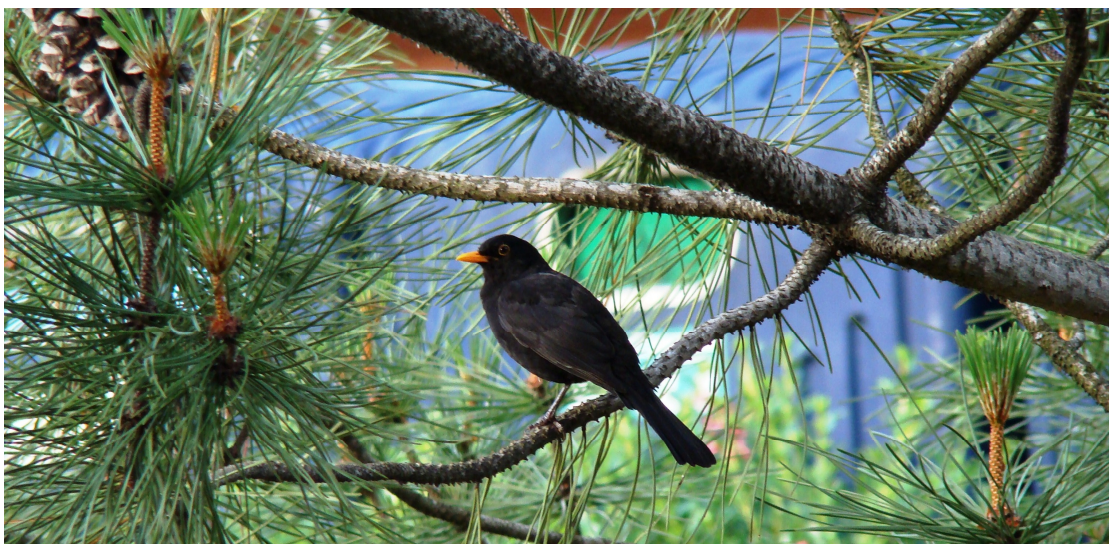




UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Programa de Pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre

## **Efeitos das alterações ambientais sobre a saúde de aves silvestres utilizando hemoparasitos como indicadores**



DÉBORA NOGUEIRA CAMPOS LOBATO

Belo Horizonte  
Junho 2012



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre

## **Efeitos das alterações ambientais sobre a saúde de aves silvestres utilizando hemoparasitos como indicadores**

Tese de Doutorado apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais, no Programa de Pós-Graduação em Ecologia Conservação e Manejo da Vida Silvestre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em Ecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Yasmine Antonini  
(DEBIO ICEB-UFOP)

Co-orientadora: Profa. Dra. Érika Braga  
(Depto. de Parasitologia/ICB-UFMG)

Co-Orientador no Exterior (Programa PDEE/CAPES): Prof. Dr. Jaime Ramos (Depto. de Zoologia, Universidade de Coimbra/Portugal)

Belo Horizonte  
Junho de 2012

**“Blackbird - The Beatles”**

Blackbird singing in the dead of night,  
Take these broken wings and learn to fly.  
All your life,  
You were only waiting for the moment to arise.

Blackbird singing in the dead of night,  
Take these sunken eyes and learn to see.  
All your life,  
You were only waiting for the moment to be free.

Black bird fly, black bird fly  
Into the light of the dark black night.

Black bird fly, black bird fly  
Into the light of the dark black night.

Blackbird singing in the dead of night  
Take these broken wings and learn to fly.  
All your life  
You were only waiting for this moment to arise!

*À beleza das aves que me conquistaram...*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha Mainha-Girassol, que sempre foi “Pãe”, forte e doce como um leão, que acha que em sua ninhada, somos eternos ninhegos....

Ao Marcos, luz e força: o Porto Seguro da minha vida, só ele sabe me fazer rir da própria TPM e TPD (tensão pré-defesa!).

À Yasmine, quem admiro como profissional e, que além de orientadora, muitas vezes foi uma verdadeira amiga!

À toda equipe do Laboratório de Malária da UFMG pelas análises moleculares, principalmente à Profa. Érika Braga.

Ao Prof. Jaime Ramos e sua equipe, principalmente à pós-doc Cláudia Norte, que se transformou em amiga (além das contribuições e sugestões no texto), e ao anilhador Paulo Tenreiro, sem eles as coletas em Portugal não teriam sido possíveis.

As amostras de pardais foram realizadas na casa do Prof. Manuel Graça (Coimbra) e na fazenda Escola de Veterinária com o apoio do Prof. Nelson Rodrigo (UFMG), a vocês meu sincero agradecimento e amizade.

Ao laboratório da Profa. Eneida Eskinazi da UFOP pelo acolhimento e uso dos Microscópios que viabilizaram as fotografias das lâminas de esfregaço sanguíneo.

Ao laboratório de Ecologia de Insetos/UFMG, no qual sempre fui acolhida e recebi total apoio do Prof. Rogério Parentoni e da Lurdinha, juntamente com os amigos que confraternizavam a cafeteira e os brownies do Jonathan.

Amigos do Laboratório de Biodiversidade e de Ouro Preto: minha xará Débora, Jú, Reisla, Cris, Mário, Ricardo, Fê e toda a galera do corredor do café (e cerveja, é claro!): Fifi, Francisco, Carol, Pedro, Dani, Amauri,... (a lista é grande!)

Alguns amigos me ajudaram especialmente na parte técnica e estatística como o Gabriel e o Hudson respectivamente, além dos diversos “brainstorms”!

Um especial agradecimento aos meus “ex-filhotes” (estagiários), Filipinho, Alê, Tio Chico, e principalmente ao Tio Franck, por toda ajuda nas atividades de campo e laboratório.

Existem amigas que ajudam DEMAIS no apoio psicológico e emocional: Marcela (Neném), Dani Bianchini, Gilmara, Carol Melo e Danyane.

