

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

DISSERTAÇÃO

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

MARIANA BORGES RODRIGUES

2016



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

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

MARIANA BORGES RODRIGUES

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

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

MARIANA BORGES RODRIGUES

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

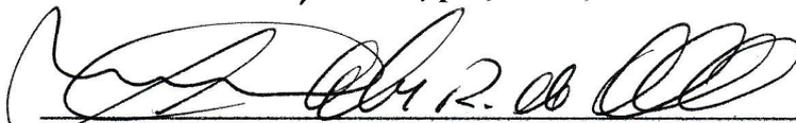
DISSERTAÇÃO APROVADA EM 19/02/2016



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

Ao Senhor meu Deus pai, fiel em todas as suas promessas, que guia e protege os meus caminhos.

Aos meus queridos pais Jurandir de Jesus Rodrigues e Célia Borges Rodrigues, pelas orações, apoio e incentivo.

A Juliana Borges Rodrigues e Rodrigues Reis e Davi Daniel Magalhães Reis pelas palavras amigas e companheirismo.

Aos familiares que me apoiaram e acreditaram em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os colegas que contribuíram direta ou indiretamente na obtenção dos dados de pesquisa e processamentos laboratoriais que permitiram a finalização deste trabalho.

Agradeço em especial ao Prof. Dr. Bruno Pereira Berto, do Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC), Departamento de Biologia Animal (DBA) do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), *Campus Seropédica*, RJ pela amizade, incentivo, atenção, direcionamento e esforços para que esta pesquisa alcançasse os seus objetivos.

Ao Prof. Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC), Departamento de Parasitologia Animal (DPA), UFRRJ, pelo direcionamento e precioso conhecimento compartilhado.

A Dra. Solange Viana P. B. Brandolini do DBA, ICBS, UFRRJ, pela oportunidade que me permitiu alcançar esse objetivo.

A discente do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Lidiane Maria da Silva pela amizade, companheirismo e apoio durante todo período de pesquisa.

Ao Dr. Hermes Ribeiro Luz, UFRRJ, pelo auxílio na identificação das aves.

A coordenação do Parque Nacional de Itatiaia (PNI), especialmente na pessoa do Dr. Léo nascimento, coordenador de pesquisa do PNI, por viabilizar o acesso ao parque e fornecer recursos e instalações durante o trabalho de campo.

A coordenaria de Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro em forma de Bolsa de Mestrado e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pelo apoio financeiro ao projeto.

BIOGRAFIA

MARIANA BORGES RODRIGUES, filha de Jurandir de Jesus Rodrigues e Celia Borges Rodrigues, brasileira, nasceu aos 24 de junho de 1991, no município de Nova Iguaçu, RJ. Iniciou sua vida profissional em 2006, ao ingressar no Curso Técnico em informática, e especialização em Webdesign no colégio João Paulo I, onde se formou técnica em 2008.

Em 2010, ingressou no curso de Ciências Biológicas da Universidade Castelo Branco (UCB), *Campus* Realengo, RJ. Foi estagiária no ICBS da UFRRJ de setembro de 2013 a junho de 2014, sob orientação do Prof. Dr. Bruno Pereira Berto.

Graduou-se como Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas no segundo semestre de 2014. Logo a seguir ingressou no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ em nível de mestrado.

*"Eu disse essas coisas para que em mim
vocês tenham paz. Neste mundo vocês terão
aflições; contudo, tenham ânimo! Eu venci o
mundo".*

Evangelho de João, cap. 16. v. 33,

Bíblia Sagrada.

RESUMO

RODRIGUES, Mariana Borges. **Espécies de coccídios em Thraupidae (Aves: Passeriformes) do Parque Nacional Do Itatiaia, RJ: Morfologia e Taxonomia.** 2016. 76p. Dissertação (Ciências Veterinárias). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Os coccídios são parasitas intracelulares obrigatórios, classificados no Subfilo Apicomplexa e ordem Eucoccidiorida, que tem fases diferentes em seus ciclos de vida. Em Passeriformes as espécies de *Isospora* Schneider, 1881 são as mais comuns, sendo a família Thraupidae uma das principais famílias-hospedeiras com 12 espécies descritas. O objetivo deste estudo foi identificar, caracterizar e quantificar os coccídios parasitos de Thraupidae do Parque Nacional do Itatiaia. *Isospora ramphoceli* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010 foi identificada em tiês-pretos *Tachyphonus coronatus* (Vieillot, 1822), o qual se tornou novo hospedeiro e o Parque Nacional do Itatiaia nova localidade para este coccídio. As intensidades de infecção em diferentes hospedeiros positivos foram altas, o que pode ser justificado pelo hábito alimentar frugívoro que favorece a transmissão feco-oral dos coccídios e por parte dos hospedeiros positivos habitarem em áreas antropizadas submetidas aos efeitos de borda de mata. Os oocistos foram caracterizados como uniformes em *T. coronatus* e morfologicamente e morfometricamente semelhantes a descrição original em *Ramphocelus bresilius dorsalis* Sclater, 1855 na Ilha da Marambaia, RJ. A especificidade de *I. ramphoceli* ocorreu em nível de família, pelo fato de *T. coronatus* e *R. b. dorsalis* estarem classificados entre os traupídeos.

Palavras chave: oocistos, coccidia, *Isospora ramphoceli*, *Tachyphonus coronatus*, *Ramphocelus bresilius dorsalis*, Thraupidae.

ABSTRACT

RODRIGUES, Mariana Borges. **Coccidian species from Thraupidae (Aves: Passeriformes) in the Itatiaia National Park, RJ: Morphology and Taxonomy.** 2016. 76p. Dissertation (Veterinary Science). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2016.

Coccidia are obligate intracellular parasites, classified in Subphylum Apicomplexa and order Eucoccidiorida, which has different stages in their life cycles. In Passeriformes, the coccidian species of *Isospora* Schneider, 1881 are the most common, being the family Thraupidae one of the major families, with 12 host species described. The aim of this study was to identify, characterize and quantify the coccidian parasites of Thraupidae in the Itatiaia National Park. *Isospora ramphoceli* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010 was identified in ruby-crowned tanagers *Tachyphonus coronatus* (Vieillot, 1822), which became a new host, and the Itatiaia National Park a new location for this coccidian species. The intensity of infection in different hosts were high, which can be justified by frugivorous feeding habits that favoring the feco-oral transmission of coccidia and by the positive hosts inhabit in disturbed areas susceptible to the effects of forest edge. The oocysts were characterized as uniform in *T. coronatus* and morphologically and morphometrically similar to the original description in *Ramphocelus bresilius dorsalis* Sclater, 1855 on the island of Marambaia, RJ. The specificity of *I. ramphoceli* occurred at the family level, because *T. coronatus* and *R. b. dorsalis* are included in the Thraupidae family.

Keywords: oocysts, coccidia, *Isospora ramphoceli*, *Tachyphonus coronatus*, *Ramphocelus bresilius dorsalis*, Thraupidae.

LISTA DE TABELAS

	Págs.
Tabela 1. Morfologia comparativa de <i>Isoospora</i> spp. recuperadas de traupídeos.....	13
Tabela 2. Aves da família Thraupidae capturadas no Parque nacional de Itatiaia por coleta de acordo com a espécie e à positividade de eliminação de oocistos nas fezes.....	41
Tabela 3. Distribuição e quantidade de oocistos por amostra de diferentes espécies de coccídios recuperadas de traupídeos do Parque Nacional de Itatiaia e índice de infecção.....	42
Tabela 4. Morfologia comparativa de <i>Isoospora ramphoceli</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010 recuperadas dos traupídeos <i>Tachyphonus coronatus</i> e <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i>	46
Tabela 5. Comparação morfométrica dos oocistos de <i>Isoospora ramphoceli</i> recuperados de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> da Ilha da Marambaia, RJ com diferentes amostras de <i>Tachyphonus coronatus</i> do Parque Nacional de Itatiaia, RJ.....	51
Tabela 6. Totalidade de oocistos por defecação (OoPD) obtidos por espécie hospedeira da família Thraupidae do Parque Nacional do Itatiaia.....	52

LISTA DE FIGURAS

Págs.

- Figura 1.** Desenho em linha de um oocisto esporulado (Apicomplexa: Eucoccidiorida: Eimeriidae) detalhando as principais estruturas que devem ser observadas, medidas e caracterizadas: (ow) diâmetro menor do oocisto; (ol) diâmetro maior do oocisto; (pg) grânulo polar; (or) resíduo do oocisto; parede do oocisto (row) áspera ou (sow) lisa; micrúpila (mil) na camada interna ou (mol) externa; (mc) capuz polar; (sw) diâmetro menor do esporocisto; (sl) diâmetro maior do esporocisto; (sb) corpo de Stieda; (ssb) corpo de Substieda; (psb) corpo de Parastieda; resíduo do esporocisto (csr) compacto ou (dsr) difuso; (sp) esporozoít0; corpo refrátil do esporozoít0 (prb) posterior e (arb) anterior; (n) núcleo do esporozoít0; e (str) estrias no esporozoít0. Extraído de Berto et al. (2014) 7
- Figura 2.** Oocisto esporulado de *I. traupis* de *Tangara palmarum*. Extraído de Lainson (1994). Escala = 10µm 14
- Figura 3.** Oocisto esporulado de *Isoospora andesensis* de *Chlorospingus ophthalmicus hiaticolus*. Extraído de Templar (2004). Escala = 10µm..... 15
- Figura 4.** Oocisto esporulado de *Isoospora iridosornisi* de *Iridosornis analis*. Extraído de Metzelaars et al. (2005). Escala = 10 µm 16
- Figura 5.** Oocisto esporulado de *Isoospora tiesangui* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Extraído de Berto et al. (2008b). Escala = 10 µm 16
- Figura 6.** Oocisto esporulado de *Isoospora marambaiensis* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Extraído de Berto et al. (2008b). Escala = 10 µm 17

Figura 7. Oocisto esporulado de <i>Isospora sepetibensisi</i> de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> . Extraído de Berto et al. (2008b). Escala = 10 μ m	18
Figura 8. Oocisto esporulado de <i>Isospora cadimi</i> de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> . Extraído de Berto et al. (2009a). Escala = 10 μ m	19
Figura 9. Oocisto esporulado de <i>Isospora navarroi</i> de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> . Extraído de Berto et al. (2009a). Escala = 10 μ m	19
Figura 10. Oocisto esporulado de <i>Isospora sanhaci</i> de <i>Tangara (Thraupis) sayaca</i> . Extraído de Berto et al. (2009b). Escala = 10 μ m	20
Figura 11. Oocisto esporulado de <i>Isospora sayaceae</i> de <i>Tangara (Thraupis) sayaca</i> . Extraído de Berto et al. (2009b). Escala = 10 μ m	21
Figura 12. Oocisto esporulado de <i>Isospora silvasouzai</i> de <i>Tangara (Thraupis) sayaca</i> . Extraído de Berto et al. (2009b). Escala = 10 μ m	21
Figura 13. Oocisto esporulado de <i>Isospora ramphoceli</i> de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> . Extraído de Berto et al. (2010c). Escala = 10 μ m.....	22
Figura 14. Pontos de coleta designados por datas (mês/ano) no Parque Nacional do Itatiaia. Imagem elaborada e extraída do software Google Earth.....	30
Figura 15. Redes de neblina em áreas de mata fechada	31
Figura 16. Redes de neblina em áreas antropizadas	31
Figura 17. Redes de neblina com malhas de 40mm (esquerda) e 20mm (direita).	32
Figura 18. Sacos de pano para transporte (A) e espécime capturado em rede de neblina (B).....	33

Figura 19. Caixas de papel para transporte de aves com base revestida de papel.....	33
Figura 20. Processamento em campo, coleta de dados sobre ambiente, e hospedeiros	34
Figura 21. Fotomicrografias de oocistos monospóricos e octozóicos recuperados de <i>Tachyphonus coronatus</i> . Escala =: 10 µm.....	40
Figura 22. Esquema morfológico dos oocistos <i>caryospora-simili</i> recuperados de <i>Tachyphonus coronatus</i> . Escala = 10 µm.....	40
Figura 23. Desenho esquemático do oocisto esporulado de <i>Isospora ramphoceli</i> recuperado de <i>Tachyphonus coronatus</i> do Parque Nacional de Itatiaia. Escala = 10 µm.....	44
Figura 24. Fotomicrografias de oocistos esporulados de <i>Isospora ramphoceli</i> recuperados de <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> na Ilha da Marambaia, RJ (A-C) (extraído de Berto et al. 2011b) e de <i>Tachyphonus coronatus</i> do Parque Nacional de Itatiaia (D-I). Escala = 10 µm.....	45
Figura 25. Histogramas das dimensões dos oocistos de <i>Isospora ramphoceli</i> , recuperados de <i>Tachyphonus coronatus</i> no Parque Nacional de Itatiaia: (A) diâmetros maior (cinza escuro) e menor (cinza claro); e (B) índice morfométrico	47
Figura 26. Regressão linear comparativa das dimensões dos oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de <i>Isospora ramphoceli</i> recuperados de dois hospedeiros distintos: <i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> na Ilha da Marambaia, RJ (vermelho) (adaptado de Berto et al. 2011b) e de <i>Tachyphonus coronatus</i> do Parque Nacional de Itatiaia (preto).....	49

LISTA DE ANEXOS

	Págs.
Anexo A. Autorização para atividade com finalidade científica.	63
Anexo B. Declaração de aprovação - Comissão de Ética no uso de Animais, Instituto de veterinária – UFRRJ.	67
Anexo C. Diário de registro de campo, para coleta de dados ambientais, características e observações.....	68
Anexo D. Padrões morfológico de oocitos de <i>I. ramphoceli</i> descritos de tiês-sangue <i>R. b. dorsalis</i> , na Ilha da Marambaia, RJ (BERTO et al. 2011b)	69
Anexo E. A new species of <i>Isospora</i> Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from The rey-hooded <i>Atila rufus</i> Vieillot, 1819 (Passeriformes Tyrannidae) on the Marambaia Island, Brazil.	70
Anexo F. A new coccidian, <i>Isospora parnaitatiaiensis</i> n. sp. (Apicomplexa, ieimeriidae), from the White-shouldered fire-eye <i>Pyriglena leucoptera</i> (Passeriformes, Thamnophilidae) from South America.	74
Anexo G. A new isosporoid coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Southern house wren <i>Troglodytes musculus</i> naumann, 1823 (Passeriformes: Troglodytidae) from Brasil. ..	78

LISTA DE ABREVIACÕES

ANOVA análise de variância

CEUA Comissão de Ética no Uso de Animais

CPGCV Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias

CPS corpo de Parastieda

CR corpo refrátil

CS corpo de Stieda

CSS corpo de Substieda

DBA Departamento de Biologia Animal

DM diâmetro maior do oocisto dm diâmetro menor do oocisto

DPA Departamento de Parasitologia Animal

EM diâmetro maior do esporocisto em diâmetro menor do esporocisto

GP grânulo polar

IB Instituto de Biologia

ICBS Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde

IM índice morfométrico do oocisto

IMe índice morfométrico do esporocisto

LCC Laboratório de Coccídios e Coccidioses

M micrópila

N núcleo

PO espessura da parede do oocisto

RE resíduo do esporocisto

RO resíduo do oocisto

UFRRJ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1. O COCCÍDIO	4
2.1.1. Classificação	4
2.1.2. Histórico	4
2.1.3. Morfologia	6
2.1.3.1. Oocisto.....	6
2.1.3.2. Esporocisto.....	8
2.1.3.3. Esporozóito.....	9
2.1.3.4. Polimorfismo.....	9
2.1.4. Biologia	10
2.1.5. Especificidade aos hospedeiros	11
2.1.6. Espécies	11
2.1.6.1. <i>Isospora thraupis</i> Lainson, 1994.....	14
2.1.6.2. <i>Isospora andesensis</i> Templar McQuiston, Capparella, 2004.....	14
2.1.6.3. <i>Isospora iridosornisi</i> Metzelaars, 2005.....	15
2.1.6.4. <i>Isospora tiesangui</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008.....	16
2.1.6.5. <i>Isospora marambaiensis</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008.....	17
2.1.6.6. <i>Isospora sepetibensis</i> Berto, Flausini, Luz, Ferreira, Lopes, 2008.....	17
2.1.6.7. <i>Isospora cadimi</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes 2009.....	18
2.1.6.8. <i>Isospora navarroi</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2009.....	19
2.1.6.9. <i>Isospora sanhaci</i> Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009.....	20
2.1.6.10. <i>Isospora sayacae</i> Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009.....	20

2.1.6.11. <i>Isospora silvasouzai</i> Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009.....	21
2.1.6.12. <i>Isospora ramphoceli</i> Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010.....	22
2.2. OS TRAUPÍDEOS.....	22
2.2.1. Classificação.....	22
2.2.2. Histórico.....	23
2.2.3. Sistemática.....	24
2.2.4. Ecologia.....	25
2.2.5. Distribuição geográfica.....	26
2.2.6. A coccidiose em pássaros.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	29
3.2. PESQUISA DE CAMPO.....	29
3.3. ATIVIDADE LABORATORIAIS.....	34
3.3.1. Processamento das amostras.....	34
3.3.2. Fotomicrografia dos oocistos.....	35
3.3.3. Oocistos por defecação (OoPD)	35
3.3.4. Identificação de coccídios e novos hospedeiros.....	36
3.3.5. Esquematização dos oocistos.....	36
3.5. TESTES ESTATÍSTICOS.....	36
3.5.1. Histograma.....	36
3.5.2. Análise de variância (ANOVA)	37
3.5.3. Regressão linear.....	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
4.1. SITUAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA.....	38
4.2. TRAUPÍDEOS CAPTURADOS E AMOSTRAS EXAMINADAS.....	38
4.3. ISOSPORA RAMPHOCELI BERTO, FLAUSINO, LUZ, FERREIRA, LOPES, 2009.....	43
4.3.1. Morfologia do oocisto, esporocisto e esporozoítio.....	43
4.3.2. Frequência em classes de dimensões dos oocistos.....	47
4.3.3. Distribuição das dimensões dos oocistos.....	48

4.3.4. Aspectos morfométricos comparativos dos oocistos esporulados recuperados dos diferentes hospedeiros.....	50
4.4. INTENSIDADES DE INFECÇÃO.....	51
5. CONCLUSÕES.....	53
6. REFERÊNCIAS.....	54
7. ANEXOS.....	63

1. INTRODUÇÃO

Os coccídios são protozoários de grande importância veterinária, podendo ser identificados em diversos organismos, de invertebrados a mamíferos. Estão atualmente localizados de acordo com o *Systema Naturae* (2000) no Subfilo Apicomplexa, Classe Conoidasina e ordem Eucoccidiorida, a qual dentre características principais está o parasitismo intracelular obrigatório. Alguns genes destes parasitas têm importância também para humanos, como *Toxoplasma* e *Cryptosporidium*, os quais são também infecciosos para mamíferos, sendo potencialmente transmitidos de um mamífero para outro (ECKERT, 1995).

Os coccídios são numerosos e diversos em animais domésticos, mas também de grande importância para animais silvestres. Estes parasitos podem sobreviver em diversos ambientes e tem diferentes fases em seu ciclo biológico, como os oocistos, que são os estágios exógenos de resistência que protegem os esporozoítos, as formas infectantes da coccidiose, presentes apenas quando os oocistos estão devidamente esporulados (MEHLHORN, 2011; BERTO et al., 2014). As características morfológicas desses oocistos tornam-se fundamentais na identificação e caracterização de cada uma das espécies, devendo-se também levar em consideração o ciclo biológico, o hospedeiro e a morfometria (BERTO et al., 2014).

