

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

DISSERTAÇÃO

**ESPÉCIES DE COCCÍDIOS EM THAMNOPHILIDAE (AVES:
PASSERIFORMES) DO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ:
MORFOLOGIA E TAXONOMIA**

LIDIANE MARIA DA SILVA

Seropédica, RJ

2016



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

ESPÉCIES DE COCCÍDIOS EM THAMNOPHILIDAE (AVES: PASSERIFORMES)
NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA, RJ: MORFOLOGIA E TAXONOMIA

LIDIANE MARIA DA SILVA

Sob a orientação do Professor

Dr. Bruno Pereira Berto

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

Seropédica, RJ
Fevereiro de 2016

636.50896936

S586e

T

Silva, Lidiane Maria da, 1987-

Espécies de coccídios em Thamnophilidae
(Aves: Passeriformes) no Parque Nacional do
Itatiaia, RJ: Morfologia e Taxonomia /
Lidiane Maria da Silva. - 2016.

80 f.: il.

Orientador: Bruno Pereira Berto.

Dissertação (mestrado) - Universidade
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 48-63.

1. Coccidiose aviária - Teses. 2. Ave -
Parasito - Parque Nacional do Itatiaia (RJ
e MG) - Teses. 3. Coccídio - Classificação
- Teses. 4. Coccídio - Morfologia - Teses.
5. Parasitologia veterinária - Teses. I.
Berto, Bruno Pereira, 1984-. II.
Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em
Ciências Veterinárias. III. Título.

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

LIDIANE MARIA DA SILVA

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

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 18/02/2016



Bruno Pereira Berto, D.Sc. UFRRJ
(Orientador)



Carlos Wilson Gomes Lopes, Ph.D., LD. UFRRJ



Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira, Ph.D. UENF



Sergian Vianna Cardozo, D.Sc. UNIGRANRIO



Hermes Ribeiro Luz, D.Sc. UFRRJ

DEDICATÓRIA

*A Deus, por tudo que tem realizado na minha vida, e mesmo quando me senti desacreditada
Ele estava ali me dando força e me empurrando para o caminho da vitória.*

*Ao meu noivo, Roger Carvalho, e aos meus pais, José Paulo da Silva e Lídia de Oliveira
Silva, por todo apoio e dedicação nos momentos difíceis, pelos quais passei até chegar aqui.*

Aos meus familiares e amigos pelo incentivo, amizade e atenção.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente fizeram parte da conclusão deste trabalho.

Em especial, ao Prof. Dr. Bruno Pereira Berto (Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Biologia Animal, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ), por sua amizade, dedicação e pelo suporte no pouco tempo que lhe coube, pelas suas correções e incentivos.

Ao Prof. Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes (Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia, Anexo 1 do Instituto de Veterinária, UFRRJ), por suas recomendações, sugestões e apoio.

Aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses, especialmente a discente Mariana Borges Rodrigues, por todo companheirismo, compreensão, ajuda e paciência.

A equipe das atividades de campo, por todos os momentos de convivência, ensinamentos, ajuda e parceria.

Aos funcionários do Parque Nacional do Itatiaia (PNI), em especial o Dr. Léo Nascimento, por conceder a entrada no PNI para realização das atividades de campo.

Ao CNPq, por conceder a bolsa de mestrado.

A UFRRJ, seu corpo docente, direção e administração que propiciaram a janela que hoje vislumbro um horizonte maior.

BIOGRAFIA

LIDIANE MARIA DA SILVA, filha de José Paulo da Silva e Lídia de Oliveira Silva, brasileira, nasceu aos 18 de julho de 1987 no município do Recife, Pernambuco.

Iniciou sua formação profissional em 2010, ingressando no Curso de Ciências Biológicas da Universidade Castelo Branco (UCB), *Campus* Realengo, Rio de Janeiro, RJ. Foi estagiária no Laboratório de Coccídios e Coccidioses do Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), sob orientação do Prof. Dr. Bruno Pereira Berto no 1º semestre de 2014.

Após graduar-se como Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas em julho de 2014, respectivamente, ingressou-se no mês seguinte, no Curso de Pós-graduação em Ciências Veterinária em nível de mestrado na UFRRJ.

"O coração do homem propõe o seu caminho, mas o Senhor lhe dirige os passos."

Provérbios, cap.16. v. 9, Bíblia Sagrada.

RESUMO

DA SILVA, Lidiane Maria. **Espécies de coccídios em Thamnophilidae (Aves: Passeriformes) no Parque Nacional do Itatiaia, RJ: Morfologia e Taxonomia.** 2016. 80p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Os taminofilídeos, da mesma forma que outras famílias de Passeriformes, podem ser parasitados por diversas espécies de coccídios, principalmente dos gêneros *Isoospora* Schneider, 1881 e *Eimeria* Schneider, 1875. Neste contexto, este trabalho teve por objetivo identificar, caracterizar e quantificar espécies de coccídios parasitos de Thamnophilidae do PNI. Foram realizadas sete expedições no Parque Nacional do Itatiaia, das quais cinco foram em áreas mais preservadas e duas em áreas no entorno do parque, as aves foram capturadas com o auxílio de redes de neblina, ao todos foram capturados 184 espécimes de aves sendo 26 taminofilídeos, após o processamento das amostras observou ser coccídios do gênero *Isoospora* e *Eimeria*. A espécie *Isoospora parnaitatiaiensis* Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015 foi identificada em dois diferentes hospedeiros da família Thamnophilidae, *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) e *Dysithamnus mentalis* (Temminck, 1823), sendo que seus oocistos foram caracterizados como polimórficos, já que os oocistos de *P. leucoptera* são mais elipsóides em relação aos oocistos de *D. mentalis* que tendem ao ser mais sub-esféricos, o que pode ser consequência do processo de especiação/adaptação ao hospedeiro. A intensidade de infecção nos diferentes hospedeiros taminofilídeos positivos foram relativamente baixas, *P. leucoptera* e *D. mentalis* tiveram juntos um OoPD de 316 para os oocistos de *I. parnaitatiaiensis*, o que pode ser justificado pelo ambiente conservado do PNI e pelo hábito alimentar insetívoro. Finalmente, a especificidade ocorreu em nível de família, pelo fato de *P. leucoptera* e *D. mentalis*, ambos da família Thamnophilidae, ter sido relatados como hospedeiros de *I. parnaitatiaiensis*.

Palavras chave: oocistos, coccídio, *Isoospora parnaitatiaiensis*, *Pyriglena leucoptera*, *Dysithamnus mentalis*, Thamnophilidae.

ABSTRACT

DA SILVA, Lidiane Maria. **Coccidian species from Thamnophilidae (Aves: Passeriformes) at the Itatiaia National Park, RJ: Morphology and Taxonomy.** 2016. 80p. Dissertation (Post Graduate Program in Veterinary Science). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

The thaminophilid passerines, just as other families of Passeriformes, can be parasitized by different species of coccidia, especially the genera *Isospora* Schneider, 1881 and *Eimeria* Schneider, 1875. In this context, this study aimed to identify, characterize and quantify coccidian species from Thamnophilidae in the Itatiaia National Park. Seven expeditions were performed at Itatiaia National Park, of which five were in conserved areas and two in areas around the park. A total of 184 species of birds were captured with mist nets, being 26 thaminophilid passerines. After fecal sampling and processing were observed coccidia of the genera *Isospora* and *Eimeria*. The species *Isospora parnaitataiensis* Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015 was identified in two different hosts, *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) and *Dysithamnus mentalis* (Temminck, 1823), and their oocysts were characterized as polymorphic, since the oocysts from *P. leucoptera* were more ellipsoidal and the oocysts from *D. mentalis* were more sub-spherical, which may be the result of speciation process/adaptation to these hosts. The intensities of infection in different hosts were relatively low, since that *P. leucoptera* and *D. mentalis* shed together an OoPD of 316 oocysts of *I. parnaitataiensis*, which can be explained by the conserved environment in the Itatiaia National Park and the insectivore feeding habit. Finally, the specificity occurred at the family level, because *P. leucoptera* and *D. mentalis*, both of Thamnophilidae family, have been reported as hosts of *I. parnaitataiensis*.

Keywords: oocysts, coccidia, *Isospora parnaitataiensis*, *Pyriglena leucoptera*, *Dysithamnus mentalis*, Thamnophilidae.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Prevalência de coccídios em Thamnophilidae em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.....32
- Tabela 2.** Identificação e intensidade de infecção (OoPD) de coccídios parasitos de Thamnophilidae em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.....33
- Tabela 3.** Comparação morfológica de espécies do gênero *Isospora* descritas em Thamnophilidae no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.....35
- Tabela 4.** Polimorfismo dos oocistos de *I. parnaitatiaiensis* recuperados de *P. leucoptera* e *D. mentalis*.....38
- Tabela 5.** Comparação morfométrica de oocistos esporulados de *Isospora parnaitatiaiensis* recuperados de diferentes taminofilídeos em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.....43

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Principais características morfológicas observadas no oocisto. Capuz polar (mc); micrópola na camada interna (mil) e externa (mol); parede exterior áspera (row) ou lisa (sow); largura do oocisto (ow); comprimento do oocisto (ol); grânulo polar (pg); resíduo do oocisto (or); largura do esporocisto (sw); comprimento do esporocisto (sl); corpo de Stieda (sb); corpo sub Stieda (ssb); corpo de parasita (psb); resíduo do esporocisto compacto (csr) ou difuso (dsr); esporozoíto (sp); corpo refrátil anterior (arb) e posterior (prb) do esporozoíto; núcleo do esporozoíto (n); e estrias do esporozoíto (str). De acordo com Berto et al. (2014a)07
- Figura 2.** *Isoospora sagittulae* McQuistion e Capparella, 1992. De acordo com Berto et al. (2014b)14
- Figura 3.** Pontos de coleta designados por datas (mês/ano) no Parque Nacional do Itatiaia. Imagem elaborada e extraída do software Google Earth27
- Figura 4.** Espécime de *Pyrriglena leucoptera* (macho) capturado (A); Saco de contenção (B); e Caixa de papelão forrada para coleta de amostras fecais (C)27
- Figura 5.** Desenho do oocisto esporulado de *Isoospora parnaitatiaensis* recuperado de *Pyrriglena leucoptera*. Escala = 10 µm36
- Figura 6.** Fotomicrografias de oocistos esporulados de *Isoospora parnaitatiaensis* recuperados de *Pyrriglena leucoptera* (A-F) e *Dysithamnus mentalis* (G-I). Escala = 10 µm37
- Figura 7.** Histogramas das dimensões dos oocistos de *Isoospora parnaitatiaensis*: (A) diâmetros maior (cinza escuro) e menor (cinza claro); e (B) índice morfométrico41

Figura 8. Regressão linear comparativa das dimensões dos oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de *Isohora parnaitaiensis* recuperados de dois hospedeiros distintos: *Pyrglena leucoptera* (preto e vermelho) e *Dysithamnus mentalis* (cinza e azul).....42

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Autorização para atividades com finalidades científica SISBIO	64
Anexo B. Declaração de aprovação da CEUA.....	68
Anexo C. A new species of <i>Isospora</i> Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the grey-hooded Attila <i>Attila rufus</i> Vieillot, 1819 (Passeriformes: Tyrannidae) on the Marambaia Island, Brazil	69
Anexo D. A new coccidian, <i>Isospora parnaitataiensis</i> n. sp. (Apicomplexa, Eimeriidae), from the white-shouldered fire-eye <i>Pyriglena leucoptera</i> (Passeriformes, Thamnophilidae) from South America.....	73
Anexo E. A new isosporoid coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) from the southern house wren <i>Troglodytes musculus</i> Naumann, 1823 (Passeriformes: Troglodytidae) from Brazil.....	77

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. O COCCÍDIO	03
2.1.1. Histórico	03
2.1.2. Classificação	05
2.1.3. Morfologia	06
2.1.4. Biologia	10
2.1.5. Espécies	13
2.2. OS TAMINOFILÍDEOS	16
2.2.1. Classificação	16
2.2.2. Sistemática	16
2.2.3. Adaptações ecológicas	20
2.2.4. Distribuição geográfica	21
2.2.5. Dispersão de coccídios em pássaros silvestres	23
2.2.6. A coccidiose em pássaros	24
3. MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO	25
3.2. LOCALIDADE DE ESTUDO	25
3.3. PONTOS DE COLETA E CAPTURA DAS AVES	25
3.4. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS	28
3.5. ESTUDO DOS OOCITOS	28
3.5.1. Visualização e fotomicrografia dos oocistos	28
3.5.2. Quantificação dos oocistos	29
3.5.3. Identificação das espécies	29
3.5.4. Identificação de novos hospedeiros	29
3.5.5. Desenho dos oocistos	30
3.6. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA	30
3.6.1. Histograma	30
3.6.2. Análise de variância (ANOVA)	30
3.6.3. Regressão linear	31

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
4.1. ANÁLISE DAS AMOSTRAS EXAMINADAS	32
4.2. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS	32
4.2.1. <i>Isospora parnaitatiaiensis</i> Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015	34
4.2.1.1. Morfologia do oocisto, esporocisto e esporozoíto	34
4.2.1.2. Polimorfismo	38
4.2.1.3. Frequência em classes de dimensões dos oocistos	40
4.2.1.4. Distribuição das dimensões dos oocistos	40
4.2.1.5. Aspectos morfométricos comparativos dos oocistos esporulados recuperados dos diferentes hospedeiros	42
4.3. INTENSIDADES DE INFECÇÃO	45
5. CONCLUSÃO	47
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
7. ANEXOS	64

1. INTRODUÇÃO

Os pássaros (Aves: Passeriformes) desempenham um papel de grande importância na natureza, como por exemplo, na polinização das plantas, dispersão de sementes, no controle de pragas, e outros, além de serem considerados reguladores tanto da fauna como da flora. As espécies que se alimentam de néctar auxiliam na polinização de diversas plantas. As espécies frugívoras são consideradas grandes dispersoras, pois a retirada dos frutos representa a primeira etapa na dispersão de sementes, possibilitando uma nova germinação longe do local de origem. Os insetívoros exercem um importante papel no controle biológico de pragas, se alimentando de insetos que podem prejudicar a agricultura e pastagens (SICK, 1997).

Dentre as diversas famílias, a família *Thamnophilidae* Swainson, 1824 é composta por pássaros de pequeno porte frequentemente observados capturando formigas e outros artrópodes na vegetação densa. Devido este comportamento insetívoro, eles são considerados "papa-formigas". Duas grandes áreas de distribuição desta família são os biomas de Mata Atlântica e Amazônia (WIENS, 1989; ZIMMER; ISLER, 2003).

Nestes biomas, destacam-se as unidades de conservação, como o Parque Nacional do Itatiaia (PNI), que está localizado na Serra da Mantiqueira na divisa dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, uma área protegida com um alto grau de vulnerabilidade, considerado uma "ilha de conservação" da biodiversidade. Criado em junho de 1937, foi o primeiro Parque Nacional do Brasil. O PNI é caracterizado por montanhas e terreno rochoso com elevação variando de 600 a 2.791 no pico das Agulhas Negras. No Planalto do Itatiaia, uma região conhecida como Parte Alta, localiza-se os campos de altitude e as nascentes de diversos rios, assim o PNI engloba 12 nascentes de bacias hidrográficas regionais importantíssimas, que alimentam as bacias do rio Grande, afluente do rio Paraná e a do rio Paraíba do Sul, muito importante para o Estado do Rio de Janeiro. A parte baixa é definida pela vegetação deslumbrante e abundantes cursos d'água. O Parque é uma unidade de conservação que visa à preservação de ecossistemas naturais, o desenvolvimento de pesquisas científicas, atividades de educação ambiental, de recreação e de turismo ecológico (ICMBIO, 2015).

Os pássaros podem ser parasitados por diversos coccídios, principalmente dos gêneros *Isospora* Schneider, 1881 e *Eimeria* Schneider, 1875. Desde os primórdios da parasitologia as espécies de coccídios de *Isospora* e *Eimeria* têm sido descritas com base no oocisto, pois o

mesmo possui características morfológicas significativas para identificação. Estas descrições propiciaram que inúmeras espécies sejam reconhecidas como parasitas de Passeriformes e, frequentemente, novos coccídios são descritos (DUSZYNSKI; WILBER, 1997; BERTO et al. 2011a).

A transmissão de coccídios do gênero *Isospora* ocorre principalmente por via feco-oral. A especificidade tem sido motivo de diversos questionamentos, principalmente pelo fato da sistemática de Aves ser frequentemente alterada, contudo, compreende-se que esta seja família-específica. Reconhece-se que as espécies do gênero *Isospora* têm maior especificidade aos pássaros, quando comparadas com aquelas do gênero *Eimeria*. Historicamente, descrições de novas espécies no gênero *Isospora* são mais frequentes quando confrontadas ao gênero *Eimeria*, onde as descrições são mais eventuais (DUSZYNSKI; WILBER, 1997; BERTO et al. 2011a).

Este estudo teve por objetivo principal identificar, caracterizar e quantificar espécies de coccídios parasitas de pássaros da família *Thamnophilidae* no Parque Nacional do Itatiaia (PNI). Os objetivos específicos foram: (1) Identificar as espécies dos gêneros *Eimeria* e *Isospora*, e suas respectivas intensidades de, em taminofilídeos no PNI; (2) Caracterizar e comparar as morfologia e morfometria dos oocistos esporulados recuperados de uma ou mais espécies hospedeiras; (3) Verificar a especificidade de parasitismo em nível de espécie e gênero do hospedeiro, através da característica morfológica e morfométrica.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. O COCCÍDIO

2.1.1. Histórico

Os primeiros coccídios foram observados na bile de um coelho por Antoni van Leeuwenhoek em 1674, utilizando um microscópio rudimentar. Hoje em dia, é aceitável que essas formas eram de fato oocistos de *Eimeria stiedai* (Lindemann, 1865) Kisskalt e Hartmann, 1907 (DUSZYNSKI et al., 1999). Provavelmente, em 1839, Hake foi o primeiro pesquisador a observar os oocistos mais detalhadamente; no entanto, ele os considerava como glóbulos de pus. Em 1846, Kloss assinalou a presença de coccídios em um caramujo, que foi posteriormente nomeado de *Klossia helicina* Schneider, 1875. Quase 20 anos depois, Lindemann, em 1865, ao avaliar oocistos presentes na bile de um coelho descreveu a espécie *Monocystis stiedae* Lindemann, 1865, considerando-a como uma gregarina (CHISHOLM, 1911; WENYON, 1926). No entanto, em 1869, Rivolta deve ter feito a primeira observação de um coccídio em aves, ao recuperar oocistos de coccídios destes em outros pássaros. Embora esse mesmo autor tenha observado que havia divisão em duas massas no conteúdo de alguns oocistos, essas não foram diferenciadas ou caracterizadas, sendo simplesmente descrito como *Psorospermium avium* Rivolta, 1869. Em verdade, Rivolta e Silvestrini em 1873, também se referiram a esse coccídio, considerando todos coccídios de aves como pertencentes a esse mesmo táxon (BERTO et al., 2011a).

No ciclo de vida dos coccídios, a fase assexuada foi inicialmente descrita por Eimer, em 1870. Cinco anos mais tarde, Schneider, ao observar esse mesmo coccídio, propôs para o mesmo incluí-lo no recém criado gênero *Eimeria*, em homenagem a Theodor Eimer, e a nomeou como *Eimeria falciformis* Schneider, 1875. Além de seus estudos com pássaros, Rivolta, em 1878, descreveu coccídios parasitos de rãs, bezerros e cães, e propôs o gênero *Cytospermium* Rivolta, 1878. No entanto, esses coccídios deveriam ter sido incluídos no gênero *Eimeria* (CHISHOLM, 1911; WENYON, 1926).

Em 1881, Schneider propôs o gênero *Isospora*, a partir dos oocistos recuperados de uma lesma. A espécie foi nomeada como *Isospora rara* Schneider, 1881, desenhos e

fotomicrografias desses oocistos eram de baixa resolução, porém, eles comprovavam a presença de apenas dois esporocistos em cada oocisto, corroborando com a descrição de um novo gênero. Ainda em 1881, Rivolta e Delprato foram os primeiros a mencionar espécimes de *Isoospora* em Passeriformes. Esses mesmos autores recuperaram oocistos a partir das fezes de *Sylvia atricapilla* Linnaeus, 1758, *Erithacus rubecula* Linnaeus, 1758 e *Passer domesticus* Linnaeus, 1758. Porém, essas espécies não foram descritas ou nomeadas. Labbé, em 1893, sem o conhecimento da publicação de Schneider, em 1881, criou o gênero *Diploospora* Labbé, 1893 para coccídios parasitos de vários pássaros. As espécies foram nomeadas *Diploospora lacazei* Labbé, 1893 e *Diploospora rivoltae* Labbé, 1893. Mais tarde, essas espécies foram transferidas para o gênero *Isoospora* (WENYON, 1926; DUSZYNSKI et al., 1999). Posteriormente, a espécies que não tinham corpo de Stieda nos esporocistos foram agrupadas no gênero *Cystoisospora* (BARTA et al., 2005).

Hosoda, em 1928, descreveu *Isoospora lacazei* (Labbé, 1893) Levine, 1982 de pardais *Passer montanus* Linnaeus, 1758 no Japão. Essa identificação foi mais tarde confirmada por Becker (1934), Boughton (1930), Henry (1932); Boughton et al. (1938), Rysavy (1954), Scholtzseck (1954), Levine e Mohan (1960), Mandal (1965), Anwar (1966a), Mandal e Bhattacharya (1969) e Hernandez-Rodriguez et al. (1976), porém todos fizeram seus relatos como *I. lacazei* em diferentes espécies de pássaros. No entanto, durante esse mesmo período, Schwalbach, em 1959, baseando a sua análise sobre a morfologia dos oocistos, descreveu novas espécies de *Isoospora* em aves silvestres na Alemanha. Em 1966, Anwar encontrou merontes e gametas de *I. lacazei* no intestino delgado de *Carduelis chloris* Linnaeus, 1758 na Inglaterra. Pouco tempo depois, Box, em 1975, descreveu estádios extra-intestinais de *Isoospora serini* Aragão, 1933, quando isolava merontes em fagócitos mononucleares do sangue de *Serinus canaria* Linnaeus, 1758. Posteriormente, essa espécie e mais outras 18, com ciclos de vida extra-intestinais, foram redescritas e alocadas por Levine (1982a) no gênero *Atoxoplasma* Garnham, 1950. No entanto, a validade deste gênero foi questionada por Boulard et al., 1987 e, recentemente, por Carreno e Barta (1999), Schrenzel et al. (2005), Barta et al. (2005) e Gill e Paperna (2008), comentários esses que podem ser observados em Berto et al. (2011a).

Enquanto que se procurava por novas combinações para auxiliar na identificação de coccídios de Passeriformes, Levine, em 1982, propôs os nomes *Isoospora passeris* Levine, 1982 para parasitos de *P. domesticus*, e *I. lacazei* para parasitos de *Carduelis Carduelis* Linnaeus, 1758; além do mais, esse mesmo autor apresentou uma lista com 60 espécies do

gênero *Isospora*, cada uma com seus respectivos hospedeiros. Em contra partida e no mesmo ano, Grulet et al. (1982), após um estudo detalhado sobre a morfologia dos esporocistos de espécies do gênero *Isospora*, descreveram 12 novas espécies em *P. domesticus* na França. Atualmente, são frequentes descrições de novas espécies de coccídios parasitando Passeriformes. Numa tentativa de organizar este crescente corpo de informações, Duszynski et al. (1999) reuniram varias espécies de coccídios e seus hospedeiros em um banco de dados chamado “The Coccidia do World”. Em Passeriformes do Novo Mundo, Berto et al. (2011a) escreveram uma revisão que organiza todas as espécies de coccídios de acordo com suas famílias hospedeiras.

2.1.2. Classificação

Os parasitos de aves mais relevantes da ordem Passeriformes pertencem ao gênero *Isospora*, seguido do gênero *Eimeria*. De acordo com Upton (2000) os coccídios dos gêneros *Isospora* e *Eimeria* apresentam a seguinte classificação:

Domínio: Eukaryota Chatton, 1925
Filo: Apicomplexa Levine, 1970
Classe: Conoidasida Levine, 1988
Subclasse: Coccidiasina Leuckart, 1879
Ordem: Eucoccidiorida Léger e Duboscq, 1910
Sub-ordem: Eimeriorina Léger, 1911
Família: Eimeriidae Minchin, 1903
Gênero: *Eimeria* Schneider, 1875
Gênero: *Isospora* Schneider, 1881

Nos coccídios, uma das características principais é o parasitismo intracelular obrigatório com ciclos biológicos alternados entre reprodução sexuada (cujos resultados são oocistos) e assexuada (BERTO et al., 2014a). De acordo com Levine (1985), além de parasitar diferentes espécies de vertebrados, esses organismos podem também ser identificados como parasitos de invertebrados.

Por sua vez a Ordem Eucoccidiorida é subdividida em Adeleorina Léger, 1911 e Eimeriorina. A Subordem Eimeriorina compreende todos coccídios superiores que desenvolvem gametogonia. Historicamente, os gêneros de Eimeriorina foram separados de acordo com a proporção de esporocistos e esporozoítos por oocisto, no entanto, atualmente outras características, incluindo dados moleculares, são utilizadas para diferenciação genérica (BERTO et al., 2014a).

Dentre estas características adicionais, a presença de corpo de Stieda, a qual é uma estrutura de excistamento do esporocisto, é o componente básico da Família Eimeriidae. Neste modelo, os únicos gêneros classificados em Eimeriidae são: *Eimeria*, *Isoospora*, *Cycloospora* Schneider, 1881 e *Caryospora* Léger, 1904 em répteis (JIRKU et al., 2002), porém outros ainda são tradicionalmente incluídos nessa família. *Eimeria* é o gênero que possui a maior biodiversidade da Ordem Eucoccidiorida, sendo relatado em invertebrados e vertebrados. As espécies de Eimeriidae são principalmente intestinais, embora algumas espécies se desenvolvam em tecidos, incluindo o fígado, baço e pulmões, túbulos renais, vias biliares e útero (McCULLY et al., 1970; OWEN, 1970; ENTZEROTH et al., 1981; ROSALES, 1999).

2.1.3. Morfologia

De acordo com Levine (1985), os oocistos dispóricos tetrazóicos, ou seja, um oocisto contendo dois esporocistos com quatro esporozoítos cada, foram descritos como espécies do gênero *Isoospora* em vários hospedeiros vertebrados e invertebrado, e os oocistos tetraspóricos dizóicos, ou seja, um oocisto contendo quatro esporocistos com dois esporozoítos cada, foram descritos como espécies do gênero *Eimeria*. Os coccídios do gênero *Isoospora* são os parasitos mais comuns encontrados em Passeriformes.

