

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE
E CONSERVAÇÃO DA NATUREZA**

Glauber Thiago Martins Barino

**Hemosporídeos parasitos (Haemosporida: Apicomplexa) em aves de rapina
neotropicais: diversidade, abordagem integrativa e conservação**

Juiz de Fora

2021

Glauber Thiago Martins Barino

**Hemosporídeos parasitos (Haemosporida: Apicomplexa) em aves de rapina
neotropicais: diversidade, abordagem integrativa e conservação**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Biodiversidade.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias

Coorientadora: Profa. Dra. Mariana Fonseca Rossi

Colaboradora: Profa. Dra. Marta D'Agosto

Juiz de Fora

2021

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Barino, Glauber Thiago Martins.

Hemosporídeos parasitos (Haemosporida: Apicomplexa) em aves de rapina neotropicais: diversidade, abordagem integrativa e conservação / Glauber Thiago Martins Barino. -- 2021.
210 p. : il.

Orientador: Roberto Júnio Pedroso Dias

Coorientadora: Mariana Fonseca Rossi

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, 2021.

1. Haemosporida. 2. Aves de rapina. 3. Gene cyt b. 4. Delimitação computacional de espécies. 5. Estágio exoeritrocítico. I. Dias, Roberto Júnio Pedroso, orient. II. Rossi, Mariana Fonseca, coorient. III. Título.

Glauber Thiago Martins Barino

**Hemosporídeos parasitos (Haemosporida: Apicomplexa) em aves de rapina
neotropicais: diversidade, abordagem integrativa e conservação**

Tese apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Biodiversidade.

Aprovada em 26 de fevereiro de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias –
Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Mariana Fonseca Rossi –
Coorientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Carolina Romeiro Fernandes Chagas
Nature Research Centre – Lithuania



Dra. Patricia Silveira
Universidade Federal de Minas Gerais



Dra. Kézia Katiani Gorza Scopel
Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. André de Camargo Guaraldo
Universidade Federal de Juiz de Fora

Em tempos de incertezas e perdas irreparáveis, dedico este trabalho a todas as vítimas da COVID-19 e àqueles que os amavam. Em todo caos há esperança que nos faz seguir em frente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a minha mãe Alice, pelo exemplo de mulher educadora que sempre me inspirou. Obrigado pelo amor aos filhos, pela dedicação aos alunos na profissão de professora e por demonstrar o valor da educação na construção do ser humano.

Ao meu companheiro Tássio, sempre presente acreditando em meus ideais e na minha capacidade de vencer desafios. Obrigado por estar ao meu lado a todo momento e me apoiar nas decisões. Obrigado por entender a minha falta em muitos momentos em que tive que me afastar da vida social para me dedicar aos estudos, mas que em nenhum momento me afastei do nosso amor.

Aos meus irmãos, Aline, Ederfrane, Pablo e Priscilla, por todos os momentos de amor vivenciados ao longo desses anos. Obrigado pelos conselhos de vida, pela paciência nas ausências e pelos encontros regados de felicidade.

Agradeço aos meus familiares, de perto e de longe, que de alguma forma sempre torceram pelo meu crescimento pessoal e profissional. Da mesma forma, agradeço a família Belgo Alonso, que hoje também é minha, pelo reconhecimento do meu esforço na concretização de mais essa conquista.

Ao meu orientador Prof. Dr. Roberto Júnio Pedroso Dias, professor muito querido da Universidade Federal de Juiz de Fora que não apenas me orientou ao longo dessa tese, mas também me escutou em muitos momentos de angústia e inquietações durante esse processo. Obrigado por ser um referencial de profissional e de pessoa, e por confiar no meu trabalho.

A minha coorientadora Profa. Dra. Mariana Fonseca Rossi, professora da Universidade Federal de Juiz de Fora, por toda a compreensão, paciência e tempo dispendido ao longo desse trabalho. Obrigado pela leitura atenta e a valiosa ajuda em todas as análises, com a qual aprendi muito.

Agradeço a colaboração da Profa. Dra. Marta D'Agosto, grande inspiração de competência pelos longos anos dedicados à Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Laboratório de Protozoologia. Nunca faltou seu apoio às demandas dos alunos.

À Dra. Carolina Romeiro Fernandes Chagas, do Nature Research Centre; à Dra. Patrícia Silveira, da Universidade Federal de Minas Gerais; aos doutores Kézia Katiani Gorza Scopel e André de Camargo Guaraldo, ambos da Universidade Federal de Juiz de Fora, meu agradecimento por terem aceitado nosso convite para serem membros titulares da minha banca de defesa.

À Dra. Cláudia Bezerra da Silva, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro; à

Dra. Lilian Tonelli Manica, da Universidade Federal do Paraná; e aos doutores Sthefane D'ávila e Ralph Maturano, da Universidade Federal de Juiz de Fora, por terem aceitado nosso convite para serem membros suplentes da banca examinadora.

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza pela oportunidade de ingressar e concluir este doutorado. Agradeço também aos coordenadores do programa e a toda equipe administrativa que não mediram esforços para nos atender e ajudar ao longo desses anos.

Aos professores das disciplinas que cursei durante o doutorado por todo conhecimento que obtive na área da Conservação da Natureza.

Ao Instituto Estadual de Florestas (IEF), e principalmente às servidoras Cláudia Maria Lourenço de Oliveira, Sarah Stuz Reis e Laura Silva de Oliveira, por acreditarem na conservação da fauna nativa, pelos conhecimentos compartilhados e pelo apoio ao longo dos quatro anos desta tese. Agradeço ainda ao IEF pela autorização para as coletas sanguíneas nas aves do Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS).

Ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA), e principalmente aos servidores da Unidade de Juiz de Fora, que permitiu a coleta de material biológico no CETAS Juiz de Fora e pelo apoio nas atividades aqui desenvolvidas.

Aos estagiários do CETAS Juiz de Fora pelo apoio nas atividades de coleta sanguínea nas aves de rapina estudadas.

Ao Prof. Dr. Janildo Ludolf Reis Júnior, professor do curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela ajuda na leitura e interpretação das lâminas histopatológicas.

Ao técnico de laboratório Haroldo Lobo dos Santos Nascimento pela confecção das lâminas histopatológicas aqui analisadas.

Ao meu amigo Dr. Guilherme Simiqueli, da Universidade Federal de Viçosa, e doutoras Simone Jaqueline Cardoso e Juliane Floriano Lopes Santos, da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela ajuda nas análises estatísticas.

Aos amigos do Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pelos momentos de companheirismo, compartilhamento de conhecimentos, angústias e alegrias divididas que tornaram estes quatro anos mais leves.

Um especial agradecimento à Dra. Luisa de Oliveira pela disponibilidade para ensinar todas as técnicas moleculares, e por dispor de seus finais-de-semana para compartilharmos do amor e da dor das inúmeras PCR's. Obrigado de coração por ser uma grande tutora.

Aos doutorandos Talys Henrique Assumpção Jardim e Rafaela Venançoní Matoso, e

ao mestrando Victor Araújo Franzone Vital pelas grandes discussões a respeito desse tema e do apoio na realização das análises morfológicas e moleculares.

Às aves de rapina, animais tão misteriosos a quem criei ainda mais fascínio e admiração durante esta tese. Elas me ensinaram muito sobre biologia e sobre a importância da conservação.

Aos discentes de doutorado do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, que junto a mim organizaram e ministraram o 7º Curso de Verão, com o esforço de todos conseguimos realizar esse grande evento de educação ambiental.

À International Society of Protistologists e a Universidade Federal de Juiz de Fora por terem custeado a minha participação no VIII ECOP-ISOP, em Roma, que me permitiram passar dias de profundo conhecimento em contato com diversos pesquisadores da minha área de pesquisa.

Uma tese nunca é construída sozinha. Meu muito obrigado a todos aqueles que me auxiliaram para o alcance desse objetivo. Apesar do esforço do discente, o apoio dos atores envolvidos é o que demonstra que somos capazes de fazer melhor e ir mais longe!

“Eu sei que por algum tempo vou me manter oscilante entre a razão e o desejo. Algumas decisões são tomadas com o coração inquieto e o pensamento tomado por muitas coisas que aconteceram e acontecem, tudo misturado. Sei também que o tempo vai ser meu amigo para essas coisas da vida. Com coragem eu sigo, nessa velocidade que não temo, nem mesmo de ousar ser feliz”.

Fernando Pessoa

RESUMO

As aves de rapina, grupo artificial formado pelas ordens Accipitriformes, Falconiformes, Cathartiformes e Strigiformes, apresentam características morfológicas e comportamentais semelhantes, sendo principalmente predadoras de topo de cadeia alimentar. As aves provenientes de vida livre frequentemente são parasitadas por hemosporídeos, hemoprotozoários da ordem Haemosporida, porém, estudos parasitológicos envolvendo as aves de rapina dos neotrópicos ainda são escassos. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi conhecer quais espécies de aves de rapina chegaram em Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do Brasil, além de investigar a diversidade de hemosporídeos que infectam aves de rapina neotropicais, por meio de uma abordagem integrativa que utiliza análises morfológicas, moleculares, ecológicas, filogenéticas e de delimitação computacional de espécies, com vistas à conservação da avifauna brasileira. Durante os anos de 2004 a 2019, os CETAS do Brasil receberam 67 espécies diferentes de aves de rapina, sendo 33 da ordem Accipitriformes, 17 da Strigiformes, 13 da Falconiformes e quatro da Cathartiformes. No banco de dados genéticos MalAvi foram relatadas 265 linhagens do gene mitocondrial *cyt b* em 16 dessas espécies de aves de rapina, sendo 218 linhagens ocorrendo exclusivamente nas quatro ordens desse grupo, e 170 linhagens exclusivas de uma única dessas ordens de aves de rapina, indicando uma possível especificidade pela ordem aviária parasitada. Além dos dados obtidos por essa análise, foram coletadas amostras sanguíneas de 155 aves de rapina de 23 espécies diferentes que foram recebidas no CETAS Juiz de Fora. As amostras foram submetidas a pesquisa de hemoparasitos por meio da avaliação de esfregaços sanguíneos e *nested*-PCR para identificação de espécies de hemosporídeos. A prevalência média da infecção foi de 58.7% (Strigiformes - 63.75%; Falconiformes - 60.61%; Cathartiformes - 50%; Accipitriformes - 46.15%), sendo registrada pela primeira vez a infecção das espécies *Strix virgata* e *Bubo virginianus* por *Plasmodium nucleophilum*; de *Pulsatrix koeniswaldiana*, *Asio clamator* e *Megascops choliba* por *Haemoproteus macrovacuolatus*; e de *Athene cunicularia*, *Glaucidium brasilianum* e *Pulsatrix koeniswaldiana* por *Haemoproteus syrnii*. Foram obtidas 20 sequências do gene *cyt b*, sendo oito delas novos depósitos nos bancos de dados genéticos. Não foram encontradas diferenças significativas ou correlação entre a prevalência da infecção com as idades das aves, período do ano (chuva ou seca) e fatores meteorológicos (temperatura e precipitação). O presente estudo fornece ainda a caracterização morfológica, morfométrica e molecular de *H. syrnii* em corujas, e demonstra que as sequências encontradas desse parasito se agrupam em dois clados independentes bem

suportados, com uma considerável variação intraespecífica e com pequenas diferenças morfológicas e morfométricas dentro da população estudada, sugerindo a existência de potenciais espécies crípticas. A análise histopatológica de corujas que vieram a óbito no CETAS revelou que os pulmões e o músculo esquelético são locais de estágio exoeritrocítico de *H. syrni*. Os algoritmos de delimitação computacional de espécies, ferramenta recente utilizada para a ordem Haemosporida, indicaram haver uma diversidade críptica das espécies dessa ordem ocorrendo nas aves de rapina, e que apesar da necessidade de mais estudos com essas novas ferramentas, já demonstram que se deve ter uma preocupação no manejo e reintrodução das aves infectadas. Estudos relacionados ao parasitismo de aves de rapina por hemosporídeos são imprescindíveis para o desenvolvimento de estratégias de conservação aviária, principalmente sabendo-se que grande parte das aves recebidas nos CETAS são reintroduzidas na natureza. Uma abordagem integrativa, com diferentes metodologias, pode auxiliar na identificação das espécies de hemosporídeos, na compreensão dos seus possíveis efeitos deletérios nas aves de rapina e na tomada de decisão quanto ao manejo de aves cativas.

Palavras-chave: Hemoparasitos. Aves silvestres. Gene *cyt b*. Delimitação computacional de espécies. *Haemoproteus syrni*. Reintrodução animal. Estágio exoeritrocítico.

ABSTRACT

Birds of prey, a group formed by the orders Accipitriformes, Falconiformes, Cathartiformes and Strigiformes, have similar morphological and behavioral patterns, being mainly top predators of the food chain. Birds coming from free living are often parasitized by haemosporidians, hemoprotozoa of the order Haemosporida, however, parasitological studies involving the species of birds of prey of the Neotropics are still scarce. Therefore, the aim of the present study was to know which birds of prey arrived at Wildlife Rehabilitations Centers (CETAS) of Brazil, as well as to investigate the diversity of haemosporidians that infect Neotropical raptors, through an integrative approach that uses morphological, molecular, ecological, phylogenetic, and computational species delimitation analyses, aiming at the conservation of the Brazilian avian fauna. During the years 2004 to 2019, the CETAS of Brazil received 67 species of birds of prey, being 33 of the order Accipitriformes, 17 of Strigiformes, 13 of Falconiformes and four of Cathartiformes. In the MalAvi genetic database were reported 265 sequences of the mitochondrial *cyt b* gene in 16 of these species of birds of prey, being 218 sequences occurring exclusively in the orders of this group, and 170 unique lineages from a single one of these orders of birds of prey, indicating a possible specificity by the parasitic avian order. In addition to the data obtained by this analysis, blood samples were collected from 155 birds of prey of 23 different species that were received at the CETAS Juiz de Fora. The samples were submitted to hemoparasite research through the evaluation of blood smear and *nested*-PCR for identification of haemosporidian species. The average prevalence of infection was 58.7% (Strigiformes - 63.75%; Falconiformes - 60.61%; Cathartiformes - 50%; Accipitriformes - 46.15%), being registered for the first time the infection of *Strix virgata* and *Bubo virginianus* by *Plasmodium nucleophilum*; of *Pulsatrix koeniswaldiana*, *Asio clamator* and *Megascops choliba* by *Haemoproteus macrovacuolatus*; and of *Athene cunicularia*, *Glaucidium brasilianum* and *Pulsatrix koeniswaldiana* by *Haemoproteus syrnii*. We also obtained 20 sequences of the *cyt b* gene, eight of them new deposits in the genetic databases. No significant differences or correlations were found between infection prevalence with bird age, season (rainy or dry) and meteorological factors (temperature and precipitation). This study also provides the morphological, morphometric and molecular characterization of *Haemoproteus syrnii* in owls, and demonstrates that the sequences found of this parasite are grouped in two independent clades well supported, with considerable intra-specific variation and with small morphological and morphometric differences within the population studied, suggesting the existence of potential cryptic

species. The histopathological analysis of the owls revealed that the lungs and the skeletal muscle are sites of exo-erythrocytic stages of *H. syrnni*. The algorithms of computational delimitation of species, a recent tool used in the Haemosporida order, indicated that there is a cryptic diversity of these species occurring in birds of prey, and that despite the need for further studies with these new tools, already demonstrate that there should be a care in the management and reintroduction of infected birds. Studies related to the parasitism of birds of prey by haemosporidians are essential for the development of avian conservation strategies, mainly knowing that a great part of the birds received in the CETAS are reintroduced into the wild. An integrative approach with different methodologies as developed in this study can help in the identification of haemosporidian species, in the understanding of their possible deleterious effects on birds of prey and in the decision making regarding the management of captive birds.

Keywords: Hemoparasites. Wild birds. *Cyt b* gene. Computational delimitation of species. *Haemoproteus syrnni*. Animal reintroduction. Exo-erythrocytic stages.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1	Relações filogenéticas entre as ordens que compõem o grupo artificial das Aves de Rapina.....	23
Figura 2	Diferentes ameaças ambientais que podem afetar a inter-relação parasito-vetor-hospedeiro.....	28
Figura 3	Classificação taxonômica dos parasitos aviários da ordem Haemosporida.....	30
Figura 4	Ciclo de vida de um parasito aviário do gênero <i>Haemoproteus</i>	35
Figura 5	Ciclo de vida de um parasito aviário do gênero <i>Plasmodium</i>	38

CAPÍTULO 1

Figura 1	Categorização quanto ao <i>status</i> de conservação das espécies aviárias que chegaram em Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil durante os anos de 2004 a 2019.....	62
Figura 2	Rede de interação hospedeiro-parasito.....	64
Figura 3	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Plasmodium</i> utilizando-se o algoritmo PTP.....	67
Figura 4	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Plasmodium</i> utilizando-se o algoritmo MPTP.....	68
Figura 5	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Haemoproteus</i> utilizando-se o algoritmo PTP.....	69
Figura 6	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Haemoproteus</i> utilizando-se o algoritmo MPTP.....	70
Figura 7	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Leucocytozoon</i> utilizando-se o algoritmo PTP.....	71
Figura 8	Delimitação computacional de espécies do gênero <i>Leucocytozoon</i> utilizando-se o algoritmo MPTP.....	72

CAPÍTULO 2

Figura 1	Prevalência da infecção haemosporidiana das espécies de <i>Haemoproteus</i> e <i>Plasmodium</i> spp. em aves de rapina neotropicais durante os anos de 2016 a 2019.....	99
Figura 2	Filogenia Bayesiana baseada no gene <i>cytb</i> de linhagens de espécies <i>Haemoproteus</i> e <i>Plasmodium</i>	102
Figura 3	Modelo de estimativas de divergência genética par a par utilizando o alinhamento múltiplo de sequências para <i>Plasmodium</i> spp.....	103
Figura 4	Modelo de estimativas de divergência genética par a par utilizando o alinhamento múltiplo de sequências para <i>Haemoproteus</i> spp.....	103

CAPÍTULO 3

Figura 1	<i>Haemoproteus</i> (<i>Parahaemoproteus</i>) <i>syrnii</i> no sangue de <i>Megascops choliba</i> e <i>Asio clamator</i>	121
Figura 2	Filogenia Bayesiana baseada no gene mitocondrial <i>cyt b</i> de linhagens de espécies de Haemosporida.....	125
Figura 3	Estimativas de divergência evolutiva baseadas no gene <i>cyt b</i> para <i>Haemoproteus</i> spp.....	126
Figura 4	Achado histológico em <i>Megascops choliba</i> infectada com <i>Haemoproteus syrnii</i> . Megalomeronte oval maduro no músculo peitoral esquelético.....	129
Figura 5	Achado histológico em <i>Megascops choliba</i> infectada com <i>Haemoproteus syrnii</i> . Ampliação do megalomeronte oval maduro encontrado no músculo peitoral esquelético.....	130
Figura 6	Achado histológico em <i>egascops choliba</i> infectada com <i>Haemoproteus syrnii</i> . Pequeno meronte maduro no pulmão.....	130
Figura 7	Achado histológico em <i>Megascops choliba</i> infectada com <i>Haemoproteus syrnii</i> . Esteatose hepática e grande número de eritrócitos infectados pelo parasito dentro do vaso sanguíneo do fígado.....	131

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1	Espécies de aves de rapina recebidas nos CETAS do Brasil no período de 2004 a 2019.....	58
Tabela 2	Sumário quantitativo de unidades evolutivas significativas (ESU's) obtidas após a delimitação computacional das linhagens relatadas em aves de rapina que chegaram nos CETAS do Brasil.....	65

CAPÍTULO 2

Tabela 1	Espécies de aves de rapina avaliadas durante o estudo, quantidade de aves amostradas, positividade da infecção na análise microscópica e prevalência da infecção por espécie.....	97
Tabela 2	Delimitação computacional de espécies elaborada com sequências de <i>Plasmodium</i> spp. e <i>Haemoproteus</i> spp. utilizando-se os algoritmos PTP, MPTP, GMYC <i>single</i> (filogenia) e ABGD (distância).....	105

CAPÍTULO 3

Tabela 1	Morfometria comparativa dos gametócitos maduros de <i>Haemoproteus syrnii</i> parasitando eritrócitos aviários.....	122
Tabela 2	Linhagens de <i>Haemoproteus syrnii</i> do presente estudo e as disponíveis nos bancos de dados genéticos (MalAvi e GenBank) com seus respectivos locais de coleta e hospedeiros.....	128
Tabela 3	Corujas necropsiadas: parasitemia, alterações clínicas e histopatológicas	132

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABGD	Automatic Barcode Gap Discovery
AOU	American Ornithologists' Union
BPP	Bayesian Phylogenetics and Phylogeography
CBRO	Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos
CETAS	Centro de Triagem de Animais Silvestres
<i>Cyt b</i>	Gene mitocondrial Citocromo b
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ESU	Evolutionary Significant Unit
GenBank	National Institutes of Health Genetic Sequence Database
GMYC	Generalized Mixed Yule Coalescent
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
IEF	Instituto Estadual de Florestas
IUCN	International Union for Conservation of Nature
MalAvi	Avian Malaria Initiative
MPTP	Multi-rate Poisson Tree Processes
NACC	North American Classification Committee
PCR	Polymerase Chain Reaction
PTP	Poisson Tree Processes
SACC	South American Classification Committee
SISCETAS	Sistema de CETAS

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	AS AVES DE RAPINA.....	22
2.2	CONSERVAÇÃO DA AVIFAUNA SILVESTRE.....	26
2.3	OS HEMOSPORÍDEOS.....	29
2.3.1	Gênero <i>Haemoproteus</i>	32
2.3.2	Gênero <i>Plasmodium</i>	35
2.3.3	Hemosporídeos em aves de rapina.....	39
2.4	PATOGENICIDADE DAS INFECÇÕES HEMOSPORIDIANAS.....	42
2.5	DETECÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E DELIMITAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPÉCIES EM HAEMOSPORIDA.....	45
3	CAPÍTULO 1 - HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA NO BRASIL: DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES E REFLEXÕES SOBRE CONSERVAÇÃO, TRATAMENTO E MANEJO DE AVES EM CATIVEIRO.....	49
3.1	RESUMO.....	49
3.2	INTRODUÇÃO.....	51
3.3	MATERIAL E MÉTODOS	53
3.4	RESULTADOS	56
3.4.1	Levantamento das aves de rapina que chegaram nos CETAS do Brasil.....	56
3.4.2	Registros de infecção e especificidade parasitária.....	63
3.4.3	Delimitação computacional de hemosporídeos em aves de rapina.....	65
3.4.4	Controle e tratamento da infecção por hemosporídeos.....	73
3.5	DISCUSSÃO	73
3.6	CONCLUSÃO	81
4	CAPÍTULO 2 - MÚLTIPLAS LINHAGENS DE <i>HAEMOPROTEUS</i> E <i>PLASMODIUM</i> REVELAM ALTA DIVERSIDADE DE HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA DO BRASIL.....	83
4.1	RESUMO.....	83
4.2	INTRODUÇÃO.....	85

4.3	MATERIAL E MÉTODOS	89
4.3.1	Coleta de amostras biológicas.....	89
4.3.2	Preparação e análise dos esfregaços sanguíneos.....	90
4.3.3	Extração do DNA, <i>nested</i> -PCR e sequenciamento.....	90
4.3.4	Análises filogenéticas.....	91
4.3.5	Delimitação computacional de espécies.....	92
4.3.6	Análises ecológicas e correlação entre as diferentes idades.....	94
4.4	RESULTADOS	95
4.5	DISCUSSÃO	105
4.6	CONCLUSÃO	111
5	CAPÍTULO 3 - <i>HAEMOPROTEUS SYRNII</i> (HAEMOSPORIDA: HAEMOPROTEIDAE) EM CORUJAS DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR, POTENCIAIS ESPÉCIES CRÍPTICAS E ESTÁGIOS EXOERITROCÍTICOS.....	112
5.1	RESUMO.....	112
5.2	INTRODUÇÃO.....	113
5.3	MATERIAL E MÉTODOS	115
5.3.1	Coleta das amostras e análises microscópicas.....	115
5.3.2	Extração do DNA, amplificação por <i>nested</i> -PCR e sequenciamento.....	116
5.3.3	Análises filogenéticas e delimitação computacional de espécies.....	117
5.3.4	Necropsia e histopatologia.....	118
5.4	RESULTADOS	119
5.5	DISCUSSÃO	133
5.6	CONCLUSÃO	138
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	139
	REFERÊNCIAS.....	142
	ANEXO A – Espécies de aves recebidas em Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil no período de 2004 a 2019 (Capítulo 1).....	166
	ANEXO B – Linhagens de <i>Haemoproteus</i> delimitadas pelo algoritmo PTP (Capítulo 3).....	193

ANEXO C – Artigo publicado na Revista Parasitology Research.....	203
ANEXO D – Artigo publicado na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.....	204
ANEXO E – Artigo em colaboração publicado na Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.....	205
ANEXO F – Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFJF....	206
ANEXO G – Autorização do IBAMA para coleta de material biológico no CETAS JF.....	207
ANEXO H – Autorização do IEF para coleta de material biológico no CETAS JF.....	208

1 INTRODUÇÃO GERAL

A diversidade aviária do Brasil está entre as mais representativas do mundo, tanto em número de espécies descritas quanto no tamanho das populações desses animais nos ecossistemas (PIACENTINI et al., 2015). O declínio dessas populações, vítimas principalmente do tráfico ilegal e da fragmentação de seus *habitats*, faz com que os estudos sobre a biologia, ecologia, comportamento, manejo e enfermidades, incluindo as provocadas por parasitos, se tornem cada dia mais necessários.

As aves de rapina ou rapinantes, denominação dada ao grupo artificial que inclui representantes das ordens Falconiformes, Strigiformes, Cathartiformes e Accipitriformes, representam uma parte significativa da diversidade de espécies de aves no mundo, ocorrendo em quase todos os locais do globo (MINDELL et al., 2018). Grande parte dessas espécies está inserida nas categorias de ameaça de extinção, e muitas delas são endêmicas, como aquelas da Mata Atlântica, considerado um *hotspot* de conservação do mundo (LUCA et al., 2017; IUCN, 2019).

As aves de rapina são hospedeiros potenciais de uma diversidade enorme de hemoparasitos e entre eles os hemosporídeos, foco desse estudo (ANDERY et al., 2013). Esses protozoários são frequentemente encontrados em amostras sanguíneas de aves silvestres capturadas na natureza (VALKIŪNAS, 2005). O conhecimento dos protozoários parasitos que infectam essas aves é de fundamental importância para o manejo desses animais que frequentemente chegam aos Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do país, os quais essencialmente possuem a função de reintroduzir ou translocar essas aves na natureza, colaborando com o desenvolvimento de estratégias de proteção e conservação ambiental (VILELA, 2012).

Os hemosporídeos aviários, representados principalmente pelos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, são protozoários heteroxenos obrigatórios, que possuem o ciclo sexuado em vetores hematófagos (hospedeiro definitivo), e o ciclo assexuado no sangue e tecidos das aves (hospedeiro intermediário) (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005). Esses parasitos possuem ampla distribuição geográfica e podem provocar diferentes efeitos deletérios em aves silvestres (VALKIŪNAS, 2005).

Estudos prévios descreviam os hemosporídeos aviários como pouco patogênicos, principalmente àqueles do gênero *Haemoproteus* e isso se deve essencialmente à dificuldade de se descobrir as causas da morte ou os efeitos subletais

nas aves. No entanto, estudos recentes têm demonstrado alta letalidade, muitas vezes associada à espécie do parasito. Além disso, quando essa letalidade não ocorre, os hemosporídeos podem causar declínio na população aviária, devido à diminuição da capacidade reprodutiva, alteração em padrões comportamentais, efeitos na adaptabilidade dos hospedeiros ao ambiente, diminuição da habilidade de caça – tão essencial para grande parte dos rapinantes - entre outros efeitos adversos (ALTIZER et al., 2001; OLIAS et al., 2011; SANTIAGO-ALARCON et al., 2013; GROFF et al., 2019).

Vale destacar que os efeitos nocivos da presença de hemosporídeos nas aves de rapina podem alterar todo um ecossistema e ter efeitos significativos no equilíbrio ecológico, na medida em que podem provocar a diminuição da população dessas aves e consequentemente o aumento da população de suas presas, como roedores, devido à posição no topo da cadeia alimentar que desempenha a maioria dos rapinantes (MARTINEZ et al., 2006).

A identificação das espécies de hemosporídeos foi por muitos anos realizada por meio da análise morfológica dos estágios sanguíneos encontrados no sangue dos hospedeiros vertebrados através da microscopia óptica (VALKIŪNAS, 2005). Porém, com a popularização das técnicas de biologia molecular e bioinformática, estas metodologias tornaram-se essenciais para o estudo das sequências de DNA desses parasitos, sendo utilizadas concomitantemente com a morfologia (HELLGREN et al., 2004).

A evolução dos métodos de amplificação do DNA, notadamente aqueles que utilizam a reação de cadeia da polimerase (PCR), permitiram maior especificidade dos marcadores moleculares e maior detecção das infecções (HELLGREN et al., 2004). Assim, numerosas sequências de diferentes marcadores genéticos têm sido constantemente adicionadas aos bancos de dados genéticos, demonstrando uma alta diversidade genética, mas sem identificação em nível de espécie. Entre os bancos de dados genéticos destacam-se o GenBank e o MalAvi, sendo esse último exclusivo para depósito de sequências genéticas do gene mitocondrial citocromo *b* (*cytb*) de hemosporídeos aviários, e atualmente o mais usado por pesquisadores dessa área. Além de fornecer as linhagens genéticas, o MalAvi fornece informações valiosas como hospedeiros, localização geográfica da ocorrência da infecção e referências bibliográficas dos estudos publicados, sendo fonte para a obtenção de sequências genéticas utilizadas no presente estudo (MALAVI, 2020).

Nesta perspectiva, a presente tese foi delineada com objetivo geral de conhecer e identificar a diversidade de hemosporídeos em aves de rapina Neotropicais por meio de uma abordagem integrativa que utiliza metodologias de microscopia, biologia molecular, ecologia, filogenia e delimitação computacional de espécies.

Especificamente, foram analisados diferentes aspectos da relação hospedeiro-parasito, sendo que os principais objetivos específicos da tese podem ser assim descritos:

1. Realizar o levantamento da diversidade de espécies de aves de rapina recebidas em Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil, seus parasitos haemosporidianos já relatados em bancos de dados genéticos, bem como suas relações filogenéticas, discutindo-se acerca dos tratamentos medicamentosos utilizados contra as infecções causadas por esses parasitos e protocolos sanitários em cativeiro, afim de subsidiar a reabilitação, reintrodução ou translocação de aves silvestres em ambiente natural com vistas à proteção da biodiversidade (Capítulo 1);

2. Conhecer e identificar a diversidade de espécies de hemosporídeos que parasitam aves de rapina Neotropicais recebidas em Centros de Triagem de Animais Silvestres utilizando uma abordagem integrativa com uma combinação de dados morfológicos, ecológicos, análises moleculares, filogenéticas e delimitadores computacionais de espécies (Capítulo 2);

3. Investigar o ciclo biológico de *Haemoproteus syrnii* em corujas neotropicais, caracterizando esse parasito por meio de técnicas morfológicas e moleculares, as relações filogenéticas entre as novas sequências e as disponíveis em bancos de dados, além de realizar a análise histopatológica dos tecidos infectados das aves, discutindo possíveis efeitos patológicos nas corujas (Capítulo 3).

2 REVISÃO DE LITERATURA

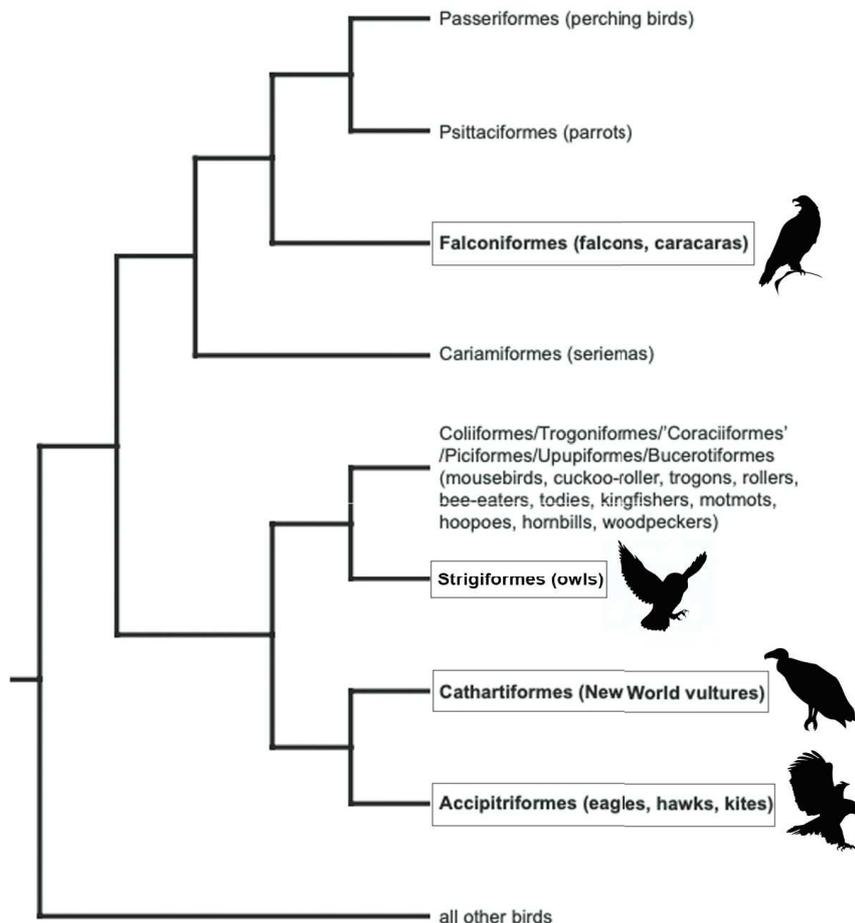
2.1 AS AVES DE RAPINA

As aves de rapina compõem um grupo formado por quatro ordens de aves predominantemente predadoras que apresentam características comportamentais e morfológicas em comum, como os poderosos pés dotados de garras curvas e afiadas, e fortes bicos em forma de gancho, estruturas essas utilizadas na captura e consumo de suas presas. Estas características anatômicas, somadas a uma visão bem desenvolvida, adaptada para a procura e visualização das presas, conferem a este grupo de aves uma grande capacidade de caça (BROWN, 1997). O termo “rapina” deriva da palavra latina “rapere” que significa o ato de roubar com violência ou tomar à força, relacionado com a forma de obtenção de alimento da maioria dessas aves predadoras.

Apesar de formarem um grupo parafilético (HACKETT et al., 2008; PRUM et al., 2015), as características morfológicas, comportamentais e ecológicas citadas acima fizeram com que a maioria dos especialistas da área agrupassem as ordens Falconiformes, Strigiformes, Cathartiformes e Accipitriformes em um único grupo denominado então como Aves de Rapina (BIRD; BILDSTEIN, 1987; FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001; MENQ, 2016).

A posição taxonômica das citadas ordens aviárias dentro do clado das aves ainda tem sido muito discutida com o objetivo de representar a história evolutiva desses grupos, sendo uma das classificações mais aceitas, baseada nos estudos mais recentes sobre a classificação dessas ordens, a da American Ornithologists' Union (AOU), que possui comitês específicos para o estudo da taxonomia de aves da América do Sul, o South American Classification Committee (SACC) e da América do Norte, o North American Classification Committee (NACC) (MCCORMACK et al., 2013; JARVIS et al., 2014; PRUM et al., 2015; FUCHS et al., 2015; MINDELL et al., 2018) (Figura 1).

Figura 1 - Relações filogenéticas entre as ordens que compõem o grupo artificial das Aves de Rapina, destacadas nos boxes. As silhuetas ilustram representantes das ordens em destaque.



Fonte: Apaptado de MINDELL et al., 2018.

A ordem Falconiformes inclui as famílias Falconidae (representada pelos falcões, carcarás, esmerilhões, etc) e Herpetotheridae (representada pelos acauãs) (MINDELL et al., 2018). No Brasil existem 21 espécies dessa ordem, com tamanhos que variam de 25 cm (*Falco sparverius* – quiriquiri) a 56 cm (*Caracara plancus* – carcará) (LUCA et al., 2017). Os representantes da ordem Falconiformes apresentam grande diversidade morfológica e de massa corporal. A variação do formato das asas está geralmente relacionada com o *habitat* e tipo de voo, e o dimorfismo sexual está principalmente relacionado com o tamanho dos indivíduos, sendo que as fêmeas geralmente são maiores. Uma característica geral dessa ordem é a presença de dentes

serrilhados na porção superior do bico. No geral, seus representantes são carnívoros, se alimentando especialmente de pequenas aves, mas caçam também répteis, anfíbios e pequenos mamíferos como roedores. Algumas espécies, como o carcará (*Caracara plancus*), se alimentam até mesmo de animais em estágio inicial de decomposição, e os acauãs (*Herpetotheres* spp.) têm o hábito de caçar pequenas serpentes e morcegos. Outras espécies, como as dos gêneros *Milvago*, *Ibycter* e *Daptrius*, possuem uma dieta alimentar baseada em artrópodes, como gafanhotos, percevejos, formigas, vespas, cupins e aranhas (SICK, 1997; LUCA et al. 2017).

A ordem Strigiformes inclui as famílias Tytonidae e Strigidae. As aves dessa ordem estão amplamente distribuídas pelo mundo, sendo que a família Tytonidae possui apenas um representante no Brasil, a suindara (*Tyto furcata*), ao passo que a família Strigidae apresenta-se com 22 espécies no Brasil (LUCA et al., 2017). Seus representantes possuem audição extremamente apurada e olhos grandes, présbitos, quase imóveis, de forma telescópica, resultando em um campo visual muito limitado, desvantagem compensada pela capacidade da cabeça de girar em ângulo de até 270°. Nas aves de rapina noturnas, como no caso da maioria das corujas, a audição é provavelmente o sentido mais bem desenvolvido, mais do que a visão, sendo o que lhes permite caçar na escuridão (INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE, 2008). A maioria das espécies dessa ordem desenvolve atividade de caça no crepúsculo vespertino e no começo da noite, porém existem algumas espécies dos gêneros *Athene*, *Glaucidium* e *Asio* que são diurnas (SICK, 1997). As espécies noturnas apresentam um voo silencioso, em uma adaptação à vida noturna, possibilitado pela estrutura das penas de voo que são relativamente modificadas e macias, fazendo com que seu voo se torne silencioso. As corujas alimentam-se de insetos (gafanhotos, besouros, baratas, etc.), roedores, marsupiais, lagartos, serpentes, rãs, etc. (SICK, 1997). Nessa ordem de aves frequentemente não há dimorfismo sexual aparente, entretanto, as fêmeas podem tender a ser um pouco maiores que os machos (LUCA et al., 2017).

A ordem Cathartiformes é formada pela família Cathartidae, que inclui os urubus que ocorrem exclusivamente no continente americano (FERGUSON-LEES; CHRISTIE, 2001). No Brasil, são conhecidas cinco espécies de urubus: *Coragyps atratus* (urubu-de-cabeça-preta), *Cathartes aura* (urubu-de-cabeça-vermelha), *Cathartes burrovianus* (urubu-de-cabeça-amarela), *Cathartes melambrotus* (urubu-da-mata) e *Sarcoramphus papa* (urubu-rei) (LUCA et al., 2017). Essas aves não possuem siringe,

apresentam cabeça e pescoço nus (o que facilita a higiene após a alimentação) e são dotadas de excelente visão e em muitas delas olfato aguçado, permitindo que percebam a existência de material em putrefação até mesmo a quilômetros de distância. Possuem ainda bicos extremamente fortes que possibilita rasgar a pele de cadáveres, uma vez que a maioria das espécies são consumidores de carne (SICK, 1997). Existem relatos de urubus que chegam a caçar (ou tentam caçar) ocasionalmente (SEVERO-NETO et al., 2014), porém, são essencialmente consumidores de carcaças. Importante destacar que os representantes dessa ordem desempenham um importante papel saneador na natureza ao eliminar matérias orgânicas em decomposição, auxiliando na rápida ciclagem dessa matéria e seu retorno ao ciclo de nutrientes. Essas aves possuem elevada resistência a bactérias e toxinas, e seu suco gástrico é bioquimicamente tão ativo que as neutraliza (LUCA et al., 2017).

A ordem Accipitriformes é a que possui maior número de espécies de aves de rapina e é composta pelas famílias Accipitridae (representada pelos gaviões, águias, abutres, açores, milhafres e afins); Pandionidae (representada pela águia-pescadora) e Sagittariidae (ave secretária) (MINDELL et al., 2018). A única família dessa ordem que não possui representantes na região neotropical é a Sagittariidae, com sua única espécie descrita endêmica da África (MINDELL et al., 2018). A família Pandionidae possui uma única espécie no Brasil e a Accipitridae engloba 47 espécies registradas em nosso país (LUCA et al., 2017). Essas aves são essencialmente diurnas e apresentam ampla distribuição geográfica, com ocorrência em todas as regiões do planeta, exceto na Antártida, tendo a América Latina como a região com a maior diversidade de espécies de aves de rapina do mundo, sendo relatados mais de dez gêneros restritos à região neotropical (SICK, 1997). Os representantes dessa ordem estão distribuídos em todos os tipos de *habitats*: florestas, savanas, desertos, áreas montanhosas, áreas urbanas, etc., sendo a fêmea, em geral, maior e mais pesada que o macho, e estabelecendo muitas vezes relações monogâmicas (MENQ, 2020). Nesta ordem notam-se as várias adaptações à caça comuns às aves de rapina, como o bico bem forte, garras poderosas e visão aprimorada, porém, enquanto os Falconiformes normalmente utilizam o bico para abater suas presas, os Accipitriformes aproveitam-se de suas fortes garras para fazê-lo. Representantes dessa ordem alimentam-se de insetos, moluscos, anfíbios, répteis e pequenos a médios mamíferos (LUCA et al., 2017).

2.2 CONSERVAÇÃO DA AVIFAUNA SILVESTRE

A avifauna mundial conta com mais de 11.000 espécies descritas em todos os continentes (ALLINSON, 2018), porém, estimativas de diversidade global de espécies propõe que esse número possa ser maior podendo alcançar mais de 18.000 espécies de aves em todo o mundo (BARROWCLOUGH et al., 2016). Desse total identificado, as aves de rapina englobam 589 espécies (Ordem Cathartiformes: 7 espécies; Accipitriformes: 258 espécies; Falconiformes: 74 espécies; e Strigiformes: 250 espécies) (KÖNIG, WEICK, 2008; MIKKOLA, 2013; MINDELL et al., 2018).

Grande parte dessa diversidade aviária é encontrada na região neotropical do planeta, incluindo a América Latina, e em especial o Brasil. Nosso país possui a maior diversidade de espécies da fauna do mundo e é o segundo com maior número de espécies aviárias registradas, totalizando 1.824 espécies, distribuídas em 33 ordens e 95 famílias, sendo 239 delas endêmicas do país (PACHECO, AGNE, 2019). Tratando-se exclusivamente das aves de rapina, o Brasil conta com 97 espécies descritas, e a ordem Strigiformes, por exemplo, possui cerca de 80% de seus representantes habitando os trópicos, região ainda pouco estudada em comparação as áreas temperadas do globo (CLARK et al., 1978; DEL HOYO et al., 1999; LUCA et al., 2017; MINDELL et al., 2018).

Apesar da grande diversidade de aves, países dos neotrópicos têm sido incluídos entre aqueles que menos protegem sua biodiversidade e têm apresentado aumento do número de animais incluídos nas listas de ameaça de extinção. Atualmente o Brasil possui o maior número de espécies ameaçadas no mundo, com 173 espécies de aves globalmente ameaçadas de extinção, o que representa 12% das aves ameaçadas do planeta, sendo quatro espécies de aves de rapina: gavião-de-pescoço-branco (*Leptodon forbesi*), gavião-pombo-pequeno (*Amadonastur lacernulatus*), águia-cinzenta (*Urubitinga coronata*) e caburé-de-pernambuco (*Glaucidium mooreorum*), e esta última endêmica da Mata Atlântica (LUCA et al., 2017; IUCN, 2019).

Embora muitas outras espécies de aves de rapina não estejam nas categorias de ameaça de extinção global, elas estão categorizadas sob alguma ameaça de extinção nas listas estaduais ou municipais e, encontram-se em declínio populacional devido às alterações ambientais, como o processo de fragmentação, que inclui a perda de *habitat* e a redução do tamanho e isolamento dessas áreas, havendo uma tendência a diminuir a biodiversidade local (WILCOX; MURPHY, 1985; DEL HOYO et al., 1999;

PRIMACK; RODRIGUES, 2001).

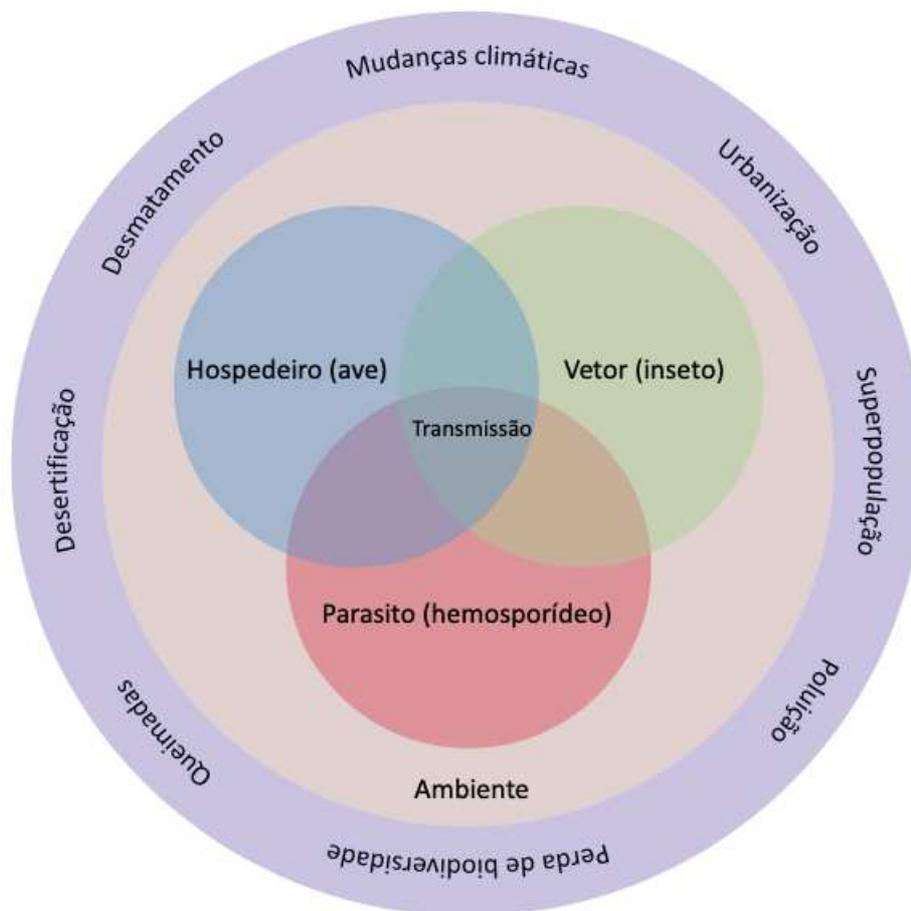
As aves de rapina geralmente são animais predadores de topo de cadeia alimentar e, portanto, mais sensíveis às mudanças ambientais do que outras aves que ocupam distintas posições nessa cadeia. É um grupo de fundamental importância na natureza, e a conservação de uma única espécie pode assegurar a proteção de toda a comunidade envolvida na cadeia alimentar. Essas aves geralmente contam com populações reduzidas, justamente derivado da sua posição nas redes tróficas (predadores), e frequentemente ameaçadas em condições naturais (MARTINEZ et al., 2006). As aves de rapina ainda sofrem com os encontros infortúnios com homem e são vítimas frequentes de atropelamentos, eletrocussão e traumas causados por colisões com estruturas humanas. Em grande parte dos casos a redução das populações ainda é explicada pela contaminação com biocidas e venenos, caça furtiva e coleta ilegal de ovos e filhotes (MARTINEZ et al., 2006).

Devido às modificações ambientais e antrópicas acima referenciadas, emergem e proliferam doenças parasitárias infecciosas, entre as quais destacam-se as causadas por protozoários hemosporídeos. Isso ocorre devido ao aumento dos encontros entre as espécies aviárias silvestres e conseqüentemente a elevação do risco de transmissão de parasitos entre essas espécies (WEISS; MICHAEL, 2004).

As mudanças ambientais podem provocar ainda o aumento do estresse nos indivíduos alterando seus sistemas biológicos, entre eles o sistema imunológico, afetando assim a relação parasito-hospedeiro. Dessa forma, há sempre de se avaliar a inter-relação entre os impactos causados pelas alterações ambientais, o estresse animal e as doenças infecciosas (LAFFERTY, 1997; LAFFERTY; HOLT, 2003). Além dessa alteração do sistema imune do hospedeiro, as mudanças ambientais podem alterar o balanço ecológico e a relação entre hospedeiros, vetores e parasitos (PATZ, 2000), podendo inclusive levar espécies de aves de rapina à extinção, uma vez que doenças causadas por parasitos têm sido responsáveis por um número considerável de extinções de espécies silvestres (MCCALLUM; DOBSON, 1995; BENSCH et al., 2000).

A Figura 2 demonstra esquematicamente a importância das diferentes alterações ambientais que podem influenciar na relação hospedeiro-parasito-vetor e, conseqüentemente, na transmissibilidade dos hemosporídeos para as aves de rapina.

Figura 2 - Diferentes ameaças ambientais que podem afetar a inter-relação parasito-vetor-hospedeiro.



Fonte: Adaptado de SEHGAL et al., 2015.

Diante das ameaças ambientais e antrópicas sofridas pelos animais silvestres foram criados os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) com a finalidade de receber os animais oriundos de apreensões, recolhimentos e entregas voluntárias, reabilitá-los e, quando possível, reinseri-los na natureza (VILELA, 2012; RENCITAS, 2016). Porém, a reintrodução ou translocação de uma ave para o ambiente natural deve ser realizada de forma cautelosa, visto que um parasito carregado junto a ave para uma área onde novos hospedeiros não possuem imunidade para combatê-lo podem levar toda ou parte de uma população aviária à morte, como ocorreu com a introdução de *Plasmodium relictum* no Havaí (VAN RIPER III et al., 1986).

Assim, estudar a diversidade dos hemoparasitos que infectam as aves antes da soltura está diretamente relacionado com a conservação de toda a avifauna, uma vez que

as pesquisas têm demonstrado que os parasitos desempenham um papel decisivo na dinâmica e evolução das populações aviárias, podendo influenciar na sobrevivência e no sucesso reprodutivo dos indivíduos, uma vez que aqueles mais parasitados podem ser mais suscetíveis aos predadores e menos hábeis para estabelecer territórios, podendo até mesmo causar a extinção de populações (ANDERSON; MAY, 1979; RICKLEFS, 1992; LIVELY; DYBDAHL, 2000).

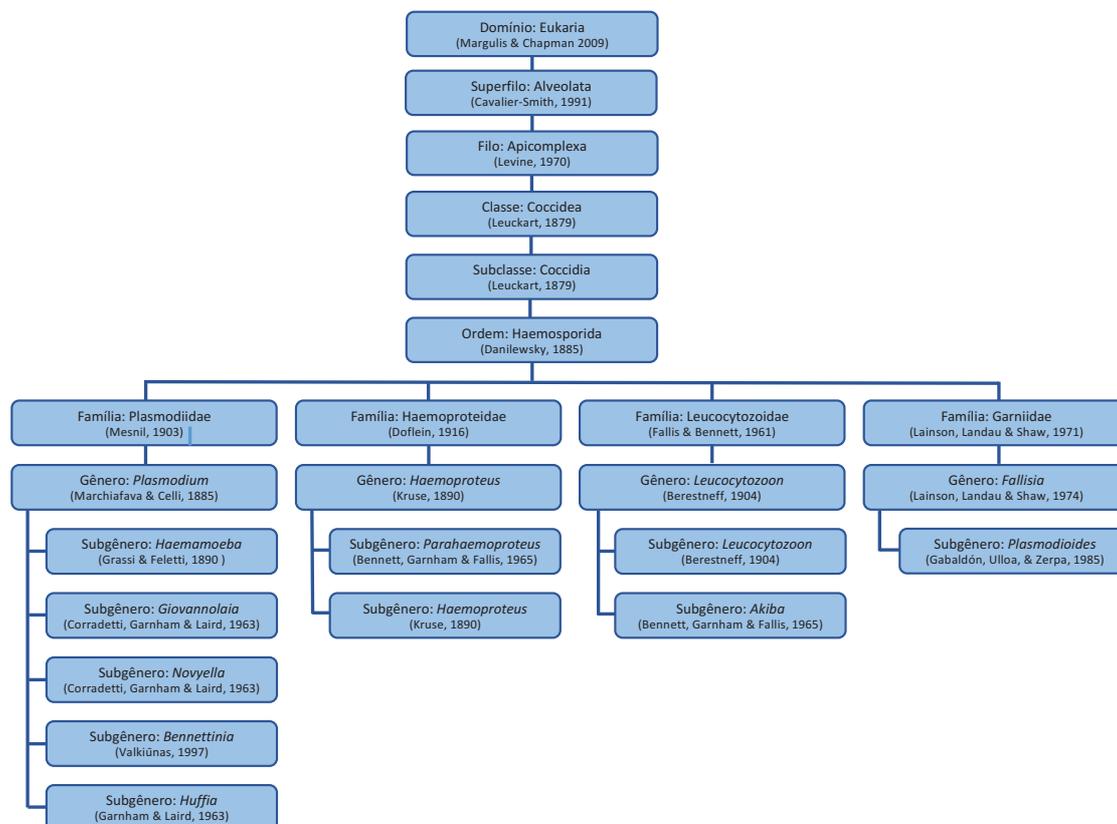
2.3 OS HEMOSPORÍDEOS

Os hemosporídeos formam um grupo de protozoários pertencentes ao superfilo Alveolata, filo Apicomplexa, ordem Haemosporida, e nessa ordem incluem-se as famílias Haemoproteidae, Plasmodiidae, Garniidae e Leucocytozoidae, cujos gêneros que infectam aves são: *Haemoproteus*, *Plasmodium*, *Fallisia* e *Leucocytozoon* (VALKIŪNAS, 2005). A classificação taxonômica desses gêneros foi realizada de acordo com os padrões tradicionais, baseados em caracteres morfológicos e de desenvolvimento no hospedeiro vertebrado e invertebrado. No entanto, muitas incongruências ainda existem tanto em relação a tais caracteres morfológicos, quanto aos traços da história de vida e ao táxon do hospedeiro (PERKINS, 2014), sendo a mais aceita atualmente a elaborada por VALKIŪNAS (2005) (Figura 3).

Os parasitos hemosporídeos possuem um ciclo biológico heteroxeno bastante complexo, com fases alternadas de reprodução sexuada e assexuada, tendo como características principais no desenvolvimento destes parasitos a presença de macrogametócitos, microgametócitos, zigoto móvel (ou oocineto) e esporozoítos (GARNHAM, 1966; REMPLE, 2004).

Os hemosporídeos utilizam dípteros sugadores de sangue como vetores, podendo parasitar anfíbios, répteis, aves e mamíferos (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005). No hospedeiro definitivo (vetores hematófagos) realizam o ciclo sexuada e no hospedeiro intermediário (vertebrados) realizam o ciclo assexuada, com desenvolvimento do parasito no sangue e tecidos (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005).

Figura 3 - Classificação taxonômica dos parasitos aviários da ordem Haemosporida.



Fonte: Elaborado pelo autor, conforme classificação de VALKIŪNAS, 2005.

Os parasitos da ordem Haemosporida têm ampla distribuição geográfica, ocorrendo em todas as partes do globo (KRONE et al., 2001; VALKIŪNAS, 2005; MARTINSEN et al., 2008) e de acordo com o gênero ou espécie pode infectar o hospedeiro vertebrado em diferentes níveis de virulência (DONOVAN et al., 2008).

De uma forma geral, a infecção por hemosporídeos em aves, foco desse estudo, transita entre as seguintes fases clínicas:

- 1) Fase pré-patente: o parasito desenvolve-se nos tecidos e não pode ser encontrado na circulação sanguínea;
- 2) Fase aguda: caracterizada pelo aparecimento do parasito no sangue e frequentemente um acentuado aumento da parasitemia;
- 3) Fase de crise: quando a parasitemia e o estresse fisiológico atingem o seu pico;
- 4) Fase latente ou crônica: a parasitemia diminui rapidamente sob o

impacto da resposta imunitária e o hospedeiro demonstra poucos ou nenhum sinal de infecção (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991).

Durante a fase latente ou crônica da infecção, na qual a resposta imune reduz a parasitemia a níveis bastante baixos, as aves podem apresentar pouco ou nenhum sinal de infecção, sendo o que acomete à maioria das aves silvestres, dificultando a detecção dos hemosporídeos por meio do exame de esfregaços sanguíneos, a menos que ocorra uma reativação da infecção, controlada por interações complexas entre a resposta imune do hospedeiro e o estresse fisiológico (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991).

Dos gêneros de Haemosporida, *Plasmodium* é o mais bem estudado e conhecido, em grande parte devido ao fato de incluir espécies causadoras da malária humana, uma doença ainda comum nas regiões tropicais (VALKIŪNAS, 2005; VANSTREELS et al., 2014). Vale destacar que nem todos os protozoários da ordem Haemosporida que infectam as aves são classificados como “malária aviária”, reservando-se tal denominação para aqueles do gênero *Plasmodium*, uma vez que os diferentes gêneros possuem diferenças em sua epidemiologia e estratégias de vida (VALKIŪNAS et al., 2005; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017).

O gênero *Plasmodium* atualmente é dividido em cinco subgêneros que infectam aves: *Haemamoeba*, *Novyella*, *Giovannolaia*, *Bennettinia* e *Huffia*, tendo como vetores os mosquitos culicídeos (Diptera: Culicidae) (VALKIŪNAS, 2005).

Para o gênero *Haemoproteus* foram descritos dois subgêneros *Haemoproteus* e *Parahaemoproteus* (BENNETT et al., 1965), sendo a separação taxonômica destes subgêneros definida de acordo com a família de seus vetores, sendo que no subgênero *Haemoproteus* são incluídas as espécies transmitidas por moscas da família Hippoboscidae e em *Parahaemoproteus* são incluídas as espécies transmitidas por mosquitos da família Ceratopogonidae (KRIŽANAUSKIENĖ et al., 2013).

O gênero *Leucocytozoon* subdivide-se em dois subgêneros: *Akiba* e *Leucocytozoon*, transmitidos por dípteros ornitofílicos da família Simuliidae (borrachudos) e da família Ceratopogonidae (*Culicoides* spp.). O subgênero *Akiba* é representado por uma única espécie, *Leucocytozoon caulleryi*, descrita em galinhas domésticas do Sudeste asiático. O subgênero *Leucocytozoon* apresenta uma grande diversidade de espécies descritas (VALKIŪNAS, 2005; VANSTREELS et al., 2014).

Sobre os parasitos do gênero *Fallisia* ainda existem poucos estudos, sendo a maioria deles sobre espécies infectando répteis. Acredita-se que o vetor da transmissão da única espécie registrada que infecta aves, *Fallisia neotropicalis* (subgênero

Plasmodioides Berestneff, 1904) seja *Aedeomyia squamipennis* (Diptera: Culicidae), porém pouco se sabe sobre o desenvolvimento desse hemoparasito no vetor e no hospedeiro (VALKIŪNAS, 2005; VANSTREELS et al., 2014).

Hemoparasitos dos gêneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium* são frequentemente detectados em esfregaços sanguíneos de rapinantes (KRONE; COOPER, 2002; ANDERY et al., 2013), porém, no Brasil, os únicos gêneros encontrados infectando aves de rapina silvestres são *Haemoproteus* e *Plasmodium* (MALAVI, 2020). *Leucocytozoon* sp. foi registrado no norte do país infectando não-rapinantes, porém apenas em estudos de biologia molecular, sendo descobertas apenas linhagens genéticas desse parasito, sem descrição morfológica dos estágios sanguíneos (FECCHIO et al., 2018). O gênero *Fallisia* nunca foi registrado infectando aves no Brasil.

Diante do exposto, essa revisão de literatura se desenvolve com foco nos dois gêneros de hemosporídeos que comprovadamente realizam seu desenvolvimento completo nas aves de rapina brasileiras, sendo *Haemoproteus* e *Plasmodium*.

2.3.1 GÊNERO *HAEMOPROTEUS*

Os parasitos do gênero *Haemoproteus* estão entre os mais comuns e de mais ampla distribuição em aves silvestres, sendo o mais comum em aves de rapina (REMPLE, 2004). A classificação tradicional baseada em caracteres morfológicos, traços da história de vida e táxon do hospedeiro, levou à descrição de mais de 160 espécies de *Haemoproteus* no mundo e 28 na região Neotropical, sendo a maioria do subgênero *Parahaemoproteus* (VALKIŪNAS, 2005; KRONE et al., 2008; LEVIN et al., 2012; DIMITROV et al., 2016; FECCHIO et al., 2020).

A transmissão de *Haemoproteus* spp. ocorre através de insetos hematófagos, notadamente dípteros da família Ceratopogonidae e moscas da família Hippoboscidae (VALKIŪNAS, 2005; MARTINSEN et al., 2008; KRIŽANAUSKIENĖ et al., 2013). Nesses insetos (hospedeiros definitivos) ocorre o desenvolvimento sexual do parasito enquanto os estágios assexuais ocorrem nas aves (hospedeiro intermediário) (CAMPBELL, 1995; DONOVAN et al., 2008). Das espécies de *Haemoproteus* existentes, seis tiveram sua descrição taxonômica em aves pertencentes à ordem Falconiformes, enquanto quatro espécies foram descritas em aves da ordem Strigiformes (VALKIŪNAS, 2005; KRONE et al., 2008).

O ciclo de vida de *Haemoproteus* spp. caracteriza-se pela presença de merogonia no interior de células endoteliais viscerais, normalmente nos pulmões, fígado ou baço (FROMONT, 1993; DONOVAN et al., 2008), e pelo desenvolvimento de gametócitos nos eritrócitos circulantes do hospedeiro aviário (DONOVAN et al., 2008). Muito semelhante ao ciclo de vida de *Plasmodium*, como veremos a seguir, as principais diferenças estão nas espécies de vetores e na merogonia eritrocítica que não ocorre no ciclo de *Haemoproteus*.

Durante o repasto sanguíneo, o hospedeiro invertebrado ingere eritrócitos aviários infectados com gametócitos de *Haemoproteus* spp., iniciando assim a gametogênese. Os gametócitos assumem formato redondo e saem dos eritrócitos no intestino do vetor. Macrogametas arredondados são então produzidos pelo macrogametócito e oito microgametas móveis são originados pela exflagelação do microgametócito. No ambiente extracelular ocorre a fertilização e formação do zigoto, que se transforma em oocineto móvel. O oocineto migra através da camada epitelial do intestino médio do vetor e arredondam-se debaixo da lâmina basal dando origem ao oocisto. O oocisto sofre esporogonia e numerosos esporozoítos são formados. Após a maturação do oocisto, os esporozoítos se movem pela hemocele e penetram nas glândulas salivares do vetor, sendo essas as formas infectantes para as aves (VALKIŪNAS, 2005).

