocistos, trinca-ferro verdadeiro, *Saltator similis*.

INTRODUCTION

The green-winged saltator *Saltator similis* Lafresnaye and D'Orbigny, 1837 is a native bird of South America. This species has a large range, with an estimated global extent of occurrence of 3,100,000 km². Its global distribution is limited to the countries of Argentina, Brazil, Bolivia, Paraguay and Uruguay. In Brazil, it is occurs from Bahia to Rio Grande do Sul (BIRD LIFE INTERNATIONAL, 2004; LOUSADA et al., 2007).

Coccidiosis associated with genus *Isoospora* in birds of the Emberizidae family, buntings and sparrows, was reported since Labeé (1896), where *Isoospora* oocysts were described how the yellowhammer, *Emberiza citrinella* (DUSZYNSKI; COUCH, 2004).

Isoospora vanriperorum was primarily described in northern cardinal, *Cardinalis cardinalis*, in Hawaii by Levine et al. (1980). The aim of this paper is to report and describe the sporulated oocysts of *I. vanriperorum* from the green-winged saltator, *S. similis* from Southeastern Brazil.

*Sob os auspícios do CNPq.

¹ Curso de Graduação em Biologia. Universidade Estácio de Sá. Vargem Grande, Rio de Janeiro. Estrada Boca do Mato, 850 - Vargem Pequena Rio de Janeiro CEP: 22783-320, Brazil. E-mail: brunolopesbio@oi.com.br

² Curso de Pós-Graduação em Microbiologia Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). BR-465 km 07. Seropédica, RJ. CEP.: 23890-000, Brazil. E-mail: bertobp@ufrj.br

³ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. UFRRJ. BR-465 km 07. Seropédica, RJ. CEP.: 23890-000, Brazil. E-mail: fvmassad@yahoo.com.br – bolsista da CAPES

⁴ Departamento de Parasitologia Animal. Instituto de Veterinária, UFRRJ. BR-465 km 07. Seropédica, RJ. CEP.: 23890-000, Brazil. E-mail: lopescwg@ufrj.br – bolsista do CNPq

MATERIAL AND METHODS

Samples. Fecal samples were collected from a cage bird, green-winged saltator, at the west zone in the City of Rio de Janeiro, Brazil. They were placed into plastic vials containing potassium dichromate solution ($K_2Cr_2O_7$) at 2.5% 1:6 v/v and transported to the Laboratório de Coccídios e Coccidioses at Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. To induce sporulation, the fecal material was filtrated with double gauze and placed on Petri dishes at room temperature (23-28°C) for ten days, until most oocysts are sporulated. Oocysts were recovered from the fecal samples by using saturated sugar flotation technique according Duszinsky and Wilber (1997).

Morphology. Morphological observations and measurements were performed by using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective and ocular micrometer K-15X PZO (Poland). Line drawings were prepared with a binocular microscope Wild M-20 with drawing tube.

Photographies. Pictures were prepared by using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®.

RESULTS

Isospora vanriperorum Levine, 1982

Morphology. Oocysts (Figures 1 and 2) are spherical to subspherical, 19.4-26 by 18.3-26µm (23.1 by 22.4µm), shape index 1.04, with a single layered wall, fine, smooth and

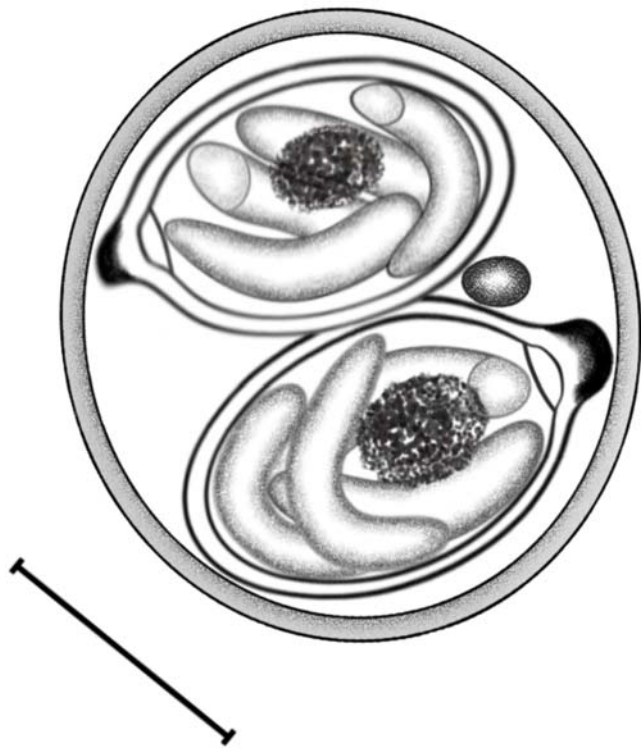


Figure 1. *Isospora vanriperorum* from *Saltator similis*. Sporulated oocyst. Line draw. (— = 10µm)



