

**CAROLINA CLARES DOS ANJOS**

**Prevalência, diversidade e filogenia de hemosporídeos  
em aves de diferentes biomas**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências

Programa de Medicina Tropical

Área de Concentração: Doenças  
Tropicais e Saúde Internacional

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karin Kirchgatter

**São Paulo**

**2022**

**CAROLINA CLARES DOS ANJOS**

**Prevalência, diversidade e filogenia de hemosporídeos  
em aves de diferentes biomas**

Dissertação apresentada à  
Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo para  
obtenção do título de Mestre em  
Ciências

Programa de Medicina Tropical

Área de Concentração: Doenças  
Tropicais e Saúde Internacional

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Karin Kirchgatter

(Versão Corrigida. Resolução CoPGr 6018, de 13 de outubro de 2011.  
A versão original está disponível na Biblioteca da FMUSP)

**São Paulo**

**2022**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Anjos, Carolina Clares dos  
Prevalência, diversidade e filogenia de  
hemosporídeos em aves de diferentes biomas /  
Carolina Clares dos Anjos. -- São Paulo, 2022.  
Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da  
Universidade de São Paulo.  
Programa de Medicina Tropical. Área de  
Concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional.  
Orientadora: Karin Kirchgatter.

Descritores: 1.Plasmodium 2.Haemoproteus  
3.Leucocytozoon 4.Malária aviária 5.Biodiversidade  
6.Diversidade filogenética

USP/FM/DBD-075/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

*À minha mãe Nilda dedico este trabalho como fruto do incentivo a sempre buscar o conhecimento.*

*Ao meu marido Bruno Mathias por estar ao meu lado em todos os momentos.*

*Ao Bruce e Wynna, meus guardiões.*

## AGRADECIMENTOS

Como nada na vida é feito sozinho, a elaboração deste projeto teve a colaboração de pessoas essenciais:

Gostaria de iniciar agradecendo à minha orientadora Profa. Dra. Karin Kirchgatter pelos valiosos ensinamentos, pela paciência e por acreditar no meu potencial em momentos que nem eu mesma acreditava. Muito obrigada por me dar a oportunidade de aprender tanto e descobrir o quão valioso é o estudo dos hemossporídeos aviários.

Agradeço à minha família e amigos:

- Agradeço à minha mãe Nilda Clares pela vida! Por sempre me incentivar nos estudos, pelo amor incondicional e apoio em todos os momentos. Te Amo!
- Ao meu marido e colega de laboratório Bruno Mathias me ensinar tanta coisa, tanto na vida quanto no laboratório, por cuidar de mim, pela parceria e carinho.
- À minha sogra Elaine Pereira pelo apoio e carinho nessa jornada louca que é a vida.
- Agradeço também aos amigos Dayana, Stive, Ariane, Artur, Adriano, Thaís e Wellington pela amizade de tantos anos, por escutar minhas lamentações, pelas palavras de incentivo e por segurar minha mão em momentos necessários.

Agradeço aos meus amigos e colegas de laboratório:

- À Dr<sup>a</sup> Lilian de Oliveira Guimarães pelo carinho e paciência em me mostrar esse mundo incrível da Biologia Molecular, obrigada pelos ensinamentos e por responder minhas incontáveis perguntas diárias.
- À Dr<sup>a</sup> Eliana Ferreira Monteiro pelos valiosos ensinamentos de Biomol, por compartilhar experiências e por me salvar na bancada inúmeras vezes.
- À Ms. Roseli de França Simões por compartilhar experiências e conhecimento e pela amizade.

- À Vet. Gabriella Ricomini e ao Biol. Vinicio Rodrigues pela ajuda com alguns experimentos e pela valiosa amizade.
- Agradeço à Dr<sup>a</sup> Roseli Tuan, ao Dr<sup>o</sup> Adriano Pinter, à Dra. Regiane M. T. de Menezes e à Ms. Iole Arume Sei por nos receber nos laboratórios do DELAB Sucen e pelos ensinamentos compartilhados.

À Dra. Carolina Chagas pela amizade mesmo que a tantos km de distância e pelo valioso auxílio na identificação morfológica dos hemosporídeos que encontramos neste estudo. Sua ajuda foi essencial para este projeto.

Ao Dr. Gediminas Valkiūnas, por compartilhar um pouco do seu vasto conhecimento com nosso grupo e pelo auxílio na identificação e descrição dos hemosporídeos.

Ao Dr. Jeffrey Bell pela colaboração e auxílio nos trabalhos publicados.

Agradeço aos Colaboradores pela coleta e envio das amostras:

- Dr. Alan Fecchio, da Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT e
- Dr. Fábio Schunck, do Departamento de Zoologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (amostras do PESM Curucutu - SP);
- Dr. Thiago Bicudo, do Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Amazonas (amostras de Balbina – AM);
- Dr. Leonardo Lopes da Universidade Federal de Viçosa (amostras de Florestal – MG).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro através do processo no. 88887.463659/2019-00.

E a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste projeto.

*“Ninguém se torna iluminado por imaginar figuras de luz,  
mas sim, por ter consciência de sua escuridão”.*

Carl Jung

## RESUMO

ANJOS CC. Prevalência, diversidade e filogenia de hemosporídeos em aves de diferentes biomas [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Determinar localmente a prevalência e a dinâmica de transmissão de organismos parasitas é importante para entender sua capacidade de persistir nas populações hospedeiras e se dispersar pelas regiões. A malária aviária (*Plasmodium*) e parasitas hemosporídeos relacionados (*Haemoproteus* e *Leucocytozoon*) são um grupo cosmopolita de protozoários recuperados de todos os principais grupos de aves e todas as regiões zoogeográficas, exceto Antártida. Neste estudo, analisamos sua prevalência, diversidade e distribuição em aves de dois diferentes biomas brasileiros: Mata Atlântica e Amazônia. Na Mata Atlântica, foram utilizadas 399 amostras de sangue de 66 espécies de aves residentes e migratórias na Serra do Mar. Através de análises moleculares e morfológicas uma nova espécie de *Haemoproteus* foi descrita. Também verificamos que espécies migratórias foram infectadas mais frequentemente do que residentes. No entanto, estágios infectantes para os vetores (gametócitos) de *Leucocytozoon* spp., os parasitas mais encontrados nas espécies de aves migratórias mais abundantes na Serra do Mar (*Elaenia albiceps*), não foram observados em esfregaços sanguíneos de aves locais. Esse resultado sugere que este migrante austral de longa distância pode dispersar linhagens de *Leucocytozoon* da Patagônia até a Mata Atlântica, mas a transmissão local provavelmente não ocorre nesta parte do Brasil. Portanto, as espécies migratórias podem abrigar uma maior diversidade e prevalência de parasitas do que espécies residentes, mas o transporte de alguns parasitas por hospedeiros migratórios nem sempre pode afetar a transmissão local. Para a Amazônia brasileira, que abriga uma avifauna extremamente diversificada e serve como centro de diversificação para parasitas da malária aviária na América do Sul, fizemos uma análise na região da Hidrelétrica de Balbina. A construção de barragens hidrelétricas é um fator de perda de biodiversidade, ao criar ilhas que geralmente são incapazes de sustentar as mesmas comunidades de aves encontradas em áreas florestais intactas. A Hidrelétrica de Balbina cobre uma vasta área com muitas ilhas na margem esquerda do Rio Uatumã conhecidas por conter mais de 400 espécies de aves. Sabe-se que além das ações antrópicas, a presença de parasitas pode também ter grande influência na dinâmica e estrutura das comunidades de aves. No entanto, nenhum estudo até o momento explorou como a fragmentação do habitat através da formação de ilhas durante as inundações artificiais afeta a diversidade e a prevalência de parasitas hemosporídeos de aves. Assim, analisamos amostras de sangue coletadas de 445 aves da região da Hidrelétrica de Balbina, pertencentes a 53 espécies, 24 famílias e oito ordens. Os passeriformes representaram 95,5% de todas as amostras analisadas. Através de técnicas moleculares verificamos que 13 amostras foram positivas para *Plasmodium* (duas *Plasmodium elongatum* e 11 *Plasmodium* sp.) pertencentes a oito linhagens. Seis dessas linhagens foram



descritas anteriormente na Amazônia, enquanto duas são novas. *Hypocnemis cantator*, o cantador-da-guiana, representou 38,5% de todos os indivíduos positivos, embora representasse apenas 5,6% das amostras coletadas. Por outro lado, a positividade geral (2,9%) encontrada na área de Balbina sugere que as inundações antrópicas nas últimas três décadas nesta região podem ter interrompido as relações vetor-parasita levando a uma baixa prevalência de *Plasmodium* nesta avifauna insular.

**Descritores:** *Plasmodium*; *Haemoproteus*; *Leucocytozoon*; malária aviária; diversidade parasitária; diversidade filogenética.

## ABSTRACT

ANJOS CC. Prevalence, diversity and phylogeny of hemosporidians in birds from different biomes [dissertation]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Determining locally the prevalence and transmission dynamics of parasitic organisms is important to understand their ability to persist in host populations and disperse across regions. Avian malaria (*Plasmodium*) and related haemosporidian parasites (*Haemoproteus* and *Leucocytozoon*) are a cosmopolitan group of protozoa recovered from all major bird groups and all zoogeographic regions except Antarctica. In this study, we analyzed its prevalence, diversity and distribution in birds from two different Brazilian biomes: Atlantic Forest and Amazon. In the Atlantic Forest, 399 blood samples were used from 66 species of resident and migratory birds in Serra do Mar. Through molecular and morphological analysis a new species of *Haemoproteus* was described. We also verified that migratory species were infected more frequently than residents. However, infective stages for the vectors (gametocytes) of *Leucocytozoon* spp., the most common parasites found in the most abundant migratory bird species in Serra do Mar (*Elaenia albiceps*), were not observed in blood smears from local birds. This result suggests that this long-distance Austral migrant can disperse *Leucocytozoon* lineages from Patagonia to the Atlantic Forest, but local transmission probably does not occur in this part of Brazil. Therefore, migratory species may harbor a higher diversity and prevalence of parasites than resident species, but the transport of some parasites by migratory hosts may not always affect local transmission. For the Brazilian Amazon, which supports an extremely diverse avifauna and serves as a diversification center for avian malaria parasites in South America, we carried out an analysis in the Balbina Hydroelectric Dam region. The construction of hydroelectric dams is a driver of biodiversity loss, by creating islands that are often unable to sustain the same bird communities found in intact forest areas. The Balbina Dam covers a vast area with many islands on the left bank of the Uatumã River known to contain over 400 species of birds. It is known that in addition to anthropogenic actions, the presence of parasites can also have a great influence on the dynamics and structure of bird communities. However, no studies to date have explored how habitat fragmentation through island formation during artificial flooding impacts the diversity and prevalence of avian haemosporidian parasites. Thus, we analyzed blood samples collected from 445 birds from the Balbina Hydroelectric Dam region, belonging to 53 species, 24 families and eight orders. Passeriformes represented 95.5% of all analyzed samples. Through molecular techniques we found that 13 samples tested positive to *Plasmodium* (two *Plasmodium elongatum* and 11 *Plasmodium* sp.) belonging to eight lineages. Six of these lineages were previously described in the Amazon, whereas two of them are new. *Hypocnemis cantator*, the Guianan Warbling Antbird, represented 38.5% of all positive individuals, even though it represents only 5.6% of the collected samples. On the other hand, the general positivity (2.9%) found in the Balbina area suggests that anthropogenic flooding in the past three decades in this region may

have disrupted vector-parasite relationships, leading to a low overall *Plasmodium* prevalence in this insular avifauna.

**Descriptors:** *Plasmodium*; *Haemoproteus*; *Leucocytozoon*; avian malaria; parasite diversity; phylogenetic diversity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Hipótese sobre relação evolutiva entre os gêneros da Ordem Haemosporida .....	20
<b>Figura 2.</b> Vetores de Hemosporídeos aviários.....	21
<b>Figura 3.</b> Fotomicrografia evidenciando gametócitos dos três diferentes gêneros de hemosporídeos.....	26
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática do ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> aviário .....	27
<b>Figura 5.</b> Representação esquemática do ciclo de vida de <i>Haemoproteus</i> de aves.....	30
<b>Figura 6.</b> Representação esquemática do ciclo de vida do gênero <i>Leucocytozoon</i> .....	32
<b>Figura 7.</b> Representação esquemática da dinâmica da parasitemia de parasitas hemosporídeos em aves. ....	33
<b>Figura 8.</b> Pontos de coleta das aves amostradas neste estudo localizados nos respectivos Biomas brasileiros. ....	44
<b>Figura 9.</b> Ponto de coleta do Núcleo Curucutu localizado no bioma da Mata Atlântica, Brasil.....	46
<b>Figura 10.</b> Distribuição espacial dos pontos de coleta amostrados na área da Hidrelétrica de Balbina, Presidente Figueiredo - AM, Brasil.....	47
<b>Figura 11.</b> Representação esquemática dos fragmentos amplificados para o gene <i>cytb</i> utilizando diferentes pares de primers .....	50
<b>Figura 12.</b> Números absolutos das aves examinadas neste estudo de acordo com a Ordem e Família estudada. ....	54
<b>Figura 13.</b> <i>Haemoproteus</i> sp. (linhagem de <i>cytb</i> hELAALB01) encontrado em amostra sanguínea de <i>Elaenia albiceps</i> .....	55
<b>Figura 14.</b> <i>Haemoproteus</i> ( <i>Parahaemoproteus</i> ) <i>nucleocentralis</i> n. sp. (linhagem <i>cytb</i> hTANDES01) da espécie aviária <i>Tangara desmaresti</i> .....	58
<b>Figura 15.</b> Filogenia bayesiana baseada no gene mitocondrial de <i>Plasmodium</i> spp. das linhagens identificadas no presente estudo .....	72

<b>Figura 16.</b> Filogenia bayesiana das linhagens do gene <i>cytb</i> das espécies de <i>Leucocytozoon</i> de parasitas hemosporídeos de aves.....	74
<b>Figura 17.</b> Filogenia bayesiana baseada no gene <i>cytb</i> das espécies de <i>Haemoproteus</i> .....	76
<b>Figura 18.</b> Número absoluto das aves analisadas de acordo com a Ordem e Família estudada.....	77
<b>Figura 19.</b> Distribuição espacial da infecção registrada e ausência de infecção na comunidade aviária da área da Hidrelétrica de Balbina, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil .....	81
<b>Figura 20.</b> Filogenia Bayesiana baseada nas sequências parciais do gene mitocondrial <i>cytb</i> de espécies de <i>Plasmodium</i> .....	83
<b>Figura 21.</b> Rede de haplótipos de DNA de <i>median-joining</i> sequências parciais (479 pb) de <i>cytb</i> de <i>Plasmodium (Novyella)</i> sp. ....	85
<b>Figura 22.</b> Rede de haplótipos de DNA de <i>median-joining</i> de sequências parciais (479 pb) de <i>cytb</i> de <i>Plasmodium (Huffia)</i> sp., <i>Plasmodium (Giovanollaia)</i> sp., <i>Plasmodium (Haemamoeba)</i> sp. ....	86

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

<b>Tabela 1.</b> Dados morfométricos de células hospedeiras e gametócitos maduros de <i>Haemoproteus nucleocentralis</i> n. sp. (linhagem <i>cytb</i> hTANDES01).....	60
<b>Tabela 2.</b> Números de amostras de espécies de aves residentes amostradas no PESH Curucutu - SP, Brasil.....	63
<b>Tabela 3.</b> Números de amostras das espécies de aves migratórias amostradas no PESH Curucutu.....	68
<b>Tabela 4.</b> Espécies aviárias amostradas na região da Barragem da Hidrelétrica de Balbina, Amazonas, Brasil.....	78
<b>Quadro 1:</b> Comparação entre positividade e prevalência das amostras analisadas de aves residentes e migratórias.....	65

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	17
1.1 Ecologia e Diversidade de aves no Brasil .....	17
1.2 Hemosporídeos aviários: Relação parasita-hospedeiro .....	18
1.3 Transmissão.....	19
1.4 Taxonomia e Classificação.....	23
1.5 Ciclos de vida e morfologia de <i>Plasmodium</i> , <i>Haemoproteus</i> e <i>Leucocytozoon</i> .....	25
1.5.1 <i>Plasmodium</i> spp. ....	26
1.5.2 <i>Haemoproteus</i> spp. ....	29
1.5.3 <i>Leucocytozoon</i> spp.....	31
1.6 Aspectos Fisiológicos e Sinais clínicos .....	32
1.7 Diagnóstico Morfológico .....	34
1.8 Diagnóstico Molecular .....	35
1.9 Diversidade de Hemosporídeos .....	37
1.10 Relação entre migração e transmissão de hemosporídeos .....	39
1.11 Efeitos da Insularização em aves .....	41
2. OBJETIVO .....	43
2.1 Objetivo Geral .....	43
2.2 Objetivos Específicos .....	43
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.1 Amostras utilizadas neste estudo.....	44
3.1.1 Amostras do PESM Núcleo Curucutu – SP .....	44
3.1.2 Amostras de Balbina – AM .....	46

3.1.3	Amostras de Florestal – MG .....	47
3.2	Análise microscópica.....	48
3.3	Detecção Molecular.....	48
3.3.1	Extração de DNA.....	48
3.3.2	Reação de PCR para amplificação do gene <i>cytb</i> de <i>Plasmodium</i> , <i>Haemoproteus</i> e <i>Leucocytozoon</i> .....	49
3.4	Sequenciamento e análise filogenética .....	50
3.5	Redes de Haplótipos .....	52
3.6	Aspectos éticos .....	53
4.	RESULTADOS.....	53
4.1	Malária Aviária e Parasitas Relacionados de Aves Residentes e Migratórias no PESH Curucutu – SP.....	53
4.1.1	Detecção de hemosporídeos por microscopia ótica .....	54
4.1.2	Prevalência de Infecção em Avifauna Residente e Migratória.....	63
4.1.3	Análise molecular e filogenética das amostras .....	66
4.2	Prevalência e diversidade genética de hemosporídeos aviários em ilhas da Hidrelétrica de Balbina/ AM .....	77
4.3	Resultados obtidos em Florestal – MG .....	87
5.	DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS .....	87
5.1	Discussão PESH Curucutu .....	87
5.2	Discussão Balbina – AM .....	91
6.	CONCLUSÕES .....	95
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	97
	APÊNDICE A: Linhagens de hemosporídeos identificadas no PESH Curucutu e os registros de ocorrência da linhagem no banco de dados MalAvi.....	108
	Referências Bibliográficas do Apêndice A.....	114



APÊNDICE B: Linhagens de hemosporídeos identificadas nas ilhas da Hidrelétrica de Balbina - AM e os registros de ocorrência da linhagem no banco de dados MalAvi.....	123
Referências Bibliográficas do Apêndice B.....	127
APÊNDICE C - Artigo publicado na revista <i>Pathogens</i> sob o título “Avian Malaria and Related Parasites from Resident and Migratory Birds in the Brazilian Atlantic Forest, with Description of a New <i>Haemoproteus</i> Species”. ANJOS <i>et al.</i> , 2021. ....	136
APÊNDICE D - Artigo submetido à revista <i>Frontiers</i> sob o título “Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites in islands from Balbina Hydroelectric Dam in the Brazilian Amazon”. ANJOS <i>et al.</i> , 2022.....	137
ANEXO A– Parecer de Aprovação do Comitê de Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (CEUA/000412A). ....	138

# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1 Ecologia e Diversidade de aves no Brasil

O Brasil é um dos países de maior riqueza em relação à diversidade de aves com um total de 1.971 espécies de aves descritas pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (PIACENTINI *et al.*, 2015; PACHECO *et al.*, 2021), das quais 236 estão classificadas como ameaçadas de extinção (ICMBIO, 2018). Na região Neotropical, o Brasil apresenta a maior taxa (COLLAR; WEGE; LONG, 1997), sendo 1.227 espécies globalmente em risco de extinção, o que representa 12% das aves ameaçadas do planeta (IUCN, 2019).

A Amazônia apresenta o maior número de espécies descritas (1.000), seguida pela Mata Atlântica (934) e o Cerrado (850). O Pantanal, a maior área alagada da América do Sul, possui 463 espécies de aves (IBGE, 2019; MMA, 2018). Além de apresentar maior diversidade, os biomas da Amazônia e Mata Atlântica apresentam também os maiores níveis de endemismo (20% e 18%, respectivamente) (MITTERMEIER *et al.*, 2003; MMA, 2018). A maioria das aves brasileiras são espécies residentes, sendo 198 espécies migrantes, 64% destas foram consideradas de hábitos migratórios e 36% parcialmente migratórias, quando uma parte da população permanece na mesma região durante todo o ano (SOMENZARI *et al.*, 2018).

As aves são consideradas organismos bioindicadores, pois respondem a alterações na dinâmica e equilíbrio ambiental, causando um estresse e consequentes impactos na distribuição das espécies, influência no sucesso reprodutivo, alterações no comportamento e disfunções fisiológicas e anatômicas (FRÄNZLE, 2003).

O estresse em aves pode ser causado por atividades antrópicas como fragmentação ou destruição de habitats, níveis de poluição, introdução de espécies exóticas em populações nativas, superexploração de espécies, diminuição da quantidade de filhotes, qualidade de alimentação, e presença de parasitas (BECKER, 2003). O parasitismo pode exercer alta influência tanto na dinâmica quanto na estrutura de diferentes nichos e comunidades, assim como a competição ou a predação (HUDSON, 1998). Nas comunidades de aves, os

efeitos negativos da presença de parasitas podem levar à diminuição do sucesso reprodutivo (MARZAL *et al.*, 2005) e influenciar na susceptibilidade a outras doenças parasitárias, entre elas, a infecção por parasitas hemosporídeos (PHILIPS, 1990; PRIMACK; RODRIGUES, 2001). Estes fatores podem levar ao declínio das condições clínicas das aves e, conseqüentemente, prejudicar a capacidade de sobrevivência e reprodução, afetando diretamente no tamanho de populações, e até mesmo causar extinções (FELDMAN; FREED; CANN, 1995).

## 1.2 Hemosporídeos aviários: Relação parasita-hospedeiro

Parasitas do Filo Apicomplexa (Ordem Haemosporida) são protozoários sanguíneos também denominados hemosporídeos, compondo um grupo cosmopolita de protistas heteróxenos que parasitam animais que possuem eritrócitos nucleados (anfíbios, répteis e aves) e anucleados (mamíferos) e são transmitidos aos seus hospedeiros por dípteros hematófagos (ATKINSON; VAN RIPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005).

Os membros deste filo contêm um plastídeo não fotossintético, denominado apicoplasto. Essa organela é essencial tanto para a sobrevivência celular quanto, em formas parasitárias, para invasão de células hospedeiras (ROBERTS; SCHMIDT; JANOVY, 2009).

Protozoários do gênero *Plasmodium*, associados ao termo “malária aviária” e hemosporídeos relacionados dos gêneros *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Fallisia* são frequentemente agrupados devido à sua proximidade taxonômica e suas similaridades patológicas (VANSTREELS; PARSONS, 2014). Apresentam ampla distribuição global, assim como seus vetores, e há descrições de parasitismo por hemosporídeos em diversos grupos de aves em praticamente todas as regiões geográficas, exceto Artártida (VALKIŪNAS, 2005).

A grande maioria dos trabalhos já publicados foram realizados em regiões de clima temperado, com amostragem de avifauna residente e migrante (BAILLIE; BRUNTON, 2011; BARROW *et al.*, 2021; CLARK *et al.*; 2014; ILLERA

*et al.*, 2017; NETO *et al.*, 2020; PLATONOVA *et al.*, 2021; SOARES; YOUNG; RICKLEFS, 2020).

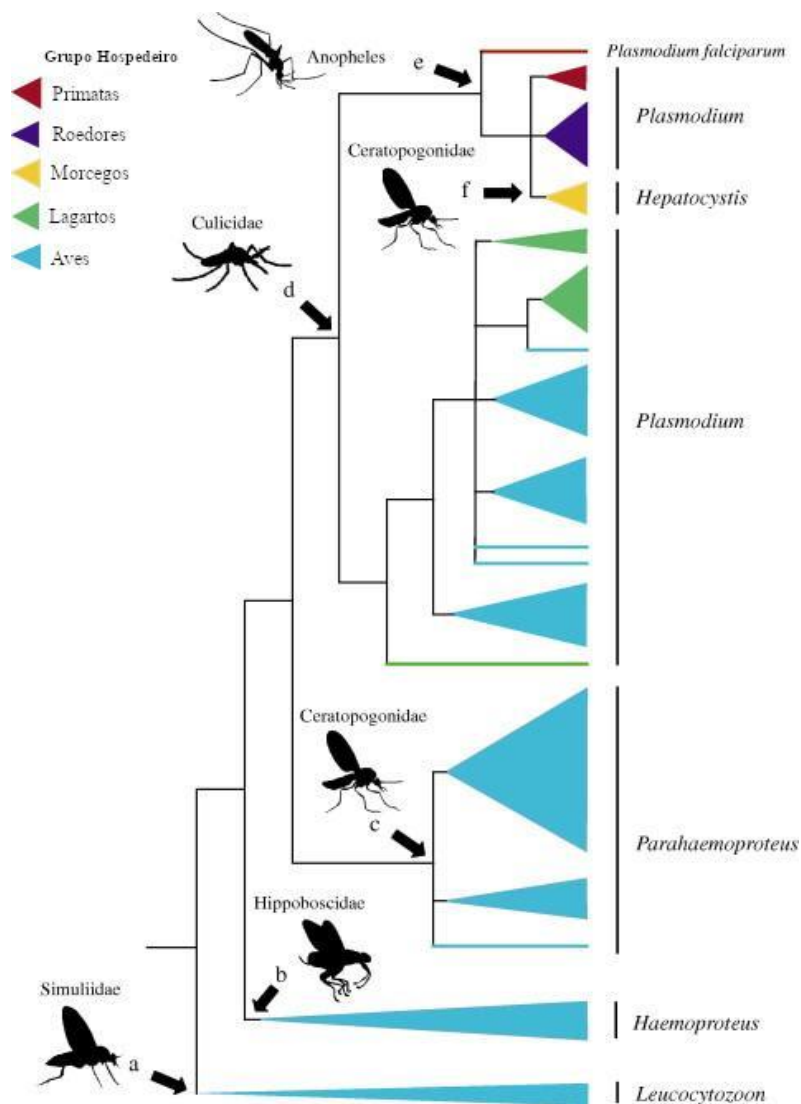
Apesar das dificuldades de estudo com aves silvestres na região neotropical, devido à grande diversidade de hospedeiros e a dificuldade de acesso e amostragem desses animais, recentemente vários estudos têm sido realizados nessa região (DEBROCK *et al.*, 2021; LEVIN *et al.*, 2016; LOTTA *et al.*, 2016; MOENS; PÉREZ-TRIS, 2016), inclusive no Brasil (FECCHIO *et al.*, 2020; MOREL *et al.*, 2021; VANSTREELS *et al.*, 2019).

A interação entre hemosporídeos e seus hospedeiros é um importante sistema modelo para o estudo das interações hospedeiro-parasita-vetor. Há um amplo desenvolvimento de pesquisas sobre hemosporídeos em aves de criação e de vida-livre (CHAGAS; BINKIENĖ; VALKIŪNAS, 2021; COMICHE, 2019; FECCHIO *et al.*, 2021; PATTARADILOKRAT *et al.*, 2015), incluindo estudos globais acerca da infecção por hemosporídeos aviários (CLARK; CLEGG; LIMA, 2014; FECCHIO *et al.*, 2021).

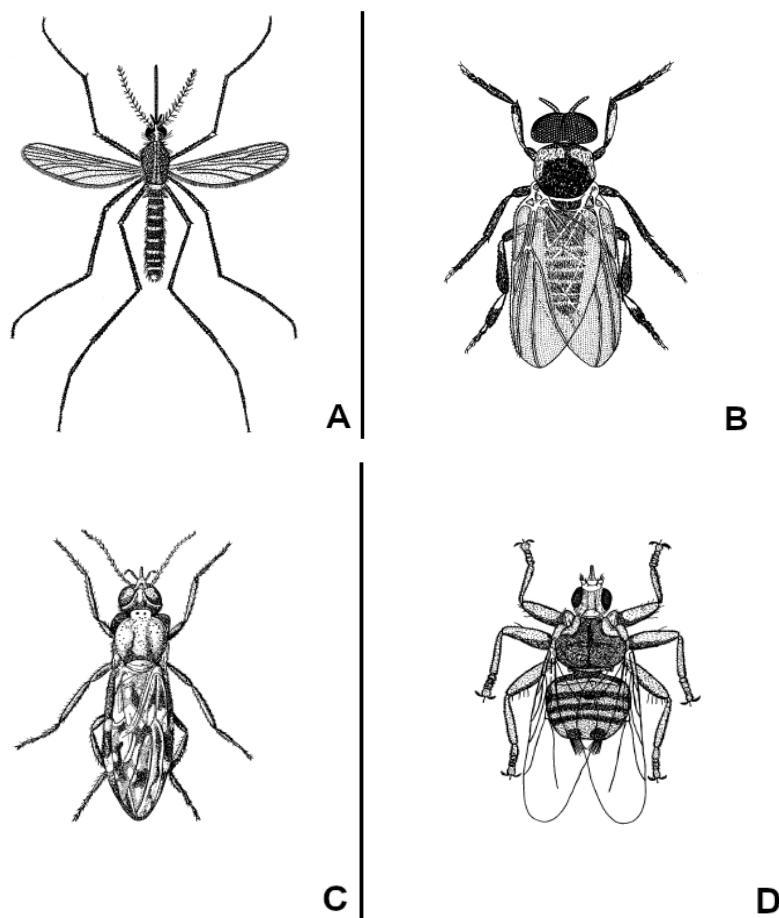
### 1.3 Transmissão

A transmissão dos hemosporídeos entre os hospedeiros ocorre a partir do repasto sanguíneo de vetores competentes, com consequente inoculação das formas infectantes. Pode ser encontrado no sangue periférico das aves as formas de trofozoíto, esquizonte e gametócito para *Plasmodium*, e apenas gametócito para *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* (VALKIŪNAS, 2005). Como mostra na **Figura 1**. O gênero *Plasmodium* é transmitido, por mosquitos da família Culicidae (**Figura 2A**), mais comumente pelos gêneros *Culex* e *Aedes* e raramente pelo gênero *Anopheles*, vetor da malária humana (ATKINSON; VAN RIPER III, 1991). O gênero *Haemoproteus* já foi relatado em várias regiões do mundo associado aos vetores das famílias Ceratopogonidae (**Figura 2C**) (em especial o gênero *Culicoides*) e Hippoboscidae (**Figura 2D**) (GREINER *et al.*, 1975), o gênero *Leucocytozoon* é veiculado principalmente por mosquitos das famílias Simuliidae (**Figura 2B**) e somente uma espécie por Ceratopogonidae (MARCONDES, 2011; MARTINSEN; PERKINS; SCHALL, 2008). As fêmeas dos

vetores hematófagos são os hospedeiros definitivos, no qual ocorre o ciclo sexuado, enquanto as aves são os hospedeiros intermediários, onde ocorre o desenvolvimento do parasita em células sanguíneas e outros tecidos (ATKINSON, C.T.; VAN RIPER III, 1991; VALKIŪNAS, 2005).



**Figura 1.** Hipótese filogenética da relação evolutiva entre os gêneros da Ordem Haemosporida e seus respectivos vetores. As setas indicam o principal vetor relacionado ao gênero subsequente. **a-** *Leucocytozoon* spp. é transmitido por insetos da família Simuliidae; **b, c-** gênero *Haemoproteus* divididos em dois subgêneros, *Haemoproteus* transmitidos por moscas da família Hippoboscidae e *Parahaemoproteus* transmitidos por pequenas moscas da família Ceratopogonidae; **d, e-** *Plasmodium* spp. transmitido por mosquitos da família Culicidae gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles* respectivamente; **f-** *Hepatocystis* sp. transmitido por vetores da família Ceratopogonidae. Fonte: adaptado de (MARTINSEN; PERKINS; SCHALL, 2008).



**Figura 2.** Vetores de Hemosporídeos aviários. **A-** mosquito (Culicidae) *Culex pipiens*, um dos vetores do gênero *Plasmodium*. **B-** mosca hematófaga (Simuliidae), vetor do gênero *Leucocytozoon*. **C-** mosquito (Ceratopogonidae) *Culicoides nubeculosus*, vetor do gênero *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*). **D-** mosca (Hippoboscidae) *Pseudolynchia canariensis*, vetor do gênero *Haemoproteus* (*Haemoproteus*). Adaptado de (VALKIŪNAS, 2005).

A transmissão do parasita ao hospedeiro vertebrado por um vetor depende de diversos fatores ecológicos que afetam a interação parasita-hospedeiro. Estes fatores incluem, entre outras variáveis, o ambiente, hospedeiros (densidade, susceptibilidade à infecção), vetor (densidade, competência vetorial) e os parasitas (patogenicidade, virulência) (BEGON; TOWNSEND; MELO, 2007).

A distribuição dos vetores competentes para a transmissão desses parasitas reflete diretamente a distribuição dos hemosporídeos. Em regiões que apresentam altas temperaturas, como a região Neotropical, e com maiores índices de pluviosidade, é observado um maior número de vetores dípteros. Porém, para que o vetor seja infectado após a realização do repasto sanguíneo

em uma ave infectada por hemosporídeos, é obrigatório que o ciclo de vida do parasita se complete na ave, e para isso, condições ambientais adequadas são necessárias, como a temperatura (PLATONOVA; PALINAUSKAS, 2021). Entretanto, em locais com temperaturas mais baixas os vetores podem apresentar dificuldade de sobrevivência e reprodução, sendo assim, as altas temperaturas das regiões tropicais podem favorecer o desenvolvimento tanto dos vetores quanto dos parasitas, mantendo uma transmissão constante de parasitas durante praticamente todo o ano (BENNING *et al.*, 2002). Levando em consideração que a temperatura pode influenciar ativamente o risco de infecção por patógenos transmitidos por vetores, o aumento da temperatura à nível global será um fator importante que pode impulsionar a prevalência de muitas doenças que acometem os animais silvestres (CABLE *et al.*, 2017; LAFFERTY, 2009; LOISEAU *et al.*, 2013).

Para os parasitas generalistas, ou seja, que infectam várias espécies hospedeiras, a heterogeneidade espacial na probabilidade de infecção entre as comunidades de aves pode mudar em resposta não apenas às variações climáticas, mas também às mudanças na distribuição e riqueza de hospedeiros, levando a novas oportunidades ecológicas para um parasita expandir sua variedade de hospedeiros e aumentar sua prevalência local (CANARD *et al.*, 2014; FECCHIO *et al.*, 2021; WELLS; CLARK, 2019).

Em geral, as espécies de hemosporídeos aviários não causam doenças graves em seus hospedeiros, exceto algumas espécies altamente patogênicas, como *P. gallinaceum* em galinhas e *P. relictum* em aves silvestres (VOTÝPKA *et al.*, 2017).

Também pode ser citado o impacto negativo causado a avifauna havaiana pela introdução de vetores e dos parasitas que causaram a infecção por hemosporídeos nessas aves (VAN RIPER III *et al.*, 1986), e é provavelmente um dos casos relatados mais conhecidos da ameaça de doenças a populações de aves silvestres, onde a introdução de um novo *Plasmodium relictum* e seu mosquito vetor levou algumas espécies, como o “honeycreeper” (Família Drepanidae), ave endêmica do Hawaii, à extinção (ATKINSON *et al.*, 2000).

#### 1.4 Taxonomia e Classificação

A posição taxonômica dos parasitas hemosporídeos sofre variações entre as classificações morfológicas e moleculares (CAVALIER-SMITH, 2018; RUGGIERO *et al.*, 2015). Neste trabalho é utilizada a classificação taxonômica conforme Valkiūnas (2005), com pequenas modificações de acordo com (VALKIŪNAS; ATKINSON, 2020).

As seguintes características são comuns e compartilhadas por todos os grupos da ordem Haemosporida: parasitas heteróxenos obrigatórios com merogonia (reprodução assexuada) em células sanguíneas e/ou tecidos, principalmente nos órgãos dos hospedeiros vertebrados; gametócitos apresentam dimorfismo sexual e se desenvolvem principalmente nos eritrócitos dos hospedeiros; a reprodução sexual (esporogonia) ocorre em insetos dípteros hematófagos; a gametogênese (formação de gametas masculinos e femininos) ocorre fora das células sem formação de sizígia (emparelhamento de dois gametas antes da fertilização); um microgametócito (♂) produz oito microgametas e um macrogametócito (♀) produz um macrogameta; ocorrência de processo sexual do tipo oogamia; o zigoto se transforma em oocineto móvel; oocisto muda de tamanho e não possui esporos; esporozoítos presentes nas glândulas salivares dos vetores; e por fim, a infecção de vertebrados ocorre geralmente de modo ativo por meio do repasto sanguíneo de um vetor hematófago (VALKIŪNAS, 2005).

Todos os hemosporídeos podem ser diferenciados de outros parasitas apicomplexos com base na sua organização estrutural: a presença de conóides do complexo apical em oocinetos e a ausência destes em formas esporozoítas, sendo esta uma característica importante para a penetração dos parasitas dentro das células dos hospedeiros (VALKIŪNAS, 2005).

Quatro famílias são tradicionalmente reconhecidas na ordem Haemosporida, estas são: Haemoproteidae, Plasmodiidae, Leucocytozoidae e Garniidae. A maioria das filogenias recentes baseadas em dados genéticos suportam a validade de Haemoproteidae, Plasmodiidae e Leucocytozoidae como parasitas aviários, porém as relações entre esses grupos, entre os diferentes



gêneros e subgêneros, permanecem insuficientemente compreendidas (PACHECO *et al.*, 2018; PERKINS, 2014; RICKLEFS; OUTLAW, 2010; TOSCANI FIELD *et al.*, 2018). As espécies da família Garniidae, descritas como parasitando animais da classe Reptilia, permanecem carentes de pesquisas recentes, dados aprofundados e descrição de características moleculares (LAINSON; LANDAU; SHAW, 1974; SILVA *et al.*, 2006).

Os hemosporídeos aviários podem ser classificados da seguinte forma (VALKIŪNAS; ATKINSON, 2020):

Filo Apicomplexa (Levine, 1970)

Subfilo Sporozoa (Leuckart, 1879)

Classe Coccidea (Leuckart, 1879)

Ordem Haemosporida (Danilewsky, 1885)

Família Haemoproteidae (Doflein, 1916)

Gênero ***Haemoproteus***\* (Kruse, 1890)

Subgênero *Parahaemoproteus* (Bennett, Garnham e Fallis, 1965)

Subgênero *Haemoproteus* (Kruse, 1890)

Família Plasmodiidae (Mesnil, 1903)

Gênero ***Plasmodium***\* (Marchiafava e Celli, 1885)

Subgênero *Haemamoeba* (Grassi e Feletti, 1890)

Subgênero *Giovannolaia* (Corradetti, Garnham e Laird, 1963)

Subgênero *Novyella* (Corradetti, Garnham e Laird, 1963)

Subgênero *Bennettinia* (Valkiūnas, 1987)

Subgênero *Huffia* (Corradetti, Garnham e Laird, 1963)

Família Garniidae (Lainson, Landau e Shaw, 1971)

Gênero *Fallisia* (Lainson, Landau e Shaw, 1974)

Subgênero *Plasmodioides* (Gabaldon, Ulloa e Zerpa, 1985)

Família Leucocytozoidae (Fallis e Bennett, 1961)

Gênero ***Leucocytozoon***\* (Berestneff, 1904)

Subgênero *Leucocytozoon* (Berestneff, 1904)

Subgênero *Akiba* (Bennett, Garnham e Fallis, 1965)

(\*em negrito os gêneros estudados neste trabalho)

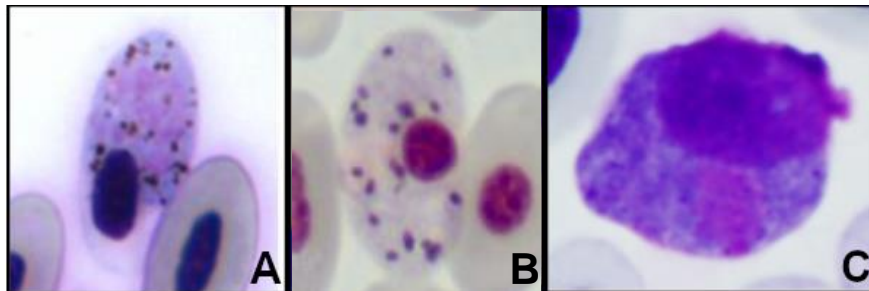
### 1.5 Ciclos de vida e morfologia de *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*

Os hemosporídeos aviários apresentam ciclos de vida semelhantes, no entanto, diferem em como e onde esses estágios ocorrem na ave hospedeira. As descrições morfológicas e o ciclo de vida dos hemosporídeos utilizados neste trabalho são as mesmas como descritas por (VALKIŪNAS, 2005).

Uma característica geral dos hemosporídeos é de que são transmitidos às aves por formas infecciosas (esporozoítos), quando são liberadas pelo vetor durante o repasto sanguíneo. Os esporozoítos têm a capacidade de infectar as células hospedeiras e passam por uma fase de reprodução assexuada (merogonia), que inicialmente forma merontes ou esquizontes. O local no corpo do hospedeiro onde ocorre a merogonia difere nos diferentes gêneros, com apenas parasitas do gênero *Plasmodium* apresentando merogonia em eritrócitos. Os merontes formam merozoítos uninucleares que são liberados infectando as células hospedeiras. Vários estágios de merogonia geralmente ocorrem, permitindo que o parasita se adapte ao seu hospedeiro e aumente rapidamente em número. O estágio sexual ocorre quando os merozoítos infectam as células sanguíneas do hospedeiro e formam os gametócitos (**Figura 3**). Os gametócitos produzem os gametas, masculinos e femininos, necessários para a reprodução sexual no vetor. Dois tipos de gametócitos são formados nos eritrócitos do hospedeiro, o macrogametócito e o microgametócito. Uma vez formados os gametócitos, o parasita tem a capacidade de infectar os vetores dípteros (VALKIŪNAS, 2005).