Os coccídios são identificados e classificados frequentemente pelos oocistos, que são formas exógenas observadas nas fezes ou urina de seus hospedeiros, esta identificação só poderá ser realizada de maneira precisa quando as características morfológicas do organismo estiverem visíveis após o período de esporulação, período de maturação variável de acordo com a espécie. As características morfológicas fundamentais para a identificação e organização sistemática dos gêneros *Isoospora* e *Eimeria* são: presença e número de esporocistos e esporozoítos; parede do oocisto; micrópila e/ou capuz polar; grânulo polar e/ou

resíduo do oocisto; corpos de Stieda, substieda e parastieda; resíduo do esporocisto; corpo refrátil, núcleo e estrias no esporozoíto. Entre as características morfométricas está diâmetro maior/menor do oocisto, diâmetro maior/menor do esporocisto e índices morfométricos (Figura 1) (BERTO et al., 2014a).

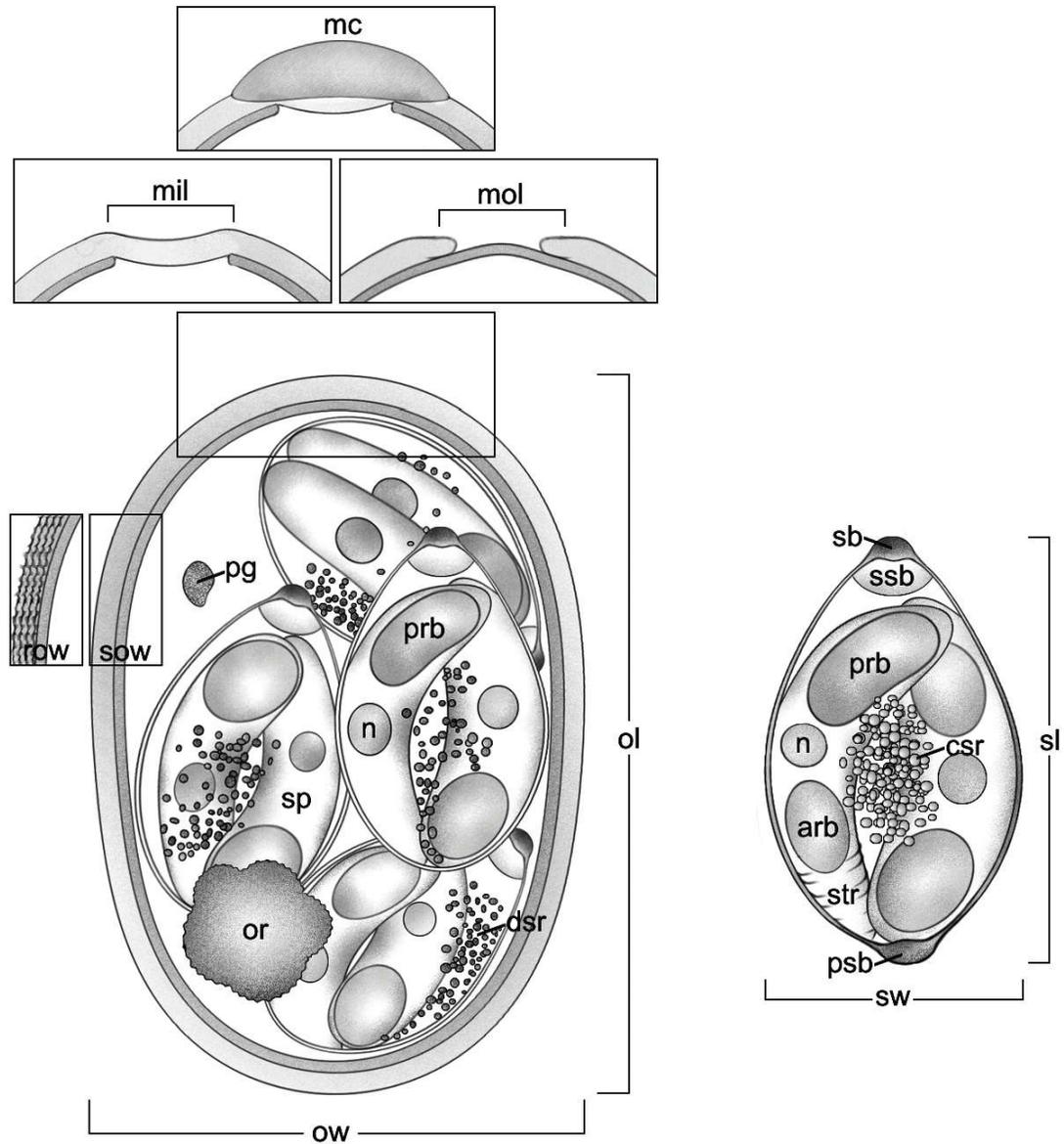


Figura 1. Principais características morfológicas observadas no oocisto. Capuz polar (mc); micrópola na camada interna (mil) e externa (mol); parede exterior áspera (row) ou lisa (sow); largura do oocisto (ow); comprimento do oocisto (ol); grânulo polar (pg); resíduo do oocisto (or); largura do esporocisto (sw); comprimento do esporocisto (sl); corpo de Stieda (sb); corpo sub Stieda (ssb); corpo de parastieda (psb); resíduo do esporocisto compacto (csr) ou difuso (dsr); esporozoíto (sp); corpo refrátil anterior (arb) e posterior (prb) do esporozoíto; núcleo do esporozoíto (n); e estrias do esporozoíto (str). De acordo com Berto et al. (2014a).

Os estudos de Belli et al. (2006) e Mai et al. (2009) assinalaram que a estrutura de base da parede do oocisto é comum a todos os coccídios. Em ambos os estudos, esses autores indicaram claramente que a parede do oocisto é constituída por duas camadas distintas, uma interna e outra externa, envolvida por uma membrana externa, que é normalmente ausente em oocitos maduros isolados a partir de fezes, pelo fato dessa membrana ser muito delicada, ela é perdida logo após o desenvolvimento e eliminação do oocisto da célula. Na camada externa da parede do oocisto observa-se uma superfície áspera e a densidade aumenta conforme se aproxima da parte interna, já a camada interna é menos espessa e mais densa que a outra, as mesmas são diferenciadas na microscopia óptica, porém a separação é muito difícil. O modelo bi-camada está em desacordo com muitos estudos anteriores que descreveram as paredes dos oocistos como uma única camada (LAINSON; SHAW, 1989). No entanto, pensa-se atualmente que a parede de camada única descrita em alguns coccídios era em verdade duas camadas, com camadas muito finas e/ou fundidas o que dificultou a sua correta observação por microscopia de luz (BELLI et al, 2006; MAI et al, 2009).

A coloração é também uma importante característica da parede do oocisto, muitos dos artigos citam e diferenciam espécies com base na cor da parede, caracterizando como marrom, amarelado, castanho, etc., apesar de em alguns casos ter a visualização alterada pela exposição a conservantes, intensidade luminosa e ou a escolha do filtro utilizado para a microscopia de luz (NOWELL; HIGGS, 1989). Por outro lado, a diferença de tonalidade entre as duas camadas, considerada como mais escura e mais clara, pode ser uma característica importante em alguns casos (DE SOUZA et al., 2009).

A textura da superfície exterior da parede do oocisto pode variar de lisa à áspera, é considerada uma característica importante, em alguns casos, permite diferenciação entre relatos entre espécies do gênero *Eimeria* (ALBUQUERQUE et al., 2008). Esse recurso é melhor observado, quando o foco no microscópio de luz é colocado sobre a superfície exterior da parede do oocisto. A textura da superfície externa da parede do oocisto de *Isospora* é predominantemente lisa (BERTO et al., 2011a,b). Finalmente, a presença de estruturas protuberantes na superfície exterior do oocisto, descrito como espinhas ou projeções cónicas, foi relatada para algumas espécies (McALLISTER; UPTON, 1989; MODRY, 2006). A parede do oocisto tem importância significativa na delimitação, proteção e resistência no meio exterior, possibilitando o desenvolvimento e a infectividade do coccídio (LEVINE, 1985; SOULSBY, 1987).

A micrópila pode ser definida como uma descontinuidade numa das camadas da parede do oocisto, esta característica pode ser observada com mais frequência na camada interna. Em algumas espécies a micrópila parece estar coberta por um capuz, o capuz polar, que proporciona uma proteção para regiões descontínuas das camadas. Estas estruturas são comuns em *Eimeria*, sendo raros ou ausentes em outros gêneros (BERTO et al., 2014a). O resíduo no oocisto é uma grande estrutura entre os esporocistos que pode ser formado por uma massa regular compacta ou uma massa irregular de grânulos (MODRY et al., 2005; EL-SHAHOWI et al., 2012), já o grânulo polar, menor que o corpo residual pode ser observado sempre denso e com formato variável conforme cada uma das espécies observadas.

Os esporocistos possuem estruturas conhecidas como corpo de Stieda e substieda que facilitam a identificação de espécies, pois o tamanho e a forma mostram um padrão característico para cada espécie de *Isospora*, portanto e na maioria dos casos, o desempenho de uma descrição detalhada deve ser suficiente para se chegar a nível de identificação das espécies. Dada à importância desta estrutura é recomendado que, sempre que possível, as variações observadas por microscopia óptica para representantes da mesma espécie deve ser caracterizada e desenhada. As possíveis razões para tais variações incluem a posição dos esporozoítos dentro do esporocisto, ou a posição do oocisto e esporocisto sob a lâmina. Neste contexto, estas variações são sutis e pode, eventualmente, ser observada em esporocistos de um único oocisto. No entanto, se estas variações são evidente em oocistos distintos, é possível que o hospedeiro apresente duas espécies diferentes (BERTO et al., 2008a-b). De maneira geral variam de formato, podem ser em forma de mamilo, achatado, arredondado, meia lua, entre outros (BERTO et al., 2014a). A importância do corpo substieda tem sido tradicionalmente associado com *Isospora* spp.; no entanto, estudos recentes têm enfatizado o seu valor potencial para o diagnóstico e identificação também em espécies do gênero *Eimeria* (BERTO et al., 2008c, 2009a, 2013a).

O corpo de parastieda raramente tem sido descrito em coccídio. Duszynski (1985), e Duszynski e Wilber (1997), observaram e caracterizaram essa estrutura em *Eimeria parastiedica* como representando um corpo substieda localizado no lado oposto do oocisto em relação ao corpo Stieda. Mais recentemente, em um estudo de *Eimeria caviae* por Flausino et al. (2014) relataram a presença de um corpo de parastieda e considerou-o como uma estrutura semelhante a um corpo de Stieda adicional, localizado na extremidade oposta do esporocistos, que impossibilitava a localização das extremidades anterior e posterior do esporocisto (BERTO et al., 2014a).

O resíduo do esporocisto pode ser quantificado relativamente em cada espécie de coccídio e uma descrição dessa estrutura é um componente de maior detalhe das espécies descritas. A estrutura pode aparecer como de forma difusa entre os esporozoítos ou pode formar uma massa compacta de grânulos. Em alguns casos, a massa compacta pode ser rodeada por uma membrana; enquanto que em outras espécies, observa-se um padrão distinto, onde os grânulos desenvolvem uma forma característica de anel (BERTO et al., 2009a, b, c, d, 2011a; LOPES et al., 2013).

As estruturas associadas com o esporozoíto são os corpos refráteis, o núcleo e estrias na superfície externa e anterior da membrana do esporozoíto. Os corpos refráteis podem ser exclusivos para cada esporozoíto ou pode aparecer como um par, um anterior e outro posterior, a forma pode ser de alongada à subsférica. O núcleo é geralmente menor do que os corpos refráteis, e localizado na região mediana do esporozoíto (BERTO et al., 2008b, 2009d, 2013b; LOPES et al., 2014).

2.1.4. Biologia

Tyzzler foi um pioneiro nos estudos sobre a coccidiose nas aves, estabelecendo conceitos sobre a biologia dos coccídios. Nesses estudos, esses organismos foram considerados parasitos homoxenos e das células epiteliais da mucosa intestinal. As descrições dos ciclos de vida foram confirmadas mais tarde nas revisões de Levine (1985) e Ball et al. (1989). Os estudos sobre as espécies do gênero *Eimeria* em Passeriformes eram limitados às descrições de oocistos. Entretanto, há uma escassez de informação em relação aos ciclos de vida desse gênero em Passeriformes (BERTO et al., 2008d, 2009a). Considerando outras ordens de Aves, é reconhecido que a maioria das espécies de *Eimeria* tem ciclos intestinais (LEVINE, 1985; BALL et al, 1989), no entanto, há algumas exceções, incluindo aquelas observadas em: *Eimeria reichenowi* Yakimoff e Matschoulsky, 1935, e *Eimeria truncata* (RAILLIET; LUCET, 1891) Waiselewski, 1904 (BERTO et al., 2011a).

Em contraste com *Eimeria*, os ciclos de vida das diferentes espécies de *Isospora* em Passeriformes foram relatados com detalhe durante as últimas quatro décadas. Antes de 1966, apenas o ciclo intestinal tinha sido reconhecido; contudo, após os estudos pioneiros de Box (1966, 1967, 1970, 1975, 1977, 1981) e de Levine (1982a), a existência de um ciclo extra-intestinal foi confirmado. Essa possibilidade de ciclo foi fortemente inferida a partir da

associação proposta entre coccidiose intestinal e formas semelhantes à esporozoítos que tinham sido observadas no baço de pardais *P. domesticus* e no fígado de canários *S. canaria* (BOX, 1966, 1967). Observações experimentais subsequentes indicaram que as espécies de *Atoxoplasma*, descritos por Garnham, em 1950, parasitando macrófagos de canários, mais provavelmente representavam estádios extra-intestinais de espécies do gênero *Isoospora* (BOX, 1970). Anteriormente, em estudos independentes, Lainson (1958, 1959, 1960) referiram a presença do parasito, alocado para *Lankesterella* Labbé, 1899, a partir de gametócitos obtidos das vísceras de pardais, observando que a transmissão ocorreu através do ácaro *Dermanyssus gallinae* De Geer, 1778. Box (1975, 1977, 1981) posteriormente confirmou que as espécies referidas como *Atoxoplasma* e *Lankesterella*, a partir de canários e pardais, não poderia ser transmitida por transfusão de sangue ou ácaros, mas apenas pela ingestão de oocistos do gênero *Isoospora*. Assim, a Dra. Edith D. Box é reconhecida por ter associado merogonia extra-intestinal com infecção por *Isoospora* (BARTA et al., 2005; BERTO et al., 2011a).

Ao ser notado que o parasito tinha a capacidade de atravessar barreira intestinal e infectar outros tecidos, esse foi reconhecido como *I. serini*, e que esta espécie deve ser diferenciada de *I. canaria* que mantém ciclo de vida estritamente intestinal (BOX, 1975, 1977, 1981). Essa espécie se desenvolve no epitélio intestinal e tem períodos, pré-patente e patente, de quatro a cinco dias e duas a três semanas, respectivamente. Em comparação, os esporozoítos de *I. serini* penetrar no interior dos macrófagos na lâmina própria do intestino delgado e são transportados para vários órgãos, incluindo aqui o fígado, baço e pulmões, onde cinco merogonias podem ser observadas em fagócitos. Seguindo esse processo, *I. serini* retorna para o intestino em dois modos, isto é os merozoítos podem penetrar diretamente na mucosa intestinal, ou, alternativamente, após a acumulação de merozoítos nos pulmões, eles podem migrar para dentro do trato digestivo através da faringe e traqueia. Dentro do intestino, novas merogonias e gametogonias forma novas gerações de oocistos (Box, 1977, 1981). O período patente do ciclo extra-intestinal contrasta com o a natureza do ciclo intestinal autolimitante, porque o baixa liberação do parasito a partir de macrófagos promove uma infecção crônica (BOX, 1981). Posteriormente, Milde (1979) sugeriu que as formas extra-intestinais muito provavelmente funcionem como reservatórios, permitindo o retorno de coccídios para o intestino após a infecção.

Na sequência de uma reavaliação do gênero *Atoxoplasma*, Levine (1982a) listou 19 espécies, incluindo uma nova combinação *I. serini* como *Atoxoplasma serini* (Aragão, 1933)

Levine, 1982. No entanto Box (1966, 1967, 1970, 1975, 1977, 1981) já havia fornecido provas conclusivas que as formas observadas em leucócitos nas vísceras de Passeriformes foram de fato fases de desenvolvimento de algumas espécies do gênero *Isospora*. Assim, uma vez que tais formas não pertencem a uma espécie distinta, o reconhecimento de *Atoxoplasma* e *Lankesterella* em Aves não poderia ser justificado. Esta afirmação foi apoiada pelo trabalho de Boulard et al. (1987), Upton et al. (2001) e, Gill e Paperna (2008). Finalmente, Carreno e Barta (1999), Schrenzel et al. (2005) e de Barta et al. (2005), usando uma combinação de estudos morfológicos e moleculares, confirmaram que espécies de *Isospora* e *Atoxoplasma* estão intimamente relacionadas e que estes gêneros são sinônimas.

Apesar de algumas espécies promoverem fases extras intestinais (BERTO et al. 2011a). Normalmente, espécies de *Isospora* estão relacionadas a infecções entéricas, mas podem acometer outros órgãos como rins, fígado e baço. Ao infectarem as células do epitélio intestinal este parasito promove a destruição das mesmas (GODOY; MATUSHIMA, 2010; VASCONCELOS et al., 2012). Seus oocistos são liberados não esporulados, a esporogonia ocorre no meio ambiente. O ciclo biológico é monoxeno, as formas infectantes penetram nas células epiteliais intestinais onde se multiplicam por merogonia (esquizogonia) e gametogonia. Desenvolvem gametogonia, onde os gamontes se desenvolvem separadamente e o microgametócito produz muitos microgametas (BERTO et al., 2014a).

Grulet et al. (1982) descreveram 12 espécies de *Isospora* com base em um exame detalhado da morfologia dos esporocistos e de alguns aspectos dos ciclos de vida. Observações adicionais sobre a biologia destas espécies indicaram que o seu desenvolvimento seguiu um ritmo circadiano, a qual, durante o verão, resultou em uma eliminação abundante dos oocistos durante as últimas horas da tarde (Grulet et al., 1986a, b, c). Um dos resultados desse estudo foi proposto três padrões de ciclo de vida.

O primeiro padrão tem um período pré-patente de quatro a cinco dias e um período patente de 12 dias. Esse ciclo de vida está limitado às vilosidades do epitélio intestinal e foi considerado semelhante ao descrito para *I. canaria*. O segundo padrão resulta em uma infecção crônica e também é limitado ao intestino. Nesse ciclo de vida, a gametogonia ocorre a cada noite, nas vilosidades intestinais, através de merozoítos que se desenvolveram nas criptas de Lieberkühn. Finalmente, o terceiro padrão também tende a resultar numa infecção crônica devido à intensa merogonia e gametogonia dentro do intestino ao longo de todo o período de 24 horas, com merozoítos formando complexos monocíticos-fagocítico. Esse

terceiro ciclo de vida é semelhante ao anteriormente descrito por Box (1981) para *I. serini* (Grulet et al., 1986a, b, c).

Na última década, Brawner e Hill (1999), Dolnik (1999), Hudman et al. (2000), McQuiston (2000) e Brown et al. (2001) confirmaram a presença de um ritmo circadiano, a qual tinha sido previamente sugerido por Grulet et al. (1986a, b, c). Misof, em 2004, também observou uma flutuação diária na eliminação de oocistos em *Turdus merula* Linnaeus, 1758, onde jovens e adultos eliminaram oocistos predominantemente no final tarde. López et al. (2007) afirmaram que qualquer estudo da prevalência de coccídio em passeriformes deve ser delineado levando em conta o ritmo circadiano destes parasitas (BERTO et al., 2011a).

Dolnik (1999), McQuiston (2000), Misof (2004) e Martinaud et al. (2009) propuseram duas hipóteses para explicar a dinâmica de eliminação de oocistos de *Isospora* em passeriformes. Primeiramente, o período de eliminação dos oocistos poderia corresponder a um pico na atividade alimentar do hospedeiro. Como muitos partilham o mesmo espaço de alimentação, é admitido que oocistos liberados na área de alimentação teria uma maior probabilidade de transmissão após a esporulação (BERTO et al., 2011a; COELHO et al., 2013).

A segunda hipótese baseia-se na resistência de oocistos aos fatores ambientais, tais como temperatura e umidade. É bem reconhecido que a desidratação pode reduzir a infecciosidade de oocistos. Assim, a eliminação dos oocistos no final da tarde, quando as temperaturas são mais baixas e os níveis de umidade são mais elevados, pode representar uma adaptação evitando a desidratação em condições naturais (DOLNIK, 1999; McQUISTION, 2000; MISOF, 2004; MARTINAUD et al., 2009). Essa hipótese foi recentemente testada usando oocistos de *Isospora turdi* Schwalbach, 1959, um parasito de *T. merula*. Observou-se ainda que a exposição das fezes a luz solar reduziu a capacidade infecciosa dos oocistos. Esses achados indicam fortemente que a eliminação dos oocistos no final da tarde é de fato uma adaptação de proteção contra os efeitos da desidratação e a radiação ultravioleta que resulta na mortalidade de oocistos no ambiente (MARTINAUD et al., 2009).

2.1.5. Espécies

As espécies do gênero *Isospora* são relatadas parasitando aves Passeriformes há mais de dois séculos, pela transmissão desses coccídios serem via feco-oral, a transmissão é

comum em aves simpátricas, então a transmissão entre aves não simpátricas seria improvável (BERTO et al., 2011a). Esse tipo de transmissão entre aves não simpátricas já foi relatado, porém na maioria dos casos houve transmissão promovida pelo comércio legal ou tráfego de Passeriformes silvestres e reintrodução por centros de triagem de animais silvestres (BERTO; LOPES, 2013c).

Até recentemente, a única espécie de *Isospora* encontrada infectando taminofilídeos foi *Isospora sagittulae* McQuiston e Capparella, 1992 (Figura 2) descrito por McQuiston e Capparella (1992) parasitando *Hylophylax naevioides* Lafresnaye, 1847, no Equador. Essa mesma espécie de *Isospora* também foi descrita infectando *Gymnophithys salvini* Berlepsch, 1901, que é restrito à área de endemismo denominado Inambari, distribuídos na Bolívia, Brasil e Peru e *Willisornis poecilinotus* Cabanis, 1847, que ocorre na Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Departamento ultramarino da Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname e Venezuela, demonstrando que haveria transmissão desse coccídio entre aves não simpátricas de mesma família, porém de gêneros diferentes que habitam lados opostos da cordilheira dos Andes e do rio Amazonas (BERTO et al., 2014b).

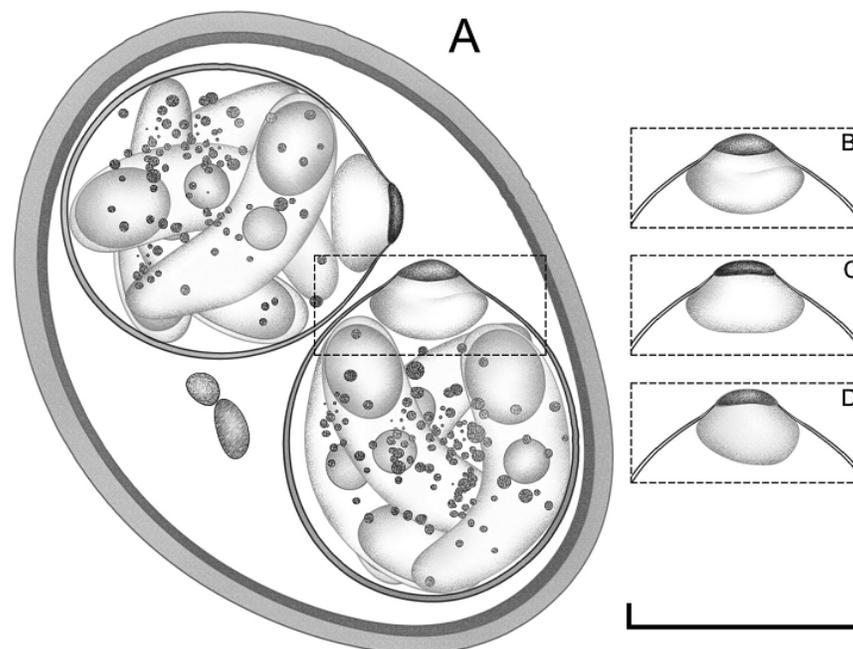


Figura 2. *Isospora sagittulae* McQuiston e Capparella, 1992. De acordo com Berto et al. (2014b).

Este estudo de Berto et al. (2014b), aponta os Andes como uma forte barreira geográfica para *W. poecilinotus*, e ambos, Andes e o rio Amazonas, como forte barreira geográfica para *G. salvini*. Essas são barreiras efetivas para a dispersão das aves de sub-bosque, da mesma maneira que também afetam a transmissão direta de patógenos entre espécies ou populações em lados opostos. Assim, estes dois novos hospedeiros (*G. salvini* e *W. poecilinotus*) para *I. sagittulae*, não são simpátricos com *H. naevioides*, relatado com primeiro hospedeiro deste coccídio. Segundo os mesmos autores a transmissão facilitada pela ação humana é improvável, porque esses taminofilídeos não são valorizados para o comércio legal ou tráfico. No entanto, uma hipótese plausível é que a transmissão tenha ocorrido por meio de outros taminofilídeos com distribuição *trans* e *cis*-andinas que são simpátricos com *H. naevioides*, *W. poecilinotus* e *G. salvini*. As espécies *Formicivora grisea* Boddaert, 1783 e *Cercomacra tyrannina* Sclater, 1855, podem ser exemplos de dispersores de *I. sagittulae* através dos Andes, devido às suas amplas distribuições *trans* e *cis*-andina. Estas espécies poderiam ter mantido e transmitido *I. sagittulae*. É importante ressaltar que esse estudo não indica que *F. grisea* e *C. tyrannina* são hospedeiros para *I. sagittulae*. Estas espécies são apenas exemplos de possíveis dispersores de *I. sagittulae* através dos Andes, devido à sua distribuições. De qualquer forma, o estudo de *I. sagittulae* em taminofilídeos na região *cis*-andina indica que essas ou outras espécies de taminofilídeos, ou algum outro mecanismo, tenha promovido a dispersão da infecção entre os dois lados dos Andes (BERTO et al., 2014b). Em adição, esse estudo é baseado no conceito de especificidade intrafamiliar, que permite que novos hospedeiros de gêneros diferentes, mas de mesma família possam albergar as mesmas espécies. Até agora, esse conceito de especificidade proposto por Duszynski e Wilber (1997) tem sido utilizado em vários estudos de novos hospedeiros entre Passeriformes (BERTO et al., 2010, 2011b; LOPES et al., 2013a, 2013b).