Figure 2. *Isospora vanriperorum* from *Saltator similis*. Sporulated oocyst. Saturated sugar solution. 1000X.

yellowish. Micropyle and residuum are absents, but one elliptical polar granule is present. Sporocysts are ovoid, 14.5-20.2 by 8.1-12.5µm (16.3 by 10.8µm), shape index 1.53, with prominent Stieda body, barely discernible Substieda body and residuum centered and granulated.

Taxonomic summary

Host: The green-winged saltator, *Saltator similis* (Passeriformes: Emberizidae: Cardinalinae).

Site of infection: not investigated.

Locality: City of Rio de Janeiro, Brazil.

Geographic distribution of the host: since the central region of Brazil until the southwest of South America.

Type material and specimens deposited: oocysts in 10% formaldehyde-saline solution deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, UFRRJ, Seropédica, State of Rio de Janeiro, Brazil. Repository number is 06/2006, including phototypes and line drawings.

Disease: None reported.

DISCUSSION

According to the data presented above the oocysts found in the green-winged saltator, *S. similis*, belongs to the species of *I. vanriperorum*. This species was originally described as *I. cardinalis* by Levine et al. (1980), with others new species: *I. brayi*, *I. ivensae*, *I. loxopis* and *I. phaernis*. However, as this name was preoccupied for Gottschalk (1972), it was later renamed by Levine (1982) as *I. vanriperorum*.

Numerous coccidia have been described from birds of Emberizidae family. *Isospora emberizae* (MANDAL; CHAKRAVARTY, 1964), whose host *Emberiza bruniceps*

(Red-headed bunting) (Emberizidae: Emberezinae) is distributed in Asia and Europe, *I. exigua*, *I. fragmenta*, *I. rotunda*, *I. temeraria* (MCQUISTION; WILSON, 1988), whose host *Camarhynchus parvulus* (Small tree finch) (Emberizidae: Emberezinae) is observed in Galapagos Islands, and *I. geospizae* (MCQUISTION; WILSON, 1989) and *I. daphnensis* (MCQUISTION, 1990), whose host *Geospiza fortis* (Medium-ground finch) (Emberizidae: Emberezinae) is also observed in Galapagos Islands, inhabit South America. These species meet in geographic isolation disabling the hypothesis of cross transmission.

In the American continent, 10 species of *Isospora* were described in birds sympatric with *Saltator similis* of Emberizidae family: *I. paroariae* reported by Upton et al. (1985) from the red-crested cardinal, *Paroaria coronata* (Emberizidae: Emberezinae), differs from the oocysts described in this paper because of a bi-layered wall and no polar granule.

McQuiston and Capparella (1992) described *I. pityli* and *I. formarum* from slate-colored grosbeak *Saltator grossus* (= *Pitylus grossus*) (Emberizidae: Cardinalinae) in Ecuador. *Isospora pityli* differs completely, therefore the oocysts are smaller (20-20.5 by 17-20µm), presents bi-layered wall and no polar granule and substieda body are observed. *Isospora formarum* is different by presenting bi-layered wall, the substieda body is larger and triangular and no presents polar granule.

Isospora tiaris by Ball and Daszak (1997), was described from soot grassquit, *Tiaris fuliginosa* (Emberizidae: Emberezinae) in Venezuela. Oocysts (20-20.5 by 17-20µm) are smaller than those described in this paper and present bi-layered wall.

Carvalho Filho et al. (2005), identified three new species from the double-collared seed eater, *Sporophila caeruleascens* (Emberizidae: Emberezinae), from Eastern Brazil: *Isospora sporophilae*, *I. flausinoi* and *I. teixeirafilhoi*. First of all, these three species differ by having bi-layered wall and no present substieda body and, in second; the diameters of oocysts of the *I. flausinoi* (14-20.00 by 13.60-20.00) and *I. teixeirafilhoi* (15.60-19.40 by 14.20-18.80) are smaller.