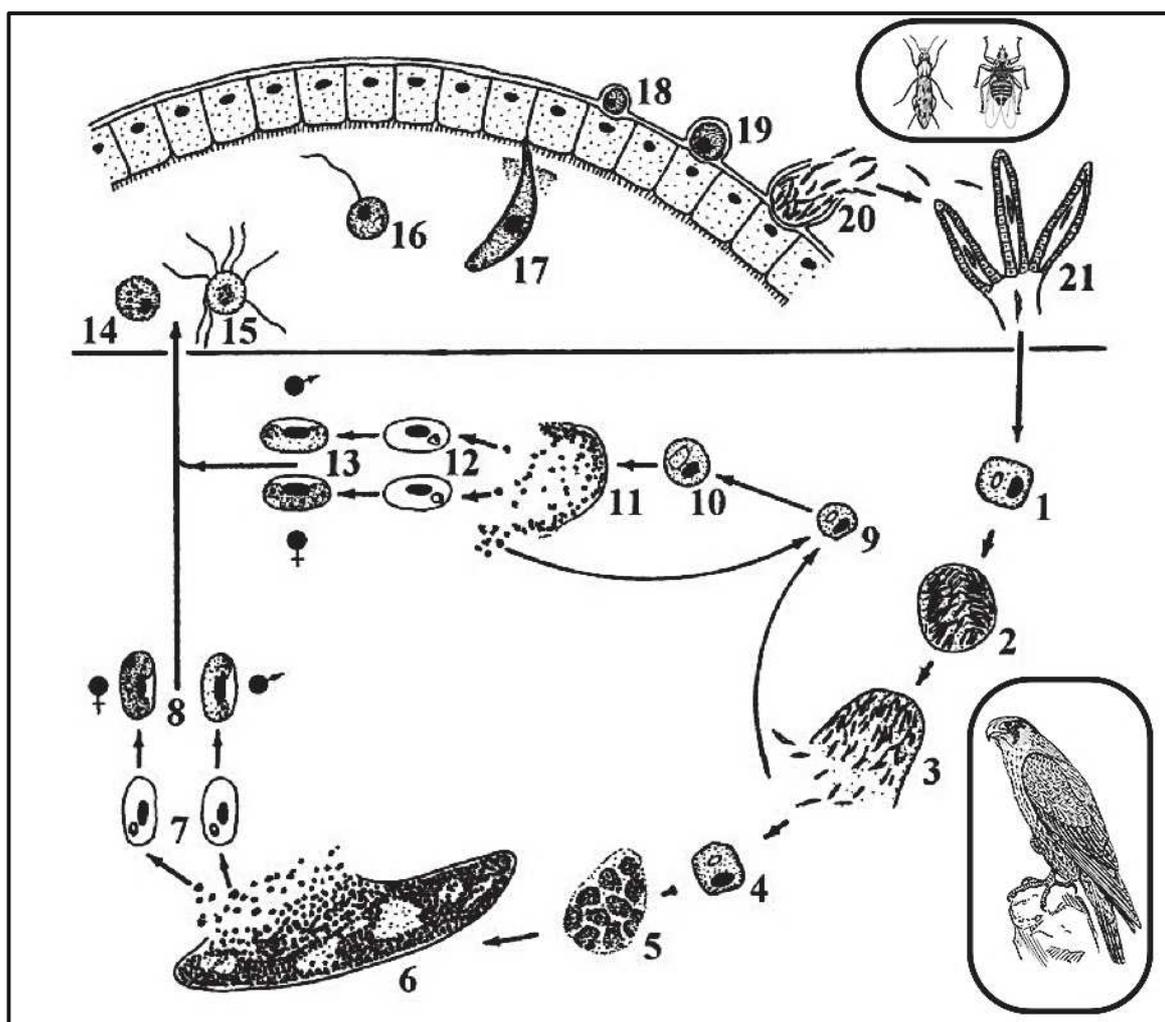
O desenvolvimento do parasito nos vetores das famílias Hippoboscidae e Ceratopogonidae é similar, no entanto, o tamanho do oocisto, o número de esporozoítos produzidos e a duração da esporogonia difere entre os dois tipos de vetores. Importante destacar que diferente dos mosquitos transmissores de *Plasmodium*, tanto o macho quanto a fêmea das moscas hipoboscídeas alimentam-se de sangue e são susceptíveis à infecção (SANTIAGO-ALARCON et al., 2012).

Os esporozoítos presentes nas glândulas salivares do inseto são então inoculados na ave (hospedeiro vertebrado) e atingem as células endoteliais desenvolvendo-se em merontes exoeritrocíticos de primeira geração. As células endoteliais mais parasitadas são aquelas dos pulmões, fígado, baço, rins e musculatura esquelética. Os merontes formam então merozoítos que possuem formas e tamanhos variáveis. Esses merozoítos podem infectar novas células e em algumas espécies eles crescem e desenvolvem-se em megalomerontes também de diferentes formas e tamanhos. Os merozoítos formados neste processo podem infectar as células sanguíneas e se desenvolverem em gametócitos. Além disso, os merozoítos de primeira geração infectam as células

reticuloendoteliais do baço, onde podem se desenvolver em merontes maduros, os quais irão liberar merozoítos capazes de infectar as células sanguíneas e se desenvolverem em gametócitos. Somente esses gametócitos se desenvolvem em eritrócitos aviários e são capazes de fazer a gametogênese com 2 a 6 dias após a infecção dessas células (VALKIŪNAS, 2005; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017).

A diferenciação entre macro e microgametócitos nos esfregaços sanguíneos é possível devido a determinadas características das formas parasitárias como o núcleo mais compacto e o citoplasma mais denso nos macrogametócitos, contrastando com o núcleo menos denso e o citoplasma mais claro nos microgametócitos (CAMPBELL, 1995). Uma representação gráfica do ciclo dos parasitos do gênero *Haemoproteus* pode ser vista na Figura 4.

Figura 4 - Ciclo de vida de um parasito aviário do gênero *Haemoproteus*. A parte superior representa o ciclo dentro do hospedeiro invertebrado e a parte inferior representa o ciclo dentro do hospedeiro vertebrado. 1 – esporozoítio em célula endotelial; 2, 3 – merontes exoeritrocíticos de primeira geração, com merozoítos alongados; 4 – merozoítos em célula endotelial; 5, 6 – megalomerontes em crescimento e maduros em musculatura esquelética, respectivamente; 7 – merozoítos em eritrócitos; 8 – gametócitos maduros; 9 – merozoítos em célula reticuloendotelial no baço; 10, 11 – merontes em crescimento e maduros no baço, respectivamente; 12 – merozoítos em eritrócitos; 13 – gametócitos maduros; 14 – macrogameta; 15 – exflagelação de microgametas; 16 – fecundação de macrogameta; 17 – oocineto penetrando na membrana peritrófica; 18 – oocisto jovem; 19, 20 – esporogonia; 21 – esporozoítio nas glândulas salivares do vetor. Ciclo baseado no desenvolvimento da espécie *Haemoproteus mansonii*.



Fonte: Adaptado de VALKIŪNAS, 2005.

2.3.2 GÊNERO *PLASMODIUM*

Os parasitos do gênero *Plasmodium* podem ser encontrados em todas as regiões geográficas do mundo, com exceção da Antártida, com grande capacidade de se desenvolverem e completarem seus ciclos de vida em numerosas espécies de aves

pertencentes a diferentes famílias e ordens (CAMPBELL, 1995; ATKINSON, 2008; CLARK et al., 2014; SEHGAL et al., 2015). Com base nos dados morfológicos e nas informações das sequências de DNA disponíveis são conhecidas 55 espécies de parasitos aviários do gênero *Plasmodium*, predominando aquelas do subgênero *Novyella* (VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2018). Algumas espécies de *Plasmodium* podem ser altamente patogênicas para alguns hospedeiros, como é o caso de *Plasmodium relictum*, sendo essa espécie bastante frequente em aves de vida livre, tendo sido descrita em mais de 360 hospedeiros de 70 famílias (VALKIŪNAS, 2005; BUENO et al., 2010).

A transmissão dos parasitos desse gênero ocorre através dos vetores culicídeos (Diptera: Culicidae), pertencentes aos gêneros *Culex*, *Coquillettidia*, *Aedes*, *Mansonia*, *Culisetta*, *Anopheles*, *Psorophora* (GARNHAM, 1966; VALKIŪNAS, 2005; NJABO et al., 2009; EJIRI et al., 2011; SANTIAGO-ALARCON et al., 2012), sendo que apenas as fêmeas destes dípteros se alimentam de sangue, sendo então responsáveis pela transmissão dos parasitos (VALKIŪNAS, 2005).

O ciclo desses hemoparasitos se aproxima dos outros parasitos hemosporídeos como *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, porém distingue-se destes devido à presença de reprodução assexuada nos eritrócitos circulantes e do local onde ocorre a esquizogonia (VALKIŪNAS, 2005; ATKINSON, 2008). Apenas os parasitos do gênero *Plasmodium* realizam a merogonia eritrocítica, sendo que a esquizogonia dos demais gêneros só ocorre em células não circulantes, como hepatócitos e células endoteliais vasculares, sendo a única fase de desenvolvimento encontrada nesses casos nos eritrócitos são os gametócitos (ATKINSON et al., 1991; VALKIŪNAS, 2005).

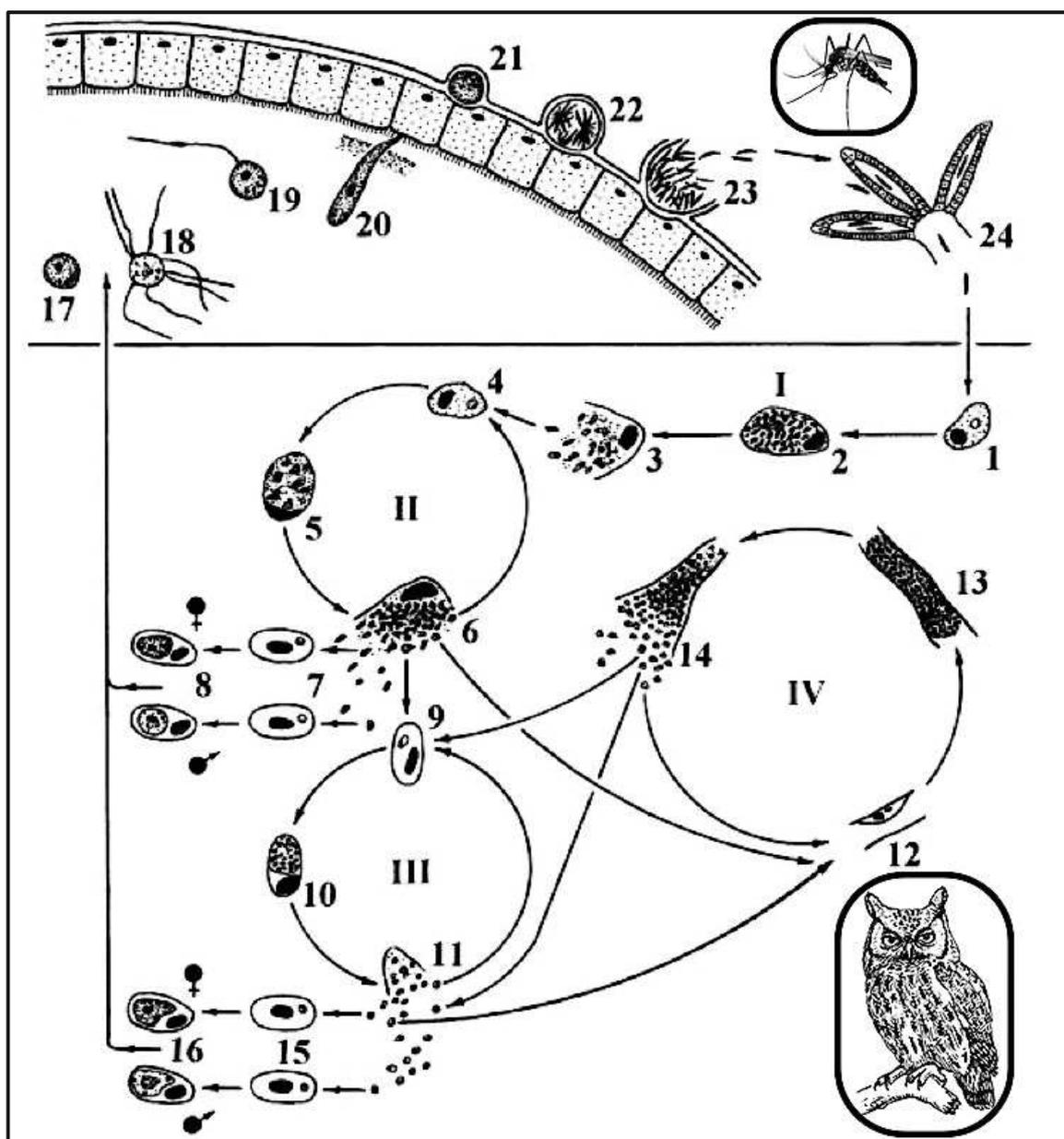
O desenvolvimento dos parasitos do gênero *Plasmodium* nas aves pode ser dividido em duas etapas: merogonia exoeritrocitária e merogonia eritrocitária, essa última com dos gametócitos (VALKIŪNAS, 2005).

Os esporozoítos inoculados pelo vetor na ave vão dar origem à primeira geração de merontes exoeritrocitários primários (criptozoítos) que se desenvolvem principalmente nas células reticulares de vários órgãos e tecidos dando origem a dezenas de merozoítos. Os merozoítos de primeira geração são frequentemente encontrados no baço e nesta fase ainda não podem infectar as células sanguíneas. Os merontes exoeritrocitários secundários (metacriptozoítos) desenvolvem-se por reprodução assexuada nos macrófagos de vários órgãos, principalmente no fígado e baço, mas também nos capilares sanguíneos cerebrais, pulmões, medula óssea, coração e rins, produzindo então merozoítos capazes de infectar as células sanguíneas

(FROMONT, 1993; VALKIŪNAS, 2005). Esses merozoítos podem se desenvolver em gametócitos ou em merontes, dando origem a novos merozoítos. Os merontes eritrocitários contêm grânulos dourados, castanhos ou negros, também chamados de pigmento malárico (hemozoína), que correspondem ao resíduo do processo de digestão da hemoglobina que no caso dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus* é uma digestão incompleta (ATKINSON, 2008; FROMONT, 1993; VALKIŪNAS, 2005). Os merontes irão formar novos merozoítos que são liberados quando os eritrócitos se rompem, que por sua vez irão invadir células endoteliais e mononucleares fagocíticas ou irão infectar novos eritrócitos onde se desenvolvem em gametócitos. Parte dos merozoítos liberados na circulação pela merogonia exoeritrocitária pode também invadir células endoteliais e mononucleares fagocíticas em diversos tecidos, incluindo o cérebro, e se desenvolver por reprodução assexuada em fanerozoítos (merogonia exoeritrocitária secundária). Os merontes permanecem por longos períodos nos tecidos e quando se rompem liberam grande quantidade de merozoítos, realizando a manutenção da infecção em fase crônica e a liberação de parasitos na circulação durante as recaídas e, em geral, a maturação desta fase coincide com o aumento significativo da parasitemia (VALKIŪNAS, 2005), sendo que esse ciclo continua indefinidamente a não ser que o sistema imunitário do hospedeiro intervenha ou o hospedeiro venha a óbito (ATKINSON, 2008).

Os gametócitos das espécies de *Plasmodium* permanecem na circulação sanguínea, onde ocorre a maturação, até que sejam ingeridos pelos insetos vectores (ATKINSON, 2008). Após a ingestão eles rapidamente iniciam o processo de gametogênese, sendo que os gametócitos assumem formato redondo e escapam dos eritrócitos no intestino médio do vetor. O macrogametócito produz macrogametas arredondados e o o microgametócito sofre um processo de exflagelação que dá origem a oito microgametas móveis, ocorrendo então a fertilização do macrogameta em ambiente extracelular. O zigoto se transforma em um oocineto de formato alongado que penetra na membrana peritrófica atravessando a membrana epitelial do intestino do vetor. O oocineto se transforma em oocisto que é circundado por uma espécie de cápsula e em seguida ocorre a esporogonia, que consiste no desenvolvimento do oocisto em vários centros germinativos, e a formação de numerosos corpos unicelulares alongados, denominados esporozoítos. Quando o oocisto amadurece os esporozoítos são liberados e se movem pela hemocele até penetrarem nas glândulas salivares do vetor (VALKIŪNAS, 2005). Uma representação gráfica do ciclo dos parasitos do gênero *Plasmodium* pode ser vista na Figura 5.

Figura 05 - Ciclo de vida de um parasito aviário do gênero *Plasmodium*. A parte superior representa o ciclo dentro do hospedeiro invertebrado e a parte inferior representa o ciclo dentro do hospedeiro vertebrado. I, II – merogonia exoeritrocítica; III – merogonia eritrocítica; IV – merogonia exoeritrocítica secundária; 1 – esporozoítio em célula reticuloendotelial; 2, 3 – criptozoítios; 4 – merozoítio em macrófago; 5, 6 – metacriptozoítios; 7 – merozoítios em eritrócitos; 8 – gametócitos; 9 – merozoítio em eritrócito; 10, 11 – merontes em eritrócitos; 12 – merozoítios em célula reticuloendotelial de capilares; 13, 14 – fanerozoítios; 15 – merozoítios em eritrócitos; 16 – gametócitos; 17 – macrogameta; 18 – exflagelação de microgametas; 19 – fecundação de macrogameta; 20 – oocineto penetrando na membrana peritrófica – oocisto jovem, – esporogonia – esporozoítios nas glândulas salivares do vetor. Ciclo baseado no desenvolvimento da espécie *Plasmodium relictum*.



Fonte: Adaptado de VALKIŪNAS, 2005.

2.3.3 HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA

Os hemosporídeos foram relatados em uma infinidade de aves silvestres e as ordens de aves de rapina não são exceções. Existem inclusive espécies descritas taxonomicamente exclusivas dessas ordens de aves, sendo três espécies de *Plasmodium* e quatro espécies de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) na ordem Strigiformes; além de seis espécies de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) na ordem Falconiformes (VALKIŪNAS, 2005).

Os estudos sobre hemosporídeos de aves de rapina foram realizados em diversas partes do mundo, como na América do Norte (HUNTER et al., 1997; CARLSON et al., 2018), América Central (SANTOS et al., 2011), América do Sul (ANDERY et al., 2013; TOSTES et al., 2015), África (GREINER; MUNDY, 1979), Oceania (MIRZA et al., 2017), Ásia (HSU et al., 2015; SALAKIJ et al., 2018) e Europa (LIERZ et al., 2008; HANEL et al., 2016; CILOGLU et al., 2016; GANGOSO et al., 2019), sendo que os países europeus se destacam em número de estudos realizados, restando uma lacuna de informação para os países neotropicais tão ricos nessa avifauna.

Em 1965, STABLER & HOLT já relatavam infecções em aves de rapina por hemosporídeos. Em seus estudos eles demonstraram a presença de espécies não identificadas de *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* e *Plasmodium* nessas aves, com alta prevalência de infecção, sendo 48% em Falconiformes e 69% em Strigiformes. GREINER & MUNDY (1979) descreveram uma espécie nova denominada *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *janovyi* em abutre-de-rabadilha-branca (*Gyps africanus*), além de mostrar que outros urubus africanos são parasitados por hemosporídeos como *Plasmodium fallax* e *Leucocytozoon toddi*. Esse último parasito também tem sido reportado em vários estudos com aves de rapina (KRONE et al., 2008; HANEL et al., 2016). Em 1984, SACCHI & PRIGIONI verificaram a presença de *Leucocytozoon* sp. em cinco espécies de Falconiformes e coinfeção por *Leucocytozoon* sp. e *Haemoproteus* sp. em uma espécie de Strigiformes, demonstrando que essas aves podem ser parasitadas simultaneamente por mais de um hemosporídeo.

BISHOP & BENNETT (1989) estudando exclusivamente a ordem Strigiformes redescobriram duas espécies de *Haemoproteus* nos hospedeiros dessa ordem, sendo: *Haemoproteus noctuae* e *Haemoproteus syrnii*, além de descreverem mais duas espécies de *Haemoproteus*, que posteriormente foram consideradas sinônimas das já citadas anteriormente (VALKIŪNAS, 1997). *Haemoproteus syrnii* foi descrito pela primeira

vez por MAYER em 1910, infectando eritrócitos de indivíduos de *Strix aluco*, e em 2013, teve sua morfologia redescrita por KARADJIANE e colaboradores incluindo os estágios de esporogonia dentro do vetor, parecendo haver uma alta especificidade desse parasito com a ordem Strigiformes.

Nos estudos de KORPIMAKI et al. (1993), as corujas-boreais (*Aegolius funereus*) foram relatadas como hospedeiras de diversos outros parasitos haemosporidianos, como *H. noctuae*, *H. syrni*, *Plasmodium circumflexum* e *Leucocytozoon ziemanni*. Nesse estudo, as fêmeas das corujas parasitadas por *Leucozytozoon* apresentavam anemia e diminuição do recurso nutricional para a produção de ovos, mostrando os efeitos negativos do parasitismo. O hemosporídeo *L. ziemanni* também já foi registrado infectando outras espécies de corujas, como o bufo-real (*Bubo bubo*) (ORTEGO et al., 2010) e mocho-galego (*Athene noctua*) (TOMÉ et al., 2005).

Em uma análise por microscopia ótica, KRONE et al. (2001) encontraram uma taxa de prevalência de infecção por hemosporídeos para Falconiformes de 11% e para Strigiformes de 13% em aves alojadas em centros de recuperação na Alemanha. Nesse estudo foram encontrados os parasitos *Leucocytozoon toddi*, *Haemoproteus* sp., *H. syrni* e *Plasmodium fallax*. Em 2004, ZIMAN e colaboradores realizaram um estudo com nove espécies de aves de rapina e encontraram uma taxa de infecção de 78% para *Haemoproteus* e de 35% para *Leucocytozoon*, demonstrando ainda que a idade das aves e o tempo de cativeiro podem interferir na prevalência da infecção haemosporidiana. Em 2008, KRONE e colaboradores estudando aves de rapina na Europa, encontraram uma prevalência geral de 19,8% por microscopia e de 21,8% por PCR de amostras infectadas. Esses autores encontraram os parasitos *L. toddi* em Falconiformes, *Leucocytozoon danilewskyi* e *H. noctuae* em Strigiformes, além de espécies não identificadas de *Haemoproteus* e *Plasmodium* nas aves amostradas, demonstrando alta diversidade nesse grupo.

SANTOS et al. (2008) examinando 113 aves de rapina em centros de recuperação de aves de Portugal detectaram que 20,4% estavam infectadas com hemoprotozoários, com uma taxa de prevalência de amostras positivas 9,9% em Falconiformes e 63,6% em Strigiformes. Nesse mesmo ano, Ishak e colaboradores, em seu estudo na América do Norte com mais de 540 espécimes de 11 espécies de corujas mostraram que as coinfeções em corujas são bem comuns, sendo que em uma das corujas avaliadas havia coinfeção por cinco haemosporidianos morfologicamente

distintos (*L. danilewskyi*, *H. noctuae*, *H. syrniai*, *Plasmodium (Haemamoeba)* sp., e *Plasmodium (Giovannolaia)* sp. Além disso, entre os parasitos do gênero *Leucocytozoon* encontrados parece haver uma diversidade críptica de espécies, uma vez que uma das espécies relatadas (*L. danilewskyi*) possuía indivíduos que eram morfologicamente indistinguíveis, apesar das linhagens dos mesmos formarem dois cladogramas nitidamente diferentes com uma alta divergência genética média. Já nos estudos de PÉREZ-RODRÍGUEZ et al. (2013), com aves Accipitriformes (gêneros *Milvus*), as espécies aviárias também estavam parasitadas pelos três gêneros de hemosporídeos, porém com uma prevalência bem menor, de 3% para *Milvus milvus* e 14% em *Milvus migrans*.

CILOGLU et al. (2016) estudando 22 aves de rapinas das ordens Accipitriformes e Strigiformes de um centro de reabilitação na Turquia também encontraram os três gêneros de hemosporídeos infectando as aves, com uma prevalência média de infecção de 32% ao utilizar uma combinação de exame microscópico de esfregaços sanguíneos e PCR. Nesse estudo verificou-se ainda que um mesmo exemplar de águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*) apresentou coinfeção pelos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*.

Ainda sobre as infecções em aves de rapina, CARLSON et al. (2018) coletaram o sangue de 1253 corujas-serra-afiada (*Aegolius acadicus*) e encontraram uma prevalência ainda maior (73.1%), mostrando como são altas as infecções haemosporidianas no local estudado. Além disso, demonstraram uma relação direta entre a temperatura e as taxas de infecção por *Leucocytozoon* sp.

Dentre as ordens de aves de rapina a menos estudada é a Cathartiformes. No estudo de YABSLEY et al. (2018) foi encontrado apenas o parasito *Haemoproteus catharti* em uma única espécie de urubu (*Cathartes aura*), sendo que além desse hemosporídeo, apenas *L. toddi* e *Plasmodium elongatum* foram relatados nas aves dessa ordem (FORRESTER, SPALDING, 2003; GREINER et al., 2011). Apesar de desenvolverem um papel importantíssimo no ecossistema, acelerando o processo de degradação da matéria morta e propiciando a reciclagem de nutrientes, essas aves ainda são vistas como repugnantes e não são tão atrativas para os pesquisadores quanto os representantes das outras ordens aviárias.

No Brasil, um dos poucos estudos com um grande número de aves de rapina é o de ANDERY et al. (2013), que investigando hemoparasitos de Falconiformes, Strigiformes e Cathartiformes de um Centro de Reabilitação demonstrou prevalência

geral de 13,5% no sangue periférico dessas aves. Apesar da morfologia dos hemoparasitos encontrados ser consistente com o gênero *Haemoproteus*, os autores não chegaram a determinação da espécie.

Existe ainda um grande debate a respeito da patogenicidade dos hemosporídeos em aves de rapina. De um modo geral, eles são considerados pouco patogênicos para essas aves, e a maioria dos pesquisadores descreve que *Plasmodium* spp. são os parasitos de importância clínica e podem resultar em sinais de apatia, perda de peso, esforço respiratório, anemia e diminuição do apetite (DEEM, 1999; JONES, 2006). No entanto, os hemosporídeos também foram associados a casos de em populações sem contato prévio com os parasitos (HUNTER et al., 1997; PEIRCE et al., 2004). Além disso, existem relatos de que o parasitismo subclínico, muitas vezes referenciado como o mais comum, pode tornar-se evidente durante condições de estresse, que é frequente em aves de cativeiro (MORISHITA, 1998). NIEDRINGHAUS et al. (2018) relataram também o caso de corujas da espécie *Bubo virginianus* que vieram a óbito cujas necropsias demonstraram necrose de múltiplos órgãos e inúmeros merontes, associando tais achados histológicos e a mortalidade encontrada a infecção por *Leucocytozoon* sp.

2.4 PATOGENICIDADE DAS INFECÇÕES HEMOSPORIDIANAS

A patogenicidade da maioria das espécies de hemosporídeos ainda é desconhecida para a ciência. Os complexos ciclos de vida, a epidemiologia, a baixa parasitemia e a dificuldade da coleta de dados em aves silvestres estão entre os fatores para o desconhecimento dos efeitos deletérios desses parasitos sobre as aves. Por muitos anos acreditou-se que os hemosporídeos eram relativamente inofensivos para as aves silvestres, porém, a cada ano novos estudos têm demonstrado que a patogenicidade depende da espécie infectante, da capacidade imunológica do hospedeiro, entre outros fatores, podendo levar os animais à morte (OLIAS et al., 2011; CANNELL et al., 2013; SANTIAGO-ALARCON et al., 2013; GROFF et al., 2019).

Segundo VALKIŪNAS (2005), nenhum grupo de hemosporídeos é neutro para os seus hospedeiros, sendo que alguma alteração irá causar nesses, de modo que essa patogenicidade está longe de ser descoberta para grande parte das infecções causadas por esses parasitos. Além disso, quase toda a informação sobre a patogenicidade dos hemosporídeos foi obtida por resultados de infecções experimentais sobretudo em animais domésticos (VALKIŪNAS, 2005), restando uma lacuna sobre a patogenicidade

em aves silvestres. Dados obtidos de infecções experimentais em laboratório são extremamente úteis para o entendimento do ciclo dos hemosporídeos, mas não podem ser extrapolados para as aves de vida livre, que sofrem pressões ambientais diferentes daquelas controladas em laboratório. As aves de vida livre estão envolvidas em relações competitivas complexas, estresse pela falta de alimento e água, condições ambientais indesejadas, etc., bem diferentes das aves mantidas em laboratório. Desta forma, os parasitos aparentemente neutros em experimentos com animais mantidos em cativeiro controlado, podem ser responsáveis por situações de debilidade ou mesmo de doença em animais de vida livre (LOYE; ZUK, 1991; VALKIŪNAS, 2005).

As lesões mais graves relatadas em aves silvestres têm sido provocadas pelas espécies de *Plasmodium* e estão associadas com uma anemia muitas vezes grave gerada pela remoção de eritrócitos infectados da circulação sanguínea por células do sistema fagocítico mononuclear do baço, fígado, medula óssea e outros órgãos (LOYE; ZUK, 1991; VALKIŪNAS, 2005). Aliado a isso, a ruptura dos merontes pode levar as células a morte, ou também gerar uma reação imunitária do hospedeiro que determinará a morte celular (FROMONT, 1993; VALKIŪNAS, 2005). Aves infectadas apresentam-se geralmente anêmicas, letárgicas, anoréxicas e com penas eriçadas (ATKINSON, 2008), e aquelas que foram expostas pela primeira vez parecem ser ainda mais afetadas pela doença, devido, principalmente, à deficiência da resposta imune (BENSCH et al., 2000).

Diversas espécies do gênero *Plasmodium* têm sido relatadas como causadoras de doenças graves em aves silvestres, porém os estudos de patogenicidade têm sido bem reportados em um dos grupos de aves mais ameaçados por esses parasitos, os pinguins do gênero *Spheniscus*, contribuindo também para o estudo de outras ordens aviárias. Estudos sobre a infecção haemosporidiana em pinguins dos continentes americano e africano demonstram que esses hemosporídeos podem provocar esplenomegalia, hepatomegalia e edema pulmonar, além da presença de esquizontes intraendotelial no baço, pulmão, fígado, coração e rim, condições que levaram grande parte da população estudada ao óbito (FIX et al., 1988; GRIM et al., 2003; BUENO et al., 2010; SILVEIRA et al., 2013; VANSTREELS et al., 2014; VANSTREELS et al., 2016).

Em relação ao gênero *Haemoproteus* é relatado que os parasitos muitas vezes desenvolvem-se em megalomerontes nos miofibroblastos dos músculos esqueléticos infectados (VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017). O desenvolvimento desses megalomerontes provoca uma miosite hemorrágica aguda, onde os megalomerontes são rodeados por uma infiltração inflamatória hemorrágica, envolvendo macrófagos,

heterófilos, células gigantes e eritrócitos. As fibras musculares que envolvem os megalomerontes apresentam sinais iniciais de calcificação distrófica, e a ruptura dos megalomerontes gera a formação de grandes focos necróticos e desenvolve-se a miopatia (ATKINSON; FORRESTER, 1987; FROMONT, 1993; VALKIŪNAS, 2005; ATKINSON, 2008). DONOVAN et al. (2008) demonstraram ainda casos de hemorragia hepática, necrose e hepatite provocadas pelos estágios de megalomerontes durante a fase pré-eritrocítica levando à mortalidade de aves acometidas por *Haemoproteus* spp.

Assim como as espécies de *Plasmodium*, *Haemoproteus* spp. podem gerar anemia em seus hospedeiros por ocasião da fase eritrocítica do parasitismo (CARDONA et al., 2002), e a presença de sinais clínicos e a gravidade da doença em aves infectadas por essas espécies frequentemente são associadas a altos níveis de parasitemia (GARNHAM, 1966; ATKINSON; VAN RIPER III, 1991). Um aumento do número de hemoparasitos também pode estar associado com condições de estresse associado aos períodos de reprodução, migração, doenças concorrentes ou debilidade (KRONE; COOPER, 2002).

Os casos de patogenicidade e óbitos relacionados a *Haemoproteus* spp. em aves silvestres foram por muitos anos negligenciados, principalmente devido aos sinais subclínicos ou inespecíficos. Entretanto, na última década, muitas publicações têm relatado esses casos. OLIAS et al. (2011) relataram o óbito de diferentes espécies de psitacídeos cativos (Ordem Psittaciformes) infectadas por *Haemoproteus* spp., cujos indivíduos apresentavam megalomerontes em vários órgãos como coração e músculo esquelético. Em um estudo realizado por CANNELL e colaboradores (2013), pinguins australianos (*Eudyptula minor*) apresentaram hepatomegalia e esplenomegalia, com áreas de necrose multifocais no fígado e baço, além do músculo cardíaco e tecido pulmonar, onde também podiam ser encontrados *Haemoproteus* spp. associados a essas áreas. GROFF et al. (2019) relataram também outro hemosporídeo que pode levar aves ao óbito: *Haemoproteus velans*. Em seu estudo, pica-paus-de-cabeça-branca (*Dryobates albolaryvatus*) infectados apresentaram fígado e baço aumentados, além da presença de merontes exoeritrocíticos dentro do citoplasma de células endoteliais, dos capilares, hepatócitos e miócitos, além de livres nos tecidos.

2.5 DETECÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E DELIMITAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPÉCIES EM HAEMOSPORIDA

A identificação das espécies da ordem Haemosporida foi realizada originalmente a partir da observação de esfregaços sanguíneos sob microscópio óptico e durante muitos anos essa foi a técnica exclusivamente utilizada para detecção desses parasitos. A observação sob microscopia permite analisar tanto as características morfológicas apresentadas por cada gênero ou espécie de parasito, quanto verificar os níveis de parasitemia e a prevalência da infecção, e se o parasito se desenvolve completamente no hospedeiro e não se trata de infecção abortiva (FROMONT, 1993; VALKIŪNAS, 2005).

Porém, a identificação utilizando-se somente a microscopia nem sempre é possível devido a diversas questões, como: a existência de algumas espécies morfológicamente idênticas e a presença de apenas formas jovens dos parasitos nos esfregaços que são muitas vezes semelhantes e até mesmo indistinguíveis, o que pode dificultar até a identificação de gênero, como formas jovens de *Plasmodium* spp. e *Haemoproteus* spp. (FROMONT, 1993). Aliado a isso, a identificação em nível de espécie de hemosporídeos depende da confecção de bons esfregaços sanguíneos, muitas vezes em duplicatas ou triplicatas, e de bons taxonomistas capacitados para tal atividade.

Com o avanço dos métodos de biologia molecular, em especial a PCR (Polymerase Chain Reaction), houve um grande avanço na identificação dos hemosporídeos, pois a amplificação de uma sequência genômica específica por meio dessa técnica permite detectar linhagens diferentes de parasitos (HELLGREN et al., 2004; VALKIŪNAS et al., 2008), adicionando assim informações importantes no conhecimento a respeito da filogenia e especificidade da relação hemosporídeo-hospedeiro (RICKLEFS et al., 2004; BENSCH et al., 2007). A PCR oferece diagnósticos rápidos e confiáveis mesmo quando uma determinada amostra apresenta baixos níveis de parasitismo ou se tenha pequenos volumes de sangue disponíveis, sendo então considerada um método muito eficiente e com maior acurácia que a microscopia óptica (HENNING et al., 1999; RICHARD et al., 2002; CLARK et al., 2009). Aliado a isso, as análises moleculares por PCR melhoram significativamente a detectabilidade de infecções crônicas por hemosporídeos em esfregaços sanguíneos de hospedeiros aviários e podem ainda ser realizadas em amostras teciduais de aves mortas (FELDMAN et al., 1995; VANSTREELS et al., 2014).

Muito ainda se discute sobre as vantagens e desvantagens dos métodos moleculares, uma vez que apesar da biologia molecular parecer detectar com maior precisão as infecções haemosporidianas, estudos ainda indicam que o uso de PCR's comuns podem levar a subestimação de coinfeções (VALKIŪNAS et al., 2006; MARTINEZ et al., 2009). Essa condição pode estar relacionada aos protocolos de PCR que tendem a favorecer a amplificação de sequências de DNA dos parasitos com a maior parasitemia ou aos *primers* utilizados que podem se alinhar melhor a uma espécie de parasito do que a outra (ZEHTINDJIEV et al., 2012; CHAGAS et al., 2013).

Para a realização da biologia molecular na detecção de hemosporídeos são utilizados diversos genes (marcadores) moleculares, como o gene codificador do ácido ribonucléico ribossomal (rRNA) - mais especificamente da subunidade menor (SSU), e o gene mitocondrial citocromo b (*cyt b*). As sequências utilizadas desses genes são bastante estáveis e conservadas em espécies congêneres, e não são encontradas nos hospedeiros ou em outros patógenos (BENSCH et al., 2004; BRAGA et al., 2011). Dentre esses genes, o *cyt b* é o mais utilizado na detecção e identificação de hemosporídeos aviários, e devido ao aumento do número de sequências genéticas geradas foi criado um banco de dados genéticos exclusivo para depósito dessas sequências denominado MalAvi (BENSCH et al., 2009). Atualmente esse banco de dados conta com mais de 3600 linhagens únicas depositadas e possui ainda informações sobre a distribuição geográfica dos parasitos, seus hospedeiros vertebrados e invertebrados.

Apesar do grande número de linhagens depositadas nos bancos de dados e das técnicas moleculares e morfológicas utilizadas, a determinação de espécie dentro de Haemosporida ainda é muito discutida e por isso a maior parte dessas linhagens não possuem identificação em nível de espécie. Esta condição decorre principalmente devido aos diferentes conceitos de espécies dentro dessa ordem, como o conceito de similaridade morfológica de espécies, de espécies biológicas e filogenético (PERKINS, 2000), além de critérios de especiação e como dados morfológicos e moleculares devem ser avaliados.

Anteriormente identificadas apenas morfológicamente, HELLGREN et al. (2007) sugeriram que uma divergência genética acima de 5% seria a taxa limite para a diferenciação de espécies haemosporidianas, pois essas seriam também morfológicamente distintas. Contudo, já foram descritas espécies que diferem em menos de 1% no gene *cyt b* e que são facilmente distinguíveis morfológicamente (por

exemplo: *Haemoproteus jenniae* e *Haemoproteus iwa*; divergência genética: 0,6%) (LEVIN et al., 2012; HELLGREN et al., 2007). Assim, apesar de ser o método mais utilizado para a detecção de hemosporídeos, a biologia molecular deve ser considerada como mais um instrumento de identificação taxonômico, mas não o único (PEIRCE, 2005).

Baseando-se no conceito filogenético que define as espécies como um agrupamento de organismos com padrões de ancestralidade e descendência, os quais diferem de outros agrupamentos (ELDREDGE; CRACRAFT, 1980), metodologias recentes que podem auxiliar as técnicas moleculares e morfológicas na identificação de hemosporídeos têm sido propostas como, por exemplo, os algoritmos de delimitação computacional. Essas metodologias baseiam-se na teoria da coalescência, que tem por objetivo identificar a transição de um processo coalescente em nível de população para um processo de especiação macroevolutivo na árvore filogenética (MELLO et al., 2018). Poucos estudos utilizando essas metodologias foram realizados com protozoários. GALEN et al. (2018) utilizaram algoritmos computacionais de delimitação *multi-locus* para delimitar espécies do gênero *Leucocytozoon* em aves do Alasca e OLIVEIRA et al. (2020) utilizaram os métodos PTP (Poisson Tree Process) e MPTP (Multi-rate Poisson Tree Process) para delimitar *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. em aves silvestres no Brasil, ambos demonstrando que pode existir uma diversidade de espécies de hemosporídeos a ser desvendada.

Entre os diversos métodos de delimitação de espécies baseados em *locus* único, os mais utilizados são o GMYC (General Mixed Yule Coalescent), o ABGD (Automatic Barcode Gap Discovery), o PTP (Poisson Tree Process) e o MPTP (Multi-rate Poisson Tree Process). O GMYC identifica as unidades evolutivas significativas (ESU's) através da otimização de um ponto de troca entre o processo de coalescência e um padrão de ramificação mais profundo, característico do surgimento de espécies (PONS et al., 2006). No ABGD, a hipótese primária de espécies é definida após a suposição da existência de um *gap* para os valores de distância dentro e entre grupos de indivíduos, após sucessivos testes de *clustering* and *thresholds* (PUILLANDRE et al., 2012). Todos os algoritmos discutidos acima utilizam genealogias cuja extensão de ramificação é dada em unidades de tempo. Já o algoritmo PTP se baseia no critério da máxima verossimilhança, também fundamentado na teoria da coalescência, onde o processo de diversificação da especiação é obtido considerando o número de substituições em um determinado ramo e, em princípio, o número de substituições

parece ser maior entre espécies do que dentro das espécies (ZHANG et al., 2013). O algoritmo MPTP é uma versão do PTP que melhora a estimativa em filogenias que possuem diferentes taxas inter e intraespecíficas. A taxa de especiação pode ser constante entre espécies irmãs, porém a taxa de coalescência intraespecífica e a diversidade genética podem variar significativamente mesmo entre espécies irmãs, de modo que o MPTP permite explicar as diferentes taxas de eventos de ramificação dentro de cada espécie delimitada (KAPLI et al., 2017).

Diante do exposto, abordagens integrativas com diferentes metodologias têm sido cada vez mais utilizadas para auxiliar na taxonomia complexa dos hemosporídeos. Metodologias científicas que utilizam morfologia, biologia molecular, filogenética, ecologia, ciclo de vida, distribuição geográfica e, mais recentemente, a delimitação computacional de espécies poderão ser atributos fundamentais para a definição de uma nova espécie dentro da ordem Haemosporida.

3 CAPÍTULO 1 - HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA NO BRASIL: DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES E REFLEXÕES SOBRE CONSERVAÇÃO, TRATAMENTO E MANEJO DE AVES EM CATIVEIRO.

3.1 RESUMO

A biodiversidade global está decrescendo anualmente e a avifauna brasileira tem acompanhado esse cenário na medida em que o número de animais silvestres recebidos pelos Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil (CETAS) tem aumentado expressivamente, principalmente devido ao tráfico ilegal, à degradação do *habitat* e aos encontros infortúnios em área urbana com o ser humano. Conhecer a diversidade de aves que chega aos CETAS, bem como sua carga parasitária, são condições importantes para o manejo e a tomada de decisões que influenciarão a reintrodução e conservação da fauna silvestre nativa. Assim, os objetivos desse trabalho foram realizar um levantamento das aves de rapina que chegaram nos CETAS do Brasil, verificando quais hemosporídeos já foram registrados nessas espécies de aves, bem como sua especificidade parasitária; estimar as possíveis Unidades Evolutivas Significativas (ESU's) entre as linhagens encontradas; relatar os diferentes tratamentos contra hemosporídeos aviários; e levantar discussões acerca do manejo de aves silvestres em cativeiro. Para isso, foram obtidos relatórios dos órgãos públicos responsáveis pelos CETAS que foram analisados juntamente com os dados disponíveis na literatura científica sobre o tema. Com esse levantamento buscou-se no banco de dados genéticos MalAvi os relatos de infecção dessas espécies por hemosporídeos (*Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*), sendo elaboradas análises em rede de interação para verificar a especificidade das linhagens de Haemosporida, além de delimitação computacional de espécies utilizando-se os algoritmos PTP e MPTP para estimativa das ESU's. O levantamento geral das espécies de aves que chegaram aos CETAS gerou uma lista com 625 espécies, de 30 ordens e 80 famílias, sendo 87,06% das espécies classificadas no *status* de conservação “Pouco preocupante”; 6,23% em “Quase ameaçadas” e 6,71% em alguma das categorias de ameaça de extinção. Dentre as aves computadas, 67 espécies eram de aves de rapina, sendo 33 da ordem Accipitriformes, 17 da Strigiformes, 13 da Falconiformes e quatro da Cathartiformes, com três espécies ameaçadas de extinção (*Amadonastur lacernulatus*; *Leptodon forbesi* e *Urubitinga*

coronata). Na análise dos dados do MalAvi foram encontradas 265 linhagens de hemsporídeos em 16 dessas espécies de aves de rapina, sendo 218 delas exclusivas das ordens desse grupo e 170 exclusivas de uma única ordem de aves de rapina, mostrando assim alta especificidade pela ordem parasitada. Baseado nas linhagens de hemsporídeos relatadas para a lista de espécies de aves de rapina que em algum momento foram recebidas nos CETAS, o algoritmo PTP estimou nove ESU's de *Plasmodium*, oito de *Haemoproteus* e seis de *Leucocytozoon*, ao passo que o algoritmo MPTP estimou seis ESU's de *Plasmodium*, cinco de *Haemoproteus* e quatro de *Leucocytozoon*, podendo indicar a existência de novas espécies dentre as linhagens relatadas. Verificou-se que as ESU's delimitadas, com possíveis novas espécies, podem infectar um número maior de ordens de aves, sugerindo uma diversidade críptica que deverá ser observada nos protocolos de manejo nos cativeiros. Para os gêneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, o algoritmo PTP superestimou a diversidade, sendo o MPTP mais próximo da realidade da taxonomia vigente. Para o gênero *Haemoproteus*, o PTP superestimou a diversidade de espécies e em sentido contrário o MPTP subestimou a diversidade em comparação com a taxonomia vigente, verificando-se a necessidade de se sequenciar mais marcadores para o grande número de linhagens existentes e utilizar também outros delimitadores computacionais, entre eles os *multi-locus*. Devido a grande diversidade de aves que chega aos CETAS e sua provável carga parasitária de hemsporídeos, protocolos sanitários e de manejo devem subsidiar as ações dentro dessas instituições de modo a combater espécies parasitárias altamente patogênicas, garantindo a sobrevivência das espécies aviárias, mas sem extinguir toda a carga parasitária de forma indiscriminada, visto a sua importância nos diversos processos ecológicos.

3.2 INTRODUÇÃO

O Brasil é o país com a maior diversidade de espécies no mundo e dentre as espécies de animais, as aves representam o segundo maior táxon em número de espécies registradas, totalizando 1.824 espécies, distribuídas em 33 ordens e 95 famílias, sendo 239 delas endêmicas do país (PACHECO, AGNE, 2019). Um marco negativo é que o país conta também com o maior número de espécies ameaçadas no mundo (173 espécies), o que representa 12% das aves ameaçadas do planeta (IUCN, 2019). Em relação as aves de rapina, formado pelas ordens Falconiformes, Strigiformes, Cathartiformes e Accipitriformes, o grupo conta com 97 espécies de aves no Brasil (LUCA et al., 2017; MINDELL et al., 2018), sendo quatro delas incluídas em categorias de ameaçadas de extinção (IUCN, 2019).

Devido ao tráfico de animais silvestres, as aves correspondem ao maior número de espécimes apreendidos (VILELA, 2012). Para atender a crescente demanda gerada por esse comércio ilegal de aves foram criados os Centros de Triagem de Animais Silvestres (CETAS), a fim de apoiar ações de fiscalização e combate ao tráfico, permitindo maior eficácia na identificação, manejo, reabilitação e destinação dos animais. À medida que foram se estabelecendo, os CETAS também se tornaram essenciais para atender animais recolhidos por razão de conflitos antrópicos ou entregues de maneira voluntária pela população (VILELA, 2012; RENCTAS, 2016).

De modo a possibilitar a correta destinação dos animais recebidos por essas instituições faz-se necessário um profundo conhecimento sobre agentes etiológicos circulantes entre animais silvestres, pois, programas conservacionistas podem fracassar devido à perda dos animais reintroduzidos ou translocados, ou pela possibilidade da introdução de doenças em ambientes previamente isentos (CATÃO-DIAS, 2008).

Alguns parasitos comumente encontrados em hospedeiros aviários são os hemosporídeos (Haemosporida: Haemoproteidae). Protozoários dessa ordem, como os dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Fallisia*, podem ser altamente patogênicos, e mesmo que não causem alterações patológicas em seus hospedeiros, podem servir como reservatórios para infecções de espécies mais vulneráveis, levando a extinções locais de espécies endêmicas (VAN RIPER III et al., 1986; ZIMAN et al., 2004; VALKIŪNAS, 2005). Segundo Heyden (1996), os hemosporídeos são frequentemente observados parasitando células sanguíneas de aves recentemente capturadas, e ocasionalmente em aves alojadas em ambientes fechados.

Dessa forma, Centros de Triagem são locais altamente propensos a se observar infecções haemosporidianas, uma vez que recebem aves provenientes do ambiente natural.

Em relação aos hemosporídeos que infectam aves de rapina neotropicais, pouca informação tem sido gerada, principalmente devido a dificuldade de captura dessas aves em ambiente natural, ao baixo número de indivíduos que chegam aos CETAS e a baixa capacidade desses centros para a realização de exames para detecção dos parasitos. A maioria dos trabalhos realizada nos neotrópicos sobre infecção de aves de rapina por hemosporídeos agrupa essas aves com as demais ordens aviárias, visto o baixo número de indivíduos coletados (TOSTES et al., 2015; CHAGAS et al., 2017).

Outro ponto importante e pouco explorado nos estudos é a especificidade das linhagens dos parasitos haemosporidianos. Como não se é avaliado um grande número de espécies hospedeiras e seus parasitos relacionados, os estudos geralmente possuem foco no relato das linhagens encontradas, parasitemia e prevalência. Patógenos generalistas sem histórias conhecidas nas áreas de destino dos animais reintroduzidos são um risco particularmente grande nos programas de reintrodução e translocação (IUCN, 2013) e, sabendo-se que cerca de 60% dos animais confiscados são devolvidos à natureza (IBAMA, 2020), esses agentes podem ter um grande impacto não apenas nos animais libertados, mas também nas populações naturais (WOODFORD, 2001).

Além de conhecer as linhagens de hemosporídeos que estão ocorrendo em aves de cativeiro, é importante também tentar identificá-las em nível de espécie, de modo a auxiliar no tratamento e manejo das aves cativas, uma vez que aves infectadas por diferentes espécies de parasitos podem receber diferentes tratamentos veterinários.

Na última década, as linhagens haemosporidianas que infectam aves têm sido adicionadas a uma taxa elevada aos bancos de dados GenBank e MalAvi (BENSCH et al., 2009; PERKINS, 2014). Porém, um número baixo delas é identificado em nível de espécie, o que pode subestimar a diversidade de parasitos que ocorrem em diferentes ordens aviárias. Assim, metodologias que possam auxiliar as técnicas moleculares e morfológicas na identificação das espécies, como os algoritmos de delimitação computacional, têm sido cada vez mais utilizadas em diversos grupos faunísticos, incluindo os hemosporídeos (DA SILVA et al., 2017; GALEN et al., 2018; MELLO et al., 2018; PEREIRA, 2018; KORNILIOS et al., 2020; OLIVEIRA et al., 2020).

O uso do gene mitocondrial *cyt b*, por meio de análises de *locus* único, tem se mostrado uma excelente alternativa para estimar a diversidade críptica de espécies de

hemosporídeos em aves, tornando este gene uma ferramenta útil para definir unidades taxonômicas operacionais ou unidades significativas evolutivas (ESU's) (OUTLAW; RICKLEFS, 2014; OLIVEIRA et al., 2020). A escolha pelo *cyt b* se dá ainda devido à disponibilidade de grande volume de informações disponíveis nos bancos de dados genéticos para esse gene, além de ser computacionalmente menos exigente nas análises de delimitação, da melhor performance com elevado número de dados analisados e permitirem uma descoberta rápida de unidades evolutivas e estimativas de biodiversidade (BLAIR; BRYSON, 2017; DA SILVA et al., 2017; KAPLI et al., 2017; HOFMAN et al., 2019). Entre os algoritmos de *locus* único disponíveis, o Poisson Tree Process (PTP) (ZHANG et al., 2013) e o Multi-rate Poisson Tree Process (MPTP) (KAPLI et al., 2017) têm sido ferramentas baseadas em filogenias utilizadas para delimitar espécies por meio de linhagens do *cyt b*, mostrando resultados bastante promissores (OLIVEIRA et al., 2020).

Conhecendo-se a provável diversidade de espécies de hemosporídeos que infecta aves que chegam aos CETAS pode-se então estabelecer protocolos preventivos de infecção baseados em rigorosas normas sanitárias, bem como o tratamento de animais infectados com parasitos altamente patogênicos, de modo a se evitar ou minimizar a introdução de parasitos em locais onde possam causar prejuízos a avifauna local.

Diante do exposto, esse estudo teve por objetivos: ¹realizar um levantamento das aves de rapina que chegaram nos Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil, verificando quais parasitos haemosporidianos já foram registrados nessas espécies de aves; ²identificar possíveis linhagens parasitárias generalistas e especialistas nas aves de rapina; ³estimar por meio de algoritmos computacionais possíveis ESU's entre as linhagens relatadas; ⁴relatar os diferentes tratamentos contra hemosporídeos aviários atualmente utilizados; e ⁵levantar discussões acerca do manejo de aves silvestres em cativeiro com fins de subsidiar a reabilitação, reintrodução ou translocação de aves silvestres em ambiente natural com vistas à proteção da biodiversidade.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um levantamento das aves que chegaram nos CETAS do Brasil por meio de uma consulta aos órgãos públicos ambientais federais e estaduais. Esses órgãos públicos são responsáveis pelo maior número de recebimentos de animais da fauna silvestre nativa. O órgão público de maior destaque é o IBAMA (Instituto Brasileiro do

Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis), órgão ambiental responsável pela gestão da fauna silvestre a nível federal e responsável pela administração de grande parte dos CETAS do país.

Os dados foram analisados por meio dos relatórios produzidos pelos órgãos ambientais, sendo esses materiais de controle interno e não publicados em periódicos científicos. Grande parte desses relatórios não eram digitalizados, além de apresentarem preenchimentos inadequados e desatualização na nomenclatura das espécies. Somado a isso, a dificuldade de acesso aos dados de alguns CETAS demandou expressivo tempo e esforço para se obter um banco de dados com a lista das espécies recebidas pelos CETAS do país. Vale ressaltar que a maioria dos CETAS não conta com sistema informatizado de controle interno, bem como somente em 2020 foi criado a nível federal um sistema para controle dos CETAS geridos pelo IBAMA (SISCETAS).

Além da obtenção dos relatórios acima descritos, realizamos uma extensa pesquisa na literatura científica a respeito das espécies que chegaram nos CETAS, por meio de sites como Scopus, Web of Science, PubMed e Google Acadêmico, sendo encontradas 17 publicações relacionadas (FERREIRA et al., 2004; GUIMARÃES, 2005; BORGES et al., 2006; SOUZA, 2007; BASTOS et al., 2008; SANCHES, 2008; MORITA, 2009; PAGANO et al., 2009; SANTOS, 2009; GOGLIATH et al., 2010; FRANCO et al. 2012; MOURA et al., 2012; VILELA, 2012; DA SILVA et al., 2014; SOUZA et al., 2014; FREITAS et al., 2015; BATISTA, 2016).

As espécies aviárias levantadas nesse estudo foram analisadas quanto ao *status* de conservação, de acordo com a IUCN (2019); sinónímias e alterações taxonômicas, de acordo com o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO); entre outros elementos. As aves encontradas sem identificação em nível de espécie corresponderam a menos de 1% do banco de dados e foram excluídas do mesmo.

Após a consolidação do levantamento buscou-se no banco de dados MalAvi (MALAVI, 2020; acesso em 01.out.2019) os registros de infecção por hemossporídeos nas espécies de aves de rapina que chegaram nos CETAS. O MalAvi é um banco de dados genéticos público para parasitos haemosporidianos de aves onde estão depositadas sequências do gene mitocondrial citocromo *b* (BENSCH et al., 2009). Esse banco de dados foi criado para centralizar e padronizar as informações destes parasitos, em relação à nomenclatura das linhagens, informações de hospedeiros e localização geográfica (BENSCH et al., 2009; CLARK et al., 2014). De posse desses dados pudemos avaliar quais linhagens de hemossporídeos ocorriam nas ordens de aves de

rapina, analisando assim a especificidade das espécies parasitárias. Para auxiliar nessa análise, utilizamos também a função de rede de interação para visualizar ilustrativamente a relação de especificidade, sendo que para essa função gráfica foram selecionadas apenas as linhagens que ocorreram em aves de rapina que chegaram nos CETAS, conforme levantamento realizado.

A delimitação computacional de espécies foi realizada com base na teoria da coalescência, usando o conceito filogenético de espécie, no intuito de verificar quais linhagens de hemosporídeos registradas em aves de rapina que chegaram em CETAS poderiam constituir novas ESU's.

No nosso estudo nós utilizamos dois delimitadores baseados em um único locus (*single locus*), pois, para a ordem Haemosporida, o *cyt b* é o marcador molecular com a maior amostragem de linhagens sequenciadas disponíveis em bancos de dados públicos. Assim, ele continua sendo utilizado como um campo ativo de estudo, com novos métodos sendo regularmente propostos e publicados, além de serem computacionalmente menos exigentes e terem melhor performance com grande número de dados (DELLICOUR; FLOT, 2017; OLIVEIRA et al., 2020). Apesar dessas vantagens, é importante salientar algumas limitações desses métodos, como a questão de apenas uma parte do genoma estar sendo analisada; existir um menor poder estatístico comparado as metodologias *multi-locus* (GALEN et al., 2018) e, embora o gene *cyt b* seja um bom marcador para encontrar parasitos da malária em geral, a taxa de mutação é menor nesse gene para os hemosporídeos aviários (BENSCH et al., 2013), que é muito lenta para reconhecer a diversidade em níveis filogenéticos rasos (HELLGREN et al., 2013).

O primeiro algoritmo utilizado foi o PTP, o qual a partir de uma árvore filogenética modela a especiação em unidades de substituição por sítio e assume que o número de substituições entre espécies é maior do que o número de substituições dentro das espécies (ZHANG et al., 2013). O segundo algoritmo utilizado foi o MPTP, o qual é uma versão do PTP que melhora a estimativa em filogenias que têm diferentes taxas inter e intraespecíficas, e considera que a taxa de especiação pode ser constante entre espécies irmãs, mas a taxa de coalescência intraespecífica e a diversidade genética pode variar significativamente mesmo entre espécies irmãs (KAPLI et al., 2017). Para isso foram elaborados três *datasets* separados por gênero de hemosporídeo contendo sequências do gene *cyt b* de comprimento superior a 430 pb (sequências longas) que estavam depositadas no banco de dados MalAvi em outubro de 2019, sendo:

Plasmodium (1145 sequências); *Haemoproteus* (1353 sequências) e *Leucocytozoon* (1037 sequências). Uma sequência da espécie *Leucocytozoon buteonis* foi escolhida como grupo externo para compor os *datasets* dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus*; e uma sequência de *Plasmodium multivacuolaris* foi escolhida como grupo externo para compor o *dataset* do gênero *Leucocytozoon*.

Posteriormente à elaboração do *dataset*, foi realizado o alinhamento das sequências por meio do programa MAFFT v. 7.0 (KATO et al., 2019) e a remoção de sítios pobremente alinhados com o software online Gblocks (TAVALLERA; CASTRESANA, 2007), seguindo as orientações padrões dos programas. Com o uso do software JModelTest (DARRIBA et al., 2012), implementado na plataforma MEGA X (KUMAR et al., 2018) obteve-se o melhor modelo de evolução de nucleotídeos: GTR + G + I para os *datasets* de *Plasmodium* e *Haemoproteus* e GTR + G para o *dataset* de *Leucocytozoon*. As filogenias foram inferidas por Máxima Verossimilhança (ML) no software RaxML (STAMATAKIS, 2014), e utilizadas como *input* para a delimitação computacional de espécies no Portal MPTP (<http://mptp.h-its.org/#/tree>; KAPLI et al., 2017), seguindo as configurações padrões do sistema, com remoção do grupo externo antes de todas as análises.

A fim de auxiliar os CETAS nos protocolos sanitários para detecção e tratamento das hemospodioses em aves silvestres, realizamos uma revisão na literatura científica sobre esse tema, discorrendo sobre as medidas profiláticas, de quarentena e estruturais que estão sendo utilizadas para preservação e manutenção da saúde da avifauna. A busca bibliográfica para esta revisão foi realizada nos mesmos sites de busca de artigos científicos citados anteriormente.

3.4 RESULTADOS

3.4.1 LEVANTAMENTO DAS AVES DE RAPINA QUE CHEGARAM NOS CETAS DO BRASIL

Foram obtidos dados da literatura científica e do recebimento dos órgãos ambientais referentes aos anos de 2004 a 2019. O levantamento geral das espécies de aves que chegaram aos CETAS gerou uma lista de 625 espécies de aves, de 30 ordens e 80 famílias (Anexo A). As aves de rapina, foco principal de nosso estudo, somaram 67 espécies de seis famílias, sendo 33 espécies da ordem Accipitriformes, 17 da

Strigiformes, 13 da Falconiformes e quatro da Cathartiformes (Tabela 1). Foram obtidos dados de todas as regiões geográficas do Brasil (Sudeste, Centro-oeste, Nordeste, Sul e Norte), porém, não de todos os estados brasileiros, uma vez que nem todos eles forneceram tais informações para nossa pesquisa.

Tabela 1 - Espécies de aves de rapina recebidas nos CETAS do Brasil no período de 2004 a 2019.