Uma vez ingeridos pelo vetor durante o repasto sanguíneo, os gametócitos saíram das células sanguíneas do hospedeiro para formar gametas (gametogênese) dentro do intestino médio do vetor. Essa fase de reprodução é influenciada pelos níveis de oxigênio e dióxido de carbono. O macrogametócito forma macrogameta e microgametas móveis por exflagelação. A fertilização resulta na formação do zigoto que se desenvolve em um oocineto alongado e móvel. O oocineto penetra no intestino médio do vetor e se desenvolve em um oocisto. O oocisto passa então por um estágio de divisão assexuada (esporogonia), que produz muitos esporozoítos alongados. Após o rompimento

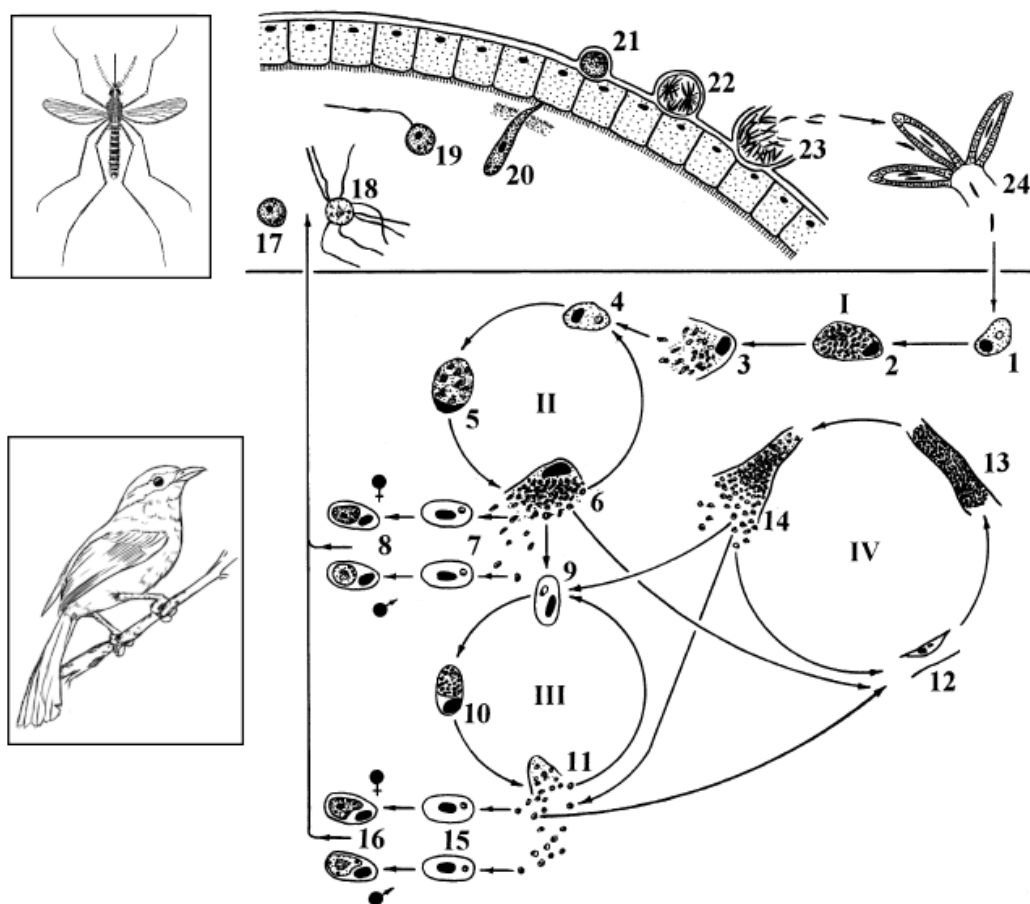
do oocisto, os esporozoítos entram na hemocele do vetor e eventualmente penetram nas glândulas salivares do vetor. Assim, o vetor agora é capaz de infectar novos hospedeiros vertebrados, com a liberação de formas esporozoítas inoculadas durante a alimentação (VALKIŪNAS, 2005).



**Figura 3.** Fotomicrografia evidenciando gametócitos dos três diferentes gêneros de hemosporídeos. **A-** *Plasmodium* sp. (CHAGAS, 2016); **B-** *Haemoproteus pulcher* (VANSTREELS *et al.*, 2022); **C-** *Leucocytozoon polynuclearis* (GROFF *et al.*, 2022).

### 1.5.1 *Plasmodium* spp.

O ciclo de vida do gênero *Plasmodium* é considerado o mais complexo dentre os outros gêneros de hemosporídeos, e é caracterizado pela fase de reprodução assexuada (merogonia) ocorrendo tanto dentro (eritrocitário) quanto fora dos eritrócitos (exoeritrocitário). É o único gênero de hemosporídeos onde ocorre merogonia no sangue periférico das aves. O desenvolvimento do parasita divide-se basicamente em merogonia exoeritrocítica, merogonia eritrocítica e formação de gametócitos (**Figura 4**).



**Figura 4.** Representação esquemática do ciclo de vida do *Plasmodium* aviário. Parte superior, no vetor, parte inferior, na ave: I, II – merogonia exoeritrocítica primária; III – merogonia exoeritrocítica; IV – merogonia exoeritrocítica secundária; 1 - esporozoíto em célula reticuloendotelial; 2,3 – criptozoítos; 4 – merozoítos em macrófagos; 5,6 – metacriptozoítos; 7 – merozoítos em eritrócitos; 8 – gametócitos; 9 – merozoítos em eritrócitos; 10,11 – merontes eritrocíticos; 12 – merozoíto na célula endotelial dos capilares; 13, 14 – fanerozoítos; 15 – merozoítos em eritrócitos; 16 – gametócitos; 17 – macrogameta; 18- exflagelação de microgametas; 19 – fertilização do macrogameta; 20 - oocineto penetrando na membrana peritrófica (intestino); 21 – oocisto jovem; 22, 23 – esporogonia; 24 – esporozoítos nas glândulas salivares do vetor (Adaptado de VALKIŪNAS, 2005).

A merogonia exoeritrocítica é dividida em primária ou pré-eritrocítica, que ocorre antes da merogonia eritrocítica, e secundária ou pós-eritrocítica, que ocorre depois. Os mosquitos infectados inoculam esporozoítos na corrente sanguínea do hospedeiro iniciando assim a merogonia exoeritrocitária primária que inclui duas gerações separadas. A primeira geração ocorre nas células

reticuloendoteliais de vários órgãos e dá origem a merontes teciduais chamados criptozoítos. Os criptozoítos produzem merozoítos que infectam macrófagos a partir da segunda geração, onde são produzidos merontes chamados metacriptozoítos. A infecção por merozoítos de glóbulos vermelhos causa a produção de gametócitos e também inicia a merogonia eritrocitária. O gênero *Plasmodium* é o único a realizar merogonia eritrocítica, dentre os outros hemosporídeos (VALKIŪNAS, 2005).

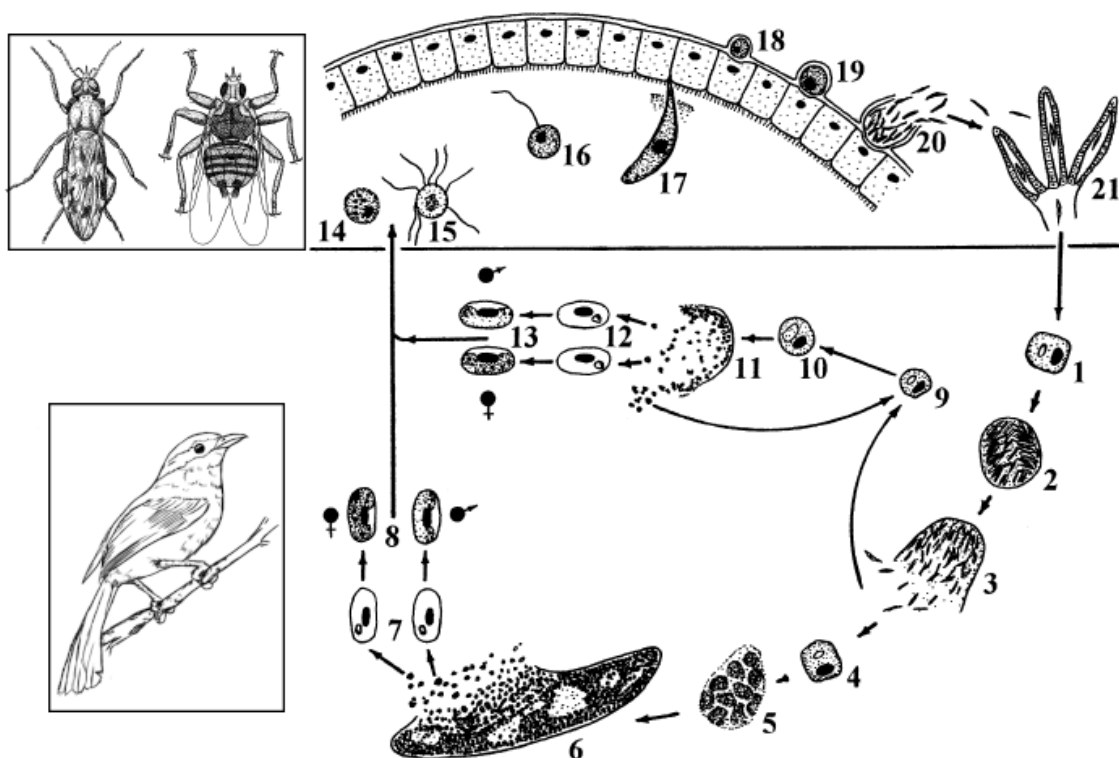
A merogonia eritrocítica forma merontes nas células sanguíneas, chamados trofozoítos. A quantidade de citoplasma e o tamanho do núcleo aumentam com o crescimento do parasita e, posteriormente, aparecem grânulos de pigmento malárico (hemozoína). Os trofozoítos, juntamente com as células sanguíneas que parasitam, mais tarde se rompem liberando merozoítos que podem continuar a merogonia eritrocítica, induzir a produção de gametócitos nas células sanguíneas, infectar as células endoteliais para iniciar a merogonia exoeritrocítica secundária levando a apresentação de sinais clínicos em hospedeiros sintomáticos (VALKIŪNAS, 2005).

Na merogonia exoeritrocítica secundária, as células endoteliais são infectadas por merozoítos liberados por metacriptozoítos (merogonia exoeritrocítica primária) ou trofozoítas (merogonia eritrocítica). Os merontes chamados fanerozoítos são formados nas células endoteliais de vários órgãos e liberam merozoítos que infectam as células sanguíneas, continuando a merogonia eritrocitária ou formando gametócitos. A merogonia exoeritrocítica e eritrocítica secundária mantêm os níveis de parasitas durante infecções crônicas. Os gametócitos formados por merogonia exoeritrocítica ou eritrocítica são absorvidos por mosquitos por meio do repasto sanguíneo e em seguida ocorre a formação de gametas. O período de tempo entre a infecção de esporozoítos em um hospedeiro aviário e a produção de gametócitos pode ocorrer em até sete dias para este gênero (VALKIŪNAS, 2005).

### 1.5.2 *Haemoproteus* spp.

O ciclo de vida do gênero *Haemoproteus* (**Figura 5**) segue o padrão dos hemosporídeos em geral. Vetores do gênero *Culicoides* ou moscas da família Hippoboscidae infectadas com parasitas hemosporídeos inoculam formas esporozoítas que migram para a corrente sanguínea do hospedeiro e se inicia a merogonia. A merogonia começa primeiro fora dos eritrócitos (exoeritrocítica) nas células endoteliais e macrófagos da ave. Os merontes iniciais são formados com mais frequência nos pulmões e menos frequentemente em outros órgãos, como fígado, baço, coração e músculo esquelético. Em seguida, ocorre pelo menos duas gerações de merogonia exoeritrocítica, sendo a primeira responsável pela produção de merozoítos que infectam células teciduais e células reticulares do baço e a segunda geração produz merozoítos que infectam células sanguíneas (VALKIŪNAS, 2005).

A primeira geração é responsável por manter o status de infecção crônica de *Haemoproteus* no animal. Já a segunda geração produz merontes no baço e em algumas espécies de *Haemoproteus* há a produção de megalomerontes no músculo esquelético, os quais produzem merozoítos que penetram nos eritrócitos levando a produção de gametócitos. Os gametócitos são ingeridos por vetores por meio do repasto sanguíneo. O período de tempo entre a inoculação de esporozoítas em um hospedeiro aviário e a produção de gametócitos pode variar no período de 11 a 21 dias para este gênero (VALKIŪNAS, 2005).

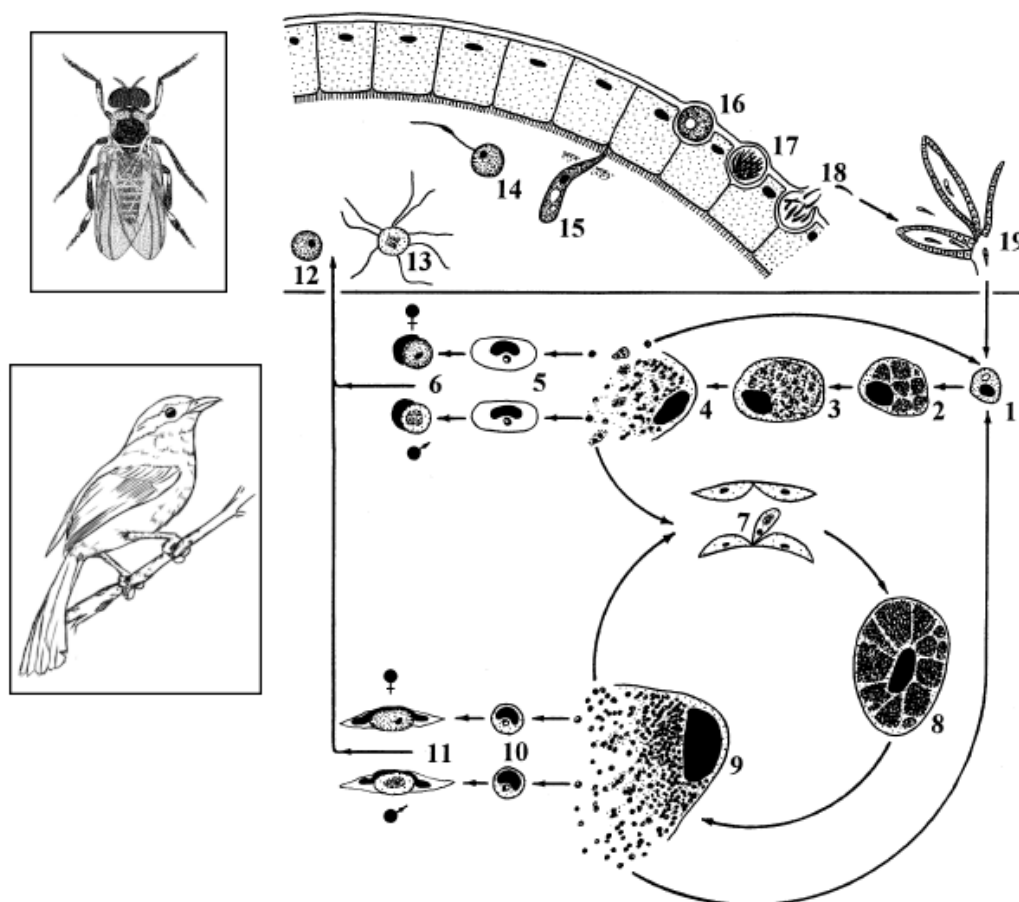


**Figura 5.** Representação esquemática do ciclo de vida de *Haemoproteus* de aves. Parte superior, no vetor, parte inferior, na ave: **1** - esporozióto em célula endotelial; **2,3** - merontes exoeritrocíticos de primeira geração com merozoítos alongados; **4** - merozoítos em células endoteliais; **5,6** - megalomerontes em crescimento e maduros nos músculos esqueléticos, respectivamente; **7** - merozoítos nos eritrócitos; **8** - gametócitos maduros; **9** - merozoítos na célula reticuloendotelial no baço; **10,11** - merontes em crescimento e maduros no baço, respectivamente; **12** - merozoítos em eritrócitos; **13** - gametócitos maduros; **14** - macrogametas; **15** - exflagelação de microgametas; **16** - fertilização do macrogameta; **17** - oocineto penetrando na membrana peritrófica (intestino); **18** - oocisto jovem; **19, 20** - esporogonia; **21** - esporoziótos nas glândulas salivares do vetor (Adaptado de VALKIŪNAS, 2005).

### 1.5.3 *Leucocytozoon* spp.

O ciclo de vida dos hemoparasitas do gênero *Leucocytozoon* é único dentre os hemosporídeos, e é caracterizado pela capacidade de formação e desenvolvimento de gametócitos em eritrócitos, leucócitos e trombócitos (ZHAO *et al.*, 2015) (**Figura 6**). Por meio do repasto sanguíneo, os simuliídeos (Diptera: Simuliidae) infectados com o parasita inoculam formas esporozoítas na corrente sanguínea iniciando a merogonia nas células do fígado da ave. Os esporozoítos penetram gradualmente nos hepatócitos formando merontes. À medida que esses merontes hepáticos aumentam de tamanho, liberam merozoítos na corrente sanguínea e, eventualmente, se separam em fragmentos chamados sincícios. Os merozoítos infectarão os glóbulos vermelhos levando à formação de gametócitos. Os sincícios também entram na corrente sanguínea movendo-se para vários órgãos onde são fagocitados por macrófagos para dar origem à segunda fase da merogonia. Grandes merontes (megalomerontes) são formados geralmente no baço e liberam merozoítos que infectam leucócitos formando grandes gametócitos fusiformes. Qualquer tipo de gametócito é absorvido pelos vetores simuliídeos por meio da alimentação, e assim, dando continuidade ao ciclo de vida do parasita, pela produção dos gametas. Os gametócitos e todas as outras fases de desenvolvimento não possuem pigmento malárico (hemozoína). Em geral, o período da injeção de esporozoítos até a produção de gametócitos é de 8 a 10 dias para este gênero (VALKIŪNAS, 2005).





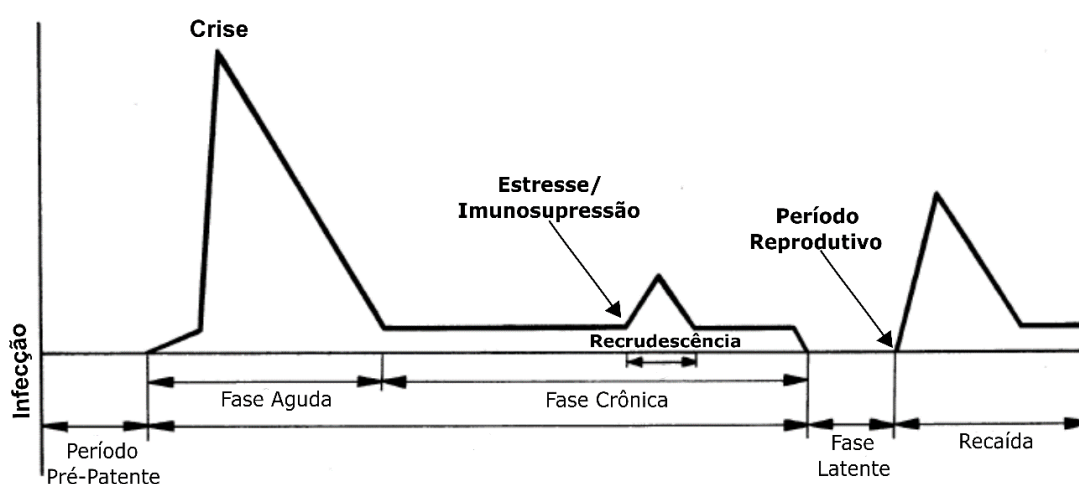
**Figura 6.** Representação esquemática do ciclo de vida do gênero *Leucocytozoon*. Parte superior, no vetor, parte inferior, na ave: **1-** esporozoítos ou merozoítos na célula do fígado (hepatócito); **2 a 4-** merontes hepáticos; **5-** merozoítos em eritrócitos; **6-** gametócitos em eritrócitos; **7-** sincício (fragmento de meronte hepático com dois ou mais núcleos) ou merozoítos em macrófago; **8, 9-** megalomerontes; **10-** merozoítos em leucócitos; **11-** gametócitos em leucócitos fusiformes; **12-** macrogameta; **13-** exflagelação de microgametas; **14-** fertilização do macrogameta; **15-** oocineto penetrando na membrana peritrófica; **16-** oocisto jovem; **17, 18-** esporogonia; **19-** esporozoítos nas glândulas salivares do vetor (Adaptado de VALKIŪNAS, 2005).

## 1.6 Aspectos Fisiológicos e Sinais clínicos

A infecção por hemosporídeos em aves apresenta uma fase crônica ou latente de infecção, na qual a resposta imune do animal leva a uma redução da parasitemia a níveis muito baixos e as aves sobreviventes apresentam sinais reduzidos de infecção, como é demonstrado na **Figura 7**.

O período de infecção é quando um número aumentado de parasitas está presente no sangue de aves infectadas (fase aguda da parasitemia inicial), e pode variar de uma a várias semanas e ocasionalmente até meses, dependendo de vários fatores como: espécie e linhagem do parasita e espécie do hospedeiro vertebrado. Mais tarde, ocorre uma diminuição da parasitemia nas aves sobreviventes e a parasitemia se transforma em estágio crônico, cuja duração também varia significativamente. Durante este período, apenas alguns parasitas são encontrados no sangue periférico. Uma queda na imunidade do animal durante o estágio crônico da parasitemia (estresse crônico, outras doenças, período migratório e reprodutivo) frequentemente leva a um aumento de curto prazo no número de parasitas no sangue (recrudescência) (VALKIŪNAS, 2005).

A fase crônica da infecção é frequentemente seguida pelo estágio latente da infecção, quando os parasitas desaparecem completamente do sangue periférico. Neste caso, os parasitas hemospóridios geralmente persistem nos órgãos internos. As recaídas levam à parasitemia secundária. Vale ressaltar que as recidivas da infecção são sincronizadas com o período reprodutivo das aves, o que é importante para a infecção da prole e manutenção do parasita na natureza (VALKIŪNAS, 2005).



**Figura 7.** Representação esquemática da dinâmica da parasitemia de parasitas hemospóridios em aves. Adaptado de (VALKIŪNAS, 2005).

Aves silvestres são acometidas principalmente por infecções crônicas, onde é difícil a detecção desses parasitas através do exame de esfregaços sanguíneos, a menos que ocorra uma reativação da infecção, controlada por fatores ambientais, relacionando a resposta imune do hospedeiro e o estresse fisiológico (ATKINSON; VAN RIPER III, 1991).

As aves infectadas podem apresentar os seguintes sinais clínicos: prostração, redução do volume de eritrócitos no sangue caracterizado por anemia, ausência de apetite, anorexia, esplenomegalia, fezes esverdeadas, sinais de dor, como letargia, abatimento, febre, penas eriçadas, alterações digestivas e neurológicas e em casos de alta parasitemia, pode levar o animal à morte (ATKINSON; THOMAS; HUNTER, 2008). Segundo Valkiūnas (2005), a patologia da malária aviária e hemosporídeos relacionados é bem conhecida entre aves domésticas e de avicultura, com manifestações distintas em aves silvestres, devido ao processo de coevolução parasita-hospedeiro. Por consequência, em aves silvestres infectadas por hemosporídeos não apresentam os mesmos sinais clínicos, sendo necessários estudos mais aprofundados acerca do entendimento da patologia nas aves.

### **1.7 Diagnóstico Morfológico**

O diagnóstico para a presença de hemosporídeos é geralmente feito por observação de esfregaços sanguíneos, exigindo experiência em preparar, corar e examinar as lâminas. O exame de esfregaços sanguíneos é uma maneira eficaz de identificação e quantificação desses parasitas, determinando a carga parasitária, estimativa da prevalência, intensidade de infecção e a identificação morfológica dos estágios eritrocíticos dos hemoparasitas (trofozoítos, esquizontes e gametócitos). A detecção é feita pela observação de um determinado número de campos microscópicos, fornecendo uma estimativa aproximada do número de parasitas (VALKIŪNAS *et al.*, 2008). Contudo, a experiência necessária para a leitura de esfregaços sanguíneos leva tempo para se desenvolver. A detecção e identificação desses parasitas, principalmente durante as fases crônica ou latente, onde se encontram a maioria das aves

infectadas, é dificultada, já que nessas fases a parasitemia encontra-se bastante reduzida na circulação (JARVI; SCHULTZ; ATKINSON, 2002; WALDENSTRÖM *et al.*, 2004).

## 1.8 Diagnóstico Molecular

A técnica de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) consiste na amplificação de um ou mais fragmentos de um segmento de DNA e utiliza o conhecimento das sequências de nucleotídeos para detecção específica de diferentes linhagens de parasitas. Sendo assim, fornece diagnósticos que apresentam especificidade, confiabilidade e rapidez, mesmo quando uma determinada amostra apresenta níveis de parasitismo baixos ou infecção por mais de uma espécie ou linhagem de parasita (HENNING; FELGER; BECK, 1999).

Alguns estudos demonstram que a técnica de PCR é mais sensível do que a análise microscópica de esfregaços sanguíneos (JARVI; SCHULTZ; ATKINSON, 2002; RIBEIRO *et al.*, 2005). Contudo, técnicas moleculares aliadas à observação microscópica de esfregaços sanguíneos, é recomendada por pesquisadores da área, pois a análise microscópica possibilita a identificação de características morfológicas de estágios distintos do ciclo de vida dos parasitas, o que é um parâmetro importante para identificação e caracterização precisa dos hemosporídeos aviários (GARAMSZEGI, 2010; RIBEIRO *et al.*, 2005; VALKIŪNAS *et al.*, 2008).

Diferentes genes alvos podem ser utilizados na identificação molecular dos hemoparasitas. O primeiro protocolo de PCR descrito tinha como alvo sequências da subunidade menor do gene ribossomal (*rRNA*) (FELDMAN; FREED; CANN, 1995), porém este gene era efetivo apenas para um pequeno grupo de espécies de *Plasmodium* (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009). O gene mitocondrial do citocromo *b* (*cytb*) é o mais utilizado atualmente, por apresentar regiões conservadas para elaboração de “*primers*”, sendo adequado para detectar e identificar de forma precisa as linhagens desses parasitas (BENSCH *et al.*, 2004; LI *et al.*, 1995; WALDENSTRÖM *et al.*, 2004).

Os protocolos de PCR desenvolvidos inicialmente por (BENSCH *et al.*, 2000), e modificado por (HELLGREN; WALDENSTRÖM; BENSCH, 2004; WALDENSTRÖM *et al.*, 2004) ainda são amplamente utilizados hoje. Eles se baseiam no uso de duas ampliações de PCR nested de um fragmento de 479 pb do gene do *cytb*, sendo utilizado um par de primers para a PCR nested para os gêneros *Plasmodium/ Haemoproteus* (BENSCH. *et al.*, 2000; WALDENSTRÖM *et al.*, 2004) e um par separado para *Leucocytozoon* (HELLGREN; WALDENSTRÖM; BENSCH, 2004).

Em 2009 foi desenvolvido o MalAvi (*Avian Malaria Initiative*) (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009) um banco de dados que agrupa parasitas hemosporídeos de aves disponibilizado online (<http://mbioserv2.mbioekol.lu.se/Malavi/index.html>). Foi criado no intuito de centralizar e padronizar as informações em relação às sequências de DNA, linhagens descritas, localização geográfica da amostra e informações das aves hospedeiras (CLARK; CLEGG; LIMA, 2014), e vêm sendo utilizado de forma ampla por diferentes grupos de pesquisa (DURRANT *et al.*, 2006; LACORTE *et al.*, 2013; MOTTA *et al.*, 2013; SILVEIRA *et al.*, 2013), permitindo o desenvolvimento de marcadores moleculares e seu uso como *DNA barcoding* (código de barras de DNA). Essas técnicas auxiliam o diagnóstico das infecções naturais, principalmente de baixas parasitemias, que apresentam dificuldade na identificação morfológica das espécies de parasitas através somente das características morfológicas.

A análise microscópica aliada à técnica de PCR é essencial para a correta identificação da presença de hemosporídeos em aves, visto que em amostras que apresentam infecção mista, os protocolos de PCR tendem a favorecer a amplificação de sequências do parasita com parasitemias mais altas (CHAGAS *et al.*, 2013) ou a amplificação da sequência com melhor afinidade com os *primers* (BERNOTIENÉ *et al.*, 2016; ZEHTINDJIEV *et al.*, 2012).

Além disso, a confirmação molecular de infecções mistas ainda representa um desafio para os pesquisadores da área, sinalizando para a necessidade de utilização de diferentes *primers* e alvos, para amplificar todas as sequências gênicas envolvidas nas infecções (BERNOTIENÉ *et al.*, 2016).

## 1.9 Diversidade de Hemosporídeos

De acordo com dados extraídos do Banco de Dados MalAvi (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ-TRIS, 2009), atualmente estão descritas 1.276 linhagens para os gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* na América do Sul. *Plasmodium* possui 613 linhagens descritas, com 21 identificadas até espécie e 12 espécies descritas (*Plasmodium cathemerium*, *P. elongatum*, *P. gallinaceum*, *P. homocircumflexum*, *P. homopolare*, *P. lutzi*, *P. nucleophilum*, *P. paranucleophilum*, *P. relictum*, *P. tejeraei*, *P. unalis*, *P. vaughani*). O gênero *Haemoproteus* possui um número de linhagens descritas maior, contando com 411 linhagens descritas, com 36 identificadas à nível de espécie e 16 espécies descritas (*Haemoproteus asymmetricus*, *H. coatneyi*, *H. columbae*, *H. erythrogravidus*, *H. homohandai*, *H. iwa*, *H. jenniae*, *H. macrovacuolatus*, *H. minutus*, *H. multipigmentatus*, *H. ortalidum*, *H. paramultipigmentatus*, *H. paraortalidum*, *H. paruli*, *H. vireonis*, *H. witti*). Já para o gênero *Leucocytozoon*, há atualmente 252 linhagens descritas, das quais 8 estão identificadas até espécie (*Leucocytozoon fringillinarum*, *L. grallariae*, *L. neotropicalis*, *L. quynzae*).

Já no Brasil, há um total de 1.625 ocorrências para hemosporídeos e atualmente descritas 625 linhagens. *Plasmodium* tem registro de 424 linhagens, e 9 espécies (*P. homocircumflexum*, *P. nucleophilum*, *P. gallinaceum*, *P. relictum*, *P. elongatum*, *P. paranucleophilum*, *P. tejeraei*, *P. vaughani*, *P. unalis*). *Haemoproteus* tem registro de 181 linhagens e 11 espécies (*H. multipigmentatus*, *H. columbae*, *H. paramultipigmentatus*, *H. jenniae*, *H. macrovacuolatus*, *H. coatneyi*, *H. ortalidum*, *H. paraortalidum*, *H. vireonis*, *H. erythrogravidus*). *Leucocytozoon* têm registro de 20 linhagens e sem descrição de espécie (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009).

Um estudo molecular recente (FECCHIO; CLARK; *et al.*, 2021), mostrou uma prevalência maior do gênero *Plasmodium* comparado com *Haemoproteus* (subgêneros *Haemoproteus* e *Parahaemoproteus*) dentre as 18 comunidades de aves pesquisadas na região de Mata Atlântica. Esse resultado pode ser explicado devido a mudanças antrópicas na cobertura florestal e essas mudanças podem afetar ativamente a abundância dos vetores, levando a uma

maior prevalência de *Plasmodium*, visto que, a redução da cobertura florestal pode levar à remoção dos criadouros naturais (bromélias) de mosquitos encontrados na Mata Atlântica intocada. Isso, por sua vez, pode promover a dispersão dos mosquitos de ambientes naturais para antrópicos, alterando assim a estratificação do mosquito em todo o ambiente modificado (OLIVEIRA-CHRISTE *et al.*, 2020).

Essas mudanças na diversidade de hospedeiros aviários e na diversidade funcional do hospedeiro devido a impactos antropogênicos podem ser responsáveis por mudanças na composição e diversidade das linhagens de *Plasmodium*. Isso reforça a conclusão geral de que a transformação antropogênica de paisagens naturais pode perturbar um sistema parasita-hospedeiro e levar a um aumento das taxas de infecção de patógenos transmitidos por vetores (FECCHIO; CLARK; *et al.*, 2021).

Já na Região Amazônica, a falta de descrição sobre infecções por *Haemoproteus* é explicada pela baixa prevalência de hemosporídeos na área, associada ao conhecimento de que as infecções por *Plasmodium* foram significativamente mais frequentes do que por *Haemoproteus* em estudos nessa região (FECCHIO; PINHEIRO; *et al.*, 2018).

Autores de um estudo publicado na década de 80 concluíram, com base em dados obtidos do Brasil, e em uma comparação entre três regiões (Neotropical, Neártica e Sudeste Asiático) que *Leucocytozoon* estava praticamente ausente no Brasil e raro na região Neotropical (BENNETT; LOPES, 1980). Porém, um estudo publicado por Fecchio, 2018 mostrou achados de positividade (5 de 90 indivíduos) de uma mesma população de uirapuru-de-chapéu-azul (*Lepidothrix coronata*) na Amazônia central infectada com *Leucocytozoon*. Sendo essas as únicas infecções por *Leucocytozoon* conhecidas fora da Mata Atlântica no Brasil (FECCHIO; SILVEIRA; *et al.*, 2018). Concluindo que, embora extremamente raro, o gênero *Leucocytozoon* ocorre fora da Mata Atlântica, pelo menos no bioma amazônico. Entretanto, os fatores que causam a escassez de *Leucocytozoon* em todo o Brasil ainda não são bem compreendidos (FECCHIO; SILVEIRA; *et al.*, 2018).

Atualmente, o banco de dados MalAvi conta com 171 linhagens de hemosporídeos descritas no bioma de Mata Atlântica, recuperados de mais de

33 mil espécimes aviários (BUENO *et al.*, 2010; CHAGAS *et al.*, 2017, 2016; DE LA TORRE *et al.*, 2020; DOUSSANG *et al.*, 2019; FECCHIO *et al.*, 2020; FECCHIO; BELL; *et al.*, 2019; FECCHIO; WELLS; *et al.*, 2019; FECCHIO; RIBEIRO; *et al.*, 2021; LACORTE *et al.*, 2013; MARZAL *et al.*, 2011; MOREL *et al.*, 2021; MOTTA *et al.*, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2020; TOSTES *et al.*, 2018, 2017; VANSTREELS *et al.*, 2015; VANSTREELS *et al.*, 2019; VANSTREELS *et al.*, 2020) e 379 linhagens registradas no bioma Amazônico, de mais de 29 mil espécimes de aves (BOSHOLN *et al.*, 2016; FECCHIO; SILVEIRA; *et al.*, 2018; FECCHIO; PINHEIRO; *et al.*, 2018; FECCHIO; BELL; *et al.*, 2019; FECCHIO; WELLS; *et al.*, 2019; FECCHIO; BELL; *et al.*, 2018; FECCHIO; RIBEIRO; *et al.*, 2021; FECCHIO; SVENSSON-COELHO; *et al.*, 2017; ROOS *et al.*, 2015; SILVEIRA *et al.*, 2013; VILLAR *et al.*, 2013). Dados recuperados de estudos publicados em 2010 a 2021.

### **1.10 Relação entre migração e transmissão de hemossporídeos**

As aves são hospedeiros altamente móveis, com milhões de indivíduos migrando grandes distâncias anualmente entre locais de reprodução e invernada. Este comportamento migratório também pode modificar a disponibilidade de hospedeiros para parasitas entre as regiões, uma vez que os indivíduos migrantes não residem no mesmo habitat durante o ano todo (BAUER; HOYE, 2014).

Além disso, as demandas metabólicas da migração, como o alto gasto de energia, podem ocasionar uma diminuição da quantidade de recursos disponíveis para o animal gerar uma resposta imune, o que pode levar a taxas mais elevadas de infecção (ALTIZER; BARTEL; HAN, 2011; WIKELSKI *et al.*, 2003). Portanto, pode-se esperar que as aves migratórias abriguem uma gama mais diversificada de parasitas e possam ser mais propensas a infecções (DE ANGELI DUTRA *et al.*, 2021; WALDENSTROM *et al.*, 2002). Em contrapartida, há a proposição que a migração das aves evoluiu em parte como uma estratégia para escapar do parasitismo (ALTIZER; BARTEL; HAN, 2011; MØLLER; SZÉP, 2011). As aves migrantes possuem uma capacidade de resposta evoluída para



lidar com uma grande diversidade de parasitas em comparação com as espécies residentes. Por exemplo, a associação de hospedeiros durante a migração (locais de escala) ou em locais de invernada expõe esses indivíduos a um risco maior de infecção e transmissão (KRAUSS *et al.*, 2010) em comparação com espécies de aves residentes (LOEHLE, 1995; MØLLER; ERRITZØE, 1998).

Com base em vários estudos sobre hemosporídeos aviários em regiões temperadas, sugere-se que aves migratórias adquirem infecções durante a época de reprodução na zona temperada. Tanto a migração quanto a reprodução são fisiologicamente estressantes, o que leva a uma supressão do sistema imunológico que pode desencadear recaídas de infecções crônicas (BEAUDOIN *et al.*, 1971; COSGROVE *et al.*, 2008; SHELDON; VERHULST, 1996; VALKIŪNAS, 2005),

Parasitas que apresentam alta especificidade de hospedeiros são naturalmente limitados na capacidade de infecção de novos hospedeiros em comparação com parasitas mais generalistas. No entanto, possuir relações filogenéticas mais próximas entre os hospedeiros pode aumentar a probabilidade de que os parasitas sejam compartilhados entre diferentes comunidades aviárias (HUANG *et al.*, 2018).

Sendo assim, a migração e a reprodução das aves devem coincidir com a emergência do vetor a fim de manter a dinâmica da infecção (ou seja, a circulação de parasitas nas comunidades de hospedeiros locais). Como os hemosporídeos só podem ser transmitidos quando estão presentes no sangue em um estágio infeccioso (ou seja, gametócitos maduros), a biologia do parasita desempenha um papel significativo em uma ave migrante. O parasita deve ser capaz de desenvolver estratégias que facilitem a transmissão durante todo o ano em uma espécie migrante nos locais de reprodução, invernada e trânsito (ISHTIAQ; RENNER, 2020)

Na Região Neotropical, Pulgarin e colaboradores exploraram dispersão de parasitas entre continentes em uma espécie aviária migrante de longa distância (*Catharus minimus*), ao longo de seu ciclo anual (reprodução, migração e invernada). Este estudo destacou a presença de (gametócitos) no sangue da ave durante a migração da primavera em locais de escala; no entanto, essas linhagens não foram encontradas em aves residentes, sugerindo uma possível

recaída da infecção desses animais infectados, levando a um aumento da parasitemia (PULGARÍN- R *et al.*, 2019).

Em geral, a prevalência de hemosporídeos é específica da linhagem e varia significativamente ao longo do ciclo de migração – são observados padrões de picos de infecção na primavera e no outono, seguidos por diminuições acentuadas da prevalência durante os invernos (HELLGREN *et al.*, 2013; PULGARÍN *et al.*, 2019; SANTIAGO-ALARCON *et al.*, 2011). Essas descobertas destacam que diferentes linhagens de parasitas desenvolveram diferentes estratégias de transmissão, que por sua vez são influenciadas pela presença de espécies de vetores compatíveis. Assim, a incompatibilidade na emergência do vetor e o tempo nos locais de escala também podem levar à ausência de linhagens de parasitas compartilhadas entre aves migrantes e residentes (HALL; BROWN; ALTIZER, 2016; PULGARÍN- R *et al.*, 2019).

### **1.11 Efeitos da Insularização em aves**

O isolamento em ilhas, não apenas em ilhas oceânicas, como também ilhas geradas por efeitos antrópicos, pode ter um efeito profundo na ecologia das populações e comunidades que ali habitam (BEGON; TOWNSEND; MELO, 2007), principalmente as aviárias (BICUDO *et al.*, 2020). Em paisagens que apresentam níveis de fragmentação, a área do fragmento é um dos principais fatores que influenciam tanto riqueza de espécies, como a abundância populacional e a composição da comunidade (FAHRIG, 2017; MACARTHUR; WILSON, 1963). A ocorrência e sobrevivência de espécies provavelmente é influenciada pelo nível de fragmentação do habitat, e em espécies sensíveis pode haver um declínio ou até mesmo extinção em pequenos fragmentos de ilha (DARDANELLI *et al.*, 2006).

A construção de barragens hidroelétricas pode induzir, por meio da inundação da área florestal, a formação de pequenas ilhas que apresentam altos níveis de fragmentação (BENCHIMOL; PERES, 2015; LEES *et al.*, 2016). Esta alteração no habitat natural pode atuar como uma barreira, dificultando a movimentação de aves que apresentam baixa habilidade de voo para longas

distâncias, influenciando ativamente na dinâmica de colonização desses animais nessa área (AURÉLIO-SILVA *et al.*, 2016; BUENO; PERES, 2019), e em fragmentos menores esta alteração pode levar até mesmo à extinção de comunidades de aves (AURÉLIO-SILVA *et al.*, 2016; WOLFE *et al.*, 2015). Aves que habitam esse tipo de paisagens fragmentadas, podem apresentar altos níveis de estresse ambiental causados pelo uso de habitats subótimos (MOKROSS *et al.*, 2018), ou seja, habitats que possuem menos recursos alimentares, constituem abrigos menos seguros contra predação e menor disponibilidade de alimentos induzida por efeitos de borda (ZANETTE; DOYLE; TRÉMONT, 2000). Sendo assim, os estresses ambientais podem ser descritos como um conjunto de fatores que desencadeiam respostas metabólicas e de comportamento, influenciando negativamente o crescimento populacional de comunidades aviárias e podem também elevar a susceptibilidade de infecção por parasitas, devido à imunossupressão desses indivíduos (BICUDO *et al.*, 2020; COCKREM, 2013, 2007; WINGFIELD, 2002).