As doenças que acometem pássaros são principalmente virais, bacterianas, micóticas e parasitárias. Dentre estas últimas, a coccidiose é considerada uma importante causa de enterite e morte em pássaros de todas as espécies. Normalmente os coccídios intestinais que parasitam aves pertencem aos gêneros *Eimeria* Schneider, 1875 e *Isospora* Schneider, 1881, estas podem ser assintomáticas ou apresentar sintomas como diarreia, desnutrição, astenia, penas arrepiadas e emagrecimento (VASCONCELOS et al., 2012; 2013).

Aproximadamente 98% dessas espécies são conhecidas somente a partir de uma fase do ciclo de vida, o oocisto esporulado, que tem um número limitado de caracteres estruturais (DUNSZYNSKI; WILBER, 1997). A afinidade ao hospedeiro, o ciclo de vida dos protozoários, a quantificação de oocisto nas defecações, patogenicidade e o

sequenciamento de nucleotídeos têm sido aliadas à identificação desses parasitos (TENTER et al., 2002; BERTO et al., 2014).

A especificidade destes parasitos em aves é em nível de família do hospedeiro e apesar da improvável transmissão entre espécies que habitam diferentes continentes ou ilhas, o comércio de aves exóticas, biopirataria, criações comerciais, reintroduções em ambiente silvestre, etc. podem promover ou facilitar a transmissão e dispersão dos coccídios. O tráfico de animais no Brasil inclui aproximadamente 12 milhões de animais por ano, sendo Psitaciformes e Passeriformes os mais comuns. Adicionalmente, a identificação falha de um parasita seguida da liberação do hospedeiro em ambiente silvestre diferente do original pode resultar na introdução de um diferente parasita em hospedeiros suscetíveis (COELHO et al., 2012; BERTO; LOPES, 2013).

Mesmo desconsiderando os impactos antrópicos, os coccídios encontrados em pássaros trazem alta relevância ao fato de que a transmissão de parasitos pode ocorrer entre aves simpátricas de uma mesma família. Uma abrangência geográfica de *Isospora* spp. de hospedeiros da família Thraupidae da América do Sul observou ampla biodiversidade de coccídios no tiê-sangue *Ramphocelus bresilius dorsalis* Sclater, 1855, sanhaçu-cinzento *Tangara (Thraupis) sayaca* Linnaeus, 1766, sanhaçu do coqueiro *Tangara palmarum* Wied, 1823 e saí-azul *Dacnis cayana* Linnaeus, 1766, garantindo transmissão e dispersão natural de *Isospora* spp. de traupídeos no Brasil e em outros países nas Américas do Sul e Central (BERTO; LOPES; 2013)

A família Thraupidae compõe atualmente a segunda maior família de pássaros, representando aproximadamente 4% de todas as espécies de aves e 12% da avifauna neotropical. Espécies dessa família mostram ampla variedade de plumagem, cores e padrões, comportamento de forrageamento, vocalizações, ecótipos e preferências de habitats; portanto, não há uma única característica física que defina este grupo claramente; as vocalizações não são muito variáveis durante o ano, emitindo o canto completo apenas e período reprodutivo e vivem em grupos, apesar de poderem ser visualizadas individualmente, também têm preferência por habitats caracterizados por vegetação em regeneração e áreas de vegetação aberta (SNOW, SNOW, 1971; SILVA, 1980; NASCIMENTO et al., 2010; BURNS et al., 2014).

O Parque Nacional do Itatiaia (PNI) está localizado no sul do estado do Rio de Janeiro e ao sul de Minas Gerais, abrangendo 28.156 hectares, cuja porção mais elevada da Serra da Mantiqueira está dentro dos municípios de Itatiaia e Resende (RJ), Bocaina de Minas e Itamonte (MG). O PNI possui ambiente diversificado que propicia tanto a

diversidade de espécies da flora quanto da fauna, possuindo áreas alteradas como florestas de regeneração e pastagens (RICHTER, 2004; AXIMOFF, 2011). Desta maneira a variedade de espécies de plantas frutíferas na região, que formam a base de alimentação da família Thraupidae, aumentam a probabilidade de identificação de coccídios em traupídeos da região. Além disso, a presença de espécies de aves endêmicas da Mata Atlântica nas áreas de entorno do PNI, indica a importância da área, recomendando-se assim, a sua manutenção e incremento (MAIA-GOUVÊA et al., 2005).

Este estudo teve por objetivo principal identificar, caracterizar e quantificar espécies de coccídios parasitas de aves Thraupidae no PNI. Os objetivos específicos foram: (1) Identificar as espécies de coccídios encontrados e suas respectivas intensidades de infecção em traupídeos 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.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. O COCCÍDIO

2.1.1. Classificação

Coccídios são protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa, Subclasse Coccidiasina e ordem Eucoccidiorida, cerca de um terço das espécies conhecidas pertencentes a Apicomplexa estão posicionadas taxonomicamente na família Eimeriidae (DUSZYNSKI; WILBER, 1997). De acordo com o *Systema Naturae* (2000) possuem a seguinte classificação:

Reino: Chromalveolata Adl et al., 2005

Filo: Myzozoa T. Cavalier-Smith, E.E. Chao, 2004

Subfilo: 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: *Isospora* Schneider, 1881

2.1.2. Histórico

O primeiro relato de descrição de um coccídio ocorreu ainda no século IX. Durante este período juntamente ao início do século XX, a classificação taxonômica dos protozoários se baseava apenas em organelas de locomoção. Posteriormente devido ao advento do conhecimento morfológico, da biologia e especificidade a hospedeiros, outras características foram assim aliadas a identificação destes organismos, incluindo coccidia (TENTER et al., 2002).

Anteriormente Apicomplexa era representado como filo Protozoa, ao qual agrupava a classe Sporozoa. Em 1879, Leuckart incluía na classe Sporozoa os coccídios e as gregarinas. Posteriormente em 1900, Schaudinn dividiu esta classe nas subclasses Haemosporidia e Neosporidia, nas quais outros grupos foram incluídos e Telosporidia onde os coccídios e gregarinas foram mantidos (WENYON, 1926).

Com o aprofundamento do conhecimento tornou-se claro que não haviam semelhanças suficientes para manter estes grupos em uma mesma classe, por este motivo em 1907 Hartmann estabeleceu duas classes, Neosporidia e Telosporidia. A classe Sporozoa foi resguardada mantendo os coccídios e gregarinas como inicialmente, juntamente com hemosporídeos e hemogregarinas que são definitivamente próximas aos coccídios (WENYON, 1926).

Atualmente o subfilo Apicomplexa é reconhecido pela proximidade aos dinoflagelados e ciliados, formando o grande grupo taxonômico Alveolata (MORRISON et al., 2009; BARTA; THOMPSON, 2006; YOON et al., 2008), reunindo gregarinas, coccídios, piroplasmas, hemosporídeos e, *Cryptosporidium* (BARTA et al., 2012).

De acordo com Barta e Thompson (2006), no grupo existem atualmente duas linhagens, uma restritamente para *Cryptosporidium* spp. relacionadas a gregarinas, e outra dos coccídios, incluindo a família Eimeriidae.

Eucoccidiorida se subdivide em Adelorina, nos quais se encontram os coccídios que ainda desenvolvem a sizígia, enquanto Eimeriorina inclui os organismos mais evoluídos, que desenvolvem gametogonia, processo que opostamente à sizígia, produz numerosos microgametas (BERTO et al., 2014).

Aproximadamente um terço das espécies conhecidas pertencentes ao subfilo Apicomplexa estiveram posicionadas na família Eimeriidae, que reúne vários gêneros com características distintas (DUSZYNSKI et al., 1997, 1999). Antes de estudos detalhados sobre a biologia dos coccídios e o advento de estudos moleculares, os gêneros de Eimeriorina foram separados de acordo com a proporção de esporocistos e esporozoítos por oocistos (BERTO, et al., 2014). Entretanto estudos baseados na morfologia e filogenia molecular consideraram a característica do complexo de Stieda como fundamental a Eimeriidae.

Jirku (2002) ressaltou CS e CSS como característica definitiva para o grupo dos eimerídeos. Com base em tais afirmações, os gêneros *Tyzzeria* Allen, 1936, *Pfeifferinella* von Wasielewski, 1904, *Caryospora* Léger, 1904 de aves de rapina,

Barroussia Schneider 1885, *Pseudoklossia* Léger e Duboscq, 1915 e *Aggregata* Frenzel, 1885 não são mais considerados como membros da família Eimeriidae, e foram incluídos em outras famílias (JIRKU et al., 2002).

Atualmente os únicos gêneros classificados em Eimeriidae, com base nessa característica, incluindo aqui também, o CPS como uma estrutura de excistamento são os gêneros *Eimeria*, *Isospora* e *Cyclospora* Schneider, 1881 (JIRKU et al., 2002; BERTO et al., 2014).

2.1.3. Morfologia

Devem ser observadas a maior quantidade de estruturas possíveis no diagnóstico destes organismos, associando caracteres morfométricos como o IM, que mostra uma tendência retilínea da forma dos oocistos tornando a caracterização de espécies mais precisa, além de caracteres qualitativos como a forma e a presença de estruturas diferenciais (HASSUM, 2007).

As principais características morfológicas que permitem a identificação do parasita nos níveis de gênero e espécie estão no oocisto, esporocisto e esporozoíto (DUSZYNSKI; WILBER, 1997; BERTO et al., 2010a).

Em se tratando de pássaros silvestres, foi elaborada uma chave de identificação para oocistos do gênero *Isospora* já descritos parasitando traupídeos, útil na diferenciação e identificação de espécies (BERTO et al., 2010b).

2.1.3.1. Oocisto

Podemos observar nestas formas, a espessura da PO externa, presença e forma de RO, GP, M (com ou sem capuz polar), DM e dm. O número de esporocistos nesses oocistos é fundamental para a identificação em nível de gênero, sendo possível a correta identificação morfológica da espécie estando esses devidamente esporulados (Figura 1).

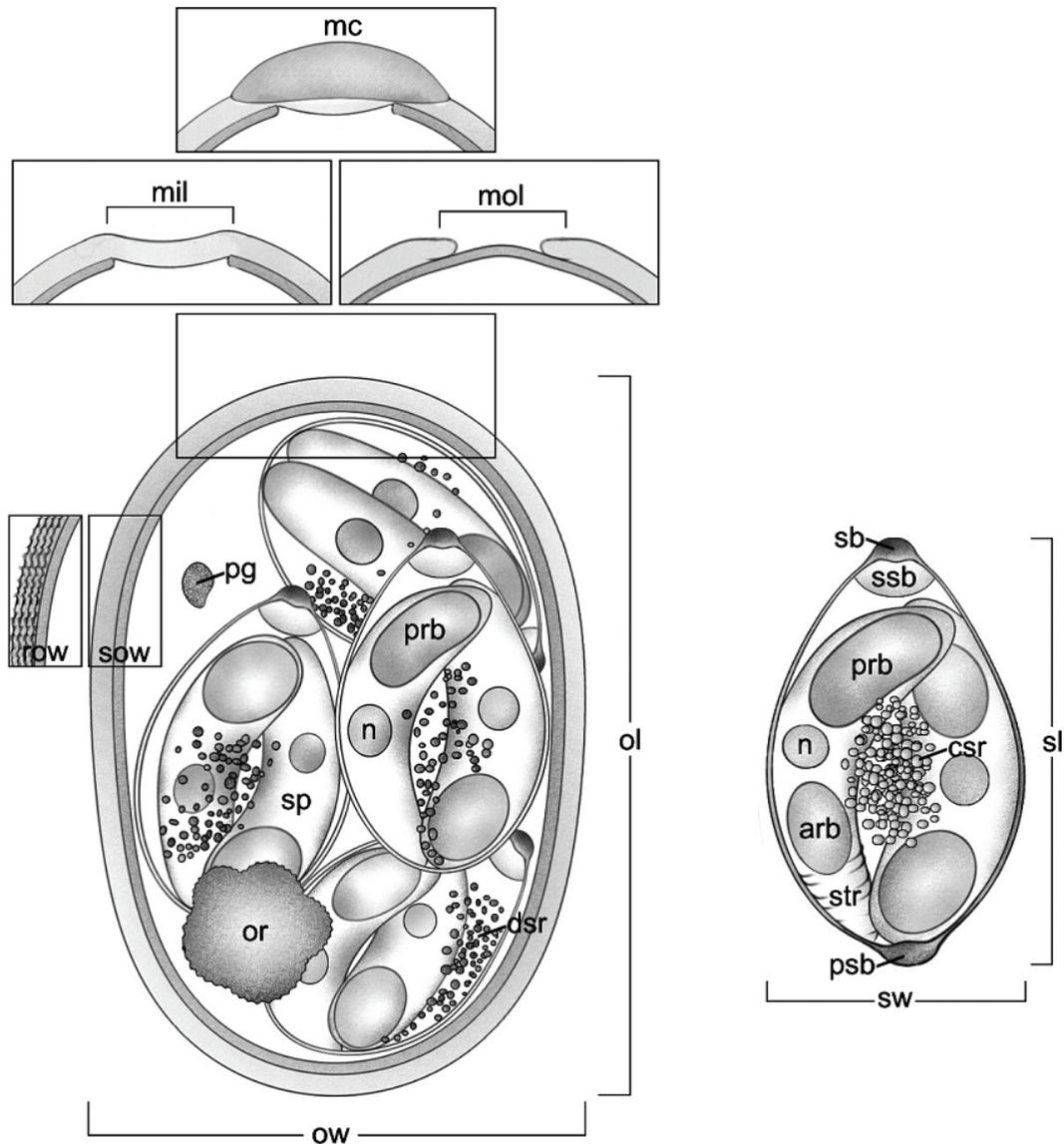


Figura 1. Desenho em linha de um oocisto esporulado (Apicomplexa: Eucoccidiorida: Eimeriidae) detalhando as principais estruturas que devem ser observadas, medidas e caracterizadas: (ow) diâmetro menor do oocisto; (ol) diâmetro maior do oocisto; (pg) grânulo polar; (or) resíduo do oocisto; parede do oocisto (row) áspera ou (sow) lisa; micropila (mil) na camada interna ou (mol) externa; (mc) capuz polar; (sw) diâmetro menor do esporocisto; (sl) diâmetro maior do esporocisto; (sb) corpo de Stieda; (ssb) corpo de Substieda; (psb) corpo de Parastieda; resíduo do esporocisto (csr) compacto ou (dsr) difuso; (sp) esporozoítio; corpo refrátil do esporozoítio (prb) posterior e (arb) anterior; (n) núcleo do esporozoítio; e (str) estrias no esporozoítio. Reproduzido de Berto et al. (2014).

Apesar do tamanho de um oocisto ser variável, o IM é um método preciso para comparação entre espécies, por refletir a forma desses oocistos (VIDAL et al., 2013).

A PO é formada por duas camadas envoltas numa membrana chamada véu exterior normalmente ausente nos oocistos maduros. A diferença na tonalidade entre as camadas pode auxiliar na identificação de espécies de *Eimeria*. A textura da PO pode variar entre lisa e áspera, porém, no caso de *Isospora* a PO é predominantemente lisa. A presença de estruturas protuberantes, como espinhos, projeções cônicas também devem ser observadas (BELLI et al., 2006; MAI et al., 2009)

Além destas características, é possível observar na PO a M, que é uma descontinuidade em uma das camadas da PO, mais comum em *Eimeria* e pode ainda ter um revestimento, denominado capuz polar.

O RO consiste em uma grande estrutura entre os esporocistos de forma compacta, regular ou irregular, formada por grânulos; os GP são menores que o RO e sempre densos (BERTO et al., 2014).

2.1.3.2. Esporocisto

Para a caracterização destas formas são fundamentais os EM e em, forma e espessura da parede, presença e morfologia do CS e CSS, presença do CPS, presença e forma de RE.

Os CS e CSS mostram um padrão característico para cada espécie do gênero *Isospora*, desta maneira torna-se fundamental uma descrição detalhada para identificação em nível de espécie. É importante também ao identificar estas estruturas observar algumas características, como filamentos, formações, projeções entre outras que devem ser caracterizadas.

O RE está presente na maioria das espécies descritas, podendo ser difuso entre os esporozoítos, uma massa compacta de grânulos envolta por uma membrana, ou em padrões dísticos como o formato de anel em *Isospora navarroi* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2009 (BERTO et al., 2014).

2.1.3.3. Esporozoítos

As principais características a serem observadas neste são a forma, geralmente vermiforme, a presença e forma dos CR e N geralmente centralizado. Algumas espécies apresentam estrias na região anterior, que são originadas pelos elementos do complexo apical.

Os CR podem ser únicos ou aparecer em pares, podem ser de subesféricos a alongados. O núcleo poder ser visível ou não (BERTO et al., 2014).

2.1.3.4. Polimorfismo

As variações morfológicas e morfométricas dentro de uma mesma espécie de coccídio pode ser resultante, por exemplo: a redução do desenvolvimento de um organismo em resposta a condições ambientais contrárias ao seu desenvolvimento, periódicas ou recorrentes que variam entre espécies e hospedeiros distintos e também a imunidade do hospedeiro. Este polimorfismo só pode ser devidamente observado em hospedeiros distintos (FAYER, 1980).

É possível observar também em grupos de um mesmo hospedeiro mantidos em condições distintas grande variação morfológica em uma mesma espécie, isso se dá em função das condições de cativeiro aliadas a outros fatores, como foi observado em oocistos de *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 em gansos domésticos por Berto et al. (2008a).

A variação de tamanho de um oocisto pode ser resultante de infecções maciças, mas também pode ser natural de acordo com o período e de potência do protozoário. A quantidade de oocistos liberados pode ser influenciada pelas más condições de vida em que um animal de cativeiro é mantido e também pelo potencial inerte do parasita, imunidade desenvolvida pelo hospedeiro, concorrência com as demais espécies parasitando o hospedeiro, resistência do animal, nutrição, estresse, coccidiostáticos e condições ambientais que alteram a esporulação dos oocistos, como também a dispersão destas formas infectantes (RAMIREZ, 2009).

Vidal (2013) observou que a idade do hospedeiro pode também influenciar na morfometria dos oocistos, mas não pôde observar diferenças na morfometria dos oocistos de acordo com a intensidade da infecção.

Em busca de variações intraespecíficas em hospedeiros diferentes, foram observados casos de alto grau de polimorfismo entre espécies de *Hammondia heydorni* entre caprinos jovens e adultos (PEREIRA et al., 2001).

2.1.4. Biologia

Coccídios são organismos capazes de sobreviver em diversos ambientes e tem fases diferentes de seus ciclos vitais. Durante a invasão de células hospedeiras, a membrana é empurrada para frente formando um vacúolo interno no interior da célula hospedeira, onde sua alimentação e propagação são protegidas de reconhecimento pelo sistema imune através de membrana e do citoplasma da célula hospedeira (MEHLHORN, 2011).

Este tipo de invasão celular necessita um sistema de organela funcional muito hábil, que produz substâncias que permitem penetração e alimentação (como conóides, roptrias, corpos densos, apicoplastos, microporos etc.), maior proteção é alcançada quando os chamados cistos teciduais se formam dentro de células hospedeiras como ocorrem com os coccídios formadores de cisto (Sarcocystidae).

No entanto o auge da proteção e resistência destes parasitas é alcançado pelas espécies que além de estágios intracelulares formam estágios exógenos com paredes fortes, denominados oocistos (MEHLHORN, 2011).