Em campo sempre tive a sorte de encontrar pessoas especiais, como no Parque do Rio Preto (Tonhão), seus fiéis guarda-parques Deco, Cleusa e Ramonzinho, e o Prof. Renato Torres em Tocantins.

Aos Prof(a)s. Dra. Celine Melo, Dr. Cristiano Schetinni, Dr. Gustavo Lacort e Dr. Rogério Parentoni Martins, por terem aceito o convite de participar da banca e por suas preciosas contribuições para melhoria desta tese.

Às profas. Arnola e Paulina por aceitarem meu convite para suplente da banca. Além disso estas professoras acompanharam minha trajetória acadêmica com carinho e amizade!

À equipe da PG-ECMVS, professores e secretários (Fred e Cris), pelo apoio logístico e profissional que tornaram viáveis a conclusão da tese.

Agradeço as bolsas concedidas pelo CNPq e Capes (Programa de Doutorado Exterior – PDEE), além do apoio que a FAPEMIG e US-Fish concederam ao Programa de Pós-graduação ECMVS.

A todos, o meu sincero Muito Obrigada!



---

## ÍNDICE

---

<b>RESUMO</b> .....	1
<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	2
<i>Aves como bioindicadores</i> .....	2
<i>Parâmetros hematológicos e biológicos em aves</i> .....	3
<i>Hemoparasitos de aves</i> .....	5
<i>Influência do ciclo de vida na infecção por hemoparasitos</i> .....	8
<i>Influência das alterações ambientais sobre a saúde das aves</i> .....	10
<i>Turdus leucomelas e Passer domesticus como objeto de estudo</i> .....	11
<b>OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA</b> .....	15
<i>Objetivos específicos</i> .....	16
<i>Áreas de Estudo no Brasil</i> .....	18
<i>Áreas urbanas (zonas úmidas do baixo Mondego) em Portugal</i> .....	21
<b>CAPÍTULO 1: Prevalência de malária em comunidades de aves em ambientes urbanos x protegidos: a urbanização influencia a saúde das aves?</b> .....	27
<b>RESUMO</b> .....	28
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	29
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	33
<i>Áreas de Estudo</i> .....	33
<i>Variáveis ambientais e ecológicas</i> .....	37
<i>Captura das aves em campo</i> .....	40
<i>Captura dos insetos vetores</i> .....	40
<i>Coleta das amostras de sangue para análise</i> .....	41
<i>Análise laboratorial dos parâmetros hematológicos</i> .....	41
<i>Diagnóstico molecular e M.O. da infecção por hemoparasitos (malária)</i> .....	42
<i>Análises Estatísticas</i> .....	44
<b>RESULTADOS</b> .....	45
<i>Dados climáticos e sazonais no período de estudos</i> .....	45
<i>Insetos Vetores</i> .....	46
<i>Análises da prevalência de hemoparasitos</i> .....	47
<b>DISCUSSÃO</b> .....	55
<i>Relação entre a prevalência e os fatores ambientais e sazonais</i> .....	55
<i>Relação entre a prevalência e os fatores biológicos e ecológicos das aves</i> .....	57
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	63
<b>CAPÍTULO 2: Saúde e prevalência de malária aviária em ambientes tropical e temperado: Turdus spp. (Turdidae) e Passer domesticus (Passeridae) como modelos de estudo</b> .....	71
<b>RESUMO</b> .....	72
<b>INTRODUÇÃO</b> .....	73
<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	77
<i>Áreas de Estudo</i> .....	77
<i>Captura das aves em campo</i> .....	77
<i>Índice de massa corporal</i> .....	78
<i>Captura dos insetos vetores</i> .....	78
<i>Coleta das amostras de sangue para análise</i> .....	78
<i>Análise laboratorial dos parâmetros hematológicos</i> .....	79
<i>Diagnóstico molecular e M.O. da infecção por hemoparasitos (malária)</i> .....	80
<i>Análises Estatísticas</i> .....	82
<b>RESULTADOS</b> .....	83
<i>Dados climáticos e sazonais no período de estudos</i> .....	83
<i>Insetos Vetores</i> .....	85
<i>Análises da prevalência de hemoparasitos</i> .....	86
<i>Parâmetros hematológicos e de saúde das aves</i> .....	90
<i>Efeito do ciclo de vida</i> .....	91

<b>DISCUSSÃO</b> .....	92
<i>Prevalência de hemoparasitos entre os ambientes tropical e temperado</i> .....	92
<i>Efeito da infecção por hemoparasitos nos parâmetros hematológicos de saúde das aves</i> .....	95
<i>Relação entre a prevalência de hemoparasitos, os parâmetros hematológicos de saúde das aves e as fases do ciclo de vida</i> .....	96
<i>Considerações Finais</i> .....	100
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	103
<b>CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	111
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	121