Ordem	Nome comum	Status de conservação
Espécie		(IUCN, 2019)
Accipitriformes		
<i>Accipiter bicolor</i>	Gavião-bombachinha-grande	Pouco preocupante
<i>Accipiter poliogaster</i>	Tauató-pintado	Pouco preocupante
<i>Accipiter striatus</i>	Gavião-miúdo	Pouco preocupante
<i>Accipiter superciliosus</i>	Tauató-passarinho	Pouco preocupante
<i>Amadonastur lacernulatus</i>	Gavião-pombo-pequeno	Vulnerável
<i>Buteo albonotatus</i>	Gavião-urubu	Pouco preocupante
<i>Buteo brachyurus</i>	Gavião-de-cauda-curta	Pouco preocupante
<i>Buteo nitidus</i>	Gavião-pedrês	Pouco preocupante
<i>Buteo platypterus</i>	Gavião-de-asa-larga	Pouco preocupante
<i>Buteogallus aequinoctialis</i>	Gavião-caranguejeiro	Quase ameaçado
<i>Buteogallus anthracinus</i>	Gavião-caranguejeiro-negro	Pouco preocupante
<i>Chondrohierax uncinatus</i>	Gavião-caracoleiro	Pouco preocupante
<i>Elanoides forficatus</i>	Gavião-tesoura	Pouco preocupante
<i>Elanus leucurus</i>	Gavião-peneira	Pouco preocupante
<i>Gamponyx swainsonii</i>	Gaviãozinho	Pouco preocupante
<i>Geranoaetus albicaudatus</i>	Gavião-de-rabo-branco	Pouco preocupante

<i>Geranoaetus melanoleucus</i>	Águia-serrana	Pouco preocupante
<i>Geranospiza caerulescens</i>	Gavião-pernilongo	Pouco preocupante
<i>Harpagus diodon</i>	Gavião-bombachinha	Pouco preocupante
<i>Harpia harpyja</i>	Gavião-real	Quase ameaçada
<i>Heterospizias meridionalis</i>	Gavião-caboclo	Pouco preocupante
<i>Ictinia plumbea</i>	Sovi	Pouco preocupante
<i>Leptodon cayanensis</i>	Gavião-de-cabeça-cinza	Pouco preocupante
<i>Leptodon forbesi</i>	Gavião-de-pescoço-branco	Em perigo crítico
<i>Pandion haliaetus</i>	Águia-pescadora	Pouco preocupante
<i>Parabuteo unicinctus</i>	Gavião-asa-de-telha	Pouco preocupante
<i>Pseudastur polionotus</i>	Gavião-pombo-grande	Quase ameaçada
<i>Rostrhamus sociabilis</i>	Gavião-caramujeiro	Pouco preocupante
<i>Rupornis magnirostris</i>	Gavião-carijó	Pouco preocupante
<i>Spizaetus melanoleucus</i>	Gavião-pato	Pouco preocupante
<i>Spizaetus tyrannus</i>	Gavião-pega-macaco	Pouco preocupante
<i>Urubitinga coronata</i>	Águia-cinzenta	Em perigo
Strigiformes		
<i>Asio clamator</i>	Coruja-orelhuda	Pouco preocupante
<i>Asio stygius</i>	Mocho-diabo	Pouco preocupante
<i>Athene cunicularia</i>	Coruja-buraqueira	Pouco preocupante

<i>Bubo virginianus</i>	Jacurutu	Pouco preocupante
<i>Glaucidium brasilianum</i>	Caburé	Pouco preocupante
<i>Glaucidium hardyi</i>	Caburé-da-amazônia	Pouco preocupante
<i>Glaucidium minutissimum</i>	Caburé-miudinho	Pouco preocupante
<i>Megascops atricapilla</i>	Corujinha-sapo	Pouco preocupante
<i>Megascops choliba</i>	Corujinha-do-mato	Pouco preocupante
<i>Megascops usta</i>	Corujinha-relógio	Pouco preocupante
<i>Megascops watsoni</i>	Corujinha-orelhuda	Pouco preocupante
<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	Murucututu-de-barriga-amarela	Pouco preocupante
<i>Pulsatrix perspicillata</i>	Murucututu	Pouco preocupante
<i>Strix huhula</i>	Coruja-preta	Pouco preocupante
<i>Strix hylophila</i>	Coruja-listrada	Quase ameaçada
<i>Strix virgata</i>	Coruja-do-mato	Pouco preocupante
<i>Tyto furcata</i>	Suindara	Pouco preocupante
<i>Caracara cheriway</i>	Carcará-do-norte	Pouco preocupante

Falconiformes

<i>Caracara plancus</i>	Carcará	Pouco preocupante
<i>Falco deiroleucus</i>	Falcão-de-peito-laranja	Quase ameaçada
<i>Falco femoralis</i>	Falcão-de-coleira	Pouco preocupante
<i>Falco peregrinus</i>	Falcão-peregrino	Pouco preocupante

<i>Falco rufigularis</i>	Cauré	Pouco preocupante
<i>Falco sparverius</i>	Quiriquiri	Pouco preocupante
<i>Herpetotheres cachinnans</i>	Acauã	Pouco preocupante
<i>Micrastur mintoni</i>	Falcão-críptico	Pouco preocupante
<i>Micrastur ruficollis</i>	Falcão-caburé	Pouco preocupante
<i>Micrastur semitorquatus</i>	Falcão-relógio	Pouco preocupante
<i>Milvago chimachima</i>	Gavião-carrapateiro	Pouco preocupante
<i>Milvago chimango</i>	Chimango	Pouco preocupante
Cathartiformes		
<i>Cathartes aura</i>	Urubu-de-cabeça-vermelha	Pouco preocupante
<i>Cathartes burrovianus</i>	Urubu-de-cabeça-amarela	Pouco preocupante
<i>Coragyps atratus</i>	Urubu-de-cabeça-preta	Pouco preocupante
<i>Sarcoramphus papa</i>	Urubu-rei	Pouco preocupante

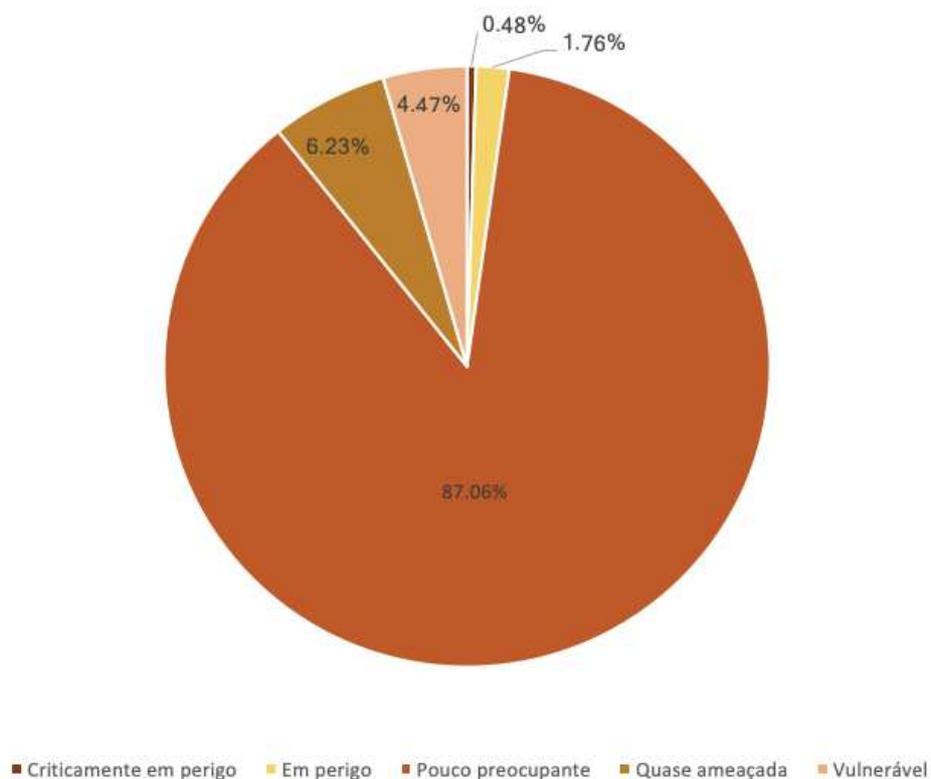
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Em relação ao *status* de conservação, a maioria das espécies relatadas classificou-se dentro da categoria “Pouco preocupante” e menos de 7% encontra-se em alguma categoria de ameaça de extinção (“vulnerável”, “em perigo” ou “criticamente em perigo”), conforme por ser visto na Figura 1.

Especificamente sobre as aves de rapina, três espécies que chegaram ao CETAS do Brasil foram relacionadas como ameaçadas, sendo: *Amadonastur lacernulatus*; *Leptodon forbesi* e *Urubitinga coronata*, todas da ordem Accipitriformes. Porém, outras cinco espécies de aves de rapina estão listadas como “Quase ameaçadas” (*Buteogallus aequinoctialis*; *Harpia harpyja*; *Pseudastur polionotus*; *Strix hylophila* e *Falco deiroleucus*).

Com exceção do gavião-caranguejeiro-negro (*Buteogallus anthracinus*), ave exótica que ocorre do sudeste dos Estados Unidos e América Central, até a Colômbia, Guianas e Venezuela, as outras espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS do Brasil são todas nativas do nosso país.

Figura 1 - Categorização quanto ao *status* de conservação das espécies aviárias que chegaram em Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil durante os anos de 2004 a 2019.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.4.2 REGISTROS DE INFECÇÃO E ESPECIFICIDADE PARASITÁRIA

Dos resultados obtidos verificou-se que 16 espécies de aves de rapina que chegaram aos CETAS do Brasil possuíam registro de infecção relatados no banco de dados genéticos MalAvi, sendo: Accipitriformes: *Buteo brachyurus*, *Buteo magnirostris* e *Buteogallus urubitinga*; Cathartiformes: *Cathartes aura* e *Sarcoramphus papa*; Falconiformes: *Caracara plancus*, *Falco peregrinus*, *Falco sparverius*, *Micrastur mintoni*, *Micrastur ruficollis* e *Micrastur semitorquatus*; Strigiformes: *Asio clamator*, *Bubo virginianus*, *Megascops choliba*, *Pulsatrix koeniswaldiana* e *Tyto alba*, representando 23,5% das aves de rapina que chegaram nos CETAS. Importante destacar que somente em 2014, o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO) considerou a separação entre duas espécies das sinónimias: *Tyto alba*, como as corujas do Velho Mundo e *Tyto furcata* como as corujas das Américas (CBRO, 2014). Diante disso, para fins das análises dos registros de infecção no MalAvi e da delimitação de espécies, *Tyto alba* e *Tyto furcata* foram consideradas a mesma espécie, uma vez que assim eram relatadas nos bancos de dados genéticos.

O capítulo 2 dessa tese irá anexar ainda mais cinco espécies de aves infectadas por hemossporídeos aos registros do MalAvi: *Strix virgata*, *Coragyps atratus*, *Rupornis magnirostris*, *Glaucidium brasilianum* e *Athene cunicularia*.

Para se avaliar a existência de especificidade dos hemossporídeos em aves de rapina, analisamos todo o banco de dados do MalAvi sendo encontradas 265 linhagens que infectam essas aves. Dessas, 218 (82,3%) foram registradas exclusivamente nas ordens de aves de rapina, não sendo encontradas em nenhuma outra ordem aviária, e 47 (17,7%) foram registradas em pelo menos uma das quatro ordens de aves de rapina e em outras ordens de aves. Importante destacar que das 218 linhagens registradas apenas em aves de rapina, 170 delas eram exclusivas de uma única ordem desse grupo, mostrando assim alta especificidade pela ordem parasitada. A Figura 2 ilustra a especificidade das linhagens encontradas em aves de rapina que chegaram nos CETAS do Brasil.

3.4.3 DELIMITAÇÃO COMPUTACIONAL DE HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA

As análises de delimitação de espécies com todas as linhagens disponíveis no MalAvi produziram estimativas que variaram de 105 a 484 ESU's (MPTP e PTP, respectivamente) para linhagens do gênero *Plasmodium*; 53 a 506 ESU's (MPTP e PTP, respectivamente) para linhagens do gênero *Haemoproteus*; e 87 a 315 ESU's (MPTP e PTP, respectivamente) para linhagens do gênero *Leucocytozoon*. Entre as linhagens de hemosporídeos que ocorreram nas aves de rapina que chegaram nos CETAS, o algoritmo PTP estimou nove ESU's do gênero *Plasmodium*, oito de *Haemoproteus* e seis de *Leucocytozoon*, ao passo que o algoritmo MPTP estimou seis ESU's do gênero *Plasmodium*, cinco de *Haemoproteus* e quatro de *Leucocytozoon* (Tabela 2).

Tabela 2 - Sumário quantitativo de unidades evolutivas significativas (ESU's) obtidas após a delimitação computacional das linhagens relatadas em aves de rapina que chegaram nos CETAS do Brasil.

	Gênero de hemosporídeo		
	<i>Plasmodium</i>	<i>Haemoproteus</i>	<i>Leucocytozoon</i>
<i>Linhagens de hemosporídeos em aves de rapina*</i>			
Espécies identificadas	11	19	10
Ordens aviárias afetadas	2	1	1
	13	4	6
<i>PTP</i>			
ESU's delimitadas	9	8	6
Ordens aviárias afetadas	17	10	13
<i>MPTP</i>			
ESU's delimitadas	6	5	4
Ordens aviárias afetadas	25	17	14

* Linhagens de hemosporídeos que parasitam as espécies de aves de rapina que chegaram nos CETAS. Dados obtidos no banco de dados MalAvi.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para os gêneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, tanto o algoritmo PTP quanto o MPTP apresentaram uma alta frequência de perfis *match* (quando as ESU's concordam com a classificação taxonômica atual), e um baixo número de perfis de *lumper* (quando em uma mesma ESU encontram-se mais de uma espécie previamente definida na

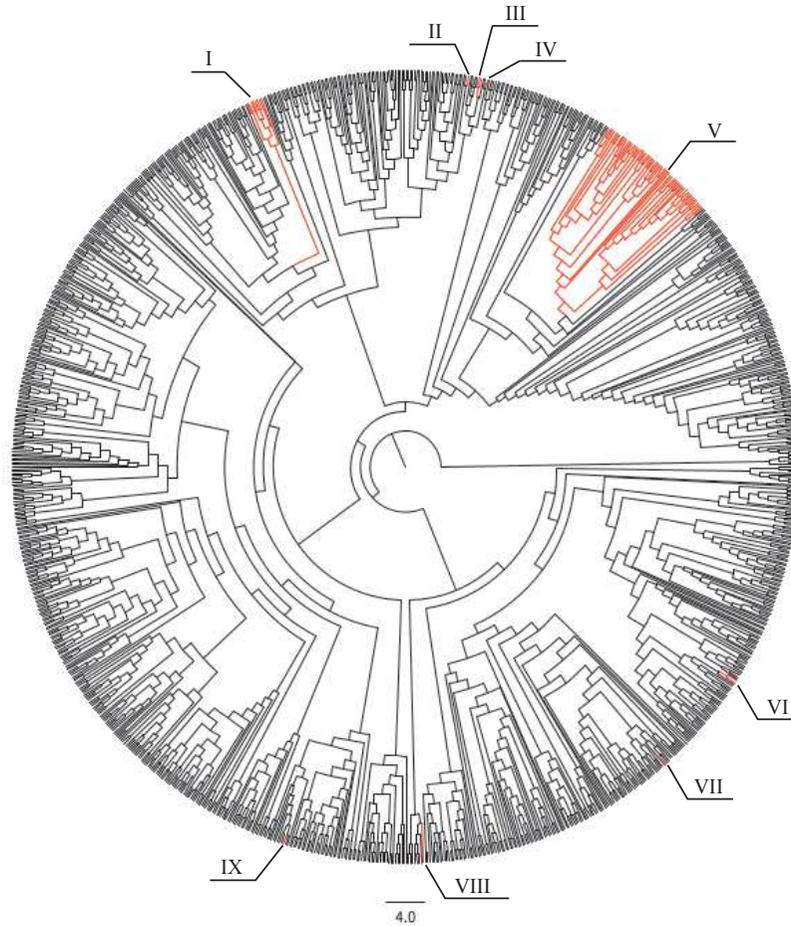
taxonomia). Já para o gênero *Haemoproteus* somente o PTP apresentou esse padrão de alta frequência de perfis *match* e baixo número de perfis de *lumper*, uma vez que o MPTP se apresentou altamente *lumper*, reunindo espécies taxonomicamente definidas de *Haemoproteus* em uma única ESU.

Apesar dos algoritmos PTP e MPTP apresentarem discordância entre o número de espécies estimadas, ambos alertaram para alta diversidade críptica de hemosporídeos que parasitam as aves de rapina. Além disso, ambos os métodos mostraram capacidade para identificar linhagens em nível de espécie em todos os gêneros.

Perante as duas espécies identificadas pela taxonomia vigente de *Plasmodium* que ocorreram nas aves de rapina que chegaram nos CETAS, foram identificadas nove e seis ESU's pelos algoritmos PTP e MPTP, respectivamente. De uma espécie identificada de *Haemoproteus* na taxonomia vigente, foram identificadas oito e cinco ESU's pelo PTP e MPTP, respectivamente. E de uma espécie identificada de *Leucocytozoon* na taxonomia vigente, foram identificadas seis e quatro ESU's pelo PTP e MPTP, respectivamente (Tabela 2). Foi verificado ainda um aumento no número de ordens aviárias infectadas pelos três gêneros de Haemosporida após a delimitação computacional, demonstrando o aumento do risco de transmissão de protozoários entre essas ordens (Tabela 2).

As figuras 3 a 8 trazem as árvores filogenéticas geradas pelos algoritmos PTP e MPTP para cada um dos gêneros de hemosporídeos, bem como as ESU's estimadas nas quais cada linhagem de hemosporídeo registrado em aves de rapina de CETAS se associou. As figuras trazem ainda os hospedeiros aviários para cada linhagem e as espécies morfolologicamente identificadas, quando existentes, para essas ESU's.

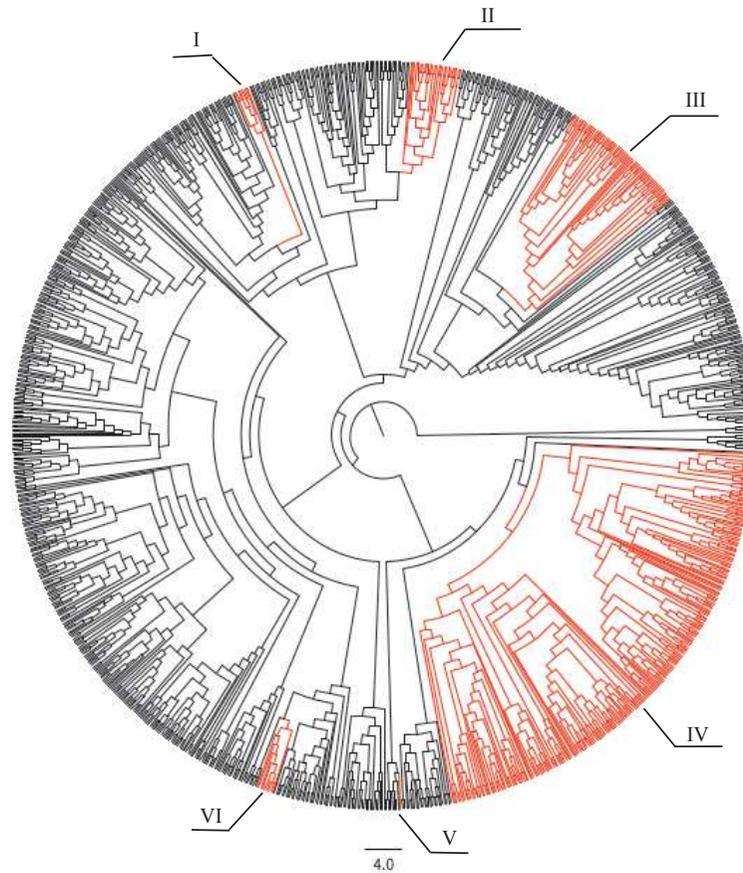
Figura 3 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Plasmodium* utilizando-se o algoritmo PTP. I a IX representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies de hemosporídeos morfologicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	MYCAME02	<i>Micrastur semitorquatus</i> <i>Asio clamator</i> <i>Pulsatrix koenigswaldiana</i> <i>Buteo brachyurus</i> <i>Buteo magnirostris</i> <i>Caracara plancus</i> <i>Falco peregrinus</i>	<i>P. paraneucleophilum</i>
	ARDALB01	<i>Megascops choliba</i>	
	+ 6 linhagens	Ordens aviárias diversas	
II	SISKIN3	<i>Falco peregrinus</i>	Sem morfoespécie associada
III	PESA01	<i>Buteogallus urubitinga</i>	Sem morfoespécie associada
	NYCNYC01	<i>Sarcoramphus papa</i>	
IV	ACCBAD01	<i>Accipiter badius</i> <i>Athene brama</i> <i>Bubo sumatranus</i> <i>Tyto alba</i>	Sem morfoespécie associada
V	SEIAUR01	<i>Tyto alba</i> <i>Strix varia</i> <i>Megascops kennicottii</i>	<i>P. cathemerium</i>
	+ 57 linhagens	Ordens aviárias diversas	
VI	PHPAT01	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
	+ uma linhagem	Ordem Passeriformes	
VII	MICMIN01	<i>Micrastur mintoni</i>	Sem morfoespécie associada
VIII	BUVIR07	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
IX	MICMIN02	<i>Micrastur mintoni</i>	Sem morfoespécie associada

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

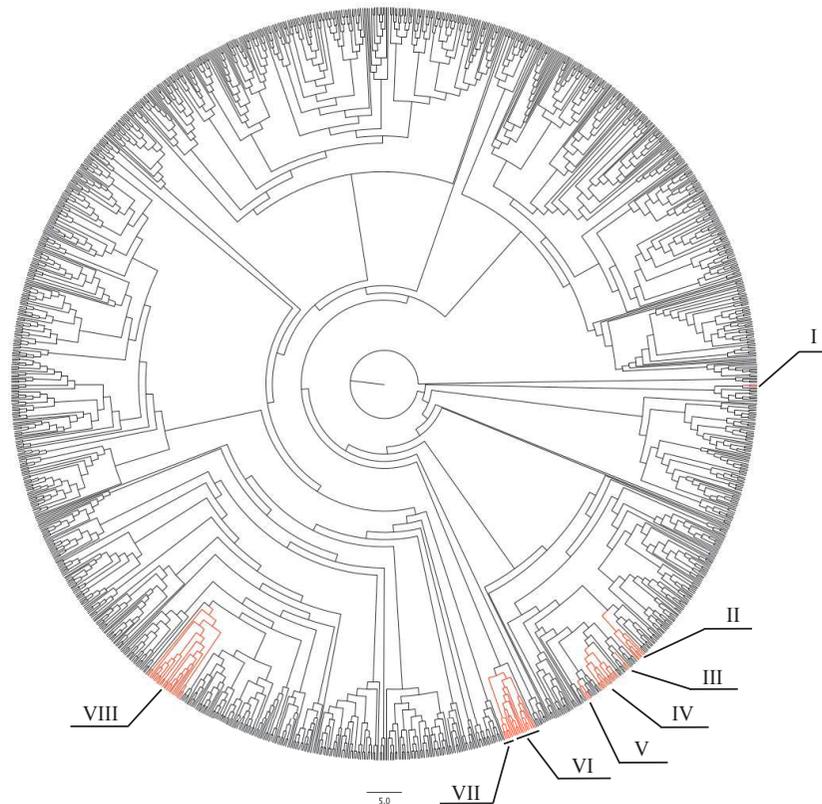
Figura 4 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Plasmodium* utilizando-se o algoritmo MPTP. I a VI representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies morfologicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	MYCAME02	<i>Micrastur semitorquatus</i> <i>Asio clamator</i> <i>Pulsatrix koeniswaldiana</i> <i>Buteo brachyurus</i> <i>Buteo magnirostris</i> <i>Caracara plancus</i> <i>Falco peregrinus</i>	<i>P. paraneucleophilum</i>
	ARDALB01	<i>Megascops choliba</i>	
	+ 6 linhagens	Ordens aviárias diversas	
II	PESA01	<i>Buteogallus urubitinga</i>	<i>P. gallinaceum</i>
	NYCNYC01	<i>Sarcorampus papa</i>	
	SISKIN3	<i>Falco peregrinus</i>	
	ACCBAD01	<i>Accipiter badius</i> <i>Athene brama</i> <i>Bubo sumatranus</i> <i>Tyto alba</i>	
	+ 22 linhagens	Ordens aviárias diversas	
III	SEIAUR01	<i>Tyto alba</i> <i>Strix varia</i> <i>Megascops kennicottii</i>	<i>P. cathemerium</i>
	+ 62 linhagens	Ordens aviárias diversas	
IV	MICMIN01	<i>Micrastur mintoni</i>	<i>P. tejerai</i> <i>P. matutinum</i> <i>P. lutzi</i> <i>P. elongatum</i>
	PHPAT01	<i>Bubo virginianus</i>	
	+ 242 linhagens	Ordens aviárias diversas	
V	BUVIR07	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
VI	MICMIN02	<i>Micrastur mintoni</i>	Sem morfoespécie associada
	+ 8 linhagens	Ordens aviárias diversas	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

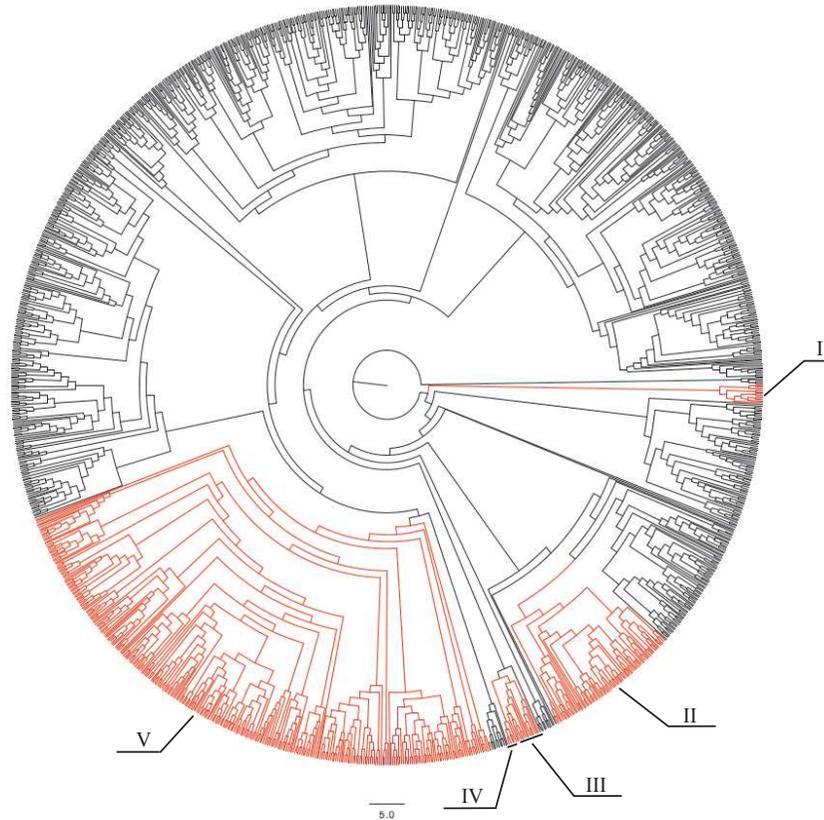
Figura 5 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Haemoproteus* utilizando-se o algoritmo PTP. I a VIII representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies morfologicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	CATAUR01	<i>Cathartes aura</i>	<i>H. catharti</i>
	CATAUR02		
II	TYTAL4	<i>Otus lettia / Tyto alba / Otus scops</i>	Sem morfoespécie associada
	+ 5 linhagens	Ordens aviárias diversas	
III	TYTAL5	<i>Tyto alba</i>	Sem morfoespécie associada
	+ uma linhagem	Ordem Strigiformes	
IV	STVAR01	<i>Strix varia / Bubo virginianus</i> <i>Strix woodfordii / Strix occidentalis</i>	<i>H. syrni</i>
	+ 12 linhagens	Ordens aviárias diversas	
V	TYTAL3	<i>Tyto alba</i>	Sem morfoespécie associada
	TYTAL6	<i>Otus lettia / Tyto alba</i>	
	TYTAL7	<i>Tyto alba</i>	
VI	POLPLA01	<i>Caracara plancus</i>	Sem morfoespécie associada
	BNOW03	<i>Tyto alba / Falco sparverius</i>	
	FASPA01	<i>Falco sparverius</i>	
	FASPA03		
	SALAU01		
	BNOW01	<i>Tyto alba</i>	
	BNOW02		
+ 7 linhagens	Ordens aviárias diversas		
VII	MICMIN03	<i>Micrastur mintoni</i>	Sem morfoespécie associada
	MICMIN04		
	MICMIN05		
	+ 2 linhagens		
VIII	BUVIR08	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
	+ 23 linhagens	Ordens aviárias diversas	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

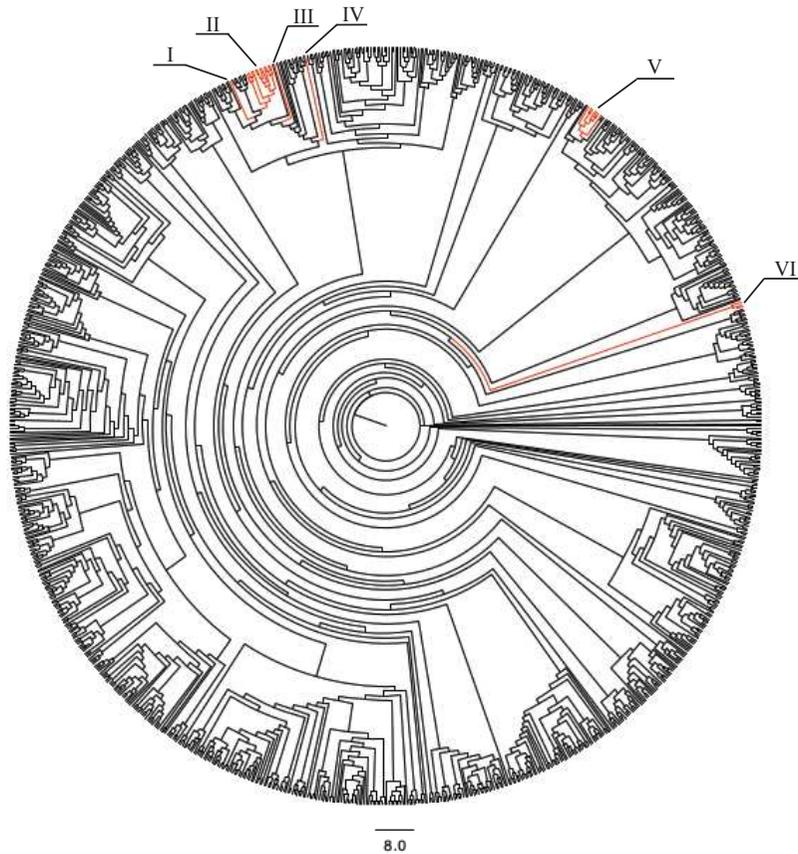
Figura 6 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Haemoproteus* utilizando-se o algoritmo MPTP. I a V representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies morfologicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	CATAUR01	<i>Cathartes aura</i>	<i>H. catharti</i>
	CATAUR02		
	+ 9 linhagens	Ordens aviárias diversas	
II	STVAR01	<i>Strix varia</i> / <i>Bubo virginianus</i> <i>Strix woodfordii</i> / <i>Strix occidentalis</i>	<i>H. surnii</i> / <i>H. macrovacuolatus</i> <i>H. noctuae</i> / <i>H. homovelans</i> <i>H. valkiunasi</i>
	TYTAL3	<i>Tyto alba</i>	
	TYTAL4	<i>Otus lettia</i> / <i>Tyto alba</i> / <i>Otus scops</i>	
	TYTAL5	<i>Tyto alba</i>	
	TYTAL6	<i>Otus lettia</i> / <i>Tyto alba</i>	
	TYTAL7	<i>Tyto alba</i>	
	+ 73 linhagens	Ordens aviárias diversas	
III	POLPLA01	<i>Caracara plancus</i>	Sem morfoespécie associada
	BNOW03	<i>Tyto alba</i> / <i>Falco sparverius</i>	
	FASPA01	<i>Falco sparverius</i>	
	FASPA03		
	SALAU01		
	BNOW01	<i>Tyto alba</i>	
	BNOW02		
+ 7 linhagens	Ordens aviárias diversas		
IV	MICMIN03	<i>Micrastur mintoni</i>	Sem morfoespécie associada
	MICMIN04		
	MICMIN05		
	+ 2 linhagens	Ordens aviárias diversas	
V	BUVIR08	<i>Bubo virginianus</i>	<i>H. micronuclearis</i> / <i>H. fringillae</i> <i>H. homobelopskyi</i> / <i>H. thraupi</i> <i>H. nucleofascialis</i> / <i>H. magnus</i> <i>H. tartakovskyi</i> / <i>H. cyanomitrae</i> <i>H. motacillae</i> / <i>H. leiothrichus</i> <i>H. coatneyi</i> / <i>H. erythrogravidus</i> <i>H. passeris</i>
	+ 321 linhagens	Ordens aviárias diversas	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

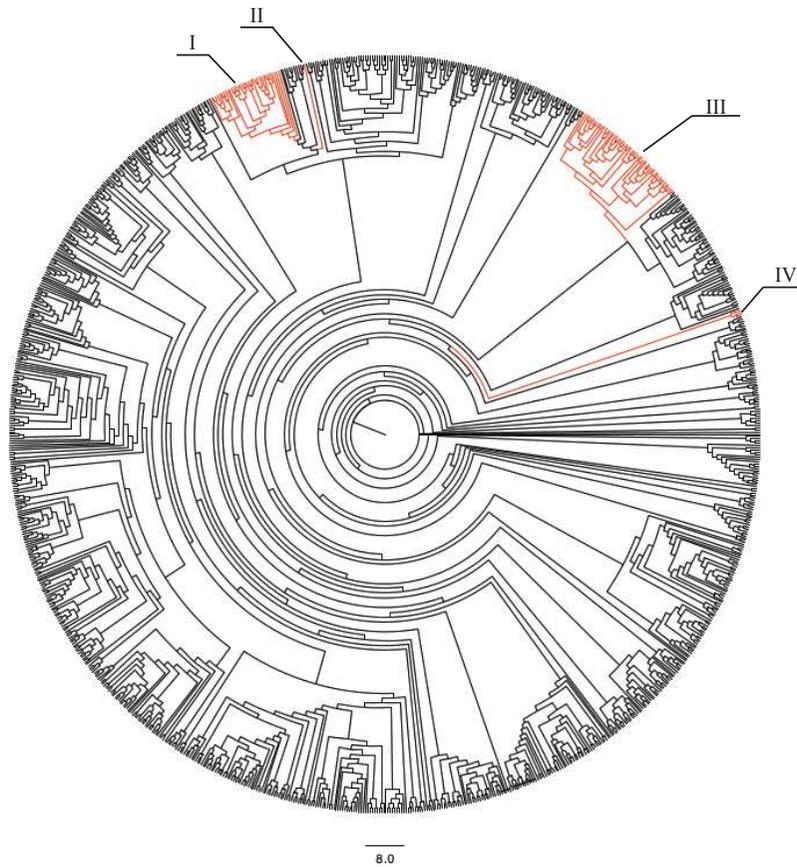
Figura 7 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Leucocytozoon* utilizando-se o algoritmo PTP. I a VI representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies morfológicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	BUVIR04	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
II	BUVIR05	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
	BUVIR06	<i>Bubo virginianus</i> <i>Asio otus</i>	
	BUVIR03	<i>Strix occidentalis</i>	
	+ 9 linhagens	Diversas ordens aviárias	
III	STOCC16	<i>Strix occidentalis</i> <i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
		IV	BUVIR02
V	FASPA02	<i>Falco sparverius</i> <i>Falco columbarius</i>	<i>L. californicus</i>
	BNOW04	<i>Tyto alba</i> <i>Bubo virginianus</i> <i>Megascops kennicottii</i>	
		+ 5 linhagens	
VI	BUVIR01	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
	STOCC03	<i>Strix occidentalis</i> <i>Tyto alba</i> <i>Strix varia</i>	
		+ uma linhagem	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 8 - Delimitação computacional de espécies do gênero *Leucocytozoon* utilizando-se o algoritmo MPTP. I a IV representam ESU's delimitadas com linhagens encontradas em espécies de aves de rapina que chegaram em CETAS. O quadro mostra os hospedeiros relacionados as ESU's delimitadas e as espécies morfologicamente identificadas, quando existentes.



ESU delimitada	Linhagens	Hospedeiros	Espécie de hemosporídeo associada
I	STOCC16	<i>Strix occidentalis</i> <i>Bubo virginianus</i>	<i>L. danilewskyi</i>
	BUVIR05	<i>Bubo virginianus</i>	
	BUVIR06	<i>Bubo virginianus</i> <i>Asio otus</i> <i>Strix occidentalis</i>	
	BUVIR03	<i>Bubo virginianus</i> <i>Asio otus</i> <i>Strix occidentalis</i>	
	BUVIR04	<i>Bubo virginianus</i>	
	+ 28 linhagens	Diversas ordens aviárias	
II	BUVIR02	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
III	FASPA02	<i>Falco sparverius</i> <i>Falco columbarius</i>	<i>L. californicus</i>
	BNOW04	<i>Tyto alba</i> <i>Bubo virginianus</i> <i>Megascops kennicottii</i>	
	+ 51 linhagens	Diversas ordens aviárias	
IV	BUVIR01	<i>Bubo virginianus</i>	Sem morfoespécie associada
	STOCC03	<i>Strix occidentalis</i> <i>Tyto alba</i> <i>Strix varia</i>	
	+ uma linhagem	Ordem Strigiformes	

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

3.4.4 CONTROLE E TRATAMENTO DA INFECÇÃO POR HEMOSPORÍDEOS

A infecção haemosporidiana está diretamente relacionada com a presença do vetor competente no ambiente do hospedeiro (VALKIŪNAS, 2005). Nesse sentido, o controle da propagação do vetor tem sido discorrido como uma das formas de se evitar a transmissão dos hemosporídeos. Para isso, o uso de larvicidas podem auxiliar na diminuição dos focos de reprodução dos vetores que utilizam recursos hídricos como fonte de proliferação (RAJAKUMAR; RAHUMAN, 2011; RODRIGUES et al., 2013). O uso de telas do tipo mosquiteiro nos recintos também pode impedir a entrada dos insetos e conseqüentemente o contato com as aves cativas.

O tratamento contra as hemosporidioses aviárias tem sido realizado principalmente com duas drogas: a cloroquina e a primaquina. Essas drogas podem ser utilizadas isoladamente ou concomitantemente, dependendo do tratamento estabelecido pelo médico veterinário, contudo devem ser observados e avaliados os possíveis efeitos colaterais nas aves tratadas, como distúrbios gastrointestinais e desenvolvimento de metahemoglobinemia e anemia hemolítica (MAYORGA et al., 1997; VANSTREELS et al., 2014; VANSTREELS et al., 2015).

3.5 DISCUSSÃO

A fauna silvestre recebida nos CETAS do Brasil é um bom indicativo de quais espécies estão mais ameaçadas devido ao risco do tráfico de animais silvestres e também de encontros ocasionais com o homem, como atropelamentos, eletrocussões, envenenamentos e colisões com estruturas antrópicas. Essas instituições contam com profissionais especializados, principalmente médicos veterinários e biólogos, que realizam o atendimento dos animais, reabilitação e soltura, quando possível.

Segundo VILELA (2012), as aves correspondem ao maior grupo dos animais recebidos nos CETAS, representando 86% do total de animais. Conhecer essas espécies é importante para traçar estratégias de proteção da fauna aviária e monitorar quais destinos essa avifauna está recebendo ao passar pelos CETAS. Nosso estudo verificou que os CETAS do país já receberam mais de 32% das espécies de aves registradas para o Brasil e 69,1% das aves de rapina que ocorrem em nosso país. Esses dados são importantes na medida em que mostram que grande parte da diversidade de espécies aviárias passa por algum momento pelos CETAS e são destinadas conforme rotina

dessas instituições.

Em relação às aves de rapina, esses números ainda merecem maior destaque, pois a porcentagem de aves que já foi relatada nos CETAS é elevada. Nosso estudo é o maior levantamento já realizado sobre as aves que chegaram nessas instituições e os dados aqui levantados poderão auxiliar na tomada de decisões sobre o manejo e destinação das aves silvestres, além de servir de subsídio para o cumprimento das metas dos Planos de Ação de Fauna Silvestre que são desenvolvidos no país, como o Plano de Ação Nacional para a Conservação de Aves de Rapina.

Quando analisamos o *status* de conservação das aves que chegaram ao CETAS, a maioria delas não está em categorias de ameaça de extinção (ver Anexo A). Geralmente as aves mais frequentes em CETAS são de espécies traficadas que ainda possuem populações estabelecidas em várias regiões do país, o que não impede de se considerar que elas podem estar sofrendo com extinções locais devido ao tráfico ilegal ou destruição do *habitat*. Um percentual de 6,8% das aves encontrou-se nas categorias de ameaça de extinção, sendo ela “vulnerável”, “criticamente em perigo” ou “em perigo”. Segundo VILELA (2012), a lista de espécies ameaçadas constitui importante instrumento para direcionar tomada de decisões, pois as espécies ameaçadas são alvos de mais financiamentos para pesquisas e participação nos planos de manejo. Essas ações acabam por auxiliar na proteção de outras espécies avárias que acabam sendo abrangidas pelas ações de conservação das espécies ameaçadas.

Dentre as aves de rapina ameaçadas que chegaram nos CETAS, o gavião-pombo-pequeno (*Amadonastur lacernulatus*) e o gavião-de-pescoço-branco (*Leptodon forbesi*) são endêmicas do Brasil e sofrem com a diminuição de suas populações devido à fragmentação da Mata Atlântica, *habitat* onde residem. Já a águia-cinzenta (*Urubitinga coronata*) ocorre no Brasil, Paraguai, Bolívia e Argentina, estando ameaçada principalmente pela destruição de seu *habitat* (MIKICH; BERNILS, 2004).

Os projetos de manejo e reintrodução que muitas vezes são desenvolvidos pelos CETAS são de fundamental importância para salvar populações ameaçadas ou que estão à beira da ameaça de extinção, como é o caso da harpia (*Harpia harpyja*) na Mata Atlântica (MENQ, 2020). Além disso, atualmente existem 38 espécies de animais listadas como extintas na natureza, mas que sobrevivem apenas por causa da intervenção humana através da manutenção ou reprodução em cativeiro (IUCN, 2020) e os CETAS têm importância significativa nesse processo, pois encaminha animais que não podem ser soltos na natureza para esses programas de reprodução ligados a

conservação.

A análise do banco de dados genéticos MalAvi e a elaboração da rede de interação evidenciaram que algumas linhagens de hemosporídeos podem apresentar uma relação de especificidade com as ordens de aves de rapina. Cento e setenta linhagens depositadas eram exclusivas de alguma dessas ordens, não sendo registradas em nenhuma outra ordem aviária. Sabe-se que em Haemosporida alguns parasitos são mais específicos, ao passo que outros são mais generalistas, podendo acometer diferentes espécies nativas durante o processo de mudança de hospedeiros (VALKIŪNAS, 2005).

De modo geral, os parasitos dos gêneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* são mais específicos em relação aos seus hospedeiros ao nível de ordem, família e em alguns casos até espécie, ao passo que os do gênero *Plasmodium* são na sua maioria generalistas, podendo se desenvolver em aves pertencentes a famílias e ordens distintas (ATKINSON et al., 1991; WALDENSTRÖM et al., 2002; FORRESTER et al., 2008). Conforme demonstrado na rede de interação, as linhagens como p_NYCN01 e p_MYCAME02, ambas de *Plasmodium* spp., se apresentaram bastante generalistas, parasitando diversas ordens aviárias, ao passo que outras linhagens como h_CATAUR01 e h_TYTAL3, ambas de *Haemoproteus* spp., foram específicas de uma única ordem cada, sendo Cathartiformes e Strigiformes, respectivamente. Destacamos ainda as linhagens p_GRW06 e p_SGS1, pertencentes à *Plasmodium elongatum* e *Plasmodium relictum*, respectivamente, que se mostraram altamente generalistas ocorrendo em mais de 10 ordens aviárias, incluindo as aves de rapina. Esse último parasito é relatado como responsável pela morte de pinguins-de-Magalhães (*Spheniscus magellanicus*) (BUENO et al., 2010) e a presença dele em aves de rapina pode representar um risco para a conservação de espécies nativas, pois, mesmo que não provoque efeitos deletérios no hospedeiro rapinante, este pode servir de reservatório e carrear esse parasito para outros hospedeiros durante o processo de reintrodução ou translocação.

A análise da rede de interação mostrou ainda que algumas linhagens registradas nas aves de rapina ocorreram também em outras aves nativas do Brasil, e em aves exóticas ao nosso país, sendo que algumas delas inclusive foram recebidas nos CETAS, como é o caso do ganso-do-Egito (*Alopochen aegyptiacus*), cuja linhagem p_NYCN01 (*Plasmodium* sp.) também foi encontrada no urubu-rei (*Sarcoramphus papa*) (ver Figura 2). Essa linhagem só havia sido registrada em hospedeiros nativos das

Américas, o que pode levar a uma infecção patológica em aves exóticas devido à ausência de imunidade natural para esses parasitos. A linhagem p_NYCNYC01 ocorre com bastante frequência em estudos de hemosporídeos aviários. Em seu trabalho com aves do Equador, MOENS et al. (2016) encontraram essa linhagem em 40% dos animais positivos em mais de 16 espécies de aves, sendo a linhagem mais prevalente em seu estudo. Assim, importante ressaltar que os parasitos generalistas podem alternar seus hospedeiros durante a evolução, podendo a mesma linhagem infectar múltiplas espécies de hospedeiros, ou ainda infectar hospedeiros acidentais, ocorrendo o desenvolvimento abortivo.

O conhecimento das espécies de hemosporídeos que infectam as aves de rapina nos CETAS é de extrema importância para o manejo dos animais infectados dentro das instituições de modo a se evitar a infecção de animais sem capacidade imunológica para combatê-los, bem como para garantir a conservação da fauna aviária que interagirá com essas espécies aviárias parasitadas. Porém, atualmente existe um grande número de linhagens depositadas nos bancos de dados sem uma espécie associada, podendo haver uma diversidade críptica de espécies de hemosporídeos. A delimitação computacional de espécies vem auxiliar essa lacuna de conhecimento ao estimar quais linhagens podem ser possíveis espécies ou ESU's ocorrendo em aves de rapina.

No nosso estudo nós utilizamos dois delimitadores baseados em um único locus (PTP e MPTP). Em relação aos gêneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, tanto o algoritmo PTP quanto o MPTP apresentaram uma alta frequência de perfis *match*, ou seja, as ESU's concordaram com a classificação taxonômica atual, e um baixo número de perfis de *lumper*, quando em uma mesma ESU encontram-se mais de uma espécie definida taxonomicamente. Em relação ao gênero *Haemoproteus*, somente o PTP apresentou esse padrão de alta frequência de perfis *match* e baixo número de perfis *lumpers*, sendo que o MPTP se apresentou altamente *lumper*, ao reunir diversas espécies taxonomicamente definidas em uma única ESU.

Diante do exposto, o algoritmo MPTP deve ser utilizado com precaução para o gênero *Haemoproteus*, pois pode considerar várias espécies como uma só, subestimando a diversidade. Vale ressaltar que a delimitação deve ser uma metodologia complementar e não a única, uma vez que ao detectar possíveis espécies crípticas, outras características podem ser melhor exploradas e investigadas na separação das linhagens. Além disso, ela pode indicar pontos obscuros da taxonomia vigente que merecem mais atenção para uma revisão taxonômica.

Várias linhagens sem identificação em nível específico se associaram a espécies identificadas após a delimitação computacional. Para os gêneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon* o algoritmo MPTP foi o que apresentou resultados mais próximos da taxonomia atual, representando assim resultados mais realísticos, como também encontrado por OLIVEIRA et al. (2020) em seu trabalho com *Plasmodium* spp. Em relação ao gênero *Haemoproteus*, o algoritmo PTP superestimou a diversidade e em sentido contrário o MPTP juntou diversas espécies na mesma ESU, subestimando a diversidade de espécies que conta atualmente com 68 espécies registradas no Malawi. *Haemoproteus* parece ser o gênero mais difícil de delimitar por meio de algoritmos que utilizam *locus* único, onde a divergência genética entre as espécies é mínima. Nesses casos os métodos computacionais de delimitação de espécies podem ser insuficientes, exigindo uma maior amostragem genética e o uso de análise *multi-locus*, como bem relatado por OLIVEIRA et al. (2020).

O algoritmo PTP exibiu um perfil mais *splitter* para todos os gêneros quando comparado ao MPTP, ou seja, algumas espécies taxonomicamente definidas foram recuperadas em diferentes ESU's. Isso foi esperado uma vez que ele superestimou a quantidade de espécies delimitadas. Dessa forma, para as linhagens dos gêneros *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, o método MPTP demonstrou ter resultados mais confiáveis, com o número de espécies delimitadas próximo ao número total de espécies taxonômicas reconhecidas em estudos de diversidade e conservação (BLAIR; BRYSON-JR, 2017; CORREA et al., 2017; KAPLI et al., 2017).

Por meio das análises de delimitação computacional, com a consequente descoberta de novas ESU's, foi verificado que para os três gêneros de Haemosporida houve um aumento no número de ordens aviárias afetadas pelos parasitos (ver Tabela 2), demonstrando que mais espécies aviárias podem ser afetadas pelas linhagens encontradas em aves de rapina, devendo-se ter maior atenção a transmissibilidade desses parasitos no cativeiro. Vale ressaltar que muitas ESU's delimitadas foram associadas a espécies já reconhecidas (morfoespécies) e podem auxiliar na identificação das linhagens de hemospórideos antes desconhecidas no banco de dados genéticos.

A amplitude no número de ESU's encontrada entre os diferentes algoritmos não permite encerrar a discussão sobre qual o melhor algoritmo para delimitar as espécies em Haemosporida, uma vez que há necessidade de se sequenciar mais marcadores para o grande número de linhagens existentes dessa ordem, sendo os métodos de *locus* único utilizados como métodos primários para delimitar espécies, sendo refinados por

métodos *multi-locus*. Porém, os algoritmos aqui utilizados têm sido considerados uma ferramenta promissora na busca de diversidade e evolução parasitária (GALEN et al., 2018; LERIA et al., 2020). Nosso estudo almejou, sobretudo, demonstrar que pode existir uma diversidade de hemosporídeos desconhecida em aves de rapina, com possíveis novas espécies ocorrendo dentro dos CETAS. Vale ressaltar ainda que diferentes espécies de hemosporídeos podem afetar diretamente o tratamento a que as aves devem estar sujeitas, tanto pela capacidade de transmissibilidade entre os diferentes hospedeiros, quanto pela patogenicidade da espécie em questão, afetando assim todo o manejo em cativeiro.

Atualmente, na maioria dos CETAS, o processo de reabilitação e soltura de animais silvestres se limita a realização de exames básicos de rotina, como parasitológico de fezes e hematológicos. Assim, exames sanguíneos para verificação de hemosporídeos frequentemente não estão inseridos na rotina das instituições. A inserção desses exames para detecção de hemosporídeos na quarentena e triagem, para inclusão de aves em plantéis e nos programas de reintrodução na natureza deveria ser considerada, visto que animais infectados antes de serem incorporados aos grupos podem atuar como fonte de infecção para outras aves (RAMOS, 2012).

Segundo WOODFORD (2001), uma ave silvestre sujeita a translocação ou soltura em ambiente natural não deve ser vista apenas como um único ser, mas sim como um “pacote” que pode conter uma série de patógenos em potencial, incluindo bactérias, vírus e outros parasitos e, em animais estressados em um ambiente novo, podem acabar por manifestar sua patogenicidade. Assim, esse mesmo autor aconselha que sejam realizados protocolos de quarentena e investigação sanitária para animais silvestres incluídos em projetos de soltura.

Considerando a ocorrência das diversas espécies de hemosporídeos nos cativeiros, o controle da transmissão dos hemosporídeos passa pelo estabelecimento de metodologias que diminuam a ocorrência dos vetores e do tratamento das aves parasitadas. No caso do controle dos dípteros, que utilizam os recursos hídricos como recurso para reprodução, o uso de larvicidas bacterianos ou aqueles formulados à base de extratos vegetais tem sido utilizado para auxiliar na diminuição dos focos de reprodução (RAJAKUMAR; RAHUMAN, 2011; RODRIGUES et al., 2013). O uso de telas do tipo mosquiteiro nos recintos também pode auxiliar, pois impede a entrada dos insetos e o contato com as aves cativas, impedindo a transmissão não somente entre as aves do plantel, mas também entre as aves de vida livre ao redor que entram em contato

com as aves de cativeiro. Esse recurso também é utilizado para o controle de outras doenças transmitidas por vetores, como a febre amarela.

Quando a prevenção da infecção em cativeiro não se fizer possível, a forma mais utilizada para controle direto dos parasitos é o uso de drogas antiparasitárias, de forma a eliminar infecções e melhorar a saúde do hospedeiro (STRINGER; LINKLATER, 2014). O tratamento das aves infectadas por parasitos hemosporídeos tem sido realizado essencialmente com dois grupos de agentes antimaláricos experimentados e testados na medicina humana: a cloroquina, composta de 4-amino-quinolina, sendo utilizada para a cura clínica e tem atividade tanto contra os esquizontes eritrocíticos e gametócitos; quanto a primaquina, composta de 8-aminoquinolina, que é letal contra os esquizontes teciduais e os gametócitos eritrocíticos (REMPLE, 2004).

Testes iniciais realizados por REMPLE (1981) em falcões mostraram que uma única dose de cloroquina promovia cura completa da doença e os parasitos da malária (*Plasmodium* spp.) não podiam mais ser encontrados nos esfregaços sanguíneos realizados semanalmente durante um mês de acompanhamento. Ao longo dos anos o tratamento foi sendo aperfeiçoado e a primaquina foi acrescentada ao protocolo de tratamento para sua atividade contra as formas exoeritrocíticas dos parasitos haemosporidianos, com conseqüente modificação da dosagem da cloroquina. Atualmente a cloroquina é administrada na dose de 15 mg base/kg PO, e a primaquina na dose de 0,75 mg base/kg PO (REDIG et al., 1993; REMPLE, 2004).

Os testes com primaquina foram realizados com os três principais gêneros de hemosporídeos aviários, *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* (REMPLE, 2004; MERINO et al., 2000). No estudo de MERINO et al. (2000) tal medicação reduziu a intensidade da infecção parasitária na espécie aviária *Parus caeruleus*, melhorando o sucesso reprodutivo da espécie devido a maior capacidade de cuidado com a prole dos indivíduos tratados. Assim, essa droga tem se apresentando como um bom tratamento medicamentoso para os casos de infecções haemosporidianas.

Novas drogas antimalárias também têm sido testadas com bastante eficácia, como é o caso da combinação de lumefantrina e artemeter, essa última um derivado sintético da artemisinina, o ingrediente ativo da planta chinesa *Artemisia annua*. Em falcões naturalmente infectados com *Haemoproteus tinnunculi* tratados com 4 mg de artemeter e 20 mg de lumefantrina administrados a cada oito a 12 horas, de acordo com o protocolo de terapia para a malária humana, em seis administrações orais por três dias consecutivos, houve melhora significativa dos sinais clínicos, diminuição da intensidade

da parasitemia e alguns casos recuperação clínica e hematológica completa, parecendo funcionar melhor que a primaquina para eliminar a parasitemia por *H. tinnunculi* (SHAW; TARELLO, 2007). Porém, são ensaios preliminares que demandam mais estudos clínicos para se comprovar a eficácia dessas drogas em outras espécies aviárias e contra outros parasitos haemosporidianos.

Tratamentos profiláticos com essas mesmas drogas também foram realizados em países europeus consistindo em uma combinação de dose única semanal de 26,3 mg/kg cloroquina-primaquina a partir de um mês antes e continuando um mês após a época dos mosquitos (REDIG et al., 1993). Porém, vale ressaltar que para países neotropicais como o Brasil, em que a presença dos dípteros ocorre ao longo de todo ano, corroborada pela falta de sazonalidade da infecção como demonstrado no Capítulo 2 dessa tese, tal tratamento teria que ser feito ao longo de todo ano, o que se tornaria extremamente dispendioso e não aconselhável, devido aos efeitos colaterais das drogas citadas, como distúrbios gastrointestinais e desenvolvimento de metahemoglobinemia e anemia hemolítica (MAYORGA et al., 1997).

A translocação ou reintrodução de aves tem o potencial de afetar negativamente os programas de conservação uma vez que podem introduzir novos patógenos impactando a vida selvagem existente no local de liberação ou ameaçando os animais imunologicamente não preparados para combater os parasitos inseridos nesse ecossistema (WOODFORD; ROSSITER, 1994; CUNNINGHAM, 1996). Contudo, isto não quer dizer que a reintrodução dos animais deva ser feita totalmente livre de parasitos, pois a manutenção de uma carga de parasitos pode inclusive aumentar a sobrevivência de animais translocados e conservar a biodiversidade parasitária muitas vezes negligenciada (WINDSOR, 1995; CUNNINGHAM, 1996).

As aves totalmente livres de parasitos podem tornar-se ainda mais suscetíveis à infecção ao serem reintroduzidas na natureza, enquanto os hospedeiros que retêm seus parasitos podem realmente ter mais sucesso a longo prazo devido ao fortalecimento do sistema imunológico e também porque a eliminação de alguns parasitos poderia levar a um aumento da prevalência de outros mais nocivos (VAN OOSTERHOUT et al., 2007; ALMBERG et al., 2012; NORTHOVER et al., 2018). Como os parasitos co-evoluem com seus hospedeiros, a extinção do hospedeiro pode levar à perda de diversidade biológica de parasitos (KOH et al., 2004), que pode ser acelerada também pelo combate indiscriminado de todos os parasitos nesse hospedeiro.

Entretanto, temos que considerar que a conservação dos parasitos em aves

cativas é arriscada, uma vez que o estresse associado ao cativeiro pode tornar os animais mais suscetíveis à infecção. Além disso, a transmissão das parasitoses está diretamente relacionada à densidade populacional dos recintos e nos cativeiros do Brasil geralmente a densidade é alta, aumentando-se a chance de transmissão de novos parasitos para hospedeiros sem capacidade de combatê-los (LYLES; DOBSON, 1993; MASON, 2010).

3.6 CONCLUSÃO

Este estudo buscou fornecer dados acerca da fauna aviária que foi recebida nos CETAS do Brasil ao longo de 15 anos, mostrando uma grande diversidade de espécies que, em sua maioria, são reabilitadas e destinadas ao ambiente natural. A maioria das espécies avaliadas está enquadrada na categoria “pouco preocupante” quanto ao *status* de conservação, porém, um número expressivo de espécies se classificaram dentro das categorias de ameaça de extinção. A fauna de rapinantes é extremamente importante para um ecossistema equilibrado, pois como predadores de topo de cadeia alimentar são bons indicadores de qualidade ambiental e podem servir de espécies guarda-chuva em programas de conservação para outras espécies existentes na região.

A análise realizada nos bancos de dados genéticos demonstrou que as aves de rapina são frequentemente infectadas por hemosporídeos dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, sendo que para esse último parasito não há registro nesse grupo no Brasil. Além disso, os dados obtidos mostraram que a maior parte das linhagens de hemosporídeos ocorrem em única ordem, podendo ser bastante especialistas quanto ao hospedeiro.

A delimitação de espécies utilizando algoritmos computacionais pode ser uma ferramenta valiosa para auxiliar na taxonomia integrativa, pois permitiu demonstrar que existe uma diversidade críptica de espécies da ordem Haemosporida que pode ocorrer dentro do cativeiro e que pode gerar implicações deletérias na população de espécies silvestres e na conservação da avifauna nativa. Porém, novos estudos com a utilização de outros genes e métodos *multi-locus* podem aprimorar as análises de delimitação dentro dessa ordem.

O desenvolvimento de protocolos de quarentena, com identificação das espécies de hemosporídeos nas aves cativas, pode auxiliar na tomada de decisões sobre o custo-benefício de medidas de controle de vetores e do tratamento das aves infectadas.

Deve-se buscar o equilíbrio entre quais parasitos conservar e quais combater, não buscando o tratamento de forma indiscriminada independentemente da espécie parasitária. É fato que os parasitos mais patogênicos podem ameaçar a conservação da fauna aviária, mas por outro lado outros parasitos menos deletérios são fundamentais na restauração do ecossistema em que se inserem.

4 CAPÍTULO 2: MÚLTIPLAS LINHAGENS DE *HAEMOPROTEUS* E *PLASMODIUM* REVELAM ALTA DIVERSIDADE DE HEMOSPORÍDEOS EM AVES DE RAPINA DO BRASIL

4.1 RESUMO

O Brasil detém uma das maiores diversidades de aves de rapina do mundo e grande parte desses animais é destinada aos CETAS do país. As aves de rapina são hospedeiras potenciais de hemosporídeos (gêneros *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon*), entretanto, esse conhecimento se restringe principalmente às regiões temperadas do globo. Neste estudo foi investigada a diversidade de espécies de hemosporídeos que infectam as aves de rapina neotropicais utilizando uma abordagem integrativa por meio de análises morfológicas, moleculares, ecológicas, filogenéticas e de delimitação computacional de espécies, com o uso de três algoritmos baseados em filogenia (PTP, MPTP e GMYC single) e um algoritmo baseado em distância genética (ABGD). Das 155 aves de rapina analisadas, 91 estavam parasitadas com hemosporídeos, sendo a prevalência média da infecção de 58.7% (Strigiformes - 63.75%, 51/80; Falconiformes - 60.61%, 20/33; Cathartiformes - 50%, 8/16; Accipitriformes - 46.15%, 12/26). As análises moleculares desse estudo registraram pela primeira vez a infecção das corujas *Strix virgata* e *Bubo virginianus* por *Plasmodium nucleophilum* e de *Pulsatrix koenigswaldiana*, *Asio clamator* e *Megascops choliba* por *Haemoproteus macrovacuolatus*, ampliando a área de distribuição dessas espécies de hemosporídeos. Além disso, houve parasitismo de *A. clamator*, *M. choliba*, *Rupornis magnirostris*, *Coragyps atratus*, *Athene cunicularia*, *Glaucidium brasilianum* e *P. koenigswaldiana* por *Haemoproteus syrnii*, sendo essas três últimas espécies aviárias registradas pela primeira vez como hospedeiro desse parasito. Vinte sequências do gene *cyt b*, sendo oito novas, foram obtidas após a realização da análise molecular, demonstrando uma alta diversidade genética de linhagens de hemosporídeos ocorrendo nas aves de rapina neotropicais. Os quatro métodos de delimitação de espécies utilizados mostraram que pode existir uma diversidade críptica de hemosporídeos ocorrendo nas aves de rapina, sendo que o algoritmo PTP foi o que apresentou maior frequência de perfis *match*, com ESU's delimitadas concordando com a classificação taxonômica vigente. Os algoritmos MPTP e o GMYC *single* se apresentaram *lumpers*,

ao reunir diversas espécies taxonomicamente definidas em uma única ESU. Já o método ABGD foi o que mais superestimou a diversidade de espécies, não apresentando resultados comparáveis com a taxonomia atual. As informações obtidas podem ser utilizadas para o diagnóstico das infecções haemosporidianas nas aves de rapina e servir de referência para o manejo e planejamento das ações de reabilitação da fauna silvestre.

4.2 INTRODUÇÃO

As aves de rapina ou rapinantes são animais predadores de topo de cadeia e se caracterizam por apresentar poderosos pés com garras curvas e afiadas, apropriados para a captura de suas presas, e fortes bicos em forma de gancho. Essas características anatômicas, somadas a uma visão bem desenvolvida adaptada para a procura e visualização das presas conferem a este grupo de aves grande capacidade de caça (BROWN, 1997). Apesar de não formarem um grupo monofilético (HACKETT et al., 2008; PRUM et al., 2015), as características morfológicas e ecológicas citadas acima fez com que o termo aves de rapina fosse utilizado por ornitólogos para distinguir falcões, gaviões, abutres e corujas, dos demais grupos de aves predatórias, agrupando assim quatro ordens aviárias: Falconiformes, Accipitriformes, Strigiformes e Cathartiformes (FERGUNSON-LEES; CHRISTIE, 2001; MENQ, 2016).