Oocistos de coccídios são estruturas de resistência que protegem os esporozoítos, que são as formas infectantes da coccidiose. Normalmente são liberados junto com as fezes do hospedeiro e por esta razão a caracterização morfológica dos oocistos tem sido usada para diagnóstico, descrições e estudos sistemáticos desde os primórdios da parasitologia (BERTO et al., 2014).

Os oocistos possuem outros sistemas fortificados denominados esporocistos, os quais são revestidos de paredes que oferecem mais proteção e garantem a sobrevivência por um longo período mesmo em condições de baixa umidade e alta ou baixa temperatura, apesar das paredes poderem ser danificadas por atividade bacteriana (MEHLHORN, 2011).

Quando estas formas de resistência ainda não passaram pelo processo de esporulação são inaptas a causar infecções. Nesta fase, a morfologia interna também não está claramente definida, são visíveis apenas um esporoplasma envolto por membrana,

contendo organelas e reservas de alimento, ainda sem os esporozoítos que são as formas infectantes.

Finalmente, o ciclo de vida dos coccídios de Eimeriidae se inicia com os esporozoítos, os quais são liberados de oocistos e esporocistos na luz do intestino. Os esporozoítos infectam as células do intestino e, sequencialmente um número de estágios previsto de divisões ocorre, produzindo merozoítos por merogonia (esquizogonia). Este ciclo assexuado é seguido por uma fase sexuada (gametogonia) em que merozoítos se desenvolvem em macro-gamontes ou em micro-gamontes. Microgametas fecundam as macrogametas os quais se desenvolverão em novos oocistos (BAKER et al., 1989).

2.1.5. Especificidade aos hospedeiros

Os coccídios são altamente específicos, característica que auxilia muito no diagnóstico e sistemática destes protozoários, pois muito raramente espécies completam ciclo biológico em mais de um hospedeiro (RAMIREZ et al., 2009). No entanto, o nível de especificidade destes parasitas em aves, principalmente Passeriformes, tem sido observado em nível de família do hospedeiro (BERTO et al., 2011a).

Especificamente em traupídeos, algumas *Isospora* spp. já foram observadas em dois ou mais hospedeiros, como o tiê-sangue *R. b. dorsalis*, saí-azul *D. cayana* e sanhaçu do coqueiro *T. palmarum*, os quais foram relatados como hospedeiros para as espécies *Isospora tiesangui* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008, *Isospora sepetibensis* Berto, Flausini, Luz, Ferreira, Lopes, 2008 e *I. navarroi*.

2.1.6. Espécies

Isospora spp. parasitos de traupídeos estão largamente dispersas nas Américas do Sul e Central. Essa informação torna-se mais relevante ao considerar que aves sul-americanas, nas quais coccídios foram descritos são simpátricas com outras aves que habitam todo o continente Americano (BOUGHTON, 1938).

Em 1938, ocorreu o primeiro relato de coccídios na família Thraupidae, o trabalho ressalta a importância da compreensão dos grupos de coccídios parasitando cada grupo de aves apesar destes não terem sido caracterizados neste trabalho. Dentre as

40 famílias estudadas, quatro traupídeos foram identificadas como hospedeiros: *T. palmarum*, *R. b. dorsalis*, *Ramphocelus carbo* Pallas, 1764, *Cissopis leveriana* Gmelin, 1788 (BOUGHTON, 1938).

Após este trabalho pioneiro, foram relatadas poucas espécies de *Eimeria* parasitando pássaros (BERTO et al., 2008c, 2009c); no entanto, centenas de espécies de *Isospora* foram e tem sido descritas a partir de pássaros ao longo dos anos.

Em traupídeos da América do sul foram descritas *Isospora thraupis* Lainson, 1994, *Isospora andesensis* Templar McQuiston, Capparella, 2004, *Isospora iridosornisi* Metzelaars, Spaargaren, McQuiston, Capparella, 2005, *I. tiesangui*, *Isospora marambaiensis* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008, *I. sepetibensis*, *I. navarroi*, *Isospora cadimi* Berto, Flausino, Luz, ferreira, Lopes 2009, *Isospora ramphoceli* Berto, Flausino, Luz, ferreira, Lopes, 2010, *Isospora sanhaci* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009, *Isospora sayacae* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009 e *Isospora silvasouzai* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009. As aves hospedeiras nas quais estas últimas foram descritas são simpátricas a outras aves que habitam as demais Américas, portanto estes parasitas devem se dispersar amplamente (BERTO; LOPES, 2013)

Tabela 1. Morfologia comparativa de *Isospora* spp. recuperadas de traupídeos.

Espécies hospedeiras	Referências	Oocistos					Esporcistos				
		Formato	Medidas (µm)	Índice morfométrico	Parede	Grânulo polar	Formato	Medidas (µm)	Corpo de Stieda	Corpo de Substieda	Resíduo
<i>Thraupis palmarum</i> Wied, 1821	LAINSON, 1994	subesférico	19.9 x 19.0 (19-21 x 19-20)	1 (1.0-1.1)	única	ausente	em forma de pêra	14.2 x 9.2 (14-16 x 9-10)	delicado	pequeno	compacto
<i>Chlorospingus ophthalmicus</i> Du Bus de Gisignies, 1847	TEMPLAR, 2004	subesférico	22.6 x 18.7 (20-24 x 17-20)	1.2 (1.1-1.3)	dupla	presente	ovóide	14.1 x 8.5 (13-15 x 8-9)	triangular	ausente	difuso
<i>Iridosornis analis</i> Tschudi, 1844	METZELAARS et al., 2005	ovóide	22.1 x 18.9 (20-25 x 16-23)	1.2 (1.1-1.3)	dupla	presente	ovóide	13.6 x 9.0 (9-17 x 8-11)	formato de bolha	formato de colar	difuso
<i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i> Sclater, 1855	BERTO et al., 2008b	subesférico	24.2 x 23.4 (22-26 x 21-26)	1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	ovóide	17.7 x 11.5 (17-19 x 11-13)	achatado	prominente	difuso
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2008b	subesférico	29.4 x 27.9 (27-31 x 26-29)	1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	elipsoidal	22.6 x 13.0 (21-24 x 12-14)	achatado	pequeno	difuso
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2008b	de subesférico a elipsoidal	25.5 x 23.8 (24-29 x 22-26)	1.1 (1.0-1.2)	dupla	presente, 1 ou 2	elipsoidal	16.9 x 11.0 (16-18 x 10-12)	formato de botão	prominente	difuso ou compacto
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2009a	subesférico	24.2 x 22.9 (22-26 x 21-24)	1.1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	ovóide	16.9 x 11.6 (15-18 x 10-13)	formato de mamilo	compartimentado	difuso
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2009a	subesférico	21.4 x 20.6 (19-24 x 18-23)	1.1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	elipsoidal	16.1 x 10.2 (14-19 x 9-12)	achatado	pequeno	difuso
<i>Thraupis sayaca</i> Linnaeus, 1766	BERTO et al., 2009b	subesférico	22.1 x 21.0 (19-24 x 17-23)	1.1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	ovóide	17.0 x 9.9 (15-19 x 9-11)	formato de mamilo	prominente	difuso
<i>T. sayaca</i>	BERTO et al., 2009b	subesférico	28.9 x 27.4 (28-30 x 24-29)	1.1 (1.0-1.1)	dupla	ausente	em forma de garrafa	23.4 x 11.8 (23-25 x 11-12)	prominente	largo	difuso
<i>T. sayaca</i>	BERTO et al., 2009b	subesférico	25.5 x 22.6 (22-28 x 19-25)	1.1 (1.0-1.2)	dupla	presente	em forma de pêra	17.6 x 10.5 (17-18 x 10-11)	delicado	pequeno	compacto
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2010c	de esférico a subesférico	23.7a x 22.8a (22-26 x 21-24)	1.0 (1.0-1.1)a	dupla	ausente	elipsoidal ou ligeiramente ovóide	16.0a x 11.4a (14-18 x 10-13)	formato de botão	largo, arredondado	difuso

2.1.6.1. *Isoospora thraupis* Lainson, 1994

Descrita a partir das fezes de aves de cativeiro, *T. palmarum* no norte do Brasil em 1994, *I. thraupis* (Figura 2) apresenta oocistos de subsféricos a esféricos, com a PO lisa, fina e incolor, sem M, RO ou GP.

Os esporocistos são piriformes, com CS e CSS pequenos, o RE apresenta uma massa compacta de grânulos deitados sobre os esporozoítos, estes possuem dois CR, anterior e posterior.

Os oocistos tornaram-se esporulados em três dias na temperatura de 24-26°C, a patogenicidade não foi estudada. O hospedeiro estava aparentemente saudável (LAINSON,1994).

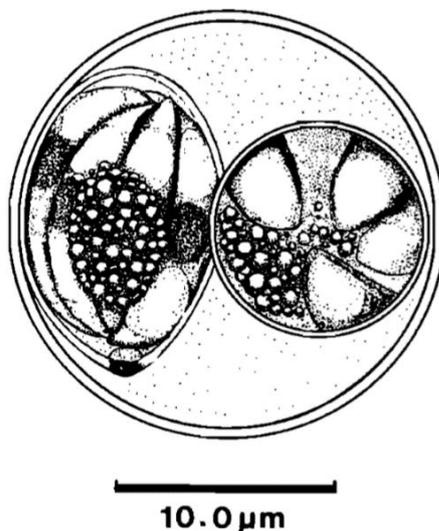


Figura 2. Oocisto esporulado de *Isoospora thraupis* de *Tangara palmarum*. Reproduzido de Lainson (1994). Escala = 10μm.

2.1.6.2. *Isoospora andesensis* Templar McQuiston, Capparella, 2004

Esta espécie foi descrita no hospedeiro *Chlorospingus ophthalmicus hiaticolus* O' Neill, Parker, 1981 na região andina, especificamente em Peru, San Martin.

Os oocistos esporulados desta espécie (Figura 3) são de subsféricos a ovoides, com PO dupla e lisa, sendo que a interior é mais fina e escura que a externa, não possuem M ou RO, mas possuem um GP arredondado.

Os esporocistos são ovoides, com CS triangulares com o ápice escurecido e sem CSS, já os esporozoítos são vermiformes com CR posterior e núcleo central (TEMPLAR, 2004).

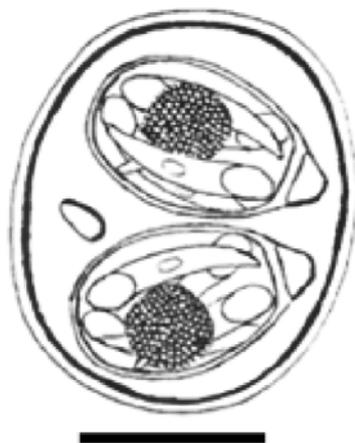


Figura 3. Oocisto esporulado de *Isospora andesensis* de *Chlorospingus ophthalmicus hiaticolus*. Reproduzido de Templar (2004). Escala = 10 μ m.

2.1.6.3. *Isospora iridosornisi* Metzelaars, 2005

Descrita em *Iridosornis analis* Von Tschudi, 1844, em San Martin, Peru, *I. iridosornisi* (Figura 4) se caracteriza por oocistos ovoides, com PO lisa, sendo a membrana interna mais escurecida, não possuem M, possuem GP arredondado.

Os esporocistos são ovoides, com CS em forma de bolha, CSS em forma de colar, também apresentam um largo RE esférico com quatro grânulos grosseiros e não uniformes dispostos aleatoriamente. Os esporozoítos são vermiformes com CR subsférico posterior e núcleo central (METZELAARS et al., 2005).



Figura 4. Oocisto esporulado de *Isospora iridosornisi* de *Iridosornis analis*. Reproduzido de Metzelaars et al. (2005). Escala = 10 μ m.

2.1.6.4. *Isospora tiesangui* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008

Descrita em *R. b. dorsalis*, na Ilha da Maramabaia, Rio de Janeiro, Brasil, *I. tiesangui* (Figura 5) se caracteriza por oocistos de forma de esférica à subesférica, PO lisa, fina e dupla, não possui M, RO ou GP.

Os esporocistos são ovoides, com PO lisa, fina e única, o CS é pequeno e alongado e o CSS é largo e proeminente, o RE é disperso e granuloso. Os esporozoítos apresentam CR subesférico na região posterior (BERTO et al., 2008b).

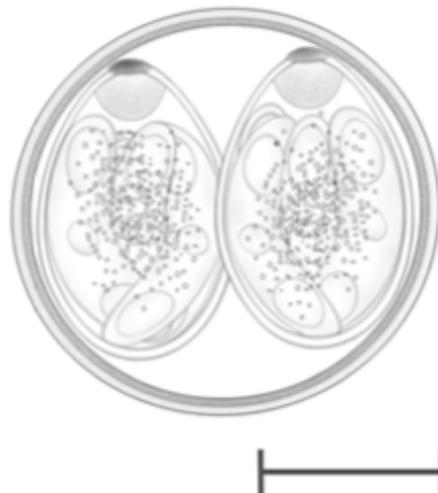


Figura 5. Oocisto esporulado de *Isoospora tiesanguui* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2008b). Escala = 10 μ m.

2.1.6.5. *Isoospora marambaiensis* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2008

Descrita no hospedeiro *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil, *I. marambaiensis* (Figura 6) possui os oocistos de esféricos a subsféricos, com PO lisa, fina e dupla, não possuem M, RO ou GP.

O esporocisto é elipsoidal com PO lisa, fina e única, o CS é achatado com pequeno CSS, possui também RE largo composto de material granular disperso. Os esporozoítos possuem um CR largo e alongado na parte terminal (BERTO et al., 2008b).

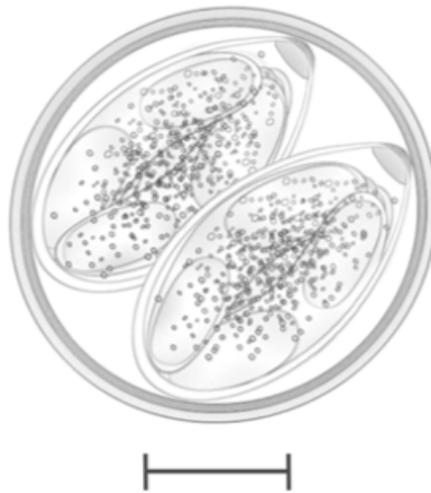


Figura 6. Oocisto esporulado de *Isoospora marambaiensis* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2008b). Escala 10 = μ m.

2.1.6.6. *Isoospora sepetibensis* Berto, Flausini, Luz, Ferreira, Lopes, 2008

Descrita também em *R. b. dorsalis*, na Ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil. Os oocistos de *I. sepetibensis* (Figura 7) possuem formato subsférico a elipsoidal, com PO dupla, lisa e fina, os GP estão normalmente presentes.

Os esporocistos são elipsoidais, com PO lisa e fina e única, possuem CS em formato de botão achatado na região superior, o CSS é proeminente e diretamente

ligado ao CS, o RE é deslocado lateralmente composto de material granular, e os esporozítas são alongados possuindo dois CR, o anterior é esférico e o posterior é alongado (BERTO et al., 2008b).

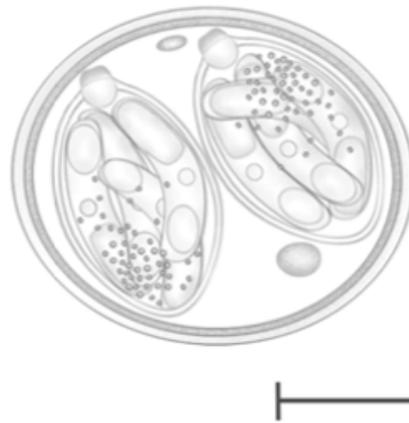


Figura 7. Oocisto esporulado de *Isospora sepetibensis* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2008b). Escala 10 = μm .

2.1.6.7. *Isospora cadimi* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes 2009

Descrita sem *R. b. dorsalis*, na ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil, *I. cadimi* (Figura 8) se caracteriza por oocistos de subesféricos a esféricos, com PO dupla fina e lisa, não possuem M, RO ou GP.

Os esporocistos são amplamente ovais com CS em forma de mamilo. O CSS é proeminente e compartimentado, com parte central de tamanho aproximado ao CS, o RE no esporocisto granuloso e disperso. Os esporozoítas são vermiformes com grande CR centralizado. O tempo de esporulação de 3 dias (BERTO et al., 2009a).

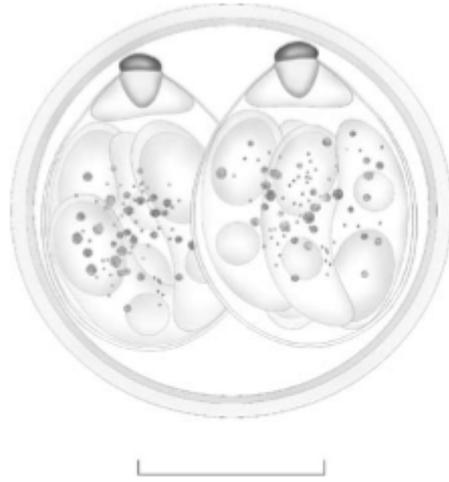


Figura 8. Oocisto esporulado de *Isospora cadimi* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2009a). Escala = 10 μ m.

2.1.6.8. *Isospora navarroi* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2009

Descrita em *R. b. dorsalis* assim como as últimas quatro espécies, na Ilha da Marambaia. Os oocistos esporulados (Figura 9) são de esféricos a subsféricos com PO dupla fina e lisa, não possuem M, RO ou GP.

Os esporocistos são elipsoidais, com CS achatado e CSS pequeno e delicado, RE composto por grânulos dispersos as vezes em formato de anel. Esporozoítos vermiformes com CR posterior robusto e alongado.

O tempo de esporulação é de 3 dias (BERTO et al., 2009a).



Figura 9. Oocisto esporulado de *Isospora navarroi* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2009a). Escala 10 = μ m.

2.1.6.9. *Isospora sanhaci* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009

Espécie descrita na espécie *Tangara (thraupis) sayaca* Linnaeus, 1766 na cidade de Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

Os oocistos esporulados (Figura 10) são de esféricos a subesféricos, PO dupla, lisa e fina, não possui M, RO ou GP.

Os esporocistos são de afilados a ovóides, o CS é em formato de mamilo, o CSS é proeminente, o CS apresenta aparência similar aureola e o RE é composto por pequenos grânulos numerosos dispersos. Os esporozoítos são vermiformes com CR posterior e N central (BERTO et al., 2009b).

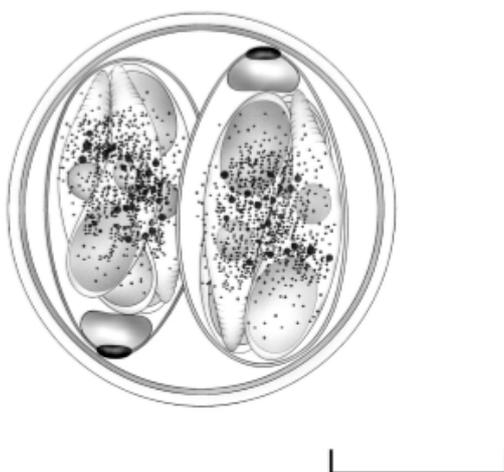


Figura 10. Oocisto esporulado de *Isospora sanhaci* de *Tangara (Thraupis) sayaca*. Reproduzido de Berto et al. (2009b). Escala = 10 μ m.

2.1.6.10. *Isospora sayacae* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009

Espécie descrita na espécie *Tangara (thraupis) sayaca* na cidade de Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil. Os oocistos esporulados (Figura 11) são de esféricos a subesféricos com PO dupla lisa e fina, não possuem M, RO ou GP.