## RESUMO

O estado de saúde das aves pode ser utilizado como indicador de alterações ambientais. Diferentes tipos de estresse físicos, ambientais e antrópicos favorecem o declínio das condições de saúde das aves reduzindo sua capacidade de sobreviver e reproduzir. Uma das consequências da degradação ambiental e alterações antrópicas dos habitats é o desequilíbrio das relações parasito-hospedeiro e alterações na estrutura da comunidade de vetores, assim como a dispersão dos parasitos e o surgimento de doenças infecciosas, como a malária. Os objetivos principais desta tese foram: (i) avaliar a relação entre a prevalência de malária e a saúde das aves em áreas protegidas e urbanas em regiões de Cerrado dos estados de Minas Gerais e Tocantins, a fim de diagnosticar os fatores que influenciam a dinâmica vetor-parasito-hospedeiros nestes ambientes (Capítulo 1); e (ii) avaliar se a prevalência de malária aviária é dependente da temperatura ou da variação da riqueza em espécies em região temperada (Portugal) e tropical (Brasil), utilizando como modelo de estudo os hospedeiros *Passer domesticus* e de duas espécies de *Turdus* spp. (Capítulo 2). O diagnóstico da malária aviária foi obtido por métodos moleculares e microscopia de esfregaço sanguíneo das aves. A avaliação das condições gerais de saúde das aves foi realizada através da análise de parâmetros hematológicos: taxa de glicose, concentração de hemoglobina, volume relativo de glóbulos vermelhos (HCT) e contagem diferencial de glóbulos brancos (razão H/L), além do índice de massa corporal. Armadilhas luminosas foram utilizadas para capturar os insetos e identificar os vetores locais. A prevalência total encontrada nas aves do Cerrado de Minas Gerais e Tocantins foi de 24% de infecção e não foi influenciada pelas variações sazonais (seca e chuva) ou de ciclo de vida das aves (período reprodutivo, de muda das penas ou descanso). Quando os estados foram avaliados conjuntamente, houve diferença significativa na prevalência de aves nas áreas preservadas (25,18%) em relação às áreas urbanas (20,68%). O comportamento e ecologia das aves influenciaram na prevalência de hemoparasitos. As aves que forrageiam do sub-bosque ao chão foram mais prevalentes que as aves que forrageiam no dossel; aves generalistas são mais prevalentes que aves exclusivas ou dependentes de mata; e quanto à guilda trófica, as aves frugívoras foram mais infectadas que as insetívoras; aves mais pesadas foram mais parasitadas. Em relação à participação em bando misto, apenas em Minas Gerais as aves que participam de bandos mistos foram mais prevalentes do que as que não participaram. O tipo de ninho não influenciou a prevalência, assim como nenhum dos fatores hematológicos foi capaz de explicar a parasitemia das aves. Em Tocantins, apenas o táxon (família das aves) pode explicar as diferentes prevalências de hemoparasitos nas aves, porém de maneira geral, com o aumento da abundância de espécies foi observada diminuição da prevalência de malária aviária. A prevalência de malária aviária no Brasil foi de 35 % em *T. leucomelas* e de 25 % em *P. domesticus*. Em Portugal, a prevalência de infecção foi de 69 % em *T. merula* e de 47 % em *P. domesticus*. Tanto para *Turdus*, quanto para *P. domesticus*, a prevalência e a intensidade de infecção foram significativamente maiores em Portugal. Indivíduos infectados apresentaram a taxa de hemoglobina significativamente menor que os não-infectados. O conhecimento dos processos ecológicos e interações complexas existentes na relação parasito-hospedeiro-vetor são necessários para direcionar as atividades de manejo na biologia da conservação, controle de doenças e biossegurança. Os resultados obtidos indicam que estes índices podem futuramente ser implementados para avaliar a saúde de aves silvestres em ambientes impactados (áreas urbanas) vs. ambientes naturais (áreas protegidas) e utilizados, por exemplo, como ferramenta na avaliação da viabilidade de reintrodução de indivíduos de cativeiro apreendidos pelos órgãos fiscalizadores. A comparação da saúde da avifauna silvestre representa um caminho na abordagem de bioindicadores de integridade ambiental em região tropical.

## INTRODUÇÃO GERAL

### *Aves como bioindicadores*

O aumento crescente das demandas populacionais e industriais constitui uma ameaça à diversidade biológica devido à pressão antrópica sobre os recursos naturais. Os distúrbios provocados por alterações ambientais desencadeiam uma série de respostas nos sistemas biológicos. A intensidade dessas respostas depende do tempo de exposição ao estresse e do potencial adaptativo das espécies ali presentes. Bioindicadores são organismos capazes de responder a alterações no equilíbrio do meio ambiente, através de alterações na distribuição das espécies, disfunções comportamentais, fisiológicas e anatômicas, ou no sucesso reprodutivo, causado por um estresse (Fränzle, 2003).

O estresse em aves pode ser causado por poluição, fragmentação ou destruição de habitats, introdução de espécies exóticas, super-exploração de espécies, manipulação do tamanho da ninhada, qualidade da dieta, presença de ectoparasitos e endoparasitos, entre outros (Becker, 2003). Estes fatores favorecem o declínio das condições clínicas das aves e, por conseguinte, diminuem sua capacidade de sobreviver e reproduzir. Um exemplo desse declínio foi demonstrado por Hõrak *et al.*(1998), em que os parâmetros hematológicos de aves que vivem em ambientes rurais estavam em melhores condições que o das aves em áreas urbanas e poluídas.

Aves são consideradas organismos indicadores de qualidade ambiental (Furness & Greenwood, 1993; Fränzle, 2003) devido a diversos fatores tais como: capacidade taxonômica de identificação das espécies; a biologia e ecologia das espécies são bem conhecidas; algumas são cosmopolitas; possuem ciclo de vida longo, o que possibilita monitoramentos em longo prazo; além de ocuparem muitas vezes o topo de cadeias

alimentares, possibilitando estudos de bioacumulação. Peakall & Boyd (1987) realizaram estudos sobre os níveis do inseticida DDT (Dicloro-Difenil-Tricloroetano) em casca de ovos e penas e mostraram que esses parâmetros são detectáveis por vários anos em organismos taxidermizados de coleções e museus. Dessa forma, além de bioindicadores, as aves atuam como organismos sentinelas que irão monitorar os níveis de impacto prejudiciais ao meio ambiente, em escala temporal e espacial (Peakall & Boyd, 1987). Destaca-se assim, o importante papel das aves na avaliação do estado de conservação ambiental de áreas protegidas e impactadas.

### ***Parâmetros hematológicos e biológicos em aves***

A avaliação da saúde de aves é realizada, na maioria das vezes, em espécies de interesse econômico, principalmente em aves de cativeiro e de criações para o consumo humano. Portanto, o conhecimento sobre a saúde de aves silvestres ainda é restrito. A maioria dos trabalhos que envolvem saúde de aves silvestres é realizada em ambientes temperados (Eeva *et al.*, 1997; Weddle, 2000; Fair & Ricklefs, 2002; Quillfeldt *et al.*, 2004; Shutler *et al.*, 2004). Existem poucos relatos na literatura a respeito da saúde de aves silvestres nos trópicos, principalmente no Brasil (Machado-Filho *et al.*, 2010; Belo *et al.*, 2010; Lobato *et al.*, 2011).