Os rapinantes são hospedeiros potenciais de diversos parasitos haemosporidianos (Apicomplexa: Haemosporida) (VALKIŪNAS, 2005) e frequentemente são recebidos em Centros de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres, sendo vítimas de atropelamentos, eletrocussões e injúrias devido a encontros ocasionais com o ser humano. Os parasitos hemosporídeos aviários estão englobados em quatro gêneros: *Plasmodium*, *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Fallisia*, transmitidos pelos dípteros das famílias Culicidae, Ceratopogonidae, Hippoboscidae e Simuliidae, podendo infectar tanto aves silvestres quanto domésticas (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005).

Na América do Sul, os gêneros *Haemoproteus* e *Plasmodium* são os mais comuns, sendo que a maioria das espécies desses gêneros apresenta baixa patogenicidade, com infecções subclínicas ou com sinais clínicos leves, não levando a patologias severas (REMPLE, 2004; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017; BAKER et al., 2018). A evolução da doença parece estar relacionada com a espécie parasitária e a habilidade de adaptação da ave hospedeira (resposta imunológica), podendo ser uma doença letal para algumas espécies aviárias não adaptadas (ATKINSON; VAN RIPPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005). Porém, diversos estudos têm demonstrado que algumas espécies de hemosporídeos podem ser mais letais para as aves do que se tenha relatado anteriormente (FERREL et al., 2007; DONOVAN et al., 2008; OLIAS et al., 2011; VANSTREELS et al., 2015), o que inclui casos em aves de rapina, como óbitos de gaviões-de-cauda-vermelha (*Buteo jamaicensis*) e corujões-orelhudos (*Bubo*

virginianus), provocados pela infecção por *Leucocytozoon* spp. (HUNTER et al., 1997; NIEDRINGHAUS et al., 2018).

Devido ao aumento de relatos na literatura científica acerca dos danos causados pelas infecções haemosporidianas, têm-se tido uma maior atenção ao tratamento veterinário das aves silvestres no intuito de se verificar as patologias associadas aos hemosporídeos, até então subnotificadas e muitas vezes negligenciadas.

Além da capacidade de resposta do sistema imunológico do hospedeiro frente à infecção do parasito, outros elementos também podem afetar a infecção haemosporidiana, como fatores ecológicos, comportamentais e ambientais. Temperatura, precipitação e altitude, por exemplo, são fatores explorados na literatura que podem alterar os índices de parasitemia e de prevalência da infecção (CARLSON et al., 2018; FECCHIO et al., 2019; FECCHIO et al., 2020).

A variação climática pode influenciar as taxas de reprodução dos vetores e também o desenvolvimento dos parasitos dentro desses, afetando diretamente a transmissão desses parasitos para as novas espécies hospedeiras (LAPOINTE et al., 2010; SANTIAGO-ALARCON et al., 2012). O *habitat* e as condições onde o animal se encontra também podem interferir no parasitismo, sendo que animais de cativeiro podem sofrer pressões diferentes dos animais de vida livre.

Diversos estudos têm demonstrado que se deve ter extrema atenção à infecção haemosporidiana em aves de cativeiro devido ao potencial risco epidemiológico, uma vez que as condições de cativeiro não refletem os ambientes naturais das espécies aviárias, criando assim uma comunidade não natural de microrganismos (VANSTREELS et al., 2014; KING et al., 2015; CHAGAS et al., 2016; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017; JIA et al., 2018; PORNANOM et al., 2019). Vale ressaltar ainda que a prevalência da infecção haemosporidiana pode estar relacionada diretamente às próprias condições de cativeiro, onde as aves são mantidas muito próximas, além da limitação de movimentos, que pode facilitar a exposição das aves aos vetores (TOSTES et al., 2015).

Durante os últimos anos, muita informação foi gerada a respeito desses parasitos, essencialmente nos países europeus, porém o conhecimento obtido foi concentrado em aves de pequeno porte (ordem Passeriformes), principalmente pela facilidade da captura durante as campanhas de coleta utilizando-se redes de neblina (VALKIŪNAS, 2005). Dessa forma, resta uma lacuna de informação sobre parasitos haemosporidianos em aves de rapina, principalmente nos neotrópicos. Assim, aves de

médio e grande porte permanecem subamostradas, devido às pequenas populações de algumas espécies e ao comportamento de voar em grandes altitudes, dificultando a coleta de amostras (SICK, 1997; CLARK et al., 2014).

Uma busca no principal banco de dados genéticos de linhagens de hemsporídeos, baseado no gene mitocondrial *cyt b* (MALAVI, 2020) corrobora essas informações. Em mais de 12.000 linhagens depositadas, apenas 2.8% correspondem às ordens de aves de rapina, ao passo que mais de 97% são linhagens da ordem Passeriformes, mostrando a importância de estudos parasitológicos em rapinantes, principalmente na região neotropical, ainda praticamente desconhecida cientificamente.

Os estudos sobre hemsporídeos em aves de rapina de cativeiro são ainda mais raros. As sequências de hemsporídeos depositadas no MalAvi, por meio dos estudos com aves cativas, correspondem a 2.86% do total, e dessas apenas 0.46% são de aves de rapina, pertencentes a apenas dez estudos (EJIRI et al., 2011; PACHECO et al., 2011; TANIGAWA et al., 2013; BUKAUSKAITE et al., 2015; CHAGAS et al., 2017; INUMARU et al., 2017; TOSTES et al., 2017; PORNPANOM et al., 2019; VALKIŪNAS et al., 2019; NARDONI et al., 2020). Assim, mesmo sabendo que existem outros estudos com aves de rapina de cativeiro que não inserem as sequências no MalAvi (ex.: ANDERY et al., 2013), a literatura mostra que a maioria dos estudos se concentra em hemsporídeos em aves de vida livre.

Devido ao alto número de linhagens depositadas nos bancos de dados genéticos em contraposição ao baixo número de espécies identificadas acredita-se haver uma diversidade críptica a ser descoberta dentro de Haemosporida. Aliado a isso, vemos a descoberta de novas espécies a cada ano (LOTTA et al., 2019; VALKIŪNAS et al., 2019; VALKIŪNAS et al., 2020). Assim, abordagens integrativas com a utilização de diferentes métodos têm sido utilizadas para auxiliar nessa identificação de hemsporídeos, visto que o conceito de espécie dentro desse grupo ainda é motivo de discussão e o uso de ferramentas morfológicas, moleculares, ecológicas, filogenéticas e de delimitação de espécies tem sido considerado ideal para abordar esta questão e aprofundar discussões sobre a taxonomia de Haemosporida (MARTINSEN et al., 2006; HELLGREN et al., 2007; PERKINS et al., 2011; PACHECO et al., 2013; OUTLAW; RICKLEFS, 2014; GALEN et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020).

Anteriormente identificadas apenas morfológicamente, Hellgren et al. (2007) sugeriram que uma divergência genética acima de 5% seria a taxa limite para a diferenciação de espécies hemsporídeas, pois essas seriam também morfológicamente

distintas, contudo, já foram descritas espécies que diferem em menos do que 1% no gene *cyt b* e que são facilmente distinguíveis morfológicamente (ex.: *Haemoproteus jenniae* e *Haemoproteus iwa*; divergência genética: 0,6%) (LEVIN et al., 2012; HELLGREN et al., 2007). Diante disso, apesar de ser o método mais utilizado para a detecção de hemosporídeos, a biologia molecular deve ser considerada como mais um instrumento de identificação taxonômico, mas não o único (PEIRCE, 2005).

De modo a auxiliar as técnicas moleculares e morfológicas na identificação de espécies, os algoritmos de delimitação computacional têm sido cada vez mais utilizados nos diversos grupos faunísticos, como mamíferos (MELLO et al., 2018); peixes (DA SILVA et al., 2017; PEREIRA, 2018) e répteis (KORNILIOS et al., 2020), porém os estudos para Haemosporida ainda são escassos. GALEN et al. (2018) utilizaram algoritmos computacionais de delimitação *multi-locus* (GMYC e BPP) para delimitar espécies do gênero *Leucocytozoon* em aves do Alasca, e mostraram que pode existir uma diversidade rica críptica em nível específico no local estudado e que a diversidade desse parasito em todo o mundo pode ser bem maior do que se é conhecida; e OLIVEIRA et al. (2020) utilizaram os métodos PTP e MPTP para delimitar *Haemoproteus* spp. e *Plasmodium* spp. em aves silvestres no Brasil e mostraram que esse último método foi mais consistente com a taxonomia atual, enquanto o PTP superestimou o número de linhagens, devendo ser utilizado com parcimônia, mas também demonstrando uma diversidade de espécies a ser desvendada.

Como grande parte das sequências disponíveis para Haemosporida são referentes ao gene *cyt b*, os métodos de delimitação de espécies que utilizam a informação filogenética de um único *loci* permite ampliar o máximo possível o conjunto de dados. Além disso, eles são computacionalmente menos exigentes, de melhor performance com grande número de dados, e promovem uma descoberta rápida de ESU's, bem como estimativas de biodiversidade (BLAIR; BRYSON, 2017; DA SILVA et al., 2017; KAPLI et al., 2017; HOFMAN et al., 2019).

Apesar disso, vale ressaltar que existem limitações desses métodos, como a análise de apenas uma parte do genoma. Embora o gene *cyt b* seja um bom marcador para diagnosticar infecções por hemosporídeos, a taxa de mutação é menor do que no gene *cyt b* específico das aves (BENSCH et al., 2013), que é muito lento para reconhecer a diversidade em filogenética a nível de espécies (HELLGREN et al., 2013) e um menor poder estatístico desse método comparado aos métodos *multi-locus* (GALEN et al., 2018). Assim, apesar dos métodos *single locus* continuarem sendo um

campo ativo de estudo, com novos métodos sendo utilizados e publicados (DUMAS et al., 2015; DELLICOUR, FLOT, 2017), há a necessidade de incluir mais genes nas análises futuras e para isso é necessário aumentar a amostragem de outros genes em bancos de dados públicos e, quando possível, refinar as análises com métodos *multi-locus* (LERIA et al., 2020). Atualmente, dentre os delimitadores computacionais de espécies mais utilizados, destacam-se os métodos baseados em filogenia (PTP, MPTP e GMYC) e em distância (ABGD).

Diante da possível subestimação da diversidade de espécies de hemosporídeos que possuem as aves de rapina como hospedeiros, nosso estudo é o primeiro a utilizar uma abordagem integrativa com uma combinação de dados morfológicos, ecológicos, análises moleculares e delimitadores computacionais filogenéticos para identificação dos hemosporídeos que parasitam as aves de rapina neotropicais.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 COLETA DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Entre os anos de 2016 e 2019 foram coletadas amostras sanguíneas de 155 aves de rapinas de quatro ordens, cinco famílias, 20 gêneros e 23 espécies recebidas pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres de Juiz de Fora (CETAS), Minas Gerais, Brasil (coordenadas geográficas 21° 47' 40.8" S; 43° 22' 53.1" W). Nesse CETAS são recebidos animais oriundos da Zona da Mata mineira que foram resgatados, entregues voluntariamente ou apreendidos pelos órgãos ambientais, sendo tratados, reabilitados e reintroduzidos na natureza, quando possível.

As amostras foram coletadas imediatamente após a chegada das aves no CETAS JF e com o auxílio de luvas de raspa de couro foram contidas dorso ventralmente com a asa levemente flexionada de modo a possibilitar a punção na veia braquial. Aproximadamente 50 µL de sangue foi obtido de cada ave, sendo o volume puncionado nunca superior a 1% do peso corporal do animal. Após a coleta, o médico veterinário da instituição realizou a avaliação clínica das aves e nesse momento verificou-se também a presença de ectoparasitos hipoboscídeos, que deu origem a um trabalho em paralelo a essa tese (ver Anexo D). Tendo o sangue do local da perfuração estancado, as aves foram liberadas em seus recintos. Todo o procedimento seguiu os protocolos veterinários estabelecidos por BRAGA et al. (2010) e teve aprovação da Comissão de

Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora (Autorização nº 031/2017-CEUA – ANEXO F). O sangue coletado foi dividido em duas alíquotas, uma delas para a confecção imediata de esfregaços sanguíneos e outra congelada a -4°C em microtubos para a realização das análises moleculares.

4.3.2 PREPARAÇÃO E ANÁLISE DOS ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS

Os esfregaços sanguíneos foram fixados em metanol absoluto por 3 min, secos ao ar e corados com corante Giemsa, diluído em água destilada (1:9), por 40 min, seguindo orientações de VALKIŪNAS et al. (2008). Os esfregaços foram examinados sob microscópio óptico em aumento de 1000X, sendo visualizados em campos microscópicos de cada esfregaço. Quando nenhuma forma parasitária era encontrada, um novo esfregaço era analisado para confirmar a ausência de parasitemia. O número de hemosporídeos encontrados em cada esfregaço foi registrado, sendo a prevalência da infecção calculada de acordo com os parâmetros de BUSH et al. (1997), definida como a porcentagem dada pelo número de hospedeiros infectados dividido pelo número total de hospedeiros examinados, e a parasitemia calculada para cada ave, como proposto por GODFREY et al. (1987), no qual é quantificado o número de eritrócitos infectados em 10.000 eritrócitos. A identificação morfológica das espécies de parasitos foi realizada por meio de guias e chaves de identificação específicas (VALKIŪNAS, 2005; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2018).

4.3.3 EXTRAÇÃO DO DNA, NESTED-PCR E SEQUENCIAMENTO

Aproximadamente 30 μL do sangue coletado das aves foi armazenado a -20°C para posterior realização das análises moleculares. Somente as amostras positivas na análise microscópica foram testadas para biologia molecular. Previamente à extração do DNA total das amostras, esse sangue foi descongelado à temperatura ambiente. Para a extração utilizou-se o Kit de Purificação de DNA Genômico Wizard® (Promega®, São Paulo, Brasil), seguindo o protocolo do fabricante. O DNA total foi então quantificado em espectrofotômetro (Nanodrop ND-2000®, Thermo Scientific, Wilmington, DE, EUA) e padronizado para uma concentração de 100 ng/ μL .

Realizou-se a amplificação do gene mitocondrial do *cyt b* por meio de *nested*-PCR gerando um fragmento de 479 pb. Para isso foram utilizados na primeira reação os

iniciadores HaemFNI (5'- CATATATTAAGAGAAITATGGAG-3') e HaemNR3 (5'- ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC -3'), primers gerais para amplificar o gene *cyt b* (618 pb) de parasitos dos gêneros *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, como proposto por HELLGREN et al. (2004). Essa reação consistiu em um volume final de 25 µL, sendo utilizados 12,5 µL de solução Go Taq® Green Master Mix (Promega, MA, EUA), 2,5 µL de cada oligonucleotídeo iniciador a uma concentração de 10 µM (HaemFNI e HaemNR3), 5 µL de DNA genômico e água deionizada para completar o volume até 25 µL. Na segunda reação foram utilizados os iniciadores HaemF (5'- ATGGTGCTTTCGATATATGCATG-3') e HaemR2 (5'- GCATTATCTGGATGTGATAATGGT-3'), primers específicos para os gêneros *Haemoproteus* e *Plasmodium*, conforme proposto por BENSCH et al. (2000). Nessa reação foram utilizados 12,5 µL de solução Go Taq® Green Master Mix (Promega, MA, EUA), 7,5 µL de água deionizada, 1 µL de cada primer (HaemF e HaemR2) e 3 µL do produto da primeira reação. A metodologia de amplificação para as duas reações foi realizada segundo HELLGREN et al. (2004), adaptada para o Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, consistindo em uma desnaturação a 94° C por 3 min, seguida por 35 ciclos de amplificação a 94° C por 30s, 52° C por 30s, 72° C por 45s e extensão final a 72° C por 10 min.

Os produtos de amplificação foram confirmados por eletroforese em gel, utilizando-se 5 µL do produto da segunda reação juntamente com 2 µL de Blue Green Loading Dye I (LGC Biotecnologia®, São Paulo, Brasil) em gel de agarose 2% (Invitrogen®, Califórnia, EUA), visualizados sob luz ultravioleta.

Como padrão de controle positivo utilizou-se uma amostra de *Plasmodium (Haemamoeba) gallinaceum* e como controle negativo *nuclease-free water* sem adição de nenhum DNA nas reações de amplificação. Os produtos amplificados foram purificados usando o kit de purificação ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems®, EUA), de acordo com as instruções do fabricante e sequenciados em ambas as direções com o conjunto de primers HaemF e HaemR2 (BENSCH et al., 2000) no sequenciador automático ABI 3130XL (Applied Biosystems®, CA, EUA).

4.3.4 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Para realização da análise filogenética foi elaborado um *dataset* com as vinte sequências desse estudo juntamente a 90 sequências morfológicamente identificadas (67 *Haemoproteus* spp. e 23 *Plasmodium* spp.) obtidas no banco de dado MalAvi (BENSCH et al., 2009) em maio/2020. Uma linhagem de *Leucocytozoon buteonis* foi utilizada como *outgroup*, totalizando um *dataset* com 111 sequências. O programa MAFFT v. 7.0 (KATO et al., 2019) foi utilizado para realizar o alinhamento das sequências, seguindo as orientações padrão do algoritmo, com posterior remoção de sítios pobremente alinhados com o software Gblocks (TALAVERA; CASTRESANA, 2007) obtendo-se uma matriz com 479 pb. Cada sequência que continha pelo menos um nucleotídeo diferente foi considerada uma nova linhagem e nomeada de acordo com BENSCH et al. (2009) e será depositada nos bancos de dados genéticos MalAvi e GenBank. O melhor modelo de evolução de sequência GTR + G + I foi obtido após a análise do conjunto de dados no JModel-Test v. 2.1.4 (DARRIBA et al., 2012) na plataforma MEGA X (KUMAR et al., 2018). A análise de Inferência Bayesiana (IB) foi realizada usando o programa MrBayes in XSEDE v. 3.2.6 (RONQUIST et al., 2012), disponível no Portal CIPRES (MILLER et al., 2010), após um trilhão de gerações em duas simulações simultâneas e independentes de Markov Chain Monte Carlo, com exclusão de 25% das árvores geradas (“Burn-in”).

4.3.5 DELIMITAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPÉCIES

Os conjuntos de dados utilizados para a delimitação das ESU's foram montados com linhagens de *Plasmodium* spp. e *Haemoproteus* spp. separadamente. Para isso foram selecionadas todas as sequências do gene *cyt b* depositadas no banco de dados do MalAvi que possuíam comprimento superior a 430 pb, além das novas sequências produzidas no presente estudo. O conjunto de dados do gênero *Plasmodium* englobou 1178 sequências (três do presente estudo e 1175 disponíveis no MalAvi), enquanto que o conjunto de dados para *Haemoproteus* compreendeu 1388 sequências (17 do presente estudo e 1371 disponíveis no MalAvi). A espécie *Leucocytozoon buteonis* foi escolhida como *outgroup*. As inferências filogenéticas das árvores foram conduzidas usando o método de Máxima Verossimilhança (ML), no software RaxML (STAMATAKIS, 2014), sendo que os alinhamentos das sequências e a remoção de sítios pobremente alinhados foram realizados como descrito na subseção anterior. Os melhores modelos

de evolução inferidos foram GTR + G e GTR + G + I para *Plasmodium* e *Haemoproteus*, respectivamente.

Como grande parte das sequências disponíveis para Haemosporida são referentes ao gene *cyt b*, o presente estudo utilizou métodos de delimitação de espécies que utilizam a informação filogenética de um único *loci*, de modo a ampliar o máximo possível o nosso conjunto de dados. Utilizamos quatro diferentes métodos de delimitação computacional de espécies, os quais três são baseados em filogenia: PTP (ZHANG et al., 2013); MPTP (KAPLI et al., 2017) e GMYC *single* (PONS et al., 2006); e um em distância: ABGD (PUILLANDRE et al., 2012).

Os métodos de filogenia se baseiam no conceito filogenético de espécies que define a espécie como um agrupamento de organismos com padrões de ancestralidade e descendência, os quais diferem de outros agrupamentos (ELDREDGE; CRACRAFT, 1980). Os três métodos aqui utilizados têm se destacado em muitos estudos, apresentando bom desempenho e rapidez em delimitar espécies a partir da informação de um único *loci*.

Os processos de delimitação de espécies PTP e MPTP são baseados na teoria da coalescência e diferem principalmente na modelagem da especiação. O PTP modela a especiação em unidades de substituição por local e assume que o número de substituições entre espécies é maior do que o número de substituições dentro das espécies (ZHANG et al., 2013). O MPTP é uma versão do PTP que melhora a estimativa em filogenias que têm diferentes taxas inter e intraespecíficas. A taxa de especiação pode ser constante entre espécies irmãs, mas a taxa de coalescência intraespecífica e a diversidade genética podem variar significativamente mesmo entre espécies irmãs; portanto, o MPTP é responsável pelas diferentes taxas de eventos de ramificação dentro de cada espécie delimitada (KAPLI et al., 2017). Os métodos PTP e MPTP para delimitar ESU's foram empregados em ambas as filogenias enraizadas, sendo tais métodos implementados no MPTP Webservice (<http://mptp.h-its.org/#/tree>), usando os parâmetros padrão disponíveis, com remoção do *outgroup* antes de todas as análises.

O algoritmo do GMYC, diferentemente dos algoritmos anteriormente citados, requer uma árvore ultramétrica para delimitar as ESU's. Deste modo, filogenias datadas para os *datasets* de *Plasmodium* e *Haemoproteus* foram estimadas, utilizando o programa RelTime (TAMURA et al., 2012). O software do RelTime permite a inferência de tempos de divergência relativos, não requerendo informação temporal

baseado em registro fóssil, o que foi uma vantagem para este estudo. O algoritmo do RelTime tem demonstrado bom desempenho na estimativa dos tempos relativos de divergência em filogenias extensas, sem assumir um modelo específico de variação de taxa entre as linhagens, além de demandar baixo tempo computacional (MELLO et al., 2017). As inferências de tempo de divergência foram realizadas utilizando a árvore obtida pelo método de máxima verossimilhança estimada no presente estudo. O GMYC identifica linhagens evolutivas assumindo uma transição entre padrões de ramificação dentro de linhagens, os quais são refletidos pelo processo de coalescência (KINGMAN, 1982), e os padrões de ramificação entre linhagens, que são conduzidos pelo processo de especiação (YULE, 1924). Deste modo, GMYC explora a diferença na taxa de ramificação sob dois modelos evolutivos, acessando o ponto de transição de maior verossimilhança (PONS et al., 2006). No presente estudo utilizamos o método *single threshold*, implementado no GMYC no pacote SPLITS para o ambiente R, que admite como hipótese nula que a mudança entre os eventos de especiação e coalescência é única.

O método ABGD é uma análise baseada em distância e que necessita de um alinhamento múltiplo como *input*. O software ABGD detecta automaticamente o limite entre a divergência intra e interespecífica (*barcode gap*) a partir de dados de *locus* único e usa esse limite para particionar os dados em *clusters* que são interpretados como “espécies” (PUIILLANDRE et al., 2012). Essa lacuna pode ser observada sempre que a divergência genética entre organismos pertencentes à mesma espécie for menor do que a divergência entre organismos de espécies diferentes, classificando assim as sequências em espécies hipotéticas (PUIILLANDRE et al., 2012). Os alinhamentos estimados no presente estudo para os conjuntos de dados *Plasmodium* e *Haemoproteus* foram processados separadamente no ABGD Web (disponível em: <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>) utilizando o modelo de substituição Kimura de dois parâmetros, o comprimento do *barcode gap* (X) de 1,0 e mantendo-se os outros parâmetros conforme *default* do estimador.

4.3.6 ANÁLISES ECOLÓGICAS E CORRELAÇÃO ENTRE AS DIFERENTES IDADES

Para comparar a prevalência da infecção entre os diferentes períodos do ano (seco - abril a setembro e chuvoso - outubro a março) e entre as diferentes idades das

aves (filhotes, juvenis e adultas) foi utilizado o teste qui-quadrado. A idade das aves foi determinada visualmente pela análise da coloração e da plumagem desses animais.

Os dados de temperatura e precipitação foram obtidos por média mensal para a cidade de Juiz de Fora/MG, disponíveis no banco de dados meteorológicos para ensino e pesquisa (<<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=bdmep/bdmep>>; acesso em: 02/03/2020).

Para verificar a existência de um possível efeito causal da temperatura e da precipitação sobre a prevalência da infecção, ou se a infecção sofre os efeitos dessas variáveis ambientais utilizamos o coeficiente de correlação de Pearson e regressão múltipla, visto a distribuição normal dos dados.

Todas as análises ecológicas desse estudo foram realizadas no programa estatísticos R v.3.3.3 (R CORE TEAM, 2018), assumindo um nível estatístico de significância de $p \leq 0,05$.

4.4 RESULTADOS

A análise morfológica mostrou que 91 das 155 aves de rapina analisadas estavam parasitadas por hemsporídeos. A prevalência total da infecção foi de 58.7%, com a ordem Strigiformes destacando-se em primeiro lugar (63.75%; 51/80), seguida por Falconiformes (60.61%; 20/33), Cathartiformes (50%; 8/16) e Accipitriformes (46.15%; 12/26), porém não havendo diferença significativa entre as ordens ($\chi^2 = 3.0789$; $p = 0.38$). A maioria dos esfregaços sanguíneos estava infectada por estágios iniciais do desenvolvimento eritrocítico, principalmente com a presença de trofozoítos e esquizontes, no caso das infecções por *Plasmodium*, ou gametócitos jovens, nas infecções por *Haemoproteus*. A maior parte das aves de rapina apresentou uma parasitemia baixa variando entre 0.02 a 0.09%, o que dificulta significativamente a identificação em nível de espécie pela microscopia e, possivelmente, a amplificação das amostras nos procedimentos de biologia molecular. Não foi verificada a presença de coinfeção nas amostras analisadas.

Das aves infectadas, 65 eram adultas, 6 eram juvenis e 20 eram filhotes, sendo que a frequência de ocorrência de parasitos foi independente da idade das aves estudadas ($\chi^2 = 3.6209$; $p = 0.16$).

As espécies de aves de rapina avaliadas durante o estudo, a quantidade de aves amostradas, a positividade da infecção na análise microscópica e a prevalência são demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Espécies de aves de rapina avaliadas durante o estudo, quantidade de aves amostradas, positividade da infecção na análise microscópica e prevalência da infecção por espécie.

Ordem	Família	Espécie	Amostras (n)	Microscopia (+)	Prevalência (%)
Accipitriformes	Accipitridae	<i>Buteo brachyurus</i>	2	2	100
		<i>Elanoides forficatus</i>	1	1	100
		<i>Geranoaetus albicaudatus</i>	9	2	22.22
		<i>Geranoaetus melanoleucus</i>	1	1	100
		<i>Heterospizias meridionalis</i>	1	1	100
		<i>Ictinia plumbea</i>	1	1	100
		<i>Rupornis magnirostris</i>	10	4	40
		<i>Spizaetus tyrannus</i>	1	0	0
Cathartiformes	Cathartidae	<i>Cathartes burrovianus</i>	1	0	0
		<i>Coragyps atratus</i>	15	8	53.33
Falconiformes	Falconidae	<i>Caracara plancus</i>	19	12	63.16
		<i>Falco sparverius</i>	7	3	42.86
		<i>Milvago chimachima</i>	7	5	71.42
Strigiformes	Strigidae				

	<i>Asio clamator</i>	14	12	85.71
	<i>Asio stygius</i>	2	2	100
	<i>Athene cunicularia</i>	5	4	80
	<i>Bubo virginianus</i>	3	1	33.33
	<i>Glaucidium brasilianum</i>	6	3	50
	<i>Megascops choliba</i>	33	20	60.60
	<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	5	5	100
	<i>Strix huhula</i>	4	2	50
	<i>Strix virgata</i>	1	1	100
Tytonidae				
	<i>Tyto furcata</i>	7	1	14.29
		155	91	58.70*

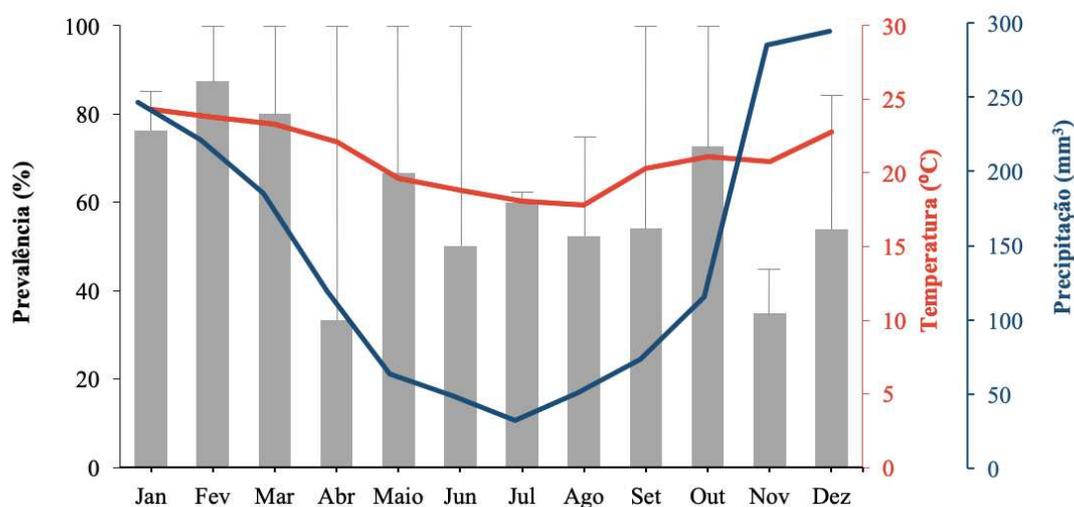
*Prevalência média total para todas as espécies.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

A prevalência média de parasitemia no período chuvoso foi de 62.02% (49/79) e no período seco de 55.26% (42/76) e apesar dos meses de janeiro e fevereiro apresentarem as maiores ocorrências de parasitos durante os anos analisados, a frequência de ocorrência de parasitos foi independente do regime de chuvas ($\chi^2 = 0.47834$; $p = 0.48$), podendo indicar assim que a transmissão haemosporidiana está ativa ao longo de todo o ano.

As análises de correlação e de regressão múltipla entre a prevalência da infecção e os fatores ecológicos: temperatura e precipitação, não apresentaram resultados estatisticamente significativos (temperatura x prevalência, $p = 0.1524$; precipitação x prevalência, $p = 0.7376$), demonstrando a inexistência de efeito causal entre temperatura e a precipitação sobre a prevalência, como demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Prevalência da infecção haemosporidiana das espécies de *Haemoproteus* e *Plasmodium* spp. em aves de rapina neotropicais durante os anos de 2016 a 2019. Linhas verticais correspondem as prevalências máximas do mês. A temperatura e a precipitação médias foram registradas pela estação meteorológica de Juiz de Fora e fornecidas pelo Instituto Nacional de Meteorologia do Brasil.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Após as análises moleculares registrou-se pela primeira vez a infecção das aves *Strix virgata* e *Bubo virginianus* por *Plasmodium nucleophilum*; de *Pulsatrix koenigswaldiana*, *Megascops choliba* e *Asio clamator* por *Haemoproteus macrovacuolatus* e de *Pulsatrix koenigswaldiana*, *Glaucidium brasilianum* e *Athene cunicularia* por *Haemoproteus syrnii*. Entretanto, os registros nos quatro primeiros hospedeiros citados não foram confirmados microscopicamente uma vez que apenas

gametócitos jovens foram encontrados nas amostras sanguíneas. Nosso estudo amplia a lista de novos hospedeiros para os citados parasitos e o aumento da área de distribuição dessas espécies para a Mata Atlântica de Minas Gerais, Brasil. As infecções causadas por *H. syrnii*, parasito mais frequentemente encontrado em nossas análises, são detalhadamente estudadas no Capítulo 3 dessa tese.

Das 91 amostras positivas para hemosporídeos na microscopia foram obtidas vinte sequências do gene mitocondrial *cyt b* pelos processamento molecular, sendo nomeadas de acordo com a espécie aviária correspondente: *Asio clamator* (*h_ASICLA01*, *h_ASICLA02*, *h_ASICLA03*, *h_ASICLA04*); *Megascops choliba* (*h_MEGCHO01*, *h_MEGCHO02*, *h_MEGCHO03*, *h_MEGCHO04*, *h_MEGCHO05*); *Athene cunicularia* (*h_ATHCUN01*, *h_ATHCUN02*); *Glaucidium brasilianum* (*h_GLABRA01*, *h_GLABRA02*); *Pulsatrix koenigswaldiana* (*h_PULKOE01*, *h_PULKOE02*); *Strix virgata* (*p_STRVIR01*); *Bubo virginianus* (*p_BUBVIR01*); *Buteo brachyurus* (*p_BUTBRA01*); *Rupornis magnirostris* (*h_RUPMAG01*) e *Coragyps atratus* (*h_CORATR01*).

A análise filogenética realizada por Inferência Bayesiana posicionou três dessas sequências em um clado formado por espécies do gênero *Plasmodium*. Internamente a esse clado, a linhagens *p_STRVIR01* e *p_BUBVIR01* se agruparam em um clado com a espécie *Plasmodium nucleophilum*, e a linhagem *p_BUTBRA01* formou um grupo irmão com a espécie *Plasmodium paranucleophilum* (Figura 2).

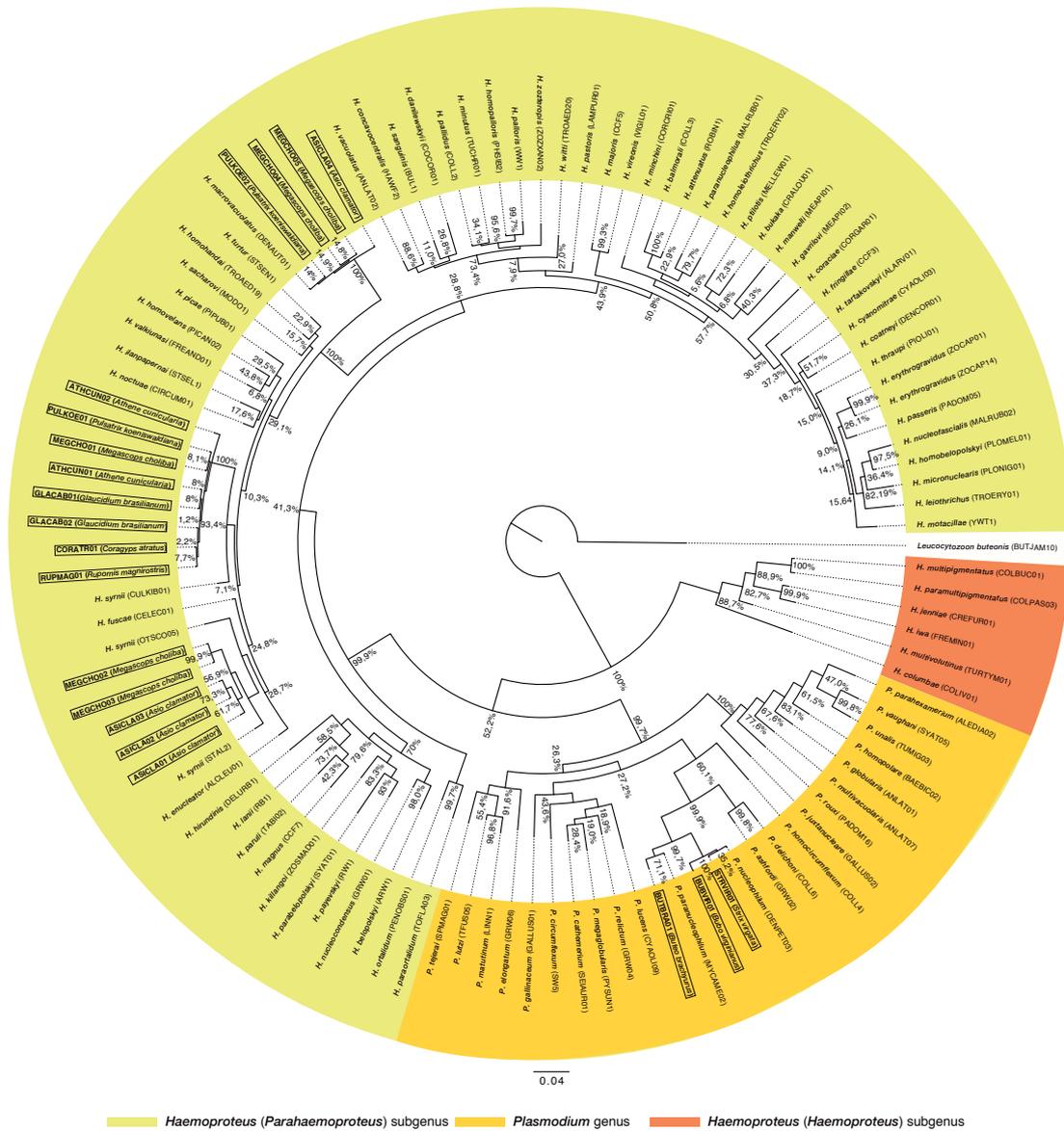
Essa análise filogenética posicionou ainda nossas outras 17 sequências em um clado contendo representantes do gênero *Haemoproteus*, todos eles do subgênero *Parahaemoproteus*. Internamente a esse clado, as linhagens *h_ASICLA01*, *h_ASICLA02*, *h_ASICLA03*, *h_MEGCHO02* e *h_MEGCHO03* formaram um clado com elevado valor de suporte com duas sequências de *Haemoproteus syrnii* (*h_STAL2* e *h_OTSCO05*). As sequências *h_MEGCHO01*, *h_RUPMAG01*, *h_CORATR01*, *h_ATHCUN01*, *h_ATHCUN02*, *h_GLABRA01*, *h_GLABRA02* e *h_PULKOE01* também foram agrupadas com elevado valor de suporte com outra sequência desse mesmo parasito, *Haemoproteus syrnii* (*h_CULKIB01*), sugerindo dois cladogramas parafiléticos, uma vez que estes dois agrupamentos estão relacionados evolutivamente com sequências de *Haemoproteus enucleator* (*h_ALCLEU01*) e *Haemoproteus fuscae* (*h_CELEC01*). A taxonomia de *Haemoproteus syrnii* é controversa, com indício de espécie críptica (BARINO et al., 2020).

Ainda no clado de *Haemoproteus*, as linhagens *h_PULKOE02*, *h_MEGCHO04*, *h_MEGCHO05* e *h_ASICLA04* agruparam-se com elevado valor de suporte juntamente com a sequência da espécie *Haemoproteus macrovacuolatus*.

As relações filogenéticas entre as linhagens desse estudo podem ser vistas na Figura 2.

As análises de divergência genética mostraram que todas as linhagens de *Plasmodium* obtidas no presente estudo são diferentes entre si, ao passo que as linhagens de *Haemoproteus* se distribuem em três grupos divergentes, sendo que dentro de cada grupo as linhagens são idênticas entre si: Grupo 1 (*h_PULKOE02*, *h_MEGCHO04*, *h_MEGCHO05* e *h_ASICLA04*); Grupo 2 (*h_RUPMAG01*, *h_CORATR01*, *h_ATHCUN01*, *h_MEGCHO01*, *h_GLABRA01*, *h_GLABRA02* e *h_PULKOE01*) e Grupo 3 (*h_MEGCHO02* e *h_MEGCHO03*), além das linhagens *h_ASICLA01*, *h_ASICLA02*, *h_ASICLA03* e *h_ATHCUN02* que também diferenciaram-se entre si. As porcentagens de divergência genética entre as linhagens sequenciadas podem ser vistas nas Figuras 3 e 4. Do total de 10 linhagens únicas obtidas nesse estudo, oito linhagens foram consideradas novas, pois não apresentaram 100% de identidade com nenhuma outra linhagem disponível nos bancos de dados (Blast/Portal NCBI).

Figura 2 - Filogenia Bayesiana baseada no gene *cyt b* de linhagens de espécies *Haemoproteus* e *Plasmodium*. *Leucocytozoon buteonis* foi utilizado como *outgroup*. Os valores de suporte dos nós indicam as probabilidades posteriores. As linhagens utilizadas nesta filogenia foram obtidas no banco de dados genéticos MalAvi, cujos nomes de acesso são fornecidos entre parênteses. As linhagens dos parasitos encontradas neste estudo são destacadas nos retângulos. A barra de escala representa 4 substituições por 100 nucleotídeos.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para verificar se as linhagens obtidas no presente estudo poderiam representar possíveis novas ESU's de hemsporídeos utilizamos quatro delimitadores computacionais de espécies (PTP, MPTP, GMYC *single* e ABGD) com base em linhagens do banco de dados MalAvi juntamente com as nossas linhagens (Tabela 2).

Para o gênero *Plasmodium*, os delimitadores MPTP e GMYC *single* foram os que obtiveram resultados mais próximos da classificação taxonômica atual, obtendo-se 80 e 55 ESU's, respectivamente. Porém, esses métodos foram *lumpers*, principalmente em relação às novas linhagens, unindo nossas três linhagens com diferentes espécies morfológicamente identificadas na mesma ESU. Apesar do algoritmo PTP ter superestimado a diversidade comparativamente a taxonomia atual, ele se aproximou da análise filogenética e recuperou nossas três linhagens do gênero *Plasmodium* em três ESU's, uma formada pela nossa linhagem *p_BUTBRA01*, juntamente com uma sequência de *P. paranucleophilum* e mais seis sequências não identificadas; outra formada pela nossa sequência *p_STRVIR01* com uma sequência de *P. nucleophilum*; e outra com nossa sequência *p_BUBVIR01* juntamente com uma sequência não identificada. O algoritmo ABGD superestimou a diversidade do gênero *Plasmodium* e estimou uma quantidade de ESU's bem acima da taxonomia aceita atualmente (Tabela 2).

Para o gênero *Haemoproteus* o algoritmo MPTP foi o que obteve resultados mais próximos da taxonomia atual. Mesmo assim, esse algoritmo subestimou a diversidade de hemsporídeos agrupando várias espécies de *Haemoproteus* já identificadas em ESU's únicas (*lumper*), ao passo que o PTP superestimou essa diversidade. Os delimitadores GMYC *single* e ABGD superestimaram ainda mais a diversidade do conjunto de dados para *Haemoproteus*, e não apresentaram resultados confiáveis de delimitação com o conjunto de dados escolhido, separando espécies morfológicamente identificadas em diferentes ESU's.

A delimitação das linhagens de *Haemoproteus* pelo algoritmo PTP, método que mais se aproximou da análise filogenética, agrupou nossas linhagens em três ESU's, sendo uma delas composta por nossas sequências *h_MEGCHO05*, *h_ASICLA04*, *h_MEGCHO04* e *h_PULKOE02* juntamente com uma sequência da espécie *H. macrovacuolatus* e outra não identificada; outra ESU formada pelas nossas sequências *h_ASICLA03*, *h_ASICLA01*, *h_ASICLA02*, *h_MEGCHO03* e *h_MEGCHO02*, juntamente com uma sequência de *H. syrnii* e 12 sequências não identificadas; e a terceira ESU composta pelas sequências *h_GLABRA02*, *h_RUPMAG01*,

h_PULKOE01, *h_MEGCHO01*, *h_ATHCUN01*, *h_GLABRA01*, *h_CORATR01* e *h_ATHCUN02*, juntamente com uma sequência de *H. syrnii* e 8 sequências não identificadas (Tabela 2).

Tabela 2 - Delimitação computacional de espécies elaborada com sequências de *Plasmodium* spp. e *Haemoproteus* spp., juntamente com as obtidas no presente estudo, utilizando-se os algoritmos PTP, MPTP, GMYC *single* (filogenia) e ABGD (distância).

Método	<i>Plasmodium</i>				<i>Haemoproteus</i>			
	PTP	MPTP	GMYC <i>single</i>	ABGD	PTP	MPTP	GMYC <i>single</i>	ABGD
Tipo de método	Filogenia	Filogenia	Filogenia	Distância	Filogenia	Filogenia	Filogenia	Distância
Taxonomia atual (espécies descritas morfológicamente)	55				151			
ESU's obtidas após a delimitação	515	80	55	1156	428	84	1352	1339
ESU's com morfoespécie associada após a delimitação	27	16	9	36	68	32	139	140
ESU's sem morfoespécie associada após a delimitação	488	64	46	1120	360	52	1213	1199
Sequências não identificadas antes da delimitação	1142				1248			
Sequências não identificadas após a delimitação	867	350	181	1139	786	242	1239	1237
Sequências identificadas após a delimitação	275	792	961	3	462	1006	9	11

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

4.5 DISCUSSÃO

Poucos estudos na América do Sul têm investigado a presença de hemosporídeos em aves de rapina nativas (ANDERY et al., 2013; TOSTES et al., 2015; CHAGAS et al., 2017), principalmente da Mata Atlântica, um dos biomas brasileiros com maior

número de espécies endêmicas e um dos mais ameaçados do mundo. A maioria desses estudos tem sido realizada com aves da ordem Passeriformes, com menor conhecimento sobre os rapinantes.

Nosso estudo mostrou que aves de rapina brasileiras são altamente suscetíveis às infecções haemosporidianas, demonstrando alta prevalência da infecção (58.7%). Estudos com várias espécies de aves de rapina foram desenvolvidos principalmente na Europa, mostrando prevalência bem abaixo das encontradas aqui (KRONE et al., 2001 – 11%; KRONE et al., 2008 – 19.8%; CILOGLU et al., 2016 – 27.3%). Nesses três estudos o gênero *Leucocytozoon* foi o mais encontrado, diferindo do nosso estudo que foi o gênero *Haemoproteus*, seguido do gênero *Plasmodium*. A presença maior de *Haemoproteus* e *Plasmodium* no Brasil já tem sido relatada em outros estudos pelo país (CHAGAS et al., 2015; TOSTES et al., 2015), ao passo que *Leucocytozoon* foi registrado pela primeira vez apenas em 2018, tão somente em análises moleculares (FECCHIO et al., 2018).

No Brasil, o estudo de ANDERY e colaboradores (2013) é um dos poucos com hemospóridios de aves de rapina da Mata Atlântica e mostrou uma prevalência de 13,5%, bem abaixo da encontrada no nosso estudo, porém, esse foi realizado em outra localidade, embora em cativeiro, mas com um conjunto de espécies diverso do nosso. Vale lembrar que a prevalência de infecção pode estar relacionada a diferentes fatores, como a susceptibilidade do hospedeiro à infecção, às características biológicas e comportamentais da ave hospedeira, a reprodução direta do parasito dentro do hospedeiro, a habilidade dos hospedeiros em eliminar os parasitos por resposta imunológica, além de fatores ecológicos associados (ZUBEN, 1997; RIBEIRO et al., 2005), de forma que esses fatores podem justificar as diferentes prevalências encontradas.

No presente estudo não foi encontrada diferença significativa aparente na prevalência do hemospóridios entre os períodos seco e chuvoso, bem como não houve efeito causal entre a temperatura e a precipitação em relação à prevalência da infecção. Resultados semelhantes também foram encontrados por PORNPANOM e colaboradores (2019) estudando corujas na Tailândia e por MCCLURE et al. (1978) em seu estudo no sudeste asiático com *Haemoproteus* spp. que infectavam várias espécies de corujas. No Brasil, essa ausência de sazonalidade na infecção também foi encontrada por CHAGAS et al. (2017) ao estudar diversos hospedeiros aviários em cativeiro no estado de São Paulo e pode estar relacionada ao vetor responsável pela transmissão do parasito, que

pode estar presente ao longo de todo o ano (BISHOP; BENNETT, 1989; MATTA et al., 2014). Vale ressaltar que os vetores das espécies de hemosporídeos aqui encontrados ainda são pouco conhecidos ou totalmente desconhecidos, sendo uma lacuna a ser preenchida com estudos que auxiliarão no entendimento da transmissão da malária aviária e de outros hemosporídeos correlacionados. A influência das estações do ano sobre a infecção haemosporidiana tem sido mais reportada em países do hemisfério norte (KRONE et al., 2001), onde essas estações são bem definidas, o que não ocorre nos países tropicais, em que as mudanças ambientais entre as estações não são tão bruscas.

A idade da ave é outro fator que pode contribuir para o aumento da parasitemia e da prevalência dos hemosporídeos. Aves mais velhas geralmente apresentam prevalência aumentada de hemoparasitos, mas em menor parasitemia, possivelmente resultante da imunidade adquirida (ALLANDER; BENNETT, 1994; BOAL et al., 1998). Nos estudos de KRONE et al. (2001) com aves rapina, os filhotes apresentaram menores valores nas prevalências, aumentando proporcionalmente com o aumento da idade. Em nosso estudo as aves adultas apresentaram maior prevalência que as aves juvenis e filhotes, porém, não foi verificada diferença estatística significativa entre as idades. Ainda no estudo de KRONE et al. (2001) a prevalência encontrada em Falconiformes e Strigiformes foi estatisticamente semelhante, o que corrobora nossos dados em que as ordens de rapina aqui estudadas foram estatisticamente igualmente infectadas.

Nossas análises moleculares mostraram uma grande diversidade de hemosporídeos infectando as aves de rapina. Após os procedimentos de filogenia as sequências obtidas mostraram que tanto *Plasmodium* quanto *Haemoproteus* estão parasitando aves de rapina do Brasil. As linhagens *p_STRVIR01* e *p_BUBVIR01*, que infectam respectivamente *Strix virgata* e *Bubo virginianus*, mostraram-se grupos-irmãos de *Plasmodium nucleophilum* (Figura 2). Esse parasito foi identificado na América do Norte, é bastante generalista e aparentemente trata-se de um parasito bem comum nas aves brasileiras e com ampla ocorrência mundial, sendo registrado em todos os continentes, exceto Oceania e Antártica (VALKIŪNAS, 2005; TOSTES et al., 2017).

A linhagem *p_STRVIR01* (hospedeiro *Strix virgata*) apresentou 100% de similaridade no Blast/Portal NCBI com sete linhagens identificadas morfológicamente de *P. nucleophilum* e também com mais 12 linhagens de *Plasmodium* sp., demonstrando assim não ser uma nova linhagem. As linhagens similares correspondiam a registros na

América do Norte (EUA), na América Central (Costa Rica), Europa (Espanha) e principalmente nos países da América do Sul (Brasil, Equador e Guiana), tendo como hospedeiros as ordens Passeriformes, Piciformes, Sphenisciformes e Anseriformes, sendo o nosso estudo o primeiro registro na ordem Strigiformes.

A linhagem *p_BUBVIR01* (hospedeiro *Bubo virginianus*) não apresentou 100% de similaridade com nenhuma linhagem disponível nos bancos de dados, sendo uma nova linhagem. Esse é o primeiro registro de *P. nucleophilum* infectando *B. virginianus*. Até então havia registros de infecção dessa coruja por espécies de *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* e outras espécies de *Plasmodium* (COATNEY; ROUDABUSH, 1936; LEVINE; CAMPBELL, 1971; HUNTER et al., 1997; VALKIŪNAS, 2005; OUTLAW et al., 2009; NIEDRINGHAUS et al., 2018).

A linhagem *p_BUTBRA01* (hospedeiro *Buteo brachyurus*) não apresentou 100% de similaridade com nenhuma linhagem disponível nos bancos de dados, sendo uma nova linhagem. Essa linhagem formou um grupo-irmão com *Plasmodium paranucleophilum* na árvore filogenética, sendo este parasito identificado inicialmente na América do Sul e ainda possui sua distribuição pouco investigada (VALKIŪNAS, 2005). Em 2017, esse parasito foi encontrado pela primeira vez infectando a mesma espécie aviária acima descrita no estado do Rio de Janeiro, em todas as suas formas eritrocíticas, demonstrando a capacidade de se desenvolver nesse hospedeiro (TOSTES et al., 2017).

As linhagens *h_ASICLA01*, *h_ASICLA02*, *h_ASICLA03*, *h_MEGCHO02*, *h_MEGCHO03*, *h_RUPMAG01*, *h_CORATR01*, *h_GLABRA02*, *h_GLABRA01*, *h_ATHCUN01*, *h_MEGCHO01*, *h_PULKOE01* e *h_ATHCUN02* formaram clados com linhagens diferentes de *Haemoproteus syrnii*. Esse parasito possui uma controversa taxonomia e tais linhagens foram utilizadas para auxiliar na possível identificação de espécies crípticas dentro do complexo *H. syrnii* (BARINO et al., 2020). Importante destacar aqui que até a presente data *H. syrnii* foi identificado exclusivamente na ordem Strigiformes, parecendo ser um parasito especialista dessa ordem. Assim, as linhagens *h_RUPMAG01* e *h_CORATR01*, encontradas respectivamente em *Rupornis magnirostris* (Accipitriformes) e *Coragyps atratus* (Cathartiformes) parecem ser casos de desenvolvimento abortivo de *Haemoproteus* nessas aves não-Strigiformes, pois nos dois casos foram encontrados apenas gametócitos imaturos, podendo os mesmos não desenvolverem em todas as suas fases de infecção (VALKIŪNAS et al., 2013). Visto isso, a identificação de *H. syrnii* apenas por análises moleculares ou com a presença de

formas eritrocíticas imaturas não pode ser considerada como a confirmação do parasitismo por esse hemosporídeo nessas espécies aviárias, sendo necessária a confirmação com estágios maduros desses hemosporídeos nos esfregaços sanguíneos.

As linhagens *h_PULKOE02*, *h_MEGCHO04*, *h_MEGCHO05* e *h_ASICLA04* agruparam-se juntamente com a sequência da espécie *Haemoproteus macrovacuolatus*. Esse parasito foi descrito recentemente na espécie *Dendrocygna autumnalis* (Anseriformes) na Colômbia, e as três sequências disponíveis no banco de dados (GenBank) são desse mesmo estudo e na mesma espécie (MATTA et al., 2014). Em 2015, ROOS e colaboradores encontraram uma sequência 100% idêntica a de MATTA et al. (2014), na espécie *Rynchops niger* (Charadriiformes) localizada na Amazônia brasileira. As nossas sequências apresentaram 100% de similaridade com todas as sequências acima, mostrando tratar-se do mesmo parasito, e que as aves *Pulsatrix koeniswaldiana*, *Asio clamator* e *Megascops choliba* estavam parasitadas por *H. macrovacuolatus*, sendo esses relatos inéditos dessas aves como hospedeiros desse parasito. Importante destacar que apesar das aves *D. autumnalis* e *R. niger* serem aves nativas do Brasil, existem poucos registros no estado de Minas Gerais (MATTOS et al., 1993; PIACENTINI et al., 2015), sendo que a primeira delas ocorre periodicamente no sudeste do país (SICK, 1997) e a segunda utiliza a região sudeste como área de reprodução durante a migração parcial. As aves migratórias podem se infectar nos locais de reprodução ou de migração e carregar consigo uma enorme diversidade genética de linhagens de hemosporídeos podendo levar ao aumento da área de distribuição dos parasitos e, conseqüentemente, ameaçar a conservação de espécies de aves silvestres imunologicamente incapazes de combatê-los (SMITH et al., 2004; JENKINS et al., 2012; ROOS et al., 2015).

Importante destacar ainda que, uma vez que as ordens de aves de rapina são parafiléticas e altamente divergentes (HACKETT et al., 2008; MINDELL et al., 2018), *a priori* não há que se suspeitar que as linhagens parasitárias encontradas sejam mesmo exclusivas desse agrupamento de aves (ISHAK et al., 2008), devendo haver uma avaliação por ordem, e não pelo grupo em si, corroborado pela falta de coesão filogenética entre os parasitos encontrados e demonstrado pela enorme diversidade de espécies dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus* verificados em nosso estudo.

Atualmente existem mais de 2300 linhagens de *Haemoproteus* e *Plasmodium* não identificadas depositadas no MalAvi e essas linhagens vêm sendo adicionadas a uma alta taxa, porém, o número de espécies identificadas em nível de espécie é bem

menor, com 160 espécies de *Haemoproteus* e 55 espécies de *Plasmodium* (FECCHIO et al., 2020). Estudos com ferramentas integrativas como o nosso vêm auxiliar na taxonomia complexa da ordem Haemosporida, incluindo os casos de espécies crípticas (PERKINS, 2000; NILSSON et al., 2016; BARINO et al., 2020). Assim, parte das linhagens depositadas, mas não identificadas em nível de espécie, podem representar até mesmo novas espécies de hemosporídeos (PERKINS et al., 2014). Nesse sentido, ferramentas integrativas que envolvam técnicas de microscopia ótica, biologia molecular e delimitação computacional de espécies com a utilização de algoritmos têm sido cada vez mais utilizadas na identificação ou inferência de unidades taxonômicas significativas oriundas dessa diversidade oculta, sendo um pré-requisito para entender a diversidade, distribuição e especiação nos hemosporídeos (BENSCH et al., 2004).

Visto que delimitadores computacionais de espécies ainda são pouco utilizados para Haemosporida, sendo encontrados apenas dois estudos realizados com essa ordem (GALEN et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020), testamos quatro delimitadores computacionais baseados em um único *locus* (PTP, MPTP, GMYC *single* e ABGD). O algoritmo PTP foi o que mais se aproximou da análise filogenética tanto para o gênero *Plasmodium* quanto para *Haemoproteus*. Ele recuperou nossas três linhagens de *Plasmodium* em três ESU's todas contendo espécies morfologicamente descritas; e nossas linhagens de *Haemoproteus* também em três ESU's com morfoespécies descritas.

Analisando-se o *dataset* como um todo, no geral o algoritmo PTP foi o que apresentou maior frequência de perfis *match*, ou seja, as ESU's delimitadas concordaram com a classificação taxonômica vigente, e um baixo número de perfis de *lumper*, quando numa mesma ESU encontram-se mais de uma espécie definida taxonomicamente, contudo, superestimou a diversidade de espécies tanto para *Plasmodium* quanto para *Haemoproteus*. Já os algoritmos MPTP e o GMYC *single* se apresentaram bastante *lumpers*, ao reunir diversas espécies taxonomicamente definidas em uma única ESU, se distanciando da análise filogenética. O método ABGD foi o que mais superestimou a diversidade de espécies, podendo não representar um bom delimitador para o conjunto de dados escolhido.

Importante relatar aqui que esse estudo não buscou escolher o melhor delimitador para Haemosporida visto as limitações dos métodos que utilizam um único *locus*, como a análise de apenas uma parte do genoma e um menor poder estatístico desse método comparado aos métodos *multi-locus* (GALEN et al., 2018), mas

demonstrar que está ocorrendo uma diversidade críptica de espécies de hemosporídeos que parasitam as aves de rapina como demonstrado por todos os quatro métodos de delimitação utilizados. Assim, novos estudos precisam ser realizados com sequenciamento de mais marcadores para o grande número de linhagens existentes dessa ordem, sendo os métodos de *locus* único utilizados como métodos primários para delimitar espécies, debendo ser refinados por métodos *multi-locus* (GALEN et al., 2018; LERIA et al., 2020).

4.6 CONCLUSÃO

Esse estudo apresenta novas linhagens, novos hospedeiros e nova distribuição de espécies de *Plasmodium* e *Haemoproteus* que infectam aves de rapina neotropicais. A alta prevalência da infecção demonstra que essas aves são hospedeiras potenciais de hemosporídeos e que existe uma diversidade críptica desses protozoários a ser descoberta, sugerindo inclusive a existência de espécies não descritas. Os estudos realizados com aves silvestres em cativeiro permitem compreender a dinâmica da infecção haemosporidiana e as consequências desse parasitismo na saúde animal. O entendimento e tratamento das hemoparasitoses que ocorrem dentro de Centros de Triagem de Animais Silvestres que reintroduzem milhares de animais silvestres na natureza todos os anos permitirão que as aves reintroduzidas não sejam potenciais carreadoras de patógenos para outros indivíduos, que muitas vezes não possuem o sistema imunológico preparado para combatê-los. Dessa forma, estudos como esse auxiliam não só na sobrevivência das aves de rapina que são de extrema importância ecológica, mas também na conservação da fauna aviária em geral.

5 CAPÍTULO 3: *HAEMOPROTEUS SYRNII* (HAEMOSPORIDA: HAEMOPROTEIDAE) EM CORUJAS DO BRASIL: CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR, POTENCIAL ESPÉCIE CRÍPTICA E ESTÁGIOS EXOERITROCÍTICOS

5.1 RESUMO

Haemoproteus syrnii é um parasito hemosporídeo encontrado em corujas. Embora dados morfológicos e moleculares sobre a espécie estejam disponíveis, seu desenvolvimento exoeritrocítico nunca foi pesquisado. Neste estudo, fornecemos a caracterização morfológica, morfométrica e molecular de *H. syrnii* encontrado nas espécies de corujas de Minas Gerais, sudeste do Brasil. Também realizamos a delimitação computacional de espécies com base na teoria da coalescência por meio dos dados moleculares e histopatológicos. Foram analisadas amostras de 54 corujas de seis espécies diferentes, gerando 11 sequências do gene *cyt b*, das quais seis eram novas sequências. A prevalência geral de infecção foi alta (72,22%). As sequências de *H. syrnii* agruparam-se em dois clados independentes bem suportados, que incluíam entre eles outras espécies de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*). Isto foi apoiado tanto pela análise de delimitação de espécies quanto pela divergência genética entre as linhagens destes distintos clados. Foram encontradas ainda pequenas diferenças morfológicas e morfométricas dentro da população apresentada neste estudo. Quando comparada com outros estudos, a análise molecular demonstrou uma considerável variação intraespecífica e sugere espécies crípticas potenciais. A análise histopatológica revelou, pela primeira vez, que os pulmões e o músculo esquelético são locais de estágio exoeritrocítico de *H. syrnii* e que o parasito pode estar ligado às alterações histopatológicas encontradas nas corujas. Este estudo traz novos dados da biologia de uma importante espécie de *Haemoproteus* e revela dados sobre a infecção do hospedeiro, melhorando a compreensão da relação hospedeiro-parasito sob uma perspectiva de conservação das corujas.

5.2 INTRODUÇÃO

Doenças aviárias provocadas por hemosporídeos (Apicomplexa: Haemosporida) estão intrinsicamente relacionadas à conservação da biodiversidade, pois podem levar espécies de aves à morte ou, de modo indireto, reduzir o seu sucesso reprodutivo (DEREDEC et al., 2001; KILPATRICK et al., 2006; VANSTREELS et al., 2014). Apesar da maioria dos estudos relatar que o gênero *Plasmodium* spp. é o hemosporídeo mais patogênico, há uma forte suspeita de que as infecções por *Haemoproteus* spp. possam estar sendo subestimadas e serem mais virulentas do que se acreditava anteriormente (BENNETT et al., 1993). Assim, muito se tem a descobrir a respeito da patogenicidade das linhagens de *Haemoproteus*, em especial as que infectam aves de rapina, cujo relato na literatura é escasso.