Os esporocistos têm formato de garrafa, CS proeminente levemente achatado, CSS largo em alguns casos com esférula, RE composto por grande número de grânulos dispersos. Os esporozoítos são vermiformes com um CR posterior e N central (BERTO et al., 2009b).



Figura 11. Oocisto esporulado de *Isospora sayaceae* de *Tangara (Thraupis) sayaca*. Reproduzido de Berto et al. (2009b). Escala 10 μ m.

2.1.6.11. *Isospora silvasouzai* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009.

Espécie descrita na espécie *Tangara (thraupis) sayaca* na cidade de Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil. Os oocistos esporulados (Figura 12) são de esféricos a subsféricos, com PO dupla, fina e lisa, não possuem M, RO ou GP.

Os esporocistos são de alongados a piriformes, CS ligeiramente achatado e delicado, CSS pequeno, RE formado por uma larga e compacta massa de grânulos. Os esporozoítos são vermiformes com um CR posterior e N (BERTO et al., 2009b).

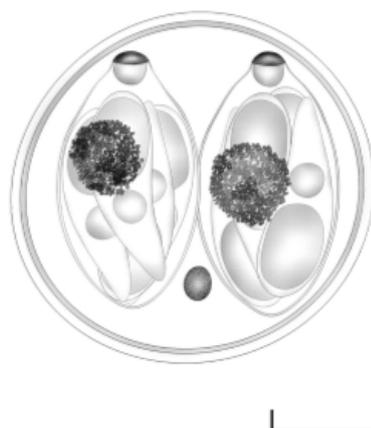


Figura 12. Oocisto esporulado de *Isospora silvasouzai* de *Tangara (Thraupis) sayaca*. Reproduzido de Berto et al. (2009b). Escala 10 = μ m.

2.1.6.12. *Isospora ramphoceli* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010

Descrita em *R. b. dorsalis*, na região da ilha da Marambaia no Rio de Janeiro, *I. ramphoceli* (Figuras 13 e 23) apresenta oocistos de esféricos a subesféricos com PO dupla, lisa e fina, não possuem M, RO ou GP.

O esporocisto possui forma entre elipsoidal e ovoide, o CS em formato de botão, o CSS é largo e homogêneo, o RE é composto por grânulos de diferentes tamanhos. Os esporozoítos são vermiformes com um CR anterior e um núcleo central (BERTO et al., 2010c)

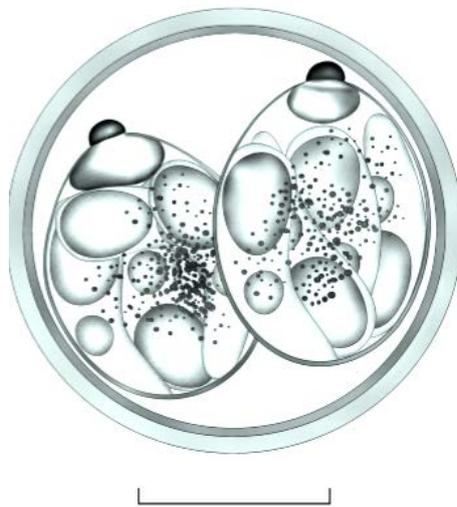


Figura 13. Oocisto esporulado de *Isospora ramphoceli* de *Ramphocelus bresilius dorsalis*. Reproduzido de Berto et al. (2010c). Escala = 10 μ m.

2.2. OS TRAUPÍDEOS

2.2.1. Classificação

Espécies neste táxon possuem características diversificadas de plumagem em cores e padrões, comportamentos, morfologias, não havendo uma característica única que defina o grupo (BURNS, et al., 2014). Seguindo registros ornitológicos do IUCN (2012) e do CBRO (2014), os traupídeos apresentam a seguinte classificação taxonômica:

Reino: Animalia Linnaeus, 1758
Filo: Chordata Bateson, 1885
Classe: Aves Linnaeus, 1758
Ordem: Passeriformes Linnaeus, 1758
Subordem: Passeri Linnaeus, 1758
Parvordem: Passerida Linnaeus, 1758.
Família: Thraupidae Cabanis, 1874

2.2.2. Histórico

O primeiro registro de Thraupidae data de 1856, uma sinopse completa de uma família foi enviada a sociedade zoológica de Londres, sequencialmente foi publicado um monográfico ilustrado do mais extenso e brilhante gênero do grupo. Posteriormente foi preparado um catálogo, resultado de trinta e cinco anos de estudo das espécies de Tanagridae no museu britânico. Com o conhecimento considerável anterior das famílias Coerebidae e Icteridae foi completado o volume, formando o grupo dos Fringilliformes. Este representava 70 espécies da família Coerebidae, 377 espécies de Tanagridae, muito mais extensa, e Icteridae com 125 espécies validas. Um total 575 espécies representada no museu britânico (SCLATER, 1886).

É sugerido que em Passeriformes estejam mais da metade das espécies existentes. As aves canoras foram indicadas como um subclado do grupo, demonstrando que linhagens são mais diversas do que o esperado. O mais extremo exemplo de diversidade em Passeriformes está no clado que compreende as famílias tradicionais Fringillidae, Cardinalidae, Icteridae, Paurulidae e Thraupidae (RICKLEFS, 2003).

As famílias pertencentes então ao grupo dos fringilídeos eram consideradas muito próximas, especialmente em Coerebidae e Tangridae, houve dificuldade na separação destas por caracteres externos. Além disso foram ressaltadas grandes semelhanças da família Tanagridae a Fringillidae, como no hábito alimentar (SCLATER, 1886). Estudos possibilitaram a classificação pré-molecular clássica dos traupídeos na década de 70, seguidos por tratamentos, até que ideias como hibridização de DNA surgissem (BURNS, 2014; 1997; BARKER et al., 2013).

As famílias Cardinalidae, Emberezidae, Icteridae, Parulidae e Thraupidae, eram citadas como um grupo monofilético, denominado aves canoras do novo mundo, mas apenas em 2013 a primeira amostragem compreensiva de traupídeos produziu uma filogenia robusta que define traupídeos como monofiléticos. (RICKLEFS, 2003)

Finalmente, de acordo com o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos de 2014, a família Thraupidae Cabanis, 1874 está posicionada na ordem Passeriformes Linnaeus, 1758, subordem Passeri Linnaeus, 1758, parvordem Passerida Linnaeus, 1758.

2.2.3. Sistemática

A diversidade nas características dos traupídeos, torna estes um grupo de dramática radiação adaptativa, motivo que contribui para a sua longa história de dificuldades taxonômicas.

Poucas linhagens de aves são mais ricas do que o esperado, mas o maior exemplo desta diversidade é o clado que compreende as famílias tradicionais Fringilidae, Emberezidae, Icteridae, Parulidae e Thraupidae (RICKLEFS, 2003)

Purvis (1995) afirma que menores grupos em um grande clado justificam a grande diversidade deste, ou seja, a grande diversidade de um grupo grande justifica a subdivisão destes em clados menores definindo estas características diversas.

O táxon superior no qual os emberizídeos estavam classificados até 2011 foi desconsiderado pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos, a grande maioria destas aves devido a similaridades foram incluídas na família Thraupidae, as demais espécies foram posicionadas em Passerellidae, são estas exceções *Zonotrichia capensis* Statius Muller, 1776, *Ammodramus humeralis* Bosc, 1792, *Ammodramus aurifrons* Spix, 1825, *Arremonops conirostris* Bonaparte, 1850, *Arremon taciturnus* Hermann, 1783, *Arremon semitorquatus* Swainson, 1838, *Arremon franciscanus* Raposo, 1997, *Arremon flavirostris* Swainson, 1838, *Atlapetes personatus* Cabanis, 1848 (CBRO, 2011, 2014).

Por outro lado, a classificação do BirdLife/IUCN ainda mantém a família Emberizidae e por este motivo segundo o IUCN a família Thraupidae é menos expressiva em número de espécies (IUCN, 2015).

2.2.4. Ecologia

Os traupídeos normalmente andam em bandos, apesar de também poderem ser visualizados solitariamente. Aves como *Tangara (Thraupis) sayaca* Linnaeus, 1766, *D. cayana* e *Ramphocelus bresilius* Linnaeus, 1766 foram observadas na maioria das vezes durante período de estudo em grupos de 4 a 6 indivíduos (SIGRIST, 2009; NASCIMENTO et al., 2010).

O comportamento de vocalização destas aves indica o mesmo padrão anual de vocalização de Oscines de regiões temperadas, emitindo o canto completo apenas em período reprodutivo (NASCIMENTO et al., 2010). Os chamados destes animais não sofrem alterações significativas de acordo com o período do ano, sendo que emitem chamados durante todo ano em todos os períodos do dia, provavelmente a fim de unir os indivíduos do bando. As prováveis funções destas vocalizações se dão a atração e reconhecimento parental, sendo que emissões aconteceram quando um indivíduo não foi visualizado pelo outro, ou quando o macho se dirigia a outro local até que a fêmea e o filhote se dirigissem ao local também, comportamento observado mais recentemente em (NASCIMENTO et al., 2010).

Grupos de forrageamento são formados por casais, grupos gregários ou até mesmo bandos mistos, as vocalizações possibilitam o contato entre casais devido a propensão destas aves a conviver em grupos mistos. A perda de interações bióticas em áreas tropicais sujeitas a perturbação humana é um problema (JANZEN, 1974; SIGRIST, 2009).

O hábito alimentar dos traupídeos é generalista, destacando-se a frugivoria. Esta característica generalista pode ser claramente observada em *Neothraupis fasciata* Lichtenstein, 1823 que se alimenta de cupins, formigas, louva-deus, lagartas, borboletas, mariposas, grilos, gafanhotos, entre outros, consumindo mais insetos do que frutos durante a estação chuvosa (ALVES, 1991).

Melastomataceae está entre as famílias mais numerosas das Angiospermas, com significativa riqueza de espécies, e expressiva diversidade no estado do Rio de Janeiro, aproximadamente 27 gêneros e mais de 300 espécies, encontradas desde restingas até florestas pluviais alto-montanas, incluindo os campos de altitude e tem sido relatada como de grande importância na manutenção da diversidade de frugívoros em florestas tropicais. (MANHÃES, 2003; BARBERENA, 2008)

Em estudo realizado com seis espécies de plantas frutíferas pertencentes ao gênero *Micônia* Ruiz, Pavon, 1794, que é atualmente o maior gênero da família Melastomataceae com aproximadamente 1.056 espécies dispersas em regiões tropicais e subtropicais, traupídeos destacaram-se pelo elevado número de espécies consumidoras de frutos e pela maioria das visitas empreendidas a cada espécie vegetal, sendo apontada como principal dispersora de sementes da região da Serra dos órgãos no sudeste do Rio de Janeiro, região de mata atlântica. (PARRINI; PACHECO, 2011).

Os traupídeos estão entre os principais grupos de aves que utilizam plantas da família Euphorbiaceae como forma de alimento na mata atlântica (PARRINI; RAPOSO, 2010). Estas aves podem ser atraídas pela coloração de determinados frutos, como os frutos arroxeados da Bromeliaceae *Aechmea lindeni* (E. Morren) Baker var. Que atraem *Chiroxiphia* sp. (tangará), *Tachyphonus coronatus* Vieillot, 1822 (tié-preto), e podem se alimentar também das folhas e flores (pétalas e néctar).

Existem registros de predação a flores nesta família, porções de pétalas de Myrtaceas por *T. sayaca* e *T. preciosa* Cabanis, 1850, estes retiravam porções da ponta ou da borda das pétalas ou a tomavam transversalmente entre as mandíbulas e retiravam a maior parte. (LENZI, 2005; SANZIMA, 2007).

Bandos monoespecíficos de traupídeos realizando visitas simultâneas a plantas de pequeno porte são vantajosos para a dispersão destas, como relatado no gênero Tangara a *Alchornea triplinervia* a (Sprengel) Mueller Argoviensis (Euphorbiaceae), também foram observados alimentando-se de infrutescências de moráceas e apontados como importantes dispersores de sementes pelas preferências incomuns de habitats (SILVA et al., 1980; PARRINI, PACHECO, 2011)

2.2.5. Distribuição geográfica

Traupídeos representam grande radiação continental, podem se distribuir em todos os ambientes, característica que torna esta família uma das de maior representatividade entre pássaros neotropicais (SIGRIST, 2009; BURNS 2014).

A diversidade e a abundância e riqueza de espécies de Passeriformes em determinado ambiente varia de acordo com diferentes características deste, como por exemplo a altitude. De acordo com Purificação (2013), pôde ser apontada a maior

abundância, riqueza e diversidade de espécies em menores altitudes, entre 365m e 375m, esta diminui gradualmente com aumento da altitude.

Traupídeos podem ocorrer em todos os biomas terrestres do Novo Mundo, com diversificada adaptação também para alimentação, variando de insetos, a sementes, frutas e néctar (BARKER et al., 2013). A vegetação de ambientes urbanos também influencia na distribuição e composição da fauna de aves, se utilizando dela e ou de edificações para sua alimentação, pernoite e na maioria dos casos para reprodução (ARGEL-DE-OLIVEIRA, 1995).

Em estudo sazonal sobre a ocorrência de passeriformes em ambiente urbanizados, espécies pertencentes a esta família puderam ser observadas, com destaque para o gênero *Tangara*. Dentre os ambientes estudados (edificações, área aberta, área aquática e área de bosque) a maior expressividade destas aves esteve respectivamente em ambientes de edificações, aquáticos e abertos e não houve nenhuma ocorrência em ambientes de bosque (PONÇO, 2013).

A presença de *T. preciosa* e *Stephanophorus diadematus* Temminck, 1823 na área urbana de Gramado provavelmente está relacionada aos fragmentos florestais, estes ambientes são antropicamente perturbados (SANZIMA, 2007). A frequência de *T. sayaca* em ambientes urbanizados reflete a adaptação desta espécie a estes. Espécies deste gênero como *Thraupis bonariensis* Gmelin, 1789, tem preferência a habitats de capões e borda de matas, por este motivo estão presentes em áreas urbanas (SICK, 1997).

Atualmente estas aves são consideradas de radiação Neotropical endêmicas, representando 12% das aves desta região, ecologicamente diversas, possivelmente encontradas do norte do México através a América do Sul, com altitudes variando de litorais a altitudes andinas, ocorrem em 20 das 22 regiões zoogeógrafas e 27 das 29 dos habitats terrestres neotrópicos (PARKER et al., 1996).

2.2.6. A coccidiose em pássaros

Infecções múltiplas com mais de uma espécie de coccídio são frequentes devido ao tempo de produção dos oocistos de cada espécie normalmente não coincidirem (LAINSON, 1994).

Aves podem ser naturalmente infectadas por coccídios que retém infecções crônicas por longos períodos (BOUGHTON, 1938), apesar dessa infecção poder

manifestar-se com curso agudo e presença de emagrecimento, má-absorção e má-digestão (SILVA et al., 2014). Assim sendo, a coccidiose pode causar infecções subclínicas até a morte de aves silvestres (FREITAS et al., 2002).

A coccidiose aviária aguda causa enterite e diarreia, diminuindo a absorção de nutrientes (ALLEN; FETTERER, 2002). Está entre os mais frequentes problemas sanitários que afetam estes animais, interferindo também no comportamento e no desenvolvimento reprodutivo de aves em cativeiro, devido a estresse e nutrição inadequada, que podem também favorecer o aparecimento de infecções secundárias (FREITAS et al., 2002).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

Realizado durante o desenvolvimento deste trabalho através de seleção e análise de artigos do PubMed, Web of Science, Portal de Periódicos (www.periodicos.capes.gov.br), consultas as publicações e referências acessíveis do banco de dados “The Coccidia of the World” de Duszynski et al. (2004) e artigo de revisão de coccídios de pássaros do Novo Mundo de Berto et al. (2011).

3.2. PESQUISA DE CAMPO

O local no qual designado para coleta dos dados foi o PNI, localizado entre Rio de Janeiro e Minas Gerais, abrangendo 28.156 hectares, com altitudes diversificadas, o ponto mais elevado está localizado na Serra da Mantiqueira, dentro dos municípios de Itatiaia e Resende (RJ), Bocaina de Minas e Itamonte (MG), 2.791 m. Itatiaia e Itamonte apresentam a maior parte de seu território dentro da unidade de conservação (AXIMOFF, 2011).

A captura das aves foi realizada em pontos diferentes do parque, mensalmente por um período estipulado. As coletas 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 14).

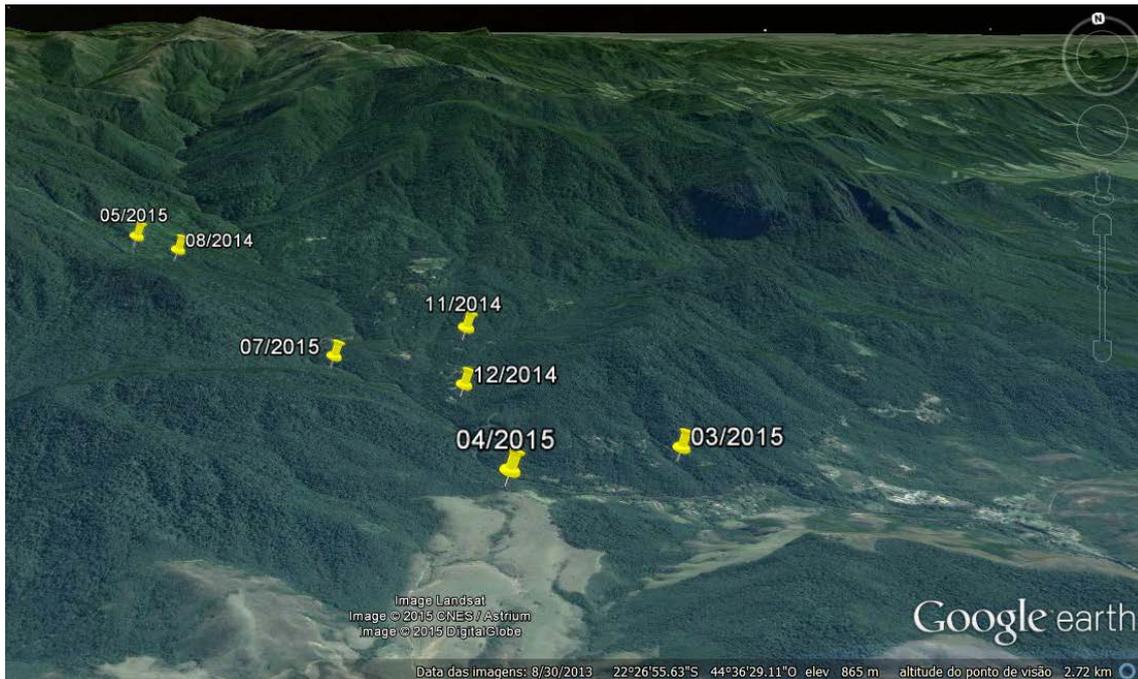


Figura 14. Pontos de coleta designados por datas (mês/ano) no Parque Nacional do Itatiaia. Imagem elaborada e extraída do software Google Earth.

As aves foram capturadas através de redes de neblina, as quais foram abertas na parte da manhã e fechadas definitivamente ao entardecer em locais específicos, observando detalhes como altitude, vento, incidência solar, cursos d'água, principalmente áreas de mata fechada ou proximidade a áreas antropizadas de acordo com os pontos de coleta (Figuras 15 e 16). As redes de neblina possuíam tamanho total de 9m por 3m, dimensões de malha de 20mm e 40mm (Figura 17) e fixadas em hastes de alumínio do tipo encaixe, objetivando a captura de aves de diversos portes.