Recentemente, Silva et al. (2015) descreveram *Isospora parnaitatiaiensis* Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015 parasitando o papa-taoca-do-Sul no *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) no Parque Nacional do Itatiaia, RJ, a qual tornou-se a segunda espécie de *Isospora* em Thamnophilidae.

2.2. OS TAMINOFILÍDEOS

2.2.1. Classificação

Segundo os dados apresentados pelo Systema Naturae (2000), os taminofilídeos podem ter a seguinte classificação:

Reino: Animalia Linnaeus, 1758

Filo: Chordata Bateson, 1885

Classe: Aves Linnaeus, 1758

Ordem: Passeriformes Linnaeus, 1758

Subordem: Tyranni Wetmore e Miller, 1926

Parvordem: Thamnophilida Patterson, 1987

Família: Thamnophilidae Swainson, 1824

2.2.2. Sistemática

No princípio, no hemisfério norte alguns naturalistas compararam espécies de papafórmigas a outras espécies daquele hemisfério e encontraram semelhanças morfológicas entre elas. Um dos primeiros autores a sugerir novas divisões taxonômicas nesta família foi Swainson (1824), principalmente na família Laniidae Rafinesque, 1815. Os Laniidae eram representados por espécies de pássaros do mundo inteiro que tinham bicos largos e extremidade em forma de gancho. Swainson (1824) descreveu Laniinae Swainson, 1824 e Thamnophilinae Swainson, 1824 sendo subfamílias de Laniidae, diferenciando pela característica exclusiva da forma prolongada do bico forte e reto, inseriu ainda, três gêneros válidos atualmente em Thamnophilinae: *Formicivora* Swainson, 1824, *Thamnophilus* Vieillot, 1816, e *Drymophila* Swainson, 1824.

Os gêneros *Formicivora*, *Myrmeciza* Gray, 1841, e *Pithys* Vieillot, 1818 foram alocados por Gray (1841) para família Turdidae Rafinesque, 1815, dentro da subfamília Formicarinae Gray, 1841, já os gêneros *Thamnophilus* e *Cymbilaimus* Gray, 1840 integrando a família Laniidae, dentro da subfamília Thamnophilinae. Foi então quando o anatomista

alemão Müller (1847), estudando a siringe das aves do Novo Mundo, inclusive dos tamnofilídeos, encontrou diferenças morfológicas entre as aves, este estudo serviu de base para o trabalho publicado como o primeiro arranjo taxonômico interno dos Thamnophilidae por Cabanis e Heine (1859).

Sugeriu Burmeister (1856) uma nova alocação de espécies dos gêneros *Pithys*, *Pyriglena* Cabanis, 1847, *Myrmeciza*, *Drymophila*, *Formicivora*, *Dysithamnus* Cabanis, 1847, *Biastes* Burmeister, 1856, *Thamnomanes* Cabanis, 1847 e *Thamnophilus* dentro da família Eriodoridae Burmeister, 1856. Segundo Sclater (1858a, b, c), as aves neotropicais classificadas antes como Laniidae e Turdidae passaram a fazer parte da família Formicariidae Gray, 1840, que fora dividida nas subfamílias Thamnophilinae, Formicivorinae Sclater, 1858 e Formicariinae Sclater, 1858. Ainda de acordo como o mesmo autor, os Thamnophilinae abrangiam os gêneros *Cymbilaimus*, *Batara* Lesson, 1830, *Thamnophilus*, *Pygiptila* Sclater, 1858, *Dysithamnus*, *Thamnomanes*; os Formicivorinae abrangiam os gêneros *Herpsilochmus* Cabanis, 1847, *Myrmotherula* Sclater, 1858, *Formicivora*, *Cercomacra* Sclater, 1858, *Pyriglena*, *Myrmeciza* e *Hypocnemis* Cabanis, 1848; e os Formicariinae abrangiam os gêneros *Pithys*, *Gymnocichla* Sclater, 1858 e *Phlegopsis* Reichenbach, 1850. Cabanis e Heine (1859) repartiram os Formicariidae em duas famílias, Hypocnemididae Cabanis e Heine, 1859, incluindo os gêneros *Myrmornis* Hermann, 1783, *Myrmoborus* Cabanis e Heine, 1859, *Pyriglena*, *Percnostola* Cabanis e Heine, 1859 e *Myrmeciza*; e Eriodoridae, incluindo os gêneros *Terenura* Cabanis e Heine, 1859, *Formicivora*, *Batara*, *Thamnomanes*, *Herpsilochmus*, *Dysithamnus*, *Pygiptila*, *Thamnophilus*, *Hypoedaleus* Cabanis e Heine, 1859 e *Biatas* Cabanis, in Cabanis e Heine, 1859-1860[1860].

Contudo, nos trabalhos posteriores se manteve a proposta de Sclater (1858b) referente à utilização da família Formicariidae para esses gêneros deixando de lado a proposta de Cabanis e Heine (1859), porém diversos gêneros descritos por estes autores continuam válidos. Novamente Sclater (1890) propôs alterações das subfamílias de Formicariidae, um novo arranjo onde os atuais Thamnophilidae estariam limitados às subfamílias Thamnophilinae, Formicariinae e Grallariinae Sclater, 1890. Nesta classificação compreendia os “papa-formigas típicos” e os “papa-formigas de solo”, considerando a morfologia externa, principalmente características do bico e tarso-metatarso, tamanho geral, comprimento da cauda e presença ou ausência de penas ao redor dos olhos (Sclater, 1890). Ridgway (1911) considerou os papa-formigas típicos uma subfamília Thamnophilinae, e os papa-formigas de solo uma subfamília Formicariinae, dentro da família Formicariidae.

Durante o século XX, estudos morfológicos demonstraram que *Thamnophilidae* retrata uma linhagem bem definida, conclusão também corroborada por análises moleculares recentes (RICE, 2005; MOYLE *et al.*, 2009). Um marco na taxonomia desta família foi o trabalho de Cory e Hellmayr (1924), onde dobrou o número de gêneros válidos dos atuais *Thamnophilidae*, estes autores dividiram os *Formicariidae* nas subfamílias *Formicariinae* e *Myrmotherinae* Cory e Hellmayr, 1924, com exceção de *Myrmornis*, grande parte dos outros gêneros atuais de *Thamnophilidae* estava alocado em *Formicariinae*. O estudo da taxonomia das aves foi baseado principalmente em características morfológicas externas, e a proposta de Sclater (1858a) sobre o arranjo da família *Formicariidae* incluindo também os atuais *Thamnophilidae* se sustentou com poucas modificações, mas só até o início dos anos 50 (PETERS, 1951; SKUTCH, 1996). Os estudos sobre as diferenças anatômicas entre os grupos começaram a ser comprovados na década de 1960, onde Heimerdinger e Ames (1967) revelou diferenças no formato do esterno e, mais tarde Ames (1971), baseado em características da siringe (*Thamnophilidae* com um par de músculos siringianos e *Formicariidae* ausência de musculatura siringiana intrínseca), esses resultados sugeriram que *Formicariidae* pertencia a dois grupos estruturalmente diferentes.

Em 1990, Sibley e Ahlquist publicaram os primeiros resultados de hibridização de DNA para praticamente todas as famílias de aves confirmando as diferenças entre os grupos, tratando *Thamnophilidae* e *Formicariidae* como famílias separadas. Este resultado foi corroborado recentemente por sequenciamentos de DNA de genomas mitocondriais, demonstrando o polifeletismo de *Formicariidae* (RICE, 2005). Os mesmos autores reconheceram os *Thamnophilidae* como uma família distinta de *Formicariidae*, resultado bastante significativo para a região Neotropical. Grande parte dos *Thamnophilidae* é arborícola e se alimenta em diferentes estratos acima do solo, a começar do sub-bosque até a copa, poucos membros são predominantemente terrestres, diferente dos *Formicariidae*. Assim como os *Formicariidae*, os *thamnofilídeos* exibem intenso dimorfismo sexual, exceto as espécies seguidoras de formigas de correição, circunstância não manifestada em *Formicariidae* (RIDGELY; TUDOR, 1994).

O gênero *Myrmornis*, atualmente é suportado dentro de *Thamnophilidae* na subfamília *Myrmornithinae* Sundevall, 1872, junto com os gêneros *Euchrepomis* Bravo, Remsen, Whitney e Brumfield, 2012; *Thamnistes* Sclater e Salvin, 1860 e *Pygiptila*, grupo irmão da subfamília *Thamnophilinae*, baseado nas características osteológicas, anatômicas e moleculares (GALVÃO; GONZAGA, 2011; IRESTEDT *et al.*, 2004; MOYLE *et al.*, 2009;

BRAVO *et al.*, 2012), desse modo o termo “papa-formigas” passou a ser utilizado somente para se referir às espécies de Thamnophilidae. A classificação proposta foi respeitada por todos os trabalhos posteriores (RIDGELY; TUDOR, 1994; ZIMMER; ISLER, 2003,) e corroborado por outros estudos moleculares (IRESTEDT *et al.*, 2004, MOYLE *et al.*, 2009), proposta mantida até os dias atuais (RIDGELY; TUDOR, 2009; REMSEN *et al.*, 2013).

A taxonomia dos Thamnophilidae passou a ser estudada empregando diferentes caracteres e metodologias, utilizando vocalizações, morfologia externa, siringial e genética (ISLER *et al.*, 1998; GONZAGA, 2001; BATES *et al.*, 1999). No início do séc. XXI, a família passou a ter uma filogenia relativamente resolvida, com sequências de DNA de mais de cem espécies disponíveis na base de dados do GenBank. MOYLE *et al.* (2009) utilizando sequências de dois genes nucleares codificantes, determinaram duas subfamílias em Thamnophilidae, Thamnophilinae e Myrmornithinae. A subfamília Thamnophilinae dividida em cinco tribos Microrhopiini, Formicivorini, Thamnophilini, Pyriglenini e Pithyini. BRAVO *et al.* (2012) observaram que o gênero *Terenura* é polifilético, com a espécie tipo *Terenura maculata* Wied-Neuwied, 1831 pertencente à tribo Formicivorini, e as outras espécies a todos os outros Thamnophilidae. O gênero *Euchrepomis* e uma nova subfamília Euchrepomidinae Bravo, Remsen, Whitney e Brumfield, 2012 foi descrita para este clado.

A família Thamnophilidae em classificações tradicionais se mantém entre Passeriformes Suboscines Furnariida, formando um clado junto com Dendrocolaptidae, Formicariidae, Furnariidae, Conopophagidae e Rhinocryptidae (RIDGELY; TUDOR, 1994). Com o advento das técnicas de sequenciamento genético, ocorreu uma grande reclassificação taxonômica dentro da família. Segundo as resoluções mais recentes do Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO, 2014), a família se encontra dividida nas subfamílias Euchrepomidinae; Myrmornithinae e Thamnophilinae, e está inserida entre os Passeriformes Suboscines Tyranni Thamnophilida juntamente com as famílias Melanopareiidae Ericson, Olson, Irested, Alvarenga e Fjeldså, 2010 e Conopophagidae Sclater e Salvin, 1873, grupo irmão e basal em relação aos Furnariida, clado que abrange Grallariidae Sclater e Salvin, 1873; Rhinocryptidae Wetmore, 1926 (1837); Formicariidae; Scleruridae Swainson, 1827; Dendrocolaptidae Gray, 1840; Xenopidae Bonaparte, 1854 e Furnariidae Gray, 1840.

2.2.3. Adaptações ecológicas

Os pássaros da família *Thamnophilidae* são aves de pequeno porte, que se abrigam e capturam artrópodes em meio à vegetação densa (WIENS, 1989). A floresta que ocorre na costa Atlântica e na Amazônia são duas importantes regiões de distribuição desta família (ZIMMER; ISLER, 2003). Sendo assim, é uma das famílias mais importantes na composição da avifauna Neotropical, constituída por espécies basicamente insetívoras (SKUTCH, 1996). Não é raro ser a família mais representada em inventários avifaunísticos de florestas neotropicais mais próximas da linha do Equador (BIERREGAARD; STOUFFER, 1997), região considerada como centro de evolução da família (ZIMMER; ISLER, 2003). A grande maioria membros da família é arborícola, porém existem alguns terrícolas como no gênero *Myrmeciza*, que habitam praticamente todos os nichos que uma floresta pode oferecer a um pássaro insetívoro, desde o sub-bosque até as copas. Vale ressaltar que isto é possível em virtude da ampla biodiversidade das florestas brasileiras (ZIMMER; ISLER, 2003; SIGRIST, 2009).

Os taminofilídeos são insetívoros de bico proporcionalmente grande e forte. Sua maxila possui entalhe subterminal tomial, adaptação que ajuda a segurar e esmagar o exoesqueleto quitinoso de artrópodes. Normalmente, apresentam asas curtas e elípticas, adaptadas para movimentação nos ambientes de vegetação densa. Em sua maioria, possui pés e pernas fortes, relativamente grandes, muitos possuem modificações dos artelhos e solas dos pés facilitando a fixação em galhos (ZIMMER; ISLER, 2003). A forte musculatura coxal os auxilia locomoção, saltando e pulando. As espécies semiterrícolas possuem grande variação no desenvolvimento do tarso e dos dedos. As pernas podem ser altas e grossas, os dedos longos e fortes e as unhas grandes e afiadas (SICK, 1997). O tamanho da cauda e o formato variam bastante nesta família: *Myrmotherula brachyura* Hermann, 1783 possui a cauda curta, em contraste com a cauda longa das espécies de *Drymophila*, *Cercomacra*, *Pyriglena* e *Mackenziaena* Chubb, 1918. A plumagem dos taminofilídeos é bem macia, especialmente no dorso e flancos (ZIMMER; ISLER, 2003).

Diversos taminofilídeos têm áreas desprovidas de penas, principalmente envolta dos olhos, isto é observado entre os seguidores de formigas de correição, o gênero *Rhegmatorhina* Ridgway, 1888 apresentam essas “manchas” periorbitais evidentes Willis (1969) indagou que estes “olhos” funcionam como uma grande íris, espantando predadores ou competidores. Esta família apresenta um padrão de plumagem pouco colorido e modesto. Seus representantes

possuem um padrão em tons de preto, branco, vários tons de ferrugem, castanho ou amarelo. Existe dimorfismo sexual externo na maioria das espécies. Normalmente os machos possuem combinações de cinza, preto e branco, enquanto que as fêmeas tendem para castanho e ferrugem, porém nem todos os taminofilídeos possuem forte dimorfismo sexual externo (ZIMMER; ISLER, 2003). De acordo com Sigrist (2009), ao explorar determinados biótopos do sub-bosque, rico em poleiros verticais e pobres em poleiros horizontais, muitas espécies desenvolveram dedos com estrutura sindáctila, ou seja, o segundo e o terceiro dedo são unidos na base, tornando o conjunto mais reforçado, auxiliando as espécies a capturarem presas. Os principais gêneros da família são: *Thamnophilus*, *Dysithamnus*, *Thamnomanes*, *Myrmotherula*, *Formicivora*, *Drymophila*, *Terenura*, *Cercomacra* e *Pyriglena*.

A espécie *Dysithamnus mentalis* (Temminck, 1823) é principalmente insetívora (DURÃES; MARINI, 2005), habitante do sub-bosque e bordas de florestas, capoeiras e matas de galeria, a espécie apresentam forte dimorfismo sexual, observado nas diferenças da coloração da plumagem. Os mesmos possuem comportamento monogâmico, estima-se que o período reprodutivo seja entre o final de setembro e começo de abril. Semelhante ao relatado na literatura para espécies florestais, o início do período reprodutivo das espécies florestais é relacionado ao final do inverno ou início do período chuvoso, com intensa atividade em outubro (SICK, 1997). As espécies de *Pyriglena* obtêm grande parte de seu alimento capturando insetos espantados por correições (WILLIS; ONIKI 1992). *Pyriglena leucoptera* Vieillot, 1818 é comum em sub-bosque de florestas úmidas, florestas secundárias e bordas de floresta (RIDGELY; TUDOR 1994), distribuída no Brasil desde a Bahia até o Rio Grande do Sul, assim como ao leste do Paraguai e em Misiones, na Argentina (SICK, 1997).

2.2.4. Distribuição geográfica

A maioria das espécies de Aves são territoriais pelos menos durante uma etapa de seu ciclo anual (YAMAGISHI; UEDA, 1986), esta conduta está relacionado à defesa de recursos necessários para sua sobrevivência ou sucesso reprodutivo (DUCA et al., 2006). De acordo com Brown (1964) ao defender seu território, o defensor terá acesso a recursos de maior qualidade, entretanto as aves apenas defendem territórios se os benefícios da defesa equivalerem os custos-tempo, energia ou riscos de confrontos diretos (BROWN, 1969). A quantidade de recursos alimentares nos territórios pode ser demonstrada através da relação

entre tamanho dos territórios e a massa corporal das espécies, alguns estudos demonstram que o tamanho dos territórios é relacionado à massa corporal (DUCA et al., 2006). Yamagishi e Ueda (1986) observaram que os limites implícitos nos territórios são avaliados como fixos ao longo do tempo, porém estes limites territoriais evidenciaram variações, possivelmente devido ao período de procriação, sazonalidade e disponibilidade de recursos alimentares. Durante o ciclo anual de uma espécie os dados sobre o tamanho do território, área de vida, comportamento territorial e suas consequências para as populações são importantes para um melhor entendimento da biologia das espécies, além disso, fornecem informações importantes para execução de planos de conservação. Algumas evidências mostram que pequenos fragmentos florestais toleram somente parte do total de espécies originais do local, carecendo aquelas espécies mais afetadas pelas modificações do ambiente, pequenos fragmentos suportam aquelas mais comuns localmente, que se adaptam bem em habitats alterados, desse modo, a sobrevivência de várias espécies em fragmentos pode ser prejudicada, pois suas populações podem ser muito pequenas a ponto de serem extintas em longo prazo (GIMENES; ANJOS, 2003).

A família *Thamnophilidae* é uma categoria diversificada na América do Sul e é restrita a região Neotropical. A maioria dos tamnofilídeos está intimamente associada a capões ou a formações distintas de florestas (SICK, 1997), e são afetadas por fragmentação florestal e destruição da restinga, o que afeta sua abundância e ocorrência (WILLIS, 1979). Esta família é endêmica da região Neotropical, os representantes desta família estão distribuídos nas planícies e florestas de altitude mais baixas da região neotropical, podem ser encontrados do sul do México (19° N) ao norte da Argentina (27° S), a família *Thamnophilidae* está limitada à América Central e ao continente Sul-Americano e ilhas adjacentes, incluindo Trinidad e Tobago (SKUTCH, 1996), estão ausentes em parte da Argentina e no Chile estão integralmente ausentes (RIDGELY; TUDOR, 1994). Conforme se distancia ao norte e ao sul da linha do equador a riqueza de espécies desta família diminui (SKUTCH, 1996).

Segundo Zimmer e Isler (2003) grande parte habita as planícies de florestas úmidas, e alcança sua maior diversidade na bacia amazônica, porém essa diversidade diminui conforme o aumento da altitude nas regiões montanhosas, os tamnofilídeos possuem maior diversidade em florestas tropicais e matas de baixada, no entanto muitas espécies da Mata Atlântica, e dos Andes, podem ser encontrada acima dos 2.000 m de altitude. Algumas espécies habitam ambientes abertos, como savanas e campos, não são encontrados nas altas elevações e latitudes, como por exemplo, nos altos Andes ou na Patagônia (ZIMMER; ISLER, 2003).

Quase todas as espécies da América Central são também encontradas na América do Sul com a exceção de *Thamnophilus bridgesi* Sclater, 1856 e *Dysithamnus striaticeps* Lawrence, 1865, especialmente na região amazônica (SKUTCH, 1996).

2.2.5. Dispersão de coccídios em pássaros silvestres

Os parasitas relatados em Passeriformes do Novo Mundo são altamente relevantes, dado que a transmissão pode ocorrer entre aves simpátricas da mesma família (Duszynski; Wilber, 1997; Berto et al., 2011a). Alguns parasitos foram descritos a partir de Passeriformes que habitam áreas geograficamente isoladas e, assim, permanecem isolados; no entanto, alguns fatores, como o comércio legal ou tráfico de pássaros silvestres (biopirataria) e reintrodução pelos centros de triagem de animais silvestres pode levar à dispersão de parasitos (BERTO; LOPES, 2013c).

No Brasil, os pássaros nativos são protegidos por lei e supervisionados pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), no entanto, o tráfico ilegal de animais é muito intenso, sendo as aves silvestres pertencentes às ordens Passeriformes e Psittaciformes as mais apreendidas pelas fiscalizações ambientais. Apenas no ano de 2013 o Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA (CETAS) recebeu 61.990 animais oriundos das ações de fiscalização, resgate ou entrega voluntária de particulares. Os CETAS tem por objetivo, receber, identificar, marcar, triar, avaliar, recuperar, reabilitar e destinar esses animais silvestres, além disso, realizar e subsidiar pesquisas científicas, ensino e extensão (IBAMA, 2015).

O comércio ilegal de animais levou à redução e extinção de algumas espécies de aves em todo o mundo. Além disso, outra consequência é a introdução de novos parasitas, como ocorreu com *Isospora vanriperorum* Levine, 1982, descrita pela primeira vez em cardeais-da-Virgínia *Cardinalis cardinalis* Linnaeus, 1758, porém devido à sua introdução na América do Sul para reprodução em cativeiro, *I. vanriperorum* foi posteriormente relatado em trinca-ferros-verdadeiros *Saltator similis* d'Orbigny e Lafresnaye, 1837 (BERTO; LOPES, 2013c).

Além do comércio ilegal de aves, a facilidade de transmissão de *Isospora* spp. entre as aves da mesma família e o grande número de pássaros no Novo Mundo podem garantir uma ampla dispersão destes parasitas na América do Norte, do Sul e Central (BERTO et al., 2011b).

2.2.6. A coccidiose em pássaros

As patologias de aves geralmente estão relacionadas com a nutrição, tipo de alojamento e estresse sofrido por estes animais, por isso, alguns cuidados e medidas são necessários para minimizar o estresse e manter os mecanismos de defesa do animal (HUEZA, 2008). Entre as patologias mais relevantes ocasionadas em pássaros mantidos em cativeiro estão: distúrbios nutricionais, doenças virais, bacterianas, micóticas e parasitárias (GODOY; MATUSHIMA, 2010). No entanto, a coccidiose é considerada uma grande causadora de enterite e morte em todas as espécies de aves, esta doença é causada por protozoários da família Eimeriidae, incluindo *Isospora* e *Eimeria*. (FREITAS et al. 2003, SCHRENZEL et al. 2005, SAKS et al. 2006).. Este tipo de patologia acomete com mais frequência pássaros mantidos em cativeiro, porém, poucas são as publicações que relatam procedimentos de manejo, nutrição e principalmente o uso de medicamentos em pássaros silvestres (HUEZA 2008). Sabe-se, no entanto, que grande parte das mortes registradas em aves brasileiras vindas do tráfico de animais silvestres são causadas por doenças infecciosas, entre elas a coccidiose (GODOY; MATUSHIMA, 2010).

Os relatos de surtos da coccidiose, entre os animais mantidos em cativeiro estão associados com a superlotação, confinamento e estresse (GODOY, 2007). A relação entre a carga parasitária e a saúde individual influenciam no sucesso da infecção, os coccídios induzem um consumo maior de energia, disfunção de órgãos internos, reações imunes e doença clínica, mas a infecção subclínica é muito comum, estando associada à superlotação e ao estresse, causando desidratação em animais jovens que apresentam diarreia mucóide ou com sangue, pode também ocasionar destruição da mucosa intestinal, ocorrendo má absorção e anemia, isto em relatos mais intensos (CLEYDE; PATTON, 1996; ZINKE et al., 2004). Os sinais clínicos observados por Balthazar et al. (2013) em um papagaio-verdadeiro *Amazona aestiva* Linnaeus, 1758 foram representativos da coccidiose, caracterizado por apatia, penas eriçadas, diarreia esverdeada com detritos fecais aderida à cloaca e torção das penas, e associado com um grande número de oocistos nas amostras fecais, semelhante ao descrito por Godoy (2007). A avaliação da intensidade de infecção por coccídios é fundamental para estudos sobre o impacto de parasitismo nas populações naturais (DOLNIK, 2006). A relação parasito-hospedeiro tem sido o foco de investigação nos últimos anos, estes parasitos intestinais estão intimamente associados com a ecologia de aves (LÓPEZ et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

O levantamento bibliográfico consistiu em um compilamento de dados e informações realizado ao longo de todo o período de desenvolvimento da pesquisa que originou esta dissertação. Os artigos foram selecionados e analisados através da base de dados "Google Scholar", "PubMed", "SciELO" e "Periódicos Capes".

3.2. LOCALIDADE DE ESTUDO

O local selecionado para este estudo foi o Parque Nacional do Itatiaia (PNI) (22° 15' e 22°30'S; 44°30' e 44°45'O), que está situada nas divisas dos Estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo, próximo à Rodovia Presidente Dutra, abrange os municípios de Itatiaia e Resende no Estado do Rio de Janeiro e Bocaina de Minas e Itamonte no Estado de Minas Gerais. Apresenta um relevo caracterizado por montanhas e elevações rochosas, com altitude variando de 600 a 2.791 m, no seu ponto culminante, o Pico das Agulhas Negras. O PNI é uma Unidade de Conservação (UC) de proteção integral e faz parte do Mosaico de Unidades de Conservação da Serra da Mantiqueira, abriga uma grande biodiversidade de passeriformes que representam uma amostragem das aves brasileiras observadas na Mata Atlântica (ICMBIO, 2015). O Parque Nacional de Itatiaia é uma região restrita, ainda preservada, com grande biodiversidade de fauna e flora e ampla diversidade de hospedeiros susceptíveis.

3.3. PONTOS DE COLETA E CAPTURA DAS AVES

Os pontos de coleta selecionados localizaram-se no Município de Itatiaia, estado do Rio de Janeiro no Parque Nacional do Itatiaia. As localidades foram caracterizadas por Mata Atlântica na parte baixa do Parque Nacional de Itatiaia. Dos sete pontos de coletas, dois localizaram-se no entorno do PNI os quais são áreas de transição com pastagens que devem

sofrer efeitos de borda. Os outros cinco pontos de coleta situaram-se em áreas mais preservadas no PNI (Figura 3).