As corujas (Ordem Strigiformes) são aves de rapina crepusculares ou noturnas, com excelente audição e visão, especializadas em caçar pequenos vertebrados, especialmente pequenos roedores (DEBUS et al., 2004; SHEHAB, 2005). Como outras aves de rapina, são predadoras de topo de cadeia alimentar, exercendo funções importantes no ecossistema, como a regulação do crescimento populacional de suas presas e atuando como indicadores de qualidade ambiental (DMOWSKI, 1999; ANSARA-ROSS et al., 2013). Um total de 250 espécies de corujas foram registradas ao redor mundo (KÖNIG; WEICK, 2008), sendo 23 delas registradas no Brasil, quase um terço de todas as corujas da região neotropical (MOTTA-JUNIOR et al., 2017). Essas aves de rapina são altamente suscetíveis às infecções haemosporidianas, provocadas pelos gêneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium* spp. (TOSTES et al., 2017; KARELL et al., 2017; CARLSON et al., 2018), os quais podem ser extremamente patogênicos durante os estágios de vida das aves, causando efeitos negativos na reprodução e no crescimento das mesmas (KORPIMAKI et al., 1993; COON et al., 2016), inclusive levando-as ao óbito (VALKIŪNAS, 2005; SANTIAGO-ALARCON et al., 2013; GROFF et al., 2019). Entretanto, a mortalidade de corujas infectadas com *Haemoproteus* spp. não estão bem descritas na literatura, e isso se deve em grande parte à dificuldade de se obter um número expressivo de indivíduos para o estudo e a utilização de uma abordagem multidisciplinar que integre diferentes técnicas metodológicas na identificação dos parasitos e dos efeitos patogênicos oriundos da infecção, como morfologia, biologia molecular, delimitação de espécies, necropsia e histopatologia.

Um dos principais hemosporídeos que infectam corujas é o *Haemoproteus syrnii*. Esse parasito foi descrito pela primeira vez infectando indivíduos de *Strix aluco* e desde então foi relatado como agente parasitário de mais de 30 espécies de corujas (VALKIŪNAS, 2005), tendo uma alta especificidade com a ordem Strigiformes. Provavelmente trata-se de um hemoparasito cosmopolita, tendo sido registrado em quase todos os continentes, com exceção da Austrália e da Antártida, tendo como hospedeiro invertebrado os dípteros hematófagos da família Ceratopogonidae (VALKIŪNAS, 2005; BUKAUSKAITĖ et al., 2015).

Os gametócitos maduros de *H. syrnii* têm a forma alongada, com contorno uniforme e às vezes formato ameboide. Ele desloca acentuadamente o núcleo do eritrócito infectado, envolvendo-o em suas extremidades. Nos macrogametócitos, os grânulos de volutina apresentam-se como estruturas redondas muitas vezes espalhados pelo citoplasma (VALKIŪNAS, 2005). As espécies do gênero *Haemoproteus* têm tropismo para certos tecidos hospedeiros durante o desenvolvimento exoeritrocítico, principalmente pulmões, baço, fígado, músculo esquelético e cardíaco (VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017), porém, esse tropismo para a espécie *H. syrnii* durante o estágio exoeritrocítico permanece desconhecido.

Diante do exposto, uma abordagem multidisciplinar que permita a identificação correta dos parasitos e os locais onde se estabelecem no hospedeiro podem determinar o sucesso no tratamento de doenças causadas por hemosporídeos e contribuir com a conservação de espécies muitas vezes ameaçadas de extinção. Além da microscopia óptica tradicional e da utilização de técnicas moleculares para identificação de parasitos, cada vez mais têm sido utilizados algoritmos que auxiliam na delimitação computacional de espécies, auxiliando até mesmo na identificação de espécies crípticas como *Haemoproteus ptilotis* (CLARK et al., 2015) e *Haemoproteus majoris* (NILSSON et al., 2016).

Neste estudo, investigamos os hemosporídeos presentes no sangue das corujas neotropicais, caracterizando os parasitos por técnicas morfológicas e moleculares; analisamos as relações filogenéticas entre as novas sequências e as disponíveis em bancos de dados; realizamos uma análise de delimitação de espécies e analisamos os tecidos infectados através da histopatologia, discutindo possíveis efeitos patológicos nas corujas. Os resultados apresentados revelam novos dados sobre a biologia dos parasitos do gênero *Haemoproteus* e a infecção do hospedeiro, melhorando a compreensão da

relação hospedeiro-parasito importante da perspectiva de conservação das corujas neotropicais.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS

5.3.1 COLETA DAS AMOSTRAS E ANÁLISES MICROSCÓPICAS

Para investigação dos hemoparasitos foram analisadas corujas das espécies *Athene cunicularia* (n=5); *Asio clamator* (n=12); *Glaucidium brasilianum* (n=5); *Megascops choliba* (n=28) e *Pulsatrix koeniswaldiana* (n=4) provenientes do Centro de Triagem de Animais Silvestres de Juiz de Fora (CETAS-JF), Minas Gerais, Brasil (coordenadas geográficas 21° 47' 40.8" S; 43° 22' 53.1" W). Nesse local são recebidos animais resgatados, entregues voluntariamente ou apreendidos, oriundos de ações de fiscalização ambiental ou do tráfico de animais silvestres. As coletas de sangue foram realizadas imediatamente após a chegada das aves durante os anos 2017 e 2019, abrangendo períodos climáticos secos e chuvosos. O teste do qui-quadrado foi usado para comparar amostras agrupadas nestes dois períodos climáticos do ano (períodos secos e chuvosos). O animal foi retirado do alojamento com auxílio de luvas específicas para manuseio e contenção de aves de rapina. Foi utilizado um capuz para tampar os olhos da ave no momento da coleta, de modo a reduzir o estresse e facilitar o manejo. As aves foram colocadas em decúbito dorsal com a asa levemente flexionada para a punção na veia braquial (~50 µL), sendo o volume puncionado não superior a 1% do peso corporal do animal (BRAGA et al., 2010). Após a coleta, procedeu-se a inspeção por ectoparasitos e a análise da condição clínica das aves, que foram, logo em seguida, liberadas em seus recintos.

O sangue coletado foi particionado em duas alíquotas (~25 µL cada), uma delas utilizada para confecção de esfregaços sanguíneos e a outra para a análise molecular. Os esfregaços sanguíneos foram fixados em metanol absoluto por 3 minutos, secos ao ar e posteriormente corados com corante Giemsa diluídos em água destilada (1: 9) por 40 min (VALKIŪNAS et al., 2008). Os esfregaços, três por hospedeiro, foram examinados sob um microscópio de luz Olympus BX-51 em aumento de 1000X. Cem campos microscópicos de cada esfregaço foram analisados e quando nenhum parasito era observado, um segundo esfregaço também era examinado de modo a confirmar o resultado. O número de formas evolutivas de *Haemoproteus* spp. encontrado em cada

esfregaço foi registrado, sendo a prevalência da infecção calculada de acordo com os parâmetros ecológicos de BUSH et al. (1997). A parasitemia foi calculada para cada ave como proposto por GODFREY et al. (1987). As medidas morfométricas foram realizadas somente em gametócitos maduros e foram realizadas de acordo com VALKIŪNAS (2005), no software Image-Pro Plus® (Olympus), e a relação de deslocamento nuclear (NDR) dos eritrócitos infectados foi calculada pela fórmula: $NDR = 2x/(x+y)$, de acordo com BENNETT & CAMPBELL (1972), usando somente eritrócitos infectados por gametócitos maduros.

5.3.2 EXTRAÇÃO DO DNA, AMPLIFICAÇÃO POR *NESTED*-PCR E SEQUENCIAMENTO

O restante do sangue não utilizado na confecção dos esfregaços sanguíneos foi armazenado a -20° C até a realização das análises moleculares. A extração do DNA total das amostras o sangue foi realizado utilizando-se o Kit de Purificação de DNA Genômico Wizard® (Promega®, São Paulo, Brasil), seguindo o protocolo do fabricante. Após a extração, o DNA total foi quantificado em um espectrofotômetro (Nanodrop ND-2000®, Thermo Scientific, Wilmington, DE, EUA) e padronizado para uma concentração de 100 ng/ μ L. O gene mitocondrial do citocromo b (*cyt b*) foi amplificado por *nested*-PCR, gerando um fragmento de 479 bp. Na primeira reação foram utilizados os primers HaemFNI (5'- CATATATTAAGAGAAITATGGAG-3') e HaemNR3 (5'- ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC -3'), para amplificar o gene *cyt b* (618 pb) de parasitos dos gêneros *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, conforme proposto por HELLGREN et al. (2004). Na segunda reação foram utilizados os primers HaemF (5'- ATGGTGCTTTCGATATATGCATG-3') e HaemR2 (5'- GCATTATCTGGATGTGAT AATGGT-3'), específicos para os gêneros *Haemoproteus* e *Plasmodium*, como proposto por BENSCH et al. (2000). A primeira reação consistiu em um volume final de 25 μ L, sendo utilizado 12,5 μ L de solução Go Taq® Green Master Mix (Promega, MA, EUA), 2,5 μ L de cada oligonucleotídeo iniciador a uma concentração de 10 μ M (HaemFNI e HaemNR3), 5 μ L de DNA genômico e água deionizada para completar o volume até 25 μ L. Para a segunda reação foi utilizado 12,5 μ L de solução Go Taq® Green Master Mix (Promega, MA, EUA), 7,5 μ L de água deionizada, 1 μ L de cada primer (HaemF e HaemR2) e 3 μ L do produto da primeira reação. Foi utilizada a metodologia de amplificação sugerida por HELLGREN

et al. (2004) com pequenas modificações, consistindo em uma desnaturação a 94° C por 3 min, seguida por 35 ciclos de amplificação a 94° C por 30s, 52° C por 30s, 72° C por 45s e extensão final a 72° C por 10 min. As mesmas condições também foram usadas na segunda reação. Os produtos de amplificação foram confirmados por eletroforese em gel, utilizando-se 5 µl do produto da segunda reação juntamente com 2 µl de Blue Green Loading Dye I (LGC Biotecnologia®, São Paulo, Brasil) em gel de agarose 2% (Invitrogen®, Califórnia, EUA), visualizados sob luz ultravioleta. Como controle negativo, utilizou-se nuclease-free water sem adição de nenhum DNA nas reações de amplificação e como controle positivo usamos o DNA extraído de uma amostra de *Plasmodium (Haemamoeba) gallinaceum*. Os produtos amplificados foram purificados usando o kit de purificação ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup Reagent (Applied Biosystems®, EUA), de acordo com as instruções do fabricante e sequenciados em ambas as direções com o conjunto de primers HaemF e HaemR2 (BENSCH et al., 2000) no sequenciador automático ABI 3130XL (Applied Biosystems®, CA, EUA). Foram amplificados e sequenciados hemossporídeos de onze amostras de aves positivas no exame microscópico.

5.3.3 ANÁLISES FILOGENÉTICAS E DELIMITAÇÃO COMPUTACIONAL DE ESPÉCIES

As onze sequências referentes ao gene *cyt b* geradas no presente estudo foram editadas no software AlienTrimmer v. 0.4.0 (CRISCUOLO; BRISSE, 2013) para retirada dos *primers* de cada fita independente. Posteriormente, as sequências consenso foram geradas na plataforma Emboss Explorer (BELL; KRAMVIS, 2013). A seguir, as novas sequências foram incorporadas a um *dataset* com 89 sequências identificadas à nível específico (morfoespécies), obtidas nos bancos de dados GenBank (BENSON et al., 2013) e MalAvi (BENSCH et al., 2009) em agosto/2019. O *dataset* foi elaborado incluindo representantes da ordem Haemosporida, família Haemoproteidae (n = 96), família Plasmodiidae (n = 3) e família Leucocytozoidae (n = 1), sendo essa última utilizada como grupo externo, totalizando um *dataset* com 100 sequências. O alinhamento foi realizado utilizando-se o programa MAFFT v. 7.0 (KATO et al., 2019), e editado no programa Gblocks (TALAVERA; CASTRESANA, 2007), a fim de eliminar sítios pobremente alinhados, resultando em uma matriz de 474 pb. Para a seleção do modelo ótimo de sequências evolutivas, o conjunto de dados foi analisado

pelo modelo JModel-Test v. 2.1.4 (DARRIBA et al., 2012) na plataforma MEGA X (KUMAR et al., 2018), obtendo-se o modelo de evolução de sequência GTR + G + I. A análise de Inferência Bayesiana foi concluída após um trilhão de gerações em duas simulações simultâneas e independentes de Markov Chain Monte Carlo, excluindo 25% das árvores geradas como *burn-in*. Tal análise foi realizada no programa MrBayes no XSEDE v. 3.2.6 (RONQUIST et al., 2012), disponível no Portal CIPRES (MILLER et al., 2010).

Para a delimitação computacional das espécies utilizou-se um dataset formado pelas sequências geradas no presente trabalho, bem como todas as linhagens de *Haemoproteus* spp. (n=1419), disponíveis no banco de dados MalAvi (BENSCH et al., 2009), em agosto/2019. A espécie *Leucocytozoon buteonis* foi usada como outgroup. Procedeu-se o alinhamento e edição do dataset por meio da mesma metodologia descrita acima. A inferência filogenética das linhagens de *Haemoproteus* spp. foi conduzida sob análise de Máxima Verossimilhança implementada no software RaxML (STAMATAKIS, 2014). Utilizando-se a filogenia obtida no RaxML como *input*, foi avaliado o status taxonômico das linhagens utilizando o algoritmo de delimitação computacional de espécies Poisson Tree Process (PTP) (ZHANG et al., 2013), disponível no Portal MPTP (KAPLI et al., 2017). O algoritmo PTP foi projetado para analisar sequências moleculares de *locus* único e modelos de especiação em unidades de substituição *locus*, o que pressupõe que o número de substituições entre as espécies é maior que o número de substituições dentro das espécies (ZHANG et al., 2013).

5.3.4 NECROPSIA E HISTOPATOLOGIA

Para identificar os locais dos estágios exoeritrocíticos e as possíveis alterações causadas pelo ciclo exoeritrocítico de *Haemoproteus* spp. nos órgãos das aves foram coletadas amostras do fígado, pulmão, coração, rim, cérebro, baço e músculo esquelético de oito corujas que vieram naturalmente a óbito durante a fase de coleta de dados desse estudo. Esses órgãos são reconhecidamente locais de ocorrência dos estágios exoeritrocíticos dos hemosporídeos do gênero *Haemoproteus* (TOSTES et al., 2015; VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2017; VANSTREELS et al., 2015). A necropsia foi realizada no menor tempo possível após a constatação do óbito. Os tecidos foram inspecionados macroscopicamente e as amostras foram acondicionadas em formalina tamponada neutra a 10% para exame histopatológico. Os tecidos fixados foram

desidratados em banhos de álcool etílico em concentrações crescentes (70%, 90% e absoluto), clarificados em xileno e embebidos e emblocados em parafina. Posteriormente as amostras foram seccionadas a 4 µm, coradas com hematoxilina-eosina e montadas entre lâmina e lamínula de vidro. As secções de todos os órgãos foram examinadas sob um microscópio de luz BX-51 Olympus (10X, 40X, 60X e 100X).

5.4 RESULTADOS

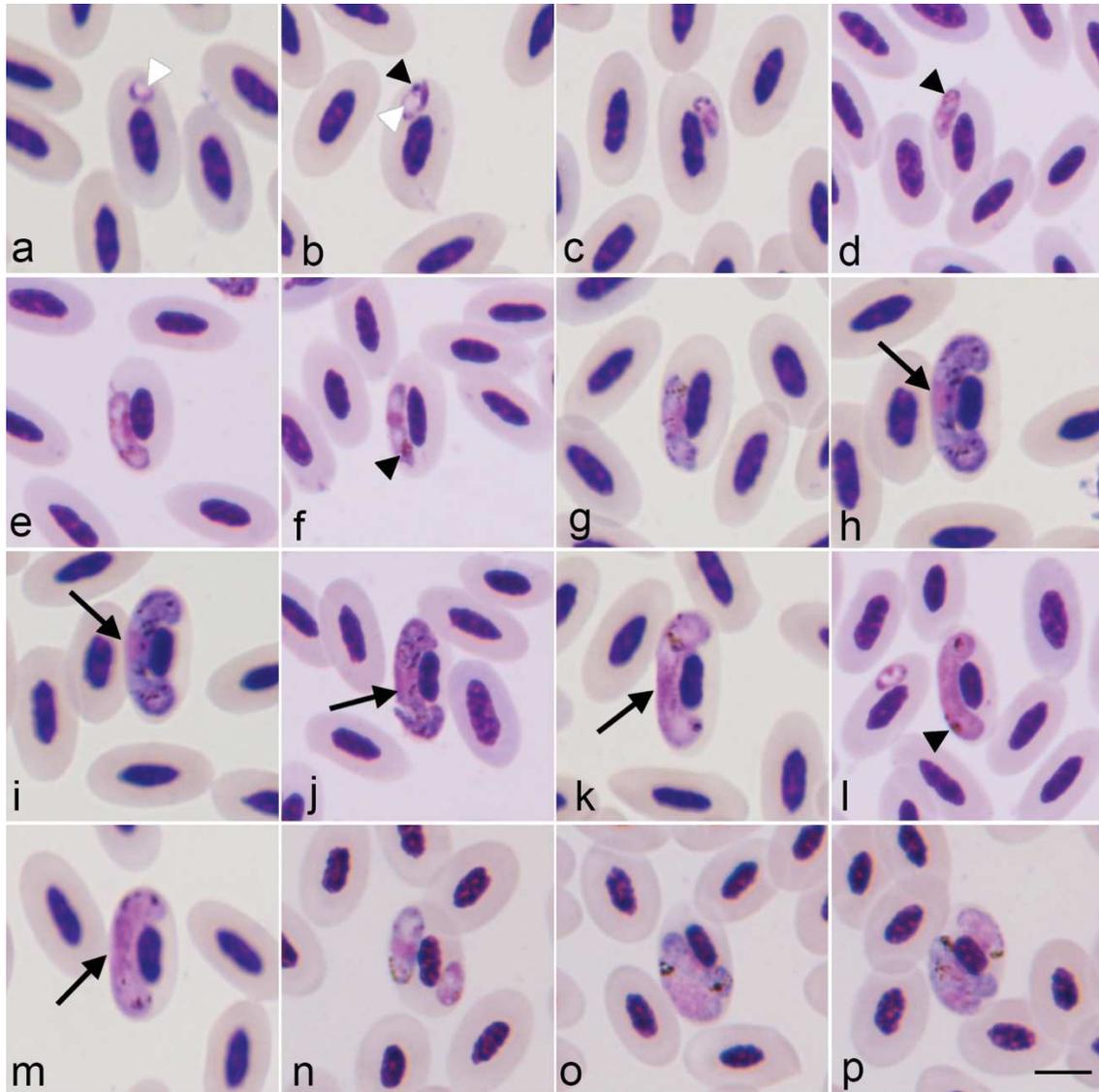
Um total de 54 corujas neotropicais foi avaliado nesse estudo obtendo-se prevalência total da infecção por hemosporídeos pela análise microscópica de 72,22% (39/54). A espécie *Pulsatrix koenigswaldiana* foi a coruja com maior prevalência (100%; 4/4), seguida por *Asio clamator* (83,33%; 10/12), *Athene cunicularia* (80%; 4/5), *Megascops choliba* (64,29%; 18/28) e *Glaucidium brasilianum* (60%; 3/5). A parasitemia nas 39 corujas variou de 0,02 a 20,53%, sendo a parasitemia média calculada em 1,03%. A mais alta parasitemia média por espécie foi registrada em *M. choliba* (1,40%), seguida por *A. clamator* (1,24%), *A. cunicularia* (0,15%), *P. koenigswaldiana* (0,14%) e *G. brasilianum* (0,12%). A maioria das aves apresentou baixa parasitemia (<0,2%), porém, dois espécimes de *M. choliba* apresentaram surpreendentes parasitemias de 17,04% e 20,53%. Não houve diferença significativa na prevalência da infecção entre os períodos seco (40,7%) e chuvoso (59,3%) ($p = 0,34$).

As análises morfológicas dos haemosporídeos encontrados nos esfregaços sanguíneos demonstraram que 15 corujas estavam parasitadas por *Haemoproteus syrniai*. A identificação das espécies foi feita encontrando estágios maduros de desenvolvimento do parasito nos esfregaços sanguíneos. Estas amostras foram depositadas na Coleção do Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, sob os códigos: H_CT_BL_005.1_ASICLA01; H_CT_BL_041.1_ASICLA02; H_CT_BL_052.1_ASICLA03; H_CT_BL_020.1_ATHCUN01; H_CT_BL_008.1_MEGCHO01; H_CT_BL_019.1_MEGCHO02; H_CT_BL_075.1_MEGCHO03; H_CT_BL_025.1_GLABRA01; H_CT_BL_099.1_PULKOE01. Este é o primeiro relato de *H. syrniai* infectando as espécies de corujas *Pulsatrix koenigswaldiana*, *Glaucidium brasilianum* e *Athene cunicularia*, além do registro que demonstrou a mais alta parasitemia por *H. syrniai* na ordem Strigiformes. Em nenhuma das amostras foi verificada a presença de

gametócitos de outras espécies de parasitos, de modo a não ser detectada a ocorrência de coinfeção no material analisado.

As formas imaturas dos gametócitos de *Haemoproteus* foram as mais presentes nos esfregaços sanguíneos (Figuras 1a-g). Macrogametócitos e microgametócitos maduros foram registrados em 16,7% das aves parasitadas. As análises morfológicas de todos os estágios de desenvolvimento dos parasitos haemosporidianos observados nos esfregaços sanguíneos demonstram que a população de *H. syrniai* encontrada nas corujas deste estudo possui grande semelhança morfológica com aquelas descritas parasitando a coruja *Strix aluco* (BISHOP; BENNETT, 1989; KARADJIANE et al., 2003). Os gametócitos imaturos apresentaram-se alongados e se desenvolveram em posição lateral ao núcleo do eritrócito, sem contato com este (Figura 1c-g). Grânulos de volutina estavam presentes em algumas formas jovens, ocupando a região polar do gametócito (Figura 1f). Os gametócitos maduros se mostraram alongados, no formato de halter, se curvando ao redor do núcleo do eritrócito, porém sem englobá-lo completamente (Figura 1h-m). A média de grânulos de pigmento de hemozoína era maior nos microgametócitos do que nos macrogametócitos. Os grânulos tendiam a se concentrar nos pólos dos parasitos (Figura 1k-m). Nos macrogametócitos, os pigmentos estão distribuídos por todo o citoplasma, no qual vários vacúolos pequenos foram encontrados (Figura 1h-j). Foi constante a presença de dois e até mesmo três gametócitos de *H. syrniai* parasitando um mesmo eritrócito. Na maioria das vezes essa poli-infecção era formada por dois macrogametócitos, mas registraram-se também dois microgametócitos no mesmo eritrócito ou poli-infecção por macro e microgametócitos (Fig. 1 n-p). Essa condição promoveu visualmente alteração morfológica da membrana da célula e o deslocamento do seu núcleo. As medidas morfométricas da população de *H. syrniai* foram obtidas das aves com maiores parasitemias (*M. choliba* e *A. clamator*) e com a presença de macro e microgametócitos totalmente crescidos (Tabela 1).

Figura 1 - *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *synnii* no sangue de *Megascops choliba* (sequência MEGCHO03; d, e, f, j, l) e *Asio clamator* (sequência ASICLA01; a-c, g-i, k, m-p). Gametócitos jovens (a-g). Macrogametócitos (h-j). Microgametócitos (k-m). Infecção dupla por macro e microgametócitos (n-o). Infecção tripla por macro e microgametócitos (p). Setas grandes indicam núcleos de parasitos; cabeças de setas pretas indicam grânulos de volutina; cabeças de setas brancas indicam vacúolo. Barra = 5 μ m.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 1 - Morfometria comparativa dos gametócitos maduros de *Haemoproteus syrnii* parasitando eritrócitos aviários. *N* representa o número de células mensuradas.

Medidas	Hospedeiro	Presente estudo <i>Asio clamator</i> (<i>N</i> = 15) ^a	Presente estudo <i>Megascops choliba</i> (<i>N</i> = 15) ^a	BISHOP & BENNETT, 1989 <i>Strix aluco</i> (<i>N</i> = 10 ~ 65 ^b)	VALKIŪNAS, 2005 <i>Strix uralensis</i> (<i>N</i> = 17 ~ 31 ^c)
Eritrócito não-infectado					
Comprimento		11,11 – 14,00 (12,53 ± 0,63)	11,65 – 14,31 (12,59 ± 0,77)	13,0 (0,7)	11,4 – 15,0 (13,4 ± 0,7)
Largura		6,52 – 8,12 (7,31 ± 0,50)	6,92 – 8,98 (7,68 ± 0,60)	7,7 (0,3)	6,3 – 8,6 (7,4 ± 0,2)
Área		66,03 – 85,21 (72,39 ± 5,03)	66,92 – 88,25 (74,43 ± 6,21)	79,5 (5,4)	não mensurado
Núcleo do eritrócito não-infectado					
Comprimento		4,84 – 6,34 (5,66 ± 0,37)	5,03 – 6,23 (5,51 ± 0,35)	5,6 (0,4)	4,0 – 7,7 (5,3 ± 0,1)
Largura		2,10 – 3,55 (2,85 ± 0,37)	2,34 – 3,76 (2,69 ± 0,43)	2,8 (0,2)	2,0 – 3,5 (2,5 ± 0,1)
Área		12,02 – 15,49 (14,05 ± 1,06)	11,47 – 14,67 (12,34 ± 1,13)	12,5 (1,4)	não mensurado
Eritrócito infectado por macrogametócito					
Comprimento		10,80 – 14,29 (12,95 ± 0,86)	12,44 – 14,34 (13,36 ± 0,65)	14,2 (1,0)	11,9 – 16,0 (14,0 ± 0,9)
Largura		6,16 – 8,77 (7,18 ± 0,79)	6,38 – 9,02 (8,08 ± 0,77)	7,7 (0,5)	6,4 – 8,8 (7,3 ± 0,4)
Área		60,59 – 90,05 (78,67 ± 8,05)	76,96 – 96,36 (82,85 ± 5,81)	87,3 (8,3)	não mensurado
Núcleo do eritrócito infectado					
Comprimento		4,23 – 5,24 (4,85 ± 0,28)	4,57 – 5,62 (5,00 ± 0,32)	5,0 (0,5)	3,0 – 6,1 (4,4 ± 0,2)
Largura		2,20 – 3,16 (2,66 ± 0,22)	2,53 – 3,20 (2,82 ± 0,19)	2,8 (0,3)	2,0 – 3,4 (2,2 ± 0,1)
Área		8,88 – 15,21 (11,25 ± 1,45)	11,19 – 14,17 (12,99 ± 0,92)	11,6 (1,5)	não mensurado
Macrogametócito					
Comprimento		12,29 – 15,51 (14,03 ± 0,97)	12,76 – 15,84 (14,46 ± 0,93)	15,7 (1,1)	12,4 – 18,8 (15,0 ± 1,1)
Largura		1,93 – 3,00 (2,28 ± 0,27)	1,92 – 3,09 (2,34 ± 0,36)	3,1 (0,5)	2,7 – 4,8 (3,8 ± 0,4)
Área		27,47 – 38,08 (32,95 ± 3,38)	29,63 – 41,77 (36,70 ± 3,73)	53,8 (4,8)	não mensurado
Núcleo do macrogametócito					
Comprimento		2,31 – 3,26 (2,92 ± 0,26)	1,84 – 3,84 (3,27 ± 0,50)	3,3 (0,8)	2,1 – 4,1 (3,3 ± 0,3)
Largura		1,10 – 1,94 (1,58 ± 0,27)	1,28 – 2,72 (1,72 ± 0,43)	2,2 (0,4)	1,0 – 3,0 (2,0 ± 0,2)
Área		3,51 – 6,97 (4,46 ± 1,07)	4,24 – 7,25 (5,31 ± 0,78)	5,7 (1,0)	não mensurado
Nº. de grânulos de pigmento		7 – 16 (12 ± 2,60)	11 – 17 (15 ± 1,97)	20,6 (5,1)	13 – 26 (18,6 ± 3,3)
NDR ^d		0,59 – 0,91 (0,76 ± 0,10)	0,64 – 0,92 (0,80 ± 0,09)	0,6 (0,2)	0,2 – 0,7 (0,5 ± 0,1)

Eritrócito infectado por microgametócito				
Comprimento	11,88 – 15,75 (13,82 ± 0,85)	11,54 – 15,64 (13,49 ± 1,13)	14,0 (1,0)	11,9 – 16,4 (14,2 ± 0,8)
Largura	6,55 – 9,17 (7,76 ± 0,84)	7,08 – 8,77 (8,04 ± 0,58)	7,9 (0,5)	6,4 – 9,0 (6,9 ± 0,5)
Área	74,22 – 96,64 (84,01 ± 6,68)	78,76 – 102,92 (89,07 ± 7,95)	89,3 (7,9)	não mensurado
Núcleo do eritrócito infectado				
Comprimento	4,47 – 5,95 (5,27 ± 0,44)	4,42 – 6,3 (5,38 ± 0,47)	5,2 (0,5)	4,0 – 6,4 (5,0 ± 0,2)
Largura	2,35 – 3,11 (2,71 ± 0,24)	2,37 – 3,24 (2,80 ± 0,24)	2,9 (0,3)	1,4 - 2,6 (2,0 ± 0,1)
Área	10,28 – 14,95 (12,63 ± 1,36)	9,78 – 15,26 (13,64 ± 1,33)	12,1 (1,3)	não mensurado
Microgametócito				
Comprimento	10,50 – 17,00 (13,58 ± 1,71)	11,39 – 15,62 (13,64 ± 1,33)	15,3 (1,7)	12,0 – 16,9 (13,8 ± 1,0)
Largura	1,20 – 3,02 (2,24 ± 0,45)	1,69 – 3,62 (2,66 ± 0,58)	3,5 (0,6)	2,7 – 4,6 (3,7 ± 0,5)
Área	26,69 – 42,61 (33,73 ± 4,77)	30,37 – 48,31 (36,46 ± 4,07)	53,9 (5,2)	não mensurado
Núcleo do microgametócito				
Comprimento	4,58 – 9,43 (7,31 ± 1,49)	4,13 – 9,66 (7,09 ± 1,73)	5,6 (1,1)	5,5 – 11,1 (8,0 ± 0,4)
Largura	1,25 – 2,69 (1,84 ± 0,46)	1,38 – 3,78 (1,96 ± 0,72)	3,2 (0,4)	1,6 – 4,2 (3,1 ± 0,2)
Área	7,55 – 18,59 (12,88 ± 3,62)	8,44 – 22,68 (14,06 ± 3,72)	14,9 (2,9)	não mensurado
Nº. de grânulos de pigmento	10 – 19 (12 ± 2,64)	10 – 20 (17 ± 3,23)	15,2 (6,0)	11 – 22 (15,1 ± 2,9)
NDR ^d	0,57 – 1,05 (0,81 ± 0,12)	0,54 – 0,98 (0,79 ± 0,11)	0,6 (0,2)	0,2 - 0,6 (0,4 ± 0,1)

^a Todas as medidas são dadas em valores mínimos e máximos, seguidas entre parênteses pela média aritmética e desvio padrão. O trabalho de BISHOP & BENNETT (1989) trouxe apenas a média e o desvio padrão (entre parênteses), sem medidas máximas ou mínimas.

^b Eritrócito não infectado e núcleo do eritrócito não infectado ($n = 50$); eritrócito infectado com macrogametócito, núcleo eritrócito infectado com macrogametócito, macrogametócito e núcleo do macrogametócito ($n = 65$); eritrócito infectado com microgametócito, núcleo eritrócito infectado com microgametócito e microgametócito ($n = 20$); núcleo microgametócito ($n = 10$).

^c Eritrócito não infectado e núcleo eritrócito não infectado ($n = 31$); eritrócito infectado com macrogametócito, núcleo eritrócito infectado com macrogametócito, macrogametócito e núcleo macrogametócito ($n = 24$); eritrócito infectado com microgametócito, núcleo eritrócito infectado com microgametócito, microgametócito e núcleo microgametócito ($n = 17$).

^d Média e desvio padrão da razão de deslocamento nuclear (NDR) dos eritrócitos infectados, calculada de acordo com a fórmula: $NDR = 2x/(x+y)$ (BENNETT, CAMPBELL, 1972).

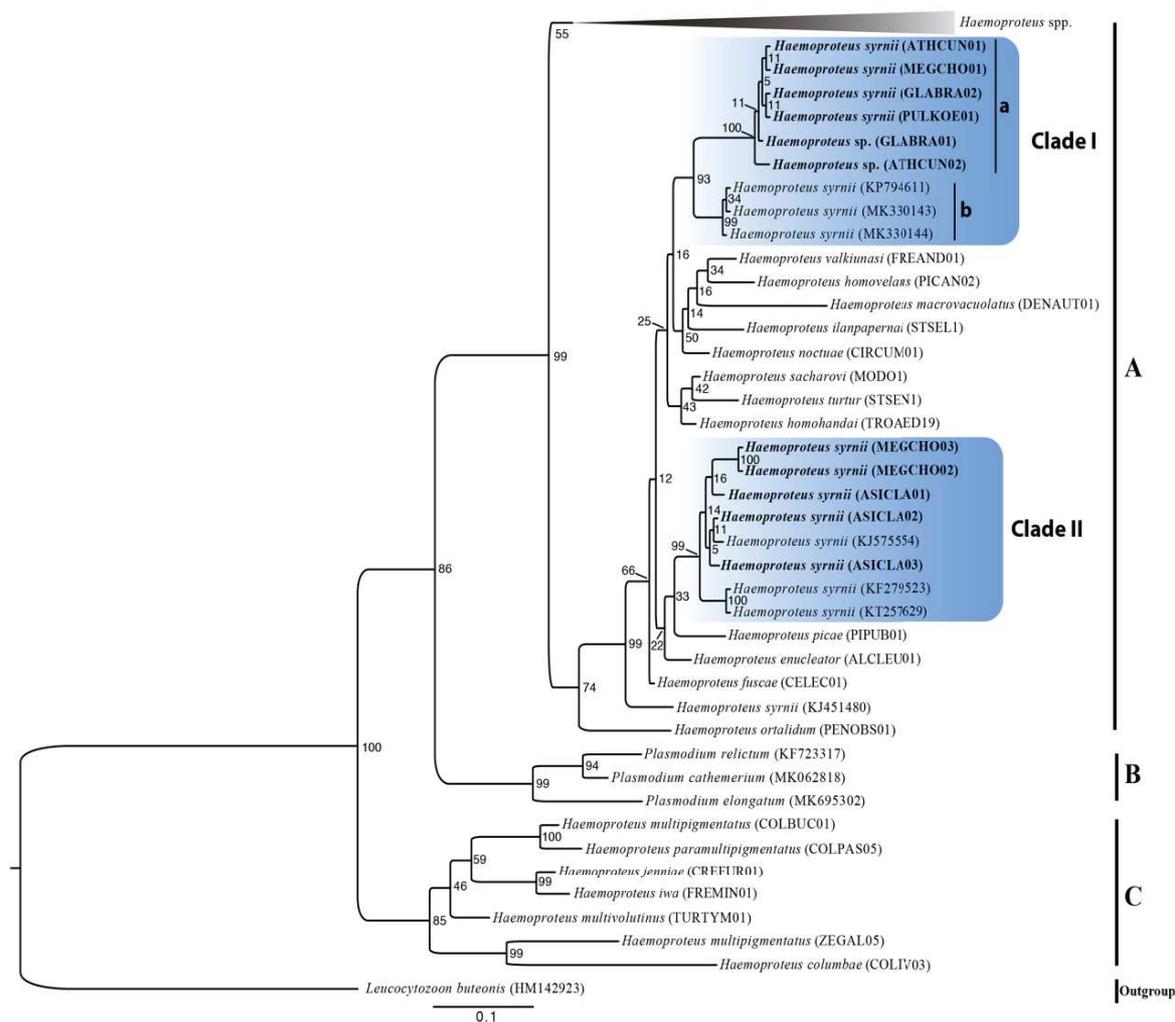
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Todas as amostras positivas na microscopia que após análise microscópica foram identificadas como *H. syrnii* foram testadas para amplificação do gene mitocondrial *cyt b*, sendo obtidas onze sequências após o processamento molecular, assim nomeadas de acordo com as três primeiras letras do gênero e epíteto da espécie aviária: ASICLA01, ASICLA02, ASICLA03, MEGCHO01, MEGCHO02, MEGCHO03, ATHCUN01, ATHCUN02, GLABRA01, GLABRA02 e PULKOE01 (Figura 2).

Após a análise de divergência genética verificou-se que houve 100% de similaridade entre as sequências MEGCHO02 e MEGCHO03, e também entre as sequências ATHCUN01, GLABRA01, GLABRA02, MEGCHO01 e PULKOE01. As outras sequências foram todas diferentes entre si (Figura 3). Dessa forma, registra-se seis novas linhagens de *H. syrnii* em corujas neotropicais, visto que em análise do BLAST (Portal NCBI) nenhuma deles obteve 100% de identidade com as linhagens disponíveis nos bancos de dados.

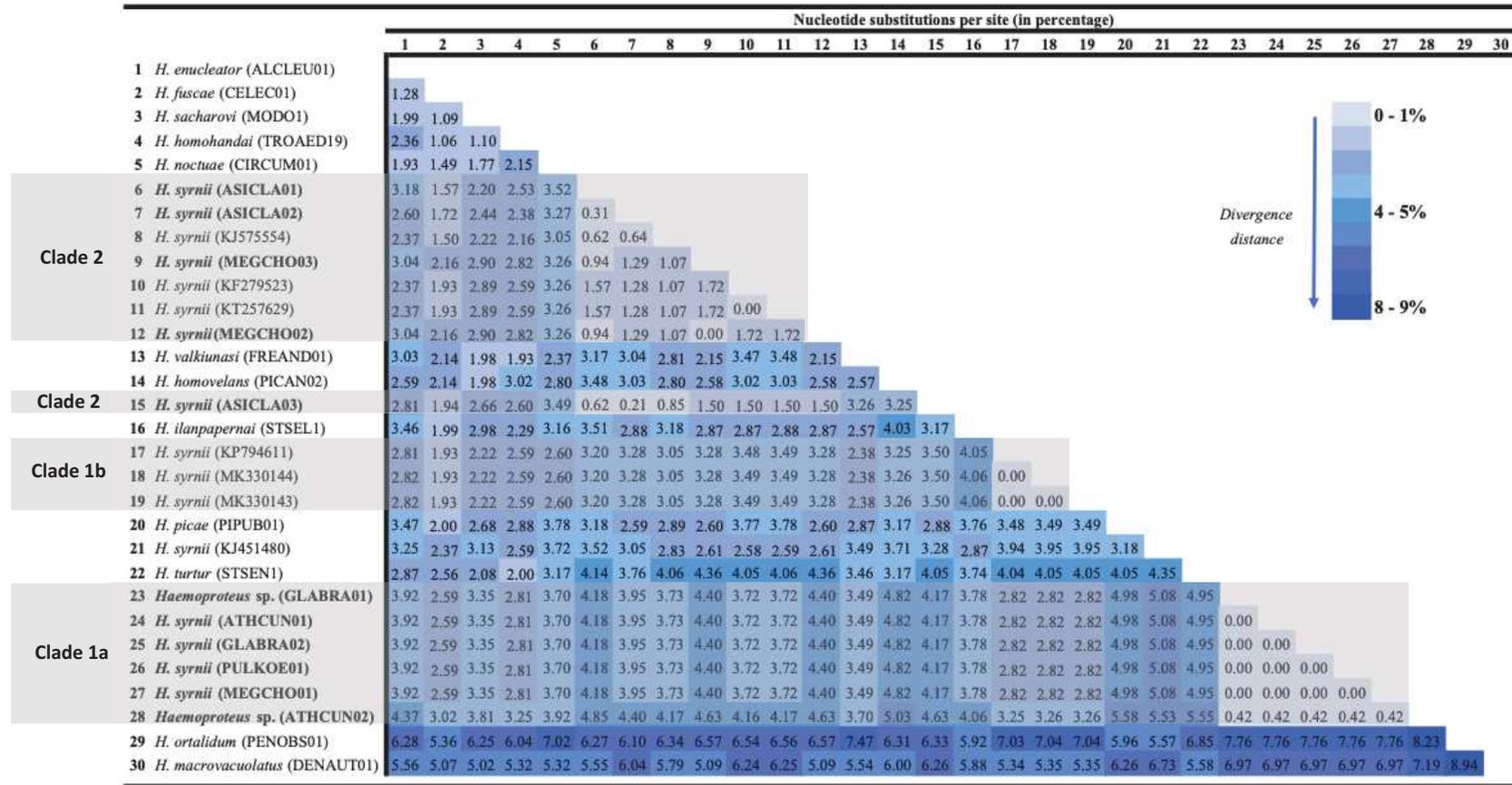
Na reconstrução filogenética pela Inferência Bayesiana baseada no marcador *cyt b*, contendo representantes do gênero *Haemoproteus*, além de *Leucocytozoon buteonis* como grupo externo, as novas sequências de *H. syrnii* obtidas nesse estudo estão agrupadas em dois clados distintos bem suportados, clado I (93%) e clado II (99%). Os clados I e II contendo representantes de *H. syrnii* não formam um agrupamento monofilético, havendo outras espécies de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) entre esses clados (Figura 2). O clado I possui dois grupos distintos (I-a e I-b), sendo um formado pelas novas linhagens sequenciadas neste estudo (clado I-a: ATHCUN01, MEGCHO01, GLABRA02, PULKOE01 GLABRA02 e, ATHCUN02) com outras previamente depositas nos bancos de dados (clado I-b: KP794611, MK330143 e MK330144); e o clado II contendo novas linhagens sequenciadas neste estudo (MEGCHO03, MEGCHO02, ASICLA01, ASICLA02 e ASICLA03), bem como sequências previamente depositadas nos bancos de dados (KJ575554, KF279523 e KT257629). Somente uma linhagem de *H. syrnii* (KJ451480) não se agrupou nos clados I-a e I-b (Figura 2). Dentro dos clados I-a e I-b a divergência genética média foi de 2,89%; entre I-a e II de 4,1% e entre I-b e II de 3,19%. Entretanto, a divergência genética média entre clados I e II variou entre 3,05% e 4,85%, com uma média de 3,84%, o que ressalta a possibilidade de se tratar de duas espécies distintas, ou seja, um possível caso de especiação críptica (Figura 3).

Figura 2 - Filogenia Bayesiana baseada no gene *cyt b* de linhagens de espécies de Haemosporida. *Leucocytozoon buteonis* foi usado como *outgroup* (O). Os valores de suporte dos nós (em porcentagem) indicam as probabilidades posteriores. As linhagens parasitárias utilizadas nesta filogenia foram obtidas dos bancos de dados GenBank e MalAvi, cujos números de acesso estão entre parênteses. O grupo colapsado contém 59 espécies de *Haemoproteus*. As barras verticais indicam grupos de espécies estreitamente relacionadas pertencentes aos gêneros *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) (A), *Plasmodium* (B) e *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) (C). As linhagens dos parasitos encontrados neste estudo são destacadas em negrito e os blocos azuis indicam os clados em que se agrupam. A barra de escala corresponde a dez substituições por 100 nucleotídeos. ASICLA = *Asio clamator*; MEGCHO = *Megascops choliba*; ATHCUN = *Athene cunicularia*; GLABRA = *Glaucidium brasilianum*; PULKOE = *Pulsatrix koenigswaldiana*.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 3 - Estimativas de divergência evolutiva baseadas no gene parcial do *cyt b* para *Haemoproteus* spp. O número de substituições de bases por *locus* é demonstrado em porcentagens. As linhagens dos parasitos utilizadas neste estudo são destacadas em negrito, bem como os clados em que se agrupam, conforme a árvore filogenética.



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Para melhor investigar a separação dos clados I e II na árvore filogenética e o diagnóstico de uma potencial espécie críptica foi realizada a delimitação computacional de espécies, visto relatos prévios já ocorridos no gênero *Haemoproteus* (CLARK et al., 2015; NILSSON et al., 2016). O algoritmo PTP recuperou quatro evolutionarily significant unit (ESU) para a espécie *H. syrniai*, o que amplia a evidência de especiação entre representantes atuais com morfologia semelhante a *H. syrniai* (BISHOP, BENNETT, 1989; KARADJIANE et al., 2013). As sequências obtidas nesse estudo se agruparam em duas ESU's diferentes, uma delas contendo as nossas linhagens (ESU 1): MEGCHO02, MEGCHO03, ASICLA01, ASICLA02 e ASICLA03, juntamente com três linhagens de *H. syrniai* morfologicamente identificadas (KJ575554, KF279523 e EF607290) e 14 linhagens não identificadas (STOCC01, STAL4, STRURA02, ASOT07, STRURA03, STVAR03, STVAR01, CAMRUB02, THAFUR01, COECO01, CAMRUB01, PSDIS01, STVAR08 e STVAR02) e a outra (ESU 3) contendo apenas as sequências desse estudo, sendo: GLABRA01, GLABRA02, ATHCUN01, PULKOE01, MEGCHO01 e ATHCUN02. As outras duas ESU's delimitadas (ESU 2 e 3) para *H. syrniai* agruparam-se da seguinte forma: uma delas formada pela linhagem de *H. syrniai* (KJ451480) e duas linhagens não identificadas em nível específico (OTULET01 e OTUSUN01), e a outra pelas linhagens de *H. syrniai* (MK330144, MK330143 e KP794611) e duas linhagens não identificadas em nível específico (STRURA01 e PLAMIN01) (Anexo B).

Todas as linhagens de *H. syrniai* obtidas em nosso estudo e nos bancos de dados genéticos foram encontradas em hospedeiros da ordem Strigiformes demonstrando alta especificidade parasitária com este grupo de aves. O presente estudo expande dados sobre a distribuição geográfica de *H. syrniai* e corrobora observação de KARADJIAN et al. (2013) sobre a ampla distribuição geográfica deste hemoparasito. Não foi observada separação geográfica entre os representantes das linhagens contidas nos clados I e II, visto que nos dois clados existem linhagens que ocorrem no Brasil (presente estudo), Europa e Ásia (Tabela 2).

Tabela 2 - Linhagens de *Haemoproteus syrnii* do presente estudo e disponíveis nos bancos de dados genéticos (MalAvi e GenBank) com seus respectivos locais de coleta e hospedeiros.

Linhagem	Hospedeiro	Local de coleta	Análise morfológica
Clado I			
ATHCUN01	<i>Athene cunicularia</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
MEGCHO01	<i>Megascops choliba</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
GLABRA02	<i>Glaucidium Brazilianum</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
PULKOE01	<i>Pulsatrix koenigswaldiana</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
GLABRA01	<i>Glaucidium Brazilianum</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Não
ATHCUN02	<i>Athene cunicularia</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Não
KP794611	<i>Strix aluco</i>	Rússia ^[2]	Sim
MK330143	<i>Strix uralensis</i>	Áustria ^[3]	Não
MK330144	<i>Strix uralensis</i>	Áustria ^[3]	Não
Clado II			
MEGCHO03	<i>Megascops choliba</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
MEGCHO02	<i>Megascops choliba</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
ASICLA01	<i>Asio clamator</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
ASICLA02	<i>Asio clamator</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
KJ575554	<i>Megascops choliba</i>	São Paulo, Brasil ^[4]	Não
ASICLA03	<i>Asio clamator</i>	Juiz de Fora, Brasil ^[1]	Sim
KF279523	<i>Strix aluco</i>	França ^[5]	Sim
KT257629	<i>Strix aluco</i>	França ^[5]	Sim

^[1] Presente estudo. ^[2] BUKAUSKAITĖ et al., 2015 ^[3] HIMMEL et al., 2019. ^[4] VANSTREELS et al., 2014. ^[5] KARADJIAN et al., 2013.

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Em nosso estudo foram necropsiadas oito corujas que vieram a óbito naturalmente no Cetaz-JF, sendo três da espécie *Asio clamator*, quatro *Megascops choliba* e uma *Athene cunicularia*. Histopatologicamente verificou-se a presença de megalomerontes no músculo peitoral esquelético (Figura 4-5) e merontes no citoplasma das células endoteliais pulmonares (Figura 6). Os megalomerontes eram ovais, com parede espessa e mediam 112,5 µm por 116,2 µm. Eles continham milhares de merozoítos internamente ao citômero, que não são bem visíveis devido à maturação proeminente deste parasito, mas presentes. Os merontes também eram ovais, com parede fina e mediam 6,0 µm por 8,5 µm. As lâminas dos tecidos com os estágios de merogonia exoeritrocítica foram depositadas na Coleção do Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora sob os códigos:

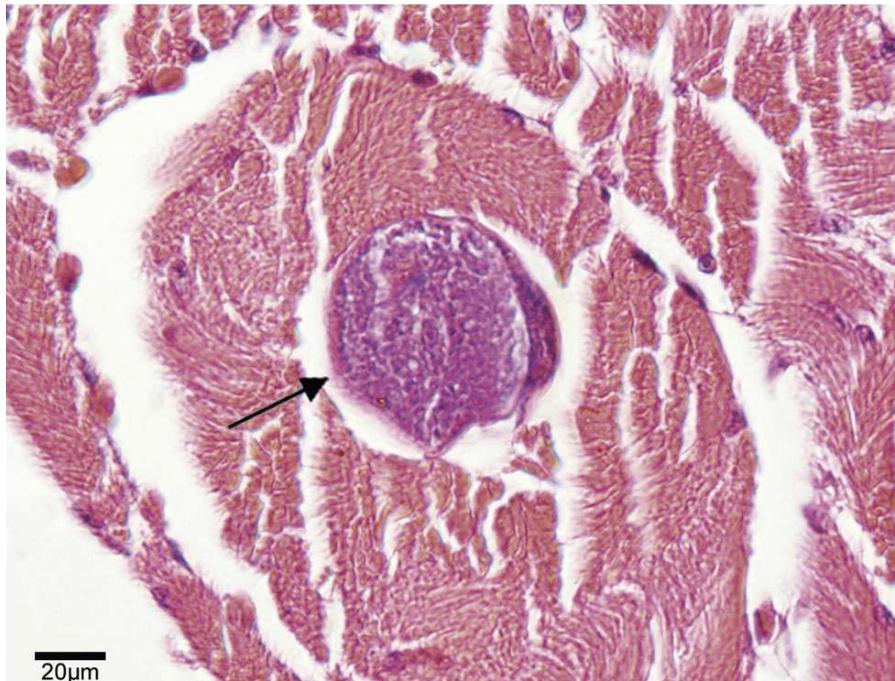
H_CT_TS_075.1_MEGCHO03 e H_CT_TS_075.2_MEGCHO03. Várias seções do coração, fígado, cérebro, olhos, rins e baço foram exaustivamente analisadas e não foram encontradas lesões teciduais, nem merontes ou megaloerontes exoeritrocíticos. A ave com maior parasitemia (17,04%; sequência MEGCHO03), apresentou hemorragia e congestão pulmonar, esteatose hepática e *H. syrnii* em eritrócitos dos vasos sanguíneos do fígado (Figura 7), porém, não havia nenhuma evidência de inflamação ou outra lesão que pudesse estar diretamente associada ao parasito. A Tabela 3 descreve os achados clínicos e histopatológicos verificados, assim como a parasitemia em cada ave.

Figura 4 - Achado histológico em *Megascops choliba* infectada com *Haemoproteus syrnii* (sequência MEGCHO03). Megalomeronte oval maduro no músculo peitoral esquelético (seta). Observe que o megalomeronte é cercado por uma parede espessa e contém inúmeros merozoítos internamente ao citômero.



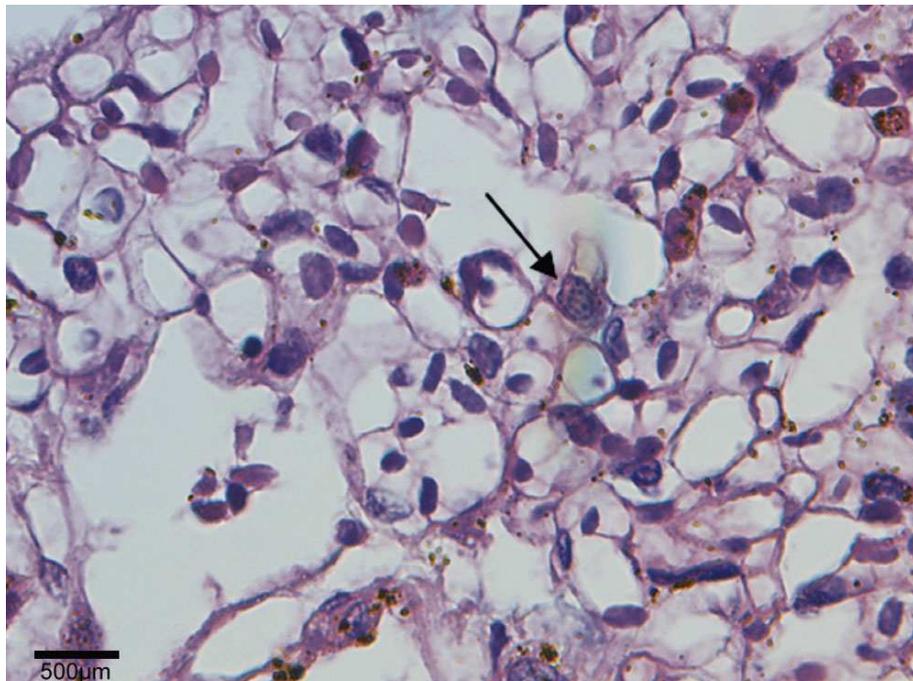
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 5 - Achado histológico em *Megascops choliba* infectada com *Haemoproteus syrnii* (sequência MEGCHO03). Ampliação do megalomeronte oval maduro encontrado no músculo peitoral esquelético (seta).



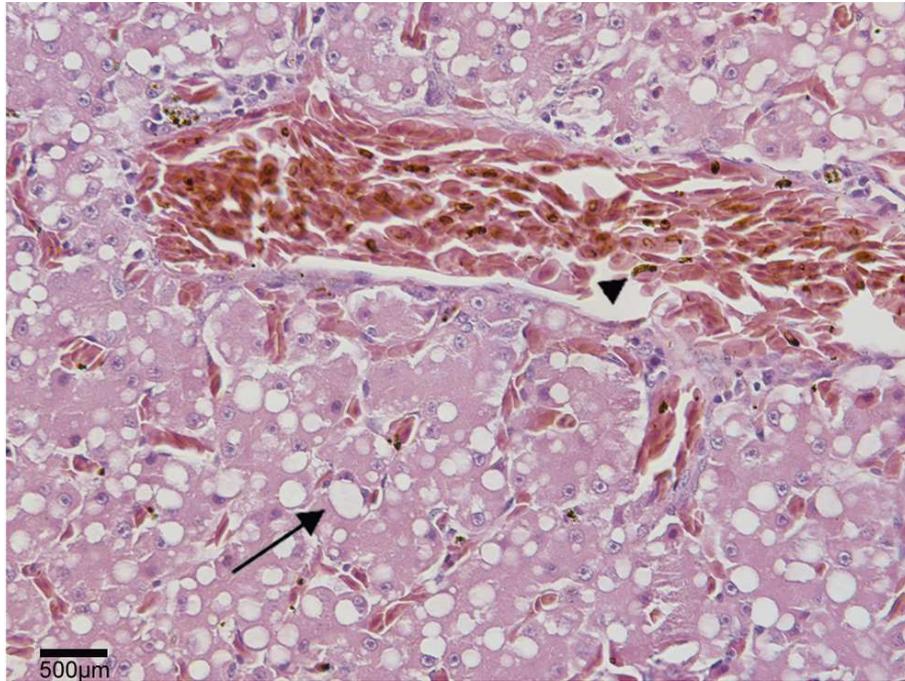
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 6 - Achado histológico em *Megascops choliba* infectada com *Haemoproteus syrnii* (sequência MEGCHO03). Pequeno meronte maduro no pulmão (seta).



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Figura 7 - Achado histológico em *Megascops choliba* infectada com *Haemoproteus syrnii* (sequência MEGCHO03). Esteatose hepática (seta) e grande número de eritrócitos infectados pelo parasito dentro do vaso sanguíneo do fígado (cabeça de seta).



Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

Tabela 3 - Corujas necropsiadas: parasitemia, alterações clínicas e histopatológicas.

Linhagem de <i>Haemoproteus</i>	Hospedeiro	Parasitemia	Exame clínico	Alterações histopatológicas
ASICLA03	<i>Asio clamator</i>	0,73	Sem alteração clínica	Alterações microscópicas não específicas ou sem significado clínico
MEGCHO03	<i>Megascops choliba</i>	17,04	Apatia, letargia, anorexia	Megalomerontes no músculo peitoral esquelético, merontes no citoplasma das células endoteliais pulmonares, esteatose hepática, hemorragia, congestão pulmonar
MEGCHO04	<i>Megascops choliba</i>	0	Sem alteração clínica	Ausentes
ASICLA04	<i>Asio clamator</i>	0,41	Apatia, letargia, anorexia	Tecido autolisado, amostra descartada
ATHCUN03	<i>Athene cunicularia</i>	0,02	Sem alteração clínica	Ausentes
MEGCHO05	<i>Megascops choliba</i>	0	Sem alteração clínica	Ausentes
MEGCHO06	<i>Megascops choliba</i>	0,02	Sem alteração clínica	Ausentes
ASICLA05	<i>Asio clamator</i>	3,23	Apatia, letargia, anorexia	Tecido autolisado, amostra descartada

Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

5.5 DISCUSSÃO

Haemoproteus syrnii foi descrito no início do século XX (MAYER, 1910) em *Strix aluco* (Strigiformes) e teve sua morfologia melhor detalhada na redescrição realizada por BISHOP & BENNETT (1989) em corujas das espécies *Strix varia*, *Otus scops* e *Bubo bubo*. Em 2015, realizando uma experiência *in vitro*, BUKAUSKAITĖ e colaboradores demonstraram que *H. syrnii* completava todas as etapas da esporogonia em dípteros culicídeos (*Culicoides* spp.). *Haemoproteus syrnii* já foi registrada em várias aves da ordem Strigiformes (BISHOP; BENNETT, 1989; VALKIŪNAS, 2005; LEPPERT et al., 2008; PAPERNA et al., 2008; KARADJIAN et al., 2013), entretanto, o número de espécies de aves hospedeiras é subestimado, visto que grande parte dos estudos não utiliza uma abordagem integrativa (morfologia e molecular) para identificação dos hemosporídeos do gênero *Haemoproteus*. Um exemplo é o estudo realizado por ANDERY et al. (2013) que utilizando apenas análise microscópica encontraram morfotipos de *Haemoproteus* não identificados em duas espécies de corujas (*Asio clamator* e *Megascops choliba*). O presente estudo, após realização da caracterização morfológica e molecular detalhada de *H. syrnii*, contribui com registro de três novos hospedeiros para este parasito: *Athene cunicularia*, *Glaucidium brasilianum* e *Pulsatrix koeniswaldiana*.

No presente estudo foram registradas alta prevalência (72,22%) e elevada parasitemia média (1,03%) em cinco diferentes espécies de corujas neotropicais quando comparadas a estudos prévios. KRONE et al. (2008) registram *Leucocytozoon*, *Plasmodium* e *Haemoproteus* spp., com prevalência de 19,8%, analisando três espécies de corujas coletadas na Alemanha (*Asio otus*, *S. aluco* e *Tyto alba*). Em estudos investigando hemosporídeos em *Megascops choliba* (Strigiformes), ZWARG (2010) registraram prevalência de 33,33% (*Haemoproteus* spp.) e VANSTREELS et al. (2014) registraram *H. syrnii* com parasitemia 0,38%. Embora com maior detecção da infecção em amostras do período chuvoso, não houve variação significativa na prevalência de aves infectadas entre os períodos chuvoso e seco, demonstrando a ausência de sazonalidade de infecção. Dados anteriores para as regiões neotropicais corroboram as nossas descobertas, o que pode indicar que a infecção está ocorrendo durante todo o ano (CHAGAS et al., 2017). É importante destacar que a detecção de hemosporídeos neste estudo foi maior na microscopia do que na análise molecular, e embora alguns estudos possam mostrar uma maior sensibilidade dos ensaios moleculares (WALDENSTRÖM et al., 2004; GARAMSZEGI, 2010), a PCR pode não ser eficaz em casos

de aves com baixa parasitemia ou coinfeção, reforçando a necessidade de exame microscópico (VALKIŪNAS et al., 2009).

As análises morfológicas dos estágios de desenvolvimento de *H. syrniai* encontrada nas corujas deste estudo possuem grandes semelhanças e algumas diferenças com dados apresentados nos estudos de BISHOP & BENNETT (1989), VALKIŪNAS (2005) e KARADJIAN et al. (2013). A população de *H. syrniai* estudada apresenta características morfológicas importantes destacadas por VALKIŪNAS (2005) como diagnóstico desta espécie: os gametócitos envolvem ligeiramente o núcleo do eritrócito infectado, principalmente em suas extremidades, mas sem envolvê-los completamente. Os gametócitos imaturos (Figura 1a-g) geralmente iniciam o crescimento lateral ao núcleo eritrocitário, mas algumas podem iniciar o crescimento na posição polar, tal como sugerido em estudos prévios (BISHOP; BENNETT, 1989; VALKIŪNAS, 2005; KARADJIAN et al., 2013) e observado em nosso estudo. As formas imaturas da população de *H. syrniai* encontradas neste estudo possuem contorno geralmente arredondado ou ameboide, tal como relatado por VALKIŪNAS (2005), e, ainda, um grande vacúolo branco (Figura 1a-b) tal como a população registrada em corujas na França (KARADJIAN et al., 2013). Os grânulos de volutina presentes na população de *H. syrniai* deste estudo têm sido relatados em outras espécies do gênero *Haemoproteus* (KRIŽANAUSKIENĖ et al., 2013; DIMITROV et al., 2014). Segundo DIMITROV et al. (2016), a produção de volutina no gênero *Haemoproteus* pode ser usada na delimitação de espécies semelhantes morfológicamente, tal como *H. syrniai* e *H. noctuae*. Entretanto, a maioria dos hemosporídeos desenvolve baixas quantidades de volutina, o que pode dificultar este uso para fins taxonômicos (BISHOP; BENNETT, 1989; VALKIŪNAS, 2005). Os gametócitos maduros (Figura 1h-m) da população de *H. syrniai* encontrados neste estudo apresentam características morfológicas muito semelhantes aos macro e microgametócitos descritos por BISHOP & BENNETT (1989), VALKIŪNAS (2005), e KARADJIAN et al., (2013). O formato ameboide dos gametócitos maduros observados em nosso estudo foi relatado por VALKIŪNAS et al. (2014). Embora os dados morfológicos da população de *H. syrniai* se sobreponham aos dados de estudos prévios, houve diferenças em relação aos dados morfométricos e de razão de deslocamento do núcleo em relação ao parasito (NDR) (BISHOP; BENNETT, 1989; VALKIŪNAS, 2005; KARADJIAN et al., 2013). As diferenças podem estar relacionadas com número total de parasitos mensurados, espécie hospedeira e/ou plasticidade do parasito.