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como principal objetivo, identificar e classificar linhagens e espécies de hemosporídeos dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* por microscopia e DNA *barcoding* em amostras de aves silvestres de diferentes biomas do Brasil (Mata Atlântica, Amazônia e uma área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica).

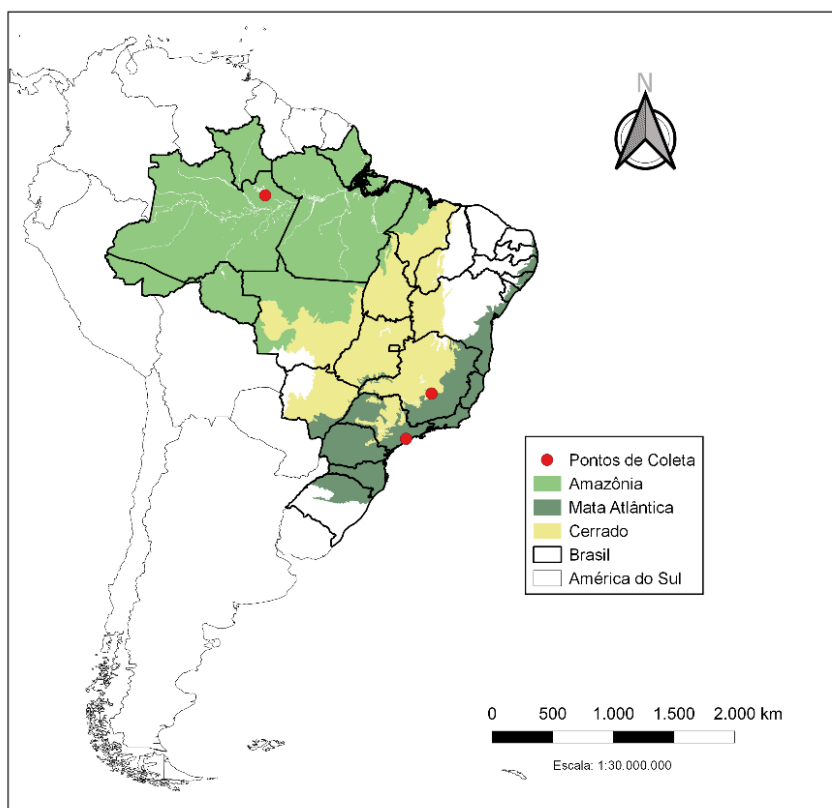
### 2.2 Objetivos Específicos

- Detectar por meio de técnicas microscópicas e moleculares a presença de hemosporídeos em amostras de aves silvestres;
- Realizar análise filogenética com as sequências obtidas;
- Determinar a distribuição geográfica de linhagens e espécies de hemosporídeos identificadas;
- Comparar a prevalência de hemosporídeos em diferentes biomas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostras utilizadas neste estudo

Neste estudo foram utilizadas amostras coletadas de diferentes espécies de aves pertencentes aos biomas da Amazônia, Mata Atlântica e uma área de transição entre Cerrado e Mata Atlântica (**Figura 8**).



**Figura 8.** Pontos de coleta das aves amostradas neste estudo localizados nos respectivos Biomas brasileiros.

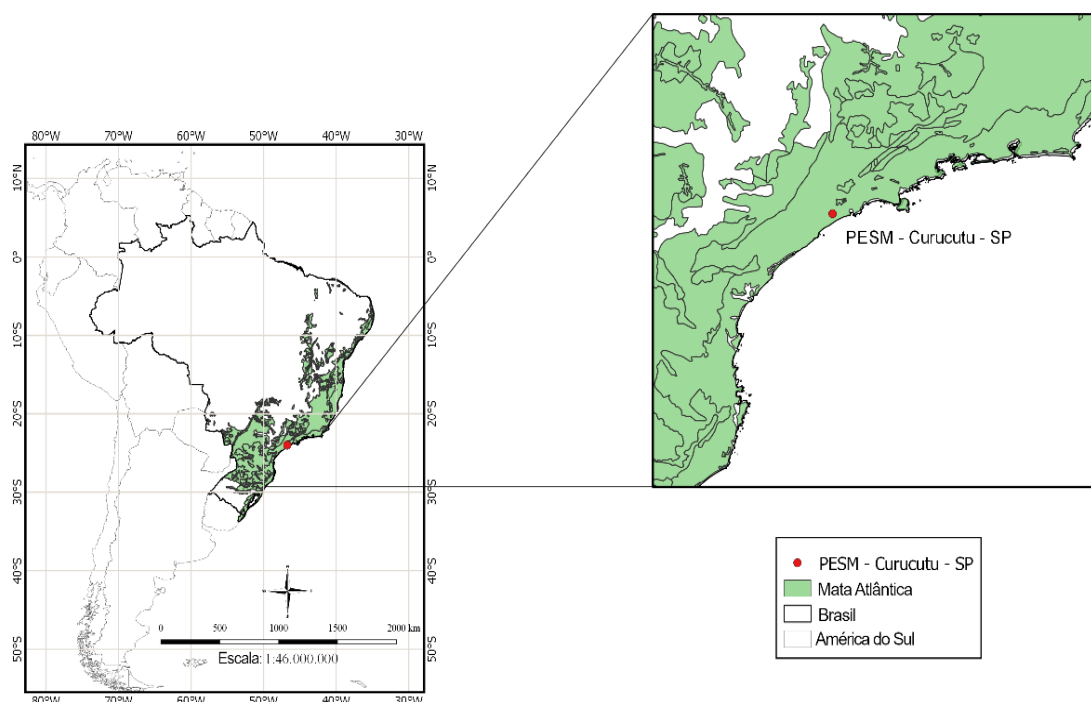
##### 3.1.1 Amostras do PESH Núcleo Curucutu – SP

A primeira parte do estudo foi realizada no Núcleo Curucutu, localizado no Parque Estadual Serra do Mar – PESH (23°59'08.6"S, 46°44'33.9"O, 794 m a.s.l), em um remanescente de Mata Atlântica (**Figura 9**), em colaboração com o Dr. Alan Fecchio, da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT).

Localizada no bioma da Mata Atlântica, a Serra do Mar se destaca como importante área de endemismo sul-americano e prioridade para a conservação das espécies endêmicas e ameaçadas deste bioma (SCHUNCK; SILVEIRA; NASCIMENTO, 2020). O PESM localizado no Estado de São Paulo é considerado a maior área de Mata Atlântica preservada no Brasil, porém é uma das regiões ornitologicamente menos conhecidas no Sudeste brasileiro (SCHUNCK; SILVEIRA; NASCIMENTO, 2020). O PESM é uma reserva florestal criada em 1977 que atualmente engloba 332.290 hectares divididos em 10 centros administrativos independentes (sub-regiões nomeadas “núcleos”) (SECRETARIA DE INFRAESTRUTURA E MEIO AMBIENTE, 2020). O Parque Estadual da Serra do Mar é considerado a maior área protegida no estado de São Paulo e uma das maiores áreas protegidas de Mata Atlântica no Brasil (FUNDAÇÃO FLORESTAL, 2020).

O Núcleo Curucutu, localizado dentro do PESM, ocupa uma área de 36.134 ha, e é uma das regiões ornitológicas mais conhecidas do Sudeste do Brasil sendo descritas 382 espécies de aves. Há registro de 124 espécies de aves endêmicas da Mata Atlântica neste local, sendo 38 espécies de hábitos migratórios e 24 ameaçadas de extinção. Esta área florestal abriga aves migratórias de diversos países americanos e também de outras regiões do Brasil (SCHUNCK; SILVEIRA; NASCIMENTO, 2020).

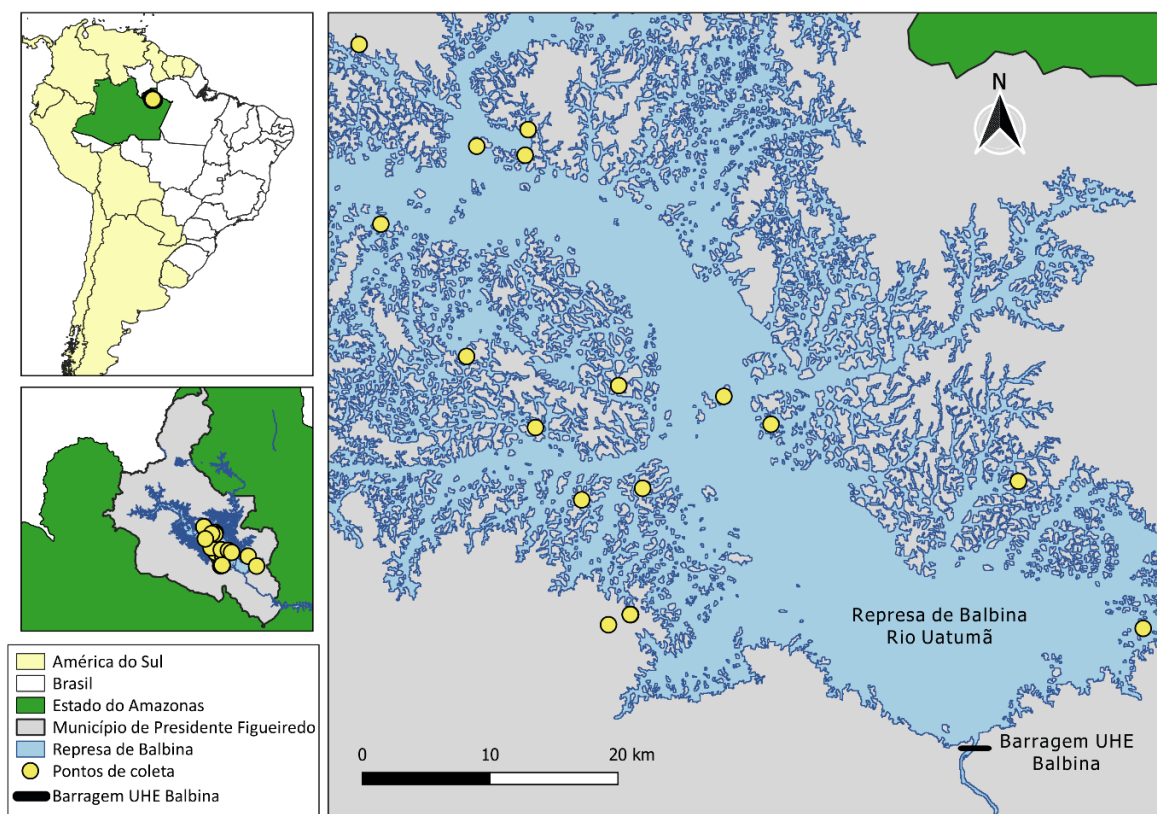
Todas as aves (n= 399) foram capturadas com rede de neblina entre 2016 e 2019, no final do verão dos respectivos anos de coleta. De cada indivíduo, aproximadamente 10 µl de sangue foram coletados da veia braquial e armazenados em cartões FTA® Whatman® (Whatman, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Alemanha). Para as 135 amostras de aves coletadas em 2019, também foram preparados um ou dois esfregaços sanguíneos.



**Figura 9.** Ponto de coleta do Núcleo Curucutu localizado no bioma da Mata Atlântica, Brasil. O ponto vermelho representa a coordenada geográfica central.

### 3.1.2 Amostras de Balbina – AM

A segunda parte do estudo foi realizada em uma área do lago da Hidrelétrica de Balbina ( $1^{\circ}54'56,7''$  S,  $59^{\circ}28'25''$  O, 38 m a.s.l.), em ilhas de vegetação fragmentada de floresta amazônica (**Figura 10**), em colaboração com o Dr. Thiago Bicudo, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Todas as aves ( $n=445$ ) foram capturadas com rede de neblina entre os anos de 2016 e 2017, do final do verão ao começo da primavera dos respectivos anos. De cada indivíduo foram coletados aproximadamente  $10\ \mu\text{L}$  de sangue da veia braquial e o coágulo armazenado em Etanol 95%.



**Figura 10.** Distribuição espacial dos pontos de coleta amostrados na área da Hidrelétrica de Balbina, Presidente Figueiredo - AM, Brasil.

### 3.1.3 Amostras de Florestal – MG

A cidade de Florestal está localizada no Estado de Minas Gerais em uma área de transição entre os biomas de Mata Atlântica e Cerrado. Segundo o mapa de biomas do Brasil (IBGE, 2019), o Cerrado abrange cerca de 54% da extensão territorial do município, e a Mata Atlântica ocupa cerca de 40% da área do município.

Foram analisadas 55 amostras da espécie *Sporophila lineola* (31 amostras armazenadas em Etanol 95% coletadas em 2018 e 24 amostras armazenadas em cartões FTA®Whatman® coletadas em 2019) em colaboração com o Dr. Leonardo Lopes da Universidade Federal de Viçosa – MG.



## 3.2 Análise microscópica

Os esfregaços sanguíneos das amostras coletadas no PESH Curucutu foram fixados com metanol 100% no mesmo dia da coleta e corados com solução de Giemsa 10%, em até 30 dias após as coletas, por 1h (VALKIŪNAS, 2005). Esfregaços sanguíneos foram analisados microscopicamente por aproximadamente 20-25 min, visualizando 100 campos em baixa ampliação (400X) e 100 campos em alta ampliação (1000X) (VALKIŪNAS, 2005), usando um microscópio de luz *Leica*® DM3000LED. A identificação morfológica das espécies de parasitas foi realizada de acordo com (VALKIŪNAS, 2005) e (VALKIŪNAS; IEZHOVA, 2018).

## 3.3 Detecção Molecular

### 3.3.1 Extração de DNA

O DNA das amostras de sangue em FTA das aves do PESH Curucutu (n= 399) e Florestal – MG (n= 24) foi extraído com o kit *Wizard*® SV 96 *Genomic DNA Purification System* (Promega, Madison, WI, EUA) com modificações. Os cartões FTA com 10 µL de sangue foram incubados com *Whole Blood Lysis Buffer* (400 µL) por 15 min em *shaker* a 90° C. A lise inicial foi completada com Proteinase K e incubada “*overnight*” em um *shaker* a 37° C.

Já o DNA armazenado em Etanol 95% proveniente das amostras de Balbina – AM (n= 445) e Florestal – MG (n=31), foi extraído usando o kit *Qiagen DNeasy 96 Blood and Tissue* (Qiagen, Valencia, CA), seguindo o protocolo Qiagen para sangue em etanol 95%.

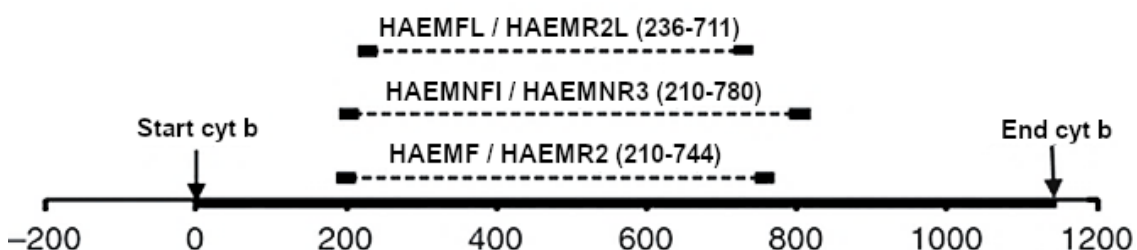
Em seguida, para ambos os protocolos de extração, os lisados foram transferidos para colunas e lavados de acordo com as instruções do fabricante. O DNA foi eluído em 50 µL de Água *Nuclease-Free* e armazenado a -20° C, para uso nas etapas posteriores.

### 3.3.2 Reação de PCR para amplificação do gene *cytb* de *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*

O diagnóstico molecular para detecção de hemosporídeos foi realizado mediante uma PCR para amplificação de um fragmento de aproximadamente 500 pb do gene mitocondrial citocromo b (*cytb*), utilizando os *primers* **HaemNFI** (5'-CATATATTAAGAGAAITATGGAG-3'), sendo I= inosina (base universal) e **HaemNR3** (5'-ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC-3') (BENSCH *et al.*, 2000; WALDENSTRÖM *et al.*, 2004) com as seguintes concentrações de reagentes: 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,12 mM de dNTPs mix, 0,4 µM de cada primer, 0,5 U de taq polimerase, 2,5 µL PCR buffer 1X, 17,35 µL de H<sub>2</sub>O ultrapura e adicionado 2 µL (50 ng) de gDNA. As condições de amplificação consistiram em: desnaturação inicial de 3 minutos a 94°C, seguido por 30 ciclos de desnaturação de 94°C por 30 segundos, anelamento de 50°C por 30 segundos e extensão de 72°C por 45 segundos e, uma extensão final a 72°C durante 10 minutos. Do produto da primeira reação de PCR foi usado 1 µL de amostra como molde de DNA da segunda reação (*nested*), utilizando os *primers* **HaemF** (5'-ATGGTGCTTTCGATATATGCATG-3') e **HaemR2** (5'-GCATTATCTGGATGTGATAATGGT-3') específicos para amplificação de *Plasmodium/Haemoproteus* (BENSCH *et al.*, 2000) e os *primers* **HaemFL** (5'-ATGGTGTTTTAGATACTTACATT-3') e **HaemR2L** (5'-CATTATCTGGATGAGATAATGGGC-3') específicos para *Leucocytozoon* (HELLGREN; WALDENSTRÖM; BENSCH, 2004). Ambos os pares de *primers* (para *Plasmodium/Haemoproteus* ou *Leucocytozoon*) amplificam o fragmento interno do gene *cytb* contendo ~480 pb. As respectivas PCRs foram realizadas separadamente em volumes finais de 25 µl com as mesmas proporções de reagentes das reações iniciais de PCR modificando-se apenas o número de ciclos na amplificação de 30 para 35, assim como suas temperaturas de anelamento de 50°C para 55°C respectivamente (HELLGREN; WALDENSTRÖM; BENSCH, 2004).

Ambos os protocolos (*Plasmodium/Haemoproteus* ou *Leucocytozoon*) utilizam primers universais para amplificação do gene do parasita alvo, e as

espécies de parasitas são determinadas pela semelhança com sequências depositadas em bancos de dados como o MalAvi e GenBank. Todas as reações foram realizadas usando controles positivos (obtidos de amostras positivas em outros estudos do grupo) e negativos (H<sub>2</sub>O ultrapura). As regiões amplificadas pelos três pares de primers utilizados nesse protocolo estão ilustradas na Figura 11.



**Figura 11.** Representação esquemática dos fragmentos amplificados para o gene *cytb* utilizando diferentes pares de primers. Adaptado de (HELLGREN; WALDENSTRÖM; BENSCH, 2004).

Os produtos obtidos na reação de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% (*Invitrogen*) dissolvida em TBE 1x (Tris, Borato, EDTA). A corrida eletroforética foi efetuada utilizando um marcador molecular (1 Kb Plus *DNA Ladder*<sup>™</sup> *Invitrogen*) por aproximadamente 40 minutos a 90V. As bandas foram marcadas com GelRed<sup>™</sup> (*Biotium*) e observadas em transiluminador UV. Amostras com bandas de aproximadamente 500 pb foram consideradas positivas para presença de hemosporídeos.

### 3.4 Sequenciamento e análise filogenética

Os produtos de PCR foram submetidos a reações de sequenciamento utilizando o kit BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (*Applied Biosystems*<sup>™</sup>, Carlsbad, CA, USA) utilizando os *primers* das respectivas reações de *nested* PCR e foram analisados em equipamento multiusuário ABI PRISM® 3500 Genetic Analyser (*ABI*, USA).

As reações de sequenciamento foram realizadas com: 0,5 µL de *primer* (10 µM), 2 µL de “BigDye”, 1,0 µL de Sequencing Buffer 5X, 5,5 µL de H<sub>2</sub>O Ultrapura e 1 µL do produto de PCR. A reação foi submetida a um ciclo inicial de 1 minuto a 96°C, 30 ciclos de 15 segundos a 96°C, 15 segundos a 50°C, 4 minutos a 60°C. Ambas as fitas das sequências de *cytb* (~480 pb) foram sequenciadas, corrigidas e alinhadas no Software SeqMan (DNASTAR Lasergene versão 7.0.0) para obtenção da sequência consenso.

Em geral, os fragmentos foram sequenciados sem procedimentos prévios de purificação. Apenas para aquelas amostras que apresentaram resultados ruins nos cromatogramas, o sequenciamento foi repetido com o fragmento purificado, utilizando reagente ExoSAP-IT™ PCR Product Cleanup (Applied Biosystems™). Para cada reação foram utilizados 5µl do produto da *nested* PCR e 2µl de ExoSAP, incubando a 37°C por 30 min e então a 80°C por 15 min para inativação da enzima.

Para identificação das linhagens dos parasitas, as sequências foram verificadas com BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) contra o banco de dados MalAvi em <http://130.235.244.92/Malavi/blast.html> (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009). Dada a evidência que indica que haplótipos de hemosporídeos aviários que diferem por um nucleotídeo *cytb* podem ser entidades reprodutivamente isoladas (BENSCH *et al.*, 2004), seguimos a prática convencional de nos referirmos a cada haplótipo *cytb* único como uma linhagem única. Novas linhagens foram nomeadas tendo como base a espécie do hospedeiro de origem seguindo um protocolo padrão (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009), e sequências de DNA de todas as novas linhagens foram depositadas nos bancos de dados GenBank e MalAvi (<http://mbio-serv2.mbioekol.lu.se/Malavi/>).

A relação filogenética entre os parasitas relatados foi inferida usando sequências parciais do gene *cytb* após alinhamento no Software MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (KUMAR *et al.*, 2018). Os acessos GenBank das sequências utilizadas são mostrados nas árvores filogenéticas correspondentes. A reconstrução filogenética foi realizada separadamente para os parasitas dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* usando

o método de inferência Bayesiana implementado em MrBayes v3.2.0 (HUELSENBECK; RONQUIST, 2001).

Duas cadeias de Markov foram corridas de 3 milhões de gerações, a cada amostragem de 1 de 300 árvores. Um total de 25% das primeiras árvores foi descartado como “*burn-in*” e as árvores restantes foram usadas para calcular as probabilidades posteriores. As árvores que apresentaram similaridade maior que 50% foram utilizadas pelo programa para calcular e gerar a árvore consenso. As árvores obtidas em todas as análises foram visualizadas e editadas pelo programa FigTree v. 1.4.0 (RAMBAUT, 2010).

Uma comparação entre a prevalência de infecções por hemosporídeos (detectadas por PCR) entre aves residentes e aves migratórias amostradas no PESM Curucutu foi analisada usando um teste de qui-quadrado com correção de Yates para amostras menores, conforme garantido pelo cálculo. Os achados foram considerados estatisticamente significativos se  $p < 0,05$ .

### 3.5 Redes de Haplótipos

No intuito de obter um melhor entendimento entre as relações filogenéticas das linhagens encontradas, redes de haplótipos foram elaboradas utilizando o método “*median-joining*” (BANDELT; FORSTER; ROHL, 1999), que consiste no agrupamento de sequências que apresentam maior similaridade genética (KONG; SÁNCHEZ-PACHECO; MURPHY, 2016). Para isso, foi utilizado o software Network versão 4.6 (BANDELT; FORSTER; ROHL, 1999) com parâmetros padrão e transversões ponderadas duas vezes mais que transições. Esta análise foi realizada utilizando 667 sequências *cytb* de 37 linhagens de *Plasmodium (Novyella)* spp. e sequências *cytb* de 1999 de 75 linhagens de *Plasmodium* de outros subgêneros, todas as sequências apresentando o tamanho de 479 pb. Essas sequências foram selecionadas do banco de dados MalAvi devido a sua similaridade de  $\geq 99\%$  e *Score*  $> 860$  em relação às sequências das linhagens de *Plasmodium* obtidas neste estudo.

### 3.6 Aspectos éticos

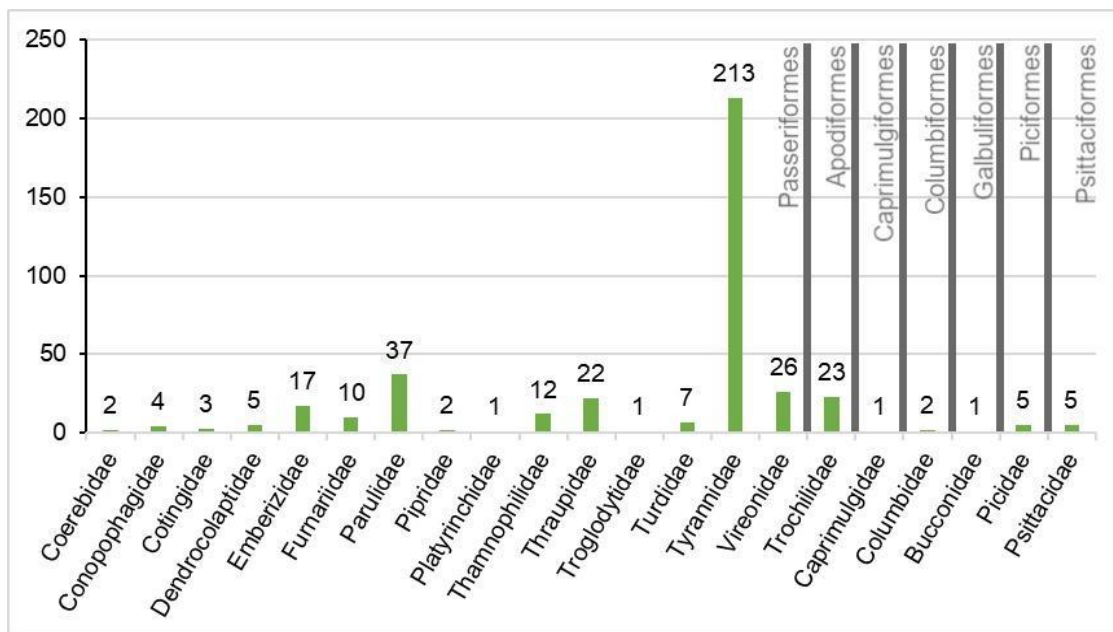
Todas as amostras de sangue de aves foram coletadas e manuseadas sob licenças apropriadas no Brasil. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais - CEUA do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo – USP sob o número de aprovação 2019/000412A e data de aprovação 16/08/2019 (**ANEXO A**).

O projeto possui autorizações do SISBIO (Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade) do ICMBio/ MMA (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade/ Ministério do Meio Ambiente) sob os n°s: 51536-3 Balbina/ AM, 59198-3 PESM Curucutu/ SP e 61078-1 Florestal/ MG.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Malária Aviária e Parasitas Relacionados de Aves Residentes e Migratórias no PESM Curucutu – SP

Para a primeira parte deste projeto, foram analisadas infecções por hemosporídeos em amostras de sangue coletadas de 399 aves, pertencentes a 66 espécies, 21 famílias e sete ordens (Apodiformes, Caprimulgiformes, Columbiformes, Galbuliformes, Passeriformes, Piciformes e Psittaciformes). Espécies das ordens Apodiformes (5,8%), Columbiformes (0,5%), Piciformes (1,25%) e Psittaciformes (1,25%) foram menos frequentemente amostradas e juntas representaram apenas 8,8% das amostras analisadas. Um terceiro grupo (aves raramente amostradas) apresentou representantes de duas ordens diferentes: Caprimulgiformes e Galbuliformes (0,5% de todas as amostras analisadas), Passeriformes representaram 90,7% de todas as amostras analisadas, como mostrado na **Figura 12**.



**Figura 12.** Números absolutos das aves examinadas neste estudo de acordo com a Ordem e Família estudada.

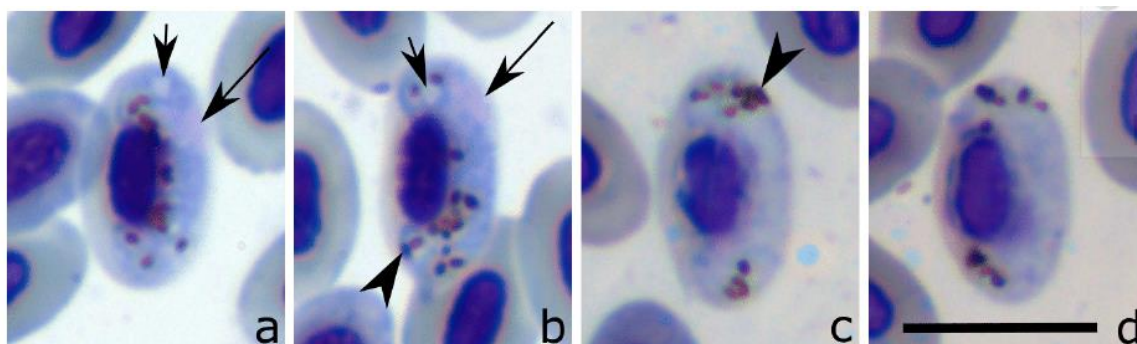
#### 4.1.1 Detecção de hemosporídeos por microscopia ótica

Em 2019, 195 esfregaços sanguíneos foram coletados de 135 espécimes aviários. Os parasitas hemosporídeos foram identificados por microscopia em 11 aves: duas apresentaram infecção por *Plasmodium nucleophilum* (identificado pelo padrão nucleofílico dos estágios sanguíneos e a presença de todas as outras características principais desta espécie (CHAGAS *et al.*, 2013), três aves infectadas por *Plasmodium* sp., quatro por *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) sp., um indivíduo apresentou infecção mista (*Plasmodium* sp. + *Haemoproteus* sp.), e um com *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *nucleocentralis* n. sp., que é descrito neste trabalho.

Entre os indivíduos infectados por parasitas do gênero *Plasmodium* os quais tiveram o esfregaço sanguíneo analisados, três eram de espécies hospedeiras residentes (*Tachyphonus coronatus*, *Turdus rufiventris* e *Zonotrichia capensis*) e três lâminas de uma espécie migratória (*Elaenia albiceps*). Foram encontrados gametócitos de *Plasmodium* nos esfregaços

sanguíneos de uma espécie de ave residente do PESH Curucutu (*Zonotrichia capensis*) e em duas lâminas positivas de aves migratórias (*Elaenia albiceps*).

Em contraste, entre os indivíduos infectados por *Haemoproteus* que foram analisados os esfregaços sanguíneos, um era uma espécie residente (*Tangara desmaresti*) e quatro eram indivíduos da espécie migratória (*Elaenia albiceps*). O *Haemoproteus* encontrado em *E. albiceps* foi considerada uma nova linhagem (hELAALB01), e provavelmente uma nova espécie, porém, devido à má qualidade da coloração, não foi possível descrever esta espécie. Mesmo com má coloração, foi possível notar algumas características morfológicas distintas deste parasita, como a presença de um vacúolo facilmente visível nos macrogametócitos (**Figura 13a,b**), posição subterminal dos núcleos nos macrogametócitos (**Figura 13a,b**), gametócitos maduros próximos aos núcleos e envelope dos eritrócitos (**Figura 13a–d**), e leve deslocamento dos núcleos nos eritrócitos infectados (**Figura 13a–d**). Para descrição morfológica mais detalhada deste parasita, é necessário material adicional.



**Figura 13.** *Haemoproteus* sp. (linhagem de *cytb* hELAALB01) encontrado em amostra sanguínea de *Elaenia albiceps*. **a–b**: macrogametócitos. **c–d**: microgametócitos. É observada a presença de um vacúolo (a–b). Setas longas: núcleos de gametócitos; pontas de seta: grânulos de pigmento malárico (hemozoína); seta curta: vacúolo. Esfregaços sanguíneos corados com *Giemsa*. Escala: 10  $\mu$ m.



#### 4.1.1.1 Descrição do novo parasita *Haemoproteus (Parahaemoproteus) nucleocentralis*

Família: Haemoproteidae Doflein, 1916

Gênero: *Haemoproteus* Kruse, 1890

*Haemoproteus (Parahaemoproteus) nucleocentralis* n. sp.

Hospedeiro: Saíra-lagarta *Tangara desmaresti* (Vieillot, 1819) (Passeriformes, Thraupidae).

Localidade: Núcleo Curucutu, Parque Estadual Serra do Mar, São Paulo, SP (23° 85'60"S, 46°83'90"O, 800 m a.s.l.), Brasil.

Espécimes: Hapantótipos (números de acesso PESH610A e PESH610B, juvenil, macho, *Tangara desmaresti* UFMT 5063; parasitemia 0,1%, 9.iii.2019, Núcleo Curucutu, Parque Estadual Serra do Mar, São Paulo, Brasil, coletados por F. Schunck) depositados na Universidade Federal de Mato Grosso, Brasil.

Local de infecção: Eritrócitos maduros; nenhum outro dado.

Prevalência: um indivíduo de *Tangara desmaresti* examinado apresentou-se infectado.

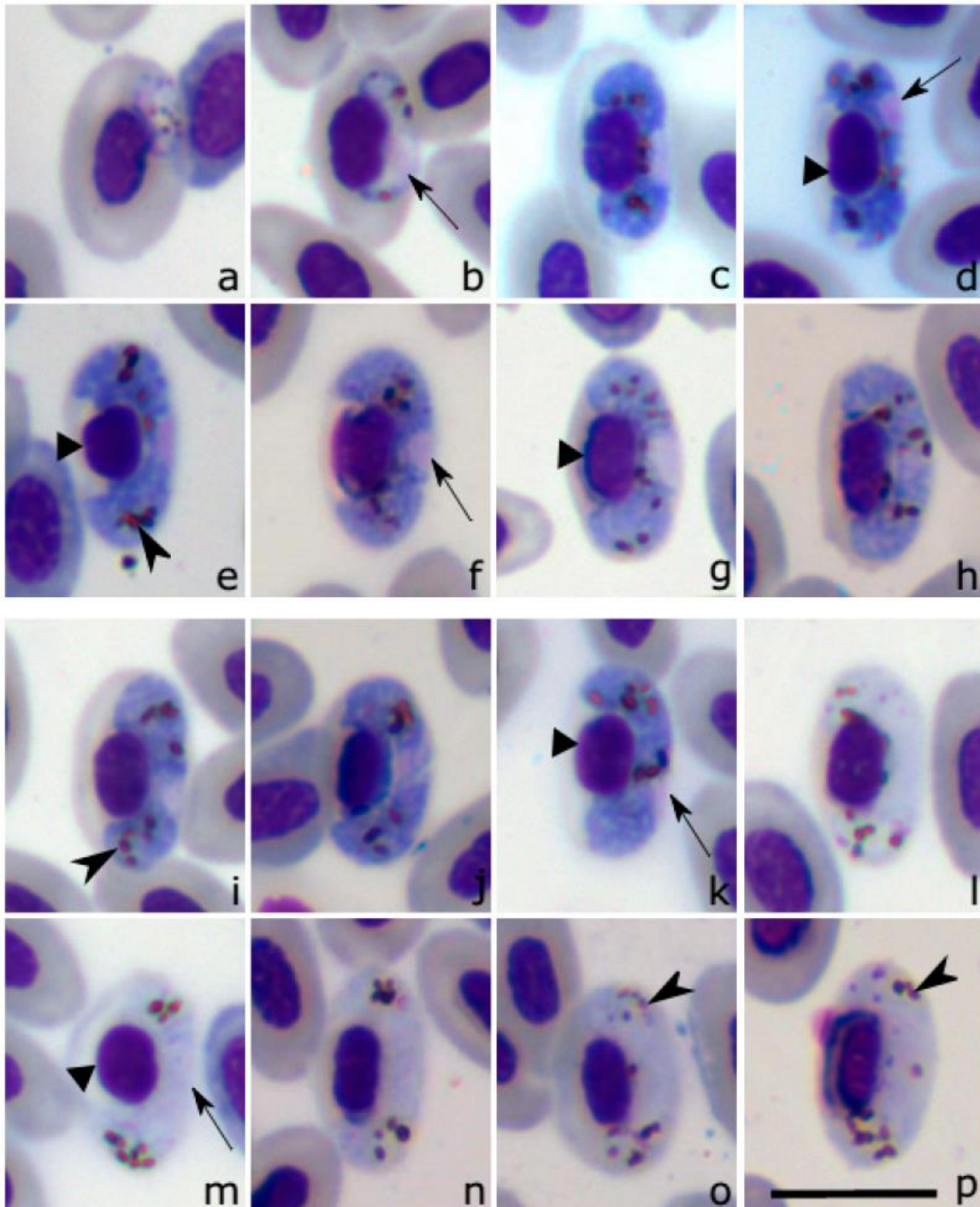
Sequência de DNA representativa: linhagem mitocondrial *cytb* hTANDES01 (478 pb, número de acesso GenBank MT724554).

Vetor: Provavelmente mosquitos do gênero *Culicoides*; a espécie é desconhecida.

Etimologia: O nome dado à espécie refere-se a um caráter distintivo da mesma, que é a posição predominantemente central dos núcleos em macrogametócitos totalmente desenvolvidos.

#### 4.1.1.2 Características morfológicas do parasita

Na análise microscópica dos esfregaços sanguíneos parasitados por *H. nucleocentralis*, foram identificados gametócitos jovens (**Figura 14a,b**), que se apresentaram raros no material; é observado também o desenvolvimento em eritrócitos maduros. Os primeiros gametócitos possuem forma amplamente oval, aderem aos núcleos dos eritrócitos e foram observados em posição subpolar nos eritrócitos infectados (**Figura 14a**); grânulos de pigmento malárico (hemozoína) puderam ser facilmente vistos. Gametócitos em crescimento avançado aderem intimamente tanto aos núcleos como ao envelope dos eritrócitos; estendem-se longitudinalmente ao longo dos núcleos e os deslocam ligeiramente para a lateral do citoplasma (**Figura 14b**). O contorno dos gametócitos é uniforme. Os grânulos de hemozoína se apresentam de forma proeminente; alguns atingem o tamanho de grânulos de pigmento presentes em gametócitos maduros **Figura 14b,g**).



**Figura 14.** *Haemoproteus (Parahaemoproteus) nucleocentralis* n. sp. (linhagem cytb hTANDES01) da espécie aviária *Tangara desmaresti*. **a:** Gametócito jovem. **b:** Gametócito em crescimento. **c–k:** macrogametócitos. **l–p:** Microgametócitos. Observa-se que os núcleos estavam localizados na posição central ou próxima à central em todos os macrogametócitos maduros (e-k), mas ocasionalmente foram vistos na posição subterminal nos parasitas em crescimento (**d**). Setas longas: Núcleos dos gametócitos; Pontas de seta: grânulos de pigmento

malárico (hemozoína); Triângulo ponta de seta: núcleos de eritrócitos infectados. Esfregaços sanguíneos corados com Giemsa. Escala de 10  $\mu\text{m}$ .

Os macrogametócitos (**Figura 14c–k**) desenvolvem-se em eritrócitos maduros. O citoplasma apresenta aparência homogênea ou ligeiramente granular. Grânulos de volutina e vacúolos não foram observados. O contorno das células é predominantemente uniforme (**Figura 14e–g**), ocasionalmente se mostra levemente ondulado nas extremidades dos gametócitos (**Figura 14d, e**). Os gametócitos aumentam de tamanho ao longo dos núcleos dos eritrócitos infectados, envolvem os núcleos com suas extremidades, mas não os circundam completamente (**Figura 14c–k**). Macrogametócitos maduros e totalmente desenvolvidos foram estreitamente pressionados tanto para o envelope quanto para os núcleos das células hospedeiras; eles deslocam os núcleos dos eritrócitos lateralmente (**Tabela 1**) e os deformam levemente, resultando na aceitação de uma forma levemente arredondada em relação aos núcleos em eritrócitos não infectados (**Figura 14c, e, k**). Os gametócitos completamente maduros preenchem os eritrócitos até seus pólos (**Figura 14e–k**).

O núcleo dos gametócitos é relativamente pequeno (**Tabela 1**), variável na forma, e assume predominantemente uma posição central ou próxima à central (**Figura 14d–g**), que é uma característica do desenvolvimento desta espécie; ocasionalmente os núcleos foram observados em posição ligeiramente subcentral (**Figura 14d, i, k**), o nucléolo não foi observado nos esfregaços. Os grânulos de pigmento (hemozoína) podem apresentar-se espalhados por todo o citoplasma (**Figura 14g**), mas também podem ser vistos em grupos (**Figura 14c–f**). Os grânulos de pigmento são variáveis em forma e formato, geralmente são ovais ou ligeiramente alongados; predominam grânulos de tamanho médio (0,5–1,0  $\mu\text{m}$ ), mas alguns grânulos de tamanho grande (1,0–1,5  $\mu\text{m}$ ) foram frequentemente vistos. Os gametócitos totalmente desenvolvidos deslocam os núcleos das células hospedeiras lateralmente, mas não influenciam a forma das células em comparação com os eritrócitos não infectados (**Figura 14e–h, Tabela 1**).

Microgametócitos (**Figura 14l–p, Tabela 1**). A configuração geral do parasita e outros caracteres morfológicos são como nos macrogametócitos, com

os caracteres de dimorfismo sexual vistos em outras espécies de hemosporídeos (grandes núcleos difusos e coloração relativamente pálida do citoplasma).

**Tabela 1.** Dados morfométricos de células hospedeiras e gametócitos maduros de *Haemoproteus nucleocentralis* n. sp. (linhagem *cytb* hTANDES01).