O estado de saúde das aves é uma forma de avaliar as condições ambientais, pois está diretamente relacionado à sua sobrevivência, crescimento e, conseqüentemente, ao sucesso reprodutivo (Hörak *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 1998). A avaliação do estado de saúde e nutricional das aves e sua imuno-competência (capacidade do sistema imune de reagir a doenças) podem ser analisadas através de parâmetros fisiológicos e biológicos. Estes parâmetros podem ser avaliados por meio de exames hematológicos, como a taxa de

hemoglobina e hematócrito (para avaliação de anemia); contagem diferencial de leucócitos para o cálculo da razão de heterófilos/linfócitos (morfotipos de glóbulos brancos indicadores de estresse); além do peso e medidas morfométricas. Esses métodos citados têm sido amplamente utilizados como ferramenta de diagnóstico complementar para monitorar as funções orgânicas de espécies de aves domésticas e silvestres (Fairbrother *et al.*, 1990; Ots & Hōrak, 1996; Dawson & Bartolotti, 1997; Hōrak *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 2002; Clinchy *et al.*, 2004; Williams, 2005, Kilgas *et al.*, 2006).

As hemácias das aves possuem uma peculiaridade em relação às hemácias de mamíferos, pois são nucleadas (Campbell, 1994). Obtida por métodos fotocolorimétricos simples, a hemoglobina é o pigmento responsável pela cor vermelha do sangue, está contida no eritrócito ou hemácia (glóbulo vermelho do sangue). O volume globular das hemácias, quantificado pelo hematócrito (HCT) está intimamente relacionado ao tamanho e ao número de glóbulos vermelhos. Hematócrito total, juntamente com os níveis de hemoglobina, designam o índice médio da percentagem de hemoglobina por hemácia, e são responsáveis pelo aporte de oxigênio no sangue, estando diretamente relacionados com a capacidade respiratória (oxygen-carrying) (Coles, 1984). Carey & Morton (1976) estudaram aves de rapina que vivem em altas altitudes, onde o ar é mais rarefeito e há um aumento da demanda de oxigênio, e observaram aumento dos níveis destes componentes respiratórios, em comparação às aves que vivem em baixas altitudes. Quando estes elementos estão em baixa quantidade no sangue, o diagnóstico caracteriza um quadro de anemia, e pode estar relacionado a fatores de estresse, presença de ectoparasitos hematófagos, endoparasitos que destroem ou danificam o funcionamento das hemácias, infecções crônicas, lesões e traumatismos físicos (Matos & Matos, 1988; Campbell, 1994; 1995).

Os leucócitos das aves podem ser classificados em granulócitos (originam-se na medula óssea), representados pelos basófilos, eosinófilos e heterófilos (similares aos

neutrófilos dos mamíferos), e pelos agranulócitos ou mononucleares (monócitos e linfócitos), que são produzidos nos tecidos linfóides: baço, timo e, em aves, na bolsa cloacal (bursa de Fabricius) (Garcia-Navarro & Pachaly, 1994).

A razão heterófilos/linfócitos analisada no leucograma dos esfregaços sanguíneos é considerada um indicador de estresse de aves domésticas, pois o estresse acelera a secreção dos hormônios do córtex da supra-renal, influenciando na diminuição dos eosinófilos e linfócitos e no aumento dos heterófilos (Post *et al.*, 2003). Quanto maior a proporção de heterófilos, maior pode ser o índice de estresse do animal, pois este leucócito é o responsável pelo ataque bacteriano em processos inflamatórios (Matos & Matos, 1988). Por outro lado, o glóbulo branco linfócito, deve estar em altas proporções, pois ele é responsável pelo reconhecimento e fagocitose de patógenos, e sua ausência indica imunossupressão, ou seja, um organismo sujeito a infecções. Em síntese quanto maior o valor da razão H/L maior o nível de estresse da ave (Campbell, 1994).

Estes índices hematológicos acima citados, somados a informações morfológicas e de peso das aves, possibilitam a percepção precoce de alterações fisiológicas, causadas por diversos fatores de estresse, possibilitando a implementação de medidas preventivas de impactos que seriam posteriormente ainda mais prejudiciais. Ou seja, observa-se o efeito no primeiro nível de organização (organismos), antes dos efeitos populacionais causados por mortalidade ou insucesso reprodutivo.

### ***Hemoparasitos de aves***

O parasitismo exerce forte influência na dinâmica e estrutura de comunidades biológicas assim como a competição ou a predação (Minchella & Scott, 1991, Hudson & Greenman, 1998). Em aves, os efeitos negativos do parasitismo podem ser observados em

aspectos como diminuição do sucesso reprodutivo (Marzal *et al.*, 2004), susceptibilidade a doenças (Philips, 1990) e diminuição da sobrevivência (Zinkl, 1986). Os hemoparasitos ou parasitos do sangue atuam como reguladores do tamanho de populações de hospedeiros e podem até mesmo causar extinções de espécies de aves (van Riper III *et al.*, 1986; Feldman *et al.*, 1995), além de afetar a seleção sexual, a coloração da plumagem e, conseqüentemente, o sucesso reprodutivo (Hamilton & Zuk, 1982; Pruett-Jones *et al.*, 1990; Kirkpatrick & Ryan, 1991; Ricklefs, 1992).

A malária aviária é uma doença infecciosa, transmitida por protozoários parasitos sanguíneos que acometem aves de diversas espécies (Valkiunas, 2004). Estes parasitos pertencem ao filo Apicomplexa, dentre os quais os gêneros mais prevalentes em aves pertencem à ordem Haemosporida: *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon* (Julian & Galt, 1980; Bennett *et al.*, 1982; Hopinks *et al.*, 1990; Garvin *et al.*, 1993). Conforme proposto por Pérez-Tris *et al.* (2005), o termo malária aviária (hemosporídeos ou hemoparasitos aviários) neste trabalho, refere-se a infecções por *Plasmodium* e/ou *Haemoproteus*.