Os macrogametócitos de *H. syrniai* desse estudo são ligeiramente mais curtos e estreitos quando comparado com estudos anteriores (BISHOP; BENNETT, 1989;

VALKIŪNAS, 2005), e possuem área total menor ($32,95 \pm 3,38 \mu\text{m}$ em *A. clamator* e $36,70 \pm 3,73 \mu\text{m}$ em *M. choliba*) que o encontrado por BISHOP & BENNETT (1989) em *S. aluco* ($53,8 \pm 4,8$). Os microgametócitos de *H. syrniai* desse estudo são mais curtos e estreitos do que relatado por BISHOP & BENNETT (1989), entretanto, são semelhantes aos dados apresentados por VALKIŪNAS (2005). A razão de deslocamento do núcleo (NDR) foi maior, em média, nos macrogametócitos e microgametócitos em *H. syrniai* do presente estudo quando comparado com a literatura (BISHOP; BENNETT, 1989; VALKIŪNAS, 2005). Embora o NDR tenha sido relatado como parâmetro útil para diferenciar espécies, tais com *H. syrniai* e *H. noctuae*, o valor obtido para o *H. syrniai* difere do estabelecido para esta espécie ($< 0,07$) (VALKIŪNAS, 2005) e levanta reflexões sobre a utilidade e eficiência deste parâmetro em relação à separação de *H. syrniai* e *H. noctuae*.

No presente estudo foram registradas seis novas linhagens de *H. syrniai*, o que ressalta a grande variabilidade genética entre as linhagens desse parasito circulando em aves neotropicais. Como exemplo, a linhagem ASICLA01, descrita neste estudo, possui elevada identidade genética (98,17%, BLAST) com três linhagens de hemosporídeos: *Haemoproteus* sp. (KU562234) parasitando *Campephilus rubricollis* (Aves: Piciformes); *Haemoproteus* sp. (KX068689) em *Psorophora discrucians* (Diptera: Culicidae); e *Haemoproteus* sp. (KF747370) em *Strix varia* (Aves: Strigiformes). Entretanto, todos os registros de *H. syrniai* ocorreram em aves da ordem Strigiformes, ressaltando a alta especificidade parasitária até o momento. As sequências dos hemosporídeos com elevada identidade às linhagens de *H. syrniai* produzidas neste estudo podem ser exemplos de desenvolvimento abortivo em aves não-Strigiformes, ou seja, ocorre o desenvolvimento inicial do parasito, mas o mesmo não pode completar seu ciclo de vida, resultando na ausência de gametócitos nas aves ou esporozoítos nos vetores (VALKIŪNAS et al., 2014). Assim sendo, para estudos futuros sobre a especificidade de *H. syrniai* e seus hospedeiros, é necessária a confirmação dos estágios parasitários nos esfregaços sanguíneos bem como em estágios teciduais das aves.

Assim como em outros grupos de microeucariotos, não existe consenso sobre como delimitar espécies em haemosporídeos, entretanto, abordagens recentes têm utilizado três conceitos principais: similaridade morfológica, espécies biológicas e conceito filogenético (PERKINS, 2000). Embora o conceito de similaridade morfológica tenha sido utilizado por muitos anos (VALKIŪNAS, 2005), a ocorrência de espécies crípticas e de espécies com baixa intensidade de infecção limitam o uso desta abordagem. O conceito de espécies biológicas também é limitado pela falta de conhecimento sobre ciclo de vida, capacidade de reprodução sexual e isolamento reprodutivo das populações (OUTLAW; RICKLEFS, 2014). O conceito

filogenético, que define as espécies como um agrupamento com padrões de ancestralidade e descendência, tem sido então mais utilizado para identificar espécies crípticas e espécie com baixa parasitemia em aves silvestres (ELDREDGE; CRACRAFT, 1980; VALKIŪNAS et al., 2017). Atualmente, existem estudos que definem novos táxons usando apenas abordagem morfológica (ZEHTINDJIEV et al., 2012) ou que unem morfologia e dados moleculares (MERINO et al., 2012; TOSTES et al., 2017). Com o aumento progressivo dos dados moleculares disponíveis nos bancos de dados, foi proposto que sequências com divergência genética em *cyt b* acima de 5% seriam consideradas novas espécies, pois espécies com este nível de divergência genética seriam morfológicamente distintas (HELLGREN et al., 2007). Entretanto, há exemplos em que duas espécies de *Haemoproteus* diferem geneticamente em uma porcentagem bem menor, como é o caso de *Haemoproteus pallidus* e *Haemoproteus minutus* (HELLGREN et al., 2007) e de *Haemoproteus jenniae* e *Haemoproteus iwa* (LEVIN et al., 2012), cujas divergências genéticas são menores que 1%.

No presente estudo, a distância genética entre as linhagens de *H. syrnii* diferiram de 0,31% entre ASICLA01 E ASICLA02 (ambas do clado II) e de até 4,85% entre ASICLA01 (clado II) e ATHCUN02 (clado I) (Figura 3). Esta ampla variabilidade genética entre os clados I e II pode representar uma potencial diversidade oculta. Dados semelhantes para múltiplas linhagens genéticas de *Haemoproteus ptilotis* foram encontrados por CLARK et al. (2015), que registraram distância genética variando entre 0,6% a 5,0%, indicando potencial espécie críptica. A ocorrência de espécies crípticas em hemosporídeos tem sido relatada em todos os três principais gêneros: *Plasmodium* (PERKINS, 2000; PALINAUSKAS et al., 2015); *Haemoproteus* (CLARK et al., 2015; NILSSON et al., 2016) e *Leucocytozoon* (SEHGAL et al., 2006). ISHAK et al. (2008) relataram o único caso de espécies crípticas em corujas infectadas com *Leucocytozoon danilewskyi*, com gametócitos morfológicamente indistinguíveis, apesar da formação de dois clados em sequências genéticas com alta divergência genética. No presente estudo as reconstruções filogenéticas recuperaram claramente dois clados distintos e bem suportados contendo representantes de *H. syrnii*. Os dados de delimitação computacional de espécies neste estudo ressaltam a elevada variabilidade genética de *H. syrnii* bem como a potencial ocorrência de pelo menos quatro clados distintos contendo esses parasitos. Com base no conceito filogenético de espécie, os dados do presente estudo sugerem ocorrência de potencial espécie críptica ao se analisar as linhagens de *H. syrnii*, entretanto, ressalta necessidade de se analisar mais profundamente dados morfológicos para populações desses hemosporídeos dos clados I e II, bem como investigação de dados dos parasitos nos vetores, ciclo exoeritrocítico e uso de outros

marcadores moleculares para obtenção de filogenias mais robustas e com maior acurácia. Assim sendo, não podemos caracterizar nossos achados como um novo relato de espécie críptica em Haemosporida, embora tenhamos fortes evidências. Sendo a delimitação e reconhecimento de espécies um pré-requisito para entender a diversidade, distribuição e especiação nos haemosporídeos (BENSCH et al., 2004), as novas linhagens obtidas nesse estudo bem como as análises aqui apresentadas serão importantes para estudos taxonômicos futuros.

O presente estudo apresenta pela primeira vez parte importante do ciclo exoeritrocítico de *H. syrnii* que pode estar relacionado a enfermidades nas corujas analisadas, embora os efeitos sobre seus hospedeiros não sejam claros (BENNET et al., 1993; APPLEBY et al., 1999; VALKIŪNAS, 2005; ATKINSON, 2008). As principais alterações macroscópicas relacionadas com o ciclo exoeritrocítico dos hemosporídeos são esplenomegalia, hepatomegalia, hemorragia multifocal, ruptura hepática, derrame hemorrágico, anemia e morte (VALKIŪNAS, 2005; FERRELL et al., 2007; ATKINSON; SAMUEL, 2010; OLIAS et al., 2011; SANTIAGO-ALARCON et al., 2013), e, apesar da maioria dos estudos relatar parasitos do gênero *Plasmodium*, muito se tem a descobrir a respeito da patogenicidade das linhagens de *Haemoproteus* que infectam as aves, e em especial as da ordem Strigiformes, cujo relato na literatura é escasso. Alguns estudos sugerem ainda que as espécies de *Haemoproteus* podem ser mais patogênicos do que se havia referência e apesar de raramente serem considerados como a causa da morte, eles podem provocar inflamação em diversos órgãos como baço, fígado, pulmão e coração, além de anemia hemolítica, anorexia e depressão (CAMPBELL, 1994; CARDONA et al., 2002; PEIRCE et al., 2004; DONOVAN et al., 2008; CANNELL et al., 2013), podendo levar aves imunossuprimidas ou submetidas ao estresse à morte (YILDIRIM et al., 2013).

A presença de megalomerontes no músculo peitoral esquelético e merontes no citoplasma das células endoteliais pulmonares da ave parasitada pela linhagem MEGCHO03 mostra pela primeira vez que os pulmões e o músculo esquelético são locais de ocorrência do estágio exoeritrocítico de *H. syrnii*. O endotélio capilar e artérias pequenas a grandes parecem ser um importante local desse estágio pelas espécies de Haemosporida, o que já foi relatado nas descobertas de OLIAS et al. (2011) ao estudar o periquito-de-coroa-amarela (*Cyanoramphus auriceps*), e por GROFF et al. (2019) ao estudar o pica-pau-de-cabeça-branca (*Dryobates albolarvatus*). O pulmão parece ser o principal local do estágio exoeritrocítico das espécies de *Haemoproteus*, como bem relatado no trabalho de revisão do ciclo exoeritrocítico da malária aviária e outros hemosporídeos elaborado por VALKIŪNAS & IEZHOVA (2017).

Esses autores relataram a presença de *H. columbae*, *H. palumbis*, *H. attenuatus*, *H. balearicae*, *H. coatneyi*, *H. nettionis*, *H. orizivora*, *H. passeris*, *H. picae* e *H. sacharovi* no pulmão; e de *H. columbae*, *H. halcionis*, *H. handai*, *H. mansoni* e *H. lophortyx* no músculo esquelético, essa última associada a miosite hemorrágica aguda grave (CARDONA et al., 2002; OLIAS et al., 2009), porém, tal inflamação do músculo esquelético não foi detectada nas corujas analisadas no presente estudo. Algumas corujas mostraram sinais clínicos antes da morte, incluindo letargia, ataxia, palidez da pele e membranas mucosas. Na necropsia, a hepatomegalia e a esplenomegalia foram as principais descobertas. Os pulmões da ave com a maior parasitemia (MEGCHO03) apresentavam hemorragia e congestão. A histopatologia do fígado desta ave demonstrou esteatose e necrose. Estes achados clínicos e histopatológicos não são conclusivos da infecção hemosporidiana, pois podem ocorrer em outras doenças que não foram descartadas neste estudo. Entretanto, a descrição desses achados pode ajudar em estudos futuros com o uso de novas metodologias que podem esclarecer a patologia causada pelos hemosporídeos em corujas.

5.6 CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que corujas neotropicais são notadamente hospedeiras potenciais de *H. syrniai*. A elevada divergência genética entre as linhagens de *H. syrniai* bem como o estudo filogenético e de delimitação computacional de espécies, aliado ao estudo morfológico detalhado de algumas populações deste parasito, sugerem provável ocorrência de espécie críptica e suscita estudos morfológicos e moleculares futuros com maior número de linhagens e de hospedeiros. A ocorrência de megalomerontes e merontes no músculo esquelético e no pulmão, respectivamente, esclarece parte do ciclo exoeritrocítico do parasito e auxilia no entendimento das potenciais patologias associadas às essas aves. Visto que as corujas neotropicais têm sofrido grande pressão devido a diminuição dos seus habitats naturais e de ações humanas sobre a sua integridade física, o conhecimento das linhagens, prevalência e parasitemia, e patologias causadas por hemosporídeos nessas aves permitirão a melhoria no tratamento e no manejo desses animais recebidos em centros de reabilitação, aumentando assim as chances de reintrodução na natureza e da conservação dessas espécies.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A região neotropical possui a maior biodiversidade de aves do mundo e a Mata Atlântica é responsável por grande parte das espécies descritas. Porém, a fauna desse bioma tem sofrido constantemente com a fragmentação e destruição das áreas florestais e com outras ações antrópicas que ameaçam a diversidade aviária. Aliado a isso, o parasitismo causado pelos hemosporídeos pode contribuir com a perda dessa biodiversidade, principalmente devido à introdução de agentes patogênicos em população sem sistema imunológica capaz de combatê-los, que podem levar o hospedeiro à morte ou, quando isso não ocorre, alterar padrões comportamentais e o sucesso reprodutivo.

Desse modo, essa tese buscou investigar os hemosporídeos que ocorrem em aves de rapina neotropicais recebidas em Centros de Triagem de Animais Silvestres, sendo que dos resultados obtidos, as seguintes considerações podem ser feitas:

- 1) Entre os anos 2004 e 2019 os CETAS do Brasil receberam pelo menos 625 espécies de aves, sendo 67 espécies de aves de rapina, de seis famílias diferentes e das quatro ordens inseridas nesse grupo, sendo que grande parte dessas aves é reintroduzida na natureza, carregando consigo uma carga de parasitos muitas vezes desconhecida;
- 2) As aves de rapina neotropicais são frequentemente infectadas por hemosporídeos dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus*, apresentando alta prevalência, porém baixa parasitemia na maioria dos casos. Essa baixa parasitemia pode indicar infecções crônicas que devem ser atentamente analisadas, pois podem estar ocultas nas populações aviárias e sendo transmitidas entre diferentes hospedeiros. O conhecimento dessa diversidade de hemosporídeos é importante para a tomada de decisões acerca do manejo e reintrodução das aves silvestres;
- 3) Após a análise da compilação dos dados obtidos no MalAvi acerca dos hemosporídeos nas espécies aviárias que já chegaram em CETAS, verificou-se que 23,5% das espécies de aves de rapina possuíam registro de infecção por algum hemosporídeo, e dessas infecções 82,3% foram registradas exclusivamente nesse grupo de aves e muitas delas exclusivas de uma única ordem de aves de rapina. Esses dados permitem inferir que muitas linhagens de hemosporídeos apresentam especificidade com as ordens de aves de rapina. Entretanto, novos estudos de metanálise com um número ainda maior de ordens aviárias podem contribuir para a confirmação dessa especificidade hospedeiro-parasito;

- 4) Nossa análise molecular registra pela primeira vez a infecção de *Strix virgata* e *Bubo virginianus* por *Plasmodium nucleophilum*; de *Pulsatrix koeniswaldiana*, *Asio clamator* e *Megascops choliba* por *Haemoproteus macrovacuolatus*; e de *Athene cunicularia*, *Glaucidium brasilianum* e *Pulsatrix koeniswaldiana* por *Haemoproteus syrniai*, ampliando assim a lista de novos hospedeiros para as citadas espécies haemosporidianas e o aumento da área de distribuição dessas espécies parasitas para a Mata Atlântica. Essa análise molecular retornou com dez sequências diferentes do gene mitocondrial *cyt b*, sendo oito delas novas, demonstrando uma alta diversidade de hemospóridios em aves de rapina neotropicais e contribuindo com novos depósitos de sequências nos bancos de dados genéticos;
- 5) A utilização de novas ferramentas de delimitação computacional de espécies, com o uso de diferentes algoritmos, demonstrou que existe uma diversidade oculta de espécies de hemospóridios nas aves estudadas. Essas ferramentas isoladamente não foram suficientes para comprovar a existência de novas espécies, mas alertaram sobre a possibilidade dessa diversidade críptica. As análises dos dados de delimitação computacional demonstraram que podem ser necessários diferentes algoritmos a serem utilizados de acordo com o gênero de hemospórideo. Por se tratar de uma metodologia nova para esse grupo, novos estudos que aperfeiçoem essas ferramentas ou o uso de análises múltiplos *locus* ou com diferentes genes podem auxiliar na descoberta de novas espécies dentro de Haemosporida;
- 6) As análises morfológicas, moleculares, filogenéticas e de delimitação computacional de espécies demonstraram que as linhagens de *Haemoproteus syrniai* podem representar na verdade mais de uma espécie, visto a separação das linhagens em clados independentes, a considerável variação genética intraespecífica, além de pequenas diferenças morfológicas e morfométricas dentro da população estudada. Novos estudos com diversas populações desse parasito e a análise do genoma total do mesmo podem corroborar nossos achados;
- 7) A análise histopatológica revelou que os pulmões e o músculo esquelético são locais de estágio exoeritrocítico de *H. syrniai* e que o parasito pode estar ligado às alterações histopatológicas encontradas nas corujas. Esses achados são importantes na medida em que parte do ciclo reprodutivo desse parasito foi aqui descoberta e ainda pouco se conhece sobre consequências da infecção na saúde do animal;
- 8) Nosso trabalho traz informações importantes para a melhoria do manejo de aves em cativeiro, abrindo perspectivas para que a reintrodução desses animais na natureza seja

feita de forma mais eficaz e responsável, atentando-se para as consequências do parasitismo causado pelos hemosporídeos no animal e no ecossistema. O conhecimento da diversidade parasitária e do seu ciclo biológico, além da compreensão de como ocorre a infecção pelos hemosporídeos nas aves são fundamentais para traçar ações que permitam a conservação tanto da fauna aviária quanto das espécies haemosporidianas.

REFERÊNCIAS

- ALLANDER, K.; BENNETT, G. F. Prevalence and intensity of haematozoan infection in a population of great tits *parus major* from Gotland, Sweden. **Journal of Avian Biology**, v. 25, n. 1, p. 69-74, 1994.
- ALLINSON, Tris. (ed.) **State of the world's birds**. [Birdlife International, 2018]. Disponível em: https://www.birdlife.org/sites/default/files/attachments/BL_ReportENG_V11_spreads.pdf. Acesso em: 22 nov. 2020.
- ALMBERG, E. S.; CROSS, P. C.; DOBSON, A. P.; SMITH, D. W.; HUDSON, P. J. Parasite invasion following host reintroduction: a case study of Yellowstone's wolves. **Philosophical Transactions of the Royal Society B - Biological Sciences**, v. 367, p. 2840-2851, 2012.
- ALTIZER, S.; FOUFOPOULOS, J.; GAGER, A. Diseases and conservation. *In*: S. LEVIN, S. **Encyclopedia of biodiversity**. San Diego: Academic Press, 2001. p. 109-126.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Population biology of infectious diseases. **Nature**, v. 280, p. 361-367, 1979.
- ANDERY, D. A.; FERREIRA-JUNIOR, F. C.; ARAÚJO, A. V.; VILELA D. A. R.; MARQUES, M. V. R.; MARIN, S. Y.; HORTA, R. S.; ORTIZ, M. C.; RESENDE, J. S.; MARTINS, N. R. S. Health assessment of raptors in triage in Belo Horizonte, MG, Brazil. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 15, n. 3, p. 247-256, 2013.
- ANSARA-ROSS, T. M.; ROSS, M. J.; WEPENER, V. The use of feathers in monitoring bioaccumulation of metals and metalloids in the South African endangered African grass-owl (*Tyto capensis*). **Ecotoxicology**, v. 22, n. 6, p. 1072-1083, 2013.
- APPLEBY, B. M.; ANWAR, M. A.; PETTY, S. J. Short-term and long-term effects of food supply on parasite burdens in Tawny Owls, *Strix aluco*. **Functional Ecology**, v. 13, p. 315-321, 1999.
- ATKINSON, C. T.; FORRESTER, D. J. Myopathy associated with megaloschizonts of *Haemoproteus meleagridis* in a wild turkey from Florida. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n. 3, p. 495-498, 1987.
- ATKINSON, C. T.; VAN RIPER III, C. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leukocytozoon*, and *Haemoproteus*. *In*: LOYE, J. E.; ZUK, M. **Blood parasite interactions: Ecology, evolution, and behaviour**. Reino Unido: Oxford University Press, 1991. p. 19- 47.
- ATKINSON, C. T. *Haemoproteus*. *In*: ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. (eds). **Parasitic Diseases of Wild Birds**. Nova Jersey: Wiley-Blackwell, 2008. p. 13-34.
- ATKINSON, C. T.; SAMUEL, M. D. Avian malaria (*Plasmodium relictum*) in native Hawaiian forest birds: epizootiology and demographic impacts on 'apapane (*Himatione sanguinea*). **Journal of Avian Biology**, v. 41, p. 357-366, 2010.

BAKER, K. C.; RETTENMUND, C. L.; SANDER, S. J.; RIVAS, A. E.; GREEN, K. C.; MANGUS, L.; BRONSON, E. Clinical effect of hemoparasite infections in snowy owls (*Bubo scandiacus*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 49, n. 1, p. 143-152, 2018.

BARINO, G. T. M.; ROSSI, M. F., OLIVEIRA, L.; REIS JUNIOR, J. L.; D'AGOSTO, M.; DIAS, R. J. P. *Haemoproteus syrnii* (Haemosporida: Haemoproteidae) in owls from Brazil: morphological and molecular characterization, potential cryptic species, and exo-erythrocytic stages. **Parasitology Research**, 2020.

BARROWCLOUGH, G. F.; CRACRAFT, J.; KLIČKA, J.; ZINK, R. M. How many kinds of birds are there and why does it matter? **PLoS ONE**, v. 11, n. 11:e0166307, 2016.

BASTOS, L. F.; LUZ, V. L. F.; REIS, I. J.; SOUZA, V. L. Apreensão de espécimes da fauna silvestre em Goiás – situação e destinação. **Revista de Biologia Neotropical**, v. 5, n. 2, p. 51-63, 2008.

BATISTA, G. O. (org.) **Relatório Técnico CETAS 2002-2014**. IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. Brasília, 2016.

BELL, T. G.; KRAMVIS, A. Fragment merger: an online tool to merge overlapping long sequence fragments. **Viruses**, v. 5, n. 3, p. 824-833, 2013.

BENNETT, G. F.; GARNHAM, P. C. C.; FALLIS, A. M. On the status of the genera *Leucocytozoon ziemann*, 1898 and *Haemoproteus kruse*, 1890 (Haemosporidiida: Leucocytozoidae and Haemoproteidae). **Canadian Journal of Zoology**, v. 43, p. 927-932, 1965.

BENNETT, G. F.; CAMPBELL, A. G. Avian Haemoproteidae. I. Description of *Haemoproteus fallisi* n. sp. and a review of the haemoproteids of the family Turdidae. **Canadian Journal of Zoology**, v. 50, n. 10, p. 1269-1275, 1972.

BENNETT, G. F.; PEIRCE, M. A.; ASHFORD, R. W. Avian haematozoa: mortality and pathogenicity. **Journal of Natural History**, v. 27, p. 993-1001, 1993.

BENSCH, S.; STJERNMAN, M.; HASSELQUIST, D.; OSTMAN, O.; HANSSON, B.; WESTERDAHL, H.; PINHEIRO, R. T. Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 267, n. 1452, p. 1583-1589, 2000.

BENSCH, S.; PÉAREZ-TRIS, J.; WALDENSTRÖM, J.; HELLGREN, O. Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasites: multiple cases of cryptic speciation? **Evolution**, v. 58, n. 7, p. 1617-1621, 2004.

BENSCH, S.; WALDENSTRÖM, J.; JONZÁN, N.; WESTERDAHL, H.; HANSSON, B.; SEJBERG, D.; HASSELQUIST, D. Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. **Journal of Animal Ecology**, v. 76, n. 1, p. 112-122, 2007.

BENSCH, S.; HELLGREN, O.; PEREZ-TRIS, J. MalAvi: a public database of malaria parasites and related haemosporidians in avian hosts based on mitochondrial cytochrome b lineages. **Molecular Ecology Resources**, v. 9, p. 1353-1358, 2009.

BENSCH, S.; HELLGREN, O.; KRIZANAUSKIENĖ, A.; PALINAUSKAS, V.; VALKIŪNAS, G.; OUTLAW, D.; RICKLEFS, R. E. How can we determine the molecular clock of malaria parasites? **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 363–369, 2013.

BENSON, D. A.; CAVANAUGH, M.; CLARK, K.; KARSCH-MIZRACHI, I.; LIPMAN, D. J.; OSTELL, J.; SAYERS, E. W. GenBank. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. D1, p. D36-D42, 2013.

BIRD, David; BILDSTEIN, Keith. (ed.) **Raptor Research and Management**. Washington, D.C.: Institute for Wildlife Research, National Wildlife Federation, 1987.

BIRDLIFE INTERNATIONAL. *In*: Data zone: Breeding endemic Brazil. Disponível em: <http://datazone.birdlife.org/country/brazil>. Acesso em: 14 nov. 2020.

BISHOP, M. A.; BENNETT, G. F. The haemoproteids of the avian order Strigiformes. **Canadian Journal of Zoology**, v. 67, n. 11, p. 2676-2684, 1989.

BLAIR, C.; BRYSON, R. W. Cryptic diversity and discordance in single-locus species delimitation methods within horned lizards (Phrynosomatidae: Phrynosoma). **Molecular Ecology Resources**, v. 17, n. 6, p. 1168-1182, 2017.

BOAL, C. W.; MANNAN, R. W.; HUDELSON, K. S. Trichomoniasis in cooper's Hawks from Arizona. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 34, n. 3, p. 590-593, 1998.

BORGES, R. C.; OLIVEIRA, A. O.; BERNARDO, N. COSTA, R. M. M. C. Diagnóstico da fauna silvestre apreendida e recolhida pela Polícia Militar de Meio Ambiente de Juiz de Fora, MG (1998 e 1999). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 8, n. 1, p. 23-33, 2006.

BRAGA, E. M.; BELO, N. O.; PINHEIRO, R. T. Técnicas para estudos de hemoparasitos em aves. *In*: VON MATTER, S.; STRAUBE, F. C.; ACCORDI, I.; PIACENTINI, V.; CÂNDIDO-JR, J. F. (eds) **Ornitologia e conservação: ciência aplicada, técnicas de pesquisa e levantamento**. Rio de Janeiro: Technical Books Editora, 2010. p. 395-411.

BRAGA, E. M.; SILVEIRA, P.; BELO, N. O.; VALKIŪNAS, G. Recent advances in the study of avian malaria: an overview with an emphasis on the distribution of *Plasmodium* spp in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, Supl. 1, p. 3-11, 2011.

BROWN, Leslie Hilton. **Birds of prey**. Londres: Chancellor Press, 1997.

BUENO, M. G.; LOPEZ, R. P. G.; MENEZES, R. M. T.; COSTA-NASCIMENTO, M. J.; LIMA, G. F. M. C.; ARAÚJO, R. A. S.; GUIDA, F. J. V.; KIRCHGATTER, K. Identification of *Plasmodium relictum* causing mortality in penguins (*Spheniscus magellanicus*) from São Paulo Zoo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 173, p. 123–127, 2010.

BUKAUSKAITĖ, D.; ŽIEGYTĖ, R.; PALINAUSKAS, V.; IEZHOVA, T. A.; DIMITROV, D.; ILGŪNAS, M.; BERNOTIENĖ, R.; MARKOVETS, M. Y., VALKIŪNAS, G. Biting midges (Culicoides, Diptera) transmit *Haemoproteus* parasites of owls: evidence from sporogony and molecular phylogeny. **Parasite Vectors**, v. 8, n. 303, 2015.

BUSH, A.; LAFFERY, K. D.; LOTZ, J. M.; SHOSTAK, A. W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.

CAMPBELL, T. W. Hematology. *In*: RITCHIE, B. W., HARRISON, G. T., HARRISON, L. R. (eds). **Avian Medicine: Principles and Application**. Florida: Wingers Publishing, 1994. p. 176-191.

CAMPBELL, Terry. **Avian haematology and cytology**. Ames: Iowa State University Press, 1995.

CANNELL, B. L.; KRASNEC, K. V.; CAMPBELL, K.; JONES, H. I.; MILLER, R. D.; STEPHENS, N. The pathology and pathogenicity of a novel *Haemoproteus* spp. infection in wild Little Penguins (*Eudyptula minor*). **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 74-84, 2013.

CARDONA, C. J.; IHEJIRIKA, A.; MCCLELLAN, L. *Haemoproteus lophortyx* infection in bobwhite quail. **Avian Diseases**, v. 46, p. 249-255, 2002.

CARLSON, M. L.; PROUDFOOT, G.; GENTILE, K.; DISPOTO, J.; WECKSTEIN, J. D. Haemosporidian prevalence in northern saw-whet owls *Aegolius acadicus* is predicted by host age and average annual temperature at breeding grounds. **Journal of Avian Biology**, v. 49, n. 11, 2018.

CATÃO-DIAS, J. L. Biossegurança na manipulação de animais silvestres. **Ciência Veterinária nos Trópicos**, v. 11, n. 1, p.178-181, 2008.

CBRO. **Lista de aves do Brasil - 11ª edição (2014)**. Disponível em: http://www.cbro.org.br/wp-content/uploads/2020/06/avesbrasil_2014jan1.pdf. Acesso em: 30 nov 2020.

CHAGAS, C. R. F.; VALKIŪNAS, G.; NERY, C. V. C.; HENRIQUE, P. C.; GONZALEZ, I. H. L.; MONTEIRO, E. F.; GUIMARÃES, L. O.; ROMANO, C. M.; KIRCHGATTER, K. *Plasmodium (Novyella) nucleophilum* from an Egyptian Goose in São Paulo Zoo, Brazil: microscopic confirmation and molecular characterization. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 2, p. 286-291, 2013.

CHAGAS, C. R. F.; GUIMARÃES, L. O.; MONTEIRO, E. F.; VALKIŪNAS, G.; KATAYAMA, M. V.; SANTOS, S. V.; GUIDA, F. J. V.; SIMÕES, R. F.; KIRCHGATTER, K. Hemosporidian parasites of free-living birds in the São Paulo Zoo, Brazil. **Parasitology Research**, v. 115, n. 4, p. 1443-1452, 2015.

CHAGAS, C. R. F.; VALKIŪNAS, G.; GUIMARÃES, L. O.; MONTEIRO, E. F.; GUIDA, F. J.; SIMÕES, R. F.; RODRIGUES, P. T.; LUNA, E. J. A.; KIRCHGATTER, K. Diversity and distribution of avian malaria and related haemosporidian parasites in captive birds from a Brazilian megalopolis. **Malaria Journal**, v. 16, n. 83, p. 1-20, 2017.

CILOGLU, A.; YILDIRIM, A.; DUZLU, O.; ONDER, Z.; DOGAN, Z.; INCI, A. Investigation of avian haemosporidian parasites from raptor birds in Turkey, with molecular characterisation and microscopic confirmation. **Folia Parasitologica**, v. 63, n. 023, p. 01-08, 2016.

CLARK, N. J.; CLEGG, S. M.; LIMA, M. R. A review of global diversity in avian haemosporidians (*Plasmodium* and *Haemoproteus*: Haemosporida): new insights from molecular data. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 5, p. 329-338, 2014.

CLARK, N. J.; ADLARD, R. D.; CLEGG, S. M. Molecular and morphological characterization of *Haemoproteus (Parahaemoproteus) ptilotis*, a parasite infecting Australian honeyeaters (Meliphagidae), with remarks on prevalence and potential cryptic speciation. **Parasitology Research**, v. 114, p. 1921-1928, 2015.

CLARK, Phillip; BOARDMAN, Wayne; RAIDAL, Shane. **Atlas of clinical avian hematology**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009.

CLARK, Richard J.; SMITH, Dwight G.; KELSO, Leon Hugh. **Working bibliography of owls of the world: with summaries of current taxonomy and distributional status**. Washington: National Wildlife Federation, 1978.

COATNEY, G. R.; ROUDABUSH, R. L. A catalog and host-index of the genus *Plasmodium*. **Journal of Parasitology**, v. 22, n. 4, p. 338-353, 1936.

COON, C. A. C.; GARCIA-LONGORIA, L.; MARTIN, L. B.; MAGALLANES, S.; DE LOPE, F.; MARZAL, A. Malaria infection negatively affects feather growth rate in the house sparrow *Passer domesticus*. **Journal of Avian Biology**, v. 47, p. 779-787, 2016.

CORREA, C.; VÁSQUEZ, D.; CASTRO-CARRASCO, C.; ZÚNIGA-REINOSO, Á.; ORTIZ, J. C.; PALMA, R. E. Species delimitation in frogs from South American temperate forests: The case of *Eupsophus*, a taxonomically complex genus with high phenotypic variation. **PLOS ONE**, v. 12, n. 8, p. 1-21, 2017.

CRISCUOLO, A.; BRISSE, S. Alientrimmer: a tool to quickly and accurately trim off multiple short contaminant sequences from high-throughput sequencing reads. **Genomics**, v. 102, n. 5-6, p. 500-506, 2013.

CUNNINGHAM, A. A. Disease risks of wildlife translocations. **Conservation Biology**, v. 10, p. 349-353, 1996.

DA SILVA, R.; PELOSO, P. L. V.; STURARO, M. J.; VENEZA, I.; SAMPAIO, I.; SCHNEIDER, H.; GOMES, G. Comparative analyses of species delimitation methods with molecular data in snappers (Perciformes: Lutjaninae). **Mitochondrial DNA Part A**, p. 1-7, 2017.

DA SILVA, S. M.; LIMA, R. A. Levantamento da fauna silvestre no centro de reabilitação do batalhão da polícia militar ambiental nos anos de 2010, 2011 e 2013 no município de Candeias do Jamari-RO. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 18, n. 1, p. 296-311, 2014.

DARRIBA, D.; TABOADA, G. L.; DOALLO, R.; POSADA, D. jModel-Test 2: more models, new heuristic and parallel computing. **Nature Methods**, v. 9, p. 772, 2012.

DAWSON, R. D.; BORTOLOTTI, G. R. Sex-specific associations between reproduction output and hematozoan parasites of American Kestrels. **Oecologia**, v. 126, p. 193-200, 2001.

DEBUS, S. J. S.; OLSEN, J.; ROSE, A. B. Diet of the barn owl *Tyto alba* near lake Frome in arid South Australia. **Corella**, v. 28, n. 2, p. 40-42, 2004.

DEEM, S. L. Infectious and parasitic diseases of raptors. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, v. 21, p. 329-338, 1999.

DEL HOYO, Josep; ELLIOTT, Andrew; SARGATAL, Jordi (ed.). **Handbook of the birds of the world: Barn-owls to hummingbirds**. Michigan: Lynx Edicions, 1999.

DELLICOUR, S.; FLOT, J. F. The hitchhiker's guide to single-locus species delimitation. **Molecular Ecology Resources**, v. 18, n. 6, p. 1234-1246, 2018.

DIMITROV, D.; ZEHTINDJIEV, P.; BENSCH, S.; ILIEVA, M.; IEZHOVA, T.; VALKIŪNAS, G. Two new species *Haemoproteus* Kruse, 1890 (Haemosporida, Haemoproteidae) from European birds, with emphasis on DNA barcoding for detection of haemosporidians in wildlife. **Systematic Parasitology**, v. 87, p. 135-151, 2014.

DIMITROV, D.; IEZHOVA, T. A.; ZEHTINDJIEV, P.; BOBEVA, A.; ILIEVA, M.; KIRILOVA, M.; BEDEV, K.; SJÖHOLM, C.; VALKIŪNAS, G. Molecular characterisation of three avian haemoproteids (Haemosporida, Haemoproteidae), with the description of *Haemoproteus (Parahaemoproteus) palloris* n. sp. **Systematic Parasitology**, v. 93, p. 431-449, 2016.

DMOWSKI, K. Birds as bioindicators of heavy metal pollution: Review and examples concerning European species. **Acta Ornithologica**, v. 34, p. 1-25, 1999.

DONOVAN, T. A.; SCHRENZEL, M.; TUCKER, T. A.; PESSIER, A. P.; STALIS, I. H. Hepatic hemorrhage, hemocoelom, and sudden death due to *Haemoproteus* infection in passerine birds: Eleven cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 20, p. 304-313, 2008.

DUMAS, P.; BARBUT, J.; LE RU, B.; SILVAIN, J. F.; CLAMENS, A. L.; D' ALENÇON, E.; KERGOAT, G. J. Phylogenetic molecular species delimitations unravel potential new species in the pest genus *Spodoptera* Guenée, 1852 (Lepidoptera, Noctuidae). **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, e0122407, 2015.

EJIRI, H.; SATO, Y.; KIM, K. S.; TSUDA, Y.; MURATA, K.; SAITO, K.; WATANABE, Y.; SHIMURA, Y.; YUKAWA, M. Blood meal identification and prevalence of avian malaria parasite in mosquitoes collected at Kushiro Wetland, a subarctic zone of Japan. **Journal of Medical Entomology**, v. 48, n. 4, p. 904-908, 2011.

ELDREDGE, NILES; CRACRAFT, Joel. **Phylogenetic patterns and the evolutionary process**. New York: Columbia University Press, 1980.

FECCHIO, A.; SILVEIRA, P.; WECKSTEIN, J. D.; DISPOTO, J. H.; ANCIÃES, M.; BOSHOLN, M.; TKACH, V. V.; BELL, J. A. First Record of *Leucocytozoon* (Haemosporida: Leucocytozoidae) in Amazonia: evidence for rarity in neotropical lowlands or lack of sampling for this parasite genus? **Journal of Parasitology**, v. 104, n. 2, p. 168-172, 2018.

FECCHIO, A.; BELL, J. A.; BOSHOLN, M.; VAUGHAN, J. A.; TKACH, V. V. et al. An inverse latitudinal gradient in infection probability and phylogenetic diversity for *Leucocytozoon* blood parasites in New World birds. **Journal of Animal Ecology**, v. 89, n. 2, p. 423-435, 2019.

FECCHIO, A.; CHAGAS, C. R. F.; BELL, J. A.; KIRCHGATTER, K. Evolutionary ecology, taxonomy, and systematics of avian malaria and related parasites. **Acta Tropica**, v. 204, e105364, 2020.

FELDMAN, R. A.; FREED, L. A.; CANN, R. L. A PCR test for avian malaria in Hawaiian birds. **Molecular Ecology**, v. 4, p. 663-673, 1995.

FERGUSON-LEES, James; CHRISTIE, David A. **Raptors of the World**. Nova Jersey: Princeton University Press, 2001.

FERREIRA, C. M.; GLOCK, L. Diagnóstico preliminar sobre a avifauna traficada no Rio Grande do Sul, Brasil. **Biociências**, v. 12, n. 1, p. 21-30, 2004.

FERRELL, S. T.; SNOWDEN, K.; MARLAR, A. B.; GARNER, M.; LUNG, N. P. Fatal hemoprotozoal infections in multiple avian species in a zoological park. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 38, p. 309-316, 2007.

FIX, A. S.; WATERHOUSE, C.; GREINER, E. C.; STOSKOPF, M. K. *Plasmodium relictum* as a cause of avian malaria in wild-caught magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 24, n. 4, p. 610-619, 1988.

FORRESTER, Donald; SPALDING, Marilyn. **Parasites and diseases of wild birds in Florida**. Florida: University Press of Florida, 2003.

FORRESTER, D. J.; GREINER, E. C. Leucocytozoonosis. *In*: ATKINSON, C. T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. **Parasitic diseases of wild birds**. Nova Jersey: Ames, Wiley- Blackwell, 2008. p. 54-107.

FRANCO, M. R.; CÂMARA, F. M.; ROCHA, D. C. C.; SOUZA, R. M.; OLIVEIRA, N. J. F. Animais silvestres apreendidos no período de 2002 a 2007 na macrorregião de Montes Claros, Minas Gerais. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 14; p. 1007-1018, 2012.

FREITAS, A. C. P.; OVIEDO-PASTRANA, M. E.; VILELA, D. A. R.; PEREIRA, P. L. L.; LOUREIRO, L. O. C.; HADDAD, J. P. A.; MARTINS, N. R. S.; SOARES, D. F. M. Diagnóstico de animais ilegais recebidos no centro de triagem de animais silvestres de Belo Horizonte, Estado de Minas Gerais, no ano de 2011. **Ciência Rural**, v. 45, n. 1, p. 163-170, 2015.

FROMONT, Emmanuelle. **Hematologie et parasites sanguins des rapaces: étude chez des oiseaux en rehabilitation**. Lyon: École Nationale Veterinaire de Lyon, 1993.

FUCHS, J.; JOHNSON, J. A.; MINDELL, D. P. Rapid diversification of falcons (Aves: Falconidae) due to expansion of open habitats in the late Miocene. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 82, p. 166-182, 2015.

GALEN, S. C.; NUNES, R.; SWEET, P. R.; PERKINS, S. L. Integrating coalescent species delimitation with analysis of host specificity reveals extensive cryptic diversity despite minimal mitochondrial divergence in the malaria parasite genus *Leucocytozoon*. **BMC Evolutionary Biology**, v. 18, n. 128, p. 1-15, 2018.

GANGOSO, L.; GUTIÉRREZ-LÓPEZ, R.; MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J.; FIGUEROLA, J. Louse flies of Eleonora's falcons that also feed on their prey are evolutionary dead-end hosts for blood parasites. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 7, p. 1812-1825, 2019.

GARAMSZEGI, L. Z. The sensitivity of microscopy and pcr-based detection methods affecting estimates of prevalence of blood parasites in birds. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 6, p. 1197-1203, 2010.

GARNHAM, Percy Cyril Claude (ed). **Malaria parasites and other Haemosporidia**. Michigan: Blackwell Scientific Publications, 1966.

GODFREY, R. D.; FEDYNICH, A. M.; PENCE, D. B. Quantification of hematozoa in blood smears. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 23, n. 4, p. 558-565, 1987.

GOGLIATH, M.; BISSAGIO, E. L.; RIBEIRO, L. B.; RESGALLA, A. E.; BORGES, R. C. Avifauna apreendida e entregue voluntariamente ao Centro de Triagem de Animais Silvestres (Cetas) do Ibama de Juiz de Fora, Minas Gerais. **Atualidades Ornitológicas**, v. 154, p. 55-59, 2010.

GREINER, E. C.; MUNDY, P. J. Hematozoa from southern African vultures, with a description of *Haemoproteus janovyi* sp. n. **The Journal of Parasitology**, v. 65, n. 1, p. 147-153, 1979.

GREINER, E. C.; FEDYNICH, A. M.; WEBB, S. L.; DEVAULT, T. L.; RHODES JR, O. E. Hematozoa and a new haemoproteid species from Cathartidae (New World Vulture) in South Carolina. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 6, p. 1137-1139, 2011.

GRIM, K. C.; MERWE, E. V. D.; SULLIVAN, M.; PARSONS, N.; MCCUTCHAN, T. F.; CRANFIELD, M. *Plasmodium juxtannucleare* associated with mortality in black-footed penguins (*Spheniscus demersus*) admitted to a rehabilitation center. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 34, n. 3, p. 250-255, 2003.

GROFF, T. C.; LORENZ, T. J.; CRESPO, R.; IEZHOVA, T.; VALKIŪNAS, G.; SEHGAL, R. N. M. Haemoproteosis lethality in a woodpecker, with molecular and morphological characterization of *Haemoproteus velans* (Haemosporida, Haemoproteidae). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 10, p. 93-100, 2019.

GUIMARÃES, André Barreto. **Aves de Rapina: Análise de casos do Centro de Triagem e Reabilitação de Animais Silvestres (CETAS) Chico Mendes Salvador/BA**. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2005.

HACKETT, S. J.; KIMBALL, R. T.; REDDY, S.; BOWIE, R. C. K.; BRAUN, E. L. et al. A phylogenomic study of birds reveals their evolutionary history. **Science**, v. 320, p. 1763-1768, 2008.

HANEL, J.; DOLEŽALOVÁ, J.; STEHLÍKOVÁ, Š.; MODRÝ, D.; CHUDOBA, J.; SYNEK, P.; VOTÝPKA, J. Blood parasites in northern goshawk (*Accipiter gentilis*) with an emphasis to *Leucocytozoon toddi*. **Parasitology Research**, v. 115, n. 1, p. 263-270, 2016.

HELLGREN, O.; WALDENSTRÖM, J.; BENSCH S. A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 797-802, 2004.

HELLGREN, O.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; VALKIŪNAS, G.; BENSCH, S. Diversity and phylogeny of mitochondrial cytochrome b lineages from six morphospecies of avian *Haemoproteus* (Haemosporida, Haemoproteidae). **Journal of Parasitology**, v. 93, p. 889-896, 2007.

HELLGREN, O.; KUTZER, M.; BENSCH, S.; VALKIŪNAS, G.; PALINAUSKAS, V. Identification and characterization of the merozoite surface protein 1 (msp1) gene in a host-generalist avian malaria parasite, *Plasmodium relictum* (lineages SGS1 and GRW4) with the use of blood transcriptome. **Malaria Journal**, v. 12, n. 381, p. 1-9, 2013.

HENNING, L.; FELGER, I.; BECK, H. P. Rapid DNA extraction for molecular epidemiological studies of malaria. **Acta Tropica**, v. 72, p. 149-155, 1999.

HEYDEN, N. V. D. Hemoparasites. In: ROSSKOPF, W.; WORERPEL, R. **Diseases of case aviary birds**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 627-629.

HOFMANN, E. P.; NICHOLSON, K. E.; LUQUE-MONTES, I. R.; KÖHLER, G.; CERRATO-MENDOZA, C. A.; MEDINA-FLORES, M.; WILSON, L. D.; TOWNSEND, J. H. Cryptic diversity, but to what extent? Discordance between single-locus species delimitation methods within mainland anoles (Squamata: Dactyloidae) of Northern Central America. **Frontiers in Genetics**, v. 10, n. 11, 2019.

HSU, Y.; CHENG, S.; HSU, C. Prevalence of blood parasites in three migratory raptor species from Taiwan. **Journal of Raptor Research**, v. 49, n. 2, p. 227-230, 2015.

HUNTER, D. B.; ROHNER, C.; CURRIE, D. C. Mortality in fledgling great horned owls from black-fly *Hematophaga* and *Leucocytozoon*. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 33, p. 486-491, 1997.

IBAMA - **Entenda as regras para criação de animais silvestres**. Disponível em: <https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/noticias/2020/entenda-as-regras-para-criacao-de-animais-silvestres>. Acesso em: 28 ago 2020.

INSTITUTO CHICO MENDES DE CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE. [Plano de ação nacional para a conservação das aves de rapina, 2008]. Disponível em: <https://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-pan/pan-aves-de-rapina/1-ciclo/pan-aves-de-rapina-livro.pdf>. Acesso em: 02 jul. 2020.

INUMARU, M.; MURATA, K.; SATO, Y. Prevalence of avian haemosporidia among injured wild birds in Tokyo and environs, Japan. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 6, n. 3, p. 299-309, 2017.

ISHAK, H. D.; DUMBACHER, J. P.; ANDERSON, N. L.; KEANE, J. J.; VALKIŪNAS, G.; HAIG, S. M.; TELL, L. A.; SEHGAL, R. N. M. Blood parasites in owls with conservation implications for the spotted owl (*Strix occidentalis*). **PLoS ONE**, v. 3, n. 5, e2304, 2008.

IUCN, 2013. Diretrizes para reintroduções e outras translocações para fins de conservação. [Gland, Switzerland: IUCN Species Survival Commission, 2013]. Disponível em: <https://iucn-ctsg.org/wp-content/uploads/2017/12/new-rsg-reintro-guidelines-2013.pdf>. Acesso em: 14 nov. 2020.

IUCN, 2019. BirdLife International / IUCN: Espécies brasileiras globalmente ameaçadas de extinção. [Cambridge, Reino Unido, 2019]. Disponível em: <http://savebrasil.org.br/ameacadas-globalmente>. Acesso em: 14 nov. 2020.

IUCN, 2020. The IUCN red list of threatened species. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 28 dez. 2020.

JARVIS, E. D.; MIRARAB, S.; ABERER, A. J.; LI, B.; HOUDE, P. et al. Whole genome analyses resolve the early branches in the tree of life of modern birds. **Science**, v. 346, p. 1320-1331, 2014.

JENKINS, T.; THOMAS, G. H.; HELLGREN, O.; OWENS, I. P. F. Migratory behavior of birds affects their coevolutionary relationship with blood parasites. **Evolution**, v. 66, n. 3, 740-751, 2011.

JIA, T.; HUANG, X.; VALKIŪNAS, G.; YANG, M.; ZHENG, C.; PU, T.; ZHANG, Y.; DONG, L.; SUO, X.; ZHANG, C. Malaria parasites and related haemosporidians cause mortality in cranes: a study on the parasites diversity, prevalence and distribution in Beijing Zoo. **Malaria Journal**, v. 17, n. 234, 2018.

JONES, M. P. Selected infectious diseases of birds of prey. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 15, p. 5-17, 2006.

KAPLI, P.; LUTTEROPP, S.; ZHANG, J.; KOBERT, K.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A.; FLOURI, T. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. **Bioinformatics**, v. 33, p. 1630-1638, 2017.

KARADJIAN, G.; PUECH, M. P.; DUVAL, L.; CHAVATTE, J. M.; SNOUNOU, G.; LANDAU, I. *Haemoproteus syrnii* in *Strix aluco* from France: morphology, stages of sporogony in a hippoboscoid fly, molecular characterization and discussion on the identification of *Haemoproteus* species. **Parasite**, v. 20, n. 32, p. 1-11, 2013.

KARELL, P.; BENSCH, S.; AHOLA, K.; ASGHAR, M. Pale and dark morphs of tawny owls show different patterns of telomere dynamics in relation to disease status. **Proceedings of the Royal Society**, v. 284, p. 1-8, 2017.

KATOH, K.; ROZEWICKI, J.; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in Bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

KILPATRICK, A. M.; LAPOINTE, D. A.; ATKINSON, C. T.; WOODWORTH, B. L.; LEASE, J. K.; REITER, M. E.; GROSS, K. Effects of chronic avian malaria (*Plasmodium relictum*) infection on reproductive success of Hawaii Amakihi (*Hemignathus virens*). **The Auk**, v. 123, n. 3, p. 764-774, 2006.

KING, R. S.; MCKANN, P. C.; GRAY, B. R.; PUTNAM, M. S. Host-parasite behavioral interactions in a recently introduced, whooping crane population. **Journal of Fish and Wildlife Management**, v. 1, p. 220-226, 2015.

KINGMAN, J. F. C. The coalescent. **Stochastic Processes and Their Applications**, v. 13, n. 3, p. 235-248, 1982.

KOH, L. P.; DUNN, R. R.; SODHI, N. S.; COLWELL, R. K.; PROCTOR, H. C.; SMITH, V. S. Species coextinctions and the biodiversity crisis. **Science**, v. 305, p. 1632-1634, 2004.

KÖNIG, Claus; WEICK, Frieddhelm. **Owls of the world**. London: Christopher Helm Publishers, 2008.

KORNILIOS, P.; JABLONSKI, D.; SADEK, R. A.; KUMLUTAS, Y.; OLGUN, K.; AVCI, A.; ILGAZ, C. Multilocus species-delimitation in the *Xerotyphlops vermicularis* (Reptilia: Typhlopidae) species complex. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 152, n. 106922, p. 10-6, 2020.

KORPIMAKI, E.; HAKKARAINEN, H.; BENNETT, G. F. Blood parasites and reproductive success of Tengmalm's owls: detrimental effects on females but not on males? **Functional Ecology**, v. 7, n. 4, p. 420-426, 1993.

KRIŽANAUSKIENĖ A.; IEZHOVA, T. A.; SEHGAL, R. N. M.; CARLSON, J. S.; PALINAUSKAS, V.; BENSCH, S.; VALKIŪNAS, G. Molecular characterization of *Haemoproteus sacharovi* (Haemosporida, Haemoproteidae), a common parasite of columbiform birds, with remarks on classification of haemoproteids of doves and pigeons. **Zootaxa**, v. 3613, n. 1, p. 85-94, 2013.

KRIŽANAUSKIENĖ, A.; IEZHOVA, T. A.; SEHGAL, R. N. M.; CARLSON, J. S.; KRONE, O.; PRIEMER, J.; STREICH, J.; SÖMMER, P.; LANGGEMACH, T.; LESSOW, O. Haemosporida of birds of prey and owls from Germany. **Acta Protozoologica**, v. 40, p. 281-289, 2001.

KRONE, O.; PRIEMER, J.; STREICH, J.; SÖMMER, P.; LANGGEMACH, T.; LESSOW, O. Haemosporida of birds of prey and owls from Germany, **Acta Protozoologica**, v. 40, p. 281-289, 2001.

KRONE, Oliver; COOPER, John. Parasitic diseases. *In*: COOPER, John. **Birds of prey: health & disease**. Oxford: Blackweel Science, 2002, p. 105-120.

KRONE, O.; WALDENSTRÖM, J.; VALKIŪNAS, G.; LESSOW, O.; MÜLLER, K.; IEZHOVA, T. A.; FICKEL, J.; BENSCH, S. Haemosporidian blood parasites in European birds of prey and owls. **Journal of Parasitology**, v. 94, n. 3, p. 709-715, 2008.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C.; TAMURA, K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 6, p. 1547-1549, 2018.

LAFFERTY, K. D. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on environment? **Parasitology Today**, v. 13, p. 251-255, 1997.

LAFFERTY, K. D.; HOLT, R. D. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? **Ecology Letters**, v. 6, p. 654-664, 2003.

LAPOINTE, D. A.; GOFF, M. L.; ATKINSON, C. T. Thermal constraints to the sporogonic development and altitudinal distribution of avian malaria *Plasmodium relictum* in Hawaii. **Journal of Parasitology**, v. 96, p. 318-324, 2010.

LEPPERT, L. L.; DUFTY, A. M.; STOCK, S.; OLEYAR, M. D.; KALTENECKER, G. S. Survey of Blood Parasites in Two Forest Owls, Northern Saw-whet Owls and Flammulated Owls, of Western North America. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 44, n. 2, p. 475-479, 2008.

LERIA, L.; VILA-FARRÉ, M.; ÁLVAREZ-PRESAS, M.; SÁNCHEZ-GRACIA, A.; ROZAS, J.; SLUYS, R.; RIUTORT, M. Cryptic species delineation in freshwater planarians of the genus *Dugesia* (Platyhelminthes, Tricladida): Extreme intraindividual genetic diversity, morphological stasis, and karyological variability. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 143, p. 1-24, 2019.

LEVIN, I. I.; VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; O'BRIEN, S. L.; PARKER, P. G. Novel *Haemoproteus* species (Haemosporida: Haemoproteidae) from the swallow-tailed gull (Lariidae), with remarks on the host range of hippoboscids transmitted avian hemoproteids. **Journal of Parasitology**, v. 98, p. 847-854, 2012.

LEVINE, N. D.; CAMPBELL, G. R. A check-list of the species of the genus *Haemoproteus* (Apicomplexa, Plasmodiidae). **Journal of Protozoology**, v. 18, n. 3, p. 475-484, 1971.

LIERZ, M.; HAFEZ, H. M.; KRONE, O. Prevalence of hematozoa in falcons in the United Arab Emirates with respect to the origin of falcon hosts. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 22, n. 3, p. 208-212, 2008.

LIVELY, C. M.; DYBDAHL, M. F. Parasite adaptation to locally common host genotypes. **Nature**, v. 405, p. 679-681, 2000.

LOTTA, I. A.; VALKIŪNAS, G.; PACHECO, M. A.; ESCALANTE, A. A.; HERNÁNDEZ, S. R.; MATTA, N. E. Disentangling *Leucocytozoon* parasite diversity in the neotropics: Descriptions of two new species and shortcomings of molecular diagnostics for leucocytozoids. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 9, p. 159-173, 2019.

LOYE, Jenella; ZUK, Marlene. Bird-parasite interactions: ecology, evolution and behaviour. In: LOYE, Jenella E.; ZUK, Marlene (ed.) **Bird-parasite interactions: ecology, evolution and behaviour**. Oxford: University Press - Ornithology Series, v. 2, 1991.

LUCA, A. C.; REISFELD, A.; BUENO, D. D. P. O.; SILVA, I. S. P.; ARAÚJO, R. E. (orgs.). **Protocolo experimental para soltura e monitoramento de aves vítimas do comércio ilegal de animais silvestres no estado de São Paulo**. SMA/SAVE BRASIL – Sociedade para Conservação de Aves do Brasil. São Paulo, 2017.

LYLES, A. M.; DOBSON, A. P. Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 24, p. 315-326, 1993.

MALAVI: **a database for avian haemosporidian parasites**. Disponível em: <http://130.235.244.92/Malavi/>. Acesso em: 01 mai. 2020.

MARTÍNEZ, J.; MARTÍNEZ, J.; MAÑOSA, S.; ZUBEROGOITIA, I.; CALVO, J. How to manage human-induced mortality in the Eagle Owl *Bubo bubo*. **Bird Conservation International**, v. 16, n. 3, p. 265-278, 2006.

MARTINEZ, J.; LA PUENTE, J. M.; HERRERO, J.; DEL CERRO, S.; LOBATO, E.; AGUILAR, J. R.; VASQUEZ, R. A.; MERINO, S. A restriction site to differentiate *Plasmodium* and *Haemoproteus* infections in birds: on the inefficiency of general primers for detection of mixed infections. **Parasitology**, v. 136, p. 713-722, 2009.

MARTINSEN, E. S.; I. PAPERNA, I; SCHALL, J. J. Morphological versus molecular identification of avian Haemosporidia: an exploration of three species concepts **Parasitology**, v. 133, p. 279-288, 2006.

MARTINSEN, E. S.; PERKINS, S.; SCHALL, J. J. A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): evolution of life-history traits and host switches. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 47, n. 1, p. 261-273, 2008.

MASON, G. J. Species differences in responses to captivity: stress, welfare and the comparative method. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, p. 713-721, 2010.

MATTA, N. E.; PACHECO, M. A.; ESCALANTE, A. A.; VALKIŪNAS, G.; AYERBE-QUIÑONES, F.; ACEVEDO-CENDALES, L. D. Description and molecular characterization of *Haemoproteus macrovacuolatus* n. sp. (Haemosporida, Haemoproteidae), a morphologically unique blood parasite of black-bellied whistling duck (*Dendrocygna autumnalis*) from South America. **Parasitology Research**, v. 113, p. 2991-3000, 2014.

MATTOS, G. T.; ANDRADE, M. A.; FREITAS, M. V. Nova Lista de Aves do Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Acangaú, 1993.

MAYER, M. Über sein Entwicklung von Halteridium. **Archiv fur Schiffs und Tropenhygiene**, v. 14, p. 197-202, 1910.

MAYORGA, P.; DEHARO, E.; LANDAU, I.; COURRAZE, G. Preliminary evaluation of primaquine activity on rodent malaria model after transdermal administration. **Parasite**, v. 4, p. 87-90, 1997.

MCCALLUM, H.; DOBSON, A. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. **TREE**, v. 10, p. 190-194, 1995.

MCCLURE, H. E.; POONSWAD, P.; GREINER, E. C.; LAIRD, M. **Haematozoa in the birds of Eastern and Southern Asia**. Newfoundland: Memorial University of Newfoundland, St. John's, 1978.

MCCORMACK, J. E.; HARVEY, M. G.; FAIRCLOTH, B. C.; CRAWFORD, N. G.; GLENN, T. C.; BRUMFIELD, R. T. A phylogeny of birds based on over 1,500 loci collected by target enrichment and high-throughput sequencing. **PLoS One**, v. 8, n. 1:e54848, 2013.

MELLO, B.; TAO, Q.; TAMURA, K.; KUMAR, S. Fast and accurate estimates of divergence times from big data. **Molecular Biology and Evolution**, v. 34, n. 1, p. 45-50, 2017.

MELLO, B.; VILELA, J. F.; SCHRAGO, C. G. Conservation phylogenetics and computational species delimitation of Neotropical primates. **Biological Conservation**, v. 217, p. 397–406, 2018.

MENQ, Willian. Aves de rapina da Mata Atlântica - Aves de Rapina Brasil [Londrina, 2016]. Disponível em: http://www.avesderapinabrasil.com/arquivo/artigos/ARB4_2.pdf. Acesso em: 16 nov 2020.

MENQ, Willian. Principais ameaças das aves de rapina do Brasil - Aves de Rapina Brasil. Disponível em: http://www.avesderapinabrasil.com/ameacas_preservacao.htm. Acesso 20 set 2020.

MERINO, S.; MORENO, J.; JOSÉ-SANZ, J.; ARRIERO, E. Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in blue tits (*Parus caeruleus*). **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 267, n. 1461, p. 2507-2510, 2000.

MERINO, S.; HENNICKE, J.; MARTÍNEZ, J.; LUDYNIA, K.; TORRES, R.; WORK, T. M.; STROUD, S.; MASELLO, J. F.; QUILLFELDT, P. Infection by *Haemoproteus* parasites in four species of frigatebirds and the description of a new species of *Haemoproteus* (Haemosporida: Haemoproteidae). **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 2, p. 388-397, 2012.

MIKICH, S. B.; BÉRNILS, R. S. **Livro Vermelho da Fauna Ameaçada no Estado do Paraná**. Curitiba: IAP, 2004.

MIKKOLA, Heimo. **Owls of the world: a photographic guide**. London: Christopher Helm Publishers, 2013.

MILLER, M.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In: Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. New Orleans: IEEE, 2010. p. 1-8.

MINDELL, D. O.; FUCHS, J.; JOHNSON, J. A. Phylogeny, Taxonomy, and Geographic Diversity of Diurnal Raptors: Falconiformes, Accipitriformes, and Cathartiformes. *In: SARASOLA, J. H.; GRANDE, J. M.; NEGRO, J. J. Birds of Prey: Biology and conservation in the XXI century*. Switzerland: Springer International Publishing, 2018, p. 3-31.

MIRZA, V.; BURROWS, E. B.; GILS, S.; HUNTER, S.; GARTRELL, B. D.; HOWE, L. A retrospective survey into the presence of *Plasmodium* spp. and *Toxoplasma gondii* in archived tissue samples from New Zealand raptors: New Zealand falcons (*Falco novaeseelandiae*), Australasian harriers (*Circus approximans*) and moreporks (*Ninox novaeseelandiae*). **Parasitology Research**, v. 116, p. 2283-2289, 2017.

MOENS, M. A.; VALKIŪNAS, G.; PACA, A.; BONACCORSO, E.; AGUIRRE, N.; PÉREZ-TRIZ, J. Parasite specialization in a unique habitat: hummingbirds as reservoirs of generalist blood parasites of Andean birds. **Journal Animal Ecology**, v. 85, p. 1234-1245, 2016.

MORISHITA, T. Y.; FULLERTON, A. T.; LOWESNSTINE, L. J.; GARDNER, I. A.; BROOKS, D. L. Morbidity and mortality in free-living raptorial birds of northern California: a retrospective study. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v. 12, p. 78-81, 1998.

MORITA, Clarissa Harumi Cardoso. **Caracterização da fauna recebida e avaliação dos procedimentos em centros de triagem de animais silvestres**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ecologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 2009.

MOTTA-JUNIOR, J. C.; BRAGA, A. C. R.; GRANZINOLLI, M. A. M. The Owls of Brazil. In: ENRIQUEZ, P. L. (ed). **Neotropical Owls**. United Kingdom: Springer International Publishin, 2017. p. 97-158.

MOURA, S. G.; PESSOA, F. B.; OLIVEIRA, F. F.; LUSTOSA, A. H. M.; SOARES, C. B. Animais silvestres recebidos pelo Centro de triagem do Ibama no Piauí no ano de 2011. **Enciclopédia Biosfera**, v. 8, n. 15; p. 1748-1762, 2012.

NARDONI, S.; PARISI, F.; ROCCHIGIANI, G.; CECCHERELLI, R.; MANCIANTI, F.; POLI, A. *Haemoproteus* spp. and *Leucocytozoon californicus* coinfection in a Merlin (*Falco colombarius*). **Pathogens**, v. 9, n. 263, 2020.

NIEDRINGHAUS, K. D.; FENTON, H. M. A.; CLEVELAND, C. A.; ANDERSON, A. N.; SCHWARTZ, D.; ALEX, C. E.; ROGERS, K. H.; METE, A.; YABSLEY, M. J. Case Series: virulent hemosporidiosis infections in juvenile Great horned owls (*Bubo virginianus*) from Louisiana and California, USA. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 12, p. 49-54, 2018.