<b>Característica</b>		<b>Medidas<sup>a</sup></b>
Eritrócito não infectado	Comprimento	11.1–13.3 (12.0 ± 0.7)
	Largura	6.5–7.7 (7.0 ± 0.4)
	Área	58.6–80.2 (66.4 ± 5.3)
Núcleo do eritrócito não infectado	Comprimento	5.1–6.4 (5.8 ± 0.3)
	Largura	2.7–3.4 (3.1 ± 0.2)
	Área	13.5–17.9 (15.1 ± 1.2)
Macrogametócito Eritrócito infectado	Comprimento	11.7–13.7 (12.5 ± 0.5)
	Largura	5.8–8.1 (6.9 ± 0.6)
	Área	60.8–85.8 (70.4 ± 6.8)
Núcleo do eritrócito infectado	Comprimento	4.3–6.3 (5.1 ± 0.4)
	Largura	2.3–3.9 (3.2 ± 0.4)
	Área	9.4–18.9 (13.3 ± 1.8)
Gametócito	Comprimento	13.0–17.7 (14.8 ± 1.2)
	Largura	1.5–3.6 (2.4 ± 0.6)
	Área	31.7–47.5 (39.5 ± 4.8)
Núcleo do gametócito	Comprimento	2.2–4.3 (2.8 ± 0.5)
	Largura	1.1–3.0 (1.8 ± 0.6)
	Área	2.1–6.5 (3.9 ± 1.3)
Grânulos de pigmento NDR <sup>c</sup>		7.0–12.0 (10.1 ± 1.6)
		0.2–1.1 (0.7 ± 0.2)
<b>Microgametócito (n=17)</b>		
Eritrócito infectado	Comprimento	11.5–14.5 (12.7 ± 0.8)
	Largura	6.2–8.2 (7.5 ± 0.5)
	Área	67.0–84.0 (73.9 ± 4.6)
Núcleo do eritrócito infectado	Comprimento	4.8–5.9 (5.3 ± 0.4)
	Largura	2.5–3.9 (3.0 ± 0.4)
	Área	11.1–15.2 (13.1 ± 1.1)
Gametócito	Comprimento	11.9–17.3 (14.5 ± 1.3)
	Largura	2.2–3.7 (3.0 ± 0.4)
	Área	34.1–49.9 (43.1 ± 5.0)
Núcleo do gametócito <sup>b</sup>	Comprimento	-
	Largura	-
	Área	-

Grânulos de pigmento	7.0–17.0 (10.6 ± 2.7)
NDR <sup>c</sup>	0.4–0.9 (0.7 ± 0.2)

<sup>a</sup> O número de medições (n) foi 21, salvo quando indica o contrário. Todas as medidas são dadas em micrômetros, exceto para grânulos de pigmento. Os valores mínimo e máximo são fornecidos, seguidos entre parênteses pela média aritmética e desvio padrão. <sup>b</sup> Os núcleos dos microgametócitos apresentaram-se pouco definidos e difíceis de fazer a medição. <sup>c</sup> Razão de deslocamento do núcleo (NDR) de acordo com (BENNETT; CAMPBELL, 1972).

#### 4.1.1.3 Observações Taxonômicas

*Haemoproteus nucleocentralis* n. sp. é o primeiro parasita hemosporídeo relatado na espécie de ave *Tangara desmaresti*. As sequências *cytb* parciais que apresentaram maior semelhança (acessos GenBank MN459077 e KJ466075) são de 99% de similaridade (476/478 ou 2 pb); estes foram relatados nas espécies *Euphonia xanthogaster* (Passeriformes, Thraupidae) que ocorre na região dos Andes Chilenos. No entanto, não há caracterização morfológica desses parasitas e nenhuma publicação associada a essas sequências de DNA. No banco de dados MalAvi, a linhagem mais próxima da nova espécie é hOCHLEU01, com 98% de similaridade (470/478 ou 8 pb); e foi relatada em várias espécies de Thraupidae em aves andinas sul-americanas.

*Haemoproteus coatneyi* foi frequentemente relatado em aves pertencentes ao gênero *Tangara* e outras aves Thraupidae (GONZÁLEZ *et al.*, 2015), portanto, deve ser distinguido da nova espécie. Uma característica de *H. nucleocentralis* n. sp. é a posição predominantemente central de núcleos em gametócitos totalmente desenvolvidos. Este caractere é relativamente raro em hemoproteídeos parasitando aves Passeriformes e ainda não foi relatado em hemoproteídeos parasitando Passeriformes do Novo Mundo, por isso merece a devida atenção durante a identificação da espécie *H. nucleocentralis*. Com base neste caractere, os gametócitos de *H. nucleocentralis* podem ser facilmente distinguidos de *H. coatneyi* (BURRY-CAINES; BENNETT, 1992), parasita

comum de passeriformes do Novo Mundo. Em *H. coatneyi*, os núcleos são estritamente subterminais em macrogametócitos (VALKIŪNAS, 2005).

O mesmo pode ser observado em *Haemoproteus paruli* e *Haemoproteus thraupi* (BURRY-CAINES; BENNETT, 1992), que possuem gametócitos morfológicamente indistinguíveis de *H. coatneyi* (VALKIŪNAS, 2005). Outra característica distintiva de *H. nucleocentralis* n. sp. é a deformação do núcleo da célula infectada, que assume o formato arredondado (compare a **Figura 14a,b** com a **Figura 14e,k**), mas essa característica permanece insuficientemente investigada nos outros parasitas do gênero *Haemoproteus* mencionados acima.

*Haemoproteus nucleocentralis* pode ser facilmente distinguido de *Haemoproteus erythrogravidus*, um parasita comum de passeriformes do Novo Mundo, devido à ausência de protrusão no envelope do eritrócito infectado (a chamada morfologia “*gravid*” das células hospedeiras infectadas) (MANTILLA *et al.*, 2016). Além disso, os núcleos estão localizados estritamente em posição subterminal em macrogametócitos de *H. erythrogravidus*, o que não ocorre na espécie nova.

Gametócitos de *H. nucleocentralis* compartilham algumas características semelhantes com *Haemoproteus witti*, um parasita comum de beija-flores (Apodiformes), no Novo Mundo. Em ambas as espécies, os núcleos estão posicionados predominantemente na posição central em macrogametócitos (MANTILLA *et al.*, 2016). Curiosamente, várias linhagens de *H. witti* foram relatadas em passeriformes, mas os gametócitos não foram encontrados no sangue das aves, indicando um possível desenvolvimento incompleto (abortivo) deste parasita de beija-flor em passeriformes. Nos gametócitos de *H. witti*, o número médio de grânulos de pigmento malárico é próximo de 25, sendo significativamente menor (cerca de 10) em *H. nucleocentralis* (**Tabela 1**).

*Haemoproteus nucleocentralis* pode ser facilmente distinguida de *Haemoproteus vireonis*, um parasita comum de passeriformes sul-americanos (BENNETT; CAINES; WOODWORTH-LYNAS, 1987; VALKIŪNAS, 2005). Em *H. vireonis* os gametócitos em desenvolvimento geralmente assumem a forma de haltere e os núcleos localizam-se estritamente subterminalmente nos macrogametócitos. Ambas as características não são características de *H. nucleocentralis*.

A inferência filogenética mostrou que as sequências *cytb* de *H. nucleocentralis* são agrupadas com *Haemoproteus paruli*. Essas duas linhagens têm apenas 96% de similaridade (diferença de 21 pb) nas sequências parciais de *cytb*. Os gametócitos deste último parasita são morfologicamente indistinguíveis dos de *H. coatneyi* (VALKIŪNAS, 2005). Sequências de *cytb* de *H. coatneyi* e *H. paruli* podem ser visualizadas em diferentes ramos da árvore filogenética de *Haemoproteus*. No entanto, deve-se notar que os dados morfológicos não foram fornecidos ao ser feita a ligação dessas sequências com as morfoespécies correspondentes (RICKLEFS; FALLON, 2002), e a precisão da caracterização molecular de *H. coatneyi* e *H. paruli* precisa de mais suporte.

#### 4.1.2 Prevalência de Infecção em Avifauna Residente e Migratória

Das 399 amostras, 181 eram de 52 espécies de aves residentes e 218 amostras eram de 14 espécies migratórias (**Tabela 2**; **Tabela 3**). Todas as 14 espécies migratórias eram da ordem Passeriformes (**Tabela 3**). A espécie de ave *Elaenia albiceps* foi particularmente amostrada de forma extensiva, compreendendo 37,6% de todas as amostras analisadas.

**Tabela 2.** Números de amostras de espécies de aves residentes amostradas no PESH Curucutu - SP, Brasil; os números entre parênteses representam as amostras positivas para parasitas hemossporídeos.

Ordem e Família	Espécie hospedeira	No. amostrado (No. Positivo)	Parasita e Linhagem	Acesso GenBank
<b>Apodiformes</b>				
Trochilidae	<i>Amazilia fimbriata</i>	1	<i>Plasmodium</i> sp. pVIOLI03	MW394211
	<i>Aphantochroa cirrochloris</i>	1		
	<i>Heliodoxa rubricauda</i>	2 (1)		
	<i>Leucochloris albicollis</i>	1		
	<i>Phaethornis eurynome</i>	1		
	<i>Ramphodon naevius</i>	15		
	<i>Thalurania glaucopis</i>	2		
<b>Caprimulgiformes</b>				
Caprimulgidae	<i>Hydropsalis forcipata</i>	1		
<b>Columbiformes</b>				
Columbidae	<i>Geotrygon montana</i>	2		

#### Galbuliformes



Bucconidae	<i>Malacoptila striata</i>	1		
<b>Passeriformes</b>				
Coerebidae	<i>Coereba flaveola</i>	2		
Conopophagidae	<i>Conopophaga lineata</i>	4 (2)	<i>Plasmodium</i> sp. pCONLIN16	MT724555
			<i>Plasmodium</i> sp. pLEAMAN01	MT724398
Cotingidae	<i>Schiffornis virescens</i>	3		
Dendrocolaptidae	<i>Dendrocincla turdina</i>	1		
	<i>Sittasomus griseicapillus</i>	1		
	<i>Xiphorhynchus fuscus</i>	3		
Emberizidae	<i>Zonotrichia capensis</i>	6 (3)	<i>P. nucleophilum</i> pDENPET03	MT724566
			<i>H. erythrogravidus</i> hZOCAP01	MT724565/ MT724568
Furnariidae	<i>Heliobletus contaminatus</i>	6		
	<i>Lochmias nematura</i>	2 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pTURFAL01	MT724472
	<i>Synallaxis spixi</i>	2		
Parulidae	<i>Basileuterus culicivorus</i>	15 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pBASCUL01	MT724400
	<i>Basileuterus leucoblepharus</i>	2		
	<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	17 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pGEOTRI01	MT724530
	<i>Parula pitiayumi</i>	3		
Pipridae	<i>Chiroxiphia caudata</i>	2		
Platyrrinchidae	<i>Platyrrinchus mystaceus</i>	1		
Thamnophilidae	<i>Batara cinerea</i>	2		
	<i>Drymophila malura</i>	3		
	<i>Dysithamnus mentalis</i>	1 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pPYLEU01	MT724470
Thraupidae	<i>Thamnophilus caerulescens</i>	6		
	<i>Hemithraupis ruficapilla</i>	1		
	<i>Stephanophorus diadematus</i>	6		
	<i>Tachyphonus coronatus</i>	8 (2)	<i>Plasmodium</i> sp. pTARUF01	MT724542
			<i>Plasmodium</i> sp. pLEPCOR05	MT724537
	<i>Tangara desmaresti</i>	1 (1)	<i>H. nucleocentralis</i> hTANDES01	MT724553
	<i>Trichothraupis melanops</i>	5		
Troglodytidae	<i>Troglodytes aedon</i>	1 (1)	<i>P. nucleophilum</i> pDENPET03	MT724567
Turdidae	<i>Turdus leucomelas</i>	1 (1)	<i>P. lutzi</i> pSPMAG06	MT724557
	<i>Turdus rufiventris</i>	2 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pTUMIG03	MT724560
Tyrannidae	<i>Attila rufus</i>	1		
	<i>Camptostoma obsoletum</i>	2		
	<i>Cyclarhis gujanensis</i>	2		
	<i>Hemitriccus diops</i>	1		
	<i>Hemitriccus nidipendulus</i>	5		
	<i>Hylophilus poicilotis</i>	7		
	<i>Leptopogon amaurocephalus</i>	1		

	<i>Mionectes rufiventris</i>	8
	<i>Myiobius atricaudus</i>	1
	<i>Poecilatriccus plumbeiceps</i>	4
	<i>Phylloscartes ventralis</i>	5
<b>Piciformes</b>		
Picidae	<i>Picumnus temminckii</i>	3
	<i>Veniliornis spilogaster</i>	2
<b>Psitaciformes</b>		
Psittacidae	<i>Pyrrhura frontalis</i>	5
<b>Total Residentes</b>		<b>181 (16)</b>

A prevalência diferiu de forma significativa entre as espécies de aves residentes, se mostrando um total de 16 indivíduos infectados (9% de prevalência), e nas aves migratórias, 52 infecções (24% de prevalência), principalmente devido a presença de infecções por *Leucocytozoon* spp. e *Haemoproteus* spp.; mas não para infecções por *Plasmodium* spp.: (**Tabela 2**; **Tabela 3**). A prevalência permaneceu significativa após se considerar apenas os Passeriformes ou até mesmo ao remover a espécie *Elaenia albiceps* do cálculo (**Quadro 1**).

		analizados	positivos	% prevalência	$\chi^2$ Yates	<i>p</i>
Plasmodium/Haemoproteus/ Leucocytozoon (N=399)	m	218	52	23,8	15,77	0,00007
	r	181	16	8,8		
Plasm (N=399)	m	218	20	9,1	0,76	0,38
	r	181	13	7,1		
Haem (N=399)	m	218	14	6,4	4,4	0,036
	r	181	3	1,6		
Leuco (N=399)	m	218	18	8,2	15,61	0,00008
	r	181	0	0		
Passeriformes c/ <i>E. albiceps</i> (N=362)	m	218	52	23,8	10,38	0,0013
	r	144	15	10,4		
Passeriformes sem <i>E.</i> <i>albiceps</i> (N=212)	m	68	15	22	5,15	0,023
	r	144	15	10,4		

**Quadro 1:** Comparação entre positividade e prevalência das amostras analisadas de aves residentes (**r**) e migratórias (**m**).  $\chi^2$  Yates: teste qui-quadrado com correção de Yates. *p*: valor de prevalência.

*Elaenia albiceps* apresentou a maior prevalência de infecção (24,7% de prevalência dentro desta espécie, que inclui 71,1% de todas as infecções em aves migratórias e 54,4% do total de infecções identificadas neste estudo).

Exceto pelas linhagens com transmissão de forma generalizada (global) (pCOLL4, pDENPET03, pPADOM09, pPADOM11, pTUMIG03), as linhagens são provavelmente transmitidas predominantemente na América do Sul (pTRMEL02, hELAALB01, hVIGIL09, hVIOLI05, hCHIPAR01, IDIUDIU11, IELAALB02, IELAALB05, IZOLPYR01, ITROAED02) foram encontrados exclusivamente em espécies migratórias e linhagens transmitidas no Brasil. As linhagens (pCONLIN16, pLEAMA01, pPYLEU01, pSPMAG06, pTARUF01), foram encontradas principalmente infectando aves exclusivamente residentes (**Tabela 2; Tabela 3; Apêndice A**).

#### 4.1.3 Análise molecular e filogenética das amostras

Todas as amostras do PESH Curucutu foram analisadas por protocolo de *nested* PCR, seguido de sequenciamento para detecção da presença de *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Dentre essas, 68 amostras foram positivas: 48,5% (33) para *Plasmodium*, 23,5% (16) para *Haemoproteus* e 26,5% (18) para *Leucocytozoon*, além de uma amostra que apresentou infecção mista por *Plasmodium* e *Haemoproteus* (1,5%).

Foram obtidas sequências de 66 das 68 infecções detectadas, que foram atribuídas a 31 linhagens de hemosporídeos com base em sequências de nucleotídeos do gene *cytb* do parasita (**Apêndice A**). Em duas infecções por *Leucocytozoon* (uma dentre as coletadas em 2017 e outra dentre as coletadas em 2019), foi encontrada mais de uma linhagem de *Leucocytozoon*, impossibilitando a determinação das sequências sem procedimentos de clonagem.

Dezenove das linhagens obtidas eram para o gênero *Plasmodium*, sete eram para *Haemoproteus* e as cinco restantes eram de *Leucocytozoon* (**Tabela 2; Tabela 3**). As linhagens obtidas para *Plasmodium* e *Haemoproteus* (exceto uma amostra de beija-flor) fazem parte de um grande estudo de malária aviária na região da Mata Atlântica brasileira (FECCHIO *et al.*, 2021), sob os acessos GenBank #MT724397-MT724400, MT724468-MT724472, MT724528-

MT724568). Todas as sequências de *Leucocytozoon* e a sequência obtida da amostra de beija-flor (*Heliodoxa rubricauda*) foram submetidas no banco de dados GenBank exclusivamente a partir este estudo (sob os números de acesso #MW394193-MW394211).

**Tabela 3.** Números de amostras das espécies de aves migratórias amostradas no PESM Curucutu; os números entre parênteses representam as amostras positivas para parasitas hemosporídeos. Amostras da espécie *Elaenia albiceps* estão destacadas em cinza.

Ordem e Família	Espécie hospedeira	No. Amostrado (No. Positivos)	Parasita e Linhagem	Acesso GenBank
<b>Passeriformes</b>				
Emberizidae	<i>Haplospiza unicolor</i>	11 (1)	<i>Plasmodium</i> sp. pRAMCAR05	MT724552
Thraupidae	<i>Pipraeidea melanonota</i>	1		
Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	1		
	<i>Turdus flavipes</i>	3 (1)	<i>P. nucleophilum</i> pDENPET03	MT724556
Tyrannidae	<i>Attila phoenicurus</i>	1		
	<i>Elaenia albiceps</i>	150 (37)	<i>P. homocircumflexum</i> pCOLL4	MT724562
			<i>Plasmodium</i> sp. pELAALB07	MT724471
			<i>P. nucleophilum</i> pDENPET03	MT724543/ MT724548/ MT724546
			<i>Plasmodium</i> sp. pPADOM09	MT724540/ MT724534/ MT724397
			<i>Plasmodium</i> sp. pPADOM11	MT724551
			<i>Plasmodium</i> sp. pPHPAT01	MT724563
			<i>Plasmodium</i> sp. pLEPCOR05	MT724547
			<i>Haemoproteus</i> sp. hMYISWA01	MT724399
			<i>Haemoproteus</i> sp. hELAALB01	MT724539/ MT724544/ MT724550/ MT724558/ MT724538/ MT724545/ MT724549/ MT724561
			<i>Leucocytozoon</i> sp. IDIUDIUI11	MW394193-MW394196

			<i>Leucocytozoon</i> sp. IELAALB02	MW394197-MW394200
			<i>Leucocytozoon</i> sp. IELAALB05	MW394201-MW394207
			<i>Leucocytozoon</i> sp. ITROAED02	MW394208-MW394209
			<i>Leucocytozoon</i> sp. IZOLPYR01	MW394210
	<i>Elaenia mesoleuca</i>	13 (1)	<b><i>Plasmodium</i> sp.</b> pTRMEL02	MT724468
	<i>Empidonomus varius</i>	1		
	<i>Knipolegus cyanirostris</i>	7		
	<i>Lathrotriccus euleri</i>	1		
	<i>Myiarchus swainsoni</i>	7 (1)	<i>Haemoproteus</i> sp. hMYISWA01	MT724531
Tyrannidae	<i>Myiodynastes maculatus</i>	3		
	<i>Tyrannus melancholicus</i>	2 (1)	<i>Haemoproteus</i> sp. hMYISWA01	MT724536
Vireonidae	<i>Vireo olivaceus</i>	17 (10)	<i>P. nucleophilum</i> pDENPET03	MT724564/ MT724541
			<i>Plasmodium</i> sp. pVIOLI03	MT724528/ MT724532/ MT724533/ MT724534/ MT724553
			<i>Haemoproteus</i> sp. hVIGIL09	MT724469
			<i>Haemoproteus</i> sp. hCHIPAR01	MT724529
			<i>Haemoproteus</i> sp. hVIOLI05	MT724559
<b>Total Migratórias</b>		<b>218 (52)</b>		

Dois táxons de aves migratórias referem-se às subespécies *Elaenia albiceps chilensis* e *Vireo olivaceus chivi*, de acordo como descrito pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (DE PIACENTINI *et al.*, 2015).

Da totalidade de linhagens obtidas, vinte (pBASCUL01, pCOLL4, pCONLIN16, pCURCUR01, pELAALB07, pGEOTRI01, pLEAMA01, pPADOM11, pPHPAT01, pPYLEU01, pRAMCAR05, pSPMAG06, pTARUF01, pTRMEL02, pTUMIG03, hCHIPAR01, hTANDES01, hVIOLI05, hVIGIL09 e IZOLPYR01) foram encontradas apenas uma vez no presente estudo. As linhagens pDENPET03 (N = 8), hELAALB01 (N = 8), IELAALB05 (N = 7), pVIOLI03 (N = 6), IDIUDIU11 (N = 4), IELAALB02 (N = 4), pPADOM09 (N = 3), hMYISWA01 (N = 3), pLEPCOR05 (N = 2), hZOCAP01 (N = 2) e ITROAED02 (N = 2) foram encontrados em mais de um indivíduo.

As linhagens de *Plasmodium* pBASCUL01, pCONLIN16, pCURCUR01, pGEOTRI01, pLEAMA01, pPYLEU01, pSPMAG06, pTARUF01, pTUMIG03 e as linhagens de *Haemoproteus* hTANDES01 e hZOCAP01, foram encontradas apenas em espécies de aves hospedeiras residentes, as linhagens de *Plasmodium* pDENPET03 (N = 8), pLEPCOR05 (N = 2) e pVIOLI03 (N = 6), foram encontradas em ambas, migratórias e residentes (**Tabela 2; Tabela 3**). Dentre as 20 linhagens encontradas em aves migratórias, dez foram *Plasmodium*, cinco *Haemoproteus* e cinco *Leucocytozoon*.

Das 19 linhagens do gênero *Plasmodium*, sete *Haemoproteus* e cinco *Leucocytozoon* encontradas, 28 linhagens já haviam sido relatadas e três são novas descrições (pBASCUL01, pELAALB07, hTANDES01) (**Apêndice A**).

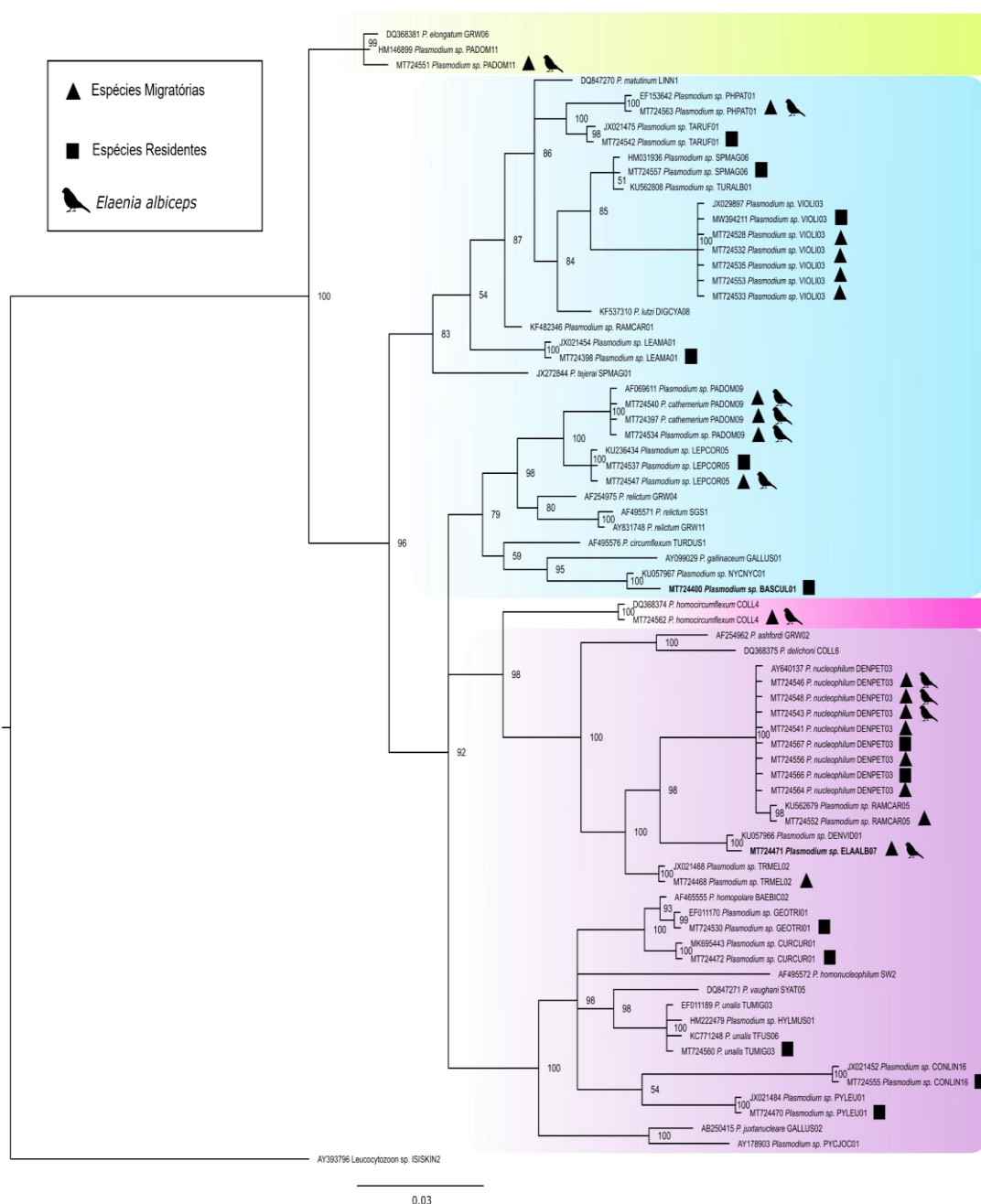
A linhagem pBASCUL01 foi encontrada na espécie de ave *Basileuterus culicivorus* e hTANDES01 foi relatada em *Tangara desmaresti*. Esta última representa a primeira descrição desta espécie de parasita hemossporídeo nesta espécie de passeriformes, na qual foi possível neste estudo a descrição da nova espécie *H. nucleocentralis* por análise morfológica aliada à análise molecular.

A espécie migratória *Elaenia albiceps* teve espécimes infectados por linhagens amplamente distribuídas, onde pDENPET03 já foi descrita na Argentina, Brasil, Canadá, Guiana, Peru, Uruguai e EUA. Também apresentou linhagens restritas à América do Sul, pLEPCOR05 (Brasil e Peru), e até mesmo linhagens descritas apenas na Argentina, (hELAALB01) (**Tabela 2 e Apêndice A**).

Com base na análise filogenética das linhagens de *Plasmodium* (**Figura 15**), é provável que a maioria das linhagens encontradas no PESM Curucutu

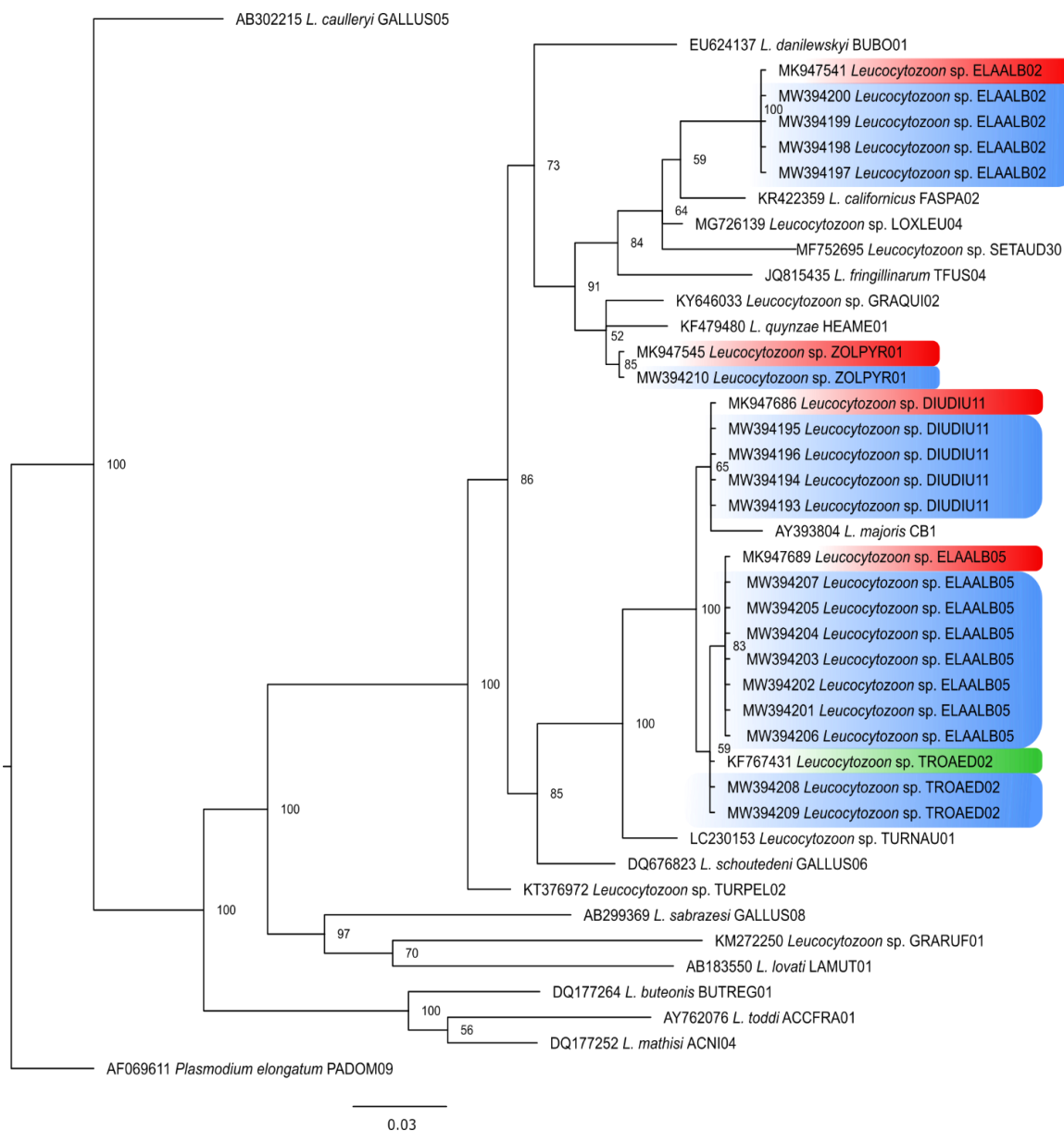
pertença aos subgêneros *Haemamoeba* e *Novyella*. De acordo com o banco de dados MalAvi, a linhagem pDENPET03 (*P. nucleophilum*) já foi descrita em 68 aves hospedeiras pertencentes a 59 gêneros, 23 famílias e oito ordens nas regiões da América do Norte e do Sul. Neste estudo, esta linhagem foi encontrada em oito indivíduos de cinco espécies, pertencentes a cinco famílias, todas elas Passeriformes. Embora não seja estatisticamente significativo, como mencionado acima, também é importante notar uma tendência de maior ocorrência de *Plasmodium* sp. em espécies migratórias do que em aves residentes (18,6% versus 15,4% respectivamente).





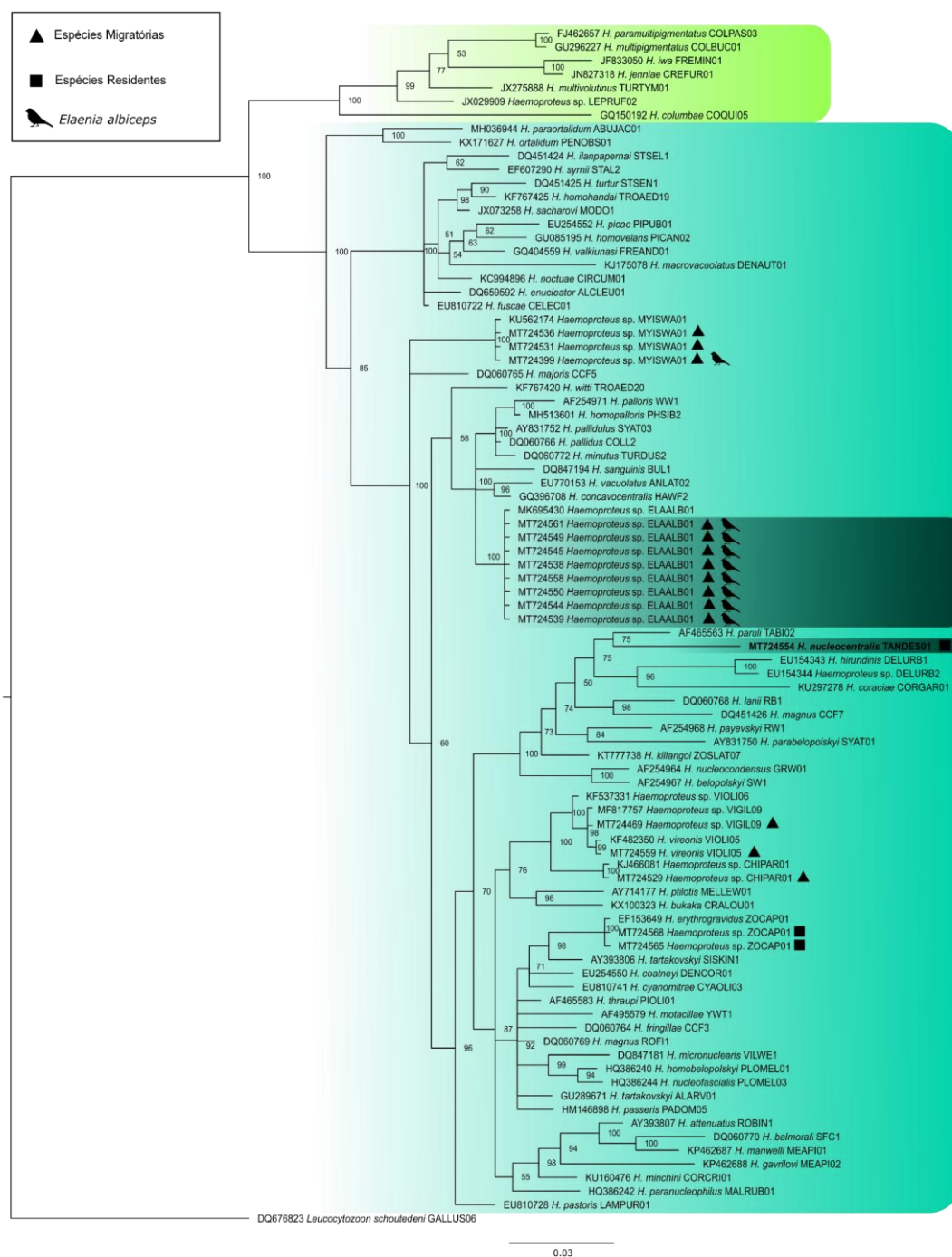
**Figura 15.** Filogenia bayesiana baseada no gene mitocondrial *cytb* de *Plasmodium* spp. das linhagens identificadas no presente estudo. *Leucocytozoon* sp. foi usado como grupo externo. Os valores de suporte dos nodos (em porcentagem) indicam probabilidades posteriores. A caixa amarela destaca as linhagens e espécies do subgênero *Huffia*, a caixa azul indica as linhagens e espécies do subgênero *Haemamoeba*, a caixa rosa claro indica as linhagens e espécies do subgênero *Novyella* e a rosa escuro indica as linhagens e espécies do subgênero *Giovannolaia*. As linhagens do presente estudo estão identificadas pelos símbolos “triângulo” e “quadrado”, destacando as espécies migratórias e residentes. As linhagens destacadas em negrito referem-se a linhagens novas. Modelo: GTR+G+I.

Todas as 20 amostras positivas obtidas neste estudo para o gênero *Leucocytozoon* foram detectadas por PCR na espécie de ave *Elaenia albiceps*. Destas, 18 sequências únicas de DNA foram obtidas, sendo que duas continham sequências sobrepostas. Duas destas 18 sequências apresentaram infecções mistas: uma com *Plasmodium* sp. e outra com *P. nucleophilum*. Desses resultados, foram obtidas cinco linhagens diferentes (IDIUDIU11, IELAALB02, IELAALB05, IZOLPYR01 e ITROAED02) com registros anteriores na Argentina, Chile, Colômbia e Peru, também descritos em *Elaenia albiceps* ou *Elaenia frantzii* (**Figura 16; Tabela 3; Apêndice A**).



**Figura 16.** Filogenia bayesiana das linhagens do gene *cytb* das espécies de *Leucocytozoon* de parasitas hemosporídeos de aves, mostrando em azul a posição das linhagens encontradas neste estudo entre as linhagens representativas de *Leucocytozoon*. Em vermelho, linhagens descritas na Argentina, em verde, linhagem descrita na Colômbia. Valores de suporte dos nodos (em porcentagem) indicam probabilidades posteriores. *Plasmodium elongatum* foi utilizado como grupo externo. Modelo: GTR+G+I.

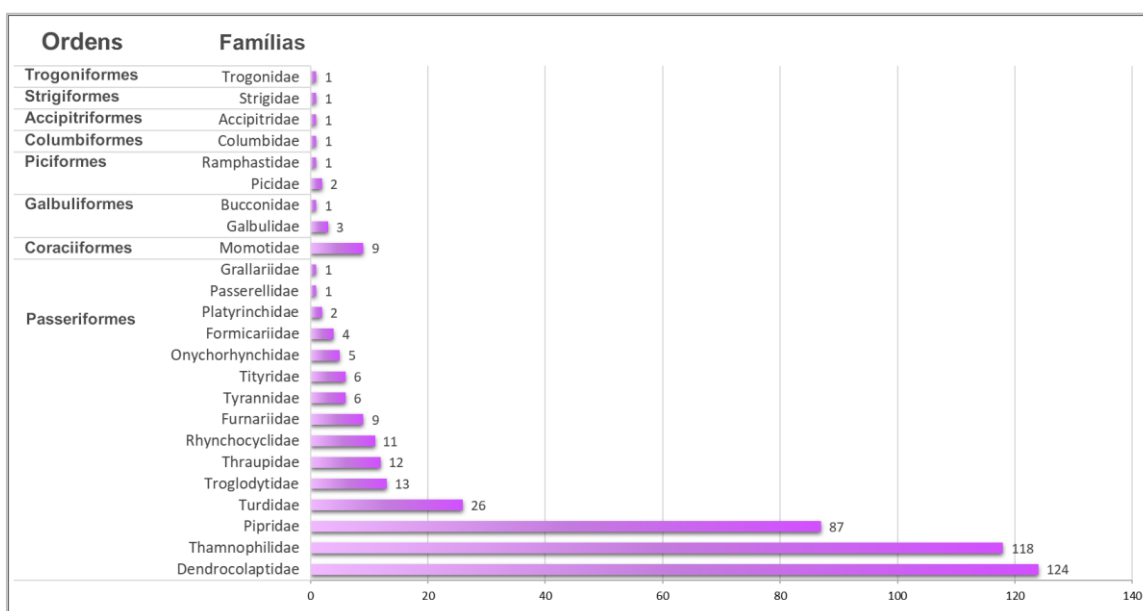
Pode ser observado no **(Quadro 1)** a alta prevalência de *Haemoproteus* sp. em aves migratórias, pois 14 de 17 indivíduos infectados foram detectados na avifauna migratória [ $\chi^2$  (1, N = 399) = (correção de Yates) 4,40, p = 0,036] **(Figura 17)**. Como mostra a árvore filogenética, a linhagem hELAALB01 apresentou o maior número de ocorrências, com oito indivíduos da espécie migratória *Elaenia albiceps* que apresentaram infecção para esta linhagem **(Figura 17)**. A linhagem hELAALB01 também mostra 99% de identidade com as linhagens hPHSIB2 (*H. homopalloris*), hCOLL2 (*H. pallidus*) e hSYAT03 (*H. pallidulus*), e ocorrem dentro de um clado maior dentro da árvore filogenética apresentada **(Figura 17)**. Todas estas espécies são conhecidas por terem gametócitos de coloração pálida (CHAGAS *et al*, 2008). Além disso, a nova linhagem hTANDES01 descrita neste projeto, considerada como nova espécie (*H. nucleocentralis*) apareceu no clado de hemosporídeos pertencentes ao subgênero *Parahaemoproteus*, indicando que *Culicoides* (Ceratopogonidae) estão envolvidas em sua transmissão.



**Figura 17.** Filogenia bayesiana baseada no gene *cytb* das espécies de *Haemoproteus*, destacando em colorido os dois subgêneros *Parahaemoproteus* e *Haemoproteus*, respectivamente. Sendo mostradas as linhagens encontradas no estudo (representadas com os símbolos caracterizando as espécies como residentes e migratórias). Evidenciadas em negrito as linhagens novas. Valores de suporte dos nodos (em porcentagem) indicam probabilidades posteriores. *Leucocytozoon schoutedeni* foi utilizado como grupo externo. As linhagens cujas espécies serão descritas morfologicamente estão iluminadas em verde escuro. Modelo: GTR+G+I.

## 4.2 Prevalência e diversidade genética de hemospórideos aviários em ilhas da Hidrelétrica de Balbina/ AM

Na segunda parte deste projeto, pesquisamos infecções por hemospórideos em amostras de sangue coletadas de 445 aves, pertencentes a 53 espécies, 24 Famílias e 8 Ordens. Espécies da Ordem dos Passeriformes representaram 95,5% de todas as amostras analisadas, seguidas de Accipitriformes (0,2%), Columbiformes (0,2%), Coraciiformes (2%), Galbuliformes (0,9%), Piciformes (0,7%), Strigiformes (0,2%) e Trogoniformes (0,2%) que juntas representavam apenas 4,5% das amostras analisadas (**Figura 18**).