Recently, Silva et al. (2006) identified three new species from the lesser seed-finch *Oryzoborus angolensis* from Brazil. *Isospora curio* and *I. braziliensis*. Both do not have a polar granule and substieda body; however *I. paranaensis* of the same host had a similar morphology with the oocysts described in this paper, excepted the substieda body which is large and prominent in the *I. paranaensis* sporocysts, while in the sporocysts described in this paper were barely discernible.

Descriptions of *Isospora* species in subfamily Cardinalinae, where *C. cardinalis* and *S. similis*, are inserted and scarce. Beyond Levine et al. (1980) and this paper that described *I. vanriperorum* in Brazil, only McQuiston and Capparella (1992) have described two others species, *I. pityli* and *I. formarum* from the slate-colored grosbeak, *P. grossus* in Ecuador.

REFERENCES

- BALL, S. J.; DASZAK, P. *Isospora tiaris* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the sooty grassquit (*Tiaris fuliginosa*), a passeriform bird of South America. *American Society of Parasitologists*, v. 83, n. 3, p. 465-466, 1997.
- BIRD LIFE INTERNATIONAL, 2004. *Saltator similis*. In: IUCN 2006. Red list of Threatened Species. Available on: <<http://www.iucnredlist.org>>. Access: Mar 21, 2007.
- CARVALHO FILHO, P.R. DE; MEIRELES, G.S.; RIBEIRO, C.T.; LOPES, C.W.G. Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed eater, *Sporophila caeruleascens* (Passeriformes: Emberizidae), from Eastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 2, p. 151-154, 2005.
- DUSZYNSKI, D. W.; COUCH, L. The coccidia of Passeriformes (*Isospora*), 2004. Available on: <<http://www.k-state.edu/parasitology/worldcoccidia>>. Access: Mar 21, 2007.
- DUSZYNSKI, D. W.; WILBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 333-336, 1997.
- GOTTSCHALK, C. Beitrag zur Faunistik der Vogelkokzidien Thuringens und Sachsens. *Beträge zur Vogelkunde*, v. 18, n. 1, p. 61-69, 1972.
- LABBÉ, A. Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur less coccidies. *Archives de Zoologie Experimentale et Generale*, v. 24, n. 3, p. 517-654, 1896.
- LEVINE, N.D. *Isospora vanriperorum* n. nom. for *I. cardinalis* Levine, Van Riper & Van Riper, 1980, preoccupied. *Journal of Protozoology*, v. 29, n. 4, p. 653, 1982.
- LEVINE, N.D.; VAN RIPER, S.; VAN RIPER, C. Five New Species of *Isospora* from Hawaiian Birds. *Journal of Protozoology*, v. 27, n. 3, p. 258-259, 1980.
- LOUSADA, E.E.D.; FARIAS, S.P.; LASMAR, J.M.; MIRANDA, A.P. Trinca-Ferro Verdadeiro. Portal da Federação Ornitológica de Minas Gerais. Available on: <<http://www.feomg.com.br>>. Access: Mar 21, 2007.
- MANDAL, A.K. AND CHAKRAVARTY, M.M. Studies on some aspects of avian coccidia [Protozoa: Sporozoa]. 2. Five new species of *Isospora* Schneider, 1881. *Proceedings of the Zoological Society*, v. 17, p. 35-45, 1964.
- MCQUISTION, T.E. *Isospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *Journal of Parasitology*, v. 76, n. 1, p. 30-32, 1990.
- MCQUISTION, T.E.; CAPPARELLA, A. Two new coccidian parasites from the slate-colored grosbeak (*Pitylus grossus*) of South America. *Journal of Parasitology*, v. 78, n. 5, p. 805-807, 1992.
- MCQUISTION, T.E.; WILSON, M. Four new species of *Isospora* from the small tree finch (*Camarhynchus parvulus*) from the Galapagos Island. *Journal of Protozoology*, v.35, n. 1, p. 98-99, 1988.

- MCQUISTION, T.E.; WILSON, M. *Isospora geospizae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the small ground finch (*Geospiza fuliginosa*) and the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *Systematic Parasitology*, v. 14, n. 2, p. 141-144, 1989.
- SILVA, E.A.T DA; LITERÁK, I; KOUDELA, B. Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 5, p.573-576, 2006.
- UPTON, S.J.; CURRENT, W.L.; CLUBB, S.L. Two new species of *Isospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from passeriform birds of South America. *Systematic Parasitology*, v. 7, n. 3, p. 227-229, 1985.

Received on May 16, 2007.

Accepted for publication on September 21, 2007.