As expedições para captura de aves e coleta de amostras fecais foram realizadas nos meses de agosto (22° 26' 19" S, 44° 37' 23" O), novembro (22° 26' 57" S, 44° 36' 25" O) e dezembro (22° 27' 20" S, 44° 36' 28" O) de 2014 e março (22° 27' 38" S, 44° 35' 34" O), abril (22° 27' 52" S, 44° 36' 26" O), maio (22° 26' 17" S, 44° 37' 33" O) e julho (22° 27' 4" S, 44° 36' 51" O) de 2015, totalizando sete coletas (Figura 3). Nos locais de captura, foram utilizadas redes de neblina com tamanho total de 9m por 3m, dimensões de malha de 20mm e 40mm e fixadas em hastes de alumínio do tipo encaixe, objetivando a captura de aves de diversos portes. A frequência de verificação das redes de neblina foi aproximadamente 20 minutos, conduzindo-se em sequência com a retirada manual da ave, minimizando estresse (NASCIMENTO et al., 1994). As aves foram inicialmente mantidas em sacos de pano (Figura 4), em seguida, foram identificadas de acordo com o Guia de Campo de Sigrist (2014), pesadas e medidas em seu comprimento total. Logo após a identificação, as aves foram transferidas para caixas de papelão que são tradicionalmente utilizadas para o comércio de aves de pequeno e médio porte (Figura 4). Estas caixas foram de diferentes dimensões para acondicionar aves de diversos portes e previamente forradas com papel absorvente objetivando-se obter as defecações isoladas para a metodologia de OoPD. Após a obtenção das amostras fecais, as aves foram, em seguida, libertadas no próprio ambiente onde foram capturadas. Em média, o tempo de acondicionamento para a defecação variou entre 30min até 60min.

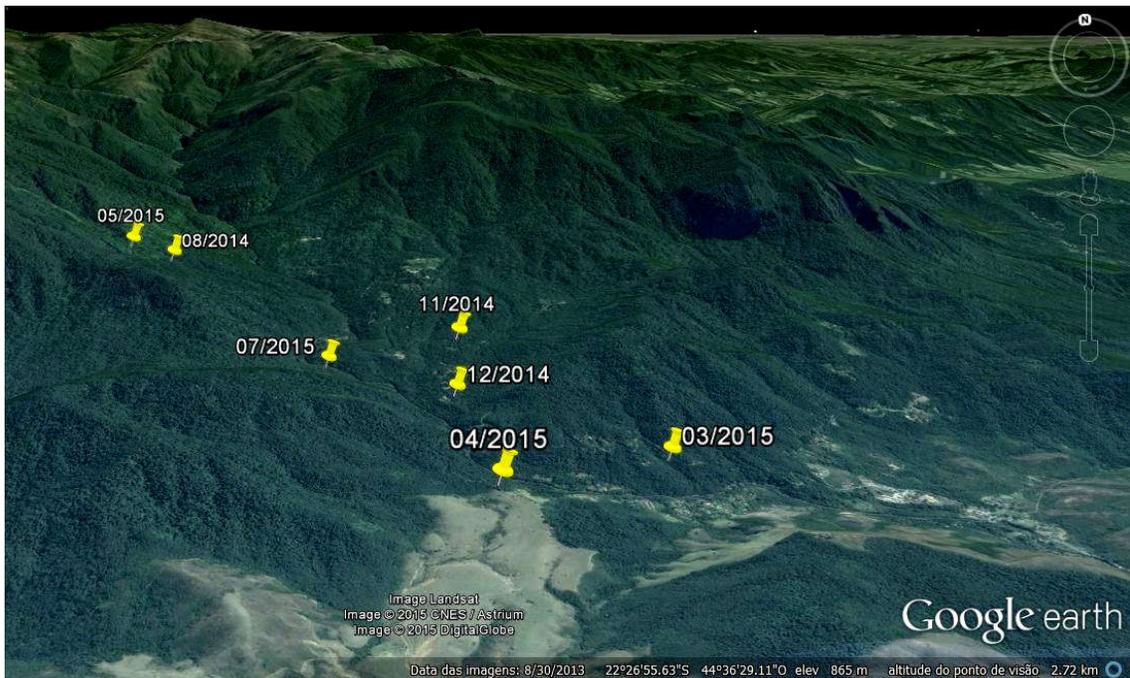


Figura 3. Pontos de coleta designados por datas (mês/ano) no Parque Nacional do Itatiaia. Imagem elaborada e extraída do software Google Earth.



Figura 4. Espécime de *Pyriglena leucoptera* (macho) capturado (A); Saco de contenção (B); e Caixa de papelão forrada para coleta de amostras fecais (C).

Toda metodologia está autorizada pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA) sob autorização de nº 45200-1 e comissão de ética UFRRJ/IV/CEUA nº 036/2014 (ANEXOS A e B).

3.4. COLETA E PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras fecais obtidas foram transportadas em tubos cônicos de centrífuga com capacidade de 15ml, contendo uma defecação inteira diluída em solução aquosa de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5%, possibilitando a manutenção dos oocistos. As mesmas foram transportadas do Parque Nacional do Itatiaia para o Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

No laboratório, as amostras foram mantidas nos tubos cônicos de centrífuga e solução de $K_2Cr_2O_7$ em temperatura ambiente. Para garantir a esporulação dos oocistos, os tubos foram abertos e homogeneizados assegurando constante presença de oxigênio atmosférico por um período de uma semana.

Após a esporulação dos oocistos, utilizou-se a técnica modificada de flutuação com solução saturada de sacarose à 1,2 g/ml via centrifugação (10min/2.000 rpm) descrita por Sheather (1923) e modificada por Duszynski e Wilber (1997), onde os oocistos foram separados das fezes e do $K_2Cr_2O_7$. A solução foi suspensa em água destilada, homogeneizada e centrifugada durante 10 minutos, possibilitando a retirada do excesso de $K_2Cr_2O_7$. Após esse procedimento, o sedimento foi novamente suspenso, homogeneizado e centrifugado em solução saturada de açúcar por mais 10 minutos. Em seguida, o conteúdo do tubo foi elevado com solução saturada de sacarose até o limite da abertura do tubo formando um menisco convergente, onde foi depositada uma lamínula de 24 x 24 mm durante 15 minutos, depois deste período, a lamínula foi retirada e colocada cuidadosamente na superfície de uma lâmina de vidro para visualização ao microscópio. Os simbiotipos foram arquivados no repositório do LCC na UFRRJ.

3.5. ESTUDO DOS OOCISTOS

3.5.1 Visualização e fotomicrografia dos oocistos

A visualização e as fotomicrografias foram realizadas utilizando microscópio triocular Zeiss Primo Star ou microscópio binocular Olympus BX binocular acoplado a câmera digital Eurocam 5.0, em objetiva de 100X com de óleo de imersão.

3.5.2. Quantificação dos oocistos

A quantificação foi realizada com base na metodologia de Dolnik (2006) e Dolnik et al. (2010), onde a contagem dos oocistos é feita a partir de uma defecação inteira. A lamínula foi observada criteriosamente para quantificação. Este método promove a intensidade de infecção por meio da quantificação de oocistos por defecação (OoPD). Este método facilita a investigação em campo e, principalmente, com pássaros que defecam quantidades muito pequenas de fezes insuficientes para alcançar 1g. Ainda de acordo com estes mesmos autores, além de López et al. (2007), Morin-Adeline et al. (2011) e Pap et al. (2011), as amostras consideradas para os estudos de prevalência foram apenas aquelas coletadas no período da tarde (entre 13h e 18h), sendo as demais apenas utilizadas para estudos comparativos. Isto deve-se ao fato dos coccídios de pássaros possuírem ritmo circadiano de eliminação de oocistos, tendendo a eliminar maior quantidade de oocistos nas últimas horas do dia.

3.5.3. Identificação das espécies

Para identificação dos oocistos recuperados utilizou-se como base as diretrizes e estudos morfológicos e morfométricos destacados por Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2014a) que auxiliam na classificação dos oocistos esporulados de coccídios. Assim, em cada oocisto esporulado procurou-se observar e mensurar, em μm , as seguintes estruturas morfológicas: diâmetros maior (DM) e menor (dm) do oocisto; diâmetros maior (EM) e menor (em) do esporocisto; altura e largura dos corpos de Stieda (CS), substieda (CSS) e parastieda (CPS); índices morfométricos (diâmetro maior/ diâmetro menor) do oocisto (IM) e do esporocisto (IME); espessura da parede do oocisto (PO); presença e ausência de micrópila (M), grânulo polar (GP), resíduo do oocisto (RO), resíduo do esporocisto (RE) e corpos refrateis (CR) e núcleo (N) nos esporozoítos (Figura 1).

3.5.4. Identificação de novos hospedeiros

Após a identificação de uma espécie de coccídio, caso esta não tenha sido previamente descrita neste hospedeiro, este se torna um novo hospedeiro. Entretanto, este novo hospedeiro

deve pertencer à mesma família do hospedeiro cujo coccídio foi descrito originalmente, senão, este parasitismo não é família-específico conforme Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2011a).

3.5.5. Desenho dos oocistos

Os oocistos das identificados em nível de espécie foram esquematizados e editados digitalmente através dos programas de editoração gráfica Corel Draw e Corel Photo-paint (Corel Corporation®).

3.6. AVALIAÇÃO ESTATÍSTICA

3.6.1. Histograma

Os histogramas foram preparados para representar graficamente os valores observados dos DM, dm e IM com suas respectivas frequências, de acordo com Berto et al. (2014a), assim 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. Com isso, distribuíram-se as frequências nas classes de valores de DM, dm e IM, sendo preparado um gráfico, onde a reta Y representou as frequências, enquanto que a reta X representou os intervalos de classes de medidas de oocistos (SAMPAIO, 2002).

3.6.2. Análise de variância (ANOVA)

Para comparação entre as medidas dos diâmetros maiores e menores e índices morfométricos dos oocistos e esporocistos recuperados de diferentes amostras de taminofilídeos originados do Parque Nacional do Itatiaia utilizou-se o pacote estatístico

Bioestat na versão 5.0, com nível de significância de $p < 0,05$, para calcular as médias, variâncias, graus de liberdade e valor de “p”.

3.6.3. Regressão linear

A análise de regressão linear simples objetivou em avaliar as medidas dos dm sobre os DM de oocistos esporulados pertencentes a uma única espécie. Nos casos em que hospedeiros de espécies diferentes eliminaram oocistos de mesma espécie, as regressões foram realizadas de maneira individual para cada hospedeiro, entretanto os gráficos foram sobrepostos para melhor visualização. O método e as interpretações corroboram e concordam com Norton e Joyner (1981), Sampaio (2002) e Berto et al. (2014a) onde as medidas de dm foram organizadas na reta Y e as medidas de DM 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 2010®.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ANÁLISE DAS AMOSTRAS EXAMINADAS

No total foram capturados e identificados 184 espécimes de aves no PNI, dos quais apenas 26 (14%) pertenciam à família *Thamnophilidae*. Após a coleta e processamento das 65 amostras fecais (média de três amostras fecais por pássaro), pôde-se observar coccídios do gênero *Isospora* e *Eimeria* em algumas destas. As aves capturadas encontravam-se aparentemente saudáveis, inclusive aquelas parasitadas por coccídios. A prevalência total, e por hospedeiro, podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1. Prevalência de coccídios em *Thamnophilidae* em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.

Espécies	N	Positivos
<i>Pyriglena leucoptera</i> Vieillot, 1818	10	8
<i>Dysithamnus mentalis</i> Temminck, 1823	7	2
<i>Rhopias gularis</i> Spix, 1825	6	0
<i>Myrmoderus loricatus</i> Lichtenstein, 1823	1	0
<i>Drymophia ferruginea</i> Temminck, 1822	2	0
Total:	26	10

4.2. IDENTIFICAÇÃO DOS OOCISTOS

Os oocistos recuperados das amostras fecais dos taminofilídeos não se encontravam esporulados, no entanto, aos sete dias a esporulação ocorreu em quase 70% dos oocistos nas amostras.

Foram observados, oocistos de *Eimeria* e *Isospora*. As identificações e suas respectivas intensidades de infecções são apresentadas tabela 2.

Tabela 2. Identificação e intensidade de infecção (OoPD) de coccídios parasitos de Thamnophilidae em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.

Amostras dos hospedeiros ^a	Data da coleta	Identificação e OoPD específicos ^b			OoPD total ^c	
		<i>Isospora parnaitatiaiensis</i>	<i>Isospora</i> sp.	<i>Eimeria</i> sp.		
<i>Pl</i>	I	A	20	10	0	30
		B	41	17	0	58
	II	A	0	0	7	0
		B	0	2	0	2
	III	A	0	0	0	0
		B	0	0	0	0
		C	0	0	0	0
	IV	A	0	0	0	0
		B	0	25	0	25
		C	0	0	0	0
	V	A	147	589	0	736
		B	3	11	0	14
		C	4	14	0	18
	VI	A	10	0	0	10
	VII	A	0	116	0	116
		B	0	184	0	184
	VIII	A	0	5	0	5
		B	0	1	0	1
Positivos^d:		3	6	1	8	
<i>Dm</i>	I	A	42	0	0	42
		B	48	0	0	48
	II	A	1	0	0	1
		B	1	0	0	1
Positivos^d:		2	0	0	2	
Total de oocistos^e:		316	913	7		
Total de positivos^f:		5	6	1		

^aOrdem cronológica a qual as amostras foram coletadas por hospedeiro, *Pyriglena leucoptera* (*Pl*) e *Dysithamnus mentalis* (*Dm*). Algarismos romanos representam o espécime hospedeiro e as letras suas respectivas amostras.

^bQuantidade de oocistos por espécie em uma única defecação.

^cQuantidade de oocistos total em uma única defecação.

^dTotal de hospedeiros positivos para a espécie de coccídio (parcial, por espécie hospedeira).

^eTotal de oocistos observados por espécie de coccídio.

^fTotal de hospedeiros positivos para a espécie de coccídio.

Dois padrões morfológicos nos oocistos identificados como pertencentes ao gênero *Isospora* foram observados. O primeiro padrão foi identificado como *I. parnaitatiaiensis*. O segundo padrão não pôde ser identificado e/ou descrito especificamente, apesar da morfologia deste segundo padrão ter sido constante em todas as amostras as quais foram identificadas com *Isospora* sp., por este mesmo motivo, optou pela nomenclatura de *Isospora* sp., e não *Isospora* spp.

As espécies de *P. leucoptera* eliminaram oocistos de *Isospora* e/ou *Eimeria*. Estas foram identificadas como: *I. parnaitatiaiensis*, *Isospora* sp. e *Eimeria* sp. Por duas vezes,

coccídios isosporóides de duas espécies distintas foram identificados parasitando *P. leucoptera*. Já as espécies de *D mentalis* eliminaram oocistos apenas do gênero *Isohora*, este foi identificado como *I. parnaitatiaiensis*. A distribuição destas espécies por amostra de fezes de taminofilídeos pode ser observada na tabela 2.

4.2.1. *Isohora parnaitatiaiensis* Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015

Esta espécie foi descrita, originalmente, parasitando o papa-taoca-do-Sul no *P. leucoptera*. No estudo atual, além de *P. leucoptera*, um novo hospedeiro foi identificado, uma vez que oocistos morfologicamente similares foram recuperados das amostras de fezes do *D. mentalis*.

4.2.1.1. Morfologia do oocisto, esporocisto e esporozoíto

As formas exógenas (Figuras 5 e 6) de *I. parnaitatiaiensis* foram caracterizadas morfologicamente da seguinte forma: oocistos sub-esféricos a elipsoides. PO dupla e lisa, medindo aproximadamente 1.0-1.2 (1.1) μm . M e RO ausentes, GP presente variando em número de 1 a 2. Esporocistos elipsóides. CS em forma de mamilo ou botão. CSS arredondado a retangular. CPS ausente. RE presente, geralmente como uma massa ovóide a elipsóide contendo inúmeros pequenos grânulos que parecem ser delimitados por uma membrana, medindo aproximadamente $5-6 \times 4-5$ ($5,5 \times 4,5$) μm . Esporozoítos vermiformes, com CR anterior e posterior e um N centralmente localizado. A morfometria dos oocistos de *Isohora* spp. descritas em Thamnophilidae e dos oocistos de *I. parnaitatiaiensis* recuperados de *P. leucoptera* e *D. mentalis*, neste estudo, pode ser visualizada na tabela 3.

Tabela 3. Comparação morfológica de espécies do gênero *Isoospora* descritas em Thamnophilidae no Parque Nacional do Itatiaia, RJ.

Coccídios	Hospedeiros	Referencias	Oocisto			Esporcisto						
			Forma	Diâmetros (µm)	Índice morfométrico	Grânulo polar	Forma	Diâmetros (µm)	Índice morfométrico	Corpo de Stieda	Corpo de subStieda	Resíduo
<i>Isoospora sagitule</i> McQuistion & Capparella, 1992	<i>Hylophylax naevioides</i> Lafresnaye, 1847	McQuistion & Capparella (1992)	Ovoide a elipsoide	25-30×21-24 (27,5×21,8)	1,27 (1,3-1,4)	Presente 1-3	Sub-esférico a ovoide	13-16×12-13 (14,8×12,4)	1,19 (1,1-1,3)	Presente, fino e denso	Presente triangular	Difuso
	<i>Gymnopithys salvini</i> Berlepsch, 1901; <i>Willisornis poecilnotus</i> Cabanis, 1847	Berto et al. (2014b)	Ovoide a elipsoide	27-31×20-24 (28,4×22,4)	1,27 (1,1-1,4)	Presente 1-3	Sub-esférico a ovoide	13-17×12-14 (15,0×12,6)	1,2 (1,1-1,3)	Fino e achatado, 0,5 × 2,0	Triangular a arredondado, 2,5 × 5,0	Difuso
<i>Isoospora parnaitatiaiensis</i> Silva, Rodrigues, Lopes, Berto, Luz, Ferreira, Lopes, 2015	<i>Pyriglena leucoptera</i> Vieillot, 1818	Silva et al. (2015)	Elipsoide	22-27×18-21 (23,8×19,4)	1,23 (1,1-1,5)	Presente 1-2	Elipsoide	13-16×8-10 (14,6×9,3)	1,6 (1,5-1,7)	Mamiliforme a forma de botão, 1,0×2,0	Arredondado a retangular 1,5×2,0	Compacto
	<i>P. leucoptera</i>	Corrente estudo	Sub-esférico a elipsoide	22-27×18-21 (24,0×19,3)	1,25 (1,08-1,45)	Presente 1-2	Elipsoide	13-16×8-10 (14,6×9,3)	1,58 (1,48-1,71)	Mamiliforme a forma de botão, 1,0×2,0	Arredondado a retangular 1,5×2,0	Compacto
	<i>Dysithamnus mentalis</i> Temminck, 1823		Sub-esférico a elipsoide	23-28×21-24 (25,7×22,8)	1,12 (1,02-1,21)	Presente 1-2	Elipsoide	15-17×8-10 (15,8×9,6)	1,65 (1,49-1,82)	Mamiliforme a forma de botão, 1,0×2,0	Arredondado a retangular 1,5×2,0	Compacto

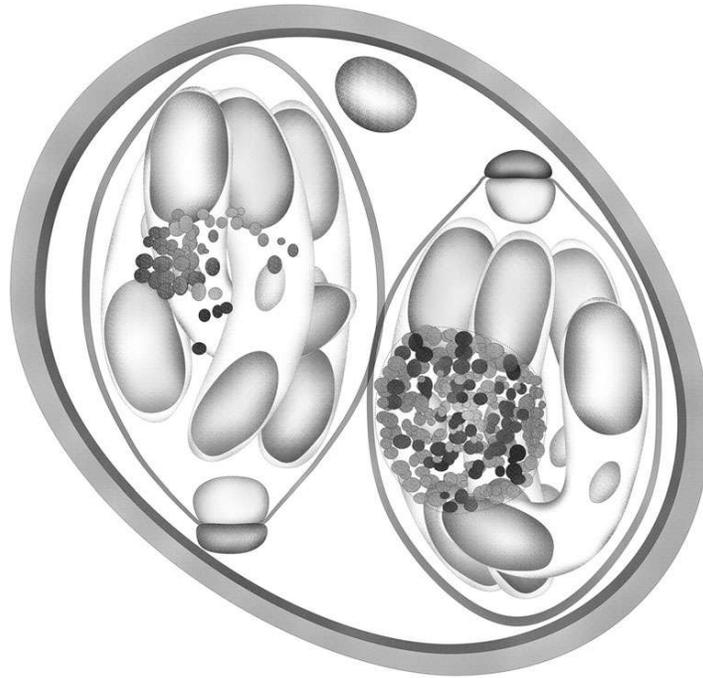


Figura 5. Desenho do oocisto esporulado de *Isospora parnaitatiensis* recuperado de *Pyriglena leucoptera*. Escala = 10 μm

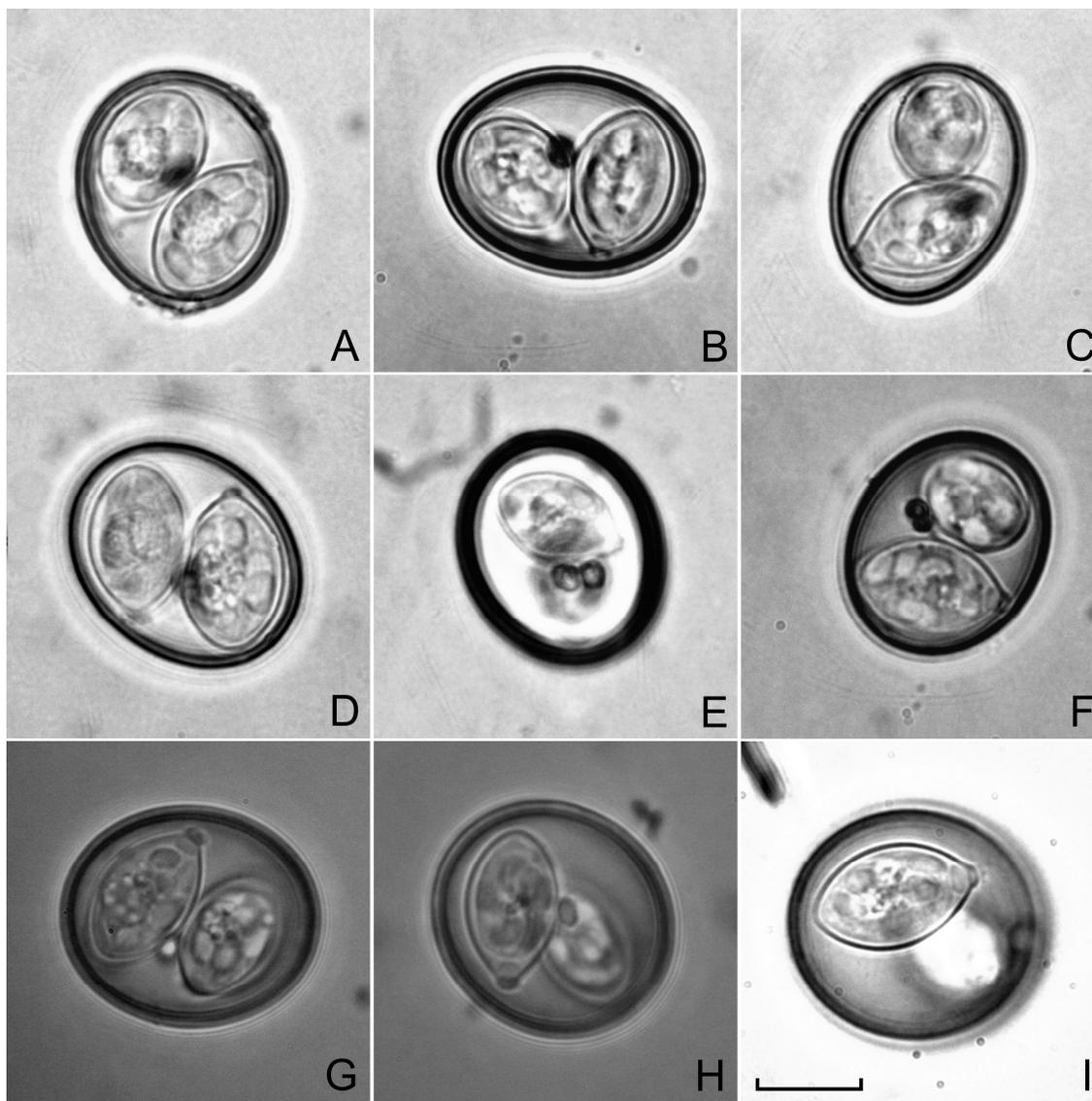


Figura 6. Fotomicrografias de oocistos esporulados de *Isospora parnaitataiensis* recuperados de *Pyriglena leucoptera* (A-F) e *Dysithamnus mentalis* (G-I). Escala = 10 μ m.

Na a figura 6, observa-se que os oocistos obtidos de *P. leucoptera* e *D. mentalis* apresentam as mesmas características morfológicas, as quais coincidem com a descrição morfológica de *I. parnaitataiensis*. Além desta, a única espécie descrita em Thamnophilidae é *I. sagittulae*, que foi descrita originalmente em *H. naevioides* no Equador e, recentemente, relatada nos papa-formigas amazônicos *G. salvini* e *W. poecilinotus* (McQuiston e Capparella 1992; Berto et al. 2014b). *Isospora sagittulae* (Tabela 3) difere-se de *I. parnaitataiensis* tendo oocistos maiores com esporocisto subsférico a ovoide e corpo de Stieda fino e achatado. Portanto, esta espécie é facilmente distinguida de *I. parnaitataiensis*.

4.2.1.2. Polimorfismo

Os resultados morfológicos revelam que os oocistos de *I. parnaitatiaiensis* são visivelmente polimórficos nas características do esporocisto, corpo de Stieda e substieda (Tabela 4). Em nenhum desses casos pôde-se observar um determinado padrão em uma amostra e/ou hospedeiro, uma vez que estes padrões foram observados na mesma amostra e, algumas vezes, no mesmo oocisto. Este polimorfismo expõe a importância e a complexidade da identificação de espécies de coccídios.

Tabela 4. Polimorfismo dos oocistos de *I. parnaitatiaiensis* recuperados de *P. leucoptera* e *D. mentalis*.