**Figura 18.** Número absoluto das aves analisadas de acordo com a Ordem e Família estudada.

Após análise filogenética, foram identificadas 13 amostras (2,9%) positivas para o gênero *Plasmodium*, pertencentes a seis espécies hospedeiras de Passeriformes (*Xiphorhynchus pardalotus*, *Myrmotherula axillaris*, *Hypocnemis cantator*, *Turdus albicollis*, *Isleria guttata* e *Formicarius colma*) com prevalência de *Plasmodium* variando de 2,6% a 50%. (**Tabela 4**). *Hypocnemis cantator*, popularmente conhecido como cantador-da-guiana, representou 38,5% de todos os indivíduos positivos, embora represente apenas 5,6% das amostras

analisadas. Não foram encontradas amostras positivas para *Haemoproteus* nas 445 amostras analisadas para este gênero. Além disso, não foi identificado positividade para *Leucocytozoon* nas amostras analisadas.

A positividade para *Plasmodium* variou de forma ampla dentre as famílias, variando de 0,8% a 50% (Dendrocolaptidae 0,8%, Turdidae 11,5%, Thamnophilidae 5,9% e Formicariidae 50%) (**Tabela 4**). No entanto, esta última família apresentou menos de vinte amostras coletadas.

**Tabela 4.** Espécies aviárias amostradas na região da Barragem da Hidrelétrica de Balbina, Amazonas, Brasil. Números em parênteses representam as amostras positivas para hemosporídeos aviários.

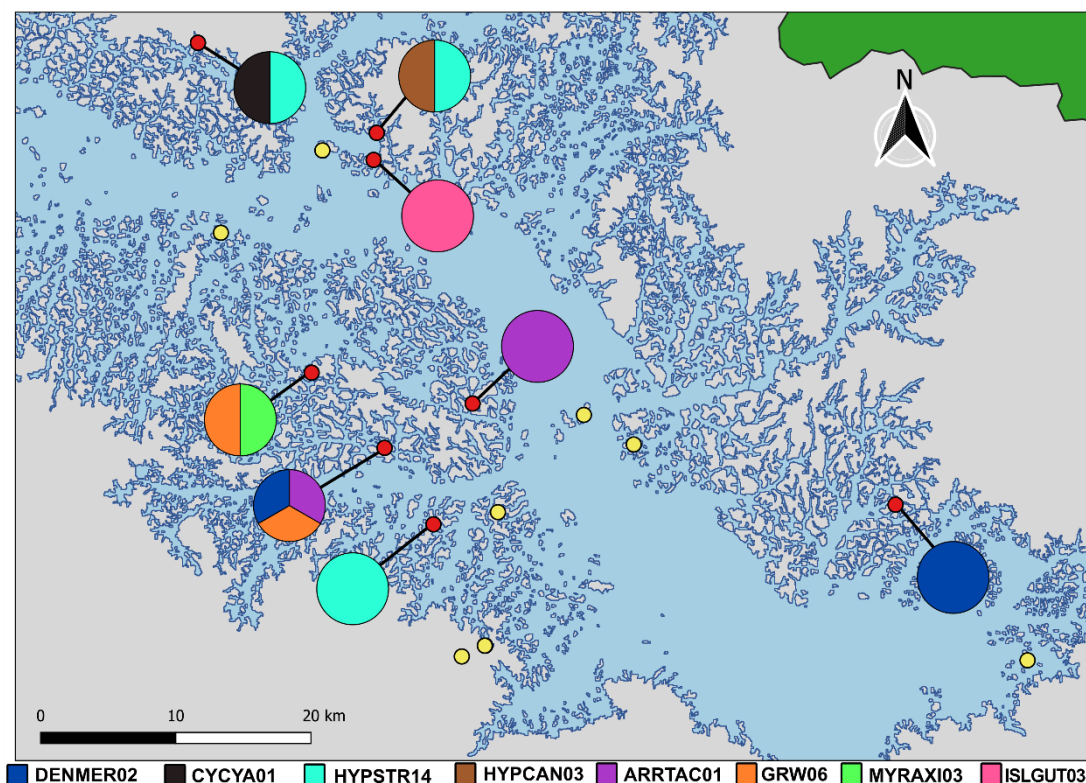
Família	Espécies Hospedeiras	Amostras (Positivos)	Linhagem de <i>Plasmodium</i>	Nº Acesso GenBank
Accipitridae	<i>Leucopternis melanops</i>	1		
Bucconidae	<i>Malacoptila fusca</i>	1		
Columbidae	<i>Geotrygon montana</i>	1		
Dendrocolaptidae	<i>Dendrocincla fuliginosa</i>	21		
	<i>Dendrocolaptes certhia</i>	11		
	<i>Glyphorhynchus spirurus</i>	51		
	<i>Xiphorhynchus obsoletus</i>	2		
Formicariidae	<i>Xiphorhynchus pardalotus</i>	39 (1)	pGRW06	
	<i>Formicarius colma</i>	4 (2)	pDENMER02	
Furnariidae	<i>Automolus ochrolaemus</i>	6		
	<i>Philydor erythrocercum</i>	2		
	<i>Xenops milleri</i>	1		
Galbulidae	<i>Galbula albirostris</i>	3		
Grallariidae	<i>Hylopezus macularius</i>	1		
Momotidae	<i>Momotus momota</i>	9		
Onychorhynchidae	<i>Onychorhynchus coronatus</i>	5		

Passerellidae	<i>Arremon taciturnus</i>	1	
Picidae	<i>Celeus elegans</i>	2	
Pipridae	<i>Dixiphia pipra</i>	65	
	<i>Lepidothrix serena</i>	14	
	<i>Pipra erythrocephala</i>	8	
Platyrinchidae	<i>Platyrinchus coronatus</i>	1	
	<i>Platyrinchus saturatus</i>	1	
Ramphastidae	<i>Selenidera piperivora</i>	1	
Rhynchocyclidae	<i>Hemitriccus zosterops</i>	1	
	<i>Lophotriccus galeatus</i>	1	
	<i>Mionectes macconnelli</i>	6	
	<i>Rhynchocyclus olivaceus</i>	3	
Strigidae	<i>Strix virgata</i>	1	
Thamnophilidae	<i>Cercomacra tyrannina</i>	2	
	<i>Gymnopithys rufigula</i>	1	
	<i>Hypocnemis cantator</i>	25 (5)	pHYPSTR14 (3), pCYCYA01, pHYPCAN03
	<i>Myrmotherula axillaris</i>	38 (1)	pMYRAXI03
	<i>Iseria guttata</i>	18 (1)	pISLGUT03
	<i>Myrmotherula menetriesii</i>	1	
	<i>Percnostola subcristata</i>	10	
	<i>Pithys albifrons</i>	6	
	<i>Thamnomanes ardesiacus</i>	5	
	<i>Thamnomanes caesius</i>	1	
	<i>Thamnophilus murinus</i>	2	
	<i>Willisornis poecilinotus</i>	9	
Thraupidae	<i>Lanio surinamus</i>	11	



	<i>Saltator grossus</i>	1	
Tityridae	<i>Laniocera hypopyrra</i>	1	
	<i>Schiffornis olivacea</i>	5	
Troglodytidae	<i>Cyphorhinus arada</i>	5	
	<i>Pheugopedius coraya</i>	2	
	<i>Troglodytes musculus</i>	6	
Trogonidae	<i>Trogon rufus</i>	1	
Turdidae	<i>Catharus fuscescens</i>	1	
	<i>Turdus albicollis</i>	25 (3)	pARRTAC01 (2), pGRW06
Tyrannidae	<i>Attila spadiceus</i>	3	
	<i>Ramphotrigon ruficauda</i>	3	
<b>Total</b>		<b>445 (13)</b>	

Oito linhagens de *Plasmodium* (pGRW06, pDENMER02, pHYPSTR14, pCYCYA01, pHYPCAN03, pMYRAXI03, pISLGUT03, pARRTAC01) foram encontradas nas amostras da área da Hidrelétrica de Balbina (**Figura 19**). A linhagem GRW06 já foi anteriormente descrita como *Plasmodium (Huffia) elongatum*, porém as outras linhagens ainda não foram vinculadas a uma morfoespécie.

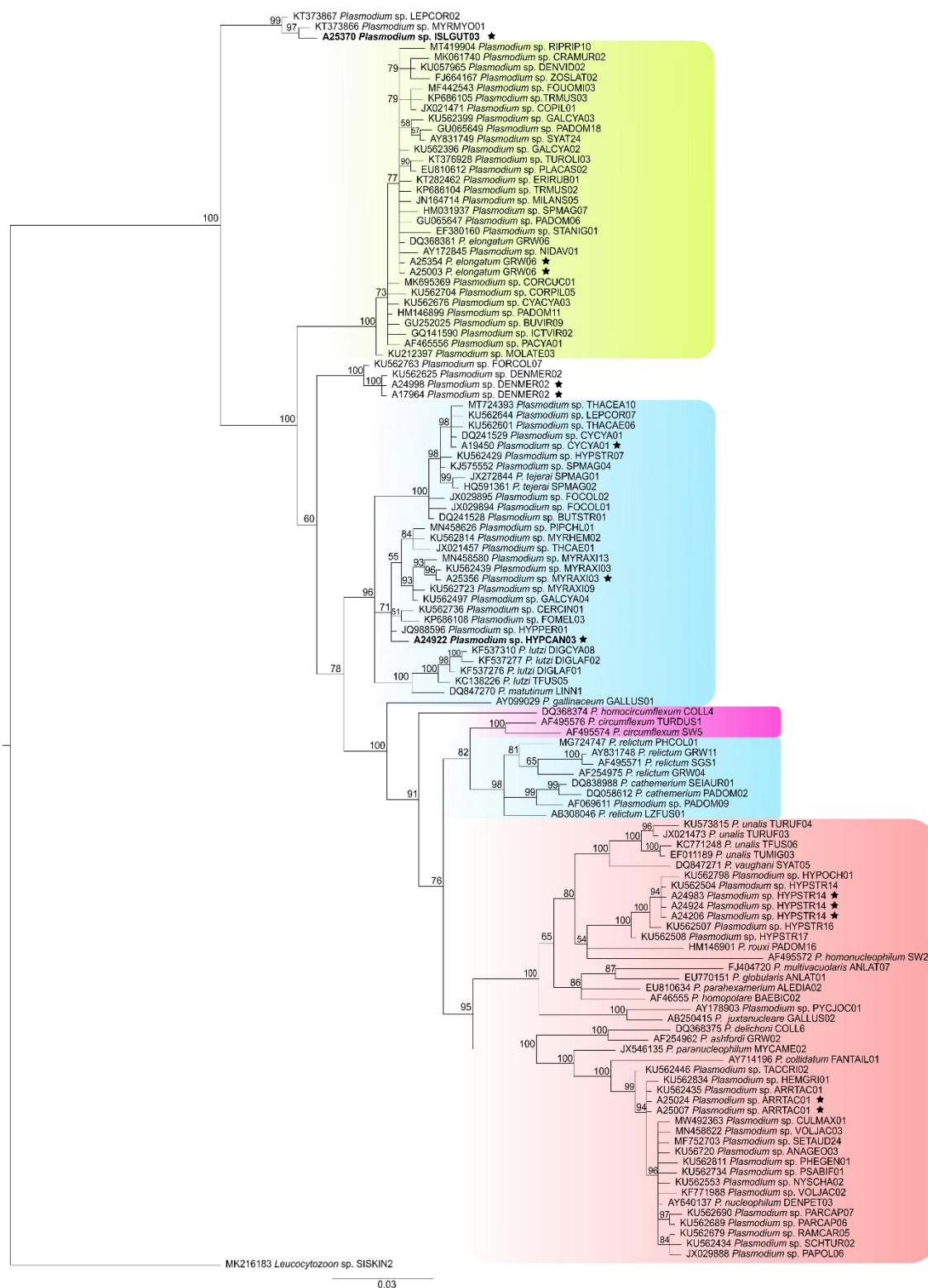


**Figura 19.** Distribuição espacial da infecção registrada (pontos vermelhos) e ausência de infecção (pontos amarelos) na comunidade aviária da área da Hidrelétrica de Balbina, Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. Os gráficos de pizza indicam as linhagens encontradas nos hospedeiros infectados por *Plasmodium* de acordo com o local de coleta da amostra.

O alinhamento final usado para a análise filogenética combinou as 13 linhagens de *Plasmodium* obtidas da área da hidrelétrica de Balbina com linhagens publicadas anteriormente no banco de dados MalAvi. Foram escolhidas linhagens muito semelhantes às linhagens deste estudo ou que representavam morfoespécies de *Plasmodium*. A análise Bayesiana resultou em uma árvore contendo vários clados distintos (desvio padrão = 0,009803) (**Figura 20**). As linhagens brasileiras foram mais frequentemente associadas a outras linhagens brasileiras, sendo alguns clados compostos exclusivamente por linhagens descritas no Brasil, como pDENMER02 e pHYPSTR14.

Após análise molecular, apresentamos a primeira descrição da linhagem pGRW06 (*Plasmodium elongatum*) na espécie hospedeira *Xiphorhynchus pardalotus*. A linhagem pDENMER02 provavelmente também pertence ao subgênero *Huffia*, uma vez que foi agrupada no mesmo clado que pGRW06.

Essa linhagem foi obtida a partir de dois indivíduos de *Formicarius colma*, espécie que ocorre em toda a Amazônia brasileira e em todos os outros países da região amazônica. As linhagens pCYCYA01, pMYRAXI03 e pHYPCAN03 provavelmente pertencem ao subgênero *Haemamoeba* enquanto as linhagens pARRTAC01 e pHYPSTR14 provavelmente pertencem ao subgênero *Novyella* de acordo com a árvore filogenética obtida (**Figura 20**).



**Figura 20.** Filogenia Bayesiana baseada nas sequências parciais do gene mitocondrial *cytb* de espécies de *Plasmodium* (479 pb). *Leucocytozoon* sp. (SISKIN2) foi utilizado como grupo externo. Os valores de suporte dos nós (em porcentagem) indicam probabilidades posteriores. A caixa verde indica as linhagens e espécies do subgênero *Muffia*, a caixa azul indica as linhagens e espécies do subgênero *Haemamoeba*, a caixa rosa claro indica as linhagens e

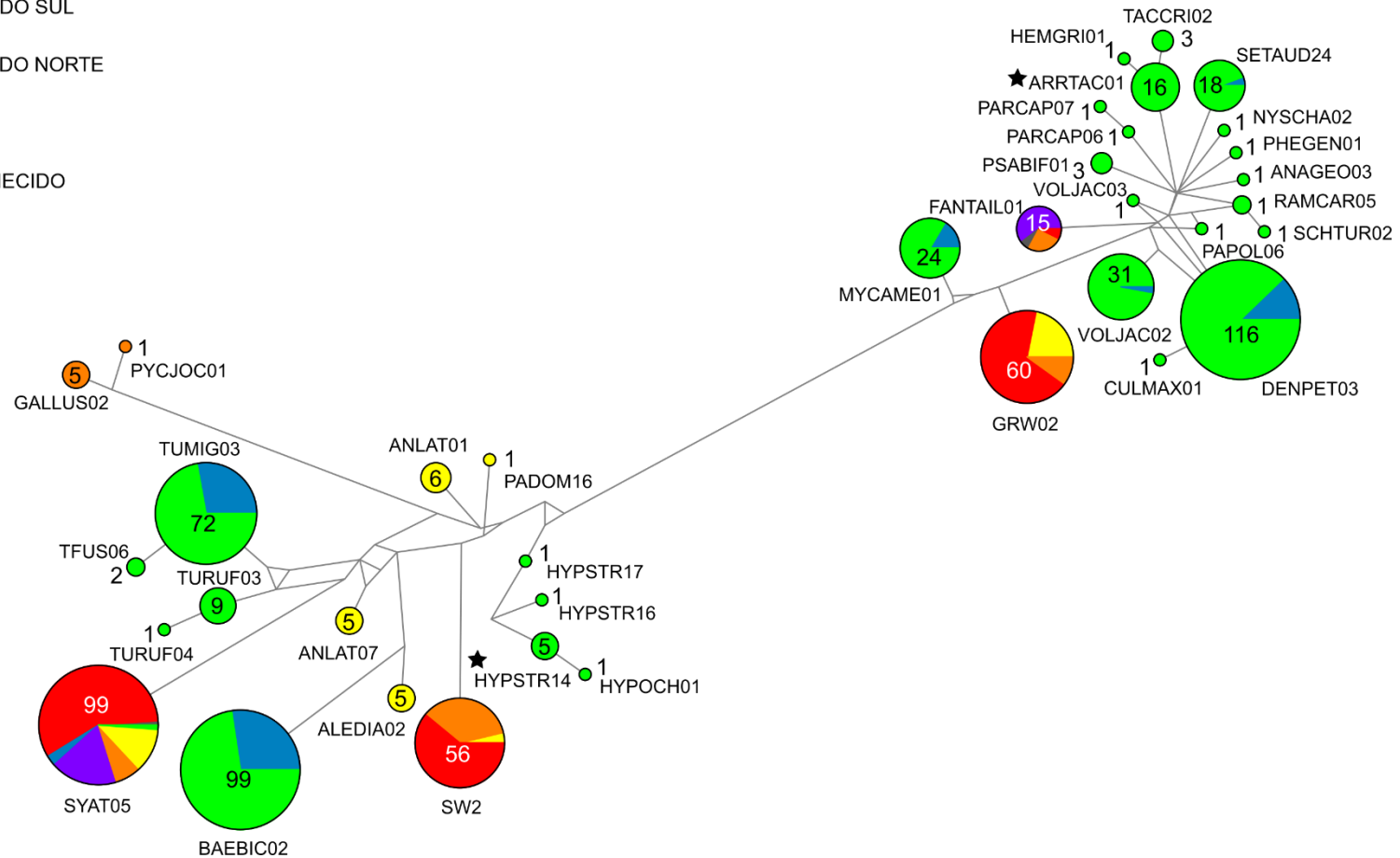
espécies do subgênero *Novyella*, e a caixa rosa escura indica as linhagens e espécies do subgênero *Giovannolaia*. As linhagens relatadas durante o presente estudo estão marcadas com uma estrela. As novas linhagens são dadas em negrito.

As linhagens obtidas neste estudo pertencentes ao subgênero *Novyella* foram divididas em dois clados: um contendo a linhagem pHYPSTR14 próxima das morfoespécies *P. unalis*, *P. vaughani*, *P. rouxi*, *P. homonucleophilum*, *P. multivacuolaris*, *P. globularis*, *P. parahexamerium*, *P. homopolare* e *P. justanucleare*; e o outro clado contendo a linhagem pARRTAC01 juntamente com as morfoespécies *P. delichoni*, *P. ashfordi*, *P. paranucleophilum*, *P. colidatum* e *P. nucleophilum*.

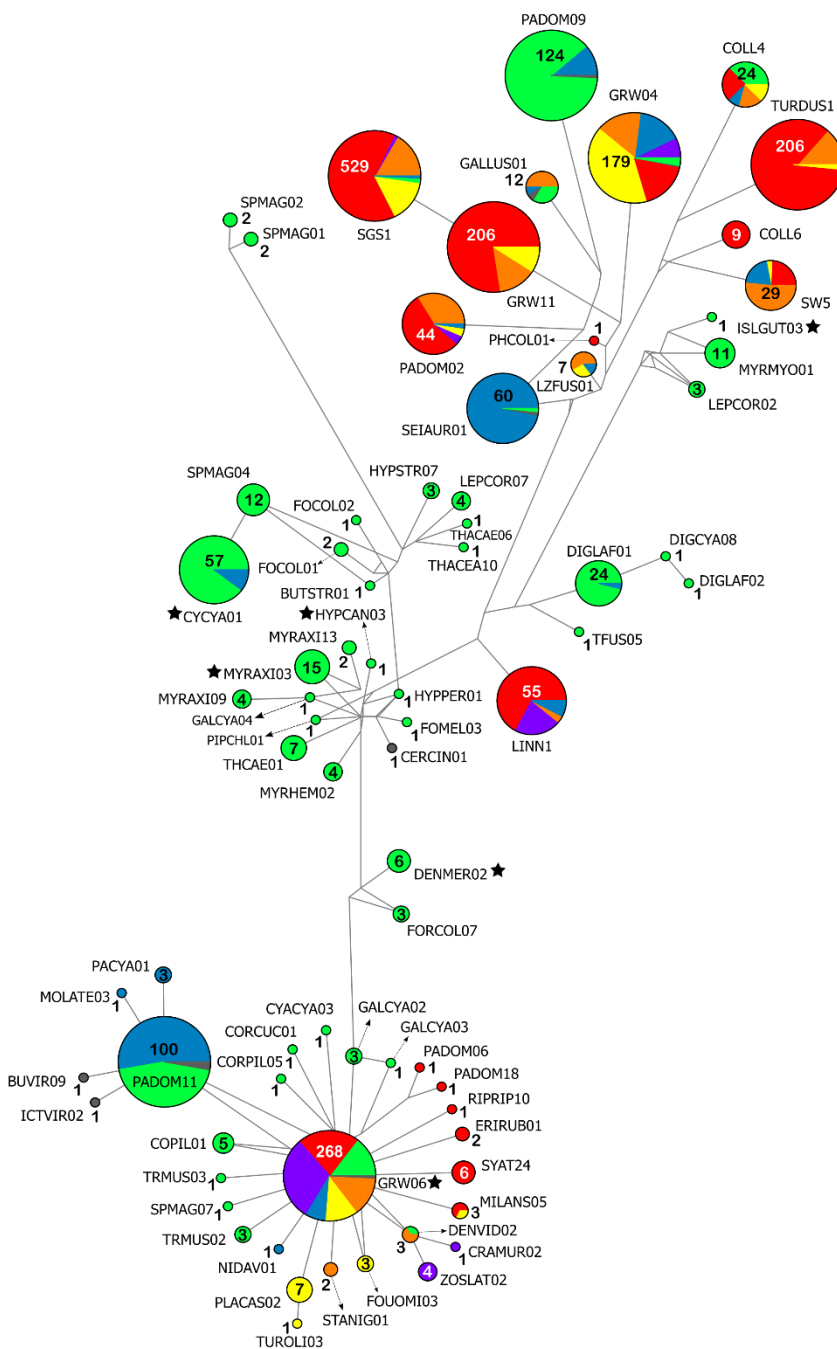
Para um melhor entendimento da distribuição dos haplótipos das linhagens de *Plasmodium*, duas redes foram construídas com as sequências obtidas neste estudo juntamente com as disponíveis no banco de dados MalAvi. As linhagens foram classificadas de acordo com a região geográfica onde foram descritas. Na primeira rede (**Figura 21**), foram utilizadas linhagens do subgênero *Novyella* e na segunda, linhagens dos demais subgêneros de *Plasmodium* (*Huffia*, *Haemamoeba* e *Giovannolaia*) (**Figura 22**). A morfoespécie que apresentou maior proximidade à linhagem pARRTAC01 foi pDENPET03 (*Plasmodium nucleophilum*), uma das linhagens mais relatadas na América do Sul. Por outro lado, a morfoespécie mais próxima à linhagem pHYPSTR14 foi *P. rouxi* (pPADOM16) e *P. homonucleophilum* (pSW2), linhagens descritas na Europa, Ásia e África (**Figura 21**). As linhagens encontradas em Balbina dos demais subgêneros de *Plasmodium* apresentaram proximidade com outras linhagens latino-americanas (exceto pGRW06, que possui ampla distribuição geográfica) (**Figura 22**).

### Região

- AMÉRICA DO SUL
- ÁFRICA
- AMÉRICA DO NORTE
- OCEANIA
- ÁSIA
- EUROPA
- DESCONHECIDO



**Figura 21.** Rede de haplótipos de DNA de *median-joining* seqüências parciais (479 pb) de *cytb* de *Plasmodium (Novyella) sp.* linhagens. Os círculos representam linhagens e seus tamanhos são proporcionais às frequências de linhagem. As cores indicam a região de origem das amostras. As etapas mutacionais foram omitidas para facilitar a visualização. As linhagens relacionadas durante o presente estudo estão marcadas com uma estrela.



**Figura 22.** Rede de haplótipos de DNA de *median-joining* de seqüências parciais (479 pb) de *cytb* de *Plasmodium (Huffia)* sp., *Plasmodium (Giovannolaia)* sp., *Plasmodium (Haemamoeba)* sp. Os círculos representam linhagens e seus tamanhos são proporcionais às frequências de linhagem. As cores indicam a região de origem das amostras. As etapas mutacionais foram omitidas para facilitar a visualização. As linhagens relacionadas durante o presente estudo estão marcadas com uma estrela.

### 4.3 Resultados obtidos em Florestal – MG

As 55 amostras de *Sporophila lineola* provenientes de Florestal - MG foram analisadas molecularmente para a presença de *Plasmodium* e *Haemoproteus*, sendo obtidos apenas resultados negativos. As amostras não foram testadas para o gênero *Leucocytozoon* pois, de acordo com o Banco de Dados MalAvi não há relatos deste gênero de hemosporídeo em aves do gênero *Sporophila* (BENSCH; HELLGREN; PÉREZ- TRIS, 2009). Também não há na região de coleta dessas amostras indícios de insetos do gênero *Simulium*, vetores desse gênero de parasitas.

## 5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS OBTIDOS

### 5.1 Discussão PESH Curucutu

Foram analisadas amostras de sangue de aves do PESH Núcleo Curucutu pertencentes a sete ordens, 21 famílias e 66 espécies, a maioria pertencente à família Tyrannidae (53,4%). Uma grande diversidade de parasitas hemosporídeos foi encontrada, incluindo linhagens *Plasmodium* e *Haemoproteus* amplamente descritas em passeriformes na Região Neotropical e Europa (banco de dados MalAvi) e também a primeira detecção molecular de linhagens de *Leucocytozoon* no Estado de São Paulo.

As linhagens de hemosporídeos pDENPET03, hELAALB01 e IELAALB05 foram as encontradas com mais frequência, sendo as duas primeiras consideradas como linhagens generalistas, já que foram relatadas anteriormente em espécies de aves pertencentes a diferentes famílias e, às vezes, até ordens (CHAGAS *et al.*, 2017; SZYMANSKI; LOVETTE, 2005), porém, a linhagem IELAALB05 foi descrita apenas na Argentina (FECCHIO *et al.*, 2020). Vale ressaltar que muitas linhagens obtidas nesse estudo foram detectadas anteriormente apenas na Argentina (pCURCUR01, IDIUDIU11, IELAALB02, hELAALB05 e hELAALB01).



Em relação à linhagem hELAALB01 do gênero *Haemoproteus* sp., é importante mencionar que esta linhagem foi descrita por Fecchio *et al.* (FECCHIO *et al.*, 2019) (sob acessos do GenBank #MK695429 e #MK695430) e é diferente de hELALB01 (LACORTE *et al.*, 2013) (apresentando 96% de identidade) (GenBank #MK981643, #MK264397, #JX029900, hELALB01). A linhagem hELALB01 é atualmente denominada hMYISWA01 de acordo com o banco de dados MalAvi.

Infelizmente, nem todas as infecções detectadas por PCR foram confirmadas por microscopia. Pudemos detectar uma ave da espécie *Turdus rufiventris* infectada com a linhagem pTUMIG03, que tem sido associada com *P. unalis* (TOSTES *et al.*, 2018). Entretanto, apesar de apresentar resultado positivo para *Plasmodium* sp. na PCR, não foram observadas estruturas compatíveis com *Plasmodium* durante a análise microscópica dos esfregaços sanguíneos. Além disso, um esfregaço positivo para *Haemoproteus* sp. apresentou resultado positivo na PCR apenas para *Plasmodium* (pSPMAG06 #HM031936) (BUENO *et al.*, 2010), sugerido como *Plasmodium lutzi* (VANSTREELS *et al.*, 2019). Sabe-se que em amostras que apresentam coinfeções, provavelmente como estas últimas citadas, os protocolos gerais de PCR tendem a favorecer a amplificação do parasita com maior parasitemia ou a amplificação da linhagem que melhor corresponde às sequências de primers, e infecções mistas frequentemente podem ser negligenciadas em estudos baseados na técnica de PCR (BERNOTIENÉ *et al.*, 2016; ZEHTINDJIEV *et al.*, 2012).

Neste estudo, a presença de gametócitos de *P. nucleophilum* (pDENPET03) foi documentada em *Elaenia albiceps* (Tyrannidae) e *Zonotrichia capensis* (Emberizidae). Esses achados implicam que este parasita tem a capacidade de completar seu ciclo de vida e produzir gametócitos infectantes nas espécies hospedeiras mencionadas.

Referente aos indivíduos amostrados da espécie *Elaenia albiceps* é necessário evidenciar que esta é uma ave endêmica da região Neotropical, migrando para o norte entre fevereiro e março, transitando da costa atlântica até a Amazônia, passando o inverno no nordeste e norte do Brasil (BRAVO; CUETO; GOROSITO, 2017; SOMENZARI *et al.*, 2018). As aves amostradas foram encontradas na região de floresta montanhosa da Serra do Mar em março de

cada ano de coleta, durante a migração desta espécie entre suas áreas de reprodução no sul da América do Sul e suas áreas de inverno no nordeste do Brasil (JIMÉNEZ *et al.*, 2016; MARINI; CAVALCANTI, 1990). Durante a migração, essas aves permanecem por alguns dias na região de Curucutu, onde se alimentam de frutas no alto da floresta serrana (Dr. F. Schunck observação pessoal).

As linhagens de *Leucocytozoon* encontradas em *E. albiceps* apresentaram total similaridade genética com linhagens previamente descritas na Argentina, indicando um possível fluxo desses hemossporídeos entre a Argentina e o Brasil. Porém não se pode inferir que esta espécie seja hospedeira competente do parasita (caracterizado pela presença de gametócitos em esfregaços sanguíneos), mas se tem o conhecimento que os indivíduos de *E. albiceps* da Argentina voam primeiro para a costa atlântica do Brasil, onde se situa o PESH, e em seguida, movimentam-se para a região Central do Brasil (Cerrado) e sabe-se que nenhuma ave passa o inverno na região do oeste da cordilheira dos Andes (ou seja, Peru, Equador e Colômbia) (BRAVO; CUETO; GOROSITO, 2017).

Também encontramos a linhagem ITROAED02 em *E. albiceps*, uma linhagem inicialmente identificada no Peru em *Troglodytes aedon* (GALEN; WITT, 2014), mas bastante generalista na Colômbia, onde já foi descrita infectando 25 espécies aviárias diferentes (PULGARÍN- R *et al.*, 2019). Em um estudo recente publicado por (FECCHIO *et al.*, 2018) foi associada a escassez de infecções por *Leucocytozoon* em locais que apresentam temperaturas mais elevadas nas planícies tropicais, contrária a falta de oportunidades de transmissão, já que os vetores para este gênero (moscas da família Simuliidae) são abundantes e diversificados nessas regiões de planície. No entanto, as condições de temperatura nas planícies tropicais dificilmente são fatores limitantes para a transmissão da infecção por este gênero, pois os parasitas de *Leucocytozoon* são prevalentes em florestas tropicais de condições similares, na África e Ásia (CHASAR *et al.*, 2009).

Sendo assim, pode-se observar que a dissimilaridade das espécies de vetores poderia explicar a falta de transmissão nessa área de estudo (PESH Curucutu). A hipótese proposta aqui é que espécies de *Leucocytozoon* spp.

infectam *E. albiceps* na região da Patagônia (onde é frio e há maior abundância de vetores) e a transmissão do *Leucocytozoon* é interrompida quando essas aves entram no Brasil. De fato, já foi descrito que *Leucocytozoon* sp. apresenta um gradiente latitudinal inverso na probabilidade de infecção e diversidade filogenética em aves do Novo Mundo, com maior prevalência e diversidade de linhagens em direção aos polos, ou seja, em regiões de temperaturas mais baixas (FECCHIO *et al.*, 2020).

A maior probabilidade de uma ave se infectar com *Leucocytozoon* sp. em regiões com verões mais frios e em direção aos pólos, como a região da Patagônia Argentina, que tem maior prevalência desses parasitas do que o Brasil, indica que é possível que *E. albiceps* possa estar transportando esses patógenos durante suas viagens migratórias. No entanto, nossa falha em detectar esses parasitas em esfregaços sanguíneos pode indicar que parasitas do gênero *Leucocytozoon* sp. não apresentaram capacidade de evolução necessária para completar seu ciclo de vida e produzir gametócitos nesta espécie hospedeira devido ao possível desenvolvimento abortivo em hospedeiros não adaptados (VALKIŪNAS *et al.*, 2014).

No desenvolvimento abortivo do parasita, apenas os estágios teciduais se desenvolvem e os merozoítos ou remanescentes dos estágios teciduais (sincícios) aparecem na circulação sendo possível a amplificação por PCR. Entretanto, o parasita não invade os eritrócitos, impossibilitando a detecção por microscopia de esfregaços sanguíneos (SZYMANSKI; LOVETTE, 2005; VALKIŪNAS *et al.*, 2014). Neste estudo, possivelmente *Leucocytozoon* não evoluiu nas aves hospedeiras do gênero *Elaenia*, não sendo capaz de infectar as espécies vetoras posteriormente. Por outro lado, talvez os parasitas persistam nos estágios teciduais durante a migração e os gametócitos se mostrem ausentes, mas uma recaída nessas aves pode ocorrer nos locais de reprodução e os gametócitos aparecerem. É relevante mencionar que assim como em nosso estudo, *Leucocytozoon* sp. ainda não foi encontrado em esfregaços sanguíneos de aves brasileiras.

Por fim, embora possivelmente não seja o caso dos parasitas de *Leucocytozoon*, nosso trabalho sugere que *E. albiceps* tem o potencial de dispersar hemosporídeos por longas distâncias, mas que tal dispersão pode ser

taxonomicamente restrita a certos gêneros e linhagens, provavelmente linhagens generalistas como pDENPET03.

## 5.2 Discussão Balbina – AM

A construção de hidrelétricas é um fator de perda de biodiversidade, sendo que, na criação das ilhas subsequentes à inundação, sua maioria torna-se inapta a sustentar as comunidades de aves que antes habitavam uma floresta intacta (DIAS *et al.*, 2018). Este é o primeiro estudo sobre a prevalência de hemosporídeos realizado em áreas que foram artificialmente inundadas por ações humanas. Foram analisadas amostras de sangue de aves coletadas na área da Hidrelétrica de Balbina, na região amazônica brasileira. A prevalência de hemosporídeos encontrada (2,9%) foi muito inferior à encontrada em outros estudos na Amazônia (média de 14,5% considerando 26 localidades, FECCHIO *et al.*, 2018), e apenas infecções por *Plasmodium* foram relatadas nesse estudo. Todas as aves analisadas nesta parte do estudo são espécies residentes, exceto *Catharus fuscescens*, uma pequena espécie de sabiá norte-americano, cujo habitat de reprodução é a floresta decídua úmida no sul do Canadá e no norte dos Estados Unidos. Elas migram para o leste da América do Sul com uma faixa de invernada que pode incluir toda a bacia amazônica (IUCN, 2019).

Essa área de estudo é composta por ilhas artificialmente inundadas. Sendo assim, não apresenta movimentação de água e favorece somente os vetores culicídeos, que não têm a capacidade de transmissão de *Leucocytozoon* (SANTIAGO-ALARCON, PALINAUSKAS; SCHAEFER, 2012). Portanto, foram selecionadas apenas 38% das amostras coletadas, pertencentes a 29 espécies, 16 famílias e 4 ordens (Coraciiformes, Galbuliformes, Passeriformes e Piciformes), para o teste de *Leucocytozoon*, não havendo amostras positivas dentre essas. A ausência de infecções por *Leucocytozoon* em Balbina está de acordo com a maioria dos estudos que pesquisaram este gênero de parasita na Região Amazônica (FECCHIO *et al.*, 2020; FORRESTER; GREINER, 2008; WHITE *et al.*, 1978), embora infecções raras causadas por este gênero já foram relatadas em uma única população hospedeira na Amazônia brasileira

(FECCHIO *et al.*, 2020). Pode ser considerado que a falta de infecções por *Leucocytozoon* em Balbina não pode ser atribuída à ação antrópica. Foi demonstrado em estudos prévios que a prevalência de parasitas *Leucocytozoon* diminuiu em direção ao equador (FECCHIO *et al.*, 2020) e com elevação (FECCHIO; LIMA; *et al.*, 2021), tornando raro o encontro dessas infecções na região da Amazônia brasileira, uma floresta tropical de baixa elevação.

Já a ausência de infecções por *Haemoproteus* nessas aves amostradas em Balbina pode ser explicada pela baixa prevalência de hemosporídeos nessa área, associada ao conhecimento de que as infecções por *Plasmodium* foram significativamente mais frequentes do que por *Haemoproteus* na Região Amazônica (FECCHIO *et al.*, 2018). Além disso, o grande reservatório criado pela barragem de Balbina pode não ser adequado para os mosquitos ceratopogonídeos, vetores de *Haemoproteus* (subgênero *Parahaemoproteus*).

Seis linhagens encontradas foram anteriormente descritas na região amazônica, enquanto duas são linhagens inteiramente novas de *Plasmodium* (pHYPCAN03 e pISLGUT03). Além disso, com exceção da linhagem de ocorrência generalizada (pGRW06), as linhagens encontradas na área da Hidrelétrica de Balbina são transmitidas predominantemente na América do Sul (pCYCYA01, pMYRAXI03, pARRTAC01) ou exclusivamente em espécies do Brasil (pDENMER02 e pHYPSTR14) (**Apêndice B**).

De acordo com o banco de dados MalAvi, a linhagem pGRW06 (*Plasmodium elongatum*) já foi descrita em 88 espécies pertencentes a 69 gêneros, 38 famílias e 13 ordens em todos os continentes. Neste estudo, a linhagem foi encontrada em dois indivíduos de duas espécies (*Turdus albicollis* e *Xiphorhynchus pardalotus*), pertencentes a duas famílias de Passeriformes. A linhagem pARRTAC01 foi relatada em dois indivíduos de *Turdus albicollis* (primeira descrição nesta espécie de ave), mas já foi encontrada no Brasil anteriormente em muitas outras espécies e também já foi descrita na Bolívia (DOUSSANG *et al.*, 2019). A linhagem pHYPSTR14 foi encontrada em três indivíduos de *Hypocnemis cantator* e já foi relatada em *Hypocnemis striata* do Brasil (**Apêndice B**). A linhagem pCYCYA01 foi encontrada na ave *Hypocnemis cantator* (primeira descrição na espécie, mas não no gênero) e já foi descrita na Guiana, Brasil (incluindo Região Amazônica), Estados Unidos e Peru.

MYRAXI03 foi encontrada em *Myrmotherula axillaris*, a mesma espécie de sua primeira descrição no Brasil, e também foi relatada no Peru (**Apêndice B**).

Também é importante destacar que *Hypocnemis cantator* foi a única espécie que mostrou relação entre os níveis de corticosterona das penas e a fragmentação florestal nas ilhas Balbina (BICUDO *et al.*, 2020). Os hormônios glicocorticóides do estresse, como a corticosterona, são amplamente considerados imunossupressores (MUNCK; GUYRE; HOLBROOK, 1984) e podem ter causado uma maior suscetibilidade à infecção por *Plasmodium* nas populações de *Hypocnemis cantator* desse local. Por outro lado, estudos anteriores mostraram que esta espécie de ave hospedeira pode ser altamente infectada em outras comunidades de aves amazônicas com diferentes graus de perturbação humana (FECCHIO *et al.*, 2021).

Neste estudo, a porcentagem de identificação de linhagens novas (25%) foi baixa em comparação com outro estudo em aves amazônicas (90,7%, FECCHIO *et al.*, 2017). Entretanto, vale destacar a grande variedade de espécies e locais amostrados neste estudo anterior, além do elevado número de amostras analisadas (FECCHIO *et al.*, 2017). Portanto, pode-se esperar que quanto mais estudos forem realizados nessa região, a quantidade de linhagens novas identificadas será menor. No entanto, é necessário reforçar que uma amostragem cuidadosa de diferentes comunidades de aves da Amazônia tem potencial para descobrir linhagens novas e endêmicas de *Plasmodium* aviário.

Com exceção de pGRW06, uma linhagem generalista, todas as demais linhagens encontradas na área da Hidrelétrica de Balbina foram encontradas em um único hospedeiro (87,5%), valor superior ao encontrado em outros estudos realizados na região Amazônica (76%, FECCHIO *et al.*, 2017). E a análise das redes de haplótipos de DNA nos permitiu a identificação de grupos distintos de linhagens; alguns ainda não ligados a morfoespécies e que provavelmente pertencem a espécies de parasitas ainda não descritas.

Por fim, a construção de usinas hidrelétricas pode afetar a fauna local e levar à extinção de algumas espécies (DIAS *et al.*, 2018), o que inclui não apenas os vertebrados, mas também pode interferir na diversidade e abundância de vetores. Durante o levantamento faunístico realizado após o represamento da Hidrelétrica de Balbina, um número consideravelmente baixo de aves foi

registrado em relação ao total de espécies de aves registradas antes da inundação (CABRAL; DE MATTOS; ROSAS, 2008). No entanto, ainda não há informações acerca da diversidade de potenciais vetores hemosporídeos nessa região, sendo necessária uma maior investigação para elucidar o entendimento do ciclo de vida complexo desses parasitas.