Os hemoparasitos podem ser transmitidos entre os hospedeiros a partir do repasto sanguíneo de vetores, com conseqüente inoculação das formas infectantes, onde no sangue das aves encontram-se as formas de trofozoíto, esquizonte e gametócito para *Plasmodium*, e apenas gametócito para *Haemoproteus* (Valkiunas, 2005) (Figura 1). Os parasitos do gênero *Plasmodium* são transmitidos, na maioria das vezes, por mosquitos da família Culicidae (gêneros *Culex* e *Aedes*) e raramente do gênero *Anopheles*, como é o caso da malária humana (Atkinson & Van Riper III, 1991). O gênero *Haemoproteus* tem sido documentado em várias partes do mundo associado aos vetores das famílias Ceratopogonidae (em especial o gênero *Culicoides*) e Hippoboscidae (Greener *et al.*, 1975); enquanto que *Leucocytozoon* é



veiculado principalmente por mosquitos das famílias Simuliidae e Ceratopogonidae (Marcondes, 2001).

Uma linhagem de parasito pode infectar múltiplas espécies de hospedeiros (Waldenstrom *et al.*, 2002). Em particular, o *Plasmodium* pode ter um forte impacto negativo em seus hospedeiros, especialmente se espécies de aves nativas forem expostas pela primeira vez a algum parasito novo (Bensch *et al.*, 2000). No Havaí, a introdução de uma nova linhagem de *Plasmodium* resultou em extinções de diversas aves nativas (Atkinson *et al.*, 2000).

Aves infectadas por malária podem apresentar uma fase crônica ou latente de infecção, na qual a resposta imune reduz a parasitemia a níveis bastante baixos e as aves sobreviventes apresentam, portanto, pouco ou nenhum sinal de infecção. Essas infecções crônicas, que acometem a grande maioria das aves, são difíceis de serem detectadas através do exame de esfregaços sanguíneos a menos que ocorra uma reativação da infecção, controlada por interações complexas entre a resposta imune do hospedeiro e o estresse fisiológico (Atkinson & van Riper III, 1991).

A técnica de PCR (*polymerase chain reaction* - reação em cadeia por polimerase) usa o conhecimento da variação das seqüências de DNA para detectar especificamente linhagens diferentes de parasitos. A amplificação de uma seqüência genômica específica através de PCR para estudos epidemiológicos é bastante conveniente por se tratar, na maioria dos casos, de quantidades limitadas de amostras disponíveis. Além disso, pode fornecer diagnósticos rápidos e confiáveis, mesmo quando uma determinada amostra apresenta baixos níveis de parasitismo ou encontra-se infectada por mais de uma espécie de parasito (Henning *et al.*, 1999). É considerado um método muito eficiente e, associado à microscopia óptica (M.O.) e aumenta a acurácia da detectabilidade de infecções crônicas por malária (Feldman *et al.*, 1995; Richard *et al.*, 2002).

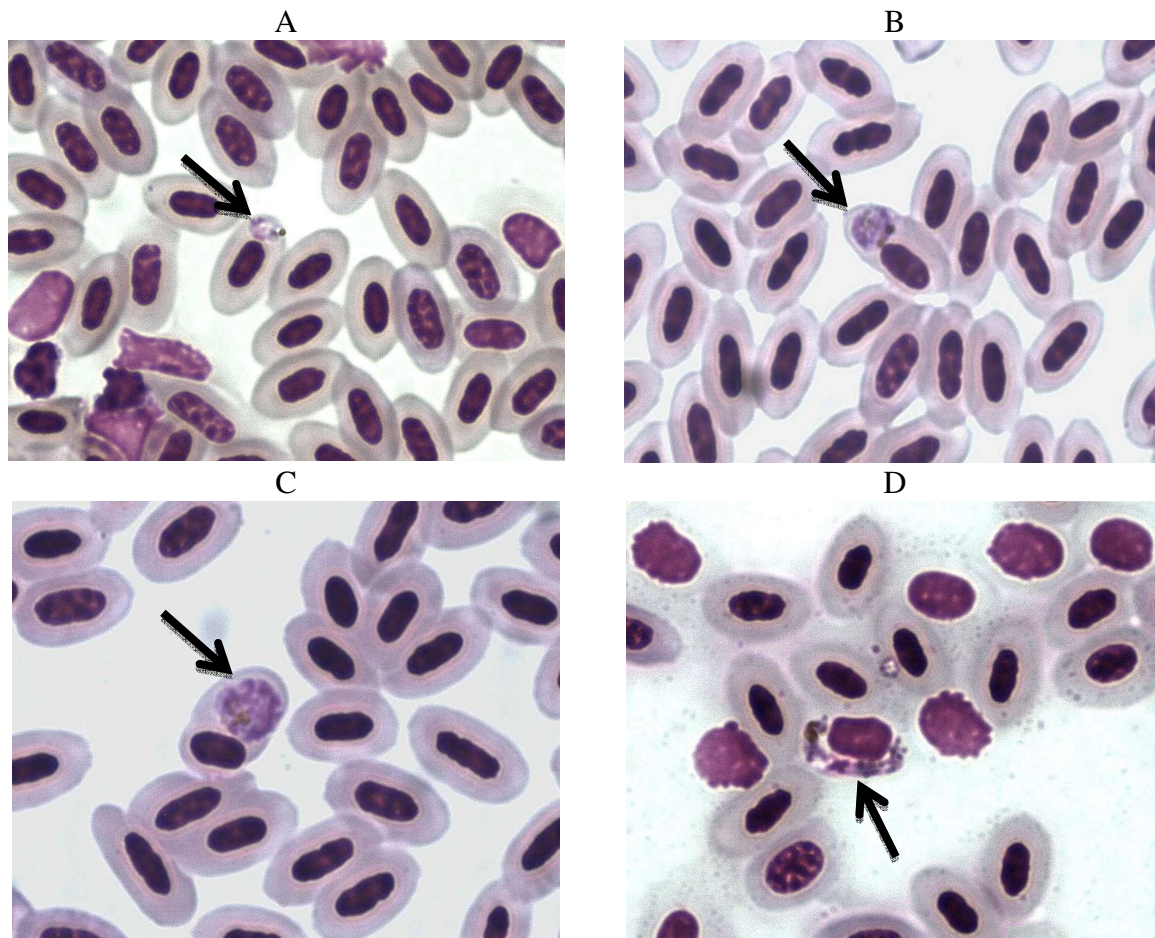


Figura 1. Esfregaço sanguíneo corado (Giemsa) e visualizado em M.O. (aumento de 1.000 X), evidenciando (setas pretas) hemácias de aves infectadas por diversas formas de *Plasmodium*: trofozoítio (A), trofozoítio maduro (B), esquizonte (C) e um gametócito de *Plasmodium* ou *Haemoproteus* (D).