Estrutura	Forma	Percentual	Figuras
Esporocistos	Mais alongados	40%	6C e 6I
Esporocistos	Menos alongados	60%	6B e 6G
Corpo de Stieda	Mamiliforme	50%	6A e 6C
Corpo de Stieda	Forma de Botão	50%	6B e 6G
Corpo de subStieda	Arredondado	85%	6A e 6I
Corpo de subStieda	Retangular	15%	6B e 6G

Atualmente, a identificação de coccídios de Passeriformes está baseada em diferentes critérios por diferentes autores. Por exemplo, antes de 1982, mais de 100 espécies de Passeriformes foram relatadas como hospedeiros de *I. lacazei*. Portanto, com base nas descrições disponíveis e na improbabilidade de que uma única espécie pudesse parasitar tantos hospedeiros, Levine (1982b) sugeriu os nomes *I. passeris*, para parasitas de *P. domesticus* e *I. lacazei* para parasitas de *C. carduelis*. No entanto, Al-Quraishy e Al-Nasr (2009) discutiram se todo coccídio de Passeriformes que eram chamados de *I. lacazei* seriam da mesma espécie. Eles concluíram que a dieta influencia no tamanho do oocisto em diferentes Passeriformes e que pelo menos as espécies descritas de *P. domesticus* deveriam ser sinímias de *I. lacazei*. Mais recentemente, Dolnik et al. (2009) utilizaram uma técnica para isolar um único oocisto e extrair DNA para PCR e sequenciamento e encontraram seis haplotipos diferentes de *Isospora* de aves silvestres. Eles descobriram o mesmo haplótipo em hospedeiros diferentes e várias combinações de haplotipos no mesmo indivíduo hospedeiro. Quando eles descobriram oocistos de quatro haplotipos diferentes nas fezes de um único pássaro, eles concluíram que infecções mistas com diferentes haplotipos sejam bastante

comuns em aves silvestres. Finalmente, Duszynski e Wilber (1997) sugerem que uma nova espécie de coccídio deve ser comparado pela morfologia e morfometria dos oocistos em detalhe com espécies de coccídios que são característica-similar e pertençam à mesma família do hospedeiro. Neste sentido, eles sugerem o conceito de especificidade em nível de Família do hospedeiro, a qual foi reafirmada por Berto et al. (2011a).

Al-Quraishi e Al-Nasr (2009) afirmam que devem haver sinónimas em algumas espécies de coccídios de Passeriformes, especialmente naquelas descritas no mesmo hospedeiro em diferentes momentos e condições e sem descrição detalhada. Em contraste, a ideia de que centenas de *Isospora* spp. (diferenciáveis morfologicamente) pertencem a uma única espécie é inconsistente e pode ser um retrocesso no conhecimento dos coccídios de Passeriformes.

Em outro extremo, o conceito de que ligeiras variações genótípicas são suficientes para diferenciar espécies trazem confusão e uma amplificação exponencial do número de espécies existentes. Por exemplo, Hafeez et al. (2014) descreveram duas novas espécies de estorninhos *Lamprotornis superbus* Rüppell, 1845. Em seu trabalho, eles observaram os mesmos estágios extra-intestinais e a mesma morfologia de oocistos. No entanto, eles obtiveram duas sequências distintas dos genes da subunidade I da citocromo oxidase (COI) mitocondrial (1,7% de divergência) e duas sequências distintas da subunidade ribossomal 18S (DNAr) (0,6% de divergência), as quais foram utilizadas como base para a nomeação de duas novas espécies. Estas interpretações não são coerentes com estudos de outros protozoários, como *Toxoplasma gondii* Dubey & Beattie, 1988 e *Paramecium* spp. *Toxoplasma gondii* tem uma divergência genética de 2-3% nos genótipos norte-americanos e europeus, com exceção daqueles da América do Sul, que têm muito mais diversidade genética devido à população mais antiga e hibridizada (KHAN et al., 2014). Em um estudo sobre a diversidade genética de *Paramecium* spp., utilizando o gene COI, uma variação intra-específica de 11% foi obtida, ou seja, espécimes com até 11% de divergência genética foram consideradas como as mesmas espécies (ZHAO et al., 2013). Nesse sentido, entendemos que as pequenas variações genótípicas devem ter favorecido o polimorfismo observado nos oocistos deste trabalho, embora estas alterações morfológicas tenham sido observadas em esporocistos de um único oocisto. De qualquer forma, se as variações genéticas existem, elas não devem ser suficientes para descrever outras espécies, mas genótipos dentro de uma única espécie. Além disso, Grulet et al. (1982) e Berto et al. (2014a) sugerem que pequenas variações em corpo de Stieda e sub-Stieda pode ser um resultado do processo de esporulação, a posição do esporozoíto

dentro do esporocisto, ou a posição de seus oocistos e esporocistos sob a lamínula, no momento da observação.

Por esta razão, neste trabalho optou-se por comparar a morfologia dos oocistos recuperados com os oocistos de coccídios descritos de hospedeiros de mesma família (DUSZYNSKI; WILBER, 1997).

4.2.1.3. Frequência em classes de dimensões dos oocistos

Analisando a figura 7, que se refere aos histogramas das mensurações dos oocistos de *I. parnaitataiensis*, 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.

Pode-se ainda observar que os oocistos apresentaram maior frequência entre os valores de 24 a 25 μm de DM e 19 a 20 μm de dm, que demonstram maior tendência dos oocistos a possuírem estas dimensões. No histograma de IM notou-se que as frequências são maiores na segunda e terceira classe entre os valores de 1,1 a 1,3 e diminuem consideravelmente nas classes de valores inferiores. Este resultado sustenta a alta tendência dos oocistos desta espécie a possuírem forma elipsoide, ou seja, IM maior do 1,1. Estas observações e interpretações estão de acordo com Berto et al. (2014).

4.2.1.4. Distribuição das dimensões dos oocistos

Os valores de R^2 obtidos na regressão linear comparativa foram baixos, reafirmando o polimorfismo dos oocistos de *I. parnaitataiensis* (Figura 8). Além disso, pode-se observar uma diferença na distribuição das dimensões dos oocistos dos dois hospedeiros, uma vez que as retas e os pontos mantiveram-se afastados. Esta separação foi principalmente devida as diferenças significativas nos valores de em, menores no oocistos liberados por *P. leucoptera*, os quais os caracterizam como mais elipsóides em relação àqueles obtidos de *D. mentalis*.

Na distribuição das medidas dos esporocistos pôde-se observar uma compatibilidade nas dimensões dos esporocistos recuperados dos dois hospedeiros de *I. parnaitataiensis*, uma vez que as retas e os pontos mantiveram-se próximos ou sobrepostos.

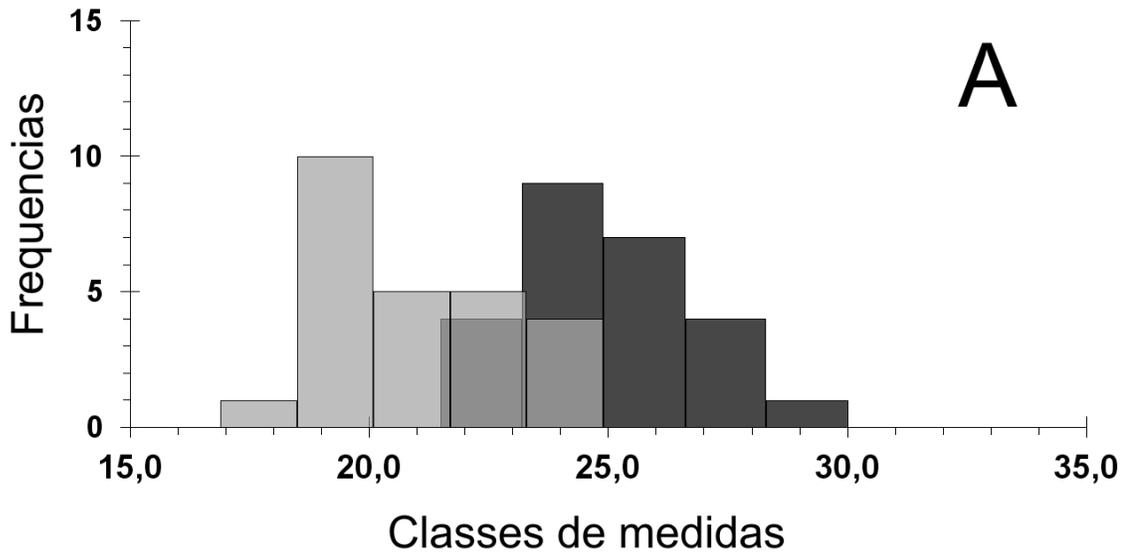


Figura 7. Histogramas das dimensões dos oocistos de *Isospora parnaitataiensis*: (A) diâmetros maior (cinza escuro) e menor (cinza claro); e (B) índice morfométrico.

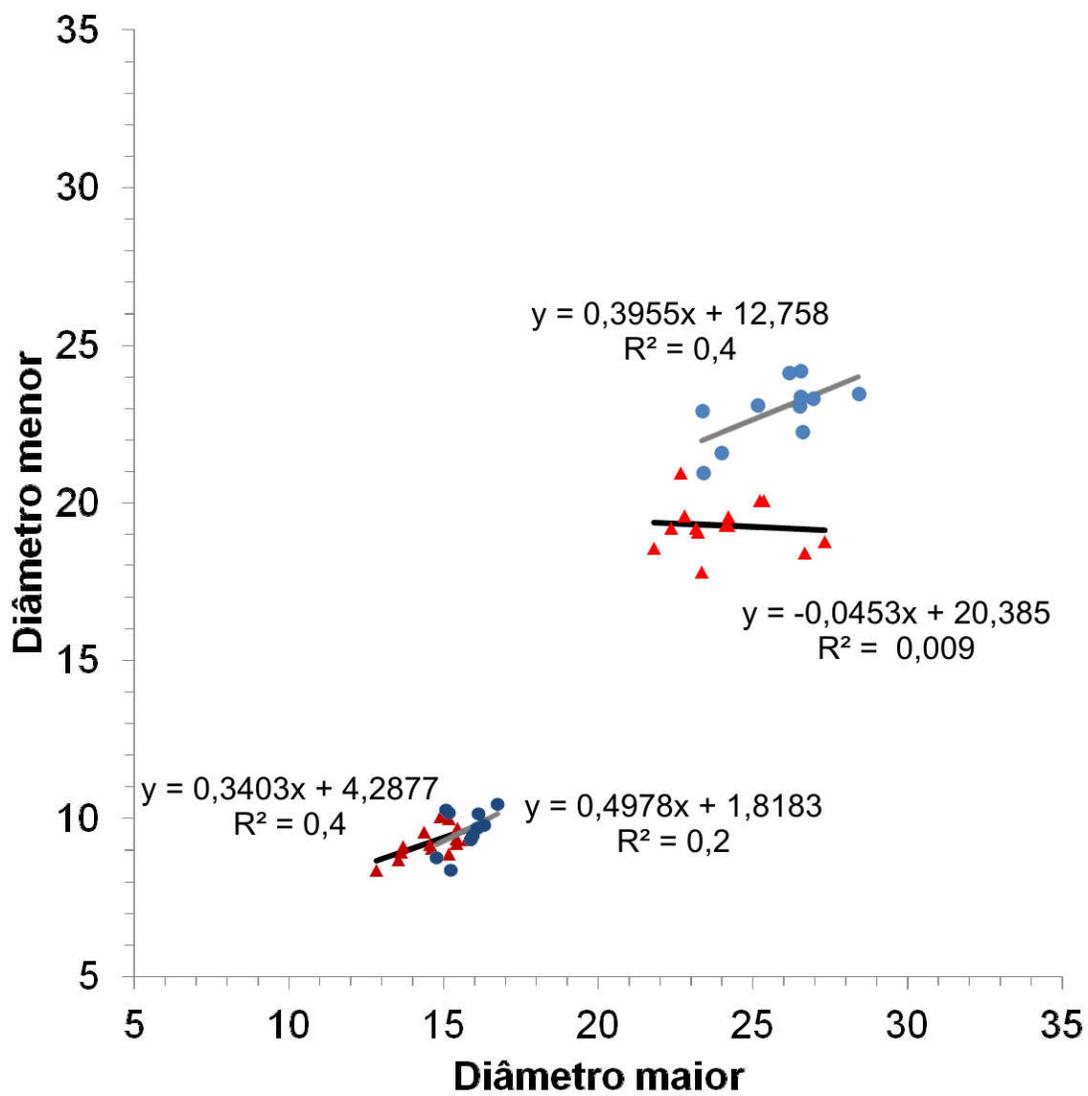


Figura 8. Regressão linear comparativa das dimensões dos oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de *Isospora parnaitatiaiensis* recuperados de dois hospedeiros distintos: *Pyriglena leucoptera* (preto e vermelho) e *Dysithamnus mentalis* (cinza e azul).

4.2.1.5. Aspectos morfométricos comparativos dos oocistos esporulados recuperados dos diferentes hospedeiros

A ANOVA realizada comparou as médias dos DM, dm, IM dos oocistos e esporocistos de *I. parnaitatiaiensis* recuperados de *P. leucoptera* e *D. mentalis* (Tabela 5). O teste resultou em diferenças significativas em várias amostras, sendo absolutamente equivalentes apenas entre os dm dos esporocistos. Ao analisar os aspectos morfométricos dos

oocistos, observaram-se diferenças significativas de DM entre amostras intra-específicas de *P. leucoptera* e *D. mentalis*; em contra-partida, nas medidas de dm as amostras *P. leucoptera* e *D. mentalis* formaram grupos distintos. Nos valores de IMO apenas uma amostra de *P. leucoptera* diferiu das demais.

Tabela 5. Comparação morfométrica de oocistos de *Isospora parnaitatiaiensis* recuperados de diferentes taminofilídeos em um fragmento de Mata Atlântica na parte baixa do Parque Nacional do Itatiaia, RJ.

Amostras dos hospedeiros ¹	Oocisto			Esporocisto		
	DM	dm	IM	DM	dm	IM
I 22/08/2014	23,3 a	19,51 a	1,2 a	14,09 a	9,24 a	1,53 a
<i>Pl</i> V 02/03/2015	25,8 a, b	18,35 a	1,4 b	15,13 a, c	9,26 a	1,63 a, c
VI 02/03/2015	24,1 a, b	19,67 a	1,22 a	15,46 b, c	9,32 a	1,66 b, c
<i>Dm</i> I 14/05/2015	25,1 a, b	22,48 b	1,12 a	15,76 b, c	9,37 a	1,69 b, c
II 06/07/2015	27,0 b	23,79 b	1,14 a	15,66 b, c	10,30 a	1,52 a

Letras iguais nas colunas mostram médias equivalentes.

¹Ordem cronológica a qual as amostras foram coletadas por hospedeiro, *Pyriglena leucoptera* (*Pl*) e *Dysithamnus mentalis* (*Dm*). Algarismos romanos coincidentes à tabela 2 representam o espécime hospedeiro e as letras suas respectivas amostras.

Ao comparar os aspectos morfométricos dos esporocistos as amostras de *P. leucoptera* e *D. mentalis* diferiram-se intra-especificamente nos valores de DM e IME; em contra-partida, os valores de dm foram equivalentes entre todas as amostras.

Ao observar de forma isolada a comparação das medidas de dm entre as amostras *P. leucoptera* e *D. mentalis*, poderia-se instantaneamente sugerir a possibilidade de duas espécies de *Isospora* distintas, cada uma parasitando um hospedeiro específico. No entanto, nas comparações morfométricas dos demais aspectos morfométricos dos oocistos e esporocistos, observaram-se diferenças significativas entre mesmos hospedeiros e equivalentes entre hospedeiros distintos. Portanto, isto nos possibilita sugerir que esta espécie é altamente polimórfica, principalmente em sua morfometria.

Estas diferenças significativas entre aspectos morfométricos dos oocistos são relatadas e relacionadas a fatores ambientais desde a década de 80 (FAYER, 1980), e em inúmeros trabalhos posteriores, incluindo, *I. lacazei* do pardal *P. domesticus*, na província de Córdoba, Espanha (GOMEZ et al., 1982), *Eimeria opimi* Lambert, Gardner, e Duszynski, 1988, de tuco-tucos *Ctenomys* spp., na Bolívia (GARDNER; DUSZYNSKI, 1990), *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 de gansos cinzento *Anser anser* Linnaeus, 1758 (BERTO et al. 2008e), *Eimeria bareillyi* Gil et al., 1963 de búfalos domésticos *Bubalus bubalis* Linnaeus,

1758 (RAMIREZ et al. 2009) e *Isospora sepetibensis* Berto, Flausino, Luz, Ferreira e Lopes, 2008 de traupídeos na Ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil (BERTO et al. 2011b). Vários fatores podem ter influenciado na existência do polimorfismo observado: (1) stress, (2) nutrição, (3) imunidade do hospedeiro, (4) dose infectante (FAYER 1980, JOYNER 1982), (5) tempo de descarga dos oocistos durante o período patente (DUSZYNSKI, 1971; CATCHPOLE et al., 1975; JOYNER, 1982), e (6) plasticidade fenotípica, quando um coccídio ativa diferentes fenótipos em resposta ao seu ambiente (PARKER; DUSZYNSKI, 1986; GARDNER; DUSZYNSKI, 1990).

Neste sentido, pode-se supor que as condições ambientais encontradas no PNI, como: temperatura, umidade, altitude, período de muda e reprodução, pluviosidade, e degradação ambiental podem ter influenciado na distribuição dos coccídios e nos parâmetros de eliminação dos oocistos de diferentes hospedeiros ou de mesmos hospedeiros submetidos a condições ambientais distintas.

Pode-se ainda supor que *I. parnaitatiaiensis* em *P. leucoptera* e *D. mentalis*, esteja em processo de especiação adaptando-se a estes respectivos hospedeiros, onde estaríamos verificando uma tendência inicial dos oocistos em *D. mentalis* serem mais subsféricos. No entanto, como estes hospedeiros, embora não tenham biótopos exatamente iguais, habitam o mesmo ambiente, infecções cruzadas e, assim, retrocruzamentos entre coccídios destes diferentes hospedeiros devem ocorrer. Neste contexto, pode-se ainda observar que o hábito alimentar insetívoro dos taminofilídeos não favorece a transmissão feco-oral (DOLNIK et al. 2010). Desta forma, as transmissões inter- e intra-específicas tendem a ser infrequentes, o que permitiria um maior desenvolvimento do coccídio no processo de especiação e adaptação a uma espécie hospedeira. Em traupídeos, os quais são frugívoros e granívoros, os coccídios em diferentes espécies hospedeiras têm uma padrão morfométrico mais uniforme (BERTO et al. 2011b), o que poderia ser resultado de transmissões frequentes.

Esta suposição de polimorfismo por especiação aos diferentes hospedeiros foi introduzida por Gardner e Duszynki (1998) para os oocistos de *E. opimi*. Neste trabalho seis espécies de tuco-tucos do gênero *Ctenomys* de localidades e habitat diferentes da Bolívia foram analisados. Estes hospedeiros não compartilham o mesmo habitat e são distribuídos de maneira bastante individual, porém no trabalho foi concluído que compartilham uma única espécie de coccídio, *E. opimi*. Devido a ampla distribuição geográfica, a grande diversidade taxonômica e a variação cromossômica dentro de Ctenomyidae, sugerem que a especiação de *E. opimi* está ativa e em desenvolvimento intenso. Segundo estes autores, *E. opimi* representa

uma espécie primitiva de parasita infectando o clado da família Ctenomyidae, o qual tem conservado as características morfológicas de seus oocistos, porém apresenta polimorfismo da morfometria devido a adaptação/espeiação às diferentes espécies de *Ctenomys*.

4.3. INTENSIDADES DE INFECÇÃO

A intensidade de infecção que desenvolve-se na ave pode variar tremendamente (DOLNIK, 2006). Existem pelo menos três fatores que são importantes em aumentar a intensidade de infecção em coccídios de aves silvestres: (1) a frequência de re-infecção (DOLNIK 2002); (2) a infecção com uma dose elevada de oocistos esporulados, que podem levar a uma infecção crônica (DOLNIK, 2002); e (3) a presença de infecções concomitantes, as quais podem enfraquecer o hospedeiro e aumentar a gravidade da infecção (LONG, 1982; VALKIU-NAS, 2004). Todos os três fatores dependem da exposição do hospedeiro as fezes que contêm oocistos esporulados, portanto, é dependente do forrageamento e hábitos alimentares das aves. Desta forma, o hábito insetívoro dos taminofilídeos não favorece a transmissão dos oocistos, como ocorre com aves frugívoras e granívoras, sendo evidenciado nos OoPD relativamente baixos obtidos neste trabalho.

Ao observar a tabela 2, verificamos que uma espécime de *P. leucoptera* teve um OoPD considerável em uma das amostras, com 147 oocistos de *I. parnaitatiaiensis*. Outros espécimes de *P. leucoptera* e *D. mentalis* tiveram OoPD entre 40 e 50 oocistos, somando em cinco espécimes positivas o total de OoPD foi 316. A outra *Isospora* sp. também apresentou um OoPD alto de 913 no total, onde alguns espécimes de *P. leucoptera* apresentaram OoPD de 589, 116 e 184. Os horários de maior eliminação dos oocistos foi no período da tarde, entre 13hs e 18h, corroborando com os trabalhos descritos na literatura.

O fenômeno da periodicidade de eliminação de oocistos foi observado em espécies de *Isospora* em Passeriformes silvestres desde a década de 30, onde foi observado a maior eliminação no final da tarde (BOUGHTON, 1937; DOLNIK, 1999, 2006; BROWN et al., 2001; LÓPEZ et al., 2007; MARTINAUD et al., 2009). No trabalho de Coelho et al. (2013) setenta e três das 220 amostras de trinca-ferros verdadeiros *Saltator similis* d'Orbigny & Lafresnaye, 1837 foram positivas para *Isospora* spp., apenas 1,8% das amostras coletadas durante a manhã tiveram resultados positivos. No final da tarde, 31,4% das amostras foram positivas. Além disso, a eliminação de oocisto foi quantitativamente maior no final da tarde,

com valores de OoPD que alcançaram mais de 3 mil oocistos. Estas aves estavam mantidas em regime de quarentena em um Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), para reabilitação e reintrodução à vida silvestre. Desta forma, o estresse das condições de confinamento e tratamento justificam o alto valor de OoPD.

De forma semelhante, o trabalho de Vasconcellos et al. (2013) foi realizado com amostras de trinca-ferros verdadeiros *S. similis* de cativado coletadas durante uma competição de canto. Neste trabalho, os resultados de OoPD foram classificados em níveis de intensidade de infecção, sendo que cerca de 20% das aves teve OoPD superior a 500 oocistos.

5. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados pôde-se concluir que:

1. Pássaros da espécies *Pyriglena leucoptera* e *Dysithamnus mentalis* que vivem no Parque Nacional do Itatiaia estão parasitados de forma enzoótica por coccídios do gênero *Isospora* e *Eimeria*
2. *Dysithamnus mentalis* é um novo hospedeiro de *I. parnaitatiaiensis*.
3. A quantificação dos oocistos nos dois hospedeiros taminofilídeos positivos foi baixa, o que pode ser justificado pelo ambiente conservado do PNI e pelo hábito alimentar insetívoro dessas espécies.
4. Os oocistos esporulados de *I. parnaitatiaiensis* foram caracterizados como polimórficos, tanto em *P. leucoptera* quanto em *D. mentalis*, o que pode ser uma consequência do processo de especiação/adaptação ao hospedeiro ou mesmo de infecções múltiplas em condições naturais.
5. A especificidade ocorreu em nível de família, pelo fato de tanto *P. leucoptera* quanto *D. mentalis*, ambos da família *Thamnophilidae*, terem sido relatadas como hospedeiros de *I. parnaitatiaiensis*, no PNI, Brasil.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, G. R.; BERTO, B. P.; CATENACCI, L.; NOGUEIRA, S. S. C.; NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; LOPES, C. W. G. Eimerid coccidia from capybaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) in southern Bahia, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 28, p. 323- 328, 2008.

AL-QURAI SHY, S.; AL-NASR, I. Validity of *Isospora lacazei* (Labbé, 1893) infecting the house sparrow, *Passer domesticus* (L.), in Saudi Arabia. *Parasitology Research*, v. 105, p. 1105-1108, 2009.

AMES, P. L. The Morphology of the syrix in passerine birds. *Bulletin of the Peabody Museum of Natural History, New Haven*, v. 37, p. 1-194, 1971.

ANWAR, M. Cytochemical studies on infections with *Isospora lacazei*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 60, p. 428-429, 1966.

BALL, S. J.; PITTILO, R. M.; LONG, P. L. Intestinal and extraintestinal life cycles of eimeriid coccidia. *Advances in Parasitology*, v. 28, p. 1-54, 1989.

BALTHAZAR, L. M. C.; LOPES, B.; BERTO, B. P.; SANTOS, C. S.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; NEVES, D. M.; LOPES, C. W. G. Coccidiosis in a blue-fronted Amazon parrot (*Amazona aestiva*) under quarantine: Case report. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 35, p. 392-396, 2013.

BARTA, J. R.; SCHRENZEL, M. D.; CARRENO, R.; RIDEOUT, B. A. The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology*, v. 91, p.726-727, 2005.

BATES, J. M.; HACKETT, S. J.; GOERCK, J. M. High levels of mitochondrial DNA differentiation in two lineages of antbirds (*Drymophila* and *Hypocnemis*). *Auk*, v. 116, p. 1093- 1106, 1999.

BECKER, E. R. *Coccidia and coccidiosis of domesticated, game and laboratory animals and of man*. Ames: Iowa State College Press, 1934. 147p.

BELLI, S. I.; SMITH, N. C.; FERGUSON, D. J. P. The coccidian oocysts: a tough nut to crack! *Trends in Parasitology*, v. 22, p. 416-423, 2006.

BERTO B. P.; FLAUSINO W.; LUZ H. B.; FERREIRA I.; LOPES C. W. G. *Isospora mionectesi* sp. nov. (Apicomplexa, Eimeriidae) from the grey-hooded flycatcher, *Mionectes rufiventris* in Brazil. *Acta Parasitologica*, v. 54, p. 301-304, 2009b.

BERTO B. P.; FLAUSINO W.; LUZ H. B.; FERREIRA I.; LOPES C. W. G. Two new *Isospora* species from Brazilian tanager (*Ramphocelus bresilius dorsalis*) of South America. *Parasitology Research*, v. 105, p. 635-639, 2009d.

BERTO B. P.; LUZ H. B.; FLAUSINO W.; FERREIRA I.; LOPES C. W. G. New species of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the short-crested flycatcher *Myiarchus ferox* (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. *Systematic Parasitology*, v. 74, p. 75-80, 2009a.

BERTO, B. P.; BALTHAZAR, L. M. C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Two New Coccidian Parasites of Green-Winged Saltator (*Saltator similis*) from South America. *Acta Protozoologica*, v. 47, p. 263-267, 2008b.