Figura 15. Redes de neblina em áreas de mata fechada.



Figura 16. Redes de neblina em áreas antropizadas

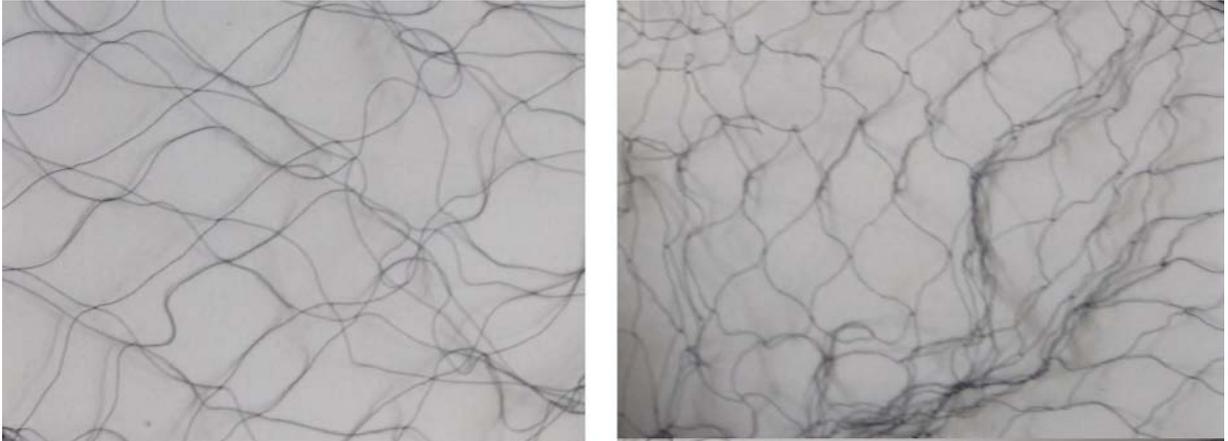


Figura 17. Redes de neblina com malhas de 40mm (esquerda) e 20mm (direita).

A frequência de verificação das redes de neblina foi aproximadamente 20 minutos, conduzindo-se em sequência com a retirada manual da ave (Figura 18), minimizando estresse (NASCIMENTO et al., 1994). As aves foram identificadas de acordo com o Guia de Campo Avifauna Brasileira de Sigrist (2014). As aves capturadas foram transportadas em sacos de pano (Figura 18) durante o trajeto dos pontos de captura até local do acampamento e contidas por cerca de duas horas para obtenção das fezes.

Para a coleta das amostras de fezes foram utilizadas caixas de papel para transporte de aves comerciais de tamanhos variados (Figura 19). A parte inferior destas caixas foi revestida com papel para facilitar a retirada de defecções 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.

As amostras de fezes obtidas nos papéis foram armazenadas em solução de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$) a 2,5% assegurando a presença de oxigênio, utilizando tubos cônicos com capacidade de 15ml (Figura 20). Os dados ambientais, características e observações foram registradas em diário de campo previamente planejado (Anexo C).



Figura 18. Saco de pano para contenção (esquerda) e espécime de tiê-preto capturado em rede de neblina (direita).

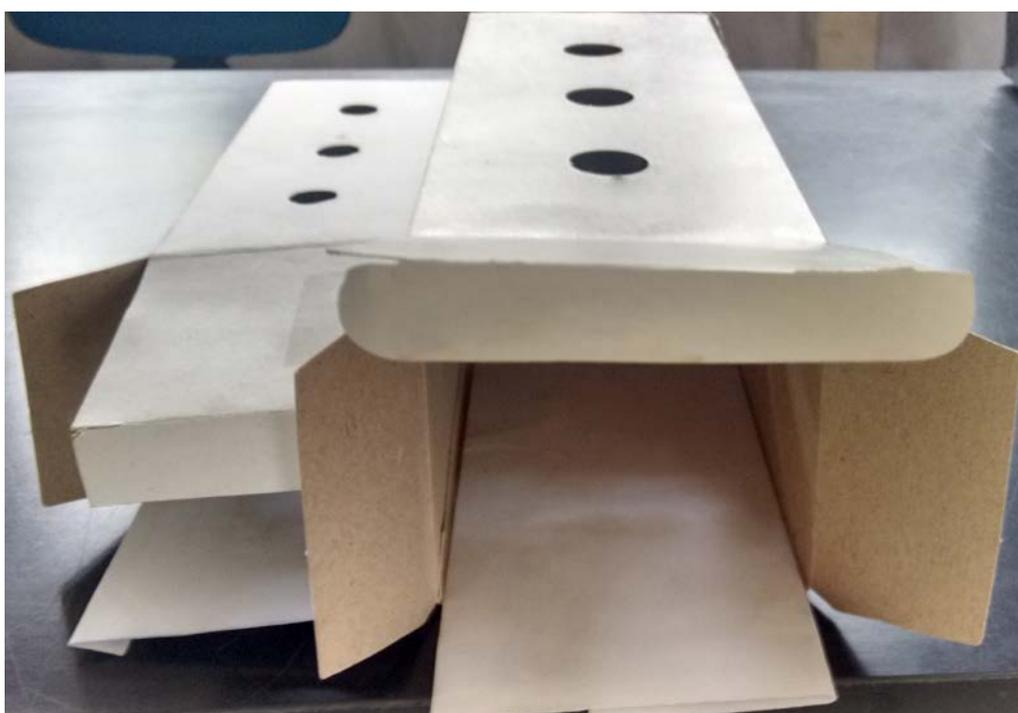


Figura 19. Caixas de papel para transporte de aves com base revestida de papel.

presença de oxigênio atmosférico. Os tubos de centrífuga foram utilizados a fim de evitar perda de material no processamento, durante a transferência de material entre recipientes.

Para assegurar oxigenação e, conseqüentemente, esporulação dos oocistos estas amostras foram mantidas abertas por duas semanas e homogeneizadas periodicamente até a realização do processamento laboratorial, desta maneira os oocistos permaneceram viáveis para caracterização morfológica.

Após a esporulação, a separação dos oocistos das fezes e do dicromato de potássio ocorreu através da técnica modificada de flutuação com solução saturada (500g sacarose, 350ml água, 5ml fenol) via centrifugação (5min a 2.000 rpm) descrita por Sheather (1923) e modificada por Duszynski e Wilber (1997). A suspensão é feita em água destilada em tubos cônicos e centrifugada, repetidamente, visando retirar o excesso de dicromato de potássio. Após esse procedimento, o material do sedimento é novamente centrifugado em solução saturada de açúcar.

Depois da centrifugação, o conteúdo do tubo cônico é elevado com solução de açúcar até o limite da abertura formando um menisco convergente, onde será depositada uma lamínula por 5 a 10 min. Após este período, a lamínula será retirada e colocada cuidadosamente na superfície de uma lâmina de vidro.

3.3.2. Fotomicrografia dos oocistos

A visualização foi realizada utilizando microscópio trinocular Zeiss Primo Star acoplado com câmera Zeiss Axio Cam modelo ERc5s ou microscópio binocular Olympus BX binocular acoplado a câmera digital Eurocam 5.0, em objetiva de 100X com óleo de imersão.

3.3.3. Oocistos por defecação (OoPD)

A intensidade de infecção foi avaliada através da quantificação de todos oocistos recuperados de uma defecação única em lâmina de microscopia, denominada como Oocistos por Defecação (OoPD) por Dolnik (2006a) e Dolnik et al. (2010). Todos os campos da lâmina foram observados, a fim de evitar possíveis erros causados pela aglomeração dos oocistos.

3.3.4. Identificação de coccídios e novos hospedeiros

As espécies de coccídios foram identificadas de acordo com as características morfológicas ressaltadas por Duszynski e Wilber (1997) e Berto et al. (2014), cerca de dez oocistos esporulados foram medidos por amostra. 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 refráteis (CR) e núcleo (N) nos esporozoítos (Figura 1).

Nos casos de identificação de espécies de coccídios recuperados de hospedeiros diferentes das descrições originais e publicações anteriores, foram identificados como novos hospedeiros.

3.3.5. Esquematização dos oocistos

Os oocistos de coccídios identificados em nível de espécie foram esquematizados através de vetorização baseada em micrografias de alta resolução, além de observações morfológicas, utilizando o software Corel Draw Graphics v11.

3.5. TESTES ESTATÍSTICOS

3.5.1. 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. (2014), 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).

3.5.2. Análise de variância (ANOVA)

Para comparação entre as medidas dos DM, dm, EM, em, IM e IMe recuperados de diferentes amostras de traupídeos originados do Parque Nacional do Itatiaia utilizou-se o pacote estatístico Bioestat na versão 5.0, com nível de significância de $p < 0,01$, para calcular as médias, variâncias, graus de liberdade e valor de “P”.

3.5.3. 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. (2014) 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. SITUAÇÃO DOS PONTOS DE COLETA

O Parque Nacional do Itatiaia é um local disponível ao acesso a turistas, com proximidade a áreas urbanas e sujeito a perturbação humana frequente, por movimentação, ruído etc.

Dentro do PNI, mesmo entre áreas de mata fechada na parte baixa do parque existem severas alterações no ambiente, como desvios de cursos hídricos, desflorestamento, introdução de plantas exóticas decorativas, construções e descarte inadequado de detritos, mesmo que a maioria destes locais esteja atualmente desapropriada e sob vigilância houve severa intervenção humana ao longo de anos.

Nas áreas no entorno do Parque o desmatamento é severo, é visível atividade agropecuária, residencial e turística. Todas estas alterações antrópicas devem alterar potencialmente o nicho ecológico natural das aves.

4.2. TRAUPÍDEOS CAPTURADOS E AMOSTRAS EXAMINADAS

Durante o período de estudos, de 184 aves capturadas 24 pertenciam a família Thraupidae, dentre elas, 13 estavam positivas para coccídios (Tabela 2), as amostras foram obtidas logo após a defecação dos indivíduos, totalizando 65 amostras fecais (média de 3 amostras fecais por pássaro).

No contexto destes dados, é importante ressaltar que este estudo segue a classificação do BirdLife/IUCN o qual é tradicional e mantém a distinção entre as famílias Emberizidae e Thraupidae (IUCN, 2015).

As coletas das amostras processadas durante este período de estudo foram realizadas em horários distintos e condições climáticas diferenciadas, em períodos de calor intenso e frio e chuva. Sendo a maioria delas (cinco), realizadas sob clima ensolarado e duas delas sob clima chuvoso e frio. Em ambas condições climáticas foram obtidos resultados de múltiplas infecções em amostras coletadas no mesmo horário (Tabela 3). Através do exame por microscopia óptica, puderam ser observados oocistos esporulados monoespóricos semelhantes ao gênero *Caryospora* e alguns identificados como do gênero *Isospora* (Tabela 3).

Espécies de *Caryospora* são comuns em animais predadores, principalmente em répteis e aves de rapina. Em répteis *Caryospora* spp. possuem CS e CSS, enquanto que os esporocistos de *Caryospora* spp. de aves de rapina não possuem (BERTO et al. 2014).

Caryospora é o terceiro maior gênero na família Eimeriidae, caracterizado por oocistos que contém um esporocisto, com 8 esporozoítos, sendo que a maioria das espécies é monóxena. Roedores podem ser incluídos no ciclo como meio de transporte ou hospedeiros intermediários (DUSZYNSKI et al., 2000). Primeiramente foi apenas considerado o ciclo monóxico para este grupo, mas atualmente é comprovado o ciclo heteróxico facultativo com ambas as fases, sexuada e assexuada ocorrendo no intestino de aves predatória e tecidos conjuntivos de roedores. O ciclo é bastante distinto dos demais eimerídeos, desenvolvendo além dos estágios assexuados, gametogonia e formação de parede em ambos hospedeiros (UPTON, 1986).

Em Passeriformes, *Caryospora* spp. foram relatadas de diversas famílias por Pellerdy (1967), Cerna (1976), Varghese e Yayabu (1981) e Svobodova (1994), sendo inclusive descritas espécies como *Caryospora gloriae* Pellerdy, 1967 e *Caryospora jiroveci* Cerna, 1976. Upton et al. (1986), em um trabalho de revisão de *Caryospora*, relaciona estes trabalhos e espécies descritas sem nenhuma observação ou restrição. No entanto, Lainson (1994) observou oocistos de *Isospora* obtidos de hospedeiros distantes taxonomicamente do hospedeiro original da espécie, a presença de oocistos aberrantes, com apenas um esporocisto e oito esporozoítos e oocistos similares as espécies anteriormente descritas com GP visualizado frequentemente entre eles. Desta forma, ele apontou a esporulação alterada desta mesma espécie, considerando que a observação de oocistos monospóricos e octozóicos não são oocistos de *Caryospora*, mas sim oocistos de *Isospora* com esporulação alterada. Neste sentido, Duszynski et al. (2000) consideraram que todas as espécies e relatos de *Caryospora* em Passeriformes são na verdade descrições equivocadas baseadas na esporulação imprópria de oocistos de *Isospora*.

Neste trabalho, os oocistos monospóricos e octozóicos foram observados em apenas uma amostra, a qual também possuía oocistos de *Isospora*, identificados como *I. ramphoceli* (Tabela 3). Desta forma, este padrão assemelha-se a amostra observada por Lainson (1994), no entanto, os oocistos monospóricos e octozóicos do trabalho atual foram encontrados em grande número (cerca de 2100 oocistos), com morfologia uniforme e bastante distinta de *I. ramphoceli* (Figura 21).

De qualquer forma, estes oocistos monospóricos e octozóicos foram apenas observados em uma única amostra e por isso não é possível afirmar pela morfologia que estes

oocistos pertençam ao gênero *Caryospora* ou sejam derivados da esporulação alterada de oocistos de *I. ramphoceli* ou outra espécie. Assim, foram denominados como *Caryospora-simili* na Tabela 3.

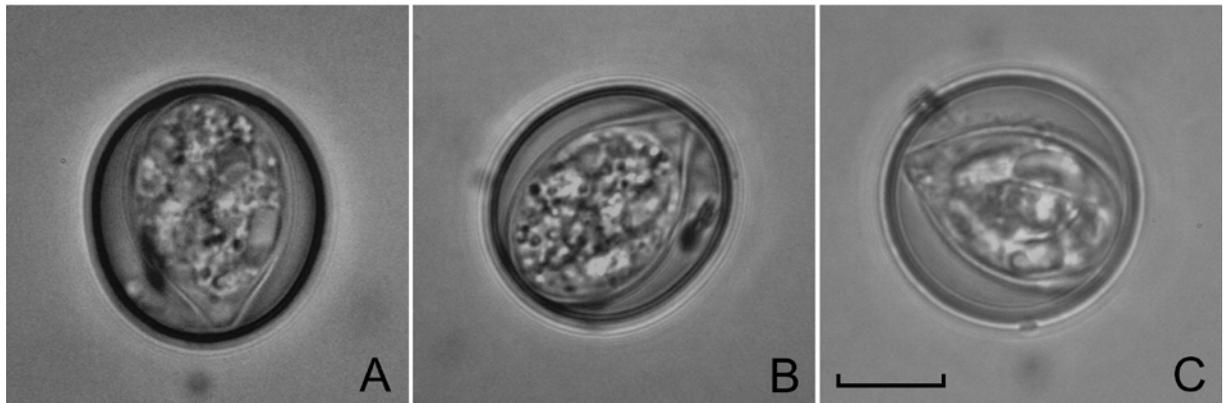


Figura 21. Fotomicrografias de oocistos esporulados monospóricos e octozóicos recuperados das fezes de *Tachyphonus coronatus*. Solução Saturada de Sheater. Escala: 10 = μm .



Figura 22. Esquema morfológico dos oocistos *caryospora-simili* recuperados de *Tachyphonus coronatus*. Escala = 10 μm .

Tabela 2. Aves da família Thraupidae capturadas no Parque Nacional de Itatiaia por coleta de acordo com a espécie e à positividade de eliminação de oocistos nas fezes.

20/11/2014		
Espécie	Nome comum	n
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	2
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	3
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	3
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	4
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	3
Subtotal:		15
18/12/2014		
Espécie	Nome comum	n
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	2
Subtotal:		2
8/04/2015 e 9/04/2015		
Espécie	Nome comum	n
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	4
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	3
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	3
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	1
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	2
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	4
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	2
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	3
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	3
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	5
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	2
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	saí-azul	2
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	2
Subtotal:		36
14/05/2015 e 15/05/2015		
Espécie	Nome comum	n
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	tiê-de-topete	2
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	tiê-de-topete	2
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	tiê-de-topete	1
Subtotal:		5
6/07 /2015 e 7/07/2015		
Espécie	Nome comum	n
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	2
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	tiê-preto	3
Subtotal:		5

Tabela 3. Distribuição e quantidade de oocistos por amostra de espécies de coccídios recuperadas de traupídeos no Parque Nacional de Itatiaia (PNI) e índice de infecção.

Quantidade de oocistos por espécie e hospedeiro						
Hospedeiros	Data da coleta	Horário de coleta	<i>Caryospora-simili</i>	<i>I. ramphoceli</i>	<i>Isospora</i> spp.	OoPD por hospedeiro
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	20/11/2014	17h	30%	70%	-	7179
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	20/11/2014	16-18h	-	100%	-	96
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	20/11/2014	16-18h	-	100%	-	197
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	08/04/2015	18h	-	100%	-	2026
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	08/04/2015	12h-17h	-	-	100%	176
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	08/04/2015	16h-17h	-	-	100%	3524
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	9/04/2015	11h-13h	-	-	100%	1618
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	14/05/2015	17h	-	-	100%	1328
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	14/05/2015	17h	-	-	100%	4946
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	14/05/2015	17h	-	-	100%	1309
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	15/05/2015	15h	-	-	100%	380
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	15/05/2015	12h-14h	-	-	100%	175
Subtotal:						22954

Vários padrões morfológicos foram observados nos oocistos pertencentes ao gênero *Isospora*. No entanto, apenas um padrão foi identificado como *I. ramphoceli*. Os outros padrões não puderam ser identificados especificamente, mas observou-se que foram bastante distintos entre si demonstrando a presença de possivelmente quatro ou mais espécies distintas, de modo que optou-se pela utilização da nomenclatura de *Isospora* spp., e não *Isospora* sp. Um mesmo espécime de *T. coronatus*, capturado no mês de novembro de 2014, com clima ensolarado, apresentou múltipla infecção com *Caryospora* sp. e *I. ramphoceli*. A última sobrepôs-se em 70%.

Algumas amostras de *T. coronatus* (20/11/2014 e 15/05/2015), *D. cayana* (08/04/2015) e *Lanio melanops* Vieillot, 1818 (14/05/2015), as quais foram com positivas para *Isospora* spp., possuíam múltiplas infecções com três a quatro espécies de *Isospora* distintas. Os três espécimes que apresentaram maior contagem de oocistos nas fezes foram os mesmo que apresentaram múltipla infecção, todos com defecção por volta das 16h e 17h, esta periodicidade diurna dos coccídios tem sido frequentemente observada ao longo de anos, sobretudo em animais selvagens (DOLNIK, 1999, 2006b, 2010).

Brawner e Hill (1999) afirmam que a presença ou ausência de oocistos depende do horário de coleta das amostras, amostras coletadas no horário da manhã resultaram em incorretos e drasticamente baixos índices de infecção, diferente de amostras coletadas entre 16:00 e 19:00h corroborando com Coelho et al. (2013), onde é comprovado que a eliminação de oocistos do gênero *Isospora* é mais expressiva no final da tarde.