## 6. CONCLUSÕES

- Nosso estudo molecular e morfológico no PESM Curucutu determinou a prevalência e diversidade molecular de patógenos em espécies de aves hospedeiras.
- Aliando análise morfológica e molecular, descrevemos uma nova espécie: *Haemoproteus nucleocentralis* (hTANDES01).
- Foi observado nessa região, que espécies migratórias apresentaram maior nível de infecção do que aves residentes.
- Mesmo tendo sido detectado molecularmente a presença de *Leucocytozoon* spp. de forma numerosa nas aves migratórias *Elaenia albiceps*, não foram observados gametócitos desse gênero nos esfregaços sanguíneos.
- Foi demonstrado que espécies migratórias podem abrigar uma maior diversidade e prevalência de parasitas do que espécies residentes, mas o transporte de alguns parasitas por hospedeiros migratórios nem sempre pode afetar a transmissão local.
- Já em Balbina - AM supõe-se que as inundações antropogênicas nas últimas duas décadas nesta região da Amazônia podem ter interrompido as relações parasita-hospedeiro, levando à prevalência extremamente baixa de *Plasmodium* nessas comunidades insulares.
- Por fim, a escassez de infecção por hemosporídeos nesta porção da Amazônia pode ser resultado da extinção local tanto de linhagens de parasitas quanto de vetores competentes.



## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho proporcionou um vislumbre da prevalência e diversidade de hemosporídeos na região da Amazônia e Mata Atlântica reforçando a importância do estudo da malária aviária em aves silvestres da região Neotropical. Estudos futuros, utilizando amostras de outros biomas brasileiros como Pantanal e Cerrado, podem auxiliar na compreensão dos níveis de incidência e diversidade de hemosporídeos no Brasil em comparação com outros biomas como o Andino Patagônico. Assim, o compartilhamento de linhagens pode ser verificado, levando em consideração as espécies migratórias que fazem rota entre esses biomas.

Por fim, cabe ressaltar o esforço despendido nesse estudo para a utilização de técnicas de microscopia óptica, visando à formação de taxonomistas com expertise nesses parasitas (atualmente tão escassos) e contribuindo para que as ferramentas de identificação possam ser aplicadas de forma eficiente, aliando técnicas moleculares e análises filogenéticas a características morfológicas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATKINSON, Carter T.; DUSEK, R. J.; WOODS, K. L.; IKO, W. M. PATHOGENICITY OF AVIAN MALARIA IN EXPERIMENTALLY-INFECTED HAWAII AMAKIHI. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 2, p. 197–201, abr. 2000. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-36.2.197>.

ATKINSON, Carter T.; THOMAS, N. J.; HUNTER, D. B. (Orgs.). **Parasitic diseases of wild birds**. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2008.

ATKINSON, C.T.; VAN RIPER III, C. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Haemoproteus, and Leucocytozoon. In: LOYE, J. E. ; ZUK, M. Bird-parasite interactions: Ecology, evolution, and behavior. London: **Oxford University Press**, 1991. p. 19–48.

AURÉLIO-SILVA, M.; ANCIÃES, M.; HENRIQUES, L. M. P.; BENCHIMOL, M.; PERES, C. A. Patterns of local extinction in an Amazonian archipelagic avifauna following 25 years of insularization. **Biological Conservation**, v. 199, p. 101–109, jul. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2016.03.016>.

BAILLIE, S. M.; BRUNTON, D. H. Diversity, distribution and biogeographical origins of *Plasmodium* parasites from the New Zealand bellbird (*Anthornis melanura*). **Parasitology**, v. 138, n. 14, p. 1843–1851, dez. 2011. <https://doi.org/10.1017/S0031182011001491>.

BARROW, L. N.; BAUERNFEIND, S. M.; CRUZ, P. A.; WILLIAMSON, J. L.; WILEY, D. L.; FORD, J. E.; BAUMANN, M. J.; BRADY, S. S.; CHAVEZ, A. N.; GADEK, C. R.; GALEN, S. C.; JOHNSON, A. B.; MAPEL, X. M.; MARROQUIN-FLORES, R. A.; MARTINEZ, T. E.; MCCULLOUGH, J. M.; MCLAUGHLIN, J. E.; WITT, C. C. Detecting turnover among complex communities using null models: a case study with sky-island haemosporidian parasites. **Oecologia**, v. 195, n. 2, p. 435–451, fev. 2021. <https://doi.org/10.1007/s00442-021-04854-6>.

BECKER, P. H. Chapter 19 Biomonitoring with birds. Trace Metals and other Contaminants in the Environment. **Elsevier**, 2003. v. 6, p. 677–736. DOI 10.1016/S0927-5215(03)80149-2. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927521503801492>. Acesso em: 4 fev. 2022.

BEGON, M.; TOWNSEND, C. R., Harper, John L.; MELO, A. S. **Ecologia: De Indivíduos a Ecosistemas**. Porto Alegre: Artmed, 2007.

BENCHIMOL, M.; PERES, C. A. Edge-mediated compositional and functional decay of tree assemblages in Amazonian forest islands after 26 years of isolation. **Journal of Ecology**, v. 103, n. 2, p. 408–420, mar. 2015. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12371>.

BENNING, T. L.; LAPOINTE, D.; ATKINSON, C. T.; VITOUSEK, P. M. Interactions of climate change with biological invasions and land use in the

Hawaiian Islands: Modeling the fate of endemic birds using a geographic information system. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 22, p. 14246–14249, 29 out. 2002. <https://doi.org/10.1073/pnas.162372399>.

BENSCH, S.; PÉAREZ-TRIS, J.; WALDENSTRÖUM, 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, jul. 2004. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb01742.x>.

BERNOTIENĖ, R.; PALINAUSKAS, V.; IEZHOVA, T.; MURAUŠKAITĖ, D.; VALKIŪNAS, G. Avian haemosporidian parasites (Haemosporida): A comparative analysis of different polymerase chain reaction assays in detection of mixed infections. **Experimental Parasitology**, v. 163, p. 31–37, abr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2016.01.009>.

BICUDO, T.; ANCIÃES, M.; ARREGUI, L.; GIL, D. Effects of Forest Fragmentation on Feather Corticosterone Levels in an Amazonian Avian Community. **Ardeola**, v. 67, n. 2, p. 229, 28 fev. 2020. <https://doi.org/10.13157/arla.67.2.2020.ra1>.

BRAGA, É. 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, n. suppl 1, p. 3–11, ago. 2011. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762011000900002>.

BUENO, A. S.; PERES, C. A. Patch-scale biodiversity retention in fragmented landscapes: Reconciling the habitat amount hypothesis with the island biogeography theory. **Journal of Biogeography**, v. 46, n. 3, p. 621–632, mar. 2019. <https://doi.org/10.1111/jbi.13499>.

CABLE, J.; BARBER, I.; BOAG, B.; ELLISON, A. R.; MORGAN, E. R.; MURRAY, K.; PASCOE, E. L.; SAIT, S. M.; WILSON, A. J.; BOOTH, M. Global change, parasite transmission and disease control: lessons from ecology. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, n. 1719, p. 20160088, 2017. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0088>.

CANARD, E. F.; MOUQUET, N.; MOUILLOT, D.; STANKO, M.; MIKLISOVA, D.; GRAVEL, D. Empirical Evaluation of Neutral Interactions in Host-Parasite Networks. **The American Naturalist**, v. 183, n. 4, p. 468–479, abr. 2014. <https://doi.org/10.1086/675363>.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Chromista and its eight phyla: a new synthesis emphasising periplastid protein targeting, cytoskeletal and periplastid evolution, and ancient divergences. **Protosplasma**, v. 255, n. 1, p. 297–357, jan. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00709-017-1147-3>.

CHAGAS, C. R. F. Plasmodium spp. em aves silvestres da Fundação Parque Zoológico de São Paulo: identificação de espécies por microscopia e sequenciamento do gene mitocondrial citocromo b. 2016. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

CHAGAS, C. R. F.; BUKAUSKAITĖ, D.; ILGŪNAS, M.; IEZHOVA, T.; VALKIŪNAS, G. A new blood parasite of leaf warblers: molecular characterization, phylogenetic relationships, description and identification of vectors. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 538, dez. 2018. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3109-9>.

CHAGAS, C. R. F.; BINKIENĖ, R.; VALKIŪNAS, G. Description and Molecular Characterization of Two Species of Avian Blood Parasites, with Remarks on Circadian Rhythms of Avian Haematozoa Infections. **Animals**, v. 11, n. 12, p. 3490, 7 dez. 2021. <https://doi.org/10.3390/ani11123490>.

CILOGLU, A.; ERGEN, A. G.; INCI, A.; DIK, B.; DUZLU, O.; ONDER, Z.; YETISMIS, G.; BENSCH, S.; VALKIŪNAS, G.; YILDIRIM, A. Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites at an intersection point of bird migration routes: Sultan Marshes National Park, Turkey. **Acta Tropica**, v. 210, p. 105465, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105465>.

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, abr. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.01.004>.

COCKREM, J. F. Corticosterone responses and personality in birds: Individual variation and the ability to cope with environmental changes due to climate change. **General and Comparative Endocrinology**, v. 190, p. 156–163, set. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.021>.

COCKREM, J. F. Stress, corticosterone responses and avian personalities. **Journal of Ornithology**, v. 148, n. S2, p. 169–178, dez. 2007. <https://doi.org/10.1007/s10336-007-0175-8>.

COLLAR, N. J.; WEGE, D. C.; LONG, A. J. Patterns and Causes of Endangerment in the New World Avifauna. **Ornithological Monographs**, n. 48, p. 237–260, jan. 1997. <https://doi.org/10.2307/40157536>.

COMICHE, K. J. M. Malária aviária: desenvolvimento eritrocítico de parasitas através de infecção experimental, identificação e classificação de novas espécies de hemosporídeos. 2019. Mestrado em Doenças Tropicais e Saúde Internacional – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2019. DOI 10.11606/D.99.2019.tde-26092019-080035. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/99/99131/tde-26092019-080035/>.

DARDANELLI, S.; NORES, M. L.; NORES, M. Minimum Area Requirements of Breeding Birds in Fragmented Woodland of Central Argentina. **Diversity and Distributions**, v. 12, n. 6, p. 687–693, 2006.

DE CASTRO, F.; BOLKER, B. Mechanisms of disease-induced extinction: Mechanisms of disease-induced extinction. **Ecology Letters**, v. 8, n. 1, p. 117–126, 3 dez. 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00693.x>.

DE PIACENTINI, V. Q.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; MAURÍCIO, G. N.; PACHECO, J. F.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; NAKA, L. N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; SILVEIRA, L. F.; BETINI, G. S.; CARRANO, E.; FRANZ, I.; LEES, A. C.; LIMA, L. M.; PIOLI, D.; SCHUNCK, F.; DO AMARAL, F. R.; ... CESARI, E. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee / Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. **Revista Brasileira de Ornitologia**, v. 23, n. 2, p. 91–298, jun. 2015. <https://doi.org/10.1007/BF03544294>.

DE SOUZA DIAS, V.; PEREIRA DA LUZ, M.; MEDERO, G.; TARLEY FERREIRA NASCIMENTO, D. An Overview of Hydropower Reservoirs in Brazil: Current Situation, Future Perspectives and Impacts of Climate Change. **Water**, v. 10, n. 5, p. 592, 2018. <https://doi.org/10.3390/w10050592>.

DEBROCK, S.; COHEN, E.; BALASUBRAMANIAN, S.; MARRA, P. P.; HAMER, S. A. Characterization of the Plasmodium and Haemoproteus parasite community in temperate-tropical birds during spring migration. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 15, p. 12–21, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.03.013>.

DURRANT, K. L.; BEADELL, J. S.; ISHTIAQ, F.; GRAVES, G. R.; OLSON, S. L.; GERING, E.; PEIRCE, M. A.; MILENSKY, C. M.; SCHMIDT, B. K.; GEBHARD, C.; FLEISCHER, R. C. Avian Hematozoa in South America: A Comparison of Temperate and Tropical Zones. **Ornithological Monographs**, n. 60, p. 98–111, jan. 2006. <https://doi.org/10.2307/40166831>.

FAHRIG, L. Ecological Responses to Habitat Fragmentation Per Se. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 48, n. 1, p. 1–23, 2 nov. 2017. <https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-110316-022612>.

FECCHIO, A.; CLARK, N. J.; BELL, J. A.; SKEEN, H. R.; LUTZ, H. L.; DE LA TORRE, G. M.; VAUGHAN, J. A.; TKACH, V. V.; SCHUNCK, F.; FERREIRA, F. C.; BRAGA, É. M.; LUGARINI, C.; WAMITI, W.; DISPOTO, J. H.; GALEN, S. C.; KIRCHGATTER, K.; SAGARIO, M. C.; CUETO, V. R.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; ... KAMATH, P. Global drivers of avian haemosporidian infections vary across zoogeographical regions. **Global Ecology and Biogeography**, v. 30, n. 12, p. 2393–2406, dez. 2021. <https://doi.org/10.1111/geb.13390>.

FECCHIO, A.; LIMA, M. R.; BELL, J. A.; SCHUNCK, F.; CORRÊA, A. H.; BECO, R.; JAHN, A. E.; FONTANA, C. S.; DA SILVA, T. W.; REPENNING, M.; BRAGA, É. M.; GARCIA, J. E.; LUGARINI, C.; SILVA, J. C. R.; ANDRADE, L. H. M.;

DISPOTO, J. H.; DOS ANJOS, C. C.; WECKSTEIN, J. D.; KIRCHGATTER, K.; DE LA TORRE, G. M. Loss of forest cover and host functional diversity increases prevalence of avian malaria parasites in the Atlantic Forest. **International Journal for Parasitology**, v. 51, n. 9, p. 719–728, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2021.01.001>.

FELDMAN, R. A.; FREED, L. A.; CANN, R. L. A PCR test for avian malaria in Hawaiian birds. **Molecular Ecology**, v. 4, n. 6, p. 663–674, dez. 1995. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1995.tb00267.x>.

FRÄNZLE, O. Chapter 2 Bioindicators and environmental stress assessment. **Trace Metals and other Contaminants in the Environment**. [S. l.]: Elsevier, 2003. v. 6, p. 41–84. DOI 10.1016/S0927-5215(03)80132-7. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927521503801327>. Acesso em: 4 fev. 2022.

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, 1 dez. 2010. <https://doi.org/10.1645/GE-2531.1>.

GREINER, E. C.; BENNETT, G. F.; WHITE, E. M.; COOMBS, R. F. Distribution of the avian hematozoa of North America. **Canadian Journal of Zoology**, v. 53, n. 12, p. 1762–1787, 1 dez. 1975. <https://doi.org/10.1139/z75-211>.

GROFF, T. C.; LORENZ, T. J.; IEZHOVA, T. A.; VALKIŪNAS, G.; SEHGAL, R. N. M. Description and molecular characterization of novel Leucocytozoon parasite (Apicomplexa: Haemosporida: Leucocytozoidae), Leucocytozoon polynuclearis n. sp. found in North American woodpeckers. **Systematic Parasitology**, v. 99, n. 1, p. 103–114, fev. 2022. <https://doi.org/10.1007/s11230-021-10019-z>.

HELLGREN; 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, ago. 2004. <https://doi.org/10.1645/GE-184R1>.

HENNING, L.; FELGER, I.; BECK, H.-P. Rapid DNA extraction for molecular epidemiological studies of malaria. **Acta Tropica**, v. 72, n. 2, p. 149–155, mar. 1999. [https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(98\)00090-4](https://doi.org/10.1016/S0001-706X(98)00090-4).

HUDSON, P. Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 13, n. 10, p. 387–390, 1 out. 1998. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01475-X](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01475-X).

IBGE. Mapa de Biomas do Brasil. 2019. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/geociencias/informacoes-ambientais/estudos-ambientais/15842-biomas.html>.

ICMBIO. Livro Vermelho da Fauna Brasileira Ameaçada de Extinção: Volume III - Aves. Brasília: ICMBio, 2018. p. 4162.

ILLERA, J. C.; LÓPEZ, G.; GARCÍA-PADILLA, L.; MORENO, Á. Factors governing the prevalence and richness of avian haemosporidian communities within and between temperate mountains. **PLOS ONE**, v. 12, n. 9, p. e0184587, 7 set. 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184587>.

IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species. 2019. Disponível em: <https://www.iucnredlist.org>.

JARVI, S. I.; SCHULTZ, J. J.; ATKINSON, C. T. PCR DIAGNOSTICS UNDERESTIMATE THE PREVALENCE OF AVIAN MALARIA (*PLASMODIUM RELICTUM*) IN EXPERIMENTALLY-INFECTED PASSERINES. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 1, p. 153–158, 2002. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2002\)088\[0153:PDUTPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0153:PDUTPO]2.0.CO;2).

KOCHER, T. D.; THOMAS, W. K.; MEYER, A.; EDWARDS, S. V.; PAABO, S.; VILLABLANCA, F. X.; WILSON, A. C. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 86, n. 16, p. 6196–6200, 1 ago. 1989. <https://doi.org/10.1073/pnas.86.16.6196>.

LAFFERTY, K. D. The ecology of climate change and infectious diseases. **Ecology**, v. 90, n. 4, p. 888–900, abr. 2009. <https://doi.org/10.1890/08-0079.1>.  
LAINSON, R.; LANDAU, I.; SHAW, J. J. Further parasites of the family Garniidae (Coccidiida: Haemosporidiidea) in Brazilian lizards. *Fallisia effusa* gen.nov., sp.nov. and *Fallisia modesta* gen.nov., sp.nov. **Parasitology**, v. 68, n. 2, p. 117–125, abr. 1974. <https://doi.org/10.1017/S0031182000045650>.

LEES, A. C.; PERES, C. A.; FEARNside, P. M.; SCHNEIDER, M.; ZUANON, J. A. S. Hydropower and the future of Amazonian biodiversity. **Biodiversity and Conservation**, v. 25, n. 3, p. 451–466, mar. 2016. <https://doi.org/10.1007/s10531-016-1072-3>.

LEVIN, I. I.; COLBORN, R. E.; KIM, D.; PERLUT, N. G.; RENFREW, R. B.; PARKER, P. G. Local parasite lineage sharing in temperate grassland birds provides clues about potential origins of Galapagos avian *Plasmodium*. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 3, p. 716–726, fev. 2016. <https://doi.org/10.1002/ece3.1894>.

LI, J.; WIRTZ, R. A.; MCCONKEY, G. A.; SATTABONGKOT, J.; WATERS, A. P.; ROGERS, M. J.; MCCUTCHAN, T. F. Plasmodium: Genus-Conserved Primers for Species Identification and Quantitation. **Experimental Parasitology**, v. 81, n. 2, p. 182–190, set. 1995. <https://doi.org/10.1006/expr.1995.1107>.

LOISEAU, C.; HARRIGAN, R. J.; BICHET, C.; JULLIARD, R.; GARNIER, S.; LENDVAI, Á. Z.; CHASTEL, O.; SORCI, G. Predictions of avian Plasmodium

expansion under climate change. **Scientific Reports**, v. 3, n. 1, p. 1126, dez. 2013. <https://doi.org/10.1038/srep01126>.

LOTTA, I. A.; PACHECO, M. A.; ESCALANTE, A. A.; GONZÁLEZ, A. D.; MANTILLA, J. S.; MONCADA, L. I.; ADLER, P. H.; MATTA, N. E. Leucocytozoon Diversity and Possible Vectors in the Neotropical highlands of Colombia. **Protist**, v. 167, n. 2, p. 185–204, abr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2016.02.002>.  
MACARTHUR, R. H.; WILSON, E. O. An Equilibrium Theory of Insular Zoogeography. **Evolution**, v. 17, n. 4, p. 373, dez. 1963. <https://doi.org/10.2307/2407089>.

MARCONDES, C. B. **Entomologia médica e veterinária**. 2. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2011.

MARKERT, B. A.; BREURE, A. M.; ZECHMEISTER, H. G. **Bioindicators and Biomonitoring**. Burlington: Elsevier, 2003. Disponível em: [http://www.123library.org/book\\_details/?id=38872](http://www.123library.org/book_details/?id=38872). Acesso em: 4 fev. 2022.

MARTINSEN, E. S.; PERKINS, S. L.; 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, abr. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.11.012>.

MARZAL, A.; LOPE, F. de; NAVARRO, C.; MOLLER, A. P. Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. **Oecologia**, v. 142, n. 4, p. 541–545, fev. 2005. <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1757-2>.

MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; BROOKS, T. M.; PILGRIM, J. D.; KONSTANT, W. R.; DA FONSECA, G. A. B.; KORMOS, C. Wilderness and biodiversity conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 18, p. 10309–10313, 2 set. 2003. <https://doi.org/10.1073/pnas.1732458100>.

MMA. MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA). 2018. Disponível em: <https://antigo.mma.gov.br/biomas.html>.

MOENS, M. A. J.; PÉREZ-TRIS, J. Discovering potential sources of emerging pathogens: South America is a reservoir of generalist avian blood parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 46, n. 1, p. 41–49, jan. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.08.001>.

MOKROSS, K.; POTTS, J. R.; RUTT, C. L.; STOUFFER, P. C. What can mixed-species flock movement tell us about the value of Amazonian secondary forests? Insights from spatial behavior. **Biotropica**, v. 50, n. 4, p. 664–673, jul. 2018. <https://doi.org/10.1111/btp.12557>.

MUNCK, A.; GUYRE, P. M.; HOLBROOK, N. J. Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions\*.



**Endocrine Reviews**, v. 5, n. 1, p. 25–44, jan. 1984. <https://doi.org/10.1210/edrv-5-1-25>.

NETO, J. M.; MELLINGER, S.; HALUPKA, L.; MARZAL, A.; ZEHTINDJIEV, P.; WESTERDAHL, H. Seasonal dynamics of haemosporidian (Apicomplexa, Haemosporida) parasites in house sparrows *Passer domesticus* at four European sites: comparison between lineages and the importance of screening methods. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 6–7, p. 523–532, jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.008>.

OLIVEIRA-CHRISTE, R.; MEDEIROS-SOUSA, A. R.; FERNANDES, A.; CERETTI-JÚNIOR, W.; MARRELLI, M. T. Distribution of *Culex* (*Microculex*) (Diptera: Culicidae) in forest cover gradients. **Acta Tropica**, v. 202, p. 105264, fev. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105264>.

PACHECO, J. F.; SILVEIRA, L. F.; ALEIXO, A.; AGNE, C. E.; BENCKE, G. A.; BRAVO, G. A.; BRITO, G. R. R.; COHN-HAFT, M.; MAURÍCIO, G. N.; NAKA, L. N.; OLMOS, F.; POSSO, S. R.; LEES, A. C.; FIGUEIREDO, L. F. A.; CARRANO, E.; GUEDES, R. C.; CESARI, E.; FRANZ, I.; SCHUNCK, F.; DE Q. PIACENTINI, V. Lista comentada das aves do Brasil pelo Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos – segunda edição. 26 jul. 2021. DOI 10.5281/ZENODO.5138368. Disponível em: <https://zenodo.org/record/5138368>. Acesso em: 4 fev. 2022.

PACHECO, M. A.; MATTA, N. E.; VALKIŪNAS, G.; PARKER, P. G.; MELLO, B.; STANLEY, C. E.; LENTINO, M.; GARCIA-AMADO, M. A.; CRANFIELD, M.; KOSAKOVSKY POND, S. L.; ESCALANTE, A. A. Mode and Rate of Evolution of Haemosporidian Mitochondrial Genomes: Timing the Radiation of Avian Parasites. **Molecular Biology and Evolution**, v. 35, n. 2, p. 383–403, 1 fev. 2018. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx285>.

PATTARADILOKRAT, S.; TIYAMANEE, W.; SIMPALIPAN, P.; KAEWTHAMASORN, M.; SAIWICHAI, T.; LI, J.; HARNYUTTANAKORN, P. Molecular detection of the avian malaria parasite *Plasmodium gallinaceum* in Thailand. **Veterinary Parasitology**, v. 210, n. 1–2, p. 1–9, maio 2015. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.023>.

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, fev. 2014. <https://doi.org/10.1645/13-362.1>.

PHILIPS, J. R. What's bugging your birds? Avian parasitic arthropods. **Wildlife Rehabilitation**, v. 8, p. 155–203, 1990.

PLATONOVA, E.; AŽELYTĖ, J.; IEZHOVA, T.; ILGŪNAS, M.; MUKHIN, A.; PALINAUSKAS, V. Experimental study of newly described avian malaria parasite *Plasmodium* (*Novyella*) *collidatum* n. sp., genetic lineage pFANTAIL01 obtained from South Asian migrant bird. **Malaria Journal**, v. 20, n. 1, p. 82, dez. 2021. <https://doi.org/10.1186/s12936-021-03588-3>.

PLATONOVA, E.; PALINAUSKAS, V. The Impact of Temperature on the Sporogonic Development of the Tropical Avian Malaria Parasite *Plasmodium relictum* (Genetic Lineage pGRW4) in *Culex pipiens* Form *molestus* Mosquitoes. **Microorganisms**, v. 9, n. 11, p. 2240, 28 out. 2021. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112240>.

PRIMACK, R. B.; RODRIGUES, E. **Biologia da Conservação**. Londrina: Rodrigues, 2001.

RIBEIRO, S. F.; SEBAIO, F.; BRANQUINHO, F. C. S.; MARINI, M. Â.; VAGO, A. R.; BRAGA, É. M. Avian malaria in Brazilian passerine birds: parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. **Parasitology**, v. 130, n. 3, p. 261–267, mar. 2005. <https://doi.org/10.1017/S0031182004006596>.

RICKLEFS, R. E.; OUTLAW, D. C. A Molecular Clock for Malaria Parasites. **Science**, v. 329, n. 5988, p. 226–229, 9 jul. 2010. <https://doi.org/10.1126/science.1188954>.

ROBERTS, L. S.; SCHMIDT, G. D.; JANOVY, J. **Foundations of Parasitology**. 8th ed. Boston: McGraw-Hill Higher Education, 2009.

RUGGIERO, M. A.; GORDON, D. P.; ORRELL, T. M.; BAILLY, N.; BOURGOIN, T.; BRUSCA, R. C.; CAVALIER-SMITH, T.; GUIRY, M. D.; KIRK, P. M. A Higher Level Classification of All Living Organisms. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0119248, 29 abr. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119248>.

SILVA, E. O.; DINIZ, J. A. P.; LAINSON, R.; DAMATTA, R. A.; DE SOUZA, W. Ultrastructural Study of the Gametocytes and Merogonic Stages of *Fallisia audaciosa* (Haemosporina: Garniidae) that Infect Neutrophils of the Lizard *Plica umbra* (Reptilia: Iguanidae). **Protist**, v. 157, n. 1, p. 13–19, fev. 2006. <https://doi.org/10.1016/j.protis.2005.10.003>.

SOARES, L.; YOUNG, E. I.; RICKLEFS, R. E. Haemosporidian parasites of resident and wintering migratory birds in The Bahamas. **Parasitology Research**, v. 119, n. 5, p. 1563–1572, maio 2020. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06646-y>.

SOMENZARI, M.; AMARAL, P. P. do; CUETO, V. R.; GUARALDO, A. D. C.; JAHN, A. E.; LIMA, D. M.; LIMA, P. C.; LUGARINI, C.; MACHADO, C. G.; MARTINEZ, J.; NASCIMENTO, J. L. X. do; PACHECO, J. F.; PALUDO, D.; PRESTES, N. P.; SERAFINI, P. P.; SILVEIRA, L. F.; SOUSA, A. E. B. A. de; SOUSA, N. A. de; SOUZA, M. A. de; ... WHITNEY, B. M. An overview of migratory birds in Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 58, p. 3, 20 fev. 2018. <https://doi.org/10.11606/1807-0205/2018.58.03>.

TOSCANI FIELD, J.; WEINBERG, J.; BENSCH, S.; MATTA, N. E.; VALKIŪNAS, G.; SEHGAL, R. N. M. Delineation of the Genera *Haemoproteus* and *Plasmodium* Using RNA-Seq and Multi-gene Phylogenetics. **Journal of Molecular Evolution**, v. 86, n. 9, p. 646–654, dez. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00239-018-9875-3>.

VALKIŪNAS, G.; ATKINSON, C. T. Introduction to Life Cycles, Taxonomy, Distribution, and Basic Research Techniques. *In*: SANTIAGO-ALARCON, D.; MARZAL, A. (orgs.). **Avian Malaria and Related Parasites in the Tropics**. Cham: Springer International Publishing, 2020. p. 45–80. DOI 10.1007/978-3-030-51633-8\_2. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-51633-8\\_2](http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-51633-8_2). Acesso em: 4 fev. 2022.

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, n. 6, p. 1395–1401, dez. 2008. <https://doi.org/10.1645/GE-1570.1>.

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, n. 4, p. 327–344, dez. 1986. <https://doi.org/10.2307/1942550>.

VANSTREELS, R. E. T.; DOS ANJOS, C. C.; LEANDRO, H. J.; CARVALHO, A. de M.; SANTOS, A. P.; EGERT, L.; HURTADO, R.; CARVALHO, E. C. Q. de; BRAGA, É. M.; KIRCHGATTER, K. A new haemosporidian parasite from the Red-legged Seriema *Cariama cristata* (Cariamiformes, Cariamidae). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 18, p. 12–19, ago. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2022.02.009>.

VANSTREELS, R. E. T.; PARSONS, N. J. Malária aviária e outros hemosporídeos aviários. Em: SILVA, J.C.R.; CATÃO-DIAS, J.L. **Tratado de animais selvagens**. 2. ed. Sao Paulo (Brasil): Editora Roca, 2014.

VOTÝPKA, J.; MODRÝ, D.; OBORNÍK, M.; ŠLAPETA, J.; LUKEŠ, J. Apicomplexa. *In*: ARCHIBALD, J. M.; SIMPSON, A. G. B.; SLAMOVITS, C. H. (orgs.). **Handbook of the Protists**. Cham: Springer International Publishing, 2017. p. 567–624. DOI 10.1007/978-3-319-28149-0\_20. Disponível em: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-28149-0\\_20](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-28149-0_20). Acesso em: 4 fev. 2022.

WALDENSTRÖM, J.; BENSCH, S.; HASSELQUIST, D.; ÖSTMAN, Ö. 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. <https://doi.org/10.1645/GE-3221RN>.

WELLS, K.; CLARK, N. J. Host Specificity in Variable Environments. **Trends in Parasitology**, v. 35, n. 6, p. 452–465, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.04.001>.

WINGFIELD, J. C. Endocrine Responses to Unpredictable Environmental Events: Stress or Anti-Stress Hormones? **Integrative and Comparative Biology**, v. 42, n. 3, p. 600–609, 1 jul. 2002. <https://doi.org/10.1093/icb/42.3.600>.  
WOLFE, J. D.; STOUFFER, P. C.; MOKROSS, K.; POWELL, L. L.; ANCIÃES, M. M. Island vs. countryside biogeography: an examination of how Amazonian birds respond to forest clearing and fragmentation. **Ecosphere**, v. 6, n. 12, p. art295, 2015. <https://doi.org/10.1890/ES15-00322.1>.

ZANETTE, L.; DOYLE, P.; TRÉMONT, S. M. FOOD SHORTAGE IN SMALL FRAGMENTS: EVIDENCE FROM AN AREA-SENSITIVE PASSERINE. **Ecology**, v. 81, n. 6, p. 1654–1666, jun. 2000. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[1654:FSISFE\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[1654:FSISFE]2.0.CO;2).

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, jun. 2012. <https://doi.org/10.1645/GE-3006.1>.

ZHAO, W.; LIU, J.; XU, R.; ZHANG, C.; PANG, Q.; CHEN, X.; LIU, S.; HONG, L.; YUAN, J.; LI, X.; CHEN, Y.; LI, J.; SU, X. The Gametocytes of *Leucocytozoon sabraezesi* Infect Chicken Thrombocytes, Not Other Blood Cells. **PLOS ONE**, v. 10, n. 7, p. e0133478, 28 jul. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133478>.

**Apêndice A:** Linhagens de hemospórideos identificadas no PESH Curucutu e os registros de ocorrência da linhagem no banco de dados MaAvi. M: migratório; R: residente. Em negrito a espécie de ave em que a linhagem foi descrita pela primeira vez.

Este estudo		Banco de Dados MaAvi		
Linhagem(GenBank n°)	Hospedeiro	Hospedeiros	País	Referência
pBASCUL01 (MT724400)	<b>R: <i>Basileuterus culicivorus</i></b>			Este estudo
pCOLL4 (DQ368374)	M: <i>Elaenia albiceps</i>	<i>Carduelis spinus</i> , <i>Lanius collurio</i> , <i>Loxia curvirostra</i> , <i>Sturnus vulgaris</i>	Rússia	Palinauskas <i>et al</i> 2015, Ilgunas <i>et al</i> 2016
		<i>Coryphistera alaudina</i> , <i>Gnorimopsar chopi</i> , <i>Limnornis curvirostris</i> , <i>Mimus saturninus</i> , <i>Poospiza lateralis</i> , <i>Stephanophorus diadematus</i>	Uruguai	Durrant <i>et al</i> 2006
		<b><i>Ficedula albicollis</i></b>	Suécia Hungria	Kulma <i>et al</i> 2013, Kulma <i>et al</i> 2014, Jones <i>et al</i> 2018 Garamszegi <i>et al</i> 2015, Szöllösi <i>et al</i> 2016, Jones <i>et al</i> 2018
		<i>Cyclarhis gujanensis</i> <i>Dolichonyx oryzivorus</i> <i>Foudia omissa</i> , <i>Hartlaubius auratus</i> <i>Pycnonotus barbatus</i>	Brasil Estados Unidos Madagascar Benin	Fecchio <i>et al</i> 2019 Levin <i>et al</i> 2013 Musa <i>et al</i> 2019 Harvey & Voelker 2017
pCONLIN16 (JX021452)	R: <i>Conopophaga lineata</i>	<b><i>Basileuterus flaveolus</i></b> , <b><i>Conopophaga lineata</i></b>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013
pCURCUR01 <i>P. homopolare</i> (pTURFAL01) (MT724472)	R: <i>Lochmias nematura</i>	<b><i>Curaeus curaeus</i></b> , <b><i>Turdus falcklandii</i></b>	Argentina	Fecchio <i>et al</i> 2019
pDENPET03 (KU562464) <i>P. nucleophilum</i>	M: <i>Elaenia albiceps</i> R: <i>Troglodytes aedon</i> M: <i>Turdus flavipes</i> M: <i>Vireo olivaceus</i> R: <i>Zonotrichia capensis</i>	<i>Alopochen aegyptiacus</i> , <i>Ammodramus humeralis</i> , <i>Arremon taciturnus</i> , <i>Basileuterus flaveolus</i> , <i>Basileuterus leucoblepharus</i> , <i>Cacicus solitarius</i> , <i>Cantorchilus longirostris</i> , <i>Coereba flaveola</i> , <i>Colaptes melanochloros</i> , <i>Coryphistera alaudina</i> , <i>Coryphospingus pileatus</i> , <i>Cyclarhis gujanensis</i> , <i>Cygnus atratus</i> , <i>Cypsnagra hirundinacea</i> , <i>Formicivora melanogaster</i> , <i>Guaruba guarouba</i> , <i>Gubernatrix cristata</i> , <i>Hemithraupis guira</i> , <i>Mimus saturninus</i> , <i>Myiarchus swainsoni</i> , <i>Myiothlypis flaveola</i> , <i>Neothraupis fasciata</i> , <i>Netta erythrophthalma</i> , <i>Pachyramphus polychropterus</i> , <i>Parula pitiayumi</i> , <i>Passer domesticus</i> , <i>Phoenicopterus chilensis</i> , <i>Pipile jacutinga</i> , <i>Psarocolius decumanus</i> , <i>Ramphocelus carbo</i> , <i>Ramphastos toco</i> , <i>Ramphastos vitellinus</i> ,	Brasil	Marzal <i>et al</i> 2011, Chagas <i>et al</i> 2013, Lacorte <i>et al</i> 2013, Roos <i>et al</i> 2015, Vanstreels <i>et al</i> 2015, Chagas <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2017, Ferreira <i>et al</i> 2017; Fecchio <i>et al</i> 2018, Fecchio <i>et al</i> 2019, De La Torre <i>et al</i> 2020

		<i>Rynchops niger</i> , <i>Saltator coerulescens</i> , <i>Schoeniophylax phryganophilus</i> , <i>Spheniscus magellanicus</i> , <i>Synallaxis frontalis</i> , <i>Thamnophilus nigrocinereus</i> , <i>Thryothorus longirostris</i> , <i>Trichothraupis melanops</i> , <i>Turdus albicollis</i> , <i>Turdus leucomelas</i> , <i>Turdus rufiventris</i> , <i>Volatinia jacarina</i> , <i>Zonotrichia capensis</i>		
		<i>Anas discors</i> , <b><i>Dendroica petechia</i></b> , <i>Dolichonyx oryzivorus</i> , <i>Dumetella carolinensis</i> , <i>Geothlypis trichas</i> , <i>Petrochelidon pyrrhonota</i> , <i>Riparia riparia</i> , <i>Setophaga petechia</i> , <i>Turdus migratorius</i> , <i>Vireo griseus</i>	Estados Unidos	Ricklefs & Fallon 2002, Szymanski & Lovette 2005, Pagenknopp <i>et al</i> 2008, Levin <i>et al</i> 2013, Oakgrove <i>et al</i> 2014, Ramey <i>et al</i> 2016, Walther <i>et al</i> 2016, Smith <i>et al</i> 2018
		<i>Basileuterus culicivorus</i> , <i>Basileuterus leucoblepharus</i> , <i>Cranioleuca pyrrhophia</i> , <i>Gnorimopsar chopi</i> , <i>Zonotrichia capensis</i>	Uruguai	Durrant <i>et al</i> 2006
		<i>Automolus rufipileatus</i> , <i>Arremon taciturnus</i> , <i>Cyphorhinus arada</i> , <i>Hypocnemis subflava</i> , <i>Pipra fasciicauda</i> , <i>Ramphocelus carbo</i> , <i>Turdus hauxwelli</i> , <i>Xiphorhynchus ocellatus</i>	Peru	Fecchio <i>et al</i> 2017
		<i>Carduelis barbata</i> <i>Dendroica coronata</i>	Argentina Canadá	Fecchio <i>et al</i> 2019 Cozzarolo <i>et al</i> 2018
		<i>Cacicus cela</i> , <i>Cacicus haemorrhous</i> , <i>Diopsittaca nobilis</i> , <i>Volatinia jacarina</i>	Guiana	Durrant <i>et al</i> 2006
pELAALB07 (MT724471)	<b>M: <i>Elaenia albiceps</i></b>			Este estudo
pGEOTRI01 (MF817777)	R: <i>Geothlypis aequinoctialis</i>	<i>Catharus ustulatus</i> , <i>Dendroica magnolia</i> , <i>Dendroica palmarum</i> , <b><i>Geothlypis trichas</i></b> , <i>Helmitheros vermivorum</i> , <i>Melospiza lincolni</i>	Estados Unidos	Ricklefs & Fallon 2002, Martinsen <i>et al</i> 2007, Oakgrove <i>et al</i> 2014, Smith <i>et al</i> 2018
		<i>Atlapetes albinucha</i> <i>Euneornis campestris</i> <i>Melospiza melodia</i> . <i>Zonotrichia albicollis</i> <i>Seiurus noveboracensis</i>	Colômbia Desconhecido Canadá Venezuela	Gonzalez <i>et al</i> 2015 Outlaw & Ricklefs 2009 Sarquis-Adamson, MacDougall-Shackleton 2016, Boyd <i>et al</i> 2018 Mijares <i>et al</i> 2012, Loiseau <i>et al</i> 2012, Oakgrove <i>et al</i> 2014
pLEAMA01 (JX021454)	R: <i>Conopophaga lineata</i>	<b><i>Leptopogon amaurocephalus</i></b> <i>Conopophaga lineata</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013
pLEPCOR05 (pLECOR04) (KU236434) (pVOLJAC03)	R: <i>Tachyphonus coronatus</i> M: <i>Elaenia albiceps</i>	<i>Coryphospingus pileatus</i> , <b><i>Lepidothrix coronata</i></b> , <i>Volatinia jacarina</i> <i>Tangara schrankii</i>	Brasil Peru	Bosholn <i>et al</i> 2016, Ferreira <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2019, Fecchio <i>et al</i> 2021 Fecchio <i>et al</i> 2019

pPADOM09 (AF069611) <i>P. elongatum</i>	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<i>Ammodramus humeralis, Anser cygnoides, Asthenes pyrrholeuca, Basileuterus culicivorus, Carduelis barbata, Cnemotriccus fuscatus, Coryphospingus cucullatus, Coryphospingus pileatus, Dendrocolaptes certhia, Donacobius atricapilla, Elaenia albiceps, Elaenia cristata, Elaenia spectabilis, Furnarius leucopus, Haplospiza unicolor, Lathrotriccus eulerei Myiarchus swainsoni, Myiarchus tyrannulus, Myiopagis viridicata, Myiophobus fasciatus, Neothraupis fasciata, Paroaria capitata, Passer domesticus, Pheugopedius genibarbis, Pitangus sulphuratus, Puffinus puffinus, Ramphotrigon ruficauda, Rhytipterna simplex, Saltator coerulescens, Spheniscus magellanicus, Synallaxis scutata, Tachyphonus coronatus, Tachyphonus cristatus, Tachyphonus phoenicius, Thraupis palmarum, Thryothorus genibarbis, Trichothraupis melanops, Troglodytes aedon, Troglodytes musculus, Tyrannus melancholicus, Zonotrichia capensis</i>	Brasil	Marzal <i>et al</i> 2011, Lacorte <i>et al</i> 2013, Vanstreels <i>et al</i> 2015, Chagas <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2017, Ferreira <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2018, Fecchio <i>et al</i> 2019, Vanstreels <i>et al</i> 2020
		<i>Dendroica coronata, Dolichonyx oryzivorus, Geothlypis trichas, Larosterna inca, Mniotilta varia, Passer domesticus, Tachycineta thalassina</i>	Estados Unidos	Barrow <i>et al</i> unpubl, Beadell <i>et al</i> 2006, Martinsen <i>et al</i> 2007, Pagenknopp <i>et al</i> 2008, Levin <i>et al</i> 2013, Spottiswoode <i>et al</i> 2020
		<i>Gnorimopsar chopi, Pseudoleistes guirahuro, Stephanophorus diadematus, Tangara preciosa, Troglodytes aedon, Turdus rufiventris</i>	Uruguai	Beadell <i>et al</i> 2006, Durrant <i>et al</i> 2006
		<i>Basileuterus culicivorus, Coryphospingus cucullatus, Elaenia albiceps, Elaenia mesoleuca, Troglodytes aedon, Zonotrichia capensis</i>	Argentina	Fecchio <i>et al</i> 2019, Doussang <i>et al</i> 2019
		<i>Elaenia albiceps, Troglodytes musculus</i>	Chile	Merino <i>et al</i> 2008
		<i>Campylorhynchus yucatanicus Troglodytes aedon</i>	Desconhecido Peru	Outlaw & Ricklefs 2009 Galen & Witt 2014
pPADOM11 (HM146899)	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<i>Aegolius acadicus, Agelaius phoeniceus, Baeolophus bicolor, Cardinalis cardinalis, Carduelis tristis, Carpodacus mexicanus, Colaptes auratus, Dolichonyx oryzivorus, Dumetella carolinensis, Gavia immer, Quiscalus quiscula, Melospiza melodia, Passer domesticus, Passerina cyanea, Pheucticus ludovicianus, Sialia sialis, Somateria spp, Spheniscus demersus, Spizella passerina, Spizella pusilla, Strix varia, Turdus migratorius</i>	Estados Unidos	Beadell & Fleischer 2005, Kimura <i>et al</i> 2006, Martinsen <i>et al</i> 2007, Ishak <i>et al</i> 2008, Martinsen <i>et al</i> 2008, Marzal <i>et al</i> 2011, Levin <i>et al</i> 2013, Martinsen <i>et al</i> 2017, Galen <i>et al</i> 2018, Smith <i>et al</i> 2018, Spottiswoode <i>et al</i> 2020
		<i>Basileuterus flaveolus, Campptostoma obsoletum, Campylorhamphus trochilrostris, Coereba flaveola, Coryphospingus pileatus, Dacnis cayana, Neothraupis fasciata, Passer domesticus, Polioptila plumbea, Saltator similis, Sittasomus griseicapillus,</i>	Brasil	Marzal <i>et al</i> 2011, Lacorte <i>et al</i> 2013, Fecchio <i>et al</i> 2017, Ferreira <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2019