BERTO, B. P.; BALTHAZAR, L. M. C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffyfronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux, 1869 (Passeriformes: Emberizidae) from South America. *Systematic Parasitology*, v. 73, p. 65-69, 2009c.

BERTO, B. P.; BORBA, H. R.; LIMA, V. M.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; LOPES, C. W. G. *Eimeria* spp. from Japanese quails (*Coturnix japonica*): new characteristic features and diagnostic tools. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 33, p. 1441-1447, 2013a.

BERTO, B. P.; CARDOZO, S. V.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; FERREIRA, A. M. R.; LOPES, C. W. G. Aflatoxin effect on the oocysts morphometry and contribution on the morphology of *Eimeria bateri* Bhatia, Pandey and Pande, 1965 of the Japanese quail *Coturnix japonica*, in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, p. 235-238, 2008c.

BERTO, B. P.; FERREIRA, I.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; LOPES, C. W. G. *Isospora canaria* Box, 1975 (Apicomplexa: Eimeriidae) from canaries *Serinus canaria* Linnaeus (Passeriformes: Fringillidae) in Brazil. *Systematic Parasitology*, v. 85, p. 49-53, 2013b.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. . Polymorphism of *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) oocysts from the greylag geese *Anser anser* L., 1758 conditioned in two distinct sites. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 30, p. 215-219, 2008e.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. *Eimeria divinolimai* sp. n. (Apicomplexa: Eimeriidae) in the *Rufous casiornis* *Casiornis rufus* Vieillot, 1816

(Passeriformes: Tyrannidae) in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, p. 33-35, 2008d.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. Three New Coccidian Parasites of Brazilian Tanager (*Ramphocelus bresilius dorsalis*) from South America. *Acta Protozoologica*, v. 47, p. 77-81, 2008a.

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

BERTO, B. P.; LOPES, B. do B.; MELINSKI, R. D.; de SOUZA, A. H. N.; RIBAS, C. C.; de ABREU, I. F. H. T.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. Coccidial dispersion across trans- and cis-Andean antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae): *Isospora sagittulae* (Apicomplexa: Eimeriidae) from nonsympatric hosts. *Canadian Journal of Zoology*, v. 92, p. 383-388, 2014b.

BERTO, B. P.; LOPES, C. W. G. Distribution and dispersion of coccidia in wild passerines of the Americas. In RUIZ L.; IGLESIAS, L. (Eds) *Birds: evolution and behavior, breeding strategies, migration and spread of disease*. Nova Science Publishers: New York, 2013c. 47-66 p.

BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Two new hosts for *Isospora tiesanguui* Berto, Flausino, Luz, Ferreira & Lopes, 2008 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Revista Brasileira de Medicina Veterinária* v. 32, p. 168-171, 2010.

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

BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. Isosporoid coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) parasites of tanagers (Passeriformes: Thraupidae) from the Marambaia Island, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, p. 798-805, 2011b.

BIERREGAARD, J. R. O.; STOUFFER, P. C. Understory birds and dynamic habitat mosaics in Amazonian rainforest, In: LAURANCE, F. W.; BIERREGAARD, J. R. O. (Eds) *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*. Chicago: *The University of Chicago press*, 1997. p. 138-154.

BOUGHTON, D. C. The value of measurements in the study of a protozoan parasite *Isospora lacazei* (Labbe). *American Journal of Hygiene*, v. 11, p. 212-226, 1930.

- BOUGHTON, D. C.; BOUGHTON, R. B.; VOLK, J. Avian hosts of the genus *Isospora* (Coccidiida). *Ohio Journal of Science*, v. 38, p. 149-163, 1938.
- BOUGHTON, D. C. Notes of avian coccidiosis. *Auk*, v. 54, p. 500- 509, 1937.
- BOULARD, Y.; LANDAU, I.; GRULET, O.; BACCAM, D. Ultrastructure of chronic reticuloendothelial forms of *Isospora* of sparrows. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee*, v. 62, p. 181-184, 1987.
- BOX, E. D. *Atoxoplasma* associated with an isosporan oocyst in canaries. *Journal of Protozoology*, v. 17, p. 391-396, 1970.
- BOX, E. D. Blood and tissue protozoa of the English sparrow (*Passer domesticus domesticus*) in Galveston, Texas. *Journal of Protozoology*, v. 13, p. 204-208, 1966.
- BOX, E. D. Exogenous stages of *Isospora serini* (Aragao) and *Isospora canaria* sp. n. in the canary (*Serinus canarius* Linnaeus). *Journal of Protozoology*, v. 22, p. 165-169, 1975.
- BOX, E. D. Influence of *Isospora* infections on potency of avian *Lankesterella* (*Atoxoplasma* Garhnam, 1950). *Journal of Parasitology*, v. 53, p. 1140-1147, 1967.
- BOX, E. D. *Isospora* as an extraintestinal parasite of passerine birds. *Journal of Protozoology*, v. 28, p. 244-246, 1981.
- BOX, E. D. Life cycles of two *Isospora* species in the canary, *Serinus canarius* Linnaeus. *Journal of Protozoology*, v. 24, p. 57-67, 1977.
- BRAVO, G. A.; REMSEN JR, J. V.; WHITNEY, B. M.; BRUMFIELD, R. T. DNA sequence data reveals a sub-family level divergence within the Thamnophilidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 65, p. 287-293, 2012.
- BRAWNER, W. R.; HILL, G. E. Temporal variation in shedding of coccidial oocysts: implications for sexual-selection studies. *Canadian Journal of Zoology*, v. 77, p. 347-350, 1999.
- BROWN, J. L. Territorial behavior and population regulation in birds: a review and re - evaluation. *Wilson Bulletin*, v. 81, p. 293 - 329. 1969.
- BROWN, J. L. The evolution of diversity in avian territorial systems. *Wilson Bulletin*, v. 76, p. 160 - 169. 1964.
- BROWN, M. A.; BALL, S. J.; HOLMAN, D. The periodicity of isosporan oocyst discharge in the greenfinch (*Carduelis chloris*). *Journal of Natural History*, v. 35, p. 945-948, 2001.

BURMEISTER, H. Systematische Uebersicht der Thiere Brasiliens welche warhend einer Reise durch die Provinzen von Rio de Janiero und Minas Geraes gesammelt oder beobacht wurden. Berlin: [s.n.], v. 2, 1856.

CABANIS, J.; HEINE, F. Verzeichniss der ornithologischen Sammlung des OberamtmannFerdinand Heine auf Gut St. Burchard vor Halberstadt.Mit kritischen Anmerkungen und Beschreibung der neuen Arten systematisch bearbeitet. *Museum Heineanum, Halberstadt*, v. 1-3, p. 1-306, 1859.

CARRENO, R. A.; BARTA, J. R. An eimeriid origin of isosporoid coccidia with Stieda bodies as shown by phylogenetic analysis of small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Journal of Parasitology*, v. 85, p. 77-83, 1999.

CATCHPOLE, J.; NORTON, C. C.; JOYNER, L. P. The occurrence of *Eimeria weybridgensis* and other species of coccidia in lambs in England and Wales. *British veterinary journal*, v. 131, p. 392-401, 1975.

CBRO. *Lista das aves do Brasil*. Rio de Janeiro: Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos, 2014. 42p.

CHISHOLM, H. Coccidia. In: *The Encyclopedia Britannica: A Dictionary of Arts, Sciences, Literature and General Information*. 11° ed. Cambridge: The Encyclopedia Britannica Co., 1911. p. 615-618.

CLYDE, V. L.; PATTON, S. Diagnosis, treatment and control of common parasites in companion and aviary birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 5, p. 75- 84, 1996.

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

CORY, C. B.; HELLMAYR, C. E. Catalogue of the birds of the Americas. Part 3. Pteroptochidae, Conopophagidae, Formicariidae. *Field Museum of Natural History Publication*, v. 223, p. 1 - 369, 1924.

DE SOUZA, P. N. B; BOMFIM, T. C. B do; HUBER, F; ABOUD, L. C. S; GOMES, R. S. Natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. and *Eimeria leuckarti* in three groups of equines with different handlings in Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 160, p. 327 - 333, 2009.

DOLNIK, O. Some aspects of the biology and host–parasite interactions of *Isoospora* spp. (Protozoa: Coccidiida) of passerine birds. PhD dissertation, Carl von Ossietzky University, Oldenburg. 2002. Disponível em: < <http://docserver.bis.uni-oldenburg.de/publikationen/dissertation/2003/dolsom02/dolsom02.html>>. Acesso em: 12 jan. 2016.

DOLNIK, O. The relative stability of chronic *Isoospora sylvianthina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in blackcaps (*Sylvia atricapilla*): evaluation of a simplified method of estimating isosporan infection intensity in passerine birds. *Parasitology Research*, v. 100, p. 155 - 160, 2006.

DOLNIK, O. V. Diurnal periodicity of oocysts release of *Isoospora dilatata* (Sporozoa: Eimeriidae) from the common Starling (*Sturnus vulgaris*) in nature. *Parasitologiya*, v. 33, p. 74 - 80, 1999.

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

DOLNIK, O. V.; Palinauskas, V.; Bensch, S. Individual oocysts of *Isoospora* (Apicomplexa: Coccidia) parasites from avian feces: from photo to sequence. *Journal of Parasitology*, v. 95, p. 169 - 174, 2009.

DUCA, C. G. S.; GUERRA, T. J.; MARINI, M. A. Territory size of three Antbirds (Aves, Passeriformes) in an Atlantic Forest fragment in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 23, p. 692 - 698. 2006.

DURÃES, R.; MARINI, M. A. A quantitative assessment of birds diets in the Brazilian Atlantic Forest, with recommendations for future diet studies. *Ornitologia Neotropical*, v. 16, p. 65 - 83, 2005.

DUSZYNSKI, D. W. Coccidian Parasites (Apicomplexa: Eimeriidae) from Insectivores: New Species from Shrew Moles (Talpidae) in the United States. *Journal of Protozoology*, v. 32, p. 577 - 580, 1985.

DUSZYNSKI, D. W. Increase in size of *Eimeria separata* oocysts during patency. *Journal of Parasitology*, v. 57, p. 948 - 952, 1971.

DUSZYNSKI, D. W.; UPTON, S. J.; COUCH, L. The Coccidia of the world. 1999. Disponível em: < <http://biology.unm.edu/coccidia/home.html>>. Acesso em: 1 Out. 2015.

DUSZYNSKI, D. W.; WILBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of Parasitology*, v. 83, p. 333 - 336, 1997.

- EL-SHAHAWI, G. A.; EL-FAYOMI, H. M.; ABDEL-HALEEM, H. M. Coccidiosis of domestic rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Egypt: light microscopic study. *Parasitology Research*, v. 110, p. 251 - 258, 2012.
- ENTZEROTH, R.; SCHOLTYSECK, E.; SEZEN, I. Y. Fine structural study of *Eimeria truncata* from the domestic goose (*Anser anser dom.*). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, v. 66, p. 1 - 7, 1981.
- FAYER, R. Epidemiology of protozoan infection: the Coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, p. 75 - 103, 1980.
- FLAUSINO, G.; BERTO, B. P.; McINTOSH, D.; FURTADO, T. T.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; LOPES, C. W. G. Phenotypic and genotypic characterization of *Eimeria caviae* from guinea pigs. *Acta Protozoologica*, v. 53, p. 269–276, 2014;
- FREITAS, M. F. L.; OLIVEIRA, J. B.; CAVALCANTI, M. B.; FREITAS, D. A. Occurrence of coccidiosis in canaries (*Serinus canarius*) being kept in private captivity in the state of Pernambuco, Brazil. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 58, p. 86 - 88, 2003.
- GALVÃO, A.; GONZAGA, L. P. Morphological support for placement of the Wing-banded Antbird *Myrmornis torquata* in the Thamnophilidae (Passeriformes: Furnariides). *Zootaxa*, v. 3122, p. 37 - 67, 2011.
- GARDNER S. L.; DUSZYNSKI D. W. Polymorphism of eimerian oocysts can be a problem in naturally infected hosts: an example from subterranean rodents in Bolivia. *Journal of Parasitology*, v. 76, p. 805-811, 1990.
- GILL, H.; PAPERNA, I. Proliferative visceral *Isospora* (atxoplasmosis) with morbid impact on the Israeli sparrow *Passer domesticus biblicus* Hartert, 1904. *Parasitology Research*, v. 103, p. 493 - 499, 2008.
- GIMENES, M. R.; ANJOS, L. Efeitos da fragmentação florestal sobre as comunidades de aves. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, v. 25, p. 391 - 402. 2003.
- GODOY, S. N. Psittaciformes (arara, papagaio, periquito),. In: CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. (Eds), *Tratado de Animais Selvagens*. Roca, São Paulo, 2007. p. 222 - 251.
- GODOY, S. N.; MATUSHIMA, E. R. A. Survey of Diseases in Passeriform Birds Obtained From Illegal Wildlife Trade in São Paulo City, Brazil. *Journal of Avian Medicine Surgery*, v. 24, p. 199 - 209, 2010.

GOMEZ, F. M.; NAVARRETE, I.; RODRIGUEZ, R. L. Influencia de los factores ambientales sobre diferentes poblaciones de *Isoospora lacazei* Labbé, 1983 (Protozoa: Apicomplexa). *Revista Ibérica de Parasitología*, v. 42, p. 185 - 196, 1982.

GONZAGA, L. A. P. *Análise filogenética do gênero Formicivora Swainson, 1825 (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae) baseada em caracteres morfológicos e vocais*. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2001. p. 215.

GRAY, G. R. *A list of genera of birds, with their synonyma, and an indication of the typical species of each genus*. Londres: Richard and John Taylor, 1841.

GRULET, O.; LANDAU, I.; BACCAM, D. Les *Isoospora* du moineau domestique; multiplicité des espèces. *Annales de Parasitologie humaine et Comparée*, v. 57, p. 209 - 233, 1982.

GRULET, O.; LANDAU, I.; MILLET P.; BACCAM, D. Les *Isoospora* du moineau. I: Compléments à l'étude systématique = *Isoospora* of sparrows. I: Complementary data on the systematics. *Annales de Parasitologie humaine et Comparée*, v. 61, p. 155 - 160, 1986a.

GRULET, O.; LANDAU, I.; MILLET P.; BACCAM, D. Les *Isoospora* du moineau. II: Etudes sur la biologie = *Isoospora* of sparrows. II: Studies on biology. *Annales de Parasitologie humaine et Comparée*, v. 61, p. 161 - 192, 1986b.

GRULET, O.; LANDAU, I.; MILLET P.; BACCAM, D. Les *Isoospora* du moineau. III: Action élective de la primaquine sur les formes d'attente = *Isoospora* of sparrows. III: Elective action of primaquine on latent stages. *Annales de Parasitologie humaine et Comparée*, v. 61, p. 193 - 198, 1986c.

HAFEEZ, M. A.; STASIAK, I.; DELNATTE, P.; EL-SHERRY, S.; SMITH, D. A.; BARTA, J. R. Description of two new *Isoospora* species causing visceral coccidiosis in captive superb glossy starlings, *Lamprotornis superbus* (Aves: Sturnidae). *Parasitology Research*, v. 113, p. 3287 - 3297, 2014.

HEIMERDINGER, M. A.; AMES, P. L. Variation in sternal notches of suboscine passeriform birds. *Postilla*, v. 105, p. 1 - 44, 1967.

HENRY, D. P. *Isoospora buteonis* sp. nov. from the hawk and owl, and notes on *Isoospora lacazii* (Labbe) in birds. *University of California Publications in Zoology*, v. 37, p. 291 -300, 1932.

HERNANDEZ-RODRIGUEZ, S.; MARTINEZ-GOMEZ, F.; BECERRA-MARTEL, C.; CALERO-CARRETERO, R.; MORENO-MONTANEZ, T.; DOMINGUEZ DE TENA, M.

Isospora lacazei Labbe, 1893 en Passeriformes de la provincia de Cordoba. *Revista Iberica de Parasitologia*, v. 36, p. 81 - 88, 1976.

HUDMAN, S. P.; KETTERSON, E. D.; NOLAN, V. Effects of time of sampling on oocyst detection and effects of age and experimentally elevated testosterone on prevalence of coccidia in male dark-eyed Juncos. *Auk*, v. 117, p. 1048 - 1051, 2000.

HUEZA, I. M. Farmacologia das aves: o uso de medicamentos anti-inflamatórios em aves silvestres. *Ars Veterinária*, v. 24, p. 15 - 24, 2008.

IBAMA. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, 2015. Disponível em: < <http://www.ibama.gov.br/areas-tematicas-fauna-silvestre/centros-de-triagem-de-animais-silvestres>>. Acesso em: 30 set. 2015.

ICMBIO. Parque Nacional do Itatiaia, 2015. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia>>. Acesso em: 17 Set. 2015.

IRESTEDT, M.; FJELDSÅ, J.; NYLANDER, J. A. A.; ERICSON, P. G. P. Phylogenetic relationships of typical antbirds (Thamnophilidae) and test of incongruence based on Bayes factors. *BMC Evolutionary Biology*, v. 4, p. 23 - 8, 2004.

ISLER, M. L.; ISLER, P. R.; WHITNEY, B. M. Use of vocalizations to establish species limits in antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae). *Auk*, v. 115, p. 577 - 590, 1998.

JIRKŮ, M.; MODRÝ, D.; SLAPETA, J. R.; KOUDELA, B.; LUKEŠ, J. The phylogeny of *Goussia* and *Choleoimeria* (Apicomplexa; Eimeriorina) and the evolution of excystation structures in coccidia. *Protist*, v. 153, p. 379-390, 2002.

JOYNER, L. P. Host and Site specificity. In: LONG, P. L. *The biology of the Coccidia*. Baltimore: University Park Press. 1982. p. 35-62.

KHAN, A.; SHAIK, J. S.; BEHNKE, M.; WANG, Q.; DUBEY, J. P.; LORENZI, H. A.; AJIOKA, J. W.; ROSENTHAL, B. M.; SIBLEY, L. D. NextGen sequencing reveals short double crossovers contribute disproportionately to genetic diversity in *Toxoplasma gondii*. *BMC Genomics*, v. 15, p. 1168, 2014.

LAINSON, R. *Atoxoplasma* Garnham, 1950, as a synonym for *Lankesterella* Labbé, 1899. Its life cycle in the English sparrow (*Passer domesticus domesticus*, Linn.). *Journal of Protozoology*, v. 6, p. 360 - 371, 1959.

LAINSON, R. Some Observations on the Life-Cycle of *Atoxoplasma*, with Particular Reference to the Parasite's Schizogony and its Transmission by the Mite *Dermanyssus gallinae*. *Nature*, v. 182, p. 1250 - 1251, 1958.

- LAINSON, R. The transmission of *Lankesterella* (= *Atoxoplasma*) in birds by the mite *Dermanyssus gallinae*. *Journal of Protozoology*, v. 7, p. 321 - 322, 1960.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. Two new species of *Eimeria* and three new species of *Isoospora* (Apicomplexa, Eimeriidae) from Brazilian mammals and birds. *Bulletin du Museum National D'Histoire Naturelle*, v. 11, p. 349 - 365, 1989.
- LEVINE, N. D. *Isoospora passeris* n. sp. from the house sparrow *Passer domesticus*, *I. lacazei*, and related Apicomplexan protozoa. *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 101, p. 66 - 74, 1982b.
- LEVINE, N. D. The genus *Atoxoplasma* (Protozoa, Apicomplexa). *Journal of Parasitology*, v. 68, p. 719 - 723, 1982a.
- LEVINE, N. D. *Veterinary Protozoology*. 1^a ed. Ames: Iowa State University Press, 1985. 414 p.
- LEVINE, N. D.; MOHAN, R. N. *Isoospora* sp. (Protozoa: Eimeriidae) from cattle and its relationship to *I. lacazei* of the English sparrow. *Journal of Parasitology*, v. 46, p. 733 - 741, 1960.
- LONG, P.L. (ed.). *The biology of the Coccidia*. Edward Arnold: London, 1982.
- LOPES, B. do B.; BALTHAZAR, L. M. C.; COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; LOPES, C. W. G. Trafficking in wild passerines, reintroduction and coccidial transmission: *Isoospora trincaferri* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2008 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buff-throated saltator *Saltator maximus* Müller (Passeriformes: Cardinalidae). *Coccidia*, v. 1, p. 6 - 9, 2013a.
- LOPES, B. do B.; BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; GALVÃO, G. S., LOPES, C. W. G. The ruby-crowned tanager *Tachyphonus coronatus* Vieillot (Passeriformes: Thraupidae): a new host for *Isoospora navarroii* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2009 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Coccidia*, v. 1, p. 2 - 5, 2013b.
- LOPES, B. do B.; BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; GALVÃO, G. S.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. *Isoospora massardi* sp. nov. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the white-necked thrush *Turdus albicollis* (Passeriformes: Turdidae) from Brazil. *Acta Parasitologica*, v. 59, p. 272 - 275, 2014.
- LÓPEZ, G.; FIGUEROLA, J.; SORIGUER, R. Time of day, age and feeding habits influence coccidial oocyst shedding in wild passerines. *International Journal for Parasitology*, v. 37, p. 559 - 564, 2007.

MAI, K.; SHARMAN, P. A.; WALKER, R. A.; KATRIB, M.; SOUZA, D.; MCCONVILLE, M. J, et al. Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Memórias Instituto Oswaldo Cruz*, v. 104, p. 281 - 289, 2009.

MANDAL, A. K. Studies on some aspects of avian coccidia (Protozoa: Sporozoa). 6. The occurrence of *Isospora* sp. in goats with redescription of *Isospora lacazei* (Labbe, 1893) from some common Indian birds. *Journal of the Assam Scientific Society*, v. 8, p. 71 -75, 1965.

MANDAL, A. K.; BHATTACHARYA, A. A biometrical study of the oocysts of *Isospora lacazei* (Labbé), a common parasite of the house-sparrow, *Passer domesticus* Linnaeus. *Progress in Protozoology*, v. 3, p. 341 - 342, 1969.

MARTINAUD, G.; BILLAUDELLE, M.; MOREAU, J. Circadian variation in shedding of the oocysts of *Isospora turdi* (Apicomplexa) in blackbirds (*Turdus merula*): An adaptative trait against desiccation and ultraviolet radiation. *International Journal for Parasitology*, v. 39, p. 735 - 739, 2009.

McALLISTER, C. T; UPTON, S. J. The coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) of testudines, with descriptions of three new species. *Canadian Journal of Zoology*, v. 67, p. 2459 -2467, 1989.

McCULLY, R. M.; BASSON, P. A.; DE VOS, V.; DE VOS, A. J. Uterine coccidiosis of the impala caused by *Eimeria neitzi* spec. nov. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, v. 37, p. 45 - 58, 1970.

McQUISTION, T. E. The prevalence of coccidian parasites in passerine birds from South Africa. *Transactions of the Illinois State Academy of Science*, v. 93, p. 221 - 227, 2000.

McQUISTION, T. E.; CAPPARELLA, A. *Isospora sagittulae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the spotted antbird (*Hylophylax naevioides*). *Transactions of the American Microscopical Society*, v. 111, p. 365 - 368, 1992.

MILDE, K. Light and electron microscopic studies on isosporan parasites (Sporozoa) in sparrows (*Passer domesticus* L). *Protistologica*, v.15, p. 607- 627, 1979.

MISOF, K. Diurnal cycle of *Isospora* spp. oocyst shedding in Eurasian blackbirds (*Turdus merula*). *Canadian Journal of Zoology*, v. 82, p. 764 - 768, 2004.

MODRÝ, D.; JIRKŮ, M. Three new species of coccidia (Apicomplexa: Eimeriorina) from the marble-throated skink, *Marmorosphax tricolor* Bavay, 1869 (Reptilia: Scincidae), endemic to New Caledonia with a taxonomic revision of *Eimeria* spp. from scincid hosts. *Parasitology Research*, v. 99, p. 419 - 428, 2006.

MODRÝ, D.; JIRKŮ, M.; ŠUMBERA, R. Three new species of *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) from the silvery mole rat *Heliophobius argenteocinereus* Peters, 1846 (Rodentia: Bathyergidae) from Malawi. *Journal of Parasitology*, v. 91, p. 1200 - 1203, 2005.

MORIN-ADELINE, V.; VOGELNEST, L.; DHAND, N. K.; SHIELS, M.; ANGUS, W.; SLAPETA, J. Afternoon shedding of a new species of *Isoospora* (Apicomplexa) in the endangered Regent Honeyeater (*Xanthomyza Phrygia*). *Parasitology*, v. 138, p. 713 -724, 2011.

MOYLE, R. G.; CHESSER, R. T.; BRUMFIELD, R. T.; TELLO, J. G.; MARCHESE, D. J.; CRACRAFT, J. Phylogeny and phylogenetic classification of the antbirds, ovenbirds, woodcreepers, and allies (Aves: Passeriformes: infraorder Furnariides). *Cladistics*, v 25, p. 386-405, 2009.

MÜLLER, J. Ueber die bisher unbekanntenen typischen Verschiedenheiten der Stimmorgane der Passerinen. Berlin: Abhandlungen der mathematisch-physikalischen Classe, *Königlich-Bayerische Akademie der Wissenschaften*, 1847.

NASCIMENTO, J. L. X.; NASCIMENTO, I. L. S.; ANTAS, P. T. Z. Manual de Anilhamento de Aves no Brasil. CEMAVE: Brasília, 1994.

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

NOWELL, F.; HIGGS, S. *Eimeria* species infecting wood mice (genus *Apodemus*) and the transfer of two species to *Mus musculus*. *Parasitology*, 98, p. 329 - 336, 1989.

OWEN, D. Life Cycle of *Eimeria stiedae*. *Nature*, v. 227, p. 304, 1970.

PAP, P. L.; VÁGASI, C. I.; CZIRJÁK, G. A.; TITILINCU, A.; PINTEA, A.; OSVÁTH, G.; FULLOP, A.; BARTA, Z. The effect of coccidian on the condition and immune profile of moulting house sparrows (*Passer domesticus*). *Auk*, v. 128, p. 330 -339, 2011.

PARKER, B. B.; DUSZYNSKI, D. W. Polymorphism of eimerian oocysts: a dilemma posed by working with some naturally infected hosts. *Journal of Parasitology*, v. 72, p. 602 -604, 1986.

PETERS, J. L. Checklist of the birds of the world. Cambridge: *Museum of Comparative Zoology*, v. 7, 1951.

RAMIREZ, L.; BERTO, B. P.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; FLAUSINO, W.; MEIRELES, G. S.; RODRIGUES, J. S.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. *Eimeria bareillyi* from the

domestic water buffalo, *Bubalus bubalis*, in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, p. 261-264, 2009.