O coccídio mais prevalente em traupídeos foi *I. ramphoceli*, apresentando também maiores intensidades de infecção em relação as outras espécies, especificamente no hospedeiro *T. coronatus*. Neste sentido, foi feita uma observação detalhada sobre este coccídio.

4.3. *ISOSPORA RAMPHOCELI* BERTO, FLAUSINO, LUZ, FERREIRA, LOPES, 2009

Esta espécie foi descrita, originalmente, parasitando *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ. No estudo atual um novo hospedeiro e nova localidade foram identificados, uma vez que oocistos com morfologia semelhante foram recuperados das amostras de fezes do *T. coronatus* (Tiê-preto) no PNI.

4.3.1. Morfologia do oocisto, esporocisto e esporozoíto

Os oocistos esporulados eliminados pelo novo hospedeiro *T. coronatus* (Figuras 22 e 23), foram caracterizados morfológicamente da seguinte maneira:

Oocistos de esféricos a subesféricos. PO dupla e lisa, medindo cerca de 1 µm de espessura, M, RO e GP ausentes. Esporocistos elipsoidais a levemente ovoides. CS proeminente em formato de botão, medindo cerca de 1 µm de altura por 2 µm de largura e CSS grande e arredondado medindo cerca de 2 µm de altura por 4 µm de largura. CPS ausente. RE formado por grânulos esféricos de tamanhos variados, dispersos irregularmente. Esporozoítos com um CR posterior e um N centralizado.

Estes padrões morfológicos identificados conferem em todos os aspectos com os oocistos de *I. ramphoceli* descritos de tiês-sangue *R. b. dorsalis*, na Ilha da Marambaia, RJ. (Anexo D) (BERTO et al. 2011b). Desta forma, na Tabela 4 a morfometria dos oocistos de *I. ramphoceli* recuperada neste estudo de *T. coronatus*, e de *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ, pode ser visualizada e comparada.



Figura 23. Desenho esquemático do oocisto esporulado de *Isospora ramphoceli* recuperado de *Tachyphonus coronatus* no Parque Nacional de Itatiaia. Escala: 10 = μm .

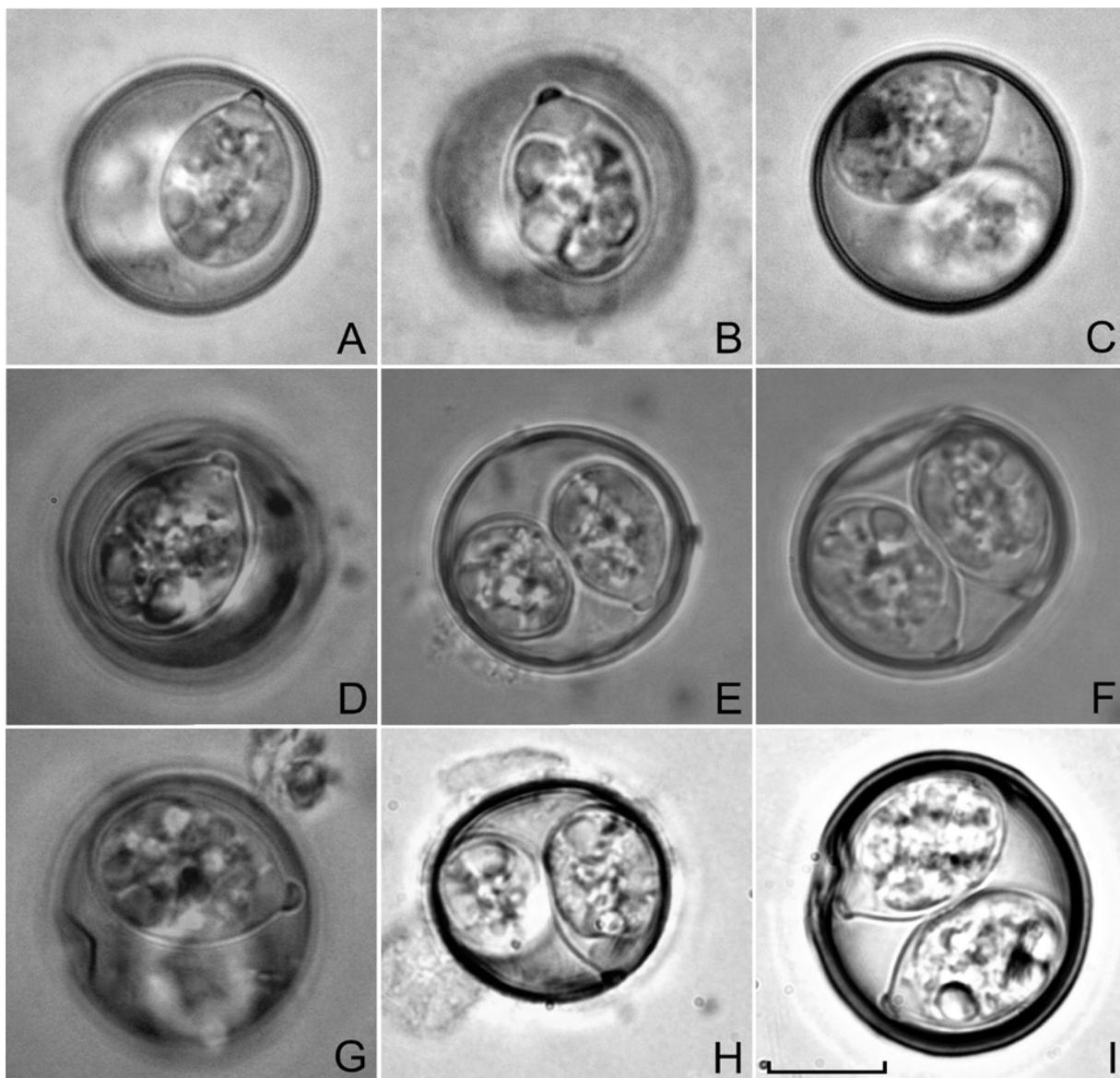


Figura 24. Fotomicrografias de oocistos esporulados de *Isospora ramphoceli* recuperados de *Ramphocelus bresilius dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ (A-C) (Reproduzido de Berto et al. 2010c) e de *Tachyphonus coronatus* do Parque Nacional de Itatiaia (D-I). Solução Saturada de Sheater. Escala: 10 = μm .

Tabela 4. Morfologia comparativa de *Isospora ramphoceli* Berto, Flausino, Luz, Ferreira, Lopes, 2010 recuperadas dos traupídeos *Tachyphonus coronatus* e *Ramphocelus bresilius dorsalis*.

<i>Isospora ramphoceli</i>						
Espécies hospedeiras	Referências	Oocistos				
		Formato	Medidas (µm)	Índice morfométrico	Parede	Grânulo polar
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2010c	de esférico a subesférico	23.7a × 22.8a (22-26 × 21-24)	1.0 (1.0-1.1)a	dupla	ausente
<i>T. coronatus</i>	Trabalho Presente	de esférico a subesférico	23,1a × 22,1a (20-27 × 19-26)	1.0 (1.0-1.1)a	dupla	ausente
Esporocistos						
Espécies hospedeiras	Referências	Formato	Medidas (µm)	Corpo de Stieda	Corpo de Substieda	Resíduo
<i>R. b. dorsalis</i>	BERTO et al., 2010c	elipsoidal ou ligeiramente ovóide	16.0a × 11.4a (14-18 × 10-13)	formato de botão	largo, arredondado	difuso
<i>T. coronatus</i>	Trabalho Presente	elipsóide a levemente ovóide	16,2a × 10.8b (14-18 × 9-13)	formato de botão	grande, arredondado	difuso

^aLetras iguais em cada coluna demonstram médias equivalentes. ANOVA, p > 0,01.

4.3.2. Frequência em classes de dimensões dos oocistos

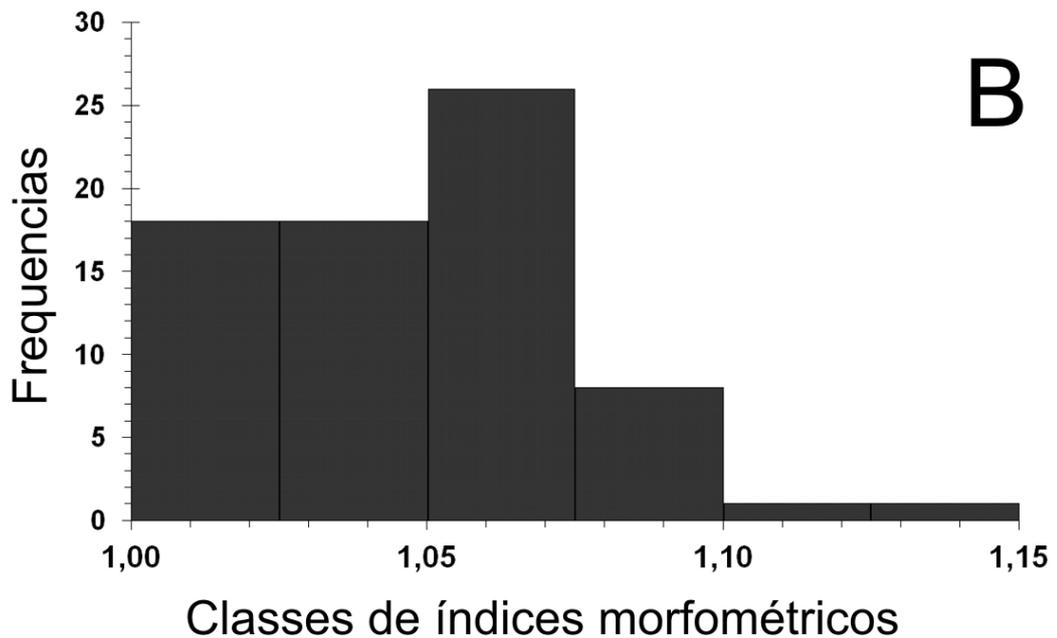
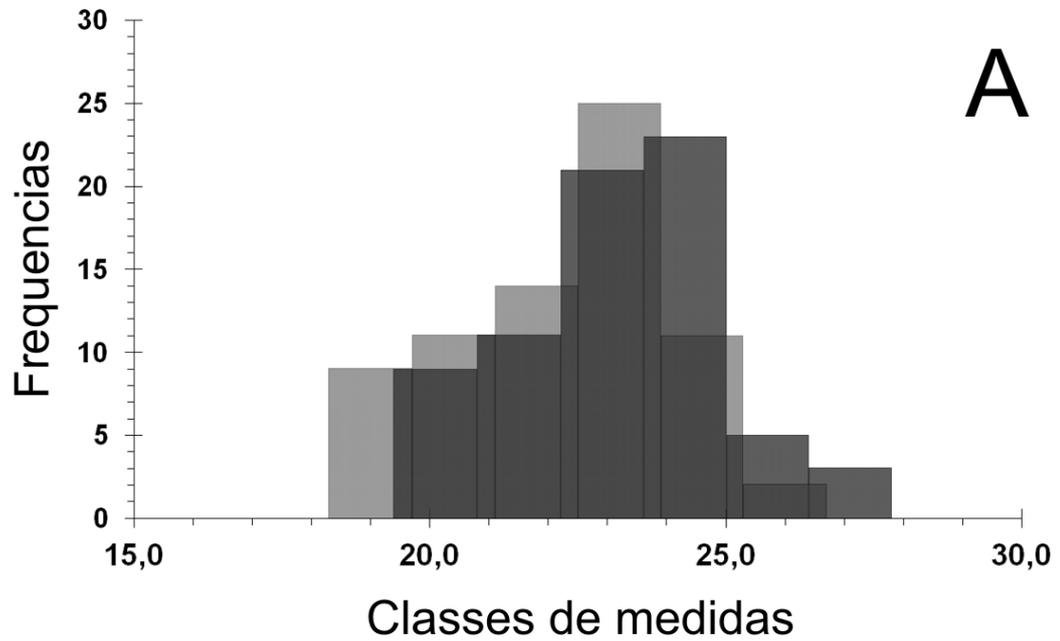


Figura 25. Histogramas das dimensões dos oocistos de *Isospora ramphoceli*, recuperados de *Tachyphonus coronatus* no Parque Nacional de Itatiaia: (A) DM (cinza escuro) e dm (cinza claro); e (B) IM.

A tendência e regularidade na distribuição das dimensões dos oocistos, através do aumento e diminuição das frequências nas diferentes classes no gráfico, pode confirmar a presença uma única espécie nas amostras (BERTO, et al. 2014). Nos dois histogramas elaborados (Figura 24), observam-se este padrão.

Nos histogramas baseados nas medidas de DM e dm de oocistos *I. ramphoceli*, recuperados de diferentes espécimes de *T. coronatus* (Figura 24A), é possível observar claramente que os oocistos possuem picos de frequência em valores próximos de DM e dm, o que confirma a forte tendência a forma subsférica dos oocistos.

O IM, além de confirmar a tendência dos oocistos pertencem a mesma espécie, também confirmam a tendência dos oocistos serem subsféricos, com valores de IM entre 1,05 e 1,10.

Este mesmo comportamento e valores próximos nos histogramas podem ser observados para os oocistos de *I. tiesanguii*, *I. navarroi* e *I. cadimi*, espécies previamente descritas em traupídeos (Berto et al. 2011b).

4.3.3. Distribuição das dimensões dos oocistos

A regressão linear (Figura 26) relaciona as medidas de oocistos de mesma ou diferentes espécies e hospedeiros, mas é principalmente utilizado para avaliar a uniformidade e proporcionalidade dos valores de DM e dm dos oocistos de mesma espécie.

O valor de R^2 fornece a maior parte das observações significativas obtidos por este método. Este valor indica as variações de dm e DM. Quando este valor é superior a 0,5 os pontos ficam próximos da linha é possível observar um claro padrão para a espécie. Quando R^2 é inferior a 0,5, os pontos mais distantes da linha indicam polimorfismo na amostra (BERTO et al. 2014).

Assim, conforme evidenciado na Figura 25, *I. ramphoceli* não é uma espécie polimórfica. Tanto as amostras de *T. coronatus*, quanto de *R. b. dorsalis* obtiveram valores de R^2 superiores a 0,5, com destaque para os oocistos de *T. coronatus*, os quais foram bastante uniformes, com valor de R^2 de 0,9. Além disso, as retas e pontos foram sobrepostos evidenciando oocistos de mesma espécie em *T. coronatus* e *R. b. dorsalis*.

Estas mesmas observações são válidas para as regressões dos esporocistos, com exceção para um certo grau de polimorfismo (R^2 de 0,4) nos esporocistos provenientes de *R. b. dorsalis*.

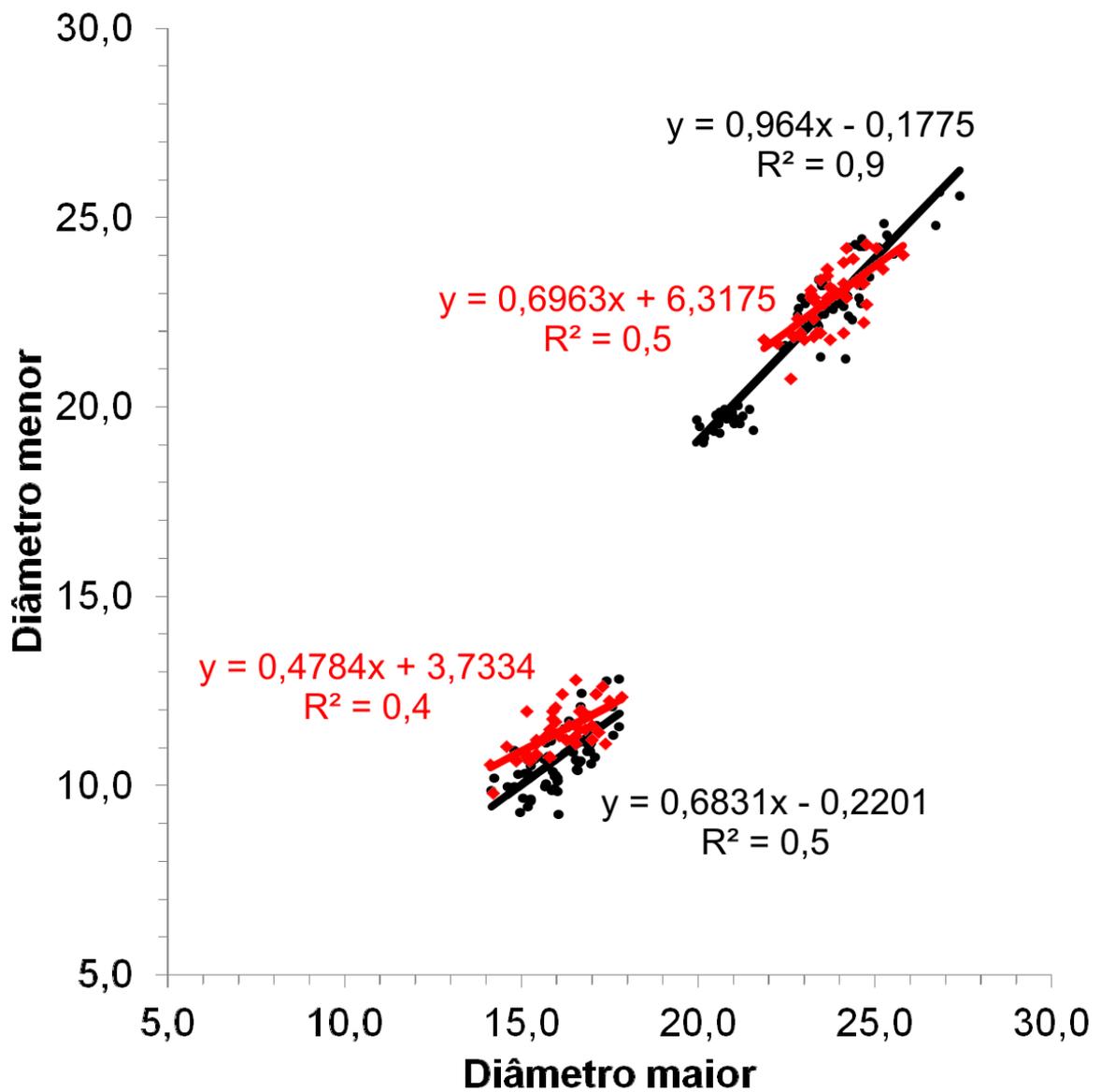


Figura 26. Regressão linear comparativa das dimensões dos oocistos (acima) e esporocistos (abaixo) de *Isospora ramphoceli* recuperados de dois hospedeiros distintos: *Ramphocelus bresilius dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ (vermelho) (adaptado de Berto et al. 2011b) e de *Tachyphonus coronatus* do Parque Nacional de Itatiaia (preto), n = 76.

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

A ANOVA realizada comparou as médias de DM, dm, IM, EM, em e IMe dos oocistos de *I. ramphoceli* recuperada neste estudo de *T. coronatus*, e de *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ, (Tabela 5). Pode ser observado que as médias foram equivalentes entre a maioria dos aspectos morfométricos. Apenas as comparações entre o em e o IMe resultaram em diferenças significativas. Pelos dados observa-se que os esporocistos de *R. b. dorsalis* possuíram maior em, o qual influenciou diretamente no IMe, indicando que os oocistos obtidos de *T. coronatus* foram mais elipsóides.