### ***Influência do ciclo de vida na infecção por hemoparasitos***

O contexto ecológico das interações parasito-hospedeiro pode influenciar na transmissão e persistência de doenças. A prevalência da malária em populações naturais de aves apresenta associações complexas com o ambiente (Cosgrove *et al.*, 2008; Chasar *et al.*, 2009) e a influência da degradação do habitat sob os vetores e as doenças (Gratz, 1991). Fatores abióticos, como mudanças climáticas e ambientais, e fatores bióticos, como a idade

do hospedeiro, o sexo e as densidades populacionais, podem influenciar a transmissão dos parasitos e assim a prevalência da infecção (Wilson *et al.*, 2001).

Sabe-se que os padrões de saúde das aves oscilam na natureza segundo fatores naturais, tais como a variação dos padrões de saúde para cada espécie; idade; sexo; ciclos reprodutivos; clima (seca e chuva); estado nutricional; migração; competição e por fatores antrópicos (impactos ambientais diversos causados pela ação do homem) (Moreno *et al.*, 1998; Hōrak *et al.*, 1998). Dentre os fatores naturais, o ciclo de vida tais como o período reprodutivo e a muda das penas das aves podem alterar significativamente as condições fisiológicas das aves (Fairbrother *et al.*, 1990; Dawson & Bartolotti, 1997).

As espécies de aves possuem um ciclo anual característico onde os indivíduos começam a se reproduzir em períodos específicos do ano. A reprodução é uma fase da vida que provoca uma série de mudanças biológicas no indivíduo (Murphy, 1996). Muitas aves começam a muda (estação anual de substituição periódica das penas) no final do período reprodutivo, quando sua massa corporal e estoque de lipídeos estão próximos do mínimo. Como uma medida compensatória, as aves diminuem sua atividade no período da muda e aumentam o consumo de itens alimentares mais nutritivos, pois há um alto gasto de energia para a produção das novas penas (Murphy, 1996).

O conhecimento dos fatores que governam o ciclo reprodutivo e a muda de penas de aves é de extrema importância para os estudos de parasitologia (Snow & Snow, 1964; Diamond, 1974; Prys-Jones, 1982; Voelker & Rohwer, 1998; Kratter *et al.*, 2001), uma vez que estas atividades estão relacionadas com as características do ambiente local (Marini & Durães, 2001) e podem influenciar na parasitemia das aves (Wood *et al.* 2007).

Dentre os fatores ambientais, a sazonalidade das estações de seca e chuva podem influenciar na prevalência de doenças veiculadas por vetores (Lopez-Vélez & Moreno, 2005), uma vez que em períodos chuvosos, cria-se condições favoráveis de umidade,

temperatura e disponibilidade de sítios de acúmulo de água necessários para a proliferação de mosquitos transmissores de hemossporídeos, como a malária (Alto & Juliano, 2001).

### ***Influência das alterações ambientais sobre a saúde das aves***

O processo de urbanização, fragmentação e as mudanças climáticas estão entre os fatores responsáveis pela emergência e proliferação de doenças infecciosas (Weiss & Michael, 2004). Assim, o curso de uma epidemia e os níveis de endemismo de uma doença podem ser alterados. Dentro deste panorama, é de relevante importância avaliar a inter-relação entre os impactos advindos do estresse ambiental e as doenças infecciosas (Lafferty, 1997; Lafferty & Holt, 2003).

As alterações climáticas podem influenciar de forma negativa a “saúde” dos ecossistemas em consequência das alterações nos ciclos de chuva, derretimento das calotas polares (provocando aumento do nível do mar) e maior incidência de furacões e desastres climáticos (IPCC, 2001; IPCC, 2002). Todos estes fatores geram impactos negativos na biodiversidade (Thomas *et al.*, 2004; Bradshaw, 2006; Devictor *et al.*, 2008; Schryver *et al.*, 2009), aumentando a incidência de enfermidades (Cumming, 2006), além de alterar o ciclo biológico de diversas espécies de animais e plantas (Schryver *et al.*, 2009) e causar a retração e até mesmo extinção de espécies de distribuição restrita (endêmicas) e aumento de espécies invasoras (IPCC, 2007).

Outro impacto importante causado pelo aquecimento global das temperaturas e urbanização, que pode influenciar a dinâmica de populações das aves, é o aumento da ocorrência de doenças causadas por vetores (Ricklefs, 2003). À medida que o ar aquece, sua capacidade de reter vapor d’água aumenta e proporciona um ambiente propício para a reprodução de mosquitos transmissores de doenças (Lopez-Vélez & Moreno, 2005).

A degradação do meio ambiente pode aumentar ou diminuir a prevalência do parasito, na medida em que pode alterar a proporção de hospedeiros intermediários ou definitivos. Wood & Cosgrove (2006) sugerem que um dos temas prioritários a ser abordado no estudo destes parasitos se relacione aos efeitos da degradação do habitat na ecologia da comunidade de parasitos.

### ***Turdus* spp. e *Passer domesticus* como objeto de estudo**

Para a investigação dos parâmetros indicadores de saúde em aves de ambientes tropicais e temperados foram escolhidos o gênero *Turdus* spp. (*T. leucomelas* no Brasil e *T. merula* em Portugal) e uma espécie de ave (*Passer domesticus*), como modelo de estudo, uma vez que estas espécies/gênero são cosmopolitas, abundantes e ocorrem nos dois países.