REMSEN, JR, J. V.; CADENA, C. D.; JARAMILLO, A.; NORES, M.; PACHECO, J. F.; PÉREZEMÁN, J.; ROBBINS, M. B.; STILES, G. F.; STOTZ, D. F.; ZIMMER, J. K. A classification of the bird species of South America. *American Ornithologists' Union*, 2013. Disponível em: <<http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACCBaseline.html>>. Acesso em: 28 set. 2015.

RICE, N. H. Phylogenetic relationship of Antpitta genera (Passeriformes: Formicariidae). *Auk*, v. 122, p. 673 - 683, 2005.

RIDGELY, R. S.; TUDOR, G. *Field guide to the songbirds of South America. The passerines*. 1. ed. Texas: *University of Texas Press*, 2009.

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

RIDGWAY, R. *The birds of North and Middle America. Part V. Bulletin of the United States National Museum*, v. 50, p. 1 - 859, 1911.

ROSALES, M. J.; MASCARO, C. First report of *Cyclospora talpae* (Pellerdy et Tanyi, 1968) (Apicomplexa) in *Talpa occidentalis* (Insectivora) in the Iberian Peninsula. *Parasitology Research*, v. 59, p. 135-136, 1999.

RYSÁVY, B. Príspevek k poznání kokcidii nasich i dovezených obratlovcu. *Ceskoslovenska Parasitologie*, v. 1, p. 131-174, 1954.

SAKS, I.; KARU, U.; OTS, I.; HÔRAK, P. Do standart measures of immunocompetence reflect parasite resistance? The case of Greenfinch coccidiosis. *Functional Ecology*, v. 20, p. 75 - 82, 2006.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª ed. Belo Horizonte: FEP MVZ Editora, 2002. 265 p.

SCHOLTYSECK, E. Untersuchungen über die bei einheimischen vogelarten vorkommenden Coccidien der Gattung *Isospora*. *Archiv für Protistenkunde*, v. 100, p. 91 - 112, 1954.

SCHRENZEL, M. D.; MAALOUF, G. A.; GAFFNEY, P. M.; TOKARZ, D.; KEENER, L. L.; MCCLURE, D.; GRIFFEY, S.; MCALOOSE, D.; RIDEOUT, B. A. Molecular characterization of isosporoid coccidia (*Isospora* and *Atoxoplasma* spp.) in passerine birds. *Journal of Parasitology*, v. 91, p. 635 - 647, 2005.

- SCLATER, P. L. *Catalogue of the birds in the British Museum*. Londres: Order of the Trustees, 1890.
- SCLATER, P. L. Synopsis of the American Antbirds (Formicariidae). Part II. Containing the Formicivorinae or Ant-Wrens. *Proceedings of the Zoological Society of London*, v. 26, p. 232 - 254, 1858b.
- SCLATER, P. L. Synopsis of the American Ant-birds (Formicariidae). Part I. Containing the Thamnophilinae. *Proceeding sof the Zoological Society of London*, v. 26, p. 232 - 272, 1858a.
- SCLATER, P. L. Synopsis of the American antbirds (Formicariidae). Part III. Containing the third subfamily Formicariinae, or Ant-Thrushes. *Proceedings of the Zoological Society of London*, v. 26, p. 272 - 289, 1858c.
- SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology*, v. 36, p. 266 - 275, 1923.
- SICK, H. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997. 862 p.
- SIGRIST, T. Avifauna Brasileira: *The avis brasiliis field guide to the birds of Brazil*, 1ª edição, São Paulo: *Editora Avis Brasilis*, 2009.
- SIGRIST, T. Avifauna Brasileira: *Guia de Campo Avis Brasilis*, 4ª edição, São Paulo: *Editora Avis Brasilis*, 2014.
- SILVA, L. M. ; RODRIGUES, M. B. ; LOPES, B. B. ; BERTO, B. P. ; LUZ, H. R. ; FERREIRA, I. ; LOPES, C. W. G. . A new coccidian, *Isospora parnaitatiaiensis* n. sp. (Apicomplexa, Eimeriidae), from the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera* (Passeriformes, Thamnophilidae) from South America. *Parasitology Research*, 2015.
- SKUTCH, A. F. Antbirds and ovenbirds: their lives and homes. 1. ed. *Austin: University of Texas Press*, 1996.
- SOULSBY, E.J.L. *Parasitología y enfermedades parasitárias*. 7ª ed. México: Interamericana, 1987. 823 p.
- SWAINSON, W. An inquiry into the natural affinities of the Lanidae, or shrikes; preceded by some observations of the present state of Ornithology in this Country. *Zoological Journal*, v. 1, p. 289 - 307, 1824.
- SYSTEMA NATURAE. *The Taxonomicon*, 2000. Disponível em: <<http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?id=104091&src=0>>. Acesso em: 26 set. 2015.

- UPTON S. J.; WILSON, S. C.; NORTON, T. M.; GREINER, E. C. A new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Bali (Rothschild's) mynah *Leucopsar rothschildi* (Passeriformes: Sturnidae), and comments concerning the genera *Atoxoplasma* Garnham, 1950 and *Isospora*. *Systematic Parasitology*, v. 48, p. 47 - 53, 2001.
- 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.
- VALKIU–NAS, G. Avian malarial parasites and other haemosporidia. *Taylor and Francis*, London, UK. 2004.
- VASCONCELLOS, M. S. D.; BATISTA, L. C. S. O.; VIDAL, L. G. P.; PASSOS, M. M. Intensidade de infecção por *Isospora* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) em trinca-ferros-verdadeiros *Saltator similis* d'Orbigny, Lafresnaye (Passeriformes: Cardinalidae) mantidos em cativeiro no Município de Valença, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Coccidia*, v. 1, p. 39 - 43, 2013.
- VASCONCELOS, T. C. B.; LONGA, C. S.; CAMPOS, S. D. E.; COSTA, C. H. C.; BRUNO, S. F. Coccidiose em *Sporophila maximiliani* (Passeriformes: Emberizidae): relato de dois casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 34, p. 261-264, 2012.
- WENYON, C. M. *Protozoology*. Vol. 2. New York: William, Wood and Company, 1926. 1396p.
- WIENS, J. A. *The ecology of bird communities*. Cambridge University Press: Cambridge, 1989. 539p.
- WILLIS, E. O. On the behavior of five species of Rhegmatorhina, Ant-following Antbirds of the Amazon basin. *Wilson Bulletin*, v. 81, p. 362 - 395, 1969.
- WILLIS, E. O. The composition of avian communities in remanescent woodlots in southern Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 33, p. 1 - 25, 1979.
- WILLIS, E. O.; ONIKI, Y. As aves e as formigas de correição. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi*, Série Zoologia, 8, 1992.
- YAMAGISHI, S.; UEDA, K. Simultaneous territory mapping of male Fan - Tailed Warblers (*Cisticola juncidis*). *Journal of Field Ornithology*, v. 57, p. 193 - 199. 1986.
- ZHAO, Y.; GENTEKAKI, E.; YI, Z.; LIN, X. Genetic differentiation of the mitochondrial cytochrome oxidase c subunit I gene in genus *Paramecium* (Protista, Ciliophora). *Plos One*, v. 8, p. e77044, 2013.

ZIMMER, K.; ISLER, M. Family Thamnophilidae - typical antbirds. In: DEL HOYO, J.; ELLIOTT, A.; CHRISTIE, D. A. Handbook of the birds of the world: broadbills to tapaculos. Londres: *Lynx*, 2003. p. 448 - 531.

ZINKE, A.; SCHNEBEL, B.; DIERSCHKE, V.; RYLL, M. Prevalence and intensity of excretion of coccidial oocysts in migrating passerines on Helgoland. *Journal of Ornithology*, v. 145, p. 74 - 78, 2004.

7. ANEXOS

Anexo A



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

Autorização para atividades com finalidade científica

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

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: 103.532.617-50
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES COMO BIOMARCADORES DE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Cronograma de atividades

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

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa IBAMA n° 154/2007 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos, e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospecção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Outras ressalvas

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

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Cleide Domingues Coelho	Pesquisador	880.565.547-34	73777617 I.F.P.-RJ	Brasileira
2	Carlos Wilson Gomes Lopes	Coordenador	334.954.837-72	2606111 I.F.P.-RJ	Brasileira
3	Bruno do Bomfim Lopes	Pesquisador	081.242.587-16	11317007-0 I.F.P.-RJ	Brasileira

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa n°154/2007. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 84371796



Página 1/4



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

Autorização para atividades com finalidade científica

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

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: 103.532.617-50
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES COMO BIOMARCADORES DE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Locais onde as atividades de campo serão executadas

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

Atividades X Táxons

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

Material e métodos

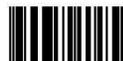
1	Amostras biológicas (Aves)	Fezes
2	Método de captura/coleta (Aves)	Rede de neblina

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	colecção

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

Código de autenticação: 84371796



Página 2/4



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

Autorização para atividades com finalidade científica

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

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: 103.532.617-50
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES COMO BIOMARCADORES DE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

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

Código de autenticação: 84371796



Página 3/4



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

Autorização para atividades com finalidade científica

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

Dados do titular

Nome: Bruno Pereira Berto	CPF: 103.532.617-50
Título do Projeto: COCCÍDIOS EM AVES SILVESTRES COMO BIOMARCADORES DE DISPERSÃO E IMPACTOS AMBIENTAIS NO PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA E EM SEU ENTORNO	
Nome da Instituição : UFRRJ - UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO	CNPJ: 29.427.465/0001-05

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

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

Código de autenticação: 84371796



Página 4/4

Anexo B



Seropédica 16 de abril de 2015

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

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



Fabio Barbour Scott
Coordenador CEUA-IV



Jonimar Pereira Paiva
Vice-Coodenador CEUA-IV

A new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeiriidae) from the grey-hooded attila *Attila rufus* Vieillot, 1819 (Passeriformes: Tyrannidae) on the Marambaia island, Brazil

MARIANA BORGES RODRIGUES¹, LIDIANE MARIA DA SILVA¹, BRUNO DO BOMFIM LOPES², BRUNO PEREIRA BERTO^{3,5}, HERMES RIBEIRO LUZ⁴, ILDEMAR FERREIRA³ & CARLOS WILSON GOMES LOPES⁴

¹Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil

²Programa de Pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970

³Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil

⁴Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil

⁵Corresponding author. E-mail: bertobp@ufrj.br

The New World tyrant-flycatcher (Tyrannidae) *Attila rufus* (Vieillot, 1819) is commonly known as grey-hooded attila or 'capitão-de-saira' in Brazil (Sick 1997; CBRO 2014). This species has a wide distribution and their population trends appear to be stable; therefore, it is least concern according to IUCN (2015) criteria.

Although the Tyrannidae is one of the most biodiverse families in the Passeriformes, only two parasites of *Isospora* have been described from the family including: (1) *Isospora ferox* Berto, Luz, Flausino, Ferreira and Lopes, 2009 from the short-crested flycatcher *Myiarchus ferox* (Gmelin, 1789); and (2) *Isospora mionectesi* Berto, Flausino, Luz, Ferreira and Lopes, 2009 from the greyhooded flycatcher *Mionectes rufiventris* Cabanis, 1846 (Berto *et al.*, 2011). This study describes a new species of *Isospora* parasitizing a grey-hooded attila *A. rufus* on Marambaia Island, Rio de Janeiro State, Brazil.

Material and methods

Bird populations were sampled thirteen times on Marambaia Island (23°04'S, 43°53'W) using mist nets. Sampling occurred during periods between the years 2007 to 2014, including sampling related by Lopes *et al.* (2013). Throughout the entire period, only five *A. rufus* were captured. These birds were kept in individual boxes and feces collected immediately after defecation. After identification of the species, the bird was released and stool samples were placed in centrifuge tubes containing 2.5% potassium dichromate solution (K₂Cr₂O₇) 1:6 (v/v). Samples were sent to the Laboratório de Coccidios e Coccidioses, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Samples were incubated at 23–28°C for 10 days or until ~70% of the oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (Specific gravity: 1.20) and examined microscopically using the technique described by Duszynski & Wilber (1997) and Berto *et al.* (2014). Morphological observations, line drawings, photomicrographs and measurements were made using an Olympus BX binocular microscope coupled to a digital camera Eurocam 5.0. Line drawings were edited using two software applications from CorelDRAW® (Corel Draw Graphics Suite, Version 11.0, Corel Corporation, Canada), specifically Corel DRAW and Corel PHOTO-PAINT. All measurements are in micrometres and are given as the range followed by the mean in parentheses. *Abbreviations*: total number of measurements [n], micropyle [M], oocyst residuum [OR], polar granule [PG], Stieda body [SB], substieda body [SSB], parastieda body [PSB], sporocyst residuum [SR], sporozoite [SZ], refractile body [SRB], nucleus [N].

Results

Five *A. rufus* were captured and examined between the years 2007 to 2014; however, only one captured in July 25, 2014, was positive for coccidia.

***Isospora attilae* n. sp.**

Type host. Grey-hooded attila *Attila rufus* (Vieillot, 1819) (Aves: Passeriformes: Tyrannidae).

Type locality. Marambaia Island (23°04'S, 43°53'W), Rio de Janeiro, Brazil.

Site of infection. Not investigated

Type-material. Oocysts in 70–100% ethanol, phototypes and line drawings are deposited and available (<http://r1.ufrj.br/lcc>) in the Parasitology Collection of the Laboratório de Coccídios e Coccidioses, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Photographs of the type-host specimens (symbiotypes) are deposited in the same collection. The repository number is P-57/2015.

Etymology. The specific epithet is derived from the generic name of the type host.

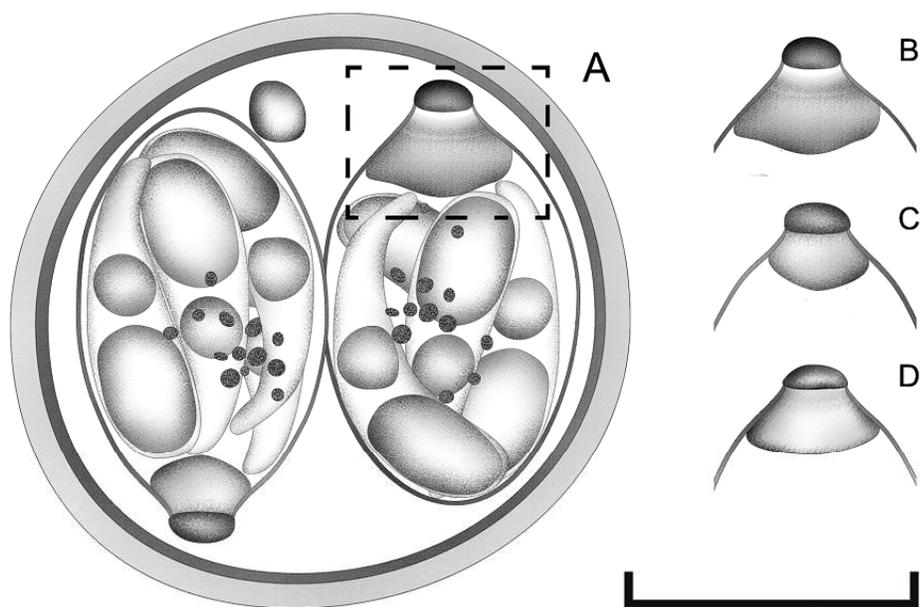


FIGURE 1. Line drawings of *Isospora attilae* n. sp., a new coccidium species recovered from the grey-hooded attila, *Attila rufus*. (a) sporulated oocyst with its respective variations of (b–d) Stieda and substieda bodies. Scale-bar: 10µm.



FIGURE 2. Photographs (a–c) of sporulated oocysts of *Isospora attilae* n. sp., a new coccidium species recovered from the grey-hooded attila, *Attila rufus*. Scale-bar: 10µm.

Description (Figs 1a–c; 2a–c). Oocyst shape (n = 17) sub-spherical to ellipsoidal; oocyst wall bilayered; wall thickness 1.3 (1.1–1.5); outer wall smooth, c.2/3 of total thickness; L × W = 20.3 × 19.0 (18–22 × 18–21), L/W ratio = 1.07 (1.0–1.2); M, and OR absent, PG present, one or two. Sporocyst shape (n = 13) ellipsoidal; L × W = 13.5 × 7.9 (12–15 × 7–9); L/W ratio = 1.73 (1.6–1.9); SB present, knob-like, 1.0 high × 2.0 wide; SSB present, rounded to trapezoidal, 2.5 high × 4.0 wide; PSB absent; SR present, composed of granules of different sizes; SZ vermiform with 1 posterior SRB and centrally located N.

Remarks. *Isoospora attilae* differs from other *Isoospora* species from the passerines of same family (Table 1). *Isoospora mionectesi* has oocysts and sporocysts larger than *I. attilae*. *Isoospora ferox* is very similar to *I. attilae*, however, it can be distinguished by SB flattened and ovoidal shape of sporocyst (Berto *et al.*, 2009a; Berto *et al.* 2009b).

TABLE 1. Comparative morphology of *Isoospora attilae* n. sp. and *Isoospora* spp. recorded from Tyrannidae in New World.

Coccidia	Host	Reference	Oöcysts				
			Shape	Measurements (µm)	Shape index	Wall (µm)	Polar granule
			sub-spheroidal	18.7 × 18.0 (18–20 × 17–20)	1.1 (1.0–1.1)	c. 1.2	present usually 2
<i>Isoospora mionectesi</i>	<i>Mionectes rufiventris</i> Cabanis, 1846	Berto <i>et al.</i> (2009b)	ellipsoidal	28.3 × 21.2 (23–31 × 19–23)	1.3 (1.2–1.4)	bi-layered, c.1.3	present, 1 or 2
<i>Isoospora attilae</i>	<i>Attila rufus</i> (Vieillot, 1819)	current work	sub-spheroidal to ellipsoidal	20,3 × 19,0 (18–22 × 18–21)	1.07 (1.0–1.2)		present, 1 or 2

continued.

Coccidia	Host	Reference	Sporocysts				
			Shape	Measurements (µm)	Stieda body	Substieda body	Residium
<i>Isoospora ferox</i>			ovoidal	11.7 × 8.5 (11–13 × 8–10)	present flattened	present prominent,	diffuse
<i>Isoospora mionectesi</i>	<i>Mionectes rufiventris</i> Cabanis, 1846	Berto <i>et al.</i> (2009b)	elongate ellipsoidal	19.7 × 11.7 (17–22 × 10–13)	present rounded	present prominent	subspherical, compact
<i>Isoospora attilae</i>	<i>Attila rufus</i> (Vieillot, 1819)	current work	ellipsoidal	13,5 × 7,9 (12–15 × 7–9)	present knob like	present rounded to trapezoidal	diffuse

Discussion

Unlike other families in the Passeriformes from which only parasites in the genus *Isoospora* have been reported the Tyrannidae are also hosts to two species of *Eimeria* including: (1) *Eimeria divinolimai* Berto, Flausino, Ferreira and Lopes, 2008 from the rufous Casiornis *Casiornis rufus* (Vieillot, 1816); and (2) *Eimeria sicki* Berto, Luz, Flausino, Ferreira and Lopes, 2009 from *M. ferox* (Berto *et al.* 2011).

Another point of interest is the inconsistent systematic of Passeriformes. In this case for *M. rufiventris*, which remains classified into Tyrannidae, according to IUCN (2015) and BirdLife International (2015); however, this same species is classified in Rhynchocyclidae, according to CBRO (2014). These discordances hinder the comparisons and identifications of parasites, mainly coccidia, which have known parasitism specific to the family of the host (Duszynski & Wilber, 1997; Berto *et al.*, 2011). Thus, regardless of a true classification, the fact is that *M. rufiventris* is close to the tyrant-flycatchers; and, for that reason, its coccidium *I. mionectesi* was added for the morphological comparative study.

Comparison of *I. attilae* with isosporan species from related hosts (Table 1) clearly supports the designation as a unique species. Therefore, *I. attilae* is considered as new to science, being the third description in a New World tyrant-flycatcher.

Acknowledgements

This study was supported by grants from the Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de

Janeiro (FAPERJ). We also thank the Brazilian Navy, especially to the command of CADIM (Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia) that allowed us to access the Marambaia Island, located in Rio de Janeiro State, Brazil, and use some of the facilities of CADIM during the field work. Field-collecting permits were issued to B.P. Berto by SISBIO/ICMBio (license No. 42798-1) and C.W.G. Lopes by CEUA/UFRRJ (protocol No. 036/2014)

References

- Berto, B.P., Flausino, W., Ferreira, I. & Lopes, C.W.G. (2008) *Eimeria divinolimai* sp. n. (Apicomplexa: Eimeriidae) in the *Casiornis rufus* Vieillot, 1816 (Passeriformes: Tyrannidae) in Brazil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, 17 (1), 33–35.
- Berto, B.P., Luz, H.R., Flausino, W., Ferreira, I. & Lopes, C.W.G. (2009a) New species of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the short-crested flycatcher *Myiarchus ferrox* (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. *Systematic Parasitology*, 74, 75–80.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11230-009-9197-3>
- Berto, B.P., Flausino, W., Luz, H.R., Ferreira, I. & Lopes, C.W.G. (2009b) *Isoospora mionectesi* sp. nov. (Apicomplexa, Eimeriidae) from the grey-hooded flycatcher, *Mionectes rufiventris* in Brazil. *Acta Parasitologica*, 54 (4), 301–304.
<http://dx.doi.org/10.2478/s11686-009-0053-z>
- Berto, B.P., Flausino, W., McIntosh, D., Teixeira-Filho, W.L. & Lopes, C.W.G. (2011) Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, 80 (3), 159–204.
<http://dx.doi.org/10.1007/s11230-011-9317-8>
- Berto, B.P., McIntosh, D. & Lopes, C.W.G. (2014) Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23, 1–15.
<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612014001>
- BirdLife International (2015) Species factsheet: *Attila rufus*. Available from: <http://www.birdlife.org> (accessed 11 March 2013)
- CBRO (2014) Listas das aves do Brasil. Available from: <http://www.cbro.org.br> (accessed 11 March 2013)
- Duszynski, D. & Wilber, P. (1997) A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of parasitology*, 83, 333–336.
<http://dx.doi.org/10.2307/3284470>
- IUCN (2013) International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Available from: <http://www.iucnredlist.org> (accessed 11 March 2013)
- Lopes, B.B., Berto, B.P., Ferreira, I., Luz, H.R. & Lopes, C.W.G. (2013) Coccidial distribution from passerines in an area of Atlantic Forest in Marambaia Island, Rio de Janeiro, Brazil. *Coccidia*, 1, 10–16.
- Sick, H. (1997) *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 862 pp.



A new coccidian, *Isoospora parnaitatiaiensis* n. sp. (Apicomplexa, Eimeriidae), from the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera* (Passeriformes, Thamnophilidae) from South America

Lidiane Maria da Silva¹ · Mariana Borges Rodrigues¹ · Bruno do Bomfim Lopes² · Bruno Pereira Berto³ · Hermes Ribeiro Luz⁴ · Ildemar Ferreira³ · Carlos Wilson Gomes Lopes⁴

Received: 10 June 2015 / Accepted: 19 October 2015
© Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2015

Abstract A new coccidian species (Protozoa: Apicomplexa: *Isoospora*) parasitizing the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) is described in the Parque Nacional do Itatiaia. This park is a protected area in southeastern Brazil with a high degree of vulnerability, representing a “conservation island” of biodiversity. *Isoospora parnaitatiaiensis* n. sp. has oocysts that are ellipsoidal, 23.8 × 19.4 μm, with smooth, bilayered wall, ~1.1 μm thick. Micropyle and oocyst residuum are absent, but one or two polar granules are present. Sporocysts are ellipsoidal, 14.6 × 9.3 μm. The Stieda body is nipple- to knob-like and sub-Stieda body rounded to rectangular. Sporocyst residuum is present, usually as a cluster of numerous granules. Sporozoites are vermiform with two refractile bodies and a nucleus. This is the second isosporoid coccidian described from antbirds (Thamnophilidae).

Keywords Oocysts · Coccidia · Morphology · Passerines · Parque Nacional do Itatiaia · Conservation · Brazil

✉ Bruno Pereira Berto
bertobp@ufrj.br

¹ Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brazil

² Programa de Pós-graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, UFRRJ, BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brazil

³ Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, UFRRJ, BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brazil

⁴ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, BR-465 km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brazil

Introduction

The Thamnophilidae family is comprised of small passerines often observed capturing ants and other arthropods in dense vegetation. Because of this behavior, they are named “antbirds” (Wiens 1989). The South American forest on the Atlantic coast and the Amazon are two major distribution areas of the Thamnophilidae family (Zimmer and Isler 2003).

The white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) is common in the understory of tropical moist forests, secondary forests, and forest edges and occurs from the state of Bahia to Rio Grande do Sul, in Brazil, as well as the east of Paraguay and Misiones, Argentina (Sick 1997; BirdLife International 2012).

The Parque Nacional do Itatiaia (PNI) is located in the Serra da Mantiqueira on the border of the states of Rio de Janeiro, Minas Gerais, and São Paulo. It is a protected area with a high degree of vulnerability and is considered a “conservation island” of biodiversity (ICMBIO 2015).

To date, only one coccidian species had been reported from Thamnophilidae. *Isoospora sagittulae* McQuiston & Capparella, 1992 was originally described from the spotted antbird *Hylophylax naevioides* (Lafresnaye, 1847) (McQuiston and Capparella 1992) collected in the rain forests of northwestern Ecuador. Recently, this same isosporoid species was reported from the white-throated antbird *Gymnophrys salvini* (Berlepsch, 1901) and from the common scale-backed antbird *Willisornis poecilinotus* (Cabanis, 1847) in the Brazilian Amazon. These reports demonstrate the occurrence of this parasite in non-sympatric birds of the same family but from different genera that inhabit opposite sides of the Andes and of the Amazon River (Berto et al. 2014a).

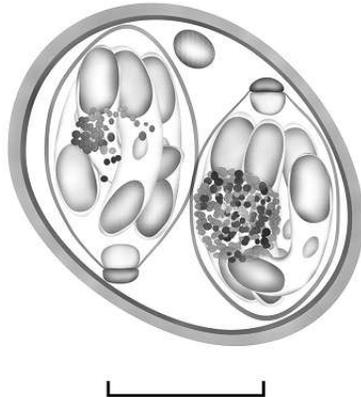


Fig. 1 Line drawing of *Isospora parnaitaiensis*, a new coccidium species recovered from the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera*. Scale bar 10 μ m

The aim of this study was to examine the feces from white-shouldered fire-eyes *P. leucoptera* to determine what coccidian parasites were present. These *P. leucoptera* specimens were captured in and around the PNI boundaries, in southeastern Brazil.