		<i>Tachyphonus phoenicius</i> , <i>Tachyphonus rufus</i> , <i>Thlypopsis sordida</i> , <i>Trichothraupis melanops</i> , <i>Volatinia jacarina</i>		
		<i>Cacicus cela</i> , <i>Cyanocompsa cyanoides</i> , <i>Saltator grossus</i> , <i>Saltator maximus</i>	Guiana	Durrant <i>et al</i> 2006
		<i>Melospiza melodia</i> , <i>Tachycineta bicolor</i>	Canadá	Sarquis-Adamson, MacDougall-Shackleton 2016, Turcotte <i>et al</i> 2018
		<i>Catharus minimus</i> <i>Chrysomus ruficapillus</i> , <i>Polioptila dumicola</i> <i>Mniotilta varia</i> , <i>Turdus fumigatus</i> , <i>Vireo griseus</i> <i>Volatinia jacarina</i>	Colômbia Uruguai Desconhecido Peru	Pulgarin-R <i>et al</i> 2019 Durrant <i>et al</i> 2006 Outlaw & Ricklefs 2009 Fecchio <i>et al</i> 2017
pPYLEU01 (JX021484)	R: <i>Dysithamnus mentalis</i>	<i>Dysithamnus plumbeus</i> , <b><i>Pyriglena leucoptera</i></b>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013
pRAMCAR05 (KU562679)	M: <i>Haplospiza unicolor</i>	<b><i>Ramphocelus carbo</i></b>	Brasil	Fecchio <i>et al</i> 2017
pSPMAG06 (HM031936) <i>P. lutzi</i>	R: <i>Turdus leucomelas</i>	<i>Musophaga violacea</i> , <b><i>Spheniscus magellanicus</i></b> <i>Turdus rufiventris</i>	Brasil	Bueno <i>et al</i> 2010, Chagas <i>et al</i> 2017, Tostes <i>et al</i> 2018, Fecchio <i>et al</i> 2019, Vanstreels <i>et al</i> 2019
pTARUF01 (JX021475)	R: <i>Tachyphonus coronatus</i>	<i>Basileuterus flaveolus</i> , <i>Saltator similis</i> , <b><i>Tachyphonus rufus</i></b> , <i>Tangara cayana</i> , <i>Thraupis palmarum</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013, Fecchio <i>et al</i> 2019
pTRMEL02 (JX021468)	M: <i>Elaenia mesoleuca</i>	<i>Zonotrichia capensis</i>	Argentina	Doussang <i>et al</i> 2019
		<i>Anabazenops fuscus</i> , <b><i>Trichothraupis melanops</i></b> , <i>Vireo olivaceus</i> , <i>Zonotrichia capensis</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013
pTUMIG03 (KU562788)	R: <i>Turdus rufiventris</i>	<i>Catharus ustulatus</i> , <i>Empidonax hammondii</i> , <i>Hylocichla mustelina</i> , <i>Icterus galbula</i> , <i>Larosterna inca</i> , <i>Regulus caléndula</i> , <i>Sturnus vulgaris</i> , <i>Toxostoma rufum</i> , <b><i>Turdus migratorius</i></b> , <i>Vermivora celata</i>	Estados Unidos	Ricklefs & Fallon 2002, Martinsen <i>et al</i> 2007, Martinsen <i>et al</i> 2008, Dodge <i>et al</i> 2013, Oakgrove <i>et al</i> 2014, Walther <i>et al</i> 2016, Smith <i>et al</i> 2018, Spottiswoode <i>et al</i> 2020
		<i>Spheniscus magellanicus</i> , <i>Turdus albicollis</i> , <i>Turdus amaurochalinus</i> , <i>Turdus flavipes</i> , <i>Turdus subalaris</i> , <i>Turdus rufiventris</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013, Vanstreels <i>et al</i> 2015, Fecchio <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2019
		<i>Entomodestes leucotis</i> , <i>Troglodytes aedon</i> , <i>Turdus nigriceps</i> , <i>Turdus serranus</i>	Peru	Galen & Witt 2014, Fecchio <i>et al</i> 2019
		<i>Myioborus miniatus</i> , <i>Turdus albicollis</i> , <i>Turdus flavipes</i> , <i>Turdus fuscater</i> , <i>Turdus grayi</i> , <i>Turdus olivater</i>	Colômbia	Pulgarin-R <i>et al</i> 2019
		<i>Anairetes fernandezianus</i> <i>Turdus falcklandii</i> , <i>Zonotrichia capensis</i>	Chile Argentina	Martinez <i>et al</i> 2015 Merino <i>et al</i> 2008, Martinez <i>et al</i> 2015



		<i>Turdus rufiventris</i>	Uruguai	Durrant <i>et al</i> 2006, Tostes <i>et al</i> 2018
pVIOLI03 (JX029897)	R: <i>Heliodoxa rubricauda</i> M: <i>Vireo olivaceus</i>	<i>Troglodytes aedon</i> , <b><i>Vireo olivaceus</i></b> <b><i>Vireo olivaceus</i></b> <b><i>Vireo olivaceus</i></b>	Brasil Estados Unidos Peru	Lacorte <i>et al</i> 2013 Smith <i>et al</i> 2018 Fecchio <i>et al</i> 2019
pPHPAT01 (KY305005)	M: <i>Elaenia albiceps</i>	<i>Ammodramus humeralis</i> , <i>Basileuterus flaveolus</i> <i>Basileuterus leucoblepharus</i> , <i>Coryphospingus</i> <i>pileatus</i> , <i>Paroaria dominicana</i> , <i>Phaeomyias murina</i> , <i>Rynchops niger</i> , <i>Spheniscus magellanicus</i> , <i>Tangara</i> <i>cyanoptera</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013, Roos <i>et al</i> 2015, Vanstreels <i>et al</i> 2015, Ferreira <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2019, Vanstreels <i>et al</i> 2019
		<i>Bubo virginianus</i> , <i>Cardinalis cardinalis</i> , <i>Dolichonyx</i> <i>oryzivorus</i> , <i>Geothlypis trichas</i> , <i>Larosterna inca</i> , <i>Quiscalus quiscula</i>	Estados Unidos	Ishak <i>et al</i> 2008, Pagenknopp <i>et al</i> 2008, Levin <i>et al</i> 2013, Smith <i>et al</i> 2018, Spottiswoode <i>et al</i> 2020
		<b><i>Phrygilus patagonicus</i></b> <i>Sayornis nigricans</i>	Chile Peru	Merino <i>et al</i> 2008 Marzal <i>et al</i> 2015
hELAALB01 (MK695430)	M: <i>Elaenia albiceps</i>	<i>Anairetes parulus</i> , <b><i>Elaenia albiceps</i></b>	Argentina	Fecchio <i>et al</i> 2019
hMYISWA01 (KU562174)	M: <i>Elaenia albiceps</i> M: <i>Myiarchus swainsoni</i> M: <i>Tyrannus melancholicus</i>	<i>Elaenia chiriquensis</i> , <b><i>Myiarchus swainsoni</i></b> <i>Myiodynastes maculatus</i> , <i>Myiopagis viridicata</i> , <i>Phaeomyias murina</i> , <i>Phaethornis malaris</i> , <i>Serpophaga subcristata</i>	Brasil	Fecchio <i>et al</i> 2017, Fecchio <i>et al</i> 2019
hTANDES01 (MT724553)	<b>R: <i>Tangara desmaresti</i></b>			Este estudio
hVIGIL09 (hCOLPLU01) (MH457345)	M: <i>Vireo olivaceus</i>	<i>Euphonia xanthogaster</i> , <i>Microcerculus marginatus</i> <i>Myiodynastes maculatus</i> , <i>Myiornis albiventris</i> <i>Patagioenas plumbea</i> , <i>Turdus nigriceps</i> , <b><i>Vireo gilvus</i></b> , <i>Willisornis poecilinotus</i>	Peru	Fecchio <i>et al</i> 2019
		<b><i>Vireo gilvus</i></b> <i>Vireo olivaceus</i>	Estados Unidos Brasil	Smith <i>et al</i> 2018, Barrow <i>et al</i> unpubl. Fecchio <i>et al</i> 2019
hVIOLI05 (hVIREO02) (KF482350)	M: <i>Vireo olivaceus</i>	<b><i>Vireo olivaceus</i></b>	Peru Colômbia Brasil	Marzal unpubl Gonzalez <i>et al</i> 2015 Fecchio <i>et al</i> 2019
hCHIPAR01 (hVIROLI05) (MT724528)	M: <i>Vireo olivaceus</i>	<b><i>Chiroxiphia pareola</i></b>	Peru	Galen and Witt 2014
hZOCAP01 (EF153649)	R: <i>Zonotrichia capensis</i>	<b><i>Zonotrichia capensis</i></b>	Chile Peru Colômbia Brasil, Argentina Equador Costa Rica	Merino <i>et al</i> 2008, Doussang <i>et al</i> 2019 Marzal <i>et al</i> 2015, Jones <i>et al</i> 2013, Doussang <i>et al</i> 2019 Gonzalez <i>et al</i> 2015, Mantilla <i>et al</i> 2016, Doussang <i>et al</i> 2019 Fecchio <i>et al</i> 2019, Fecchio <i>et al</i> 2019 Mantilla <i>et al</i> 2016, Doussang <i>et al</i> 2019 Doussang <i>et al</i> 2019
IDIUDI11 (MK947686)	M: <i>Elaenia albiceps</i>	<b><i>Diuca diuca</i></b> <i>Aphrastura spinicauda</i>	Argentina Chile	Fecchio <i>et al</i> 2019 Cuevas <i>et al</i> 2020

IELAALB02 (MK947541)	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<b><i>Elaenia albiceps</i></b> <i>Aphrastura spinicauda</i>	Argentina Chile	Fecchio <i>et al</i> 2019 Cuevas <i>et al</i> 2020
IELAALB05 (MK947689)	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<b><i>Elaenia albiceps</i></b> <i>Aphrastura spinicauda</i>	Argentina Chile	Fecchio <i>et al</i> 2019 Cuevas <i>et al</i> 2020
IZOLPYR01 (MK947545)	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<b><i>Xolmis pyrope</i></b> <i>Aphrastura spinicauda</i>	Argentina Chile	Fecchio <i>et al</i> 2019 Cuevas <i>et al</i> 2020
ITROAED02 (KF767431)	<i>M: Elaenia albiceps</i>	<b><i>Troglodytes aedon</i></b> <i>Anabacerthia striaticollis, Arremon schlegeli, Atlapetes melanocephalus, Basileuterus basilicus, Basileuterus conspicillatus, Buarremon torquatus, Catamenia homochroa, Catharus fuscater, Cranioleuca hellmayri, Diglossa albilatera, Elaenia frantzii, Henicorhina anachoreta, Henicorhina leucophrys, Mecocerculus leucophrys, Mionectes olivaceus, Myiarchus tuberculifer, Myioborus flavivertex, Myioborus miniatus, Myrmotherula schisticolor, Pipra erythrocephala, Pyrrhomyias cinnamomeus, Turdus albicollis, Turdus flavipes, Turdus fuscater, Zonotrichia capensis</i>	Peru Colômbia	Galen & Witt 2014 Pulgarin-R <i>et al</i> 2019

## Referências Bibliográficas do Apêndice A

BEADELL, J. S.; FLEISCHER, R. C. A Restriction Enzyme–Based Assay to Distinguish Between Avian Hemosporidians. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 3, p. 683–685, jun. 2005. <https://doi.org/10.1645/GE-3412RN>.

BEADELL, J. S.; ISHTIAQ, F.; COVAS, R.; MELO, M.; WARREN, B. H.; ATKINSON, C. T.; BENSCH, S.; GRAVES, G. R.; JHALA, Y. V.; PEIRCE, M. A.; RAHMANI, A. R.; FONSECA, D. M.; FLEISCHER, R. C. Global phylogeographic limits of Hawaii's avian malaria. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, n. 1604, p. 2935–2944, 7 dez. 2006. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3671>.

BOSHOLN, M.; FECCHIO, A.; SILVEIRA, P.; BRAGA, É. M.; ANCIÃES, M. Effects of avian malaria on male behaviour and female visitation in lekking blue-crowned manakins. **Journal of Avian Biology**, v. 47, n. 4, p. 457–465, jul. 2016. <https://doi.org/10.1111/jav.00864>.

BOYD, R. J.; KELLY, T. R.; MACDOUGALL-SHACKLETON, S. A.; MACDOUGALL-SHACKLETON, E. A. Alternative reproductive strategies in white-throated sparrows are associated with differences in parasite load following experimental infection. **Biology Letters**, v. 14, n. 7, p. 20180194, jul. 2018. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2018.0194>.

BUENO, M. G.; LOPEZ, R. P. G.; MENEZES, R. M. T. de; COSTA-NASCIMENTO, M. de J.; LIMA, G. F. M. de C.; ARAÚJO, R. A. de 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, n. 1–2, p. 123–127, out. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.06.026>.

CHAGAS, C. R. F.; VALKIŪNAS, G.; DE OLIVEIRA GUIMARÃES, L.; MONTEIRO, E. F.; GUIDA, F. J. V.; SIMÕES, R. F.; RODRIGUES, P. T.; DE ALBUQUERQUE LUNA, E. J.; KIRCHGATTER, K. Diversity and distribution of avian malaria and related haemosporidian parasites in captive birds from a Brazilian megalopolis. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 83, dez. 2017. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1729-8>.

COZZAROLO, C.-S.; JENKINS, T.; TOEWS, D. P. L.; BRELSFORD, A.; CHRISTE, P. Prevalence and diversity of haemosporidian parasites in the yellow-rumped warbler hybrid zone. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 19, p. 9834–9847, out. 2018. <https://doi.org/10.1002/ece3.4469>.

CUEVAS, E.; VIANNA, J. A.; BOTERO-DELGADILLO, E.; DOUSSANG, D.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; BARROSO, O.; ROZZI, R.; VÁSQUEZ, R. A.; QUIRICI, V. Latitudinal gradients of haemosporidian parasites: Prevalence, diversity and drivers of infection in the Thorn-tailed Rayadito (*Aphrastura spinicauda*). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 11, p. 1–11, abr. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.11.002>.

DE LA TORRE, G. M.; FREITAS, F. F.; FRATONI, R. D. O.; GUARALDO, A. D. C.; DUTRA, D. D. A.; BRAGA, M.; MANICA, L. T. Hemoparasites and their relation to body condition and plumage coloration of the White-necked thrush (*Turdus albicollis*). **Ethology Ecology & Evolution**, v. 32, n. 6, p. 509–526, 1 nov. 2020. <https://doi.org/10.1080/03949370.2020.1769739>.

DODGE, M.; GUERS, S. L.; SEKERCIOĞLU, Ç. H.; SEHGAL, R. N. M. North American Transmission of Hemosporidian Parasites in the Swainson's Thrush (*Catharus ustulatus*), a Migratory Songbird. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 548–553, jun. 2013. <https://doi.org/10.1645/GE-3134.1>.

DOUSSANG, D.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; TORRES-FUENTES, L. G.; LOUGHEED, S. C.; CLEMENTE-CARVALHO, R. B.; GREENE, K. C.; VIANNA, J. A. Spatial distribution, prevalence and diversity of haemosporidians in the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 2, dez. 2019. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3243-4>.

DURRANT, K. L.; BEADELL, J. S.; ISHTIAQ, F.; GRAVES, G. R.; OLSON, S. L.; GERING, E.; PEIRCE, M. A.; MILENSKY, C. M.; SCHMIDT, B. K.; GEBHARD, C.; FLEISCHER, R. C. Avian Hematozoa in South America: A Comparison of Temperate and Tropical Zones. **Ornithological Monographs**, n. 60, p. 98–111, jan. 2006. <https://doi.org/10.2307/40166831>.

FECCHIO, A.; PINHEIRO, R.; FELIX, G.; FARIA, I. P.; PINHO, J. B.; LACORTE, G. A.; BRAGA, E. M.; FARIAS, I. P.; ALEIXO, A.; TKACH, V. V.; COLLINS, M. D.; BELL, J. A.; WECKSTEIN, J. D. Host community similarity and geography shape the diversity and distribution of haemosporidian parasites in Amazonian

birds. **Ecography**, v. 41, n. 3, p. 505–515, mar. 2018.  
<https://doi.org/10.1111/ecog.03058>.

FECCHIO, Alan; BELL, J. A.; PINHEIRO, R. B. P.; CUETO, V. R.; GOROSITO, C. A.; LUTZ, H. L.; GAIOTTI, M. G.; PAIVA, L. V.; FRANÇA, L. F.; TOLEDO-LIMA, G.; TOLENTINO, M.; PINHO, J. B.; TKACH, V. V.; FONTANA, C. S.; GRANDE, J. M.; SANTILLÁN, M. A.; CAPARROZ, R.; ROOS, A. L.; BESSA, R.; ... COLLINS, M. D. Avian host composition, local speciation and dispersal drive the regional assembly of avian malaria parasites in South American birds. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 10, p. 2681–2693, maio 2019.  
<https://doi.org/10.1111/mec.15094>.

FECCHIO, Alan; RIBEIRO, R. M.; FERREIRA, F. C.; DE ANGELI DUTRA, D.; TOLESANO-PASCOLI, G.; ALQUEZAR, R. D.; KHAN, A. U.; PICHORIM, M.; MOREIRA, P. A.; COSTA-NASCIMENTO, M. J.; MONTEIRO, E. F.; MATHIAS, B. S.; GUIMARÃES, L. O.; SIMÕES, R. F.; BRAGA, É. M.; KIRCHGATTER, K.; DIAS, R. I. Higher infection probability of haemosporidian parasites in Blue-black Grassquits (*Volatinia jacarina*) inhabiting native vegetation across Brazil. **Parasitology International**, v. 80, p. 102204, fev. 2021.  
<https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102204>.

FECCHIO, Alan; SVENSSON-COELHO, M.; BELL, J.; ELLIS, V. A.; MEDEIROS, M. C.; TRISOS, C. H.; BLAKE, J. G.; LOISELLE, B. A.; TOBIAS, J. A.; FANTI, R.; COFFEY, E. D.; DE FARIA, I. P.; PINHO, J. B.; FELIX, G.; BRAGA, E. M.; ANCIÃES, M.; TKACH, V.; BATES, J.; WITT, C.; ... FARIAS, I. P. Host associations and turnover of haemosporidian parasites in manakins (Aves: Pipridae). **Parasitology**, v. 144, n. 7, p. 984–993, jun. 2017.  
<https://doi.org/10.1017/S0031182017000208>.

FERREIRA JUNIOR, F. C.; RODRIGUES, R. A.; ELLIS, V. A.; LEITE, L. O.; BORGES, M. A. Z.; BRAGA, É. M. Habitat modification and seasonality influence avian haemosporidian parasite distributions in southeastern Brazil. **PLOS ONE**, v. 12, n. 6, p. e0178791, 2 jun. 2017.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178791>.

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. 1, p. 128, dez. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12862-018-1242-x>.

GALEN, S. C.; WITT, C. C. Diverse avian malaria and other haemosporidian parasites in Andean house wrens: evidence for regional co-diversification by host-switching. **Journal of Avian Biology**, v. 45, n. 4, p. 374–386, jul. 2014. <https://doi.org/10.1111/jav.00375>.

GARAMSZEGI, L. Z.; ZAGALSKA-NEUBAUER, M.; CANAL, D.; MARKÓ, G.; SZÁSZ, E.; ZSEBŐK, S.; SZÖLLŐSI, E.; HERCZEG, G.; TÖRÖK, J. Malaria parasites, immune challenge, MHC variability, and predator avoidance in a passerine bird. **Behavioral Ecology**, v. 26, n. 5, p. 1292–1302, 2015. <https://doi.org/10.1093/beheco/arv077>.

GONZÁLEZ, A. D.; LOTTA, I. A.; GARCÍA, L. F.; MONCADA, L. I.; MATTA, N. E. Avian haemosporidians from Neotropical highlands: Evidence from morphological and molecular data. **Parasitology International**, v. 64, n. 4, p. 48–59, ago. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2015.01.007>.

HARVEY, J. A.; VOELKER, G. Avian haemosporidian detection across source materials: prevalence and genetic diversity. **Parasitology Research**, v. 116, n. 12, p. 3361–3371, dez. 2017. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5654-0>.

ILGŪNAS, M.; BUKAUSKAITĖ, D.; PALINAUSKAS, V.; IEZHOVA, T. A.; DINHOPL, N.; NEDOROST, N.; WEISSENBACHER-LANG, C.; WEISSENBÖCK, H.; VALKIŪNAS, G. Mortality and pathology in birds due to Plasmodium (Giovannolaia) homocircumflexum infection, with emphasis on the exoerythrocytic development of avian malaria parasites. **Malaria Journal**, v. 15, n. 1, p. 256, dez. 2016. <https://doi.org/10.1186/s12936-016-1310-x>.

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, p. e2304, 28 maio 2008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002304>.

JONES, M. R.; CHEVIRON, Z. A.; CARLING, M. D. Spatial Patterns of Avian Malaria Prevalence in *Zonotrichia capensis* on the Western Slope of the Peruvian

Andes. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 5, p. 903–905, out. 2013. <https://doi.org/10.1645/12-147.1>.

KIMURA, M.; DHONDT, A. A.; LOVETTE, I. J. PHYLOGEOGRAPHIC STRUCTURING OF PLASMODIUM LINEAGES ACROSS THE NORTH AMERICAN RANGE OF THE HOUSE FINCH (*CARPODACUS MEXICANUS*). **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 5, p. 1043–1049, out. 2006. <https://doi.org/10.1645/GE-639R.1>.

KULMA, K.; LOW, M.; BENSCH, S.; QVARNSTRÖM, A. Malaria infections reinforce competitive asymmetry between two *Ficedula* flycatchers in a recent contact zone. **Molecular Ecology**, v. 22, n. 17, p. 4591–4601, set. 2013. <https://doi.org/10.1111/mec.12409>.

KULMA, K.; LOW, M.; BENSCH, S.; QVARNSTRÖM, A. Malaria-Infected Female Collared Flycatchers (*Ficedula albicollis*) Do Not Pay the Cost of Late Breeding. **PLoS ONE**, v. 9, n. 1, p. e85822, 23 jan. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085822>.

LACORTE, G. A.; FÉLIX, G. M. F.; PINHEIRO, R. R. B.; CHAVES, A. V.; ALMEIDA-NETO, G.; NEVES, F. S.; LEITE, L. O.; SANTOS, F. R.; BRAGA, É. M. Exploring the Diversity and Distribution of Neotropical Avian Malaria Parasites – A Molecular Survey from Southeast Brazil. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e57770, 1 mar. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057770>.

LEVIN, I. I.; ZWIERS, P.; DEEM, S. L.; GEEST, E. A.; HIGASHIGUCHI, J. M.; IEZHOVA, T. A.; JIMÉNEZ-UZCÁTEGUI, G.; KIM, D. H.; MORTON, J. P.; PERLUT, N. G.; RENFREW, R. B.; SARI, E. H. R.; VALKIŪNAS, G.; PARKER, P. G. Multiple Lineages of Avian Malaria Parasites (*Plasmodium*) in the Galapagos Islands and Evidence for Arrival via Migratory Birds: Plasmodium in Galapagos Birds. **Conservation Biology**, v. 27, n. 6, p. 1366–1377, dez. 2013. <https://doi.org/10.1111/cobi.12127>.

LOISEAU, C.; HARRIGAN, R. J.; CORNEL, A. J.; GUERS, S. L.; DODGE, M.; MARZEC, T.; CARLSON, J. S.; SEPPI, B.; SEHGAL, R. N. M. First Evidence and Predictions of Plasmodium Transmission in Alaskan Bird Populations. **PLoS ONE**, v. 7, n. 9, p. e44729, 19 set. 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044729>.

MANTILLA, J. S.; GONZÁLEZ, A. D.; LOTTA, I. A.; MOENS, M.; PACHECO, M. A.; ESCALANTE, A. A.; VALKIŪNAS, G.; MONCADA, L. I.; PÉREZ-TRIS, J.; MATTA, N. E. *Haemoproteus erythrogravidus* n. sp. (Haemosporida, Haemoproteidae): Description and molecular characterization of a widespread blood parasite of birds in South America. **Acta Tropica**, v. 159, p. 83–94, jul. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.02.025>.

MARTÍNEZ, J.; VÁSQUEZ, R. A.; VENEGAS, C.; MERINO, S. Molecular characterisation of haemoparasites in forest birds from Robinson Crusoe Island: Is the Austral Thrush a potential threat to endemic birds? **Bird Conservation International**, v. 25, n. 2, p. 139–152, jun. 2015. <https://doi.org/10.1017/S0959270914000227>.

MARTINSEN, E. S.; WAITE, J. L.; SCHALL, J. J. Morphologically defined subgenera of *Plasmodium* from avian hosts: test of monophyly by phylogenetic analysis of two mitochondrial genes. **Parasitology**, v. 134, n. 4, p. 483–490, abr. 2007. <https://doi.org/10.1017/S0031182006001922>.

MARTINSEN, Ellen S.; PERKINS, S. L.; 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, abr. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.11.012>.

MARTINSEN, Ellen S.; SIDOR, I. F.; FLINT, S.; COOLEY, J.; POKRAS, M. A. Documentation of Malaria Parasite (*Plasmodium* spp.) Infection and Associated Mortality in a Common Loon (*Gavia immer*). **Journal of Wildlife Diseases**, v. 53, n. 4, p. 859–863, out. 2017. <https://doi.org/10.7589/2016-08-195>.

MARZAL, A.; GARCÍA-LONGORIA, L.; CÁRDENAS CALLIRGOS, J. M.; SEHGAL, R. N. Invasive avian malaria as an emerging parasitic disease in native birds of Peru. **Biological Invasions**, v. 17, n. 1, p. 39–45, jan. 2015. <https://doi.org/10.1007/s10530-014-0718-x>.

MARZAL, A.; RICKLEFS, R. E.; VALKIŪNAS, G.; ALBAYRAK, T.; ARRIERO, E.; BONNEAUD, C.; CZIRJÁK, G. A.; EWEN, J.; HELLGREN, O.; HOŘÁKOVÁ, D.; IEZHOVA, T. A.; JENSEN, H.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; LIMA, M. R.; DE LOPE, F.; MAGNUSSEN, E.; MARTIN, L. B.; MØLLER, A. P.; PALINAUSKAS, V.; ... BENSCH, S. Diversity, Loss, and Gain of Malaria Parasites in a Globally Invasive



Bird. **PLoS ONE**, v. 6, n. 7, p. e21905, 11 jul. 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021905>.

MERINO, S.; MORENO, Juan.; VÁSQUEZ, R. A.; MARTÍNEZ, J.; SÁNCHEZ-MONSÁLVEZ, I.; ESTADES, C. F.; IPPI, S.; SABAT, P.; ROZZI, R.; MCGEHEE, S. Haematozoa in forest birds from southern Chile: Latitudinal gradients in prevalence and parasite lineage richness. **Austral Ecology**, v. 33, n. 3, p. 329–340, maio 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2008.01820.x>.

MIJARES, A.; ROSALES, R.; SILVA-ITURRIZA, A. Hemosporidian Parasites in Forest Birds from Venezuela: Genetic Lineage Analyses. **Avian Diseases**, v. 56, n. 3, p. 583–588, set. 2012. <https://doi.org/10.1637/10058-011312-ResNote.1>.

MUSA, S.; MACKENSTEDT, U.; WOOG, F.; DINKEL, A. Avian malaria on Madagascar: prevalence, biodiversity and specialization of haemosporidian parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 49, n. 3–4, p. 199–210, mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.11.001>.

OAKGROVE, K. S.; HARRIGAN, R. J.; LOISEAU, C.; GUERS, S.; SEPPI, B.; SEHGAL, R. N. M. Distribution, diversity and drivers of blood-borne parasite co-infections in Alaskan bird populations. **International Journal for Parasitology**, v. 44, n. 10, p. 717–727, set. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.04.011>.

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, 1 out. 2009. <https://doi.org/10.1645/GE-1982.1>.

PAGENKOPP, K. M.; KLICKA, J.; DURRANT, K. L.; GARVIN, J. C.; FLEISCHER, R. C. Geographic variation in malarial parasite lineages in the common yellowthroat (*Geothlypis trichas*). **Conservation Genetics**, v. 9, n. 6, p. 1577–1588, dez. 2008. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9497-6>.

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, jan. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.08.012>.

PULGARÍN- R, P. C.; GÓMEZ, C.; BAYLY, N. J.; BENSCH, S.; FITZGERALD, A. M.; STARKLOFF, N.; KIRCHMAN, J. J.; GONZÁLEZ- PRIETO, A. M.; HOBSON, K. A.; UNGVARI- MARTIN, J.; SKEEN, H.; CASTAÑO, M. I.; CADENA, C. D. Migratory birds as vehicles for parasite dispersal? Infection by avian haemosporidians over the year and throughout the range of a long-distance migrant. **Journal of Biogeography**, v. 46, n. 1, p. 83–96, jan. 2019. <https://doi.org/10.1111/jbi.13453>.

RICKLEFS, R. E.; FALLON, S. M. Diversification and host switching in avian malaria parasites. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 269, n. 1494, p. 885–892, 7 maio 2002. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1940>.

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, p. 3903–3911, out. 2015. <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4622-9>.

SARQUIS-ADAMSON, Y.; MACDOUGALL-SHACKLETON, E. A. Song sparrows *Melospiza melodia* have a home-field advantage in defending against sympatric malarial parasites. **Royal Society Open Science**, v. 3, n. 8, p. 160216, ago. 2016. <https://doi.org/10.1098/rsos.160216>.

SMITH, J. D.; GILL, S. A.; BAKER, K. M.; VONHOF, M. J. Prevalence and diversity of avian Haemosporida infecting songbirds in southwest Michigan. **Parasitology Research**, v. 117, n. 2, p. 471–489, fev. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5724-3>.

SPOTTISWOODE, N.; BARTLETT, S. L.; CONLEY, K. J.; SEIMON, T. A.; GRIFFIN, D. O.; SYKES, J. M. Analysis of *Plasmodium* lineages identified in captive penguins (*Sphenisciformes* spp.), eiders (*Somateria* spp.), and inca terns (*Larosterna inca*) in a north american zoological collection. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 51, n. 1, p. 140, 17 mar. 2020. <https://doi.org/10.1638/2019-0078>.

SZYMANSKI, M. M.; LOVETTE, I. J. High lineage diversity and host sharing of malarial parasites in a local avian assemblage. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 4, p. 768–774, ago. 2005. <https://doi.org/10.1645/GE-417R1.1>.

TOSTES, R.; DIAS, R. J. P.; DE OLIVEIRA, L.; SENRA, M. V. X.; MASSARD, C. L.; D'AGOSTO, M. Molecular and Morphological Characterization of a Brazilian Lineage of Plasmodium (Novyella) Unalis in Turdus Spp. (Passeriformes) of the Atlantic Forest, with Remarks on New Hosts and High Genetic Variation. **Journal of Parasitology**, v. 104, n. 1, p. 70, 1 fev. 2018. <https://doi.org/10.1645/16-189>.

TURCOTTE, A.; BÉLISLE, M.; PELLETIER, F.; GARANT, D. Environmental determinants of haemosporidian parasite prevalence in a declining population of Tree swallows. **Parasitology**, v. 145, n. 7, p. 961–970, jun. 2018. <https://doi.org/10.1017/S0031182017002128>.

VANSTREELS, R.; DA SILVA-FILHO, R.; KOLESNIKOVAS, C.; BHERING, R.; RUOPPOLO, V.; EPIPHANIO, S.; AMAKU, M.; JUNIOR, F.; BRAGA, É.; CATÃO-DIAS, J. Epidemiology and pathology of avian malaria in penguins undergoing rehabilitation in Brazil. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 30, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0160-9>.

VANSTREELS, Ralph Eric Thijl; DUTRA, D. de A.; FERREIRA-JUNIOR, F. C.; HURTADO, R.; EGERT, L.; MAYORGA, L. F. S. P.; BHERING, R. C. C.; BRAGA, É. M.; CATÃO-DIAS, J. L. Epidemiology, hematology, and unusual morphological characteristics of Plasmodium during an avian malaria outbreak in penguins in Brazil. **Parasitology Research**, v. 118, n. 12, p. 3497–3508, dez. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06459-8>.

VANSTREELS, Ralph E.T.; DUTRA, D. de A.; SANTOS, A. P.; HURTADO, R.; EGERT, L.; BRAGA, É. M. First report of avian malaria in a Manx shearwater (Puffinus puffinus). **Parasitology International**, v. 78, p. 102148, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2020.102148>.

WALTHER, E. L.; CARLSON, J. S.; CORNEL, A.; MORRIS, B. K.; SEHGAL, R. N. M. First molecular study of prevalence and diversity of avian haemosporidia in a Central California songbird community. **Journal of Ornithology**, v. 157, n. 2, p. 549–564, abr. 2016. <https://doi.org/10.1007/s10336-015-1301-7>.

**Apêndice B:** Linhagens de hemosporídeos identificadas nas ilhas da Hidrelétrica de Balbina - AM e os registros de ocorrência da linhagem no banco de dados MalAvi.

Este estudo		Banco de Dados MalAvi		
Lineage (Genbank n°)	Hospedeiro	Hospedeiros	País de descrição	Referência
ARRTAC01 (KU562435) <i>Plasmodium</i> sp	<i>Turdus albicollis</i> (2)	<b><i>Arremon taciturnus</i></b> <i>Megastictus margaritatus</i> <i>Psarocolius bifasciatus</i> <i>Vireo olivaceus</i> <i>Zonotrichia capensis</i>	Brasil (AM) Brasil (AM) Brasil (AM) Brasil (AM) Bolívia	Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2018b; Fecchio <i>et al</i> 2019b; Doussang <i>et al</i> 2019;
CYCYA01 (DQ241529) <i>Plasmodium</i> sp	<i>Hypocnemis cantator</i>	<b><i>Cyanocompsa cyanoides</i></b> <i>Dixiphia pipra</i> <i>Geotrygon montana</i> <i>Hylexetastes perrotii</i> <i>Hylocichla mustelina</i> <i>Hypocnemis striata</i> <i>Icterus cayanensis</i> <i>Lepidothrix coeruleocapilla</i> <i>Lepidothrix coronata</i> <i>Microbates collaris</i> <i>Mionectes macconnelli</i> <i>Myrmoborus myotherinus</i> <i>Myrmornis torquata</i> <i>Oporornis formosus</i> <i>Pithys albifrons</i> <i>Polioptila plumbea</i> <i>Sclerurus caudacutus</i> <i>Seiurus noveboracensis</i> <i>Thamnomanes caesius</i> <i>Thamnomanes saturninus</i>	Guiana Brasil (AM) Brasil (AM) Brasil (AM) Estados Unidos Brasil (AM) Guiana Peru Brasil (AM) Brasil (AM) Peru Brasil (AM) Brasil (AM) Estados Unidos Brasil (AM) Brasil Brasil (AM) Estados Unidos Brasil (AM) Brasil (AM)	Durrant <i>et al</i> 2006; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; DeBrock <i>et al</i> 2021; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Durrant <i>et al</i> 2006; McNew <i>et al</i> 2021; Bosholn <i>et al</i> 2016, Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; McNew <i>et al</i> 2021; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; DeBrock <i>et al</i> 2021; Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2019a; Fecchio <i>et al</i> 2017a; DeBrock <i>et al</i> 2021; Fecchio <i>et al</i> 2017a, Fecchio <i>et al</i> 2018b; Fecchio <i>et al</i> 2017a;

DENMER02 (KU562625)	<i>Formicarius colma</i> (2)	<b><i>Dendrocincla merula</i></b> <i>Formicarius colma</i>	Brasil (AM) Brasil (AM)	Fecchio <i>et al</i> 2017a; Fecchio <i>et al</i> 2018b;
GRW06 (DQ368381) <i>Plasmodium</i> <i>elongatum</i>	<i>Turdus albicollis</i> <i>Xiphorhynchus</i> <i>pardalotus</i>	<i>Acrocephalus arundinaceus</i> <i>Acrocephalus baeticatus</i> <i>Acrocephalus newtoni</i> <i>Acrocephalus paludicola</i> <i>Acrocephalus schoenobaenus</i> <i>Acrocephalus scirpaceus</i> <i>Ailuroedus melanotis</i> <i>Alcedo atthis</i> <i>Alcippe morrisonia</i> <i>Anas discors</i> <i>Andropadus milanjensis</i> <i>Anthornis melanura</i> <i>Anthus campestris</i> <i>Apteryx australis</i> <i>Ardea herodias</i> <i>Basileuterus hypoleucus</i> <i>Bubo scandiacus</i> <i>Bubulcus ibis</i> <i>Carpodacus mexicanus</i> <i>Corvus corax</i> <i>Corvus corone</i> <i>Coscoroba coscoroba</i> <i>Cracticus tibicen</i> <i>Crateroscelis robusta</i> <i>Crex crex</i> <i>Crithagra rufobrunnea</i> <i>Cyanistes caeruleus</i> <i>Cyanomitra olivacea</i> <i>Cyanoramphus novaezelandiae</i> <i>Cygnus atratus</i> <i>Dendrocincla merula</i>	Suécia, Bulgária, Zâmbia África do Sul Madagascar Polónia Turquia Espanha, Portugal Austrália Myanmar China Estados Unidos Tanzânia New Zealand Bulgária Nova Zelândia Estados Unidos Brasil França Espanha Estados Unidos Bulgária Itália Brasil Nova Zelândia Papua Nova Guiné República Tcheca São Tomé e Príncipe Áustria Gabão, São Tomé e Príncipe Nova Zelândia Brasil Brasil (AM)	Bensch <i>et al</i> 2007; Valkiūnas <i>et al</i> 2008, Dimitrov <i>et al</i> 2010, Sorensen <i>et al</i> 2016; Okanga <i>et al</i> 2014; Musa <i>et al</i> 2019; Kubacka <i>et al</i> 2019; Ciloglu <i>et al</i> 2020a; Fernández <i>et al</i> 2010, Ventim <i>et al</i> 2012a; Beadell <i>et al</i> 2004; Ishtiaq <i>et al</i> 2007; Zhang <i>et al</i> 2014; Ramey <i>et al</i> 2016; Loiseau <i>et al</i> 2012b; Baillie and Brunton 2011; Dimitrov <i>et al</i> 2018; Howe <i>et al</i> 2012, Banda <i>et al</i> 2012; Beadell <i>et al</i> 2006; Lacorte <i>et al</i> 2013; Giorgiadis <i>et al</i> 2020; Ferraguti <i>et al</i> 2013b; Szymanski and Lovette 2005; Shurulinkov <i>et al</i> 2018; Scaglione <i>et al</i> 2016; Chagas <i>et al</i> 2017; Schoener <i>et al</i> 2019; Beadell <i>et al</i> 2004; Fourcade <i>et al</i> 2014; Loiseau <i>et al</i> 2017; Szöllosi <i>et al</i> 2011; Loiseau <i>et al</i> 2017; Ortiz-Catedral <i>et al</i> 2019; Chagas <i>et al</i> 2017; Fecchio <i>et al</i> 2017a;