É importante ressaltar que as variáveis como a posição do oocisto sob a lamínula, e principalmente, a dos esporocistos dentro dos oocistos, além da pressão sob a qual estes são submetidos, podem influenciar na obtenção das medidas. Adicionalmente, pode-se explicar estas diferenças pelo polimorfismo natural dos coccídios.

Vários fatores podem ocasionar o polimorfismo em Coccidia, dentre eles estão, estresse, nutrição, imunidade do hospedeiro, dose infectante (FAYER, 1980; JOYNER, 1982), o tempo de eliminação dos oocistos durante o período de latência (DUSZYNSKI, 1971; CATCHPOLE et al., 1975; JOYNER, 1982) e plasticidade fenotípica, quando um coccídio ativa diferentes fenótipos em resposta ao seu ambiente (PARKER; DUSZYNSKI, 1986; GARDNER; DUSZYNSKI, 1990).

A Tabela 5 faz uma comparação entre as medidas de *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ com as cinco amostras isoladas recuperadas neste estudo de *T. coronatus*. Observa-se que nas comparações entre os DM e dm as amostras de abril de 2015 foram as mais divergentes, enquanto que as coletadas em novembro de 2014 foram equivalentes com os oocistos da descrição original de *I. ramphoceli*.

Neste contexto, pode-se observar que as amostras de novembro foram coletadas em dia nublado em região de mata fechada, menos sujeita a interferência humana e estresse, as quais são condições semelhantes às relatadas por Berto et al. (2011b) para *R. b. dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ.

As amostras de abril foram coletadas no início do mês em um dia quente, nos quais as aves são mais facilmente estressadas devido a manipulação e incidência solar, pelo período de muda, assim como pela antropização do local de coleta próximo à região de borda de mata. Além disso, dois ciclos de muda em Passeriformes do PNI são observados, sendo mais intensamente de muda de contorno, com pico no mês de março (MAIA-GOUVÊA et al.

2005); e nos meses de setembro e janeiro ocorre o período reprodutivo, diretamente ligado a oferta de alimento, mas com uma redução entre os meses de abril e maio (EULER, 1900; PINTO, 1953). Portanto, esta variação entre os oocistos oriundos de mesma espécie hospedeira coletadas no mês de abril de 2015 pode ter sido resultante de fatores/alterações ambientais.

Os IM e EM foram totalmente equivalentes entre todas as amostras e, conforme já evidenciado na comparação morfométrica sem a separação das amostras de *T. coronatus*, os valores de em e IMe foram os mais divergentes nas amostras, embora tenham sido equivalentes entre algumas amostras sem um padrão de hospedeiro ou período de coleta.

Tabela 5. Comparação morfométrica dos oocistos de *Isospora ramphoceli* recuperados de *Ramphocelus bresilius dorsalis* na Ilha da Marambaia, RJ com diferentes amostras de *Tachyphonus coronatus* do Parque Nacional de Itatiaia.

Amostras	Oocisto			Esporocisto			
	Diâmetros (µm)		Índice morfométrico	Diâmetros (µm)		Índice morfométrico	
	Maior	Menor		Maior	Menor		
<i>Ramphocelus bresilius dorsalis</i>	23,7 ^a	22,8 ^a	1,04 ^a	16,0 ^a	11,4 ^a	1,4 ^a	
<i>Tachyphonus coronatus</i>	(22-26)	(21-24)	(1,0-1,1)	(14-18)	(10-13)	(1,3-1,6)	
	20/11/2014	23,8 ^a	23,1 ^a	1,03 ^a	16,8 ^a	11,4 ^{ab}	1,5 ^b
		(25-23)	(25-22)	(1,1-1,0)	(18-16)	(13-10)	(1,6-1,3)
	20/11/2014	24,6 ^a	23,7 ^{ad}	1,04 ^a	16,6 ^a	11,3 ^{ab}	1,47 ^{ab}
		(27,23)	(26-21)	(1,1-1,0)	(17-16)	(12-10)	(1,6-1,4)
	20/11/2014	23,5 ^a	22,4 ^a	1,05 ^a	16,0 ^a	10,7 ^b	1,50 ^b
	(25-21)	(23-20)	(1,1-1,0)	(18-14)	(12-10)	(1,6-1,4)	
08/04/2015	20,7 ^b	19,6 ^b	1,06 ^a	15,4 ^a	10,0 ^c	1,54 ^b	
	(22-20)	(20-19)	(1,1-1,0)	(16-14)	(11-9)	(1,7-1,4)	
09/04/2015	27,06 ^c	25,2 ^{cd}	1,07 ^a	17,3 ^a	11,7 ^{ab}	1,48 ^{ab}	
	(27,4-26,7)	(26-25)	(1,08-1,07)	(18-17)	(11,8-11,6)	(1,5-1,4)	

^{a,b,c,d} Letras iguais em cada coluna demonstram médias equivalentes. ANOVA, $p > 0,01$, $n = 76$.

4.4. INTENSIDADES DE INFECÇÃO

Em áreas de borda de mata e ambientes alterados existe maior diversidade e número de aves, por causa da coexistência de espécies do interior da mata e ambientes de estágios sucessionais iniciais. Florestas secundárias de Mata Atlântica (como ocorre no PNI) abrigam comunidades ricas de Aves em diversidade e número, sendo que em estudo de comparação de floresta secundária e floresta primária, foi encontrada maior diversidade e números espécies em floresta secundária (ALEIXO, 1999). Assim, este contato entre diferentes traupídeos

favorece a transmissão da coccidiose em traupídeos, além do fato que os traupídeos têm hábito alimentar predominantemente frugívoro, o qual favorece a transmissão feco-oral dos oocistos.

Obteve-se valores altos de OoPD nos traupídeos de vida livre neste trabalho, os quais puderam ser comparados e assemelharam-se com os OoPD avaliados por Coelho et al. (2012) de trinca-ferros verdadeiros *Saltaor similis* d'Orbigny & Lafresnaye, 1837 mantidos em regime de quarentena em um Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), para reabilitação e reintrodução à vida silvestre. As aves em CETAS ou em cativeiro estão sob grande estresse, o que justifica altos valores de OoPD.

Os hospedeiros nos quais foi obtido maior número de oocistos, foram respectivamente *T. coronatus* e *L. melanops* (Tabela 6), assim como os maiores OoPD por amostras, respectivamente 7.179 e 4.946 (Tabela 3). É essencial ressaltar que estas amostras foram obtidas entre 16h e 17h, corroborando com os resultados de Brawner e Hill (1999) e Coelho et al. (2012, 2013), os quais ressaltam a periodicidade de eliminação de oocistos de *Isospora* em Passeriformes, com pico de eliminação ao entardecer.

Entre todas as amostras coletadas em *T. coronatus*, no início da tarde, entre 12h e 14h e no fim da tarde, entre 16h e 18h, a maior eliminação ocorreu às 17h, indicando um horário de pico de eliminação para esta espécie. Em *L. melanops*, hospedeiro com segundo OoPD mais alto, entre 16h e 17h, a menor eliminação ocorreu às 15h. E em *D. caycana*, houve diferença significativa nas eliminações, também ocorrendo um pico entre 16h e 17h (Tabela 3).

Tabela 6. Totalidade de oocistos por defecação (OoPD) obtidos por espécie hospedeira da família Thraupidae no Parque Nacional do Itatiaia.

Hospedeiros	OoPD
<i>Tachyphonus coronatus</i> Vieillot, 1822	11291
<i>Lanio melanops</i> Vieillot, 1818	7963
<i>Dacnis cayana</i> Linnaeus, 1766	3700

Vale ressaltar que a amostra com maior número de OoPD pode estar aliada a formação de oocistos irregulares. Conforme já relatado o aumento na produção dos oocistos pode indicar a seu maior sucesso na infecção, mas também pode resultar em oocistos disformes. A amostra com OoPD de 7179 teve 30% dos oocistos com características similares a *Caryospora*, sendo assim realmente existe grande possibilidade destes mesmos serem oocistos disformes com certo grau de teratologia dado a falta de oxigênio e a quantidade de oocistos no meio para esporulação (DUSZYNSKI, et al. 2000).

5. CONCLUSÕES

Após a análise dos resultados pôde-se concluir que:

- *Isospora ramphoceli* foi identificada de *T. coronatus* da família Thraupidae no PNI, Brasil, tornando-se um novo hospedeiro e nova localidade para este coccídio;
- As intensidades de infecção nos diferentes hospedeiros traupídeos positivos foram altas, o que pode ser justificado pelo hábito alimentar frugívoro que favorece a transmissão feco-oral dos coccídios e por parte dos hospedeiros positivos habitarem em áreas antropizadas submetidas aos efeitos de borda de mata.
- Os oocistos esporulados de *I. ramphoceli* foram caracterizados como uniformes em *T. coronatus* e morfológica e morfometricamente semelhantes aos oocistos esporulados da descrição original em *R. b. dorsalis*.
- A especificidade ocorreu em nível de família, pelo fato de *T. coronatus* ter sido relatado como novo hospedeiro para *I. ramphoceli*, a qual foi originalmente descrita de *R. b. dorsalis*, ambos da família Thraupidae.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, A. Effects of selective logging on a bird community in the Brazilian Atlantic Forest. *Condor*, v. 101, p. 537-548. 1999.
- ALLEN P. C., FETTERER R. H. Recent advances in biology of Eimeria species and diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, p. 58-65, 2002.
- ALVES, M. A. S. Dieta e táticas de forrageamento de *Neothraupis fasciata* em cerrado no Distrito Federal, Brasil (Passeriformes: Emberezidae). *Ararajuba*, v. 2, p. 25-29, 1991..
- ARGEL-DE-OILIVEIRA, M. M. Aves e vegetação em um bairro residencial da cidade de São Paulo (São Paulo, Brasil). *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 12, p. 81 - 92, 1995.
- AXIMOFF, I.; RODRIGUES, R. C. Histórico dos incêndios florestais no Parque Nacional do Itatiaia. *Ciência Florestal*, v. 21, p. 83-92, 2011.
- BAKER. J.R.; MULLER, R. (ed.) *Advances in parasitology*. v 28. Academic press. 1989.
- BARBERENA, F. F. V. A.; BAUMGRATZ, J. F. A.; CHIAVEGATTO, B. Melastomataceae no parque nacional do Itatiaia, sudeste do Brasil: tribos bertolonieae e merianieae. *Rodriguésia*, v. 59, p. 381-392, 2008.
- BARKER, F. K.; BURNS, K. J.; KLIČKA, J.; LANYON, S. M.; LOVETTE, I. J. Going to Extremes: Contrasting Rates of Diversification in a Recent Radiation of New World Passerine Birds. *Systematic Biology*, v. 62, p. 298-320, 2013.
- BARTA, J. R.; OGEDENGBE, J. D.; MARTIN, D. S.; SMITH, T. G. Phylogenetic Position of the Adeleorinid Coccidia (Myzozoa, Apicomplexa, Coccidia, Eucoccidiococcídiorida, Adeleorina) Inferred Using 18S rDNA Sequences. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 59, p. 171-180, 2012.
- BARTA, J. R.; THOMPSON A. What is Cryptosporidium? Reappraising its biology and phylogenetic affinities. *Trends in Parasitology*, v. 22 No. 10, 2006.
- BELLI, S. I.; SMITH, N. C.; FERGUSON, D. J. P. The coccidian oocyst: a tough nut to crack!. *ELSEVIER, TRENDS in Parasitology*. Vol. 22 No.9. 2006
- 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, 2009a

- 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, 2009c.
- 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 from two distinct sites. *Revista Brasileira de Medicina Veterinaria*, v. 30, p. 207-211, 2008a.
- BERTO, B. P.; FLAUSINO W.; LUZ, H. B.; FERREIRA, I.; LOPES, C.W.G. *Isospora ramphoceli* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Brazilian tanager (Aves: Passeriformes: Thraupidae) *Ramphocelus bresilius dorsalis* Sclater, 1855. *Zootaxa*, v. 2650, p. 57–62, 2010c.
- 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. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 17, p. 33-35, 2008c.
- 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, 2008b.
- 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 C. W. G.; FLAUSINO W. *Morfologia e sistemática de coccídios (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitas de aves passeriformes da Ilha da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil*. 2010. 163p. Tese (Ciências Veterinárias-Parasitologia Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010a.
- BERTO, B. P.; LOPES, C. W. G. Distribution and Dispersion of Coccidia in Wild Passerines of the Americas. In: RUIZ, L.; IGLESIAS, F. *Birds: Evolution and Behavior, Breeding Strategies, Migration and Spread of Disease*. New York: Nova Science Publishers. 2013.
- BERTO, B. P.; LUZ, H. B.; FERREIRA, I.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. A diagnostic tool to identify species of the genus *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa:

- Eimeriidae) from Thraupidae family (Aves: Passeriformes): A dichotomous key. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 32, p. 182-186, 2010b.
- BERTO, B. P.; LUZ, H. R.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA-FILHO, W. L.; FERREIRA, I. F., 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, 2011 b.
- BERTO, B. P.; MCINTOSH D.; LOPES, C. W. G. Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 23, p. 1-15, 2014.
- BERTO, B.P.; BALTHAZAR, L. M. C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. New isosporoid coccidian parasites of sayaca tanager, *Thraupis sayaca*, from South America. *Acta Protozoologica*, v. 54, p. 90–94, 2009b.
- BIRDLIFE International (2015) IUCN Red List for birds. Disponível em: <<http://www.birdlife.org>>. Acesso em: 21 out. 2015.
- 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.
- 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.
- BURNS, K. J. Molecular Systematics of Tanagers (Thraupinae): Evolution and Biogeography of a Diverse Radiation of Neotropical Birds. *Molecular phylogenetics and evolution*, v. 8, p. 334-348, 1997.
- BURNS, K. J.; SHULTS, A. J.; TITLE, P. O.; MASON, N. A.; BARKER, F. K.; KILCKA J.; LANYON, S. M.; LOVETTE, I. J. Phylogenetics and diversification of tanagers (Passeriformes: Thraupidae), the larges radiation of neotropical songbirds. *Molecular phylogenetics and Evolution*, v. 75, p. 41-77, 2014.
- CATCHPOLE, J.; NORTON, C.; JOYNER, L. 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, 2011.
- CBRO. *Lista das aves do Brasil*. Rio de Janeiro: Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos, 2014.

- CERNA, Z. Two new coccidians from passeriform birds. *Folia Parasitologica*, v. 23, p. 277-279, 1976.
- COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; OLIVEIRA, V. M.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Diagnóstico e tratamento das coccidioses em trinca-ferros-verdadeiros *saltator similis* d' orbigny lafresnaye, 1837 mantidos em regime de quarentena. *Revista Brasileira Medicina Veterinária*, v. 34, supl. 1, p. 46-54, 2012.
- COELHO, C. D.; BERTO, B. P.; NEVES, D. M.; 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). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, v. 22, p. 64-70, 2013.
- DOLNIK , O. V.; LOONEN, M. J. J. E. First finding of *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimeš, 1963 (Protozoa: Coccidiida) in Barnacle Geese (*Branta leucopsis* Bechstein, 1803) on Spitsbergen. *Zoological Institute, St. Petersburg*, 2006a
- DOLNIK, O. V. Diurnal periodicity of oocysts release of *Isospora dilatata*(Sporozoa: Eimeriidae) from the common Starling (*Sturnus vulgaris*) in nature. *Parazitologiya*, v. 33, p. 74-80, 1999
- DOLNIK, O. V. The relative stability of chronic *Isospora sylvianthina* (Protozoa: Apicomplexa) infection in blackcaps (*Sylvia atricapilla*): evaluation of a simplified method of estimating isosporan infection intensity in passerine birds. *Parasitology Research*, v. 100, p. 155-160, 2006b.
- DOLNIK, O. V.; DOLNIK, V. R.; BAIRLEIN, B. 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.
- 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.
- DUSZYNSKI, D. Increase in size of *Eimeria separata* oocysts during patency. *Journal of Parasitology*, v. 57, p. 948-952, 1971,
- DUSZYNSKI, D. W.; COUCH, L.; UPTON, S. J.; The coccidia of the world, 2000. Disponível em < <http://biology.unm.edu/coccidia/caryos.html> >. Acesso em: 11 jan. 2016.
- DUSZYNSKI, D. W.; WILSON, W. D.; UPTON, S. J.; LEVINE, N. D. Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) in the Primates and the Scandentia. *International Journal of Primatology*, v. 20, p. 761-797, 1999.

- ECKERT, J.; BRAUN, R.; SHIRLEY, M.W.; COUDERT, P. *Guidelines on techniques in coccidiosis research*. Luxemburgo: Office for Official Publications of the European Communities, 1995.
- EULER, C. Descrição de ninhos e ovos das aves do Brasil. *Revista do Museu Paulista*, v. 4, p. 9-148. 1900.
- FAYER, R. Epidemiology of protozoan infection: the Coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, p. 75-103, 1980.
- FREITAS, M. F. L.; OLIVEIRA, J. B.; CAVALCANTI, M. D. B.; LEITE, A. S.; MAGALHAES, V. S.; OLIVEIRA, R. A.; SOBRINO A. E. Going to Extremes: Contrasting Rates of Diversification in a Recent Radiation of New World Passerine Birds. *Parasitologia Latinoamericana*, v. 57, p. 50 - 54, 2002.
- GARDNER, S.; DUSZYNSKI, D. 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.
- HASSUM, I.C.; VALLADARES, G.S.; DE MENEZES, R. DE C.A.A.. Diferenciação das espécies de Eimeria parasitas de ovinos pelo uso da regressão linear e algoritmos morfológicos. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 16, p. 97-104, 2007..
- IUCN. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. Disponível em: < <http://www.redlist.org>>. Acesso em: 10 Out. 2015.
- JANZEN, D. H. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist*, v, 104, p. 501-528, 1970.
- JIRKU, M.; MODRY D.; SLAPETA, J. R.; KOUDELA B.; LUKES, J. The Phylogeny of Goussia and Choleoimeria (Apicomplexa; Eimeriina) and the Evolution of Excystation Structures in Coccidia. *Protist*, v. 153, p. 379-390, 2002.
- JOYNER, L. Host and Site specificity. In: LONG P., *The biology of the Coccidia*. University Park Press, Baltimore, 1982. P. 35-62.
- LAINSON, R. Observations on some avian coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) in Amazonian Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 89, p. p. 303-311, 1994, 1994.
- LENZII, M.; MATOS, J. Z.; ORTH, A. I. Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). *Acta Botânica Brasileira*, v. 20, p. 487-50, 2006,