Materials and methods

A total of four sample periods were conducted in and around the PNI boundaries. Sampling occurred in August (22° 25' 46" S, 44° 37' 17" W), November (22° 26' 57" S, 44° 36' 25" W), December 2014 (22° 27' 20" S, 44° 36' 28" W), and March 2015 (22° 27' 38" S, 44° 35' 34" W). A total of eight *P. leucoptera* were captured. The birds were kept in individual boxes and feces collected immediately after defecation. After identification of the species, the bird was released and stool samples were placed in centrifuge tubes containing a potassium dichromate 2.5 % ($K_2Cr_2O_7$) solution at 1:6 (v/v). Samples were carried to the Laboratório de Coccidios e Coccidioses, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Samples were incubated at room temperature for

10 days or until ~70 % of the oocysts were sporulated. Oocysts were isolated by flotation in Sheather's sugar solution (specific gravity, 1.20) and examined microscopically using the technique described by Duszynski and Wilber (1997) and Berto et al. (2014b). Morphological observations, line drawings, photomicrographs, and measurements were made using an Olympus BX binocular microscope coupled to a digital camera Eurocam 5.0. Line drawings were edited using two software applications from CorelDRAW® (Corel Draw Graphics Suite, Version 11.0, Corel Corporation, Canada), specifically Corel DRAW and Corel PHOTO-PAINT. All measurements are in micrometers and are given as the range followed by the mean in parentheses.

Results

Eight *P. leucoptera* were captured and examined, and three were positive for coccidia. All observed oocysts were characteristic of *Isospora*, which is described and named as follows:

***Isospora parnaitaiensis* n. sp.** (Figs. 1 and 2a–c).

Type-host: White-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera* (Vieillot, 1818) (Aves: Passeriformes: Thamnophilidae).

Type-specimens: Oocysts in 70–100 % ethanol, phototypes and line drawings are deposited and available (<http://ri.ufrj.br/lcc>) in the Parasitology Collection of the Laboratório de Coccidios e Coccidioses, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Photographs of the type-host specimens (symbiotypes) are deposited in the same collection. The repository number is P-59/2015.

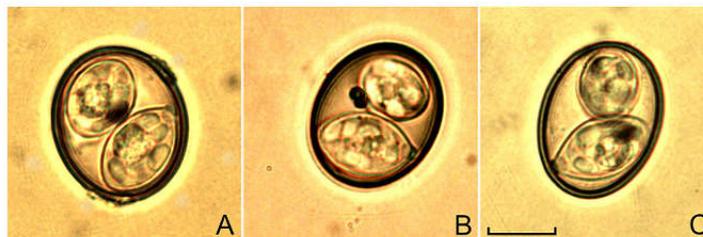
Type-locality: Parque Nacional do Itatiaia (22° 27' S, 44° 35' W), southeastern Brazil.

Site of infection: Unknown.

Etymology: The specific epithet is a homage to the Parque Nacional do Itatiaia, which is the first national park in Brazil (founded in 1937).

Description of the sporulated oocyst: Oocyst ($n=23$) ellipsoidal, 22–27 \times 18–21 (23.8 \times 19.4); length/width (L/W) ratio 1.1–1.5 (1.23). Wall bi-layered, 1.0–1.2 (1.1) thick, outer layer smooth, $c.2/3$ of total thickness. Micropyle and oocyst residuum both absent, but one or two polar granules are present.

Fig. 2 Photomicrographs (a–c) of sporulated oocysts of *Isospora parnaitaiensis*, a new coccidium species recovered from the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera*. Scale bar 10 μ m



Description of the sporocyst and sporozoites: Sporocysts ($n=22$) 2, ellipsoidal, 13–16×8–10 (14.6×9.3); L/W ratio 1.5–1.7 (1.6). Stieda body present, nipple-like to knob-like, 1.0 high×2.0 wide; sub-Stieda present, rounded to rectangular, 1.5 high×2.0 wide; para-Stieda body absent; sporocyst residuum present, usually as a distinctly ovoidal to ellipsoidal body consisting of numerous small granules that appear to be membrane-bounded, 5–6×4–5 (5.5×4.5). Sporozoites 4, vermiform, with anterior and posterior refractile bodies and centrally located nucleus.

Discussion

The PNI is characterized by mountains and rocky terrain with elevation ranging from 600 to 2791 at the peak of Agulhas Negras (ICMBIO 2015). The specimens of *P. leucoptera* were captured at all four sample sites at altitudes ranging from 600 to 1,200 m indicating that this antbird species is widely distributed in the PNI and a potential disperser of coccidia to other antbird species (Berto and Lopes 2013).

The results of this study reveal that the oocysts of *I. parmatatatiensis* are noticeably polymorphic in the characteristics of the sporocyst, Stieda and sub-Stieda bodies. In some oocysts, the sporocysts were observed more (40 %) (Fig. 2c) and in others less (60 %) (Fig. 2b) elongated. The Stieda body was observed sometimes as nipple-like (50 %) (Fig. 2a) and in others knob-like (50 %) (Fig. 2b). The sub-Stieda body was observed sometimes as rounded (85 %) (Fig. 2a) and in others rectangular (15 %) (Fig. 2b).

This polymorphism in the oocysts exposes the importance and complexity of identifying coccidian species. Currently, the identification of coccidia from Passeriformes has been based on different criteria by different authors. For example, prior to 1982, more than 100 species of passerines had been reported as hosts of *Isoospora lacazei* (Labbé, 1893). Therefore, based on available descriptions and on the improbability that a single species could parasitize so many hosts, Levine (1982) suggested the names *Isoospora passeris* Levine, 1982 for parasites of *Passer domesticus* Linnaeus, 1758 and *I. lacazei* for parasites of *Carduelis carduelis* Linnaeus, 1758. However, Al-Quraishy and Al-Nasr (2009) discussed whether all coccidia from passerines that were called *I. lacazei* were the same species. They concluded that diet influenced oocyst size in different passerines and that at least the species described from *P. domesticus* should be considered junior synonyms of *I. lacazei*. More recently, Dolnik et al. (2009) used a technique to isolate single oocysts and extract DNA for PCR and sequencing and found six different haplotypes of *Isoospora* from wild birds. They found both the same haplotype in different host individuals and various combinations of haplotypes in the

Table 1 Comparative morphology of *Isoospora* spp. recorded from New World antbirds (Thamnophilidae)

Coccidia	Hosts	References	Oocysts			Sporocysts			Residium				
			Shape	Measurements (µm)	Shape index	Wall	Polar granule	Shape		Measurements (µm)	Shape index	Stieda body	Sub-Stieda body
<i>Isoospora sagittatae</i> McQuisition & Capparella, 1992	<i>Hylophylax naevyoides</i> (Lafresnaye, 1847)	McQuisition and Capparella (1992)	Ovoidal to ellipsoidal	25–30×21–24 (27.5×21.8)	1.27	Bi-layered	Present, 1–3	Subspherical to ovoidal	13–16×12–13 (14.8×12.4)	1.19	Present, thin and dense	Present, triangular	Diffuse
			Ovoidal to ellipsoidal	27–31×20–24 (28.4×22.4)	1.27	Bi-layered	Present, 1–3	Subspherical to ovoidal	13–17×12–14 (15.0×12.6)	1.2	Thin and flattened, 0.5×2.0	Triangular to rounded, 2.5×5.0	Diffuse
<i>Isoospora parmatatatiensis</i> n. sp.	<i>Pyrgilona leucoptera</i> (Vieillot, 1818)	Current work	Ellipsoidal	22–27×18–21 (23.8×19.4)	1.23	Bi-layered	Present, 1–2	Ellipsoidal	13–16×8–10 (14.6×9.3)	1.6	Nipple-like to knob-like, 1.0×2.0	Rounded to rectangular, 1.5×2.0	Compact

same host individual. When they found oocysts that belonged to four different haplotypes in the feces of one passerine, they concluded that mixed infections with different haplotypes are rather common in wild birds. Finally, Duszynski and Wilber (1997) suggest that a new coccidian species should be compared by morphology and morphometry of the oocysts in detail with coccidian species that are feature-similar and belong to the same host family. In this sense, they put forward the concept of intra-familial specificity, which was reaffirmed by Berto et al. (2011) in New World passerines.

We agree with Al-Quraishy and Al-Nasr (2009) that there should be synonyms in some species of coccidia of passerines, especially those described in the same host at different times and conditions and without detailed description. In contrast, the idea that hundreds of *Isospora* spp. (distinct and identifiable morphologically) belong to a single species is inconsistent and may well be an obstacle to our knowledge of the coccidia of passerines.

At another extreme, the concept that slight genetic variation is sufficient to differentiate species brings confusion and an exponential amplification of the number of existing species. For example, Hafeez et al. (2014) described two new species from starlings *Lamprolaima superbus* Rüppell, 1845. In their work, they observed the same extra-intestinal stages and the same oocyst morphology. However, they obtained two distinct COI sequences (1.7 % divergence) and two distinct 18S rDNA sequences (0.6 % divergence), which they used as their basis for naming two new species. These findings do not approach with studies of other protozoa, as *Toxoplasma gondii* Dubey & Beattie, 1988 and *Paramecium* spp. which have more prudent and consistent criteria and approaches. *T. gondii* has a genetic divergence of 2–3 % in North American and European genotypes, with the exception of those ones of South America, which have much more genetic diversity due to older and hybridized population (Khan et al. 2014). In a study of the genetic diversity of *Paramecium* spp. using the COI gene, an intra-specific variation of 11 % was obtained, or rather, specimens with up to 11 % of genetic divergence were considered as the same species (Zhao et al. 2013). In this sense, we understand that small genotypic variations favored the polymorphism observed in oocysts of this work, although these morphological changes have been observed in sporocysts in a single oocyst. Therefore, if genetic variations actually exist, they should not be sufficient to describe other species, but genotypes within a single species. Moreover, Gruet et al. (1982) and Berto et al. (2014b) suggest that small variations in Stieda and sub-Stieda bodies may be a result of the sporulation process, the position of the sporozoite inside the sporocyst, or the position of their oocysts and sporocysts under the coverslip at the time of evaluation.

Thus, we opted to compare our new species with coccidian species that are feature-similar and belong to the same host family (Duszynski and Wilber 1997). The only other coccidian

species described in Thamnophilidae is *I. sagittulae*, which was originally described from *H. naevioides* in Ecuador and, recently, reported from the Amazonian antbirds *G. salvini* and *W. poecilnotus* (McQuiston and Capparella 1992; Berto et al. 2014a).

I. sagittulae (Table 1) differed from *I. parnaitaiensis* in having larger oocysts with sporocyst subspherical to ovoidal and Stieda body thin and flattened. Therefore, this species is easily distinguished from *I. parnaitaiensis*.

This finding emphasizes how little we know about the parasites of New World passerines. There are 186 Thamnophilidae species in Brazil, and so far, only three antbird species have been examined for coccidia and all have been found infected with at least one *Isospora*. Antbirds have wide geographic ranges (Berto et al. 2014a). Thus, our work encourages further studies to examine all other species in the family to determine the true coccidian fauna of this most interesting family of birds.

Based on the morphological features described above, *I. parnaitaiensis* is considered as new to science and the second isosporoid coccidian reported from a thamnophilid bird.

Acknowledgments This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação Carlos Chagas Filho do Rio de Janeiro (FAPERJ). Field-collecting permits were issued to B.P. Berto by SISBIO/ICMBio (license No. 45200–1) and C.W.G. Lopes by CEUA/UFRRJ (protocol No. 036/2014). We are thankful to the staff at the Parque Nacional do Itatiaia, mainly to the research coordinator Dr. Léo Nascimento.

References

- Al-Quraishy S, Al-Nasr I (2009) Validity of *Isospora lacazei* (Labbé, 1893) infecting the house sparrow, *Passer domesticus* (L.), in Saudi Arabia. *Parasitol Res* 105:1105–1108
- Berto BP, Lopes CWG (2013) Distribution and dispersion of coccidia in wild passerines of the Americas, p. 47–66. In: Ruiz L, Iglesias L (eds) *Birds: evolution and behavior, breeding strategies, migration and spread of disease*. Nova, New York, 175 pp
- Berto BP, Flausino W, McIntosh D, Teixeira-Filho WL, Lopes CWG (2011) Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Syst Parasitol* 80:159–204
- Berto BP, Lopes BB, Melinski RD, de Souza AHN, Ribas CC, de Abreu FHT, Ferreira I, Lopes CWG (2014a) Coccidial dispersion across trans- and cis-Andean antbirds (Passeriformes: Thamnophilidae): *Isospora sagittulae* (Apicomplexa: Eimeriidae) from nonsympatric hosts. *Can J Zool* 92:383–388
- Berto BP, McIntosh D, Lopes CWG (2014b) Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Rev Bras Parasitol Vet* 23:1–15
- BirdLife International (2012) *Pyrgilena leucoptera*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. Available from: <<http://www.iucnredlist.org>>. Accessed 02 Jun 2015

A new isosporoid coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) from the southern house wren *Troglodytes musculus* Naumann, 1823 (Passeriformes: Troglodytidae) from Brazil

Bruno doBomfim Lopes¹, Mariana Borges Rodrigues², Lidiane Maria da Silva², Bruno Pereira Berto^{3*}, Hermes Ribeiro Luz⁴, Ildemar Ferreira³ and Carlos Wilson Gomes Lopes^{4*}

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência, Tecnologia e Inovação em Agropecuária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil – Capes scholarship; ²Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil – Capes, CNPq scholarships; ³Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil; ⁴Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, BR-465 km 7, 23897-970 Seropédica, RJ, Brazil – FAPERJ scholarship, CNPq fellowship

Abstract

A new isosporoid coccidian species (Protozoa: Apicomplexa: Eimeriidae) is reported from the southern house wren *Troglodytes musculus*, a very well distributed species in South and Central America. *Isospora corruirae* sp. nov. oocysts are subspherical to ovoidal, 24.1 × 21.4 μm, with smooth, bilayered wall. Micropyle and oocyst residuum are absent, but small spherules and splinter-like granules are frequently present. Sporocysts are ovoidal to piriform, 14.0 × 9.5 μm. Stieda body is prominent knob-like and substieda body is delicate. Sporocyst residuum is composed of scattered fragments of different sizes. Sporozoites are vermiform with posterior refractile bodies, anterior striations and a nucleus. This is the second description of an isosporoid coccidium infecting a New World wren.

Keywords

Morphology, taxonomy, coccidia, *Isospora*, oocysts, Passeriformes, Troglodytidae, Marambaia Island, Rio de Janeiro, Brazil

Introduction

Many species of *Isospora* have been reported and described in passerine birds (Berto *et al.* 2011) in the American continent, but in wrens the first described species was done by Keeler *et al.* (2012) in Costa Rica, Central America.

The wrens (Troglodytidae) include over 60 species and subspecies and are found throughout the American continent with a single species *Troglodytes troglodytes* (Linnaeus, 1758) reported in Eurasia and Northern Africa (BirdLife International 2012). Southern house wren *Troglodytes musculus* Naumann, 1823 is found through South and portions of Central America from Southeastern Yucatan, Mexico to Argentina. In Brazil, this species is very common in different biomes as Amazonian, Cerrado, Caatinga, Pampas, Pantanal and Atlantic forestry, including Costal Islands (CBRO 2014). This endemic bird was considered to be a separate species from *Troglodytes aedon* Vieillot, 1809 (CBRO 2014). It is found in the under-

growth and near the ground in humid forest, lowlands, and seems to be quite a shy bird. It feeds on invertebrates, and will follow army-ant swarms, but it also takes some fruits (Sick 1997, CBRO 2014, BirdLife International 2012).

The current study describes a new coccidian species infecting southern house wren *T. musculus* on the Marambaia Island, Southeastern Brazil.

Materials and Methods

A total of thirteen outings were conducted in Marambaia Island (23°04' S, 43°53' W), for capturing birds with mist nets and sample collections. These sampling occurred in distinct periods between the years 2007 to 2014, including sampling related by Lopes *et al.* (2013). Throughout the entire period, only two *T. musculus* were captured. These birds were kept in individual boxes and feces collected immediately after defe-

*Corresponding author: bertobp@ufrj.br or lopecswg@ufrj.br

cation. After identification of the species, the bird was released and stool samples were placed in centrifuge tubes containing 2.5% potassium dichromate solution ($K_2Cr_2O_7$) 1:6 (v/v). Samples were sent to the Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Samples were incubated at 23–28°C for 10 days. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (Specific gravity: 1.20) and examined microscopically using the technique described by Duszynski and Wilber (1997) and Berto *et al.* (2014). Morphological observations, line drawings, photomicrographs and measurements were made using an Olympus BX binocular microscope coupled to a digital camera Eurocam 5.0. Line drawings were edited using two software applications from CorelDRAW® (Corel Draw Graphics Suite, Version 11.0, Corel Corporation, Canada), specifically Corel DRAW and Corel PHOTO-PAINT. All measurements are in micrometres and are given as the range followed by the mean in parentheses. Abbreviations: total number of measurements [n], micropyle [M], oocyst residuum [OR], polar granule [PG], Stieda body [SB], substieda body [SSB], parastieda body [PSB], sporocyst residuum [SR], sporozoite [SZ], refractile body [SRB], nucleus [N].

Results

Two southern house wrens were examined; one of them shed oocysts in the feces. Initially, the oocysts were non-sporulated, but 70% of them sporulated by day four.

Isospora corruirae sp. nov. (Fig. 1a–c)

Description of sporulated oocyst: Oocyst shape (N = 9): subspherical to ovoidal; number of walls: 2; wall thickness: 1.1 (1.0–1.2); outer wall smooth, about 2/3 of total thickness; L × W: 24.1 × 21.4 (22–26 × 19–23), with L/W ratio: 1.1 (1.1–1.2); M and OR: absent; PG: absent or present as small spherules and splinter-like granules.

Description of sporocyst and sporozoites: Sporocyst shape (N = 9): ovoidal to piriform; L × W: 14.0 × 9.5 (13–15 × 9–11); L/W ratio: 1.47 (1.36–1.51); SB: present, prominent knob-like, ~ 1.0 × 1.5; SSB: present, delicate, rounded to trapezoidal, ~ 1.5 × 2.5; PSB: absent; SR: present, and composed of scattered spherules of different sizes; SZ: vermiform with posterior SRB, N and striations.

Type-host: southern house wren *Troglodytes musculus* Naumann, 1823 (Passeriformes: Troglodytidae).

Type-locality: Marambaia Island (23°04' S, 43°53' W), Rio de Janeiro, Brazil.

Material deposited: Phototypes and line drawings of the sporulated oocysts are deposited and available (<http://r1.ufrj.br/lcc>) in the Parasitology Collection of the Laboratório de Coccídios e Coccidioses, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Photographs of the type-host specimen (symbiotype) are deposited in the same collection. The repository number is P-62/2015.

Site of infection: Unknown. Oocysts collected from fecal samples.

Prevalence: 50% (1 of 2 examined birds).

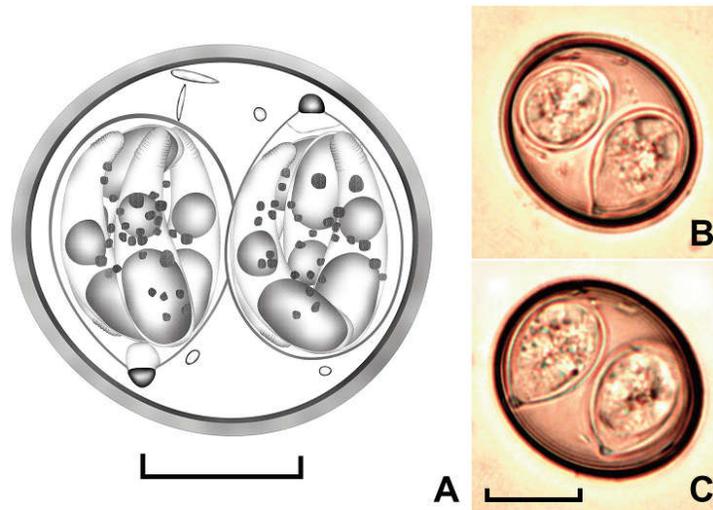


Fig. 1. Oocysts of *Isospora corruirae*, a new coccidian species collected from the feces of the southern house wren *Troglodytes musculus*. A. Composite line drawing; B–C. Photomicrographs. Scale-bar: 10 μ m

Author's copy

Table 1. Comparative morphology of *Isospora* spp. recorded from troglodytid passerines (wrens)

Coccidia	Hosts	References			Sporocysts					
		Shape	Measurements (µm)	Shape index	Polar granule	Shape	Measurements (µm)	Stieda body	Substieda body	Residuum
<i>Isospora</i> sp.	<i>Troglodytes aedon</i> Vieillot, 1809	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Isospora</i> sp.	<i>Troglodytes troglodytes</i> (Linnaeus, 1758)	Svobodova (1994)	19.3 × 20.1 (18-22 × 18-21)	-	present	ovoidal	-	flat	medium	diffuse
<i>Isospora troglodytes</i> Keeler, Yabsley, Fox, McGraw, Hernandez, 2012	<i>Thryophilus rufalbus</i> (Lafresnaye, 1845); <i>Cantorchilus modestus</i> (Cabanis, 1861)	Keeler et al. (2012)	20.1 × 23.4 (18-24 × 20-26)	1.2	present, single, 2-3 µm	ovoidal	9.5 × 15.5 (7-12 × 12-18)	present, nipple-like	present, prominent oval shaped	compact
<i>Isospora cornuira</i> sp. nov.	<i>Troglodytes musculus</i> Naumann, 1823	current work	24.1 × 21.4 (22-26 × 19-23)	1.13 (1.06-1.18)	absent or present, small spherules and splinter-like granules	ovoidal to piriform	14.0 × 9.5 (13-15 × 9-11)	present, prominent knob-like, ~ 1.0 × 1.5 µm	present, delicate, rounded to trapezoidal, ~ 1.5 × 2.5 µm	diffuse

Author's copy

Etymology: The specific epithet is derived from the common local name for the host, which is 'corruira'.

Remarks: As observed in the host-family Troglodytidae, *Isospora troglodytes* Keeler, Yabsley, Fox, McGraw, Hernandez, 2012 have ovoidal oocysts with two PG, while *I. corruirae* have subspherical to ovoidal oocysts with small spherules or splinter-like granules. Additionally, *I. troglodytes* have sporocysts with SB nipple-like, SSB prominent ovoidal and SR compact, while *I. corruirae* have sporocysts with SB prominent knob-like, SSB delicate, SR composed of scattered spherules of different sizes. *Isospora troglodytes* SZ is smooth with a single nucleus, while *I. corruirae* SZ is vermiform with striations on anterior surface, posterior SRB and a N (Keeler *et al.* 2012) (Table 1).

Discussion

Few coccidia have been reported in birds of the family Troglodytidae; however, those coccidia described in the New World assume greater importance due to the higher probability of transmission between sympatric passerines (Berto and Lopes 2013) as the Troglodytidae family which has very representative species of wrens across South, Central and North America (BirdLife International 2012). *Troglodytes musculus* has an extremely large range, having populations in various Brazilian biomes (CBRO 2014) and its species is distributed in the Americas and they can potentially disperse this coccidium between wrens across South, Central and North America (BirdLife International 2012).

The coccidium of the current study was compared in detail with coccidian parasites of New World and European wrens that are morphologically-similar and belong to the same host family (Keeler *et al.* 2012) even though isosporoid coccidia described in *T. aedon* from USA and *T. troglodytes* from Czech Republic, by Boughton *et al.* (1938) and Svobodova (1994) respectively, have inconsistent descriptions to be compared, besides they have not been identified or named (Table 1).

Based on Table 1, it can be concluded that *I. corruirae* is differentiated using the morphology and morphometry of the oocysts from *Isospora* spp. from passerines of same family. Therefore, *I. corruirae* is considered as new, being the second species description in a troglodytid passerine.

Received: July 1, 2015

Revised: December 8, 2015

Accepted for publication: January 18, 2016

Acknowledgements. This study was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), and Fundação Carlos Chagas Filho do Rio de Janeiro (FAPERJ). Field-collecting permits were issued to B.P. Berto by SISBIO/ICMBio (license No. 42798-1) and C.W.G. Lopes by CEUA/UFRRJ (protocol No. 036/2014). We also thank the Brazilian Navy, in special to the command of CADIM (Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia) that allowed us to access the Marambaia Island, located in the State of Rio de Janeiro, Brazil, and use some of the facilities of CADIM during the field work.

References

- Berto B. P., Flausino W., McIntosh D., Teixeira-Filho W. L., Lopes C.W.G. 2011. Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, 80, 159–204. DOI: 10.1007/s11230-011-9317-8
- Berto B. P., Lopes C. W. G. 2013. Distribution and Dispersion of Coccidia in Wild Passerines of the Americas. In: (Eds. L. Ruiz and L. Iglesias) Birds: Evolution and Behavior, Breeding Strategies, Migration and Spread of Disease. Nova Science Publishers, New York, USA, 47–66
- Berto B. P., McIntosh D., Lopes C.W.G. 2014. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23, 1–15. DOI: 10.1590/S1984-29612014001
- BirdLife International. 2012. *Troglodytes aedon*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015.2. Available from: <http://www.iucnredlist.org> (accessed 30 June 2015)
- Boughton D.C., Boughton, R.B., and Volk, J. 1938. Avian hosts of the genus *Isospora* (Coccidiida). *Ohio Journal of Science*, 38, 149–163
- CBRO. 2014. Lista das aves do Brasil. Available from: <http://www.cbro.org.br> (accessed 30 June 2015)
- Duszynski D., Wilber P. 1997. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, 83, 333–336. DOI: 10.2307/3284470
- Keeler S. P., Yabsley M. J., Fox J. M., McGraw S. N., Hernandez S. M. 2012. *Isospora troglodytes* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae), a new coccidian species from wrens of Costa Rica. *Parasitology Research*, 110, 1723–1725. DOI: 10.1007/s00436-011-2691-y
- Lopes, B. doB., Berto, B. P., Ferreira, I., Luz, H. R., Lopes, C. W. G. 2013. Coccidian distribution from passerines in an area of Atlantic Forest in Marambaia Island, Rio de Janeiro, Brazil. *Coccidia*, 1, 10–16
- Sick H. 1997. Ornitologia Brasileira. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Brazil, pp. 862
- Svobodova M. 1994. *Isospora*, *Caryospora* and *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) in passeriform birds from Czech Republic. *Acta Protozoologica*, 33, 101–108

Author's copy