		<i>Donacobius atricapilla</i>	Brasil (AM)	Fecchio <i>et al</i> 2017a;
		<i>Emberiza citrinella</i>	Nova Zelândia	Pérez-Tris <i>et al</i> 2007, Ewen <i>et al</i> 2012;
		<i>Emberiza melanocephala</i>	Bulgária	Dimitrov <i>et al</i> 2018;
		<i>Euplectes orix</i>	África do Sul	Okanga <i>et al</i> 2014;
		<i>Fringilla coelebs</i>	Sérvia	Stankovic <i>et al</i> 2019;
		<i>Geothlypis trichas</i>	Estados Unidos	Szymanski and Lovette 2005;
		<i>Geotrygon montana</i>	Venezuela, País Desconhecido	Santiago-Alarcon <i>et al</i> 2010, Outlaw and Ricklefs 2009;
		<i>Glyphorynchus spirurus</i>	Brasil (AM)	Fecchio <i>et al</i> 2017a;
		<i>Hippolais icterina</i>	Suécia	Hellgren <i>et al</i> 2007b;
		<i>Linurgus olivaceus</i>	Gabão, Camarões	Hellgren <i>et al</i> 2007b, Beadell <i>et al</i> 2009;
		<i>Locustella luscinioides</i>	Portugal	Ventim <i>et al</i> 2012a;
		<i>Luscinia svecica</i>	República Tcheca	Svoboda <i>et al</i> 2015;
		<i>Malacoptila striata</i>	Brasil	Lacorte <i>et al</i> 2013;
		<i>Melopsittacus undulatus</i>	Nova Zelândia	Baron <i>et al</i> 2014;
		<i>Melospiza melodia</i>	Estados Unidos	Szymanski and Lovette 2005;
		<i>Merops apiaster</i>	Alemanha	Emmenegger <i>et al</i> 2020;
		<i>Mohoua albicilla</i>	Nova Zelândia	Pérez-Tris <i>et al</i> 2007, Ewen <i>et al</i> 2012;
		<i>Passer domesticus</i>	Bulgária, Nova Zelândia, Polônia	Dimitrov <i>et al</i> 2010, Marzal <i>et al</i> 2011, Ewen <i>et al</i> 2012, Emmenegger <i>et al</i> 2018, Niebuhr <i>et al</i> 2016, Neto <i>et al</i> 2020;
		<i>Pavo cristatus</i>	Brasil	Chagas <i>et al</i> 2017;
		<i>Petroica australis</i>	Nova Zelândia	Pérez-Tris <i>et al</i> 2007;
		<i>Petroica longipes</i>	Nova Zelândia	Ewen <i>et al</i> 2012;
		<i>Philesturnus carunculatus</i>	Nova Zelândia	Pérez-Tris <i>et al</i> 2007, Alley <i>et al</i> 2010, Ewen <i>et al</i> 2012;
		<i>Phylloscopus humei</i>	Rússia	Scordato and Kardish 2014;
		<i>Ploceus melanogaster</i>	Camarões	Beadell <i>et al</i> 2009;
		<i>Prunella modularis</i>	Nova Zelândia	Schoener <i>et al</i> 2019;
		<i>Rimator malacoptilus</i>	Myanmar	Ishtiaq <i>et al</i> 2007;
		<i>Rostrhamus sociabilis</i>	Brasil	Morel <i>et al</i> 2021;
		<i>Sphenisciformes spp</i>	Estados Unidos	Spottiswoode <i>et al</i> 2020;
		<i>Spheniscus magellanicus</i>	Brasil	Vanstreels <i>et al</i> 2015, Vanstreels <i>et al</i> 2019;
		<i>Sporophila americana</i>	Brasil	Fecchio <i>et al</i> 2017a;
		<i>Stachyris nigriceps</i>	China	Zhang <i>et al</i> 2014;
		<i>Stachyris pyrrhops</i>	India	Ishtiaq <i>et al</i> 2017;

		<i>Stachyris ruficeps</i> <i>Strix varia</i> <i>Sylvia atricapilla</i> <i>Sylvia conspicillata</i> <i>Tachycineta bicolor</i> <i>Tadorna ferruginea</i> <i>Thryothorus ludovicianus</i> <i>Troglodytes troglodytes</i> <i>Turdus albicollis</i> <i>Turdus leucomelas</i> <i>Turdus merula</i>  <i>Turdus philomelos</i> <i>Zoothera gurneyi</i> <i>Zosterops ficedulinus</i> <i>Zosterops lateralis</i> <i>Zosterops leucophaeus</i>	China Estados Unidos Espanha Cabo Verde Estados Unidos Mongólia Estados Unidos Japão Brasil Brasil Nova Zelândia, Áustria, Índia  Nova Zelândia Malauí São Tomé e Príncipe Nova Zelândia São Tomé e Príncipe	Zhang <i>et al</i> 2014; Ishak <i>et al</i> 2008; Pérez-Rodríguez <i>et al</i> 2015; Illera <i>et al</i> 2015; Szymanski and Lovette 2005; Seimon <i>et al</i> 2016; DeBrock <i>et al</i> 2021; Imura <i>et al</i> 2012; Fecchio <i>et al</i> 2019b; Lacorte <i>et al</i> 2013; Pérez-Tris <i>et al</i> 2007, Howe <i>et al</i> 2012, Ewen <i>et al</i> 2012, Niebuhr <i>et al</i> 2016, Schoener <i>et al</i> 2019, Harl <i>et al</i> 2020, Gupta <i>et al</i> 2019; Pérez-Tris <i>et al</i> 2007, Ewen <i>et al</i> 2012, Schoener <i>et al</i> 2019; Lutz <i>et al</i> 2015; Loiseau <i>et al</i> 2017; Howe <i>et al</i> 2012; Loiseau <i>et al</i> 2017;
HYPSTR14 (KU562504) <i>Plasmodium</i> sp	<i>Hypocnemis cantator</i> (3)	<b><i>Hypocnemis striata</i></b>	Brasil (AM)	Fecchio <i>et al</i> 2017a;
MYRAXI03 (KU562439) <i>Plasmodium</i> sp	<i>Myrmotherula axillaris</i>	<b><i>Myrmotherula axillaris</i></b>	Brasil (AM), Peru	Fecchio <i>et al</i> 2017a, McNew <i>et al</i> 2021;
HYPCAN03 <i>Plasmodium</i> sp	<i>Hypocnemis cantator</i>			Este estudo
ISLGUT03 <i>Plasmodium</i> sp	<i>Iseria guttata</i>			Este estudo

## Referências Bibliográficas do Apêndice B

- ALLEY, M.; HALE, K.; CASH, W.; HA, H.; HOWE, L. Concurrent avian malaria and avipox virus infection in translocated South Island saddlebacks (*Philesturnus carunculatus carunculatus*). **New Zealand Veterinary Journal**, v. 58, n. 4, p. 218–223, ago. 2010. <https://doi.org/10.1080/00480169.2010.68868>.
- BAILLIE, S. M.; BRUNTON, D. H. Diversity, distribution and biogeographical origins of *Plasmodium* parasites from the New Zealand bellbird (*Anthornis melanura*). **Parasitology**, v. 138, n. 14, p. 1843–1851, dez. 2011. <https://doi.org/10.1017/S0031182011001491>.
- BANDA, M. E.; HOWE, L.; GARTRELL, B. D.; MCINNES, K.; HUNTER, S.; FRENCH, N. P. A cluster of avian malaria cases in a kiwi management programme. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 3, p. 121–126, maio 2013. <https://doi.org/10.1080/00480169.2012.736130>.
- BARON, H. R.; HOWE, L.; VARSANI, A.; DONELEY, R. J. T. Disease Screening of Three Breeding Populations of Adult Exhibition Budgerigars (*Melopsittacus undulatus*) in New Zealand Reveals a High Prevalence of a Novel Polyomavirus and Avian Malaria Infection. **Avian Diseases**, v. 58, n. 1, p. 111–117, mar. 2014. <https://doi.org/10.1637/10604-063013-REG.1>.
- BEADELL, J. S.; COVAS, R.; GEBHARD, C.; ISHTIAQ, F.; MELO, M.; SCHMIDT, B. K.; PERKINS, S. L.; GRAVES, G. R.; FLEISCHER, R. C. Host associations and evolutionary relationships of avian blood parasites from West Africa. **International Journal for Parasitology**, v. 39, n. 2, p. 257–266, jan. 2009. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2008.06.005>.
- BEADELL, J. S.; GERING, E.; AUSTIN, J.; DUMBACHER, J. P.; PEIRCE, M. A.; PRATT, T. K.; ATKINSON, C. T.; FLEISCHER, R. C. Prevalence and differential host-specificity of two avian blood parasite genera in the Australo-Papuan region: HOST-SPECIFICITY OF AVIAN HAEMATOOZOA. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 12, p. 3829–3844, 15 nov. 2004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02363.x>.
- BEADELL, J. S.; ISHTIAQ, F.; COVAS, R.; MELO, M.; WARREN, B. H.; ATKINSON, C. T.; BENSCH, S.; GRAVES, G. R.; JHALA, Y. V.; PEIRCE, M. A.; RAHMANI, A. R.; FONSECA, D. M.; FLEISCHER, R. C. Global phylogeographic limits of Hawaii's avian malaria. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 273, n. 1604, p. 2935–2944, 7 dez. 2006. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3671>.
- BENSCH, S.; WALDENSTRÖM, J.; JONZÉN, 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, jan. 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01176.x>.
- BOSHOLN, M.; FECCHIO, A.; SILVEIRA, P.; BRAGA, É. M.; ANCIÃES, M. Effects of avian malaria on male behaviour and female visitation in lekking blue-



crowned manakins. **Journal of Avian Biology**, v. 47, n. 4, p. 457–465, jul. 2016. <https://doi.org/10.1111/jav.00864>.

CHAGAS, C. R. F.; VALKIŪNAS, G.; DE OLIVEIRA GUIMARÃES, L.; MONTEIRO, E. F.; GUIDA, F. J. V.; SIMÕES, R. F.; RODRIGUES, P. T.; DE ALBUQUERQUE LUNA, E. J.; KIRCHGATTER, K. Diversity and distribution of avian malaria and related haemosporidian parasites in captive birds from a Brazilian megalopolis. **Malaria Journal**, v. 16, n. 1, p. 83, dez. 2017. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1729-8>.

CILOGLU, A.; ERGEN, A. G.; INCI, A.; DIK, B.; DUZLU, O.; ONDER, Z.; YETISMIS, G.; BENSCH, S.; VALKIŪNAS, G.; YILDIRIM, A. Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites at an intersection point of bird migration routes: Sultan Marshes National Park, Turkey. **Acta Tropica**, v. 210, p. 105465, out. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105465>.

DEBROCK, S.; COHEN, E.; BALASUBRAMANIAN, S.; MARRA, P. P.; HAMER, S. A. Characterization of the Plasmodium and Haemoproteus parasite community in temperate-tropical birds during spring migration. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 15, p. 12–21, ago. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2021.03.013>.

DIMITROV, D.; ILIEVA, M.; IVANOVA, K.; BRLÍK, V.; ZEHTINDJIEV, P. Detecting local transmission of avian malaria and related haemosporidian parasites (Apicomplexa, Haemosporida) at a Special Protection Area of Natura 2000 network. **Parasitology Research**, v. 117, n. 7, p. 2187–2199, jul. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5906-7>.

DIMITROV, D.; ZEHTINDJIEV, P.; BENSCH, S. Genetic diversity of avian blood parasites in SE Europe: Cytochrome b lineages of the genera Plasmodium and Haemoproteus (Haemosporida) from Bulgaria. **Acta Parasitologica**, v. 55, n. 3, 1 jan. 2010. DOI 10.2478/s11686-010-0029-z. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.2478/s11686-010-0029-z/html>.

DOUSSANG, D.; GONZÁLEZ-ACUÑA, D.; TORRES-FUENTES, L. G.; LOUGHEED, S. C.; CLEMENTE-CARVALHO, R. B.; GREENE, K. C.; VIANNA, J. A. Spatial distribution, prevalence and diversity of haemosporidians in the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 2, dez. 2019. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3243-4>.

DURRANT, K. L.; BEADELL, J. S.; ISHTIAQ, F.; GRAVES, G. R.; OLSON, S. L.; GERING, E.; PEIRCE, M. A.; MILENSKY, C. M.; SCHMIDT, B. K.; GEBHARD, C.; FLEISCHER, R. C. Avian Hematozoa in South America: A Comparison of Temperate and Tropical Zones. **Ornithological Monographs**, n. 60, p. 98–111, jan. 2006. <https://doi.org/10.2307/40166831>.

EMMENEGGER, T.; ALVES, J. A.; ROCHA, A. D.; COSTA, J. S.; SCHMID, R.; SCHULZE, M.; HAHN, S. Population- and age-specific patterns of haemosporidian assemblages and infection levels in European bee-eaters

(*Merops apiaster*). **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 14, p. 1125–1131, dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.07.005>.

EMMENEGGER, T.; BAUER, S.; DIMITROV, D.; OLANO MARIN, J.; ZEHTINDJIEV, P.; HAHN, S. Host migration strategy and blood parasite infections of three sparrow species sympatrically breeding in Southeast Europe. **Parasitology Research**, v. 117, n. 12, p. 3733–3741, dez. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6072-7>.

EWEN, J. G.; BENSCH, S.; BLACKBURN, T. M.; BONNEAUD, C.; BROWN, R.; CASSEY, P.; CLARKE, R. H.; PÉREZ-TRIS, J. Establishment of exotic parasites: the origins and characteristics of an avian malaria community in an isolated island avifauna. **Ecology Letters**, v. 15, n. 10, p. 1112–1119, out. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2012.01833.x>.

FECCHIO, A.; PINHEIRO, R.; FELIX, G.; FARIA, I. P.; PINHO, J. B.; LACORTE, G. A.; BRAGA, E. M.; FARIAS, I. P.; ALEIXO, A.; TKACH, V. V.; COLLINS, M. D.; BELL, J. A.; WECKSTEIN, J. D. Host community similarity and geography shape the diversity and distribution of haemosporidian parasites in Amazonian birds. **Ecography**, v. 41, n. 3, p. 505–515, mar. 2018. <https://doi.org/10.1111/ecog.03058>.

FECCHIO, Alan; BELL, J. A.; COLLINS, M. D.; FARIAS, I. P.; TRISOS, C. H.; TOBIAS, J. A.; TKACH, V. V.; WECKSTEIN, J. D.; RICKLEFS, R. E.; BATALHA-FILHO, H. Diversification by host switching and dispersal shaped the diversity and distribution of avian malaria parasites in Amazonia. **Oikos**, v. 127, n. 9, p. 1233–1242, set. 2018. <https://doi.org/10.1111/oik.05115>.

FECCHIO, Alan; BELL, J. A.; PINHEIRO, R. B. P.; CUETO, V. R.; GOROSITO, C. A.; LUTZ, H. L.; GAIOTTI, M. G.; PAIVA, L. V.; FRANÇA, L. F.; TOLEDO-LIMA, G.; TOLENTINO, M.; PINHO, J. B.; TKACH, V. V.; FONTANA, C. S.; GRANDE, J. M.; SANTILLÁN, M. A.; CAPARROZ, R.; ROOS, A. L.; BESSA, R.; ... COLLINS, M. D. Avian host composition, local speciation and dispersal drive the regional assembly of avian malaria parasites in South American birds. **Molecular Ecology**, v. 28, n. 10, p. 2681–2693, maio 2019. <https://doi.org/10.1111/mec.15094>.

FECCHIO, Alan; WELLS, K.; BELL, J. A.; TKACH, V. V.; LUTZ, H. L.; WECKSTEIN, J. D.; CLEGG, S. M.; CLARK, N. J. Climate variation influences host specificity in avian malaria parasites. **Ecology Letters**, v. 22, n. 3, p. 547–557, mar. 2019. <https://doi.org/10.1111/ele.13215>.

FERNÁNDEZ, M.; ROJO, M. Á.; CASANUEVA, P.; CARRIÓN, S.; HERNÁNDEZ, M. Á.; CAMPOS, F. High prevalence of haemosporidians in Reed Warbler *Acrocephalus scirpaceus* and Sedge Warbler *Acrocephalus schoenobaenus* in Spain. **Journal of Ornithology**, v. 151, n. 1, p. 27, jan. 2010. <https://doi.org/10.1007/s10336-009-0417-z>.

FERRAGUTI, M.; MARTÍNEZ-DE LA PUENTE, J.; RUIZ, S.; SORIGUER, R.; FIGUEROLA, J. On the study of the transmission networks of blood parasites from SW Spain: diversity of avian haemosporidians in the biting midge *Culicoides circumscriptus* and wild birds. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 208, dez. 2013. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-208>.

FOURCADE, Y.; KEIŠS, O.; RICHARDSON, D. S.; SECONDI, J. Continental-scale patterns of pathogen prevalence: a case study on the corncrake. **Evolutionary Applications**, v. 7, n. 9, p. 1043–1055, nov. 2014. <https://doi.org/10.1111/eva.12192>.

GIORGIADIS, M.; GUILLOT, J.; DUVAL, L.; LANDAU, I.; QUINTARD, B. Haemosporidian parasites from captive Strigiformes in France. **Parasitology Research**, v. 119, n. 9, p. 2975–2981, set. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06801-5>.

GUPTA, P.; VISHNUDAS, C. K.; RAMAKRISHNAN, U.; ROBIN, V. V.; DHARMARAJAN, G. Geographical and host species barriers differentially affect generalist and specialist parasite community structure in a tropical sky-island archipelago. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 286, n. 1904, p. 20190439, 12 jun. 2019. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.0439>.

HARL, J.; HIMMEL, T.; VALKIŪNAS, G.; ILGŪNAS, M.; BAKONYI, T.; WEISSENBOCK, H. Geographic and host distribution of haemosporidian parasite lineages from birds of the family Turdidae. **Malaria Journal**, v. 19, n. 1, p. 335, dez. 2020. <https://doi.org/10.1186/s12936-020-03408-0>.

HELLGREN, O.; WALDENSTRÖM, J.; PERÉZ-TRIS, J.; SZÖLL, E.; SI, Ö.; HASSELQUIST, D.; KRIZANAUSKIENE, A.; OTTOSSON, U.; BENSCH, S. Detecting shifts of transmission areas in avian blood parasites - a phylogenetic approach: TRANSMISSION AREAS OF AVIAN BLOOD PARASITES. **Molecular Ecology**, v. 16, n. 6, p. 1281–1290, mar. 2007. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03227.x>.

HOWE, L.; CASTRO, I. C.; SCHOENER, E. R.; HUNTER, S.; BARRACLOUGH, R. K.; ALLEY, M. R. Malaria parasites (*Plasmodium* spp.) infecting introduced, native and endemic New Zealand birds. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 913–923, fev. 2012. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2577-z>.

ILLERA, J. C.; FERNÁNDEZ-ÁLVAREZ, Á.; HERNÁNDEZ-FLORES, C. N.; FORONDA, P. Unforeseen biogeographical patterns in a multiple parasite system in Macaronesia. **Journal of Biogeography**, v. 42, n. 10, p. 1858–1870, out. 2015. <https://doi.org/10.1111/jbi.12548>.

IMURA, T.; SUZUKI, Y.; EJIRI, H.; SATO, Y.; ISHIDA, K.; SUMIYAMA, D.; MURATA, K.; YUKAWA, M. Prevalence of avian haematzoa in wild birds in a high-altitude forest in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 183, n. 3–4, p. 244–248, fev. 2012. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.027>.

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, p. e2304, 28 maio 2008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002304>.

ISHTIAQ, F.; GERING, E.; RAPPOLE, J. H.; RAHMANI, A. R.; JHALA, Y. V.; DOVE, C. J.; MILENSKY, C.; OLSON, S. L.; PEIRCE, M. A.; FLEISCHER, R. C. PREVALENCE AND DIVERSITY OF AVIAN HEMATOZOAN PARASITES IN ASIA: A REGIONAL SURVEY. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 43, n. 3, p. 382–398, jul. 2007. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-43.3.382>.

KUBACKA, J.; GERLÉE, A.; FOUCHER, J.; KORB, J.; PODMOKŁA, E. Correlates of blood parasitism in a threatened marshland passerine: infection by kinetoplastids of the genus *Trypanosoma* is related to landscape metrics of habitat edge. **Parasitology**, v. 146, n. 8, p. 1036–1046, jul. 2019. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000350>.

LACORTE, G. A.; FÉLIX, G. M. F.; PINHEIRO, R. R. B.; CHAVES, A. V.; ALMEIDA-NETO, G.; NEVES, F. S.; LEITE, L. O.; SANTOS, F. R.; BRAGA, É. M. Exploring the Diversity and Distribution of Neotropical Avian Malaria Parasites – A Molecular Survey from Southeast Brazil. **PLoS ONE**, v. 8, n. 3, p. e57770, 1 mar. 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057770>.

LOISEAU, C.; HARRIGAN, R. J.; ROBERT, A.; BOWIE, R. C. K.; THOMASSEN, H. A.; SMITH, T. B.; SEHGAL, R. N. M. Host and habitat specialization of avian malaria in Africa: HOST AND HABITAT SPECIALIZATION OF AVIAN MALARIA. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 2, p. 431–441, jan. 2012. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05341.x>.

LOISEAU, C.; MELO, M.; LOBATO, E.; BEADELL, J. S.; FLEISCHER, R. C.; REIS, S.; DOUTRELANT, C.; COVAS, R. Insularity effects on the assemblage of the blood parasite community of the birds from the Gulf of Guinea. **Journal of Biogeography**, v. 44, n. 11, p. 2607–2617, nov. 2017. <https://doi.org/10.1111/jbi.13060>.

LUTZ, H. L.; HOCHACHKA, W. M.; ENGEL, J. I.; BELL, J. A.; TKACH, V. V.; BATES, J. M.; HACKETT, S. J.; WECKSTEIN, J. D. Parasite Prevalence Corresponds to Host Life History in a Diverse Assemblage of Afrotropical Birds and Haemosporidian Parasites. **PLOS ONE**, v. 10, n. 4, p. e0121254, 8 abr. 2015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121254>.

MARZAL, A.; RICKLEFS, R. E.; VALKIŪNAS, G.; ALBAYRAK, T.; ARRIERO, E.; BONNEAUD, C.; CZIRJÁK, G. A.; EWEN, J.; HELLGREN, O.; HOŘÁKOVÁ, D.; IEZHOVA, T. A.; JENSEN, H.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; LIMA, M. R.; DE LOPE, F.; MAGNUSSEN, E.; MARTIN, L. B.; MØLLER, A. P.; PALINAUSKAS, V.; ... BENSCH, S. Diversity, Loss, and Gain of Malaria Parasites in a Globally Invasive

Bird. **PLoS ONE**, v. 6, n. 7, p. e21905, 11 jul. 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021905>.

MCNEW, S. M.; BARROW, L. N.; WILLIAMSON, J. L.; GALEN, S. C.; SKEEN, H. R.; DUBAY, S. G.; GAFFNEY, A. M.; JOHNSON, A. B.; BAUTISTA, E.; ORDOÑEZ, P.; SCHMITT, C. J.; SMILEY, A.; VALQUI, T.; BATES, J. M.; HACKETT, S. J.; WITT, C. C. Contrasting drivers of diversity in hosts and parasites across the tropical Andes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 118, n. 12, p. e2010714118, 23 mar. 2021. <https://doi.org/10.1073/pnas.2010714118>.

MOREL, A. P.; WEBSTER, A.; PRUSCH, F.; ANICET, M.; MARSICANO, G.; TRAININI, G.; STOCKER, J.; GIANI, D.; BANDARRA, P. M.; DA ROCHA, M. I. S.; ZITELLI, L. C.; UMENO, K. A.; SOUZA, U. A.; DALL'AGNOL, B.; RECK, J. Molecular detection and phylogenetic relationship of Haemosporida parasites in free-ranging wild raptors from Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 23, p. 100521, jan. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100521>.

MUSA, S.; MACKENSTEDT, U.; WOOG, F.; DINKEL, A. Avian malaria on Madagascar: prevalence, biodiversity and specialization of haemosporidian parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 49, n. 3–4, p. 199–210, mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2018.11.001>.

NETO, J. M.; MELLINGER, S.; HALUPKA, L.; MARZAL, A.; ZEHTINDJIEV, P.; WESTERDAHL, H. Seasonal dynamics of haemosporidian (Apicomplexa, Haemosporida) parasites in house sparrows *Passer domesticus* at four European sites: comparison between lineages and the importance of screening methods. **International Journal for Parasitology**, v. 50, n. 6–7, p. 523–532, jun. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2020.03.008>.

NIEBUHR, C. N.; POULIN, R.; TOMPKINS, D. M. Is Avian Malaria Playing a Role in Native Bird Declines in New Zealand? Testing Hypotheses along an Elevational Gradient. **PLOS ONE**, v. 11, n. 11, p. e0165918, 1 nov. 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165918>.

OKANGA, S.; CUMMING, G. S.; HOCKEY, P. A. R.; NUPEN, L.; PETERS, J. L. Host Specificity And Co-Speciation In Avian Haemosporidia In The Western Cape, South Africa. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. e86382, 3 fev. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086382>.

ORTIZ-CATEDRAL, L.; BRUNTON, D.; STIDWORTHY, M. F.; ELSHEIKHA, H. M.; PENNYCOTT, T.; SCHULZE, C.; BRAUN, M.; WINK, M.; GERLACH, H.; PENDL, H.; GRUBER, A. D.; EWEN, J.; PÉREZ-TRIS, J.; VALKIŪNAS, G.; OLIAS, P. Haemoproteus minutus is highly virulent for Australasian and South American parrots. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 40, dez. 2019. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3255-0>.

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, 1 out. 2009. <https://doi.org/10.1645/GE-1982.1>.

PÉREZ-RODRÍGUEZ, A.; DE LA HERA, I.; BENSCH, S.; PÉREZ-TRIS, J. Evolution of seasonal transmission patterns in avian blood-borne parasites. **International Journal for Parasitology**, v. 45, n. 9–10, p. 605–611, ago. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.03.008>.

PÉREZ-TRIS, J.; HELLGREN, O.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; WALDENSTRÖM, J.; SECONDI, J.; BONNEAUD, C.; FJELDSÅ, J.; HASSELQUIST, D.; BENSCH, S. Within-Host Speciation of Malaria Parasites. **PLoS ONE**, v. 2, n. 2, p. e235, 21 fev. 2007. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000235>.

RAMEY, A. M.; REED, J. A.; WALTHER, P.; LINK, P.; SCHMUTZ, J. A.; DOUGLAS, D. C.; STALLKNECHT, D. E.; SOOS, C. Evidence for the exchange of blood parasites between North America and the Neotropics in blue-winged teal (*Anas discors*). **Parasitology Research**, v. 115, n. 10, p. 3923–3939, out. 2016. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5159-2>.

SANTIAGO-ALARCON, D.; OUTLAW, D. C.; RICKLEFS, R. E.; PARKER, P. G. Phylogenetic relationships of haemosporidian parasites in New World Columbiformes, with emphasis on the endemic Galapagos dove. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 4, p. 463–470, mar. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.10.003>.

SCAGLIONE, F. E.; CANNIZZO, F. T.; PREGEL, P. Blood parasites in hooded crows (*Corvus corone cornix*) in Northwest Italy. **Veterinaria Italiana**, n. 52(2), p. 111–116, 2016. <https://doi.org/10.12834/VetIt.110.307.2>.

SCHOENER, E.; TOMPKINS, D.; PARKER, K.; HOWE, L.; CASTRO, I. Presence and diversity of mixed avian *Plasmodium* spp. infections in introduced birds whose distribution overlapped with threatened New Zealand endemic birds. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 68, n. 2, p. 101–106, 3 mar. 2020. <https://doi.org/10.1080/00480169.2019.1680326>.

SCORDATO, E. S. C.; KARDISH, M. R. Prevalence and beta diversity in avian malaria communities: host species is a better predictor than geography. **Journal of Animal Ecology**, v. 83, n. 6, p. 1387–1397, nov. 2014. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12246>.

SEIMON, T. A.; GILBERT, M.; NEABORE, S.; HOLLINGER, C.; TOMASZEWICZ, A.; NEWTON, A.; CHANG, T.; MCALOOSE, D. Avian Hemosporidian Parasite Lineages in Four Species of Free-ranging Migratory Waterbirds from Mongolia, 2008. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 52, n. 3, p. 682, 1 jul. 2016. <https://doi.org/10.7589/2015-11-311>.

SHURULINKOV, P.; SPASOV, L.; STOYANOV, G.; CHAKAROV, N. Blood parasite infections in a wild population of ravens (*Corvus corax*) in Bulgaria. **Malaria Journal**, v. 17, n. 1, p. 33, dez. 2018. <https://doi.org/10.1186/s12936-018-2179-7>.

SORENSEN, M. C.; ASGHAR, M.; BENSCH, S.; FAIRHURST, G. D.; JENNI-EIERMANN, S.; SPOTTISWOODE, C. N. A rare study from the wintering grounds provides insight into the costs of malaria infection for migratory birds. **Journal of Avian Biology**, v. 47, n. 4, p. 575–582, jul. 2016. <https://doi.org/10.1111/jav.00870>.

SPOTTISWOODE, N.; BARTLETT, S. L.; CONLEY, K. J.; SEIMON, T. A.; GRIFFIN, D. O.; SYKES, J. M. ANALYSIS OF PLASMODIUM LINEAGES IDENTIFIED IN CAPTIVE PENGUINS (*SPHENISCIFORMES* SPP.), EIDERS (*SOMATERIA* SPP.), AND INCA TERNS (*LAROSTERNA INCA*) IN A NORTH AMERICAN ZOOLOGICAL COLLECTION. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 51, n. 1, p. 140, 17 mar. 2020. <https://doi.org/10.1638/2019-0078>.

STANKOVIĆ, D.; JÖNSSON, J.; RAKOVIĆ, M. Diversity of avian blood parasites in wild passerines in Serbia with special reference to two new lineages. **Journal of Ornithology**, v. 160, n. 2, p. 545–555, abr. 2019. <https://doi.org/10.1007/s10336-019-01628-z>.

SVOBODA, A.; MARTHINSEN, G.; PAVEL, V.; CHUTNÝ, B.; TURČOKOVÁ, L.; LIFJELD, J. T.; JOHNSEN, A. Blood parasite prevalence in the Bluethroat is associated with subspecies and breeding habitat. **Journal of Ornithology**, v. 156, n. 2, p. 371–380, abr. 2015. <https://doi.org/10.1007/s10336-014-1134-9>.

SZÖLLŐSI, E.; CICHÓN, M.; EENS, M.; HASSELQUIST, D.; KEMPENAERS, B.; MERINO, S.; NILSSON, J.-Å.; ROSIVALL, B.; RYTKÖNEN, S.; TÖRÖK, J.; WOOD, M. J.; GARAMSZEGI, L. Z. Determinants of distribution and prevalence of avian malaria in blue tit populations across Europe: separating host and parasite effects: Distribution of malaria in blue tits. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 24, n. 9, p. 2014–2024, set. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2011.02339.x>.

SZYMANSKI, M. M.; LOVETTE, I. J. HIGH LINEAGE DIVERSITY AND HOST SHARING OF MALARIAL PARASITES IN A LOCAL AVIAN ASSEMBLAGE. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 4, p. 768–774, ago. 2005. <https://doi.org/10.1645/GE-417R1.1>.

VALKIŪNAS, G.; ZEHTINDJIEV, P.; DIMITROV, D.; KRIŽANAUSKIENĖ, A.; IEZHOVA, T. A.; BENSCH, S. Polymerase chain reaction-based identification of *Plasmodium* (*Huffia*) *elongatum*, with remarks on species identity of haemosporidian lineages deposited in GenBank. **Parasitology Research**, v. 102, n. 6, p. 1185–1193, maio 2008. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-0892-9>.

VANSTREELS, R.; DA SILVA-FILHO, R.; KOLESNIKOVAS, C.; BHERING, R.; RUOPPOLO, V.; EPIPHANIO, S.; AMAKU, M.; JUNIOR, F.; BRAGA, É.; CATÃO-

DIAS, J. Epidemiology and pathology of avian malaria in penguins undergoing rehabilitation in Brazil. **Veterinary Research**, v. 46, n. 1, p. 30, 2015. <https://doi.org/10.1186/s13567-015-0160-9>.

VANSTREELS, R. E. T.; DUTRA, D. de A.; FERREIRA-JUNIOR, F. C.; HURTADO, R.; EGERT, L.; MAYORGA, L. F. S. P.; BHERING, R. C. C.; BRAGA, É. M.; CATÃO-DIAS, J. L. Epidemiology, hematology, and unusual morphological characteristics of Plasmodium during an avian malaria outbreak in penguins in Brazil. **Parasitology Research**, v. 118, n. 12, p. 3497–3508, dez. 2019. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06459-8>.

VENTIM, R.; MORAIS, J.; PARDAL, S.; MENDES, L.; RAMOS, J. A.; PÉREZ-TRIS, J. Host-parasite associations and host-specificity in haemoparasites of reed bed passerines. **Parasitology**, v. 139, n. 3, p. 310–316, mar. 2012. <https://doi.org/10.1017/S0031182011002083>.

ZHANG, Y.; WU, Y.; ZHANG, Q.; SU, D.; ZOU, F. Prevalence Patterns of Avian Plasmodium and Haemoproteus Parasites and the Influence of Host Relative Abundance in Southern China. **PLoS ONE**, v. 9, n. 6, p. e99501, 9 jun. 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099501>.



**APÊNDICE C** - Artigo publicado na revista *Pathogens* sob o título “Avian Malaria and Related Parasites from Resident and Migratory Birds in the Brazilian Atlantic Forest, with Description of a New *Haemoproteus* Species”. ANJOS *et al.*, 2021.



Article

## Avian Malaria and Related Parasites from Resident and Migratory Birds in the Brazilian Atlantic Forest, with Description of a New *Haemoproteus* Species

Carolina C. Anjos <sup>1,†</sup>, Carolina R. F. Chagas <sup>2,†</sup>, Alan Fecchio <sup>3</sup>, Fabio Schunck <sup>4</sup>, Maria J. Costa-Nascimento <sup>5</sup>, Eliana F. Monteiro <sup>1</sup>, Bruno S. Mathias <sup>1</sup>, Jeffrey A. Bell <sup>6</sup>, Lilian O. Guimarães <sup>7</sup>, Kiba J. M. Comiche <sup>1</sup>, Gediminas Valkiūnas <sup>2</sup> and Karin Kirchgatter <sup>1,7,\*</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo 05403-000, SP, Brazil; carolinaclares@gmail.com (C.C.A.); elianafmonteiro@usp.br (E.F.M.); brunomathiasbio@gmail.com (B.S.M.); kibajamila@hotmail.com (K.J.M.C.);

<sup>2</sup> Nature Research Centre, 08412 Vilnius, Lithuania; crfchagas@gmail.com (C.R.F.C.); gediminas.valkiunas@gamtc.lt (G.V.)

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá 78060-900, Brazil; alanfecchio@gmail.com

<sup>4</sup> Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos—CBRO, São Paulo 04785-040, SP, Brazil; fabio\_schunck@yahoo.com.br

<sup>5</sup> Núcleo de Estudos em Malária, Superintendência de Controle de Endemias, Instituto de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo 05403-000, SP, Brazil; dida.suizen@gmail.com

<sup>6</sup> Department of Biology, University of North Dakota, 10 Cornell Street, Grand Forks, ND 58202, USA; jeffrey.bell@und.edu

<sup>7</sup> Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Superintendência de Controle de Endemias, São Paulo 01027-000, SP, Brazil; lilianguima@gmail.com

\* Correspondence: karink@usp.br; Tel.: +55-11-3311-1177

† These authors contributed equally to this work



Citation: Anjos, C.C.; Chagas, C.R.F.; Fecchio, A.; Schunck, F.; Costa-Nascimento, M.J.; Monteiro, E.F.; Mathias, B.S.; Bell, J.A.; Guimarães, L.O.; Comiche, K.J.M.; et al. Avian Malaria and Related Parasites from Resident and Migratory Birds in the Brazilian Atlantic Forest, with Description of a New *Haemoproteus* Species. *Pathogens* **2021**, *10*, 103. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020103>

Academic Editor: Francesca Mancianti

Received: 23 December 2020

Accepted: 15 January 2021

Published: 21 January 2021

**Publisher's Note:** MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Determining the prevalence and local transmission dynamics of parasitic organisms are necessary to understand the ability of parasites to persist in host populations and disperse across regions, yet local transmission dynamics, diversity, and distribution of haemosporidian parasites remain poorly understood. We studied the prevalence, diversity, and distributions of avian haemosporidian parasites of the genera *Plasmodium*, *Haemoproteus*, and *Leucocytozoon* among resident and migratory birds in Serra do Mar, Brazil. Using 399 blood samples from 66 Atlantic Forest bird species, we determined the prevalence and molecular diversity of these pathogens across avian host species and described a new species of *Haemoproteus*. Our molecular and morphological study also revealed that migratory species were infected more than residents. However, vector infective stages (gametocytes) of *Leucocytozoon* spp., the most prevalent parasites found in the most abundant migrating host species in Serra do Mar (*Elaenia albiceps*), were not seen in blood films of local birds suggesting that this long-distance Austral migrant can disperse *Leucocytozoon* parasite lineages from Patagonia to the Atlantic Forest, but lineage sharing among resident species and local transmission cannot occur in this part of Brazil. Our study demonstrates that migratory species may harbor a higher diversity and prevalence of parasites than resident species, but transportation of some parasites by migratory hosts may not always affect local transmission.

**Keywords:** avian migration; avian malaria; *Plasmodium*; *Haemoproteus*; parasite diversity; phylogenetic diversity; vectorborne disease

### 1. Introduction

Brazil is one of the world's richest countries in terms of bird species diversity, with 1919 known species [1], of which 234 species are endangered [2]. In Brazil, the Atlantic Forest biome has the second largest number of species (934) and second highest level

**APÊNDICE D** - Artigo submetido à revista *Frontiers* sob o título “Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites in islands from Balbina Hydroelectric Dam in the Brazilian Amazon”. ANJOS *et al.*, 2022.



## Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites in islands from Balbina Hydroelectric Dam in the Brazilian Amazon

Carolina Clares dos Anjos<sup>1</sup>, Thiago Bicudo<sup>2</sup>, Alan Fecchio<sup>3</sup>, Marina Anciães<sup>4</sup>, Bruno da Silva Mathias<sup>1</sup>, Carolina Romeiro Fernandes Chagas<sup>5</sup>, Jeffrey A. Bell<sup>6</sup>, Lilian de Oliveira Guimarães<sup>7</sup>, Eliana Ferreira Monteiro<sup>1</sup>, and Karin Kirchgatter<sup>1,7,\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo 05403-000, SP, Brazil; brunomathiasbio@gmail.com (B.S.M.); carolinaclares@gmail.com (C.C.A.); elianafmonteiro@usp.br (E.F.M.)

<sup>2</sup>Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá, Tefé 69553-225, AM, Brazil; bicudotks@gmail.com (T.B.)

<sup>3</sup>Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação da Biodiversidade, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá 78060-900, Brazil; alanfecchio@gmail.com (A.F.)

<sup>4</sup>Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Coordenação de Biodiversidade, Manaus 69081-000, AM, Brazil; marina.anciaes@gmail.com (M.A.)

<sup>5</sup>Nature Research Centre, Vilnius 08412, Lithuania; crfchagas@gmail.com (C.R.F.C.)

<sup>6</sup>Department of Biology, University of North Dakota, 10 Cornell Street, Grand Forks, ND 58202, USA; jeffrey.bell@und.edu (J.A.B)

<sup>7</sup>Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, Superintendência de Controle de Endemias, São Paulo 01027-000, SP, Brazil; lilianguima@gmail.com (L.O.G.); karink@usp.br (K.K.)

### \* Correspondence:

Karin Kirchgatter  
karink@usp.br

**Keywords:** *Plasmodium*; avian malaria; parasite diversity; artificial islands; phylogenetic diversity.

### Abstract

The Brazilian Amazon supports an extremely diverse avifauna and serves as the center of diversification for avian malaria parasites in South America. The construction of hydroelectric dams is a driver of biodiversity loss, by creating islands that are generally incapable of sustaining the same bird communities found in intact forest sites. Balbina Hydroelectric Dam covers a reservoir area of 443,700 ha. with 3,546 islands on the left bank of the Uatumã River known to contain more than 400 bird species. Beyond anthropogenic actions, the presence of parasites can also have a high influence on the dynamics and structure of bird communities. Avian malaria (*Plasmodium*) and related haemosporidian parasites (*Haemoproteus* and *Leucocytozoon*) are a cosmopolitan group of protozoan parasites recovered from all major bird groups and all zoogeographic regions, except in Antarctica.

## ANEXO A- Parecer de Aprovação do Comitê de Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (CEUA/000412A).



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO**  
 Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470  
 CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil - e-mail: cpq-imt@usp.br  
 Telefones: (55) 11-3061-8650, FAX (55) 11-3064-5132



São Paulo, 16 de Agosto de 2019

Ilmo(a)  
**Dr(a). Karin Kirchgatter**  
 (aos cuidados de Carolina Clares dos Anjos)

Certificamos que a proposta intitulada "**Prevalência, diversidade e filogenia de hemossporídeos em aves de diferentes biomas**", registrada com o nº **000412A**, sob a responsabilidade de **Karin Kirchgatter** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA-IMT) do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, em reunião na presente data.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CEUA-IMT, o relatório final sobre a pesquisa.

Vigência da Autorização: 01/09/2019 a 31/08/2021							
Finalidade	Pesquisa						
Espécie	Linagem	Idade	Peso	Material	Quantidade		
					M	F	M+F
Ave	Animal Selvagem	todas	todas	a ser Coletado	600	600	1200
Origem: Animal Silvestre - Pantanal - MT, Florestal - MG, Balbina - AM, Curucutu - SP, Michelin - BA e Patagônia (Esquel).						TOTAL	1200

**Nº da Solicitação ou Autorização SISBIO:** Vários

**Atividades(s):** Captura

**Local(is):** Pantanal - MT, Florestal - MG, Balbina - AM, Curucutu - SP, Michelin - BA e Patagônia (Esquel).

Atenciosamente,

Prof. Dr. Jorge Simão do Rosário Casseb  
**Presidente da Comissão de Pesquisa e Ética do IMT-USP**

Dra. Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman  
**Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa do IMT-USP**