- MAI, K.; SHARMAN, P. A.; WALKER, R. A.; KATRIB, M.; SOUZA, D.; MCCONVILLE, M. J.; WALLACH, M. G.; BELLI, S. I.; FERGUSON, D. J. P.; SMITH, C. S. Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 104(2), 2009.
- MAIA-GOUVÊA, E. R.; GOUVÊA, E.; PIRATELLI, A. Comunidade de aves de sub-bosque em uma área de entorno do Parque Nacional do Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, v. 22, p. 859-866, 2005
- MANHÃES, M. A. Dieta de traupíneos (Passeriformes, Emberizidae) no parque estadual do Ibitipoca, Minas Gerais, *Zoologia*, v. 93, p. 59-73, 2003.
- MEHLHORN, H. *Parasitology Research Monographs. Springer Heidelberg Dordrecht: London*, v. 2. 2011.
- METZELAARS, H.; SPAARGAREN, T.; McQUISTION, T. E.; CAPPARELLA, A. P. *Isospora iridosornisi*, a new coccidian parasite (Apicomplexa, Eimeriidae) from the yellow-throated tanager, *Iridosornis analis* of South America. *Acta Parasitologica*, v. 50, p. 191-193, 2005.
- MORRISON, D. A. Evolution of the Apicomplexa: where are we now?. *Evolutionary Parasitology*, v. 25, p. 375-382, 2009.
- NASCIMENTO, J. L. X.; NASCIMENTO, I. L. S.; ANTAS, P. T. Z. Manual de Anilhamento de Aves no Brasil. CEMAVE: Brasília, 1994.
- NASCIMENTO, C. J. Dados preliminares de o comportamento alimentar de aves em *Cecropia* sp., área urbana, Resende RJ. *I SIMPÓSIO DE PESQUISA EM MATA ATLÂNTICA, Anais 2010*. p. 117-119. *Engenheiro Paulo de Frontin-RJ*, 2010.
- PARKER, B.; DUSZYNSKI, D. Polymorphism of eimerian oocysts: a dilemma posed by working with some naturally infected hosts. *Journal of Parasitology*, v. 72, p. 602-604, 1986.
- PARKER, T. A.; STOTZ, D. F.; FITZPATRICK, J. W.; PARKER, T. A., MOSKOVITS, D. K. *Neotropical Birds: Ecology and Conservation. University of Chicago Press, Ecological and distributional databases*, 1996.
- PARRINI, R.; PACHECO, J. F. Frugivoria por aves em *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae) na Mata Atlântica do Parque Estadual dos Três Picos, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Atualidades Ornitológicas On-Line*, v. 162, p. 33-41, 2011.
- PARRINI, R.; RAPOSO, M. A.; Aves se alimentando de *Alchornea glandulosa* (Euphorbiaceae) na Mata Atlântica do sudeste do Brasil. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão*, v. 27, p. 75-83, 2010

- PELLERDY, L. Three new coccidia parasitic in Cuban birds (Protozoa: Sporozoa). *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, v. 13, p. 227-230, 1967.
- PEREIRA, M. J. S.; FONSECA, A.H.; LOPES, C.W.G. Regressão Linear na caracterização de variações morfométricas em Coccidia. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, p. 75-78, 2001. .
- PINTO, O. M. O. Sobre a coleção Carlos Estevão de peles, ninhos e ovos de aves de Belém. Pará. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 11, p. 111-224, 1953.
- PONÇO, J. V.; TAVARES, P. R. de A.; GIMENES, M. R. Riqueza, composição e distribuição espacial de aves na área urbana do município de Ivinhema (MS). *Encontro de iniciação científica-enic, Anais* v. 1, n. 3, 2011..
- PURIFICAÇÃO, K. N.; CASTILHO, L. S.; VIEIRA, F. M.; PASCOTTO, M. C. Distribuição da avifauna ao longo de um gradiente altitudinal de pequena escala em área de cerrado, leste do Estado de Mato Grosso, Brasil. *Ornithologia*, v. 5, p. 78-91, 2013.
- PURVIS, A.; NEE S.; HARVEY, P.H. Macroevolutionary inferences from primate phylogeny. *Proceedings of the Royal Society of London: Series B: Biological Science*, v. 260, p. 329-333, 1995.
- RAMIREZ, L.; FILHO, W. L. T.; BERTO, B. P.; BALTHAZAR, L. M. C.; LOPES, C. W.G. Caracterização de variações morfométricas com a utilização da regressão linear em espécies do gênero *Eimeria* em caprinos da região serrana do estado do Rio de Janeiro, Brasil, *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, p. 173-178, 2009.
- RICHTER, M. *Geotecnologias no Suporte ao Planejamento e Gestão de Unidades de Conservação Estudo de caso: Parque Nacional do Itatiaia*. Seropédica: Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.
- RICKLEFS, R. E.; Global diversification rates of passerine birds. Vol. 270, Royal Society. No. 1530, pp. 2285-2291, 2003.
- SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª ed. FEPMVZ Editora, 2002.
- SAZIMA, I; SAZIMA, M. Petiscos florais: pétalas de *Acca sellowiana* (Myrtaceae) como fonte alimentar para aves em área urbana no Sul do Brasil. *Biota Neotropica*, v. 7, p. 307-311, 2007.
- SCLATER, P. L. *Catalogue of the Passeriformes, or perching birds, Fringilliformes: Part II*. British Museum. London: Trustees of the British Museum (Natural History) 1886.
- SICK, H. *Ornitologia brasileira*. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira. 1997.

- SIGRIST, T. *Avifauna Brasileira: descrição das espécies*, São Paulo, Avis Brasilis, 2009. vol. 2. 600 p
- SILVA, D. C.; HOMEM, C. G.; NAKAMURA, A. A.; SILVA, V. C.; MEIRELES, M. V. Pesquisa de oocistos de *Isoospora* spp. em passeriformes criados em cativeiro. *Ciência Animal Brasileira*, v. 15, p. 484-489, 2014.
- SILVA, W. R.; Notas sobre o comportamento alimentar de três espécies de Traupídeos (passeriformes: Thraupidae) e *Cecropia concolor* na região de Manaus. *Acta Amazônica*, v. 10, p. 427-429, 1980.
- SNOW, B. K.; SNOW, D. W. The feeding ecology of tanagers and honeycreepers in Trinidad. *Auk*, v. 88, p. 291-322, 1971.
- SVOBODOVA, M. *Isoospora*, *Caryospora* and *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) in passeriform birds from Czech Republic. *Acta Protozoologica*, v. 33, p. 101-108, 1994.
- TEMPLAR, A. C.; McQUISTION, T. E.; CAPPARELLA, A. P. A new coccidian parasite, *Isoospora andensis*, from the common bush tanager *Chlorospingus ophthalmicus* of South America. *Acta Protozoologica*, v. 43, 369-372, 2004.
- TENTER, A. M.; BARTA, J. R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D. W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D. A.; THOMPSON, R. C. A.; CONRAD, P. A. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. *International Journal for Parasitology*, v. 32, p. 595-616, 2002.
- UPTON, S. J.; CURRENT, W. L.; BARNARD, S. M. A review of the genus *Caryospora* Léger, 1904 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, v. 8, p. 3-21, 1986.
- VARGHESE, T.; YAYABU, R. A survey of coccidian and helminth parasites of birds in Papua New Guinea with special reference to the Birds of Paradise. In: FOWLER, M.E. (ed.), 4th International Conference of the Wildlife Disease Association *Wildlife Diseases of the Pacific Basin and other Countries Proceedings* *Wildlife Disease Association*, p. 102-107, 1981.
- VASCONCELLOS, M. S. D.; BATISTA, L. C. S. O.; VIDAL, L. G. P.; PASSOS, M. M. Intensidade de infecção por *Isoospora* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) em trincas-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 Medicina Veterinária*, v. 34, p. 261-264, 2012.
- VIDAL, L. G. P.; FAGUNDES, T. F.; PANTOJA, C. S.; MENEZES, R. C. A. A. Morfometria de oocistos de *Eimeria* em bezerras segundo a faixa etária e a intensidade de infecção, Município de Piraí, RJ. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, v.14, p. 765-777, 2013
- WENYON, C. M. *Protozoology*. Vol. 2. NewYork: William, Wood and Company, 1926.
- YOON, H. S.; GRANT, J.; TEKLE, Y. I.; WU, M.; CHAON, B. C.; CLE, J. C.; LOGSDON Jr, J. M.; PATTERSON, D. J.; BHATTACHARYA, D.; KATZ, L. A. Broadly sampled multigene trees of eukaryotes. *BMC Evolutionary Biology*, v. 8, p. 1-12, 2008.

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 coccídios	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 SO 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	coleção

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

Código de autenticação: 84371796



Página 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



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

Anexo C

	Data:
	Localidade:
	Condições ambientais:
	Outras observações:

Código	Ave							Amostra fecal					Ectoparasita	
	Espécie	Anilha	Sexo	Cod. fotos	P/C	Local	Obs.	Cod.	Horário (+/-)	coccidio	OoPD	Cod. fotos	Espécie	Estágio
								a						
								b						
								c						
								d						
								a						
								b						
								c						
								d						
								a						
								b						
								c						
								d						
								a						
								b						
								c						
								d						
								a						
								b						
								c						
								d						

***Isospora ramphoceli* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Brazilian tanager (Aves: Passeriformes: Thraupidae) *Ramphocelus bresilius dorsalis* Sclater, 1855**

BRUNO PEREIRA BERTO^{1,3}, WALTER FLAUSINO¹, HERMES RIBEIRO LUZ²,
ILDEMAR FERREIRA² & CARLOS WILSON GOMES LOPES¹

¹Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil

²Departamento de Biologia Animal, Instituto de Biologia, UFRRJ, BR-465 km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil – CNPq fellowship

³Corresponding author. E-mail: bertobp@ufrj.br

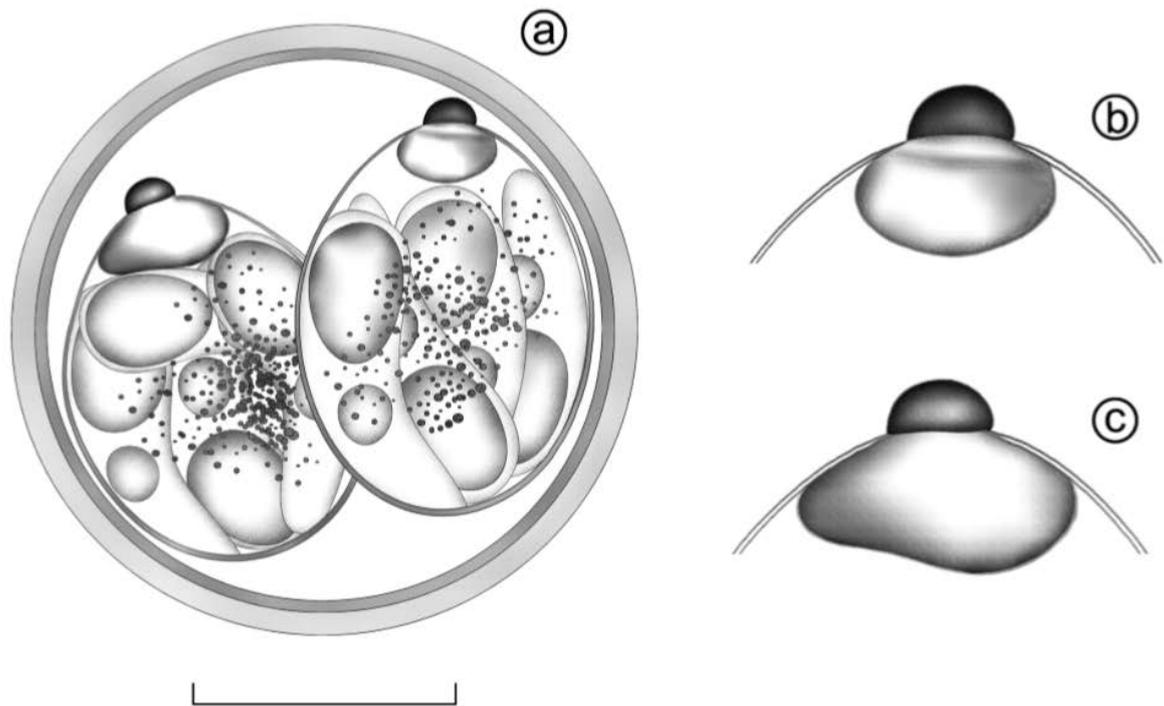


FIGURE 1. Line drawings of *Isospora ramphoceli* n. sp., a new coccidium species recovered from the Brazilian tanager *Ramphocelus bresilius dorsalis*. (a) sporulated oocyst with its respective variations of (b, c) detached Stieda and substieda bodies. Scale-bar: 10µm for oocysts; and 5µm for Stieda and substieda bodies.

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 Coccídios 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.

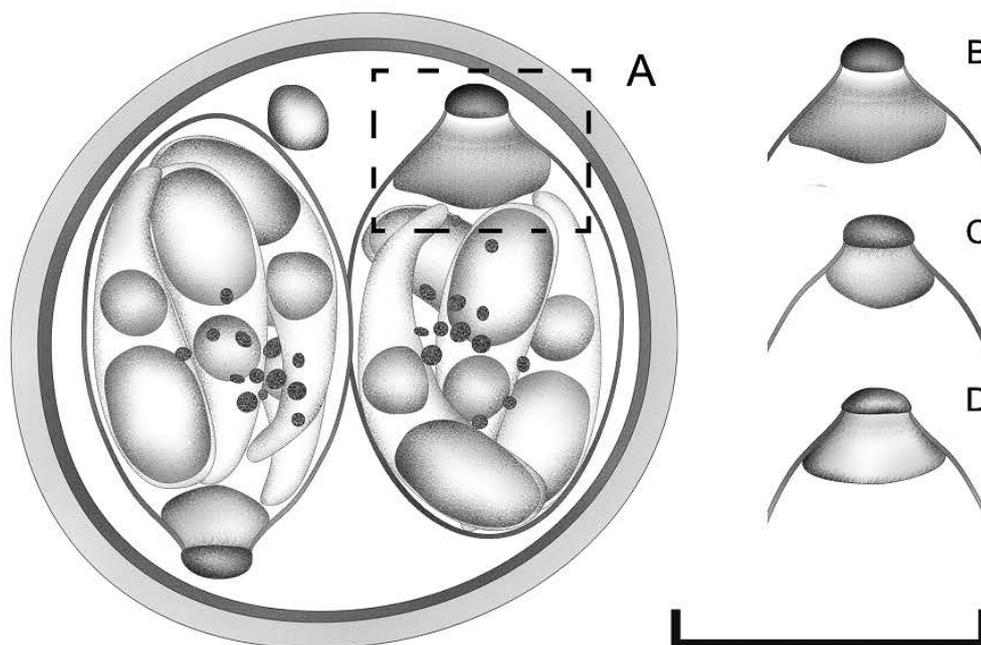


FIGURE 1. Line drawings of *Isospora attilae* n. sp., a new coccidium species recovered from the grey-hooded attila, *Attila rufus*. (a) sporulated oocyst with its respective variations of (b–d) Stieda and substieda bodies. Scale-bar: 10µm.



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. *Isospora attilae* differs from other *Isospora* species from the passerines of same family (Table 1). *Isospora mionectesi* has oocysts and sporocysts larger than *I. attilae*. *Isospora 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 *Isospora attilae* n. sp. and *Isospora* 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>Isospora 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>Isospora 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	Residuum
<i>Isospora ferox</i>			ovoidal	11.7 × 8.5 (11–13 × 8–10)	present flattened	present prominent,	diffuse
<i>Isospora 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>Isospora 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 *Isospora* 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 *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the short-crested flycatcher *Myiarchus ferox* (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) *Isospora 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 *Isospora* 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 Eimeriidae. *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, *Isospora parnaitataiensis* 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: *Isospora*) 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. *Isospora parnaitataiensis* 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. *Isospora 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 *Gymnophithys 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).

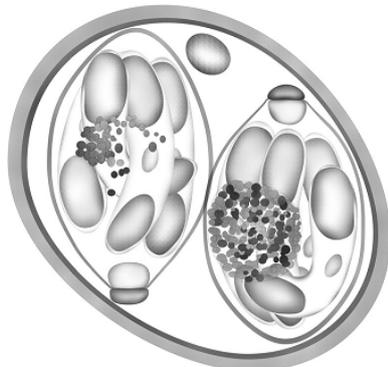


Fig. 1 Line drawing of *Isospora parnaitaiensis*, a new coccidium species recovered from the white-shouldered fire-eye *Pyriglena leucoptera*. Scale bar 10 μm

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 % (K₂Cr₂O₇) solution at 1:6 (v/v). Samples were carried to the Laboratório de Coccídios 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://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-59/2015.

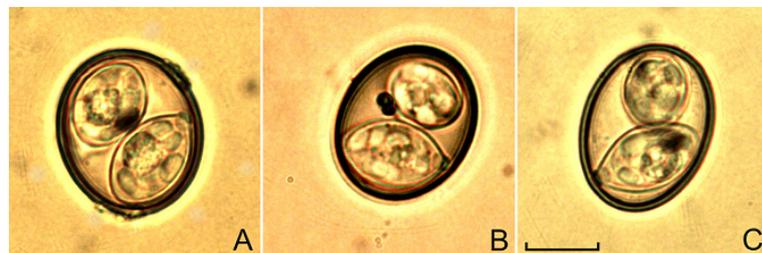
Type-locality: Parque Nacional do Itatiaia (22° 27' S, 44° 35' W), southeastern Brazil.

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 × 18–21 (23.8 × 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 μm



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. parnaitatiaensis* 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							
			Shape	Measurements (µm)	Shape index	Wall	Polar granule	Shape	Measurements (µm)	Shape index	Stieda body	Sub-Stieda body	Residuum
<i>Isoospora sagittatae</i> McQuisition & Capparella, 1992	<i>Hylophylax naevoides</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
<i>Isoospora parnaitatiaensis</i> n. sp.	<i>Gymnophaps salvini</i> (Berlepsch, 1901); <i>Willisornis poecilinotus</i> (Cabanis, 1847)	Berto et al. (2014b); Current work	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 parnaitatiaensis</i> n. sp.	<i>Pyriglena 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 *Isoospora* 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, Grulet 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. parnaitataiensis* in having larger oocysts with sporocyst subspherical to ovoidal and Stieda body thin and flattened. Therefore, this species is easily distinguished from *I. parnaitataiensis*.

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 *Isoospora*. 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. parnaitataiensis* 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 *Isoospora 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, Flausing W, McIntosh D, Teixeira-Filho WL, Lopes CWG (2011) Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isoospora* 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): *Isoospora 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) *Pyriglena 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, $24.1 \times 21.4 \mu\text{m}$, 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, $14.0 \times 9.5 \mu\text{m}$. 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 ($23^{\circ}04'S$, $43^{\circ}53'W$), 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 lopescw@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).

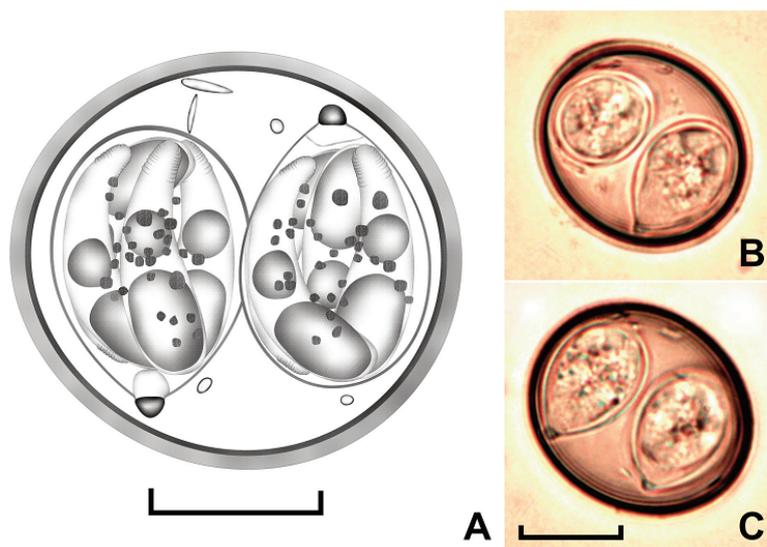


Fig. 1. Oocysts of *Isospora corruirae*, a new coccidian species collected from the feces of the southern house wren *Troglodytes musculus*. A. Composite line drawing; B–C. Photomicrographs. Scale-bar: 10 µm

Author's copy

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

Coccidia	Hosts	References			Oocysts			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)	sub-spherical	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)	ovoidal	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	sub-spherical to ovoidal	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 trape- zoidal, ~ 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