NILSSON, E.; TAUBERT, H.; HELLGREN, O.; HUANG, X.; PALINAUSKAS, V.; MARKOVETS, M. Y.; VALKIŪNAS, G.; BENSCH, S. Multiple cryptic species of sympatric generalists within the avian blood parasite *Haemoproteus majoris*. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 29, n. 9, p. 1812-1826, 2016.

NJABO, K. Y.; CORNEL, A. J.; SEHGAL, R. N. M.; LOISEAU, C.; BUERMANN, W.; HARRIGAN, R. J.; POLLINGER, J.; VALKIŪNAS, G.; SMITH, T. B. *Coquillettidia* (Culicidae, Diptera) mosquitoes are natural vectors of avian malaria in Africa. **Malaria Journal**, v. 8, n. 193, p. 1-12, 2009.

NORTHOVER, A. S.; LYMBERY, A. J.; WAYNE, A. F.; GODFREY, S. S.; THOMPSON, R. C. A. The hidden consequences of altering host-parasite relationships during fauna translocations. *Biological Conservation*, v. 220, p. 140-148, 2018.

OLIAS, P.; WEGELIN, M.; ZENKER, W.; FRETER, S.; GRUBER, A. D.; KLOPFLEISCH R. Avian malaria deaths in parrots. **Europe Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 950-952, 2011.

OLIVEIRA, L.; DIAS, R. J. P.; ROSSI, M. F.; D'AGOSTO, M.; SANTOS, H. A. Molecular diversity and coalescent species delimitation of avian haemosporidian parasites in an endemic bird species of South America. **Parasitology Research**, 2020.

ORTEGO, J.; CORDERO, P. J. Factors associated with the geographic distribution of Leucocytozoa parasitizing nestling eagle owls (*Bubo bubo*): a local spatial-scale analysis. **Conservation Genetics**, v. 11, n. 4, p. 1479-1487, 2010.

OUTLAW, D. C.; RICKLEFS, R. E. On the phylogenetic relationships of haemosporidian parasites from raptorial birds (Falconiformes and Strigiformes). **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 5, p. 1171-1176, 2009.

OUTLAW, D. C.; RICKLEFS, R. E. Species limits in avian malaria parasites (Haemosporida): how to move forward in the molecular era. **Parasitology**, v. 141, p. 1223-1232, 2014.

PACHECO, M. A.; ESCALANTE A. A.; GARNER M. M.; BRADLEY G. A.; AQUILAR R. F. Haemosporidian infection in captive masked bobwhite quail (*Colinus virginianus ridgwayi*), an endangered subspecies of the northern bobwhite quail. **Veterinary Parasitology**, v. 182, p. 113-120, 2011.

PACHECO, J. F.; AGNE, C. E. Q. **Species lists of birds for south american countries and territories: Brazil**. Disponível em: <http://www.museum.lsu.edu/~remsen/sacccountrylists.htm>. Acesso em: 21 mar 2021.

PAGANO, I. S. A.; SOUSA, A. E. B. A.; WAGNER, P. G.; RAMOS, R. T. C. Aves depositadas no Centro de Triagem de Animais Silvestres do IBAMA na Paraíba: uma amostra do tráfico de aves silvestres no estado. **Ornithologia**, v. 3, n. 2, p. 32-144, 2009.

PALINAUSKAS, V.; BENSCH, S.; VALKIŪNAS, G. Molecular characterization of *Haemoproteus sacharovi* (Haemosporida, Haemoproteidae), a common parasite of columbiform birds, with remarks on classification of haemoproteids of doves and pigeons. **Zootaxa**, v. 3613 p. 85-94, 2013.

PALINAUSKAS V, ŽIEGYTĖ R, ILGŪNAS M.; IEZHOVA, T. A.; BERNOTIENĖ, R.; BOLSHAKOV, C.; VALKIŪNAS, G. Description of the first cryptic avian malaria parasite, *Plasmodium homocircumflexum* n. sp., with experimental data on its virulence and development in avian hosts and mosquitoes. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 1, p. 51-62, 2015.

PAPERNA, I.; KEONG, M. S. C.; MAY, C. Y. A. Haemosporozoan parasites found in birds in Peninsular Malaysia, Singapore, Sarawak and Java. **Raffles Bulletin of Zoology**, v. 56, p. 211-243, 2008.

PATZ, J. A. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, p. 1092-1098, 2000.

PEIRCE, M. A.; LEDERER, R.; ADLARD, R. D.; O'DONOGHUE, P. J. Pathology associated with endogenous development of haematozoa in birds from southeast Queensland. **Avian Pathology**, v. 33, n. 4, p. 445-450, 2004.

PEIRCE, M. A. A checklist of the valid avian species of *Babesia* (Apicomplexa: Piroplasmorida), *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporidia), and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). **Journal of Natural History**, v. 39, p. 3621-3632, 2005.

PEREIRA, Damires Sanches. **Delimitação molecular de espécies de arraias (Myliobatiformes: Potamotrygonidae) do rio Xingu**. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação), Universidade Federal do Pará, 2018.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, A.; LA PUENTE, J.; ONRUBIA, A.; PÉREZ-TRIS, J. Molecular characterization of haemosporidian parasites from kites of the genus *Milvus* (Aves: Accipitridae). **International Journal for Parasitology**, v. 43, p. 381-387, 2013.

PERKINS, S. L. Species concepts and malaria parasites: detecting a cryptic species of *Plasmodium*. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 267, n. 1459, p. 2345-2350, 2000.

PERKINS, S. L.; MARTINSEN, E. S.; FALK, B. G. Do molecules matter more than morphology? Promises and pitfalls in parasites. **Parasitology**, v. 138, p. 1664-1674, 2011.

PERKINS, S. L. Malaria's many mates: past, present, and future of the systematics of the order Haemosporida. **Journal of Parasitology**, v. 100, n. 1, p. 11-25, 2014.

PIACENTINI, V. Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; MAURÍCIO, G. N.; PACHECO, J. F. et al. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee. **Brazilian Journal of Ornithology**, v. 23, n. 2, p. 90-298, 2015.

PONS, J.; BARRACLOUGH, T.; GOMEZ-ZURITA, J.; CARDOSO, A.; DURAN, D.; HAZELL, S.; KAMOUN, S.; SUMLIN, W.; VOGLER, A. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. **Systematic Biology**, v. 55, n. 4, p. 595-609, 2006.

PORNPANOM, P.; CHAGAS, C. R. F.; LERTWATCHARASARAKUL, P.; KASORNDORKBUA, C.; VALKIŪNAS, G.; SALAKIJ, C. Molecular prevalence and phylogenetic relationship of *Haemoproteus* and *Plasmodium* parasites of owls in Thailand: Data from a rehabilitation centre. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 9, p. 248-257, 2019.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. Ameaças à diversidade biológica. **Biologia da conservação**, p. 121-127, 2001.

PRUM, R.O.; BERV, J.S.; DORNBURG, A.; FIELD, D.J.; TOWNSEND, J. P.; LEMMON, E. M.; LEMMON, A. R. A comprehensive phylogeny of birds (Aves) using targeted next-generation DNA sequencing. **Nature**, v. 526, p. 569-573, 2015.

PULLANDRE, N.; LAMBERT, A.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ABGD, Automatic barcode gap discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864-1877, 2012.

R CORE TEAM. *In: R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. [Vienna, Austria, 2018]. Disponível em: <https://www.R-project.org/>. Acesso em: 20 mar. 2018.

RAJAKUMAR, G.; RAHUMAN, A. A. Larvicidal activity of synthesized silver nanoparticles using *Eclipta prostrata* leaf extract against filariasis and malaria vectors. **Acta Tropica**, v. 118, n. 3, p. 196-203, 2011.

RAMOS, Roberta Rendy. **Estudo da infecção por *Plasmodium* spp. em araras mantidas em cativeiro no DF**. Dissertação (Mestrado em Saúde Animal) – Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

REDIG, P.T.; TALBOT, B.; GUARNERA, T. Avian malaria. **Proceedings Annual Conference Association of Avian Veterinarians**, p. 173-181, 1993.

REMPLE, J. D. Intracellular hematozoa of raptors: a review and update. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.18, p. 75-88, 2004.

REMPLE, J.D. Avian malaria with comments on other haemosporidia in large falcons. *In: COOPER, J.E.; GREENWOOD, A.G. Recent Advances in the Study of Raptor Diseases*. New York: Chiron Publications, 1981. p. 107-110.

RENTAS - Rede Nacional de combate ao tráfico de animais silvestres: **Relatório nacional sobre gestão e uso sustentável da fauna silvestre, 2016**. Disponível em: <http://www.rentas.org.br/trafico-de-animais/>. Acesso em: 18 nov 2020.

RIBEIRO, S. F.; SEBAIO, F.; BRANQUINHO, F. C.; MARINI, M. A.; VAGO, A. R.; BRAGA, E. M. Avian malaria in Brazilian passerine birds: parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. **Parasitology**, v. 130 (Pt3), p. 261-267, 2005.

RICHARD, F. A.; SEHGAL, H. I. J; SMITH, T. B. A comparative analysis of PCR-based detection methods for avian malaria. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 4, p. 819-822, 2002.

RICKLEFS, R. A.; FALLON, S. M.; BERMINGHAM, E. Evolucionary relationships, cospeciation and host switching in avian malaria parasites. **Systematic Biology**, v. 53, p. 111-119, 2004.

RICKLEFS, R. E. Embryonic development period and prevalence of avian blood parasites. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89, p. 4722-4725, 1992.

RODRIGUES, I. B.; TADEI, W. P.; DIAS, J. M. C. S.; LIMA, C. A. P. Atividade larvívica de *Bacillus sphaericus* 2362 contra *Anopheles* sp. (Diptera, Culicidae) em rios do Amazonas, Brasil. **BioAssay**, v. 8, n. 2, p. 1-7, 2013.

RONQUIST, F.; TESLENKO, M.; VAN DER MARK, P.; AYRES, D. L.; DARLING, A.; HÖHNA, S.; LARGET, B.; LIU, L.; SUCHARD, M. A.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539-542, 2012.

ROOS, F. L.; BELO, N. O.; SILVEIRA, P.; BRAGA, E. M. Prevalence and diversity of avian malaria parasites in migratory Black Skimmers (*Rynchops niger*, Laridae, Charadriiformes) from the Brazilian Amazon Basin. **Parasitology Research**, v. 114, n. 10, 2015.

SACCHI, L.; PRIGIONI, C. Occurrence of *Leucocytozoon* and *Haemoproteus* (Apicomplexa, Haemosporina) in Falconiformes and Strigiformes of Italy. **Annales de parasitologie humaine et comparée**, v. 59, n. 3, p. 219-226, 1984.

SALAKIJ, C.; PORNANOM, P.; LERTWATCHARASARAKUL, P.; KASORNDOORKBUA, C.; SALAKIJ, J. *Haemoproteus* in barn and collared scops owls from Thailand. **Journal of Veterinary Science**, v. 19, n. 2, p. 280-289, 2018.

SANCHES, Caroline Thaís. **Causas de morte em Passeriformes: comparação entre aves de vida livre residentes na Região Metropolitana de São Paulo e aves oriundas do tráfico**. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

SANTIAGO-ALARCON, D., PALINAUSKAS, V.; SCHAEFER, H. M. Diptera vectors of avian Haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. **Biological Reviews**, v. 87, p. 928-964, 2012.

SANTIAGO-ALARCON, D.; METTLER, R.; SEGELBACHER, G.; SCHAEFER, H. M. Haemosporidian parasitism in the blackcap *Sylvia atricapilla* in relation to spring arrival and body condition. **Journal of Avian Biology**, v. 44, p. 521-530, 2013.

SANTOS, N. G.; PEREIRA, M. C.; MELO, P. M.; CARVALHO, L. M. M. Study of haemoprotozoa in birds of prey (orders Falconiformes and Strigiformes) in wildlife rehabilitation facilities in Portugal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 103, p. 195-200, 2008.

SANTOS, T.; OLIVEIRA, J. B.; VAUGHAN, C.; SANTIAGO, H. Health of an *ex situ* population of raptors (Falconiformes and Strigiformes) in Mexico: diagnosis of internal parasites. **Revista de Biología Tropical**, v. 59, n. 3, p. 1265-1274, 2011.

SANTOS, V. M. **Diagnóstico da fauna silvestre recebida no centro de triagem de animais silvestres de Alagoas – CETAS/IBAMA/AL**. In: Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, 2009, São Lourenço, p. 1-3.

SEHGAL, R. N. M.; HULL, A. C.; ANDERSON, N. L.; VALKIŪNAS, G.; MARKOVETS, M. J.; KAWAMURA, S.; TELL, L. A. Evidence for cryptic speciation of *Leucocytozoon* spp.

(Haemosporida, Leucocytozoidae) in diurnal raptors. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 2, p. 375-379, 2006.

SEHGAL, R. N. M. Manifold habitat effects on the prevalence and diversity of avian blood parasites. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 4, n. 3, p. 421-430, 2015.

SEVERO-NETO, F.; FARIA, S. P.; SANTANA, D. J. Adding some poison to menu: first report of a cathartid vulture preying on a venomous snake. **Herpetology Notes**, v. 7, p. 675-677, 2014.

SHAW, T.; TARELLO, W. Treatment of *Haemoproteus tinnunculi* in falcons. **Veterinary Record**, v. 161, n. 10, p. 360-360, 2007.

SHEHAB, A. H. Food of the barn owl *Tyto alba* in Southern Syria. **Acta Zoologica Cracoviensia**, v. 48, n. 1, p. 35-42, 2005.

SICK, Helmut. **Ornitologia Brasileira**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 1997, 862p.

SILVEIRA, P.; BELO, N. O.; LACORTE, G. A.; KOLESNIKOVAS, C. K.; VANSTREELS, R. E.; STEINDEL, M.; CATÃO-DIAS, J. L.; VALKIUNAS, G.; BRAGA, É. M. Parasitological and new molecular-phylogenetic characterization of the malaria parasite *Plasmodium tejerai* in South American penguins. **Parasitology International**, v. 62, n. 2, p. 165-171, 2013.

SMITH, R. B.; GREINER, E. C.; WOLF, B. O. Migratory movements of sharp-shinned hawks (*Accipiter striatus*) captured in New Mexico in relation to prevalence, intensity, and biogeography of avian hematozoa. **The Auk**, v. 121, n. 3, p. 837-846, 2004.

SOUZA, Luciana Carvalho. **Diagnóstico do atual status do tráfico de animais silvestres do Brasil**. Monografia (Graduação em Engenharia Florestal) – Instituto de Florestas, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

SOUZA, T. O.; VILELA, D. A. R.; CÂMARA, B. G. O. Pressões sobre a avifauna brasileira: Aves recebidas pelo CETAS/IBAMA, Belo Horizonte, Minas Gerais. **Ornithologia**, v. 7, n. 1, p. 1-1, 2014.

STABLER, R. M.; HOLT, P. A. Hematozoa from Colorado birds. II. Falconiformes and strigiformes. **Journal of Parasitology**, v. 51, n. 6, p. 927-928, 1965.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 30, p. 1312-1313, 2014.

STRINGER, A. P.; LINKLATER, W. Everything in moderation: principles of parasite control for wildlife conservation. **Bioscience** 64, 932–937, 2014.

TALAVERA, G.; CASTRESANA, J. Improvement of phylogenies after removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. **Systematic Biology**, v. 56, n. 4, p. 564-577, 2007.

TAMURA, K.; BATTISTUZZI, F. U.; BILLING-ROSS, P.; MURILLO, O.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. Estimating divergence times in large molecular phylogenies. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 47, p. 19333-19338, 2012.

TANIGAWA, M.; SATO, Y.; EJIRI, H.; IMURA, T.; CHIBA, R.; YAMAMOTO, H.; KAWAGUCHI, M.; TSUDA, Y.; MURATA, K.; YUKAWA, M. Molecular identification of avian haemosporidia in wild birds and mosquitoes on Tsushima Island, Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 75, p. 319-326, 2013.

TOMÉ, R.; SANTOS, N.; CARDIA, P.; FERRAND, N.; KORPIMAKI, E. Factors affecting the prevalence of blood parasites of Little Owls *Athene noctua* in southern Portugal. **Ornis Fennica**, v. 82, n. 2, p. 63-72, 2005.

TOSTES, R.; MARTINELE, I.; VASHIST, U.; CASTAÑON, M. C. M. N.; DE FARIA, P. P.; DAEMON, E.; D'AGOSTO, M. Molecular characterization and biochemical and histopathological aspects of the parasitism of *Haemoproteus* spp. in southern caracaras (*Caracara plancus*). **Journal of Parasitology**, v. 101, n. 6, p. 687-693, 2015.

TOSTES, R.; VASHIST, U.; SCOPEL, K. K. G.; MASSARD, C. L.; DAEMON, E.; D'AGOSTO, M. *Plasmodium* spp. and *Haemoproteus* spp. infection in birds of the Brazilian Atlantic Forest detected by microscopy and polymerase chain reaction. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n.1, p. 67-74, 2015.

TOSTES, R.; DIAS, R. J. P.; MARTINELE, I.; SENRA, M. V. X.; D'AGOSTO, M.; MASSARD, C. L. Multidisciplinary re-description of *Plasmodium* (*Novyella*) *paranucleophilum* in Brazilian wild birds of the Atlantic Forest kept in captivity. **Parasitology Research**, v. 116, n. 7, p. 1887-1897, 2017.

VALKIŪNAS, G. **Bird Haemosporida[monograph]**. Vilnius: Institute of Ecology, 1997.

VALKIŪNAS, Gediminas. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. Florida: CRC Press Boca Raton, 2005.

VALKIŪNAS, G.; BENSCH, S.; IEZHOVA, T. A.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; HELLGREN, O.; BOLSHAKOV, C. V. Nested cytochrome *b* polymerase chain reaction diagnostics underestimate mixed infections of avian blood haemosporidian parasites: microscopy is still essential. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 2, p. 418-422, 2006.

VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; PALINAUSKAS, V.; SEHGAL, R. N. M.; BENSCH, S. A comparative analysis of microscopy and PCR-based detection methods for blood parasites. **Journal of Parasitology**, v. 94, p. 1395-1401, 2008.

VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T. A.; LOISEAU, C.; SMITH, T. B.; SEHGAL, R. N. M. New malaria parasites of the subgenus *Novyella* in African rainforest birds, with remarks on their high prevalence, classification and diagnostics. **Parasitology Research**, v. 104, p. 1061-1077, 2009.

VALKIŪNAS, G.; KAZLAUSKIENĖ, R.; BERNOTIENĖ, R.; PALINAUSKAS, V.; IEZHOVA, T. A. Abortive long-lasting sporogony of two *Haemoproteus* species

(Haemosporida, Haemoproteidae) in the mosquito *Ochlerotatus cantans*, with perspectives on haemosporidian vector research. **Parasitology Research**, v. 112, n. 6, p. 2159-2169, 2013.

VALKIŪNAS, G.; PALINAUSKAS, V.; ILGŪNAS, M.; BUKAUSKAITĖ, D.; DIMITROV, D.; BERNOTIENĖ, R.; ZEHTINDJIEV, P.; ILIEVA, M.; IEZHOVA, T. A. Molecular characterization of five widespread avian haemosporidian parasites (Haemosporida), with perspectives on the PCR-based detection of haemosporidians in wildlife. **Parasitology Research**, v. 113, p. 2251-2263, 2014.

VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T.A. Exo-erythrocytic development of avian malaria and related haemosporidian parasites. **Malaria Journal**, v. 16, n. 101, 2017.

VALKIŪNAS, G.; ILGUNAS, M.; BUKAUSKAITĖ, D.; PALINAUSKAS, V.; BERNOTIENĖ, R.; IEZHOVA, T. A. Molecular characterization and distribution of *Plasmodium matutinum*, a common avian malaria parasite. **Parasitology**, v. 144, p. 1726-1735, 2017.

VALKIŪNAS, G.; IEZHOVA, T.A. Keys to the avian malaria parasites. **Malaria Journal**, v. 17, n. 212, p. 1-24, 2018.

VALKIŪNAS, G.; ILGŪNAS, M.; BUKAUSKAITĖ, D.; CHAGAS, C. R. F.; BERNOTIENĖ, R.; HIMMEL, T.; HARL, J.; WEISSENBOCK, H.; IEZHOVA, T. A. Molecular characterization of six widespread avian haemoproteids, with description of three new *Haemoproteus* species. **Acta Tropica**, v. 197, e105051, 2019.

VALKIŪNAS, G.; ILGŪNAS, M.; CHAGAS, C. R. F.; BERNOTIENĖ, R.; IEZHOVA, T. A. Molecular characterization of swallow haemoproteids, with description of one new *Haemoproteus* species. **Acta Tropica**, v. 207, e105486, 2020.

VAN OOSTERHOUT, C.; SMITH, A. M.; HAENFLING, B.; RAMNARINE, I. W.; MOHAMMED, R. S.; CABLE, J. The guppy as a conservation model: implications of parasitism and inbreeding for reintroduction success. **Conservation Biology**, v. 21, p. 1573-1583, 2007.

VAN RIPER III, C.; VAN RIPER, S. G.; GOFF, M. L.; LAIRD, M. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. **Ecological Monographs**, v. 56, p. 327-344, 1986.

VANSTREELS, R. E.; KOLESNIKOVAS, C. K.; SANDRI, S.; SILVEIRA, P.; BELO, N. O.; FERREIRA-JUNIOR, F.C.; EPIPHANIO, S.; STEINDEL, M.; BRAGA, E. M.; CATÃO-DIAS, J. L. Outbreak of avian malaria associated to multiple species of *Plasmodium* in Magellanic penguins undergoing rehabilitation in southern Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, e94994, 2014.

VANSTREELS, R. E.; KOLESNIKOVAS, C. K.; SANDRI, S.; SILVEIRA, P.; BELO, N. O.; FERREIRA-JUNIOR, F.C.; EPIPHANIO, S.; STEINDEL, M.; BRAGA, E. M.; CATÃO-DIAS, J. L. Correction: Outbreak of avian malaria associated to multiple species of *Plasmodium* in Magellanic Penguins undergoing rehabilitation in Southern Brazil. **PLoS ONE**, v. 9, n. 12, e116554, 2014.

VANSTREELS, R. E. T.; DA SILVA-FILHO, R. P.; KOLESNIKOVAS, C. K. M.; BHERING, R. C. C.; RUOPPOLO, V.; EPIPHANIO, S.; AMAKU, M.; FERREIRA-JUNIOR, F. C.; BRAGA, E. M.; CATÃO-DIAS, J. L. Epidemiology and pathology of avian malaria in penguins undergoing rehabilitation in Brazil. **Veterinary Research**, v. 46, n. 30, 2015.

VANSTREELS, R. E. T.; CAPELLINO, F.; SILVEIRA, P.; BRAGA, É. M.; RODRÍGUEZ-HEREDIA, S. A.; LOUREIRO, J.; CATÃO-DIAS, J. L. Avian Malaria (*Plasmodium* spp.) in Captive Magellanic Penguins (*Spheniscus magellanicus*) from Northern Argentina, 2010. **Journal of Wildlife Diseases**: v. 52, n. 3, p. 734-737, 2016.

VILELA, Daniel Ambrózio da Rocha. **Diagnóstico de situação dos animais silvestres recebidos nos CETAS brasileiros e *Chlamydophila psittaci* em papagaios (*Amazona aestiva*) no CETAS de Belo Horizonte, MG**. Tese (Doutorado em Ciência Animal) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, 2012.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; KIBOI, S.; HASSELQUIST, D.; OTTOSSON, U. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. **Molecular Ecology**, v. 11, p. 1545-1554, 2002.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; HASSELQUIST, D.; OSTMAN, O. A new nested polymerase chain reaction method very efficient in detecting *Plasmodium* and *Haemoproteus* infections from avian blood. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 1, p. 191-194, 2004.

WEISS, R. A.; MCMICHAEL, A. J. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. **Nature Medicine**, v. 10, p. 70-76, 2004.

WILCOX, B. A.; MUPHY, D. D. Conservation strategy: the effects of fragmentation on extinction. **The American Naturalist**, v. 125, p. 879-887, 1985.

WINDSOR, D. A. Equal rights for parasites. **Conservation Biology**, v. 9, n. 1, p. 1-2, 1995.

WOODFORD, M. H.; ROSSITER, P. B. Disease risks associated with wildlife translocation projects. In: OLNEY, P. J. S.; MACE, G. M.; FEISTNER, A. T. C. **Creative conservation: Interactive management of wild and captive animals**. Londres: Chapman and Hall, 1994. p. 178-200.

WOODFORD, M. H. Quarantine and health screening protocols for wildlife prior to translocation and release in the wild. **Other Publications in Zoonotics and Wildlife Disease**, v. 32, 2001.

YABSLEY, M. J.; VANSTREELS, R. E. T.; MARTINSEN, E. S.; WICKSON, A. G. et al. Parasitaemia data and molecular characterization of *Haemoproteus catharti* from New World vultures (Cathartidae) reveals a novel clade of Haemosporida. **Malaria Journal**, v. 17, n. 12, p. 1-10, 2018.

YILDIRIM, A.; AYSUL, N.; BAYRAMLI, G.; INCI, A.; EREN, H.; AYPAK, S.; DUZLU, O.; CILOGLU, A.; ONDER, Z. Detection and molecular characterization of a *Haemoproteus* lineage in a Tawny Owl (*Strix aluco*) in Turkey. **Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 69, p. 179-183, 2013.

YULE, G. U. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 213, p. 21-87, 1924.

ZEHTINDJIEV, P.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; BENSCH, S.; PALINAUSKAS, V.; ASGHAR, M.; DIMITROV, D.; SCEBBA, S.; VALKIŪNAS, G. A new morphologically distinct avian malaria parasite that fails detection by established polymerase chain reaction – based protocols for amplification of the cytochrome B gene. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 657-665, 2012.

ZHANG, J.; KAPLI, P.; PAVLIDIS, P.; STAMATAKIS, A. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. **Bioinformatics**, v. 29, n. 22, p. 2869-2876, 2013.

ZIMAN, M.; COLAGROSS-SCHOUTEN, A.; GRIFFEY, S.; STEDMAN, B. *Haemoproteus* spp. and *Leucocytozoon* spp. in captive raptor population. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 40, n. 1, p. 137-140, 2004.

ZUBEN, C. J. V. Implicações da agregação espacial de parasitas para a dinâmica populacional na interação hospedeiro-parasita. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 5, p. 523-530, 1997.

ZWARG, Ticiania. **Hematologia, pesquisa de hemoparasitos e mensuração da atividade de colinesterases plasmáticas em Falconiformes e Strigiformes do estado de São Paulo, Brasil**. Dissertação (Mestre em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

ANEXO A: Espécies de aves recebidas em Centros de Triagem de Animais Silvestres do Brasil no período de 2004 a 2019 (Capítulo 1).

Espécie	Autor	Ordem	Família	Nome comum	Ocorrência	Status de conservação
<i>Aburria cumanensis</i>	Jacquin, 1784	Galliformes	Cracidae	Jacutinga-de-garganta-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aburria jacutinga</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Jacutinga	Nativo	Em perigo
<i>Accipiter bicolor</i>	Vieillot, 1817	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-bombachinha-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Accipiter poliogaster</i>	Temminck, 1824	Accipitriformes	Accipitridae	Tauató-pintado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Accipiter striatus</i>	Vieillot, 1807	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-miúdo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Accipiter superciliosus</i>	Linnaeus, 1766	Accipitriformes	Accipitridae	Tauató-passarinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Agamia agami</i>	Gmelin, 1789	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-da-mata	Nativo	Vulnerável
<i>Agapornis personata</i>	Reichenow, 1887	Psittaciformes	Psittacidae	Agapornis	Exótico	Pouco preocupante
<i>Agelaioides badius</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Asa-de-telha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Agelaioides fringillarius</i>	Spix, 1824	Passeriformes	Icteridae	Asa-de-telha-pálido	Nativo	Pouco preocupante
<i>Agelasticus cyanopus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Carretão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Agelasticus thilius</i>	Molina, 1782	Passeriformes	Icteridae	Sargento	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aix galericulata</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Pato-mandarim	Exótico	Pouco preocupante
<i>Aix sponsa</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Pato-carolino	Exótico	Pouco preocupante
<i>Alipiopsitta xanthops</i>	Spix, 1824	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-galeco	Nativo	Quase ameaçada
<i>Alopochen aegyptiacus</i>	Linnaeus, 1766	Anseriformes	Anatidae	Ganso-do-egipto	Exótico	Pouco preocupante
<i>Amadonastur lacernulatus</i>	Temminck, 1827	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pombo-pequeno	Nativo	Vulnerável
<i>Amaurospiza moesta</i>	Hartlaub, 1853	Passeriformes	Cardinalidae	Negrino-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazilia fimbriata</i>	Gmelin, 1788	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-garganta-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazilia lactea</i>	Lesson, 1832	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-peito-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazilia leucogaster</i>	Gmelin, 1788	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-barriga-branca	Nativo	Pouco preocupante

<i>Amazilia versicolor</i>	Vieillot, 1818	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-banda-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazona aestiva</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-verdadeiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazona amazonica</i>	Linnaeus, 1766	Psittaciformes	Psittacidae	Curica	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazona autumnalis</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-diadema	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazona brasiliensis</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-de-cara-roxa	Nativo	Vulnerável
<i>Amazona dufresniana</i>	Shaw, 1812	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-de-bochecha-azul	Nativo	Quase ameaçada
<i>Amazona farinosa</i>	Boddaert, 1783	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-moleiro	Nativo	Quase ameaçada
<i>Amazona festiva</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-da-várzea	Nativo	Quase ameaçada
<i>Amazona kawalli</i>	Grantsau & Camargo, 1989	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-dos-garbes	Nativo	Quase ameaçada
<i>Amazona ochrocephala</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-campeiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Amazona pretrei</i>	Temminck, 1830	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-charão	Nativo	Vulnerável
<i>Amazona rhodocorytha</i>	Salvadori, 1890	Psittaciformes	Psittacidae	Chauá	Nativo	Em perigo
<i>Amazona vinacea</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Papagaio-de-peito-roxo	Nativo	Em perigo
<i>Amazonetta brasiliensis</i>	Gmelin, 1789	Anseriformes	Anatidae	Pé-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ammodramus aurifrons</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Passerellidae	Cigarrinha-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anas bahamensis</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Marreca-toicinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anas discors</i>	Linnaeus, 1766	Anseriformes	Anatidae	Marreca-de-asa-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anas flavirostris</i>	Vieillot, 1816	Anseriformes	Anatidae	Marreca-pardinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anas platyrhynchos</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Pato-real	Exótico	Pouco preocupante
<i>Anhima cornuta</i>	Linnaeus, 1766	Anseriformes	Anhimidae	Anhuma	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anhinga anhinga</i>	Linnaeus, 1766	Suliformes	Anhingidae	Biguatinga	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>	Latham, 1790	Psittaciformes	Psittacidae	Arara-azul-grande	Nativo	Vulnerável
<i>Anous stolidus</i>	Linnaeus, 1758	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-escuro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Anthracothorax nigricollis</i>	Vieillot, 1817	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-veste-preta	Nativo	Pouco preocupante

<i>Antilophia galeata</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Pipridae	Soldadinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Antrostomus rufus</i>	Boddaert, 1783	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	João-corta-pau	Nativo	Pouco preocupante
<i>Antrostomus sericocaudatus</i>	Cassin, 1849	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-rabo-de-seda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aphantochroa cirrochloris</i>	Vieillot, 1818	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ara ararauna</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Arara-canindé	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ara chloropterus</i>	Gray, 1859	Psittaciformes	Psittacidae	Arara-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ara macao</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Araracanga	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ara severus</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Maracanã-guaçu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aramides cajanea</i>	Statius Muller, 1776	Gruiformes	Rallidae	Saracura-três-potes	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aramides mangle</i>	Spix, 1825	Gruiformes	Rallidae	Saracura-do-mangue	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aramides saracura</i>	Spix, 1825	Gruiformes	Rallidae	Saracura-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aramus guarauna</i>	Linnaeus, 1766	Psittaciformes	Psittacidae	Carão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aratinga acuticaudata</i>	Vieillot, 1818	Psittaciformes	Psittacidae	Aratinga-de-testa-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aratinga auricapillus</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Jandaia-de-testa-vermelha	Nativo	Quase ameaçada
<i>Aratinga jandaya</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Jandaia-verdadeira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aratinga nenday</i>	Vieillot, 1823	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-cabeça-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Aratinga solstitialis</i>	Linnaeus, 1766	Psittaciformes	Psittacidae	Jandaia-amarela	Nativo	Em perigo
<i>Aratinga weddellii</i>	Deville, 1851	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-cabeça-suja	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ardea alba</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-branca-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ardea cocoi</i>	Linnaeus, 1766	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-moura	Nativo	Pouco preocupante
<i>Arremon flavirostris</i>	Swainson, 1838	Passeriformes	Passerellidae	Tico-tico-de-bico-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Arremon semitorquatus</i>	Swainson, 1838	Passeriformes	Passerellidae	Tico-tico-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Arremon taciturnus</i>	Hermann, 1783	Passeriformes	Passerellidae	Tico-tico-de-bico-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Asio clamator</i>	Vieillot, 1808	Strigiformes	Strigidae	Coruja-orelhuda	Nativo	Pouco preocupante

<i>Asio stygius</i>	Wagler, 1832	Strigiformes	Strigidae	Mocho-diabo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Athene cunicularia</i>	Molina, 1782	Strigiformes	Strigidae	Coruja-buraqueira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Attila rufus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Tyrannidae	Capitão-de-saíra	Nativo	Pouco preocupante
<i>Baryphthengus ruficapillus</i>	Vieillot, 1818	Coraciiformes	Momotidae	Juruva	Nativo	Pouco preocupante
<i>Basileuterus culicivorus</i>	Deppe, 1830	Passeriformes	Parulidae	Pula-pula	Nativo	Pouco preocupante
<i>Bolborhynchus lineola</i>	Cassin, 1853	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito- catarina	Exótico	Pouco preocupante
<i>Botaurus pinnatus</i>	Wagler, 1829	Pelecaniformes	Ardeidae	Socó-boi-baio	Nativo	Pouco preocupante
<i>Brotogeris chiriri</i>	Vieillot, 1818	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-encontro-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Brotogeris chrysoptera</i>	Linnaeus, 1766	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-asa-dourada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Brotogeris sanctithomae</i>	Statius Muller, 1776	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-testinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Brotogeris tirica</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-rico	Nativo	Pouco preocupante
<i>Brotogeris versicolurus</i>	Statius Muller, 1776	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-asa-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Bubo virginianus</i>	Gmelin, 1788	Strigiformes	Strigidae	Jacurutu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Bubulcus ibis</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-vaqueira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Burhinus bistriatus</i>	Wagler, 1829	Charadriiformes	Burhinidae	Téu-téu-da-savana	Nativo	Pouco preocupante
<i>Buteo albonotatus</i>	Kaup, 1847	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-urubu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Buteo brachyurus</i>	Vieillot, 1816	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-de-cauda-curta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Buteo nitidus</i>	Latham, 1790	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pedrês	Nativo	Pouco preocupante
<i>Buteo platypterus</i>	Vieillot, 1823	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-de-asa-larga	Nativo	Pouco preocupante
<i>Buteogallus aequinoctialis</i>	Gmelin, 1788	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-caranguejeiro	Nativo	Quase ameaçada
<i>Buteogallus anthracinus</i>	Deppe, 1830	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-caranguejeiro-negro	Exótico	Pouco preocupante
<i>Butorides striata</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Socozinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cacicus cela</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Icteridae	Xexéu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cacicus chrysopterus</i>	Vigors, 1825	Passeriformes	Icteridae	Tecelão	Nativo	Pouco preocupante

<i>Cacicus haemorrhous</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Icteridae	Guaxe	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cairina moschata</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Pato-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Calidris alba</i>	Pallas, 1764	Charadriiformes	Scolopacidae	Maçarico-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Calidris canutus</i>	Linnaeus, 1758	Charadriiformes	Scolopacidae	Maçarico-de-papo-vermelho	Nativo	Quase ameaçada
<i>Calidris fuscicollis</i>	Vieillot, 1819	Charadriiformes	Scolopacidae	Maçarico-de-sobre-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Calidris himantopus</i>	Bonaparte, 1826	Charadriiformes	Scolopacidae	Maçarico-pernilongo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Calliphlox amethystina</i>	Boddaert, 1783	Apodiformes	Trochilidae	Estrelinha-ametista	Nativo	Pouco preocupante
<i>Calonectris borealis</i>	Cory, 1881	Procellariiformes	Procellariidae	Bobo-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Campephilus melanoleucos</i>	Gmelin, 1788	Piciformes	Picidae	Pica-pau-de-topete-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Camptostoma obsoletum</i>	Temminck, 1824	Passeriformes	Tyrannidae	Risadinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Caracara cheriway</i>	Jacquin, 1784	Falconiformes	Falconidae	Carcará-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Caracara plancus</i>	Miller, 1777	Falconiformes	Falconidae	Carcará	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cariama cristata</i>	Linnaeus, 1766	Cariamiformes	Cariamidae	Seriema	Nativo	Pouco preocupante
<i>Catamenia homochroa</i>	Sclater, 1859	Passeriformes	Thraupidae	Patativa-da-amazônia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cathartes aura</i>	Linnaeus, 1758	Cathartiformes	Cathartidae	Urubu-de-cabeça-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cathartes burrovianus</i>	Cassin, 1845	Cathartiformes	Cathartidae	Urubu-de-cabeça-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Celeus flavescens</i>	Gmelin, 1788	Piciformes	Picidae	Pica-pau-de-cabeça-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Celeus flavus</i>	Statius Muller, 1776	Piciformes	Picidae	Pica-pau-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chaetura meridionalis</i>	Hellmayr, 1907	Apodiformes	Apodidae	Andorinhão-do-temporal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Charadrius collaris</i>	Vieillot, 1818	Charadriiformes	Charadriidae	Batuíra-de-coleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Charadrius semipalmatus</i>	Bonaparte, 1825	Charadriiformes	Charadriidae	Batuíra-de-bando	Nativo	Pouco preocupante
<i>Charitospiza eucosma</i>	Oberholser, 1905	Passeriformes	Thraupidae	Mineirinho	Nativo	Quase ameaçada
<i>Chauna torquata</i>	Oken, 1816	Anseriformes	Anhimidae	Tachã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chionis albus</i>	Gmelin, 1789	Charadriiformes	Chionidae	Pomba-antártica	Exótico	Pouco preocupante

<i>Chiroxiphia caudata</i>	Shaw & Nodder, 1793	Passeriformes	Pipridae	Tangará	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chiroxiphia pareola</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Pipridae	Tangará-príncipe	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chloroceryle aenea</i>	Pallas, 1764	Coraciiformes	Alcedinidae	Martim-pescador-miúdo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chloroceryle amazona</i>	Latham, 1790	Coraciiformes	Alcedinidae	Martim-pescador-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chloroceryle americana</i>	Gmelin, 1788	Coraciiformes	Alcedinidae	Martim-pescador-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chloroceryle inda</i>	Linnaeus, 1766	Coraciiformes	Alcedinidae	Martim-pescador-da-mata	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chlorophanes spiza</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Sai-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chlorophonia cyanea</i>	Thunberg, 1822	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-bandeira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chondrohierax uncinatus</i>	Temminck, 1822	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-caracoleiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chordeiles acutipennis</i>	Hermann, 1783	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-de-asa-fina	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chordeiles minor</i>	Forster, 1771	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-norte-americano	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chordeiles nacunda</i>	Vieillot, 1817	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Coruçã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chroicocephalus cirrocephalus</i>	Vieillot, 1818	Charadriiformes	Laridae	Gaivota-de-cabeça-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chrysolampis mosquitum</i>	Linnaeus, 1758	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Chrysomus ruficapillus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Garibaldi	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cissopis leverianus</i>	Gmelin, 1788	Passeriformes	Thraupidae	Tietinga	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cistothorus platensis</i>	Latham, 1790	Passeriformes	Troglodytidae	Corruira-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Claravis pretiosa</i>	Ferrari-Perez, 1886	Columbiformes	Columbidae	Pararu-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coccyzus americanus</i>	Linnaeus, 1758	Cuculiformes	Cuculidae	Papa-lagarta-de-asa-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coccyzus euleri</i>	Cabanis, 1873	Cuculiformes	Cuculidae	Papa-lagarta-de-euler	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coccyzus melacoryphus</i>	Vieillot, 1817	Cuculiformes	Cuculidae	Papa-lagarta-acanelado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coccyzus minor</i>	Gmelin, 1788	Cuculiformes	Cuculidae	Papa-lagarta-do-mangue	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cochlearius cochlearius</i>	Linnaeus, 1766	Pelecaniformes	Ardeidae	Arapapá	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coereba flaveola</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Cambacica	Nativo	Pouco preocupante

<i>Colaptes campestris</i>	Vieillot, 1818	Piciformes	Picidae	Pica-pau-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Colaptes melanochloros</i>	Gmelin, 1788	Piciformes	Picidae	Pica-pau-verde-barrado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Colibri serrirostris</i>	Vieillot, 1816	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-orelha-violeta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Colonia colonus</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Tyrannidae	Viuvinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Columba livia</i>	Gmelin, 1789	Columbiformes	Columbidae	Pombo-doméstico	Exótico	Pouco preocupante
<i>Columbina cyanopsis</i>	Pelzeln, 1870	Columbiformes	Columbidae	Rolinha-do-planalto	Nativo	Em perigo crítico
<i>Columbina minuta</i>	Linnaeus, 1766	Columbiformes	Columbidae	Rolinha-de-asa-canela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Columbina passerina</i>	Linnaeus, 1758	Columbiformes	Columbidae	Rolinha-cinzenta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Columbina picui</i>	Temminck, 1813	Columbiformes	Columbidae	Rolinha-picui	Nativo	Pouco preocupante
<i>Columbina squammata</i>	Lesson, 1831	Columbiformes	Columbidae	Fogo-apagou	Nativo	Pouco preocupante
<i>Columbina talpacoti</i>	Temminck, 1810	Columbiformes	Columbidae	Rolinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Compothraupis loricata</i>	Lichtenstein, 1819	Passeriformes	Thraupidae	Tiê-caburé	Nativo	Pouco preocupante
<i>Conirostrum speciosum</i>	Temminck, 1824	Passeriformes	Thraupidae	Figuinha-de-rabo-castanho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Conopophaga lineata</i>	Wied, 1831	Passeriformes	Conopophagidae	Chupa-dente	Nativo	Pouco preocupante
<i>Conothraupis speculigera</i>	Gould, 1855	Passeriformes	Thraupidae	Tiê-preto-e-branco	Exótico	Quase ameaçada
<i>Coragyps atratus</i>	Bechstein, 1793	Cathartiformes	Cathartidae	Urubu-de-cabeça-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coryphospingus cucullatus</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Tico-tico-rei	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coryphospingus pileatus</i>	Wied, 1821	Passeriformes	Thraupidae	Tico-tico-rei-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coscoroba coscoroba</i>	Molina, 1782	Anseriformes	Anatidae	Capororoca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cotinga cotinga</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Cotingidae	Anambé-de-peito-roxo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Coturnix japonica</i>	Temminck e Schlegel, 1849	Galliformes	Phasianidae	Codorna-japonesa	Exótico	Quase ameaçada
<i>Cranioleuca pallida</i>	Wied, 1831	Passeriformes	Furnariidae	Arredio-pálido	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crax alector</i>	Linnaeus, 1766	Galliformes	Cracidae	Mutum-poranga	Nativo	Vulnerável
<i>Crax blumenbachii</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Mutum-de-bico-vermelho	Nativo	Em perigo

<i>Crax fasciolata</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Mutum-de-penacho	Nativo	Vulnerável
<i>Crotophaga ani</i>	Linnaeus, 1758	Cuculiformes	Cuculidae	Anu-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crotophaga major</i>	Gmelin, 1788	Cuculiformes	Cuculidae	Anu-coroca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crypturellus noctivagus</i>	Wied, 1820	Tinamiformes	Tinamidae	Jaó-do-sul	Nativo	Quase ameaçada
<i>Crypturellus obsoletus</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Inhambu-guaçu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crypturellus parvirostris</i>	Wagler, 1827	Tinamiformes	Tinamidae	Inhambu-chororó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crypturellus tataupa</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Inhambu-chintã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Crypturellus undulatus</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Jaó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Curaeus forbesi</i>	Sclater, 1886	Passeriformes	Icteridae	Anumará	Nativo	Em perigo
<i>Cyanerpes caeruleus</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Saí-de-perna-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanerpes nitidus</i>	Hartlaub, 1847	Passeriformes	Thraupidae	Saí-de-bico-curto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanicterus cyanicterus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Thraupidae	Pipira-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanocorax caeruleus</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Corvidae	Gralha-azul	Nativo	Quase ameaçada
<i>Cyanocorax chrysops</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Corvidae	Gralha-picaça	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanocorax cristatellus</i>	Temminck, 1823	Passeriformes	Corvidae	Gralha-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanocorax cyanopogon</i>	Wied, 1821	Passeriformes	Corvidae	Gralha-cancã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Cardinalidae	Azulão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanoloxia cyanoides</i>	Bartlett, 1890	Passeriformes	Cardinalidae	Azulão-da-amazônia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyanoloxia glaucocaerulea</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Cardinalidae	Azulinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cyclarhis gujanensis</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Vireonidae	Pitiguari	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cygnus atratus</i>	Latham, 1790	Anseriformes	Anatidae	Cisne-negro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cygnus melancoryphus</i>	Molina, 1782	Anseriformes	Anatidae	Cisne-de-pescoço-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cygnus olor</i>	Gmelin, 1789	Anseriformes	Anatidae	Cisne-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Cypseloides fumigatus</i>	Streubel, 1848	Apodiformes	Apodidae	Tapuruçu-preto	Nativo	Pouco preocupante

<i>Cypsnagra hirundinacea</i>	Lesson, 1831	Passeriformes	Thraupidae	Bandoleta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dacnis cayana</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Saí-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dacnis lineata</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Saí-de-máscara-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dendrocygna autumnalis</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Marreca-cabocla	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dendrocygna bicolor</i>	Vieillot, 1816	Anseriformes	Anatidae	Marreca-caneleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dendrocygna viduata</i>	Linnaeus, 1766	Anseriformes	Anatidae	Irerê	Nativo	Pouco preocupante
<i>Deroptylus accipitrinus</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Anacã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Diomedea exulans</i>	Linnaeus, 1758	Procellariiformes	Diomedidae	Albatroz-gigante	Nativo	Vulnerável
<i>Diopsittaca nobilis</i>	Linnaeus, 1758	Anseriformes	Anatidae	Maracanã-pequena	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dolichonyx oryzivorus</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Icteridae	Triste-pia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dromococcyx pavoninus</i>	Pelzeln, 1870	Cuculiformes	Cuculidae	Peixe-frito-pavonino	Nativo	Pouco preocupante
<i>Dryocopus lineatus</i>	Linnaeus, 1766	Piciformes	Picidae	Pica-pau-de-banda-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Egretta caerulea</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Egretta thula</i>	Molina, 1782	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-branca-pequena	Nativo	Pouco preocupante
<i>Egretta tricolor</i>	Statius Muller, 1776	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-tricolor	Nativo	Pouco preocupante
<i>Elaenia flavogaster</i>	Thunberg, 1822	Passeriformes	Tyrannidae	Guaracava-de-barriga-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Elaenia mesoleuca</i>	Deppe, 1830	Passeriformes	Tyrannidae	Tuque	Nativo	Pouco preocupante
<i>Elaenia parvirostris</i>	Pelzeln, 1868	Passeriformes	Tyrannidae	Guaracava-de-bico-curto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Elanoides forficatus</i>	Linnaeus, 1758	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-tesoura	Nativo	Pouco preocupante
<i>Elanus leucurus</i>	Vieillot, 1818	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-peneira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Embernagra longicauda</i>	Strickland, 1844	Passeriformes	Thraupidae	Rabo-mole-da-serra	Nativo	Pouco preocupante
<i>Embernagra platensis</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Sabiá-do-banhado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Empidonomus varius</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Tyrannidae	Peitica	Nativo	Pouco preocupante
<i>Estrilda astrild</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Estrildidae	Bico-de-lacre	Exótico	Pouco preocupante

<i>Eucometis penicillata</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Thraupidae	Pipira-da-taoca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Eudocimus ruber</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Threskiornithidae	Guará	Nativo	Pouco preocupante
<i>Eupetomena macroura</i>	Gmelin, 1788	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-tesoura	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia chalybea</i>	Mikan, 1825	Passeriformes	Fringillidae	Cais-cais	Nativo	Quase ameaçada
<i>Euphonia chlorotica</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Fringillidae	Fim-fim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia cyanocephala</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-rei	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia laniirostris</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-de-bico-grosso	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia minuta</i>	Cabanis, 1849	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-de-barriga-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia pectoralis</i>	Latham, 1801	Passeriformes	Fringillidae	Ferro-velho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia rufiventris</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia violacea</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Fringillidae	Gaturamo-verdadeiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Euphonia xanthogaster</i>	Sundevall, 1834	Passeriformes	Fringillidae	Fim-fim-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Eupsittula aurea</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-rei	Nativo	Pouco preocupante
<i>Eupsittula cactorum</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-da-caatinga	Nativo	Pouco preocupante
<i>Eupsittula pertinax</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-bochecha-parda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Falco deiroleucus</i>	Temminck, 1825	Falconiformes	Falconidae	Falcão-de-peito-laranja	Nativo	Quase ameaçada
<i>Falco femoralis</i>	Temminck, 1822	Falconiformes	Falconidae	Falcão-de-coleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Falco peregrinus</i>	Tunstall, 1771	Falconiformes	Falconidae	Falcão peregrino	Nativo	Pouco preocupante
<i>Falco rufigularis</i>	Daudin, 1800	Falconiformes	Falconidae	Cauré	Nativo	Pouco preocupante
<i>Falco sparverius</i>	Linnaeus, 1758	Falconiformes	Falconidae	Quiriquiri	Nativo	Pouco preocupante
<i>Florisuga fusca</i>	Vieillot, 1817	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Fluvicola nengeta</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Tyrannidae	Lavadeira-mascarada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Forpus passerinus</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Tuim-santo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Forpus xanthopterygius</i>	Spix, 1824	Psittaciformes	Psittacidae	Tuim	Nativo	Pouco preocupante

<i>Fregata magnificens</i>	Mathews, 1914	Suliformes	Fregatidae	Tesourão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Fulica armillata</i>	Vieillot, 1817	Gruiformes	Rallidae	Carqueja-de-bico-manchado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Furnarius leucopus</i>	Swainson, 1838	Passeriformes	Furnariidae	Casaca-de-couro-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Furnarius rufus</i>	Gmelin, 1788	Passeriformes	Furnariidae	João-de-barro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Galbula ruficauda</i>	Cuvier, 1816	Galbuliformes	Galbulidae	Ariramba-de-cauda-ruiva	Nativo	Pouco preocupante
<i>Gallinago paraguaiiae</i>	Vieillot, 1816	Charadriiformes	Scolopacidae	Narceja	Nativo	Pouco preocupante
<i>Gallinula chloropus</i>	Linnaeus, 1758	Gruiformes	Rallidae	Gallinula chloropus	Exótico	Pouco preocupante
<i>Gallinula galeata</i>	Lichtenstein, 1818	Gruiformes	Rallidae	Frango-d'água-comum	Nativo	Pouco preocupante
<i>Gallus gallus</i>	Linnaeus, 1758	Galliformes	Phasianidae	Galo	Exótico	Pouco preocupante
<i>Gampsonyx swainsonii</i>	Vigors, 1825	Accipitriformes	Accipitridae	Gaviãozinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Geotrygon montana</i>	Linnaeus, 1758	Columbiformes	Columbidae	Pariri	Nativo	Pouco preocupante
<i>Geotrygon violacea</i>	Temminck, 1809	Columbiformes	Columbidae	Juriti-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Geranoaetus albicaudatus</i>	Vieillot, 1816	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-de-rabo-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Geranoaetus melanoleucus</i>	Vieillot, 1819	Accipitriformes	Accipitridae	Águia-serrana	Nativo	Pouco preocupante
<i>Geranospiza caerulescens</i>	Vieillot, 1817	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pernilongo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Glaucidium brasilianum</i>	Gmelin, 1788	Strigiformes	Strigidae	Caburé	Nativo	Pouco preocupante
<i>Glaucidium hardyi</i>	Vielliard, 1990	Strigiformes	Strigidae	Caburé-da-amazônia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Glaucidium minutissimum</i>	Wied, 1830	Strigiformes	Strigidae	Caburé-miudinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Gnorimopsar chopi</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Pássaro-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Graydidascalus brachyurus</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Curica-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Guaruba guarouba</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Ararajuba	Nativo	Vulnerável
<i>Gubernatrix cristata</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Cardeal-amarelo	Nativo	Em perigo
<i>Guira guira</i>	Gmelin, 1788	Cuculiformes	Cuculidae	Anu-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Gymnomystax mexicanus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Icteridae	Irataúá-grande	Nativo	Pouco preocupante

<i>Haematopus palliatus</i>	Temminck, 1820	Charadriiformes	Haematopodidae	Piru-piru	Nativo	Pouco preocupante
<i>Haplospiza unicolor</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Cigarra-bambu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Harpagus diodon</i>	Temminck, 1823	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-bombachinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Harpia harpyja</i>	Linnaeus, 1758	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-real	Nativo	Quase ameaçada
<i>Heliomaster furcifer</i>	Shaw, 1812	Apodiformes	Trochilidae	Bico-reto-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Heliornis fulica</i>	Boddaert, 1783	Gruiformes	Heliornithidae	Picaparra	Nativo	Quase ameaçada
<i>Herpetotheres cachinnans</i>	Linnaeus, 1758	Falconiformes	Falconidae	Acauã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Heterospizias meridionalis</i>	Latham, 1790	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-caboclo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis albicollis</i>	Gmelin, 1789	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis climacocerca</i>	Tschudi, 1844	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Acurana	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis longirostris</i>	Bonaparte, 1825	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-da-telha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis nigrescens</i>	Cabanis, 1849	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-de-lajeado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis parvula</i>	Gould, 1837	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-chintã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hydropsalis torquata</i>	Gmelin, 1789	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-tesoura	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hylocharis cyanus</i>	Vieillot, 1818	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-roxo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Hylocryptus rectirostris</i>	Wied, 1831	Passeriformes	Furnariidae	Fura-barreira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus cayanensis</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Icteridae	Inhapim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus chryscephalus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Icteridae	Rouxinol-do-rio-negro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus croconotus</i>	Wagler, 1829	Passeriformes	Icteridae	João-pinto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus galbula</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Icteridae	Corrupião-de-baltimore	Exótico	Pouco preocupante
<i>Icterus icterus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Icteridae	Turpial	Exótico	Pouco preocupante
<i>Icterus jamacaii</i>	Gmelin, 1788	Passeriformes	Icteridae	Corrupião	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus nigrogularis</i>	Hahn, 1819	Passeriformes	Icteridae	João-pinto-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Icterus pyrrhopterus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Encontro	Nativo	Pouco preocupante

<i>Ictinia plumbea</i>	Gmelin, 1788	Accipitriformes	Accipitridae	Sovi	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ilicura militaris</i>	Shaw & Nodder, 1809	Passeriformes	Pipridae	Tangarazinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ixobrychus exilis</i>	Gmelin, 1789	Pelecaniformes	Ardeidae	Socoí-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ixobrychus involucris</i>	Vieillot, 1823	Pelecaniformes	Ardeidae	Socoí-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Jabiru mycteria</i>	Lichtenstein, 1819	Ciconiiformes	Ciconiidae	Tuiuiú	Nativo	Pouco preocupante
<i>Jacana jacana</i>	Linnaeus, 1766	Charadriiformes	Jacanidae	Jaçanã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Knipolegus lophotes</i>	Boie, 1828	Passeriformes	Tyrannidae	Maria-preta-de-penacho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Lamprosar tanagrinus</i>	Spix, 1824	Passeriformes	Icteridae	Iraúna-velada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Larus dominicanus</i>	Lichtenstein, 1823	Charadriiformes	Laridae	Gaivotão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Laterallus exilis</i>	Temminck, 1831	Gruiformes	Rallidae	Sanã-do-capim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Laterallus melanophaius</i>	Vieillot, 1819	Gruiformes	Rallidae	Sanã-parda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Laterallus viridis</i>	Statius Muller, 1776	Gruiformes	Rallidae	Sanã-castanha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Dendrocolaptidae	Arapaçu-de-cerrado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Leptodon cayanensis</i>	Latham, 1790	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-de-cabeça-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Leptodon forbesi</i>	Swann, 1922	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-de-pescoço-branco	Nativo	Em perigo crítico
<i>Leptotila rufaxilla</i>	Richard & Bernard, 1792	Columbiformes	Columbidae	Juriti-gemeadeira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Leptotila verreauxi</i>	Bonaparte, 1855	Columbiformes	Columbidae	Juriti-pupu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Leucochloris albicollis</i>	Vieillot, 1818	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-papo-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Lophornis magnificus</i>	Vieillot, 1817	Apodiformes	Trochilidae	Topetinho-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Lurocalis semitorquatus</i>	Gmelin, 1789	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Tuju	Nativo	Pouco preocupante
<i>Machetornis rixosa</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Tyrannidae	Suiriri-cavaleiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Macronectes halli</i>	Mathews, 1912	Procellariiformes	Procellariidae	Petrel-gigante-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Malacoptila striata</i>	Spix, 1824	Galbuliformes	Bucconidae	Barbudo-rajado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Manacus manacus</i>	Rafinesque, 1815	Passeriformes	Pipridae	Rendeira	Nativo	Pouco preocupante

<i>Megaceryle torquata</i>	Linnaeus, 1766	Coraciiformes	Alcedinidae	Martim-pescador-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Megarynchus pitangua</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Tyrannidae	Neinei	Nativo	Pouco preocupante
<i>Megascops atricapilla</i>	Temminck, 1822	Strigiformes	Strigidae	Corujinha-sapo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Megascops choliba</i>	Vieillot, 1817	Strigiformes	Strigidae	Corujinha-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Megascops usta</i>	Sclater, 1858	Strigiformes	Strigidae	Corujinha-relógio	Nativo	Pouco preocupante
<i>Megascops watsoni</i>	Cassin, 1849	Strigiformes	Strigidae	Corujinha-orelhuda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Melanerpes candidus</i>	Otto, 1796	Piciformes	Picidae	Pica-pau-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Melospittacus undulatus</i>	Shaw, 1805	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-australiano	Exótico	Pouco preocupante
<i>Mesembrinibis cayennensis</i>	Gmelin, 1789	Pelecaniformes	Threskiornithidae	Coró-coró	Nativo	Pouco preocupante
<i>Micrastur mintoni</i>	Whittaker, 2003	Falconiformes	Falconidae	Falcão-críptico	Nativo	Pouco preocupante
<i>Micrastur ruficollis</i>	Vieillot, 1817	Falconiformes	Falconidae	Falcão-caburé	Nativo	Pouco preocupante
<i>Micrastur semitorquatus</i>	Vieillot, 1817	Falconiformes	Falconidae	Falcão-relógio	Nativo	Pouco preocupante
<i>Microspingus cinereus</i>	Bonaparte, 1850	Passeriformes	Thraupidae	Capacetinho-do-oco-do-pau	Nativo	Vulnerável
<i>Microspingus lateralis</i>	Nordmann, 1835	Passeriformes	Thraupidae	Quete-do-sudeste	Nativo	Pouco preocupante
<i>Milvago chimachima</i>	Vieillot, 1816	Falconiformes	Falconidae	Gavião-carrapateiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Milvago chimango</i>	Vieillot, 1816	Falconiformes	Falconidae	Chimango	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mimus gilvus</i>	Vieillot, 1807	Passeriformes	Mimidae	Sabiá-da-praia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mimus saturninus</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Mimidae	Sabiá-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mimus triurus</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Mimidae	Calhandra-de-três-rabos	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mionectes rufiventris</i>	Cabanis, 1846	Passeriformes	Rhynchocyclidae	Abre-asa-de-cabeça-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mitrospingus oleagineus</i>	Salvin, 1886	Passeriformes	Mitrospingidae	Pipira-olivácea	Nativo	Pouco preocupante
<i>Molothrus bonariensis</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Icteridae	Chupim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Molothrus oryzivorus</i>	Gmelin, 1788	Passeriformes	Icteridae	Iraúna-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Molothrus rufoaxillaris</i>	Cassin, 1866	Passeriformes	Icteridae	Chupim-azeviche	Nativo	Pouco preocupante

<i>Momotus momota</i>	Linnaeus, 1766	Coraciiformes	Momotidae	Udu-de-coroa-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Monasa nigrifrons</i>	Spix, 1824	Galbuliformes	Bucconidae	Chora-chuva-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Mustelirallus albicollis</i>	Vieillot, 1819	Gruiformes	Rallidae	Sanã-carijó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiarchus swainsoni</i>	Cabanis & Heine, 1859	Passeriformes	Tyrannidae	Irré	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiarchus tyrannulus</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Tyrannidae	Maria-cavaleira-de-rabo-enferrujado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiodynastes maculatus</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Tyrannidae	Bem-te-vi-rajado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiophobus fasciatus</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Tyrannidae	Filipe	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiopsitta monachus</i>	Boddaert, 1783	Psittaciformes	Psittacidae	Caturrita	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiozetetes cayanensis</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Tyrannidae	Bentevizinho-de-asa-ferrugínea	Nativo	Pouco preocupante
<i>Myiozetetes similis</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Tyrannidae	Bentevizinho-de-penacho-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nannochordeiles pusillus</i>	Gould, 1861	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurauzinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nannopterum brasilianus</i>	Gmelin, 1789	Suliformes	Phalacrocoracidae	Biguá	Nativo	Pouco preocupante
<i>Neocrex erythrops</i>	Selater, 1867	Gruiformes	Rallidae	Turu-turu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Neopsephotus bourkii</i>	Mathews, 1912	Psittaciformes	Psittacidae	Periquito-de-bourke	Exótico	Pouco preocupante
<i>Neothraupis fasciata</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Thraupidae	Cigarra-do-campo	Nativo	Quase ameaçada
<i>Netta erythrophthalma</i>	Wied, 1833	Anseriformes	Anatidae	Paturi-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Netta peposaca</i>	Vieillot, 1816	Anseriformes	Anatidae	Marrecão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nomonyx dominicus</i>	Linnaeus, 1766	Anseriformes	Anatidae	Marreca-de-bico-roxo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nothura boraquira</i>	Spix, 1825	Tinamiformes	Tinamidae	Codorna-do-nordeste	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nothura maculosa</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Codorna-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Numida meleagris</i>	Linnaeus, 1758	Galliformes	Numididae	Galinha-d'angola	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nyctanassa violacea</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Savacu-de-coroa	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nyctibius aethereus</i>	Wied, 1820	Nyctibiiformes	Nyctibiidae	Mãe-da-lua-parda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nyctibius grandis</i>	Gmelin, 1789	Nyctibiiformes	Nyctibiidae	Mãe-da-lua-gigante	Nativo	Pouco preocupante

<i>Nyctibius griseus</i>	Gmelin, 1789	Nyctibiiformes	Nyctibiidae	Mãe-da-lua	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nycticorax nycticorax</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Ardeidae	Savacu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nyctidromus albigollis</i>	Gmelin, 1789	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nyctiphrynus ocellatus</i>	Tschudi, 1844	Caprimulgiformes	Caprimulgidae	Bacurau-ocelado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nymphicus hollandicus</i>	Kerr, 1792	Psittaciformes	Cacatuidae	Calopsita	Exótico	Pouco preocupante
<i>Nystalus chacuru</i>	Vieillot, 1816	Galbuliformes	Bucconidae	João-bobo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Nystalus maculatus</i>	Gmelin, 1788	Galbuliformes	Bucconidae	Rapazinho-dos-Velhos	Nativo	Pouco preocupante
<i>Onychoprion fuscatus</i>	Linnaeus, 1766	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-das-rocas	Nativo	Pouco preocupante
<i>Orchesticus abeillei</i>	Lesson, 1839	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-pardo	Nativo	Quase ameaçada
<i>Ortalis canicollis</i>	Wagler, 1830	Galliformes	Cracidae	Aracuã-do-pantanal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ortalis guttata</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Aracuã-pintado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ortalis motmot</i>	Linnaeus, 1766	Galliformes	Cracidae	Aracuã-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ortalis superciliaris</i>	Gray, 1867	Galliformes	Cracidae	Aracuã-de-sobrancelhas	Nativo	Pouco preocupante
<i>Orthopsittaca manilatus</i>	Boddaert, 1783	Psittaciformes	Psittacidae	Maracanã-do-buriti	Nativo	Pouco preocupante
<i>Oxyruncus cristatus</i>	Swainson, 1821	Passeriformes	Oxyruncidae	Araponga-do-horto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pachyramphus polychopterus</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Tityridae	Caneleiro-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pachyramphus validus</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Tityridae	Caneleiro-de-chapéu-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pachyramphus viridis</i>	Vieillot, 1816	Passeriformes	Tityridae	Caneleiro-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pandion haliaetus</i>	Linnaeus, 1758	Accipitriformes	Pandionidae	Águia-pescadora	Nativo	Pouco preocupante
<i>Parabuteo unicinctus</i>	Temminck, 1824	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-asa-de-telha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pardirallus maculatus</i>	Boddaert, 1783	Gruiformes	Rallidae	Saracura-carijó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pardirallus nigricans</i>	Vieillot, 1819	Gruiformes	Rallidae	Saracura-sanã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pardirallus sanguinolentus</i>	Swainson, 1838	Gruiformes	Rallidae	Saracura-do-banhado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Paroaria capitata</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Cavalaria	Nativo	Pouco preocupante

<i>Paroaria coronata</i>	Miller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Cardeal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Paroaria dominicana</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Cardeal-do-nordeste	Nativo	Pouco preocupante
<i>Passer domesticus</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Passeridae	Pardal	Exótico	Pouco preocupante
<i>Patagioenas cayennensis</i>	Bonnaterre, 1792	Columbiformes	Columbidae	Pomba-galega	Nativo	Pouco preocupante
<i>Patagioenas fasciata</i>	Say, 1823	Columbiformes	Columbidae	Pomba-de-coleira-branca	Exótico	Pouco preocupante
<i>Patagioenas maculosa</i>	Temminck, 1813	Columbiformes	Columbidae	Pomba-do-orvalho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Patagioenas picazuro</i>	Temminck, 1813	Columbiformes	Columbidae	Asa-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Patagioenas plumbea</i>	Vieillot, 1818	Columbiformes	Columbidae	Pomba-amargosa	Nativo	Pouco preocupante
<i>Patagioenas speciosa</i>	Gmelin, 1789	Columbiformes	Columbidae	Pomba-trocal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Patagioenas subvinacea</i>	Lawrence, 1868	Columbiformes	Columbidae	Pomba-botafogo	Nativo	Vulnerável
<i>Pauxi tuberosa</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Mutum-cavalo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Penelope jacquacu</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Jacu-de-spix	Nativo	Pouco preocupante
<i>Penelope jacucaca</i>	Spix, 1825	Galliformes	Cracidae	Jacucaca	Nativo	Vulnerável
<i>Penelope marail</i>	Statius Muller, 1776	Galliformes	Cracidae	Jacumirim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Penelope obscura</i>	Temminck, 1815	Galliformes	Cracidae	Jacuaçu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Penelope ochrogaster</i>	Pelzeln, 1870	Galliformes	Cracidae	Jacu-de-barriga-castanha	Nativo	Vulnerável
<i>Penelope superciliaris</i>	Temminck, 1815	Galliformes	Cracidae	Jacupemba	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phaethon aethereus</i>	Linnaeus, 1758	Phaethontiformes	Phaethontidae	Rabo-de-palha-de-bico-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phaethornis ruber</i>	Linnaeus, 1758	Apodiformes	Trochilidae	Rabo-branco-rubro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phaethornis eurynome</i>	Lesson, 1832	Apodiformes	Trochilidae	Rabo-branco-de-garganta-rajada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phaetusa simplex</i>	Gmelin, 1789	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phasianus colchicus</i>	Linnaeus, 1758	Galliformes	Phasianidae	Faisão-comum	Exótico	Pouco preocupante
<i>Phimosus infuscatus</i>	Lichtenstein, 1823	Pelecaniformes	Threskiornithidae	Tapicuru	Nativo	Pouco preocupante
<i>Phoenicopterus chilensis</i>	Molina, 1782	Phoenicopteriformes	Phoenicopteridae	Flemingo-chileno	Exótico	Quase ameaçada

<i>Phyllomyias fasciatus</i>	Thunberg, 1822	Passeriformes	Tyrannidae	Piolhinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Piaya cayana</i>	Linnaeus, 1766	Cuculiformes	Cuculidae	Alma-de-gato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pica pica</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Corvidae	Pega-rabuda	Exótico	Pouco preocupante
<i>Picumnus temminckii</i>	Lafresnaye, 1845	Piciformes	Picidae	Pica-pau-anão-de-coleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pilherodius pileatus</i>	Boddaert, 1783	Pelecaniformes	Ardeidae	Garça-real	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionites leucogaster</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Marianinha-de-cabeça-amarela	Nativo	Em perigo
<i>Pionites melanocephalus</i>	Linnaeus, 1758	Psittaciformes	Psittacidae	Marianinha-de-cabeça-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionopsitta pileata</i>	Scopoli, 1769	Psittaciformes	Psittacidae	Cuiú-cuiú	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionus fuscus</i>	Statius Muller, 1776	Psittaciformes	Psittacidae	Maitaca-roxa	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionus maximiliani</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Maitaca-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionus menstruus</i>	Linnaeus, 1766	Psittaciformes	Psittacidae	Maitaca-de-cabeça-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pionus reichenowi</i>	Heine, 1844	Psittaciformes	Psittacidae	Maitaca-de-barriga-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pipraeidea bonariensis</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-papa-laranja	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pipraeidea melanonota</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Thraupidae	Saira-viúva	Nativo	Pouco preocupante
<i>Piranga flava</i>	Vieillot, 1822	Passeriformes	Cardinalidae	Sanhaçu-de-fogo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pitangus sulphuratus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Tyrannidae	Bem-te-vi	Nativo	Pouco preocupante
<i>Platalea ajaja</i>	Linnaeus, 1758	Pelecaniformes	Threskiornithidae	Colhereiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Podilymbus podiceps</i>	Linnaeus, 1758	Podicipediformes	Podicipedidae	Mergulhão-caçador	Nativo	Pouco preocupante
<i>Poecilatriccus fumifrons</i>	Hartlaub, 1853	Passeriformes	Rhynchocyclidae	Ferreirinho-de-testa-parda	Nativo	Pouco preocupante
<i>Poospiza nigrorufa</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Quem-te-vestiu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Porphyrio flavirostris</i>	Gmelin, 1789	Gruiformes	Rallidae	Frango-d'água-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Porphyrio martinicus</i>	Linnaeus, 1766	Gruiformes	Rallidae	Frango-d'água-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Porphyrospiza caerulescens</i>	Wied, 1830	Passeriformes	Thraupidae	Campaigna-azul	Nativo	Quase ameaçada
<i>Primolius auricollis</i>	Cassin, 1853	Psittaciformes	Psittacidae	Maracanã-de-colar	Nativo	Pouco preocupante

<i>Primolius maracana</i>	Vieillot, 1816	Psittaciformes	Psittacidae	Maracanã-verdadeira	Nativo	Quase ameaçada
<i>Procacicus solitarius</i>	Vieillot, 1816	Passeriformes	Icteridae	Iraúna-de-bico-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Procellaria aequinoctialis</i>	Linnaeus, 1758	Procellariiformes	Procellariidae	Pardela-preta	Nativo	Vulnerável
<i>Procellaria cinerea</i>	Gmelin, 1789	Procellariiformes	Procellariidae	Pardela-cinza	Exótico	Quase ameaçada
<i>Procnias averano</i>	Hermann, 1783	Passeriformes	Cotingidae	Araponga-do-nordeste	Nativo	Pouco preocupante
<i>Procnias nudicollis</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Cotingidae	Araponga	Nativo	Vulnerável
<i>Progne chalybea</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-doméstica-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Progne subis</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Progne tapera</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-do-campo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Psarocolius decumanus</i>	Pallas, 1769	Passeriformes	Icteridae	Japu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Psarocolius viridis</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Icteridae	Japu-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pseudastur polionotus</i>	Kaup, 1847	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pombo-grande	Nativo	Quase ameaçada
<i>Pseudoleistes guirahuro</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Chopim-do-brejo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pseudoleistes virescens</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Icteridae	Dragão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pseudoseisura cristata</i>	Spix, 1824	Passeriformes	Furnariidae	Casaca-de-couro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Psittacara leucophthalmus</i>	Statius Muller, 1776	Psittaciformes	Psittacidae	Periquitão-maracanã	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pteroglossus aracari</i>	Linnaeus, 1758	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-de-bico-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pteroglossus bailloni</i>	Vieillot, 1819	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-banana	Nativo	Quase ameaçada
<i>Pteroglossus beauharnaisii</i>	Wagler, 1831	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-mulato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pteroglossus castanotis</i>	Gould, 1834	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-castanho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pteroglossus inscriptus</i>	Swainson, 1822	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-de-bico-riscado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pteroglossus viridis</i>	Linnaeus, 1766	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-miudinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Puffinus assimilis</i>	Gould, 1838	Procellariiformes	Procellariidae	Pardela-pequena	Exótico	Pouco preocupante
<i>Puffinus griseus</i>	Gmelin, 1789	Procellariiformes	Procellariidae	Bobo-escuro	Exótico	Quase ameaçada

<i>Puffinus puffinus</i>	Brünnich, 1764	Procellariiformes	Procellariidae	Bobo-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pulsatrix koeniswaldiana</i>	Bertoni & Bertoni, 1901	Strigiformes	Strigidae	Murucututu-de-barriga-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pulsatrix perspicillata</i>	Latham, 1790	Strigiformes	Strigidae	Murucututu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pygochelidon cyanoleuca</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-pequena-de-casa	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pyrocephalus rubinus</i>	Boddaert, 1783	Passeriformes	Tyrannidae	Príncipe	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pyroderus scutatus</i>	Shaw, 1792	Passeriformes	Cotingidae	Pavó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pyrrhura coerulescens</i>	Neumann, 1927	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-pérola	Nativo	Quase ameaçada
<i>Pyrrhura cruentata</i>	Wied, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-grande	Nativo	Vulnerável
<i>Pyrrhura frontalis</i>	Vieillot, 1817	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-testa-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pyrrhura griseipectus</i>	Salvadori, 1900	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-peito-cinza	Nativo	Em perigo crítico
<i>Pyrrhura leucotis</i>	Kuhl, 1820	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-orelha-branca	Nativo	Quase ameaçada
<i>Pyrrhura perlata</i>	Spix, 1824	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-barriga-vermelha	Nativo	Vulnerável
<i>Pyrrhura picta</i>	Statius Muller, 1776	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-testa-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Pyrrhura roseifrons</i>	Gray, 1859	Psittaciformes	Psittacidae	Tiriba-de-cabeça-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Rallus longirostris</i>	Boddaert, 1783	Gruiformes	Rallidae	Saracura-matraca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphastos dicolorus</i>	Linnaeus, 1766	Piciformes	Ramphastidae	Tucano-de-bico-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphastos toco</i>	Statius Muller, 1776	Piciformes	Ramphastidae	Tucanuçu	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphastos tucanus</i>	Linnaeus, 1758	Piciformes	Ramphastidae	Tucano-de-papo-branco	Nativo	Vulnerável
<i>Ramphastos vitellinus</i>	Lichtenstein, 1823	Piciformes	Ramphastidae	Tucano-de-bico-preto	Nativo	Vulnerável
<i>Ramphocelus bresilius</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Tiê-sangue	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphocelus carbo</i>	Pallas, 1764	Passeriformes	Thraupidae	Pipira-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphocelus nigrogularis</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Thraupidae	Pipira-de-máscara	Nativo	Pouco preocupante
<i>Ramphodon naevius</i>	Dumont, 1818	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-rajado	Nativo	Quase ameaçada
<i>Rhea americana</i>	Linnaeus, 1758	Rheiformes	Rheidae	Ema	Nativo	Quase ameaçada

<i>Rhynchotus rufescens</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Perdiz	Nativo	Pouco preocupante
<i>Riparia riparia</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-do-barranco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Rostrhamus sociabilis</i>	Vieillot, 1817	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-caramujeiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Rupornis magnirostris</i>	Gmelin, 1788	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-carijó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Rynchops niger</i>	Linnaeus, 1758	Charadriiformes	Rynchopidae	Talha-mar	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator aurantiirostris</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Bico-duro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator coerulescens</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Sabiá-gongá	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator fuliginosus</i>	Daudin, 1800	Passeriformes	Thraupidae	Bico-de-pimenta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator grossus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Bico-encarnado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator maxillosus</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Bico-grosso	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator maximus</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Tempera-viola	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltator similis</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Trinca-ferro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Saltatricula atricollis</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Batuqueiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sarcoramphus papa</i>	Linnaeus, 1758	Cathartiformes	Cathartidae	Urubu-rei	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sarkidiornis sylvicola</i>	Ihering & Ihering, 1907	Anseriformes	Anatidae	Pato-de-crista	Nativo	Pouco preocupante
<i>Schiffornis virescens</i>	Lafresnaye, 1838	Passeriformes	Tityridae	Flautim	Nativo	Pouco preocupante
<i>Schistochlamys melanopsis</i>	Latham, 1790	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-de-coleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Bico-de-veludo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Selenidera maculirostris</i>	Lichtenstein, 1823	Piciformes	Ramphastidae	Araçari-poca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Serinus canaria</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Fringillidae	Canário	Exótico	Pouco preocupante
<i>Sicalis citrina</i>	Pelzeln, 1870	Passeriformes	Thraupidae	Canário-rasteiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sicalis columbiana</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Canário-do-amazonas	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sicalis flaveola</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Canário-da-terra-verdadeiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sicalis luteola</i>	Sparman, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Tipio	Nativo	Pouco preocupante

<i>Spheniscus magellanicus</i>	Forster, 1781	Sphenisciformes	Spheniscidae	Pingüim-de-magalhães	Nativo	Quase ameaçada
<i>Spinus magellanicus</i>	Vieillot, 1805	Passeriformes	Fringillidae	Pintassilgo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Spinus yarrellii</i>	Audubon, 1839	Passeriformes	Fringillidae	Pintassilgo-do-nordeste	Nativo	Vulnerável
<i>Spizaetus melanoleucus</i>	Vieillot, 1816	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Spizaetus tyrannus</i>	Wied, 1820	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-pega-macaco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila albogularis</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Thraupidae	Golinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila americana</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Coleiro-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila angolensis</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Curió	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila ardesiaca</i>	Dubois, 1894	Passeriformes	Thraupidae	Papa-capim-de-costas-cinzas	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila bouvreuil</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila bouvronides</i>	Lesson, 1831	Passeriformes	Thraupidae	Estrela-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila caeruleascens</i>	Vieillot, 1823	Passeriformes	Thraupidae	Coleirinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila castaneiventris</i>	Cabanis, 1849	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-de-peito-castanho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila collaris</i>	Boddaert, 1783	Passeriformes	Thraupidae	Coleiro-do-brejo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila crassirostris</i>	Gmelin, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Bicudinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila falcirostris</i>	Temminck, 1820	Passeriformes	Thraupidae	Cigarra-verdadeira	Nativo	Vulnerável
<i>Sporophila frontalis</i>	Verreaux, 1869	Passeriformes	Thraupidae	Pixoxó	Nativo	Vulnerável
<i>Sporophila hypoxantha</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-de-barriga-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila intermedia</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Papa-capim-cinza	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila leucoptera</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Chorão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila lineola</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Bigodinho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila maximiliani</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Bicudo	Nativo	Vulnerável
<i>Sporophila melanogaster</i>	Pelzeln, 1870	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-de-barriga-preta	Nativo	Quase ameaçada
<i>Sporophila minuta</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-lindo	Nativo	Pouco preocupante

<i>Sporophila nigricollis</i>	Vieillot, 1823	Passeriformes	Thraupidae	Baiano	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila nigrorufa</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-do-sertão	Nativo	Vulnerável
<i>Sporophila palustris</i>	Barrows, 1883	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-de-papo-branco	Nativo	Em perigo
<i>Sporophila plumbea</i>	Wied, 1830	Passeriformes	Thraupidae	Patativa	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sporophila ruficollis</i>	Cabanis, 1851	Passeriformes	Thraupidae	Caboclinho-de-papo-escuro	Nativo	Quase ameaçada
<i>Sporophila schistacea</i>	Lawrence, 1862	Passeriformes	Thraupidae	Cigarrinha-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-serradora	Nativo	Pouco preocupante
<i>Stephanophorus diadematus</i>	Temminck, 1823	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-frade	Nativo	Pouco preocupante
<i>Stercorarius chilensis</i>	Bonaparte, 1857	Charadriiformes	Stercorariidae	Mandrião-chileno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Stercorarius maccormicki</i>	Saunders, 1893	Charadriiformes	Stercorariidae	Mandrião-do-sul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Stercorarius skua</i>	Brünnich, 1764	Charadriiformes	Stercorariidae	Mandrião-grande	Exótico	Pouco preocupante
<i>Sterna hirundinacea</i>	Lesson, 1831	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-de-bico-vermelho	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sterna hirundo</i>	Linnaeus, 1758	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-boreal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sternula superciliaris</i>	Vieillot, 1819	Charadriiformes	Sternidae	Trinta-réis-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Streptopelia decaocto</i>	Frivaldszky, 1838	Columbiformes	Columbidae	Rola-turca	Exótico	Pouco preocupante
<i>Streptopelia risoria</i>	Linnaeus, 1758	Columbiformes	Columbidae	Pomba Barbary	Exótico	Pouco preocupante
<i>Streptoprocne zonaris</i>	Shaw, 1796	Apodiformes	Apodidae	Taperuçu-de-coleira-branca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Strix huhula</i>	Daudin, 1800	Strigiformes	Strigidae	Coruja-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Strix hylophila</i>	Temminck, 1825	Strigiformes	Strigidae	Coruja-listrada	Nativo	Quase ameaçada
<i>Strix virgata</i>	Cassin, 1849	Strigiformes	Strigidae	Coruja-do-mato	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sturnella militaris</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Icteridae	Polícia-inglesa-do-norte	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sturnella superciliaris</i>	Bonaparte, 1850	Passeriformes	Icteridae	Polícia-inglesa-do-sul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sula dactylatra</i>	Lesson, 1831	Suliformes	Sulidae	Atobá-grande	Nativo	Pouco preocupante
<i>Sula leucogaster</i>	Boddaert, 1783	Suliformes	Sulidae	Atobá-pardo	Nativo	Pouco preocupante

<i>Syrigma sibilatrix</i>	Temminck, 1824	Pelecaniformes	Ardeidae	Maria-faceira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachornis squamata</i>	Cassin, 1853	Apodiformes	Apodidae	Andorinhão-do-buriti	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachybaptus dominicus</i>	Linnaeus, 1766	Podicipediformes	Podicipedidae	Mergulhão-pequeno	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachycineta albiventer</i>	Boddaert, 1783	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-do-rio	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachycineta leucorrhoa</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Hirundinidae	Andorinha-de-sobre-branco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachyphonus coronatus</i>	Vieillot, 1822	Passeriformes	Thraupidae	Tiê-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tachyphonus rufus</i>	Boddaert, 1783	Passeriformes	Thraupidae	Pipira-preta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Taeniopygia guttata</i>	Reichenbach, 1862	Passeriformes	Estrildidae	Mandarim	Exótico	Pouco preocupante
<i>Tangara callophrys</i>	Cabanis, 1849	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-opala	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara cayana</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-amarela	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara chilensis</i>	Vigors, 1832	Passeriformes	Thraupidae	Sete-cores-da-amazônia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara cyanicollis</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-de-cabeça-azul	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara cyanocephala</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-militar	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara cyanoptera</i>	Vieillot, 1817	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-de-encontro-azul	Nativo	Quase ameaçada
<i>Tangara cyanoventris</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-douradinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara desmaresti</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-lagarta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara episcopus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-da-amazônia	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara fastuosa</i>	Lesson, 1831	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-pintor	Nativo	Vulnerável
<i>Tangara mexicana</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-de-bando	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara nigrocincta</i>	Bonaparte, 1838	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-mascarada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara ornata</i>	Sparman, 1789	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-de-encontro-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara palmarum</i>	Wied, 1821	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-do-coqueiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara peruviana</i>	Desmarest, 1806	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-sapucaia	Nativo	Vulnerável
<i>Tangara preciosa</i>	Cabanis, 1850	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-preciosa	Nativo	Pouco preocupante

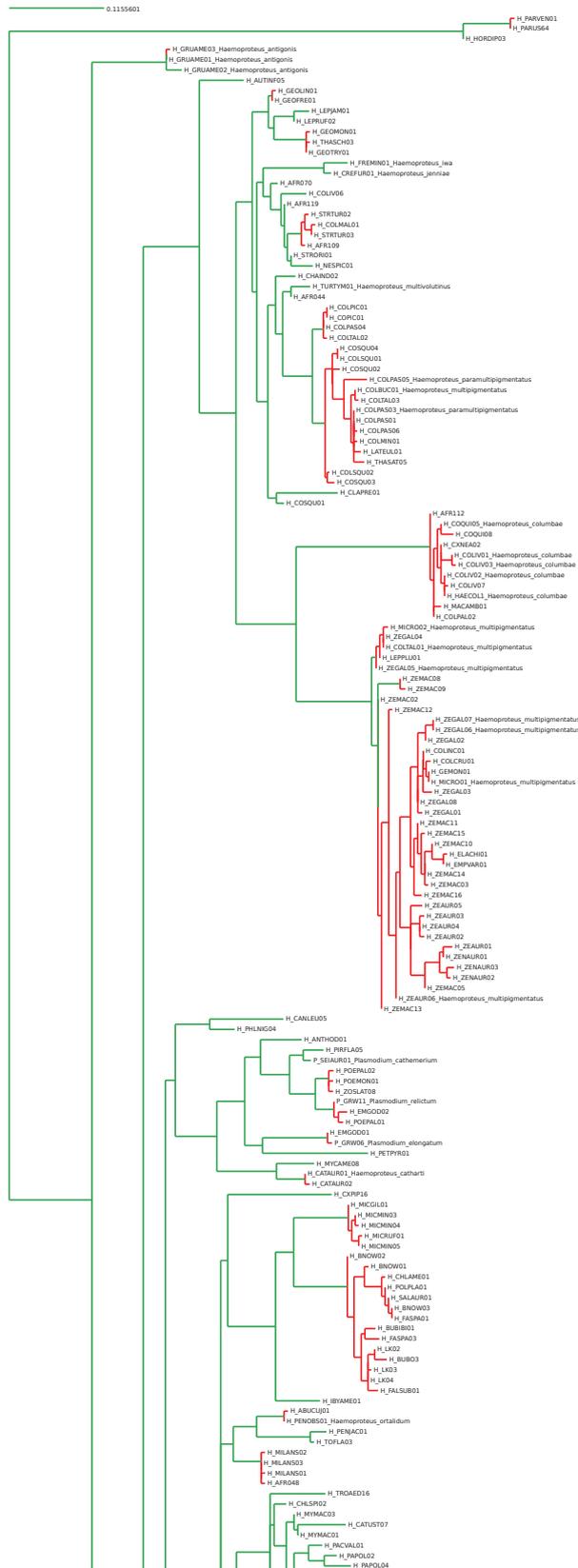
<i>Tangara sayaca</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Sanhaçu-cinzento	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara schrankii</i>	Spix, 1825	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-ouro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara seledon</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-sete-cores	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tangara velia</i>	Linnaeus, 1758	Passeriformes	Thraupidae	Saíra-Diamante	Nativo	Pouco preocupante
<i>Taoniscus nanus</i>	Temminck, 1815	Tinamiformes	Tinamidae	Inhambu-carapé	Nativo	Vulnerável
<i>Tersina viridis</i>	Illiger, 1811	Passeriformes	Thraupidae	Saí-andorinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Thalassarche chlororhynchos</i>	Gmelin, 1789	Procellariiformes	Diomedidae	Albatroz-de-nariz-amarelo	Nativo	Em perigo
<i>Thalassarche melanophris</i>	Temminck, 1828	Procellariiformes	Diomedidae	Albatroz-de-sobrancelha	Nativo	Quase ameaçada
<i>Thalurania furcata</i>	Gmelin, 1788	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-tesoura-verde	Nativo	Pouco preocupante
<i>Thalurania glaucopis</i>	Gmelin, 1788	Apodiformes	Trochilidae	Beija-flor-de-frente-violeta	Nativo	Pouco preocupante
<i>Thamnophilus doliatus</i>	Linnaeus, 1764	Passeriformes	Thamnophilidae	Choca-barrada	Nativo	Pouco preocupante
<i>Theristicus caudatus</i>	Boddaert, 1783	Pelecaniformes	Threskiornithidae	Curicaca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Thlypopsis sordida</i>	d'Orbigny & Lafresnaye, 1837	Passeriformes	Thraupidae	Saí-canário	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tiaris fuliginosus</i>	Wied, 1830	Passeriformes	Thraupidae	Cigarra-do-coqueiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tigrisoma fasciatum</i>	Such, 1825	Pelecaniformes	Ardeidae	Socó-boi-escuro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tigrisoma lineatum</i>	Boddaert, 1783	Pelecaniformes	Ardeidae	Socó-boi	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tinamus guttatus</i>	Pelzeln, 1863	Tinamiformes	Tinamidae	Inhambu-galinha	Nativo	Quase ameaçada
<i>Tityra cayana</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Tityridae	Anambé-branco-de-rabo-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Todirostrum cinereum</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Rhynchocyclidae	Ferreirinho-relógio	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tolmomyias flaviventris</i>	Wied, 1831	Passeriformes	Rhynchocyclidae	Bico-chato-amarelo	Nativo	Pouco preocupante
<i>Trichoglossus haematodus</i>	Gmelin, 1788	Psittaciformes	Psittacidae	Lóris-arco-íris	Exótico	Pouco preocupante
<i>Trichothraupis melanops</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Thraupidae	Tiê-de-topete	Nativo	Pouco preocupante
<i>Triclaria malachitacea</i>	Spix, 1824	Psittaciformes	Psittacidae	Sabiá-cica	Nativo	Quase ameaçada
<i>Tringa flavipes</i>	Gmelin, 1789	Charadriiformes	Scolopacidae	Maçarico-de-perna-amarela	Nativo	Pouco preocupante

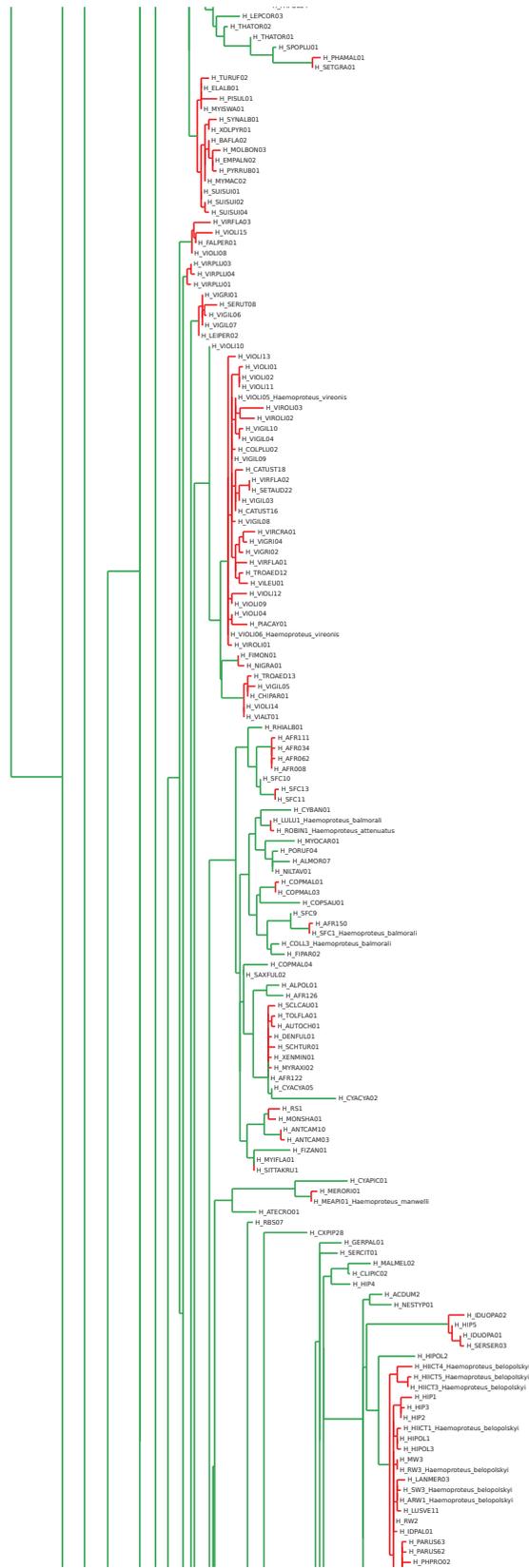
<i>Troglodytes musculus</i>	Naumann, 1823	Passeriformes	Troglodytidae	Corruíra	Nativo	Pouco preocupante
<i>Trogon curucui</i>	Linnaeus, 1766	Trogoniformes	Trogonidae	Surucuá-de-barriga-vermelha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Trogon surrucura</i>	Vieillot, 1817	Trogoniformes	Trogonidae	Surucuá-variado	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus albicollis</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-coleira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus amaurochalinus</i>	Cabanis, 1850	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-poca	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus flavipes</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-una	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus fumigatus</i>	Lichtenstein, 1823	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-da-mata	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus hauxwelli</i>	Lawrence, 1869	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-bicolor	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus ignobilis</i>	Sclater, 1858	Passeriformes	Turdidae	Caraxué-de-bico-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus leucomelas</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-barranco	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus leucops</i>	Taczanowski, 1877	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus nudigenis</i>	Lafresnaye, 1848	Passeriformes	Turdidae	Caraxué	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus rufiventris</i>	Vieillot, 1818	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-laranjeira	Nativo	Pouco preocupante
<i>Turdus subalaris</i>	Seebohm, 1887	Passeriformes	Turdidae	Sabiá-ferreiro	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tyrannus melancholicus</i>	Vieillot, 1819	Passeriformes	Tyrannidae	Suiriri	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tyrannus savana</i>	Daudin, 1802	Passeriformes	Tyrannidae	Tesourinha	Nativo	Pouco preocupante
<i>Tyto furcata</i>	Temminck, 1827	Strigiformes	Tytonidae	Suindara	Nativo	Pouco preocupante
<i>Urubitinga coronata</i>	Vieillot, 1817	Accipitriformes	Accipitridae	Águia-cinzenta	Nativo	Em perigo
<i>Urubitinga urubitinga</i>	Gmelin, 1788	Accipitriformes	Accipitridae	Gavião-preto	Nativo	Pouco preocupante
<i>Vanellus chilensis</i>	Molina, 1782	Charadriiformes	Charadriidae	Quero-quero	Nativo	Pouco preocupante
<i>Veniliornis passerinus</i>	Linnaeus, 1766	Piciformes	Picidae	Picapauzinho-anão	Nativo	Pouco preocupante
<i>Veniliornis spilogaster</i>	Wagler, 1827	Piciformes	Picidae	Picapauzinho-verde-carijó	Nativo	Pouco preocupante
<i>Vireo olivaceus</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Vireonidae	Juruviara-boreal	Nativo	Pouco preocupante
<i>Volatinia jacarina</i>	Linnaeus, 1766	Passeriformes	Thraupidae	Tiziu	Nativo	Pouco preocupante

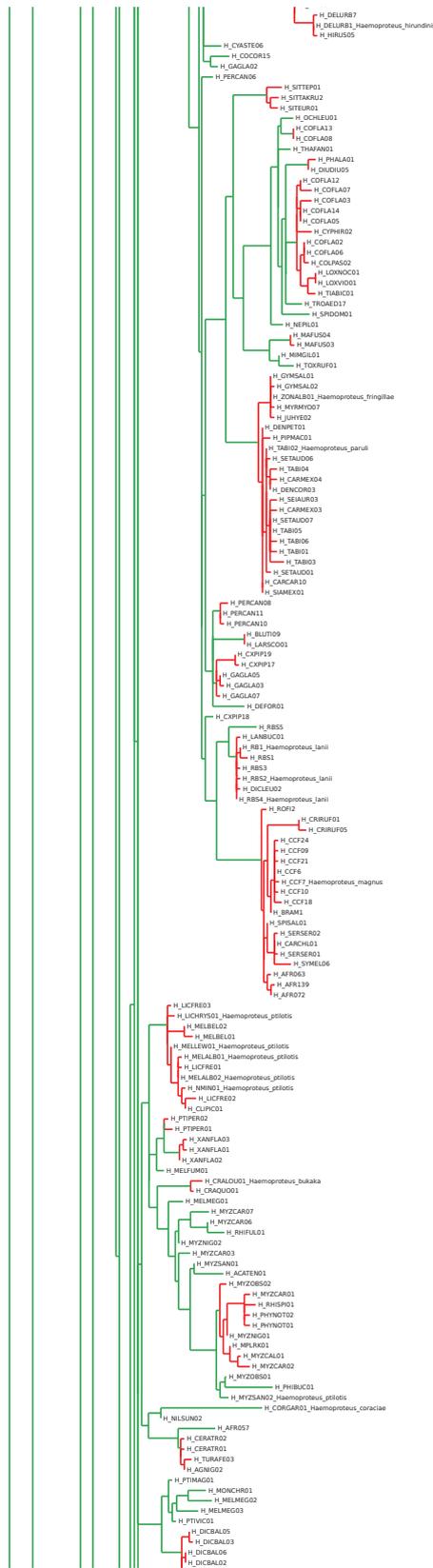
<i>Xolmis cinereus</i>	Vieillot, 1816	Passeriformes	Tyrannidae	Primavera	Nativo	Pouco preocupante
<i>Zebrilus undulatus</i>	Gmelin, 1789	Pelecaniformes	Ardeidae	Socói-zigue-zague	Nativo	Quase ameaçada
<i>Zenaida auriculata</i>	Des Murs, 1847	Columbiformes	Columbidae	Avoante	Nativo	Pouco preocupante
<i>Zonotrichia capensis</i>	Statius Muller, 1776	Passeriformes	Passerellidae	Tico-tico	Nativo	Pouco preocupante

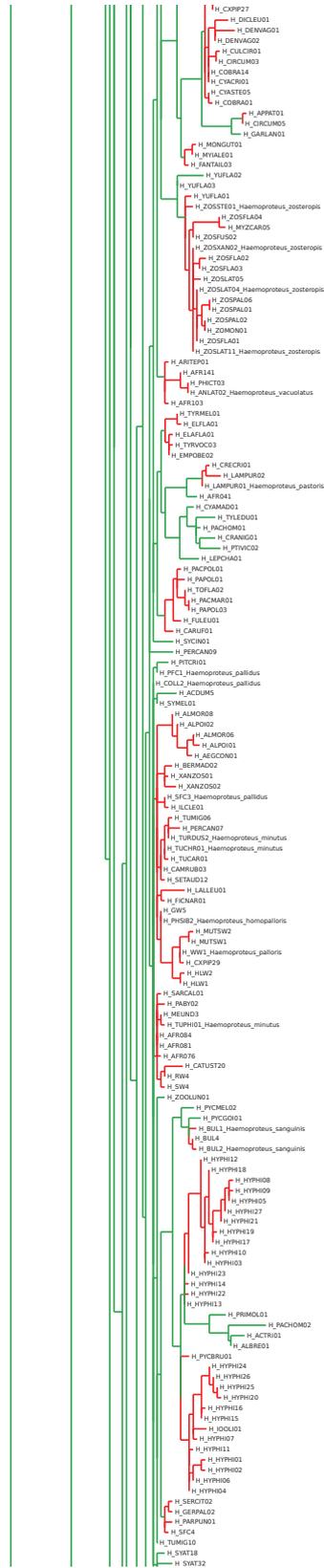
Fonte: Elaborado pelo autor (2020).

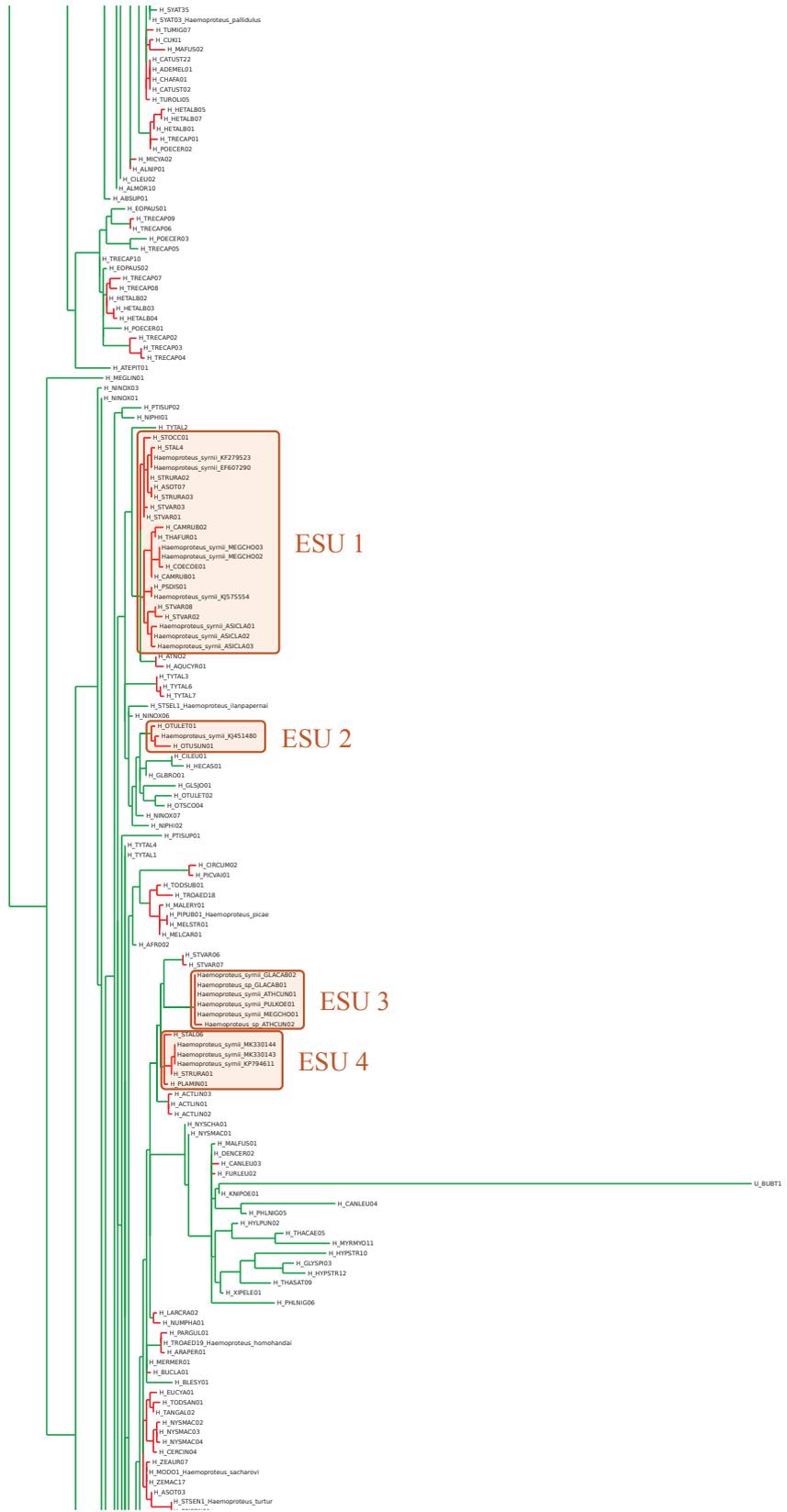
ANEXO B: Linhagens de *Haemoproteus* delimitadas pelo algoritmo PTP. As unidades evolutivamente significativas (ESU's) em que as linhagens do presente estudo se agruparam são destacadas dentro dos boxes (Capítulo 3).

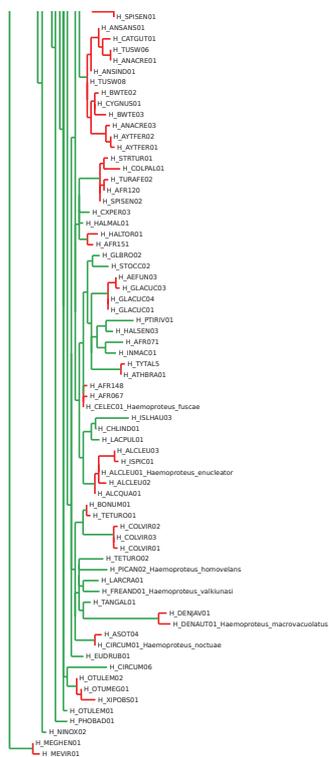














Haemoproteus syrniai (Haemosporida: Haemoproteidae) in owls from Brazil: morphological and molecular characterization, potential cryptic species, and exo-erythrocytic stages

Glauber Thiago Martins Barino¹ · Mariana Fonseca Rossi¹ · Luísa de Oliveira¹ · Janildo Ludolf Reis Junior² · Marta D'Agosto¹ · Roberto Júnio Pedroso Dias¹

Received: 20 March 2020 / Accepted: 1 November 2020
© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2020

Abstract

Haemoproteus syrniai is a haemosporidian parasite found in owls. Although morphological and molecular data on the species is available, its exo-erythrocytic development was never researched. In this study, we provide the morphological, morphometric, and molecular characterization of *H. syrniai* populations found in owl species from Minas Gerais, southeast Brazil. We also characterized the coalescent species delimitation based on the molecular and histopathology data. Samples from 54 owls from six different species were analyzed, generating 11 sequences of the *cyt b* gene, from which six were new sequences. The overall prevalence of infection was high (72.22%). The *H. syrniai* sequences were grouped into two well-supported independent clades, which included other *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) species. This was supported by both the coalescent species delimitation analysis and by the genetic divergence between lineages of these distinct clades. There were small morphological and morphometric differences within the population presented in this study. However, when compared with other studies, the molecular analysis demonstrated considerable intraspecific variation and suggests potential cryptic species. The histopathological analysis revealed, for the first time, that lungs and skeletal muscle are exo-erythrocytic stage location of *H. syrniai*, and that the parasite is linked to the histopathological changes found in owls. This study brings new data from *Haemoproteus* species biology and host infection, and improves host-parasite relationship understanding under an owl conservation perspective.

Keywords *Haemoproteus syrniai* · Coalescent species delimitation · Molecular phylogeny · Neotropics · Exo-erythrocytic merogony · Strigiformes

Introduction

Avian diseases caused by haemosporidians (Apicomplexa: Haemosporida Danilewsky, 1885) are intrinsically related to biodiversity conservation, for causing death in bird species, or by indirect means, such as a reduced breeding success

(Dawson and Bortolotti, 2001; Kilpatrick et al. 2006; Vanstreels et al. 2014). Even though studies report that the *Plasmodium* spp. Marchiafava and Celli, 1885 is the most pathogenic haemosporidian, there is a strong suspicion that the infections from *Haemoproteus* spp. Kruse, 1890 might be underestimated and more virulent than previously believed (Bennett et al. 1993). Thus, the pathogenicity in *Haemoproteus* lineages needs to be more widely investigated, especially in those affecting birds of prey, whose data reports are scarce.

Owls (Strigiformes order) are mostly twilight or night birds of prey, with excellent hearing and vision, specialized in hunting invertebrates and vertebrates, particularly small rodents (Debus et al. 2004; Shehab 2005). Like other birds of prey, they are top predators in the food chain, exercising important functions in the ecosystem such as the regulation of the populational growth of its prey and acting as environmental quality indicators (Ansara-Ross et al. 2013; Dmowski 1999). A

Section Editor: Leonhard Schnitger

✉ Roberto Júnio Pedroso Dias
rjuniodias@hotmail.com

¹ Laboratório de Protozoologia (LabProto), LAZ, Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação da Natureza, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, Campus Universitário, Juiz de Fora, Minas Gerais 36036-900, Brazil

² Departamento de Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, Brazil

Hippoboscid flies (Diptera: Hippoboscidae) on birds of prey in the Atlantic Forest, Minas Gerais, Brazil

Hipoboscídeos (Diptera: Hippoboscidae) em aves de rapina da Mata Atlântica, Minas Gerais, Brasil

Glauber Thiago Martins Barino^{1*} ; Roberto Júnio Pedroso Dias¹; Gustavo Graciolli²

¹ Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil

² Departamento de Biologia, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil

How to cite: Barino GTM, Dias RJP, Graciolli G. Hippoboscid flies (Diptera: Hippoboscidae) on birds of prey in the Atlantic Forest, Minas Gerais, Brazil. *Braz J Vet Parasitol* 2021; 30(1): e016720. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120201082>

Abstract

Hippoboscid flies are potential ectoparasites of several avian orders, including birds of prey, a group formed by the orders Falconiformes, Strigiformes, Cathartiformes and Accipitriformes. In this study, we evaluated 155 birds of prey that were brought to the Wildlife Rehabilitation Center of Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil, between the years 2016 and 2019. Two species of hippoboscid flies (*Ornithoctona erythrocephala* and *Icosta americana*) were found in five species of birds of prey (*Megascops choliba*, *Asio stygius*, *Athene cunicularia*, *Asio clamator* and *Caracara plancus*). The average intensity found was 1.4 hippoboscids/bird and *Megascops choliba* (tropical screech-owl) was the most parasitized bird. This is the first record of parasitism of *Asio stygius* (stygian owl) by *Ornithoctona erythrocephala* in Brazil and of *Athene cunicularia* (burrowing owl) and *Asio clamator* (striped owl) by *Icosta americana*. *Ornithoctona erythrocephala* is recorded here for the first time infesting birds of prey in the state of Minas Gerais, Brazil.

Keywords: *Ornithoctona erythrocephala*, *Icosta americana*, geographical distribution, parasitism, hippoboscids flies.

Resumo

Moscas hipoboscídeas são ectoparasitos potenciais de diversas ordens aviárias, incluindo as aves de rapina, grupo formado pelas ordens Falconiformes, Strigiformes, Cathartiformes e Accipitriformes. Neste estudo foram avaliadas 155 aves de rapina que chegaram ao Centro de Triagem de Animais Silvestres de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, entre os anos 2016 e 2019. Foram encontradas duas espécies de hipoboscídeos (*Ornithoctona erythrocephala* e *Icosta americana*) em cinco espécies de aves de rapina (*Megascops choliba*, *Asio stygius*, *Athene cunicularia*, *Asio clamator* e *Caracara plancus*). A intensidade média encontrada foi de 1,4 hipoboscídeo/ave e a espécie de coruja *Megascops choliba* (corujinha-do-mato) foi a mais parasitada. Este é o primeiro registro do parasitismo da coruja *Asio stygius* (mocho-diabo) por *Ornithoctona erythrocephala*, em território brasileiro, e das corujas *Athene cunicularia* (coruja-buraqueira) e *Asio clamator* (coruja-orelhuda), sendo parasitadas por *Icosta americana*. *Ornithoctona erythrocephala* é aqui registrada pela primeira vez infestando aves de rapina no estado de Minas Gerais, Brasil.

Palavras-chave: *Ornithoctona erythrocephala*, *Icosta americana*, distribuição geográfica, parasitismo, moscas hipoboscídeos.

Received July 18, 2020. Accepted November 9, 2020.

*Corresponding author: Glauber Thiago Martins Barino. E-mail: glauberbarino@yahoo.com.br



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Morphological and molecular characterization of *Haemoproteus coatneyi* and *Haemoproteus erythrogravidus* (Haemosporida: Haemoproteidae) in Passeriformes in Brazil's Atlantic Forest

Caracterização morfológica e molecular de *Haemoproteus coatneyi* e *Haemoproteus erythrogravidus* (Haemosporida: Haemoproteidae) em Passeriformes da Mata Atlântica, Brasil

Luísa de Oliveira^{1§}; Glauber Thiago Martins Barino^{1§}; Mariana Fonseca Rossi¹; Marta D'Agosto¹; Roberto Júnio Pedrosa Dias¹; Huarrisson Azevedo Santos^{2*} 

¹Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil

²Departamento de Epidemiologia e Saúde Pública, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – UFRJ Seropédica, RJ, Brasil

[§]These authors contributed equally.

How to cite: Oliveira L, Barino GTM, Rossi MF, D'Agosto M, Dias RJP, Santos HA. Morphological and molecular characterization of *Haemoproteus coatneyi* and *Haemoproteus erythrogravidus* (Haemosporida: Haemoproteidae) in Passeriformes in Brazil's Atlantic Forest. *Braz J Vet Parasitol* 2020; 29(4): e011520. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020074>

Abstract

Haemoproteus spp. are protozoan parasites found in birds around the world. These parasites are identified through the morphology of gametocytes, phylogenetic analysis based on the mitochondrial *cytb* gene, and the parasite's geographic distribution. The absence of erythrocytic merogony, high intraspecific genetic variation and low parasitemia in wild birds makes it essential to use integrative approaches that assist in the identification of these parasites. Thus, microscopic and molecular analyses, combined with spatial distribution, were carried out to verify the presence of *Haemoproteus* spp. in wild birds in Brazil. Light microscopy revealed one *Tangara sayaca* bird was parasitized by *Haemoproteus coatneyi* and, two specimens of *Zonotrichia capensis* presented *Haemoproteus erythrogravidus*. The morphology of the gametocytes of these two parasitic species showed high similarity. The molecular analysis revealed the presence of one lineage of *H. coatneyi* and two lineages of *H. erythrogravidus*, one of which is considered a new lineage. These lineages were grouped phylogenetically in separate clades, with low genetic divergence, and the *H. erythrogravidus* lineage emerged as an internal group of the lineages of *H. coatneyi*. The geographic distribution demonstrated that the two species occur in the American continent. This is the first report of *H. erythrogravidus* in Brazil.

Keywords: birds, haemosporidians, *Tangara sayaca*, *Zonotrichia capensis*, geographic distribution.

Resumo

Haemoproteus spp. são protozoários parasitos encontrados em aves de todo o mundo. A identificação desses parasitos é realizada por meio da morfologia dos gametócitos, da análise filogenética, baseada no gene mitoncodrial *cytb* e na distribuição geográfica do parasito. A ausência de merogonia eritrocítica, a alta variação genética intraespecífica e a baixa parasitemia em aves silvestres, tornam essencial a utilização de abordagens integrativas que auxiliem na identificação desses parasitos. Assim, análises microscópicas e moleculares, aliadas à distribuição espacial, foram realizadas para verificar a presença de *Haemoproteus* spp. em aves silvestres no Brasil. A microscopia óptica demonstrou que uma ave *Tangara sayaca* estava parasitada por *Haemoproteus coatneyi*, e dois espécimes de *Zonotrichia capensis* apresentavam *Haemoproteus erythrogravidus*, cujas morfologias dos gametócitos apresentaram alta similaridade. A análise molecular recuperou uma linhagem de *H. coatneyi* e duas linhagens de *H. erythrogravidus*, sendo uma dessas considerada nova linhagem. Essas linhagens se agruparam

Received May 13, 2020. Accepted July 10, 2020.

*Corresponding author: Huarrisson Azevedo Santos. E-mail: huarrisson@yahoo.com.br



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ANEXO F: Autorização da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFJF.



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº. 031/2017 – CEUA sobre “Ocorrência de hemossporídeos (Apicomplexa: Haemosporida) em aves silvestres e exóticas no Estado de Minas Gerais: uma abordagem integrativa”, projeto de pesquisa sob a responsabilidade de Marta Tavares D’Agosto com a colaboração de Roberto Júnio Pedroso Dias, Talys Henrique Assumpção Jardim, Luisa de Oliveira, Glauber Thiago Martins Barino, Felipe dos Santos Nascimento e Rafaela Venançoni Matoso está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 05/09/2017. Para o desenvolvimento da pesquisa serão utilizados aves de espécie silvestre conforme solicitado e que serão utilizados no período 11/09/2017 a 31/12/2021.

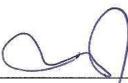
CERTIFICATE

We certify that the protocol nº. 031/2017 – CEUA about “Ocorrência de hemossporídeos (Apicomplexa: Haemosporida) em aves silvestres e exóticas no Estado de Minas Gerais: uma abordagem integrativa”, under responsibility the Marta Tavares D’Agosto and collaboration of Roberto Júnio Pedroso Dias, Talys Henrique Assumpção Jardim, Luisa de Oliveira, Glauber Thiago Martins Barino, Felipe dos Santos Nascimento e Rafaela Venançoni Matoso is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 05/09/2017/2017. For the development of the research will be used birds of wild species as requested and that will be used in the period 11/09/2017 to 31/12/2021.

Juiz de Fora, 06 de setembro de 2017

P: 

Vice-coordenadora
CEUA



Coordenadora
CEUA

ANEXO G: Autorização do IBAMA para coleta de material biológico no CETAS JF.

SEI/IBAMA - 0447468 - Nota Técnica

https://sei.ibama.gov.br/controlador.php?acao=documento_imprimir...

INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

NOTA TÉCNICA Nº 3/2017/UT-JUIZ DE FORA-MG/SUPES-MG

PROCESSO Nº 02555.100178/2017-65

INTERESSADO: Glauber Thiago Martins Barino

1. ASSUNTO

1.1. Projeto de Doutorado

2. ANÁLISE

2.1. Trata-se de projeto de pesquisa de Doutorado envolvendo animais que dão entrada no Cetas do IBAMA em Juiz de Fora, por aluno regular do Programa de Pós-graduação em Ecologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, servidor do IEF - Instituto Estadual de Florestas - que trabalha no Centro de Triagem compartilhado entre o IBAMA e o Estado de MG.

2.2. O projeto, intitulado Hemosporídeos (Apicomplexa, Haemosporida) em aves silvestres cativas no Estado de Minas Gerais, Brasil (SEI nº 0432257), envolve coleta de dados e sangue das aves que dão entrada nos Cetas de Minas Gerais, para caracterização multidisciplinar de hemosporídeos nas aves silvestres recebidas nos Centros de Triagem.

2.2.1. Estamos de acordo com o desenvolvimento da pesquisa no Centro de Triagem de Animais Silvestres da UT JUIZ DE FORA/MG, entendendo ser tal pesquisa de relevância para o adequado manejo das aves que dão entrada no CETAS durante o ano.

2.2.2. Lembramos que o resultado do trabalho deverá ser disponibilizado ao IBAMA em cópia digital para anexação ao processo e consulta da equipe técnica.

3. DOCUMENTOS RELACIONADOS

3.1. Projeto de Pesquisa (SEI nº 0432257)

3.2. Carteira de Identidade ... (SEI nº 0432479)



Documento assinado eletronicamente por **ANDRE SANTOS NEVES, Analista Ambiental**, em 25/07/2017, às 11:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site <https://sei.ibama.gov.br/autenticidade>, informando o código verificador **0447468** e o código CRC **E17FC10D**.

ANEXO H: Autorização do IEF para coleta de material biológico no CETAS JF.



SECRETARIA DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SILVESTRES – CETAS

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 033	Data da emissão: 12/09/2017
-------------	-----------------------------

DADOS DO TITULAR	
Nome: Glauber Thiago Martins Barino	CI/CPF: MG11192866/046.271.826-35
Título do projeto: "Hemosporídeos (Apicomplexa, Haemosporida) em aves silvestres cativas no Estado de Minas Gerais".	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora – Instituto de Ciências Biológicas – Departamento de Zoologia.	

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES			
Anos 2017 a 2020			
	Descrição de atividades	Início	Fim
1	Coletas de sangue das aves	Janeiro/2017	Dezembro/2020
2	Análises morfológicas e cálculo da prevalência e parasitemia	Janeiro/2017	Dezembro/2020
3	Extração de DNA, amplificação PCR, sequenciamento e análises filogenéticas	Janeiro/2017	Dezembro/2020
4	Análise histopatológica	Janeiro/2017	Dezembro/2020
5	Autorizações para coleta de sangue e análise histopatológica	Janeiro/2017	Dezembro/2020

De acordo com o art. 15 da Portaria IEF 148/2013, esta autorização tem prazo de validade de um ano, mas caso haja destinação para o animal que está sendo pesquisado, o mesmo só ficará à disposição do pesquisador até a data prevista da destinação.

OBSERVAÇÕES E RESSALVAS	
1	Somente a equipe apresentada no projeto, (os pesquisadores e o orientador), terá acesso às dependências do Centro de Triagem de Animais Silvestres – CETAS.
2	As atividades deverão ocorrer de segunda a sexta feira, no horário de 08:00 h às 17:00 h. Não serão autorizadas atividades fora deste período.
3	Esta autorização é um ato discricionário e não gera obrigatoriedade no fornecimento das amostras ao pesquisador.
4	Esta autorização NÃO garante exclusividade do fornecimento das amostras ao pesquisador, podendo as amostras ser direcionadas a outras pesquisas quando houver interesse da Administração Pública.
5	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Portaria IEF 148/2013, 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.
6	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). Em caso de material consignado, consulte www.icmbio.gov.br/sisbio – menu Exportação.
7	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 e o material biológico coletado apreendido nos termos da legislação brasileira em vigor.
8	As coletas deverão ser acompanhadas pelos veterinários dos CETAS/MG.



Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 033		Data da emissão: 12/09/2017			
EQUIPE					
	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	Glauber Thiago Martins Barino	Biólogo	046.271.826-35	MG11192866	Brasileira
2.	Lúisa de Oliveira	Bióloga	007191406-90	MG-14.458.228	Brasileira
3.	Rafaela Venançoni Matoso	Bióloga	077.501.876-77	MG-12909334	Brasileira
4.	Talys Henrique Assumpção Jardim	Biólogo	130.997.757-70	24.647.571-9	Brasileira

ATIVIDADES x TÁXONS

	Atividades	Táxons
1	Coletas de sangue das aves: Serão realizadas nos ambulatórios dos três CETAS de Minas Gerais. Poderão ser utilizadas as aves que chegarem durante o período de janeiro de 2017 a dezembro de 2020, além das já existentes no plantel.	Todas as aves silvestres cativas do CETAS/BH
2	Análises morfológicas e cálculo da prevalência e parasitemia: Os esfregaços confeccionados durante a coleta de sangue serão analisados sob lente de imersão em microscópio fotônico.	
3	Extração de DNA, amplificação PCR, sequenciamento e análises filogenéticas: Será utilizado o Kit Wizard® Genomic DNA Purification seguindo instruções descritas pela fabricante.	
4	Análise histopatológica: Coleta de fragmentos dos órgãos possivelmente infectados em aves que vierem a óbito nos CETAS de Minas Gerais.	
5	Autorizações para coleta de sangue e análise histopatológica: Submissão da presente proposta à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação (PROPP) da Universidade Federal de Juiz de Fora e a SISBIO para aprovação. Tal projeto será submetido também ao IEF e ao IBAMA.	

MATERIAIS E MÉTODOS

1	As coletas de sangue das aves serão realizadas nos ambulatórios dos três CETAS de Minas Gerais e no CRAS Nova Lima. As atividades de coleta do material sanguíneo serão realizadas semanalmente no CETAS de Juiz de Fora e mensalmente nos CETAS/CRAS de Belo Horizonte e Montes Claros. As coletas serão previamente agendadas com os servidores dos respectivos CETAS/CRAS.
2	Para a realização das análises sanguíneas e caracterização molecular, será coletado um volume médio de 50 µL de sangue, utilizando-se seringas descartáveis por meio de punção venosa nas asas. O volume de sangue que pode ser coletado de uma ave depende do seu peso e condição de saúde.
3	Serão confeccionados ao menos três esfregaços sanguíneos de cada ave para cálculo da prevalência/parasitemia de infecção e identificação e caracterização morfológica das espécies de hemoparasitos encontradas.



SECRETARIA DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
INSTITUTO ESTADUAL DE FLORESTAS
CENTRO DE TRIAGEM DE ANIMAIS SILVESTRES – CETAS

4	Verificação da sazonalidade na prevalência e parasitemia das aves, utilizando o software Quantitative Parasitology v.3.0.
5	Análise dos esfregaços confeccionados durante a coleta de sangue em microscópio fotônico; onde o número de formas dos parasitos será quantificado.
6	Extração de DNA total com utilização de Kit Wizard® Genomic DNA Purification.
7	Coleta de fragmentos dos órgãos possivelmente infectados em aves que vierem a óbito nos CETAS de Minas Gerais, para estudo da fase exo-eritrocítica do ciclo dos hemosporídeos em aves silvestres;
8	Os fragmentos dos órgãos retirados serão fixados em formalina 10% tamponada, por um período mínimo de 72 horas, após o qual será realizada a análise microscópica (fígado, rins, baço, músculo esquelético, cérebro e coração) e clivagem.
9	A presente proposta será submetida à Comissão de Ética no Uso de Animais da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-graduação da UFJF e ao SISBIO para aprovação. Será submetido também aos órgãos ambientais envolvidos, IEF e IBAMA MG.

Destino do Material Biológico Coletado

	Nome do local de destino
1	Laboratório de Protozoologia – Departamento de Zoologia UFJF

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).

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 033	Data da emissão: 12/09/2017
-------------	-----------------------------

DADOS DO TITULAR	
Nome: Glauber Thiago Martins Barino	CI/CPF: MG11192866/046.271.826-35
Título do projeto: "Hemosporídeos (Apicomplexa, Haemosporida) em aves silvestres cativas no Estado de Minas Gerais".	
Nome da Instituição: Universidade Federal de Juiz de Fora – Instituto de Ciências Biológicas – Departamento de Zoologia.	

Táxon	Quantidade	Tipo de amostra	Quantidade	Data
Todas as aves silvestres cativas do CETAS/BH	Não se aplica	Coleta de sangue e fragmentos de órgãos(fígado, baço, rins, músculo esquelético, cérebro e coração).	Não se aplica	12/09/2017

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Erika Procópio

Erika Procópio Tostes Teixeira
Analista Ambiental ERCS/IEF
MASP 1.343.614-2

Gerência de Proteção a Fauna e Flora
Diretoria de Proteção a Fauna/IEF