*Passer domesticus* (Linnaeus, 1758), o pardal comum ou pardal-doméstico é uma ave da família Passeridae, de origem Européia e Asiática (Oriente Próximo) e habita hoje boa parte da região paleártica, da África subsariana, Austrália e Nova Zelândia. Foi introduzido na América em 1850 e chegou ao Rio de Janeiro em 1906, por Antônio B. Ribeiro, que trouxe 200 indivíduos de Portugal para soltar no Campo de Santana, alegando contribuir para a campanha de Oswaldo Cruz ao combate a doenças; os pardais eram considerados inimigos naturais de alguns insetos transmissores de enfermidades (Sick, 2001). O pardal é um pássaro urbano e cosmopolita, que se adapta melhor ao ambiente das cidades do que qualquer outra ave, e se reproduz com facilidade junto às edificações. Por isso, o pardal-doméstico é um modelo adequado de estudo para avaliar efeitos de estresse ambiental em áreas urbanas tanto em ambientes tropicais, quanto em ambientes temperados (Figura 2).

O gênero *Turdus* é constituído por aves da família Turdidae, onde se classificam 66 espécies de tordos, melros e sabiás. O grupo tem uma distribuição geográfica bem ampla e ocorre na África, na maioria das ilhas Atlânticas, Caribe, Américas e na totalidade da Eurásia, incluindo Japão e Filipinas. O gênero *Turdus* está, de forma geral, ausente da região da Australásia, onde ocorrem apenas o melro-preto, introduzido na Austrália e Nova Zelândia, e as muitas subespécies de *T. poliocephalus*, que habitam a Nova Guiné e ilhas circundantes. São aves com alimentação onívora e que se ajusta bem a habitats diversos, desde as estepes da Sibéria à floresta tropical da Amazônia. Preferem zonas arborizadas mas podem ocupar com sucesso ambientes urbanos (Sick, 2001).

*Turdus leucomelas* (Vieillot, 1818), conhecido popularmente como sabiá-branco ou sabiá-barranqueiro (Figura 2), é uma ave semiflorestal, vive à beira de matas, parques, matas de galeria e mesmo em áreas urbanas. É um sabiá com cerca de 22 centímetros, pesa entre 54 e 60 gramas, possui asas cor ferrugem e cabeça cinzento-oliváceo, a garganta é esbranquiçada e o bico escuro. Ocorre em alguns países da América do Sul e em quase todo o Brasil, principalmente nas regiões central e meridional (Sick, 2001; Sigrist, 2006). É uma ave bastante popular, reconhecida e admirada principalmente por seu canto melodioso. Apesar de não estar ameaçada, é alvo de caçadores por ser apreciada para gaiola (Frisch & Frisch, 2005). Além disso, aves do gênero *Turdus* podem servir de modelo em estudos comparativos da saúde de aves em ambientes urbanos, impactados e em ambientes naturais, e também no monitoramento de espécies capturadas pelo IEF ou IBAMA, antes de sua reintrodução.

*Turdus merula* (Linnaeus, 1758), ou melro (Figura 2), como conhecido em Portugal, é uma ave com distribuição abundante por toda a Europa e Ásia. O melro-preto, assim como o *T. leucomelas* é onívoro, consumindo uma grande variedade de insetos, vermes e frutos. O comprimento da espécie varia de 23,5 a 29 cm e um peso de 80 a 125 gramas, dependendo

do sexo e das estações do ano. O melro-preto tem como preferência as florestas caducifólias e vegetação rasteira densa, porém vêm conquistando as cidades, sendo frequentemente encontrado em jardins, campos de cultivo ou parques. Apesar do estatuto de “não ameaçada”, há algumas ameaças à espécie, principalmente relacionadas à caça (Sick, 2001).

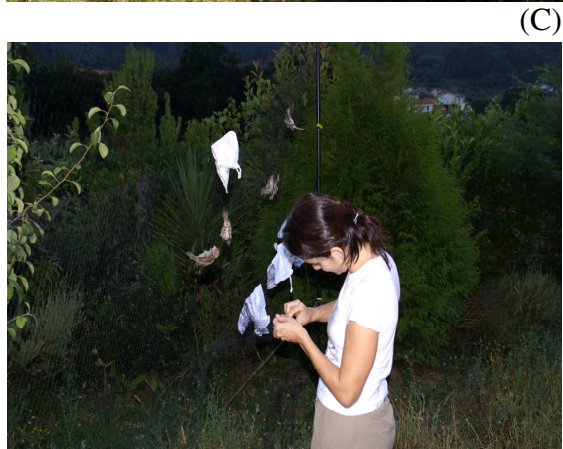




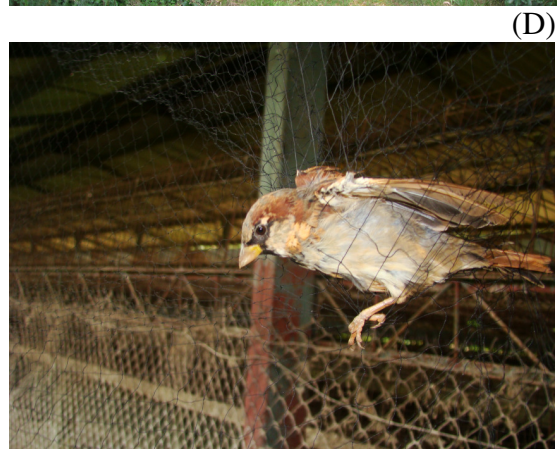
(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

Figura 2. Linhas de rede de neblina em matas de galeria próximas a corpos d'água (A e B); captura de *Passer domesticus* (C e D); *T. leucomelas* (Brasil) (E) e *T. merula* (Portugal) (F).



## OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

Pesquisas internacionais vêm buscando responder quais são os fatores responsáveis pelas diferenças nas prevalências de parasitos em ambientes temperados *vs.* tropicais (Martin *et al.*, 2007; Ricklefs & Sheldon, 2007). Pouco se sabe sobre a transmissão sazonal de hemoparasitos em regiões tropicais e subtropicais onde vetores permanecem ativos o ano todo (Atkinson *et al.*, 1988).

Estudos desta natureza em ambientes tropicais, principalmente em comunidades de aves do Cerrado do Brasil Central, como no estado do Tocantins e Minas Gerais, são ainda incipientes.

Os objetivos principais desta tese foram caracterizar as interações entre hemoparasitos, seus hospedeiros de aves e seus vetores em ecossistemas influenciados pela urbanização ou pelo clima temperado *vs.* tropical e avaliar o potencial de parâmetros morfológicos e hematológicos como bioindicadores do efeito da parasitemia nas aves. As questões específicas que foram levantadas foram: (i) quais fatores influenciam a prevalência de hemosporídeos em comunidades de aves do Cerrado brasileiro em ambientes urbanos e preservados, e quais os fatores ecológicos que influenciam esta relação (capítulo 1); (ii) compreender como os parâmetros parasitológicos variam com as condições ambientais (clima) e diferenças na riqueza de espécies em ambientes tropicais e temperados (capítulo 2).

## ***Objetivos específicos:***

### ***Capítulo 1***

Neste estudo, o objetivo geral foi ampliar o conhecimento da área e testar as previsões das hipóteses, sendo que para isso os seguintes procedimentos foram avaliados: a influência de variáveis ambientais, ecológicas e o efeito da urbanização nas taxas de infestação de hemoparasitos aviários, no Cerrado da porção central do estado do Tocantins e de Minas Gerais, Brasil.

1. Determinar a prevalência de hemosporídeos em aves silvestres que vivem em ambientes preservados ou em ambientes urbanos no Cerrado.
2. Avaliar as características biológicas (períodos reprodutivo, muda e de descanso das aves) e sazonais (estações chuvosa e seca) que influenciam a prevalência de hemosporídeos em aves.
3. Correlacionar a prevalência de malária aviária a características biológicas e de ecologia de aves, considerando: (i) grupo taxonômico do hospedeiro (família); (ii) peso; (iii) guildas tróficas; (iv) participação em bandos mistos; (v) tipo de ninho; (vi) tipo de habitat preferencial; (vii) estrato vegetacional de forrageio.
4. Avaliar componentes fisiológicos que caracterizam o "*fitness*" de saúde das aves em populações sob maior pressão de parasitos.

## ***Capítulo 2***

Foram investigadas as associações entre a prevalência de hemoparasitos e saúde de aves comparando dados em clima tropical (Brasil) vs clima temperado (Portugal) para compreender se há efeito do aumento da temperatura global sobre a saúde de *Passer domesticus* e *Turdus* sp.

- 1- Comparar a prevalência de hemoparasitos de *Passer domesticus* e *Turdus* sp. em ambientes tropicais e temperados.
- 2- Verificar se os parâmetros hematológicos das aves infectadas pelo parasito serão alterados em relação às não-parasitadas, devido aos danos dos mesmos na saúde das aves.
- 3- Avaliar se há variações sazonais na prevalência de hemoparasitos e nos parâmetros hematológicos nos trópicos e no ambiente temperado.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O esforço amostral total das coletas foi de aproximadamente 9.000 horas/rede.

### *Áreas de Estudo no Brasil*

O bioma Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, localizado em uma grande área do Brasil Central, constituído por fitofisionomias bem distintas, formando um mosaico de vegetação. Trata-se de uma área cuja geologia, vegetação e fauna formam um ecossistema único no planeta, sendo um importante centro de endemismo e de biodiversidade ainda muito pouco explorado cientificamente (Ribeiro & Walter, 1998).

Apesar do seu tamanho e importância, o Cerrado é um dos ambientes mais ameaçados do mundo. Dos mais de 2 milhões de km<sup>2</sup> de vegetação nativa original, restam apenas c. 22% e a expansão de atividades agropecuárias pressiona cada vez mais as áreas remanescentes. Considerada um *hotspot* de biodiversidade, o Cerrado desperta especial atenção para a conservação dos seus recursos naturais (Myers *et al.*, 2000).

### **Parque Estadual do Itacolomi (MG)**

O parque foi criado pela Lei nº 4465 de 19 de junho de 1967, ocupando uma área de aproximadamente 7000 há; situa-se no Estado de Minas Gerais, a sudeste de Belo Horizonte (Figura 3), entre os municípios de Ouro Preto e Mariana 20° 26' 24"S e 43° 28' 11" W, abrangendo toda a Serra do Itacolomi, uma das componentes da Cadeia do Espinhaço.

O clima da região é caracterizado como de altitude, relativamente úmido, com nevoeiros freqüentes e ventos. A distribuição pluviométrica concentra de outubro a março, sendo a precipitação média anual de 2018 mm. A temperatura média é de 21°C, com

máxima de 33°C e mínima de 4°C. A geomorfologia predominante é um solo arenoso claro, associado ao quartzito, e um outro tipo de solo argiloso, onde predominam os latossolos vermelho-amarelos. O relevo presente na maioria da área estudada é do tipo montanhoso, com grandes declividades topográficas e altitudes variando de 700 até 1772 m sendo este o ponto mais elevado, o Pico do Itacolomi, cuja presença foi referência geográfica para os bandeirantes durante o século XVIII.

O Parque Estadual do Itacolomi é constituído por dois tipos básicos de vegetação: os Campos Cerrado e as Matas Estacionais Semidecíduais, cada um deles apresentando variações de acordo com o solo, disponibilidade de água, altitude e relevo. Os Campos formam a maior proporção da área do Parque, entremeadas com áreas de matas, formando capões de extensão variável (IEF, 2007).

### **Parque Estadual do Rio Preto (MG)**

O parque está localizado no município de São Gonçalo do Rio Preto, MG (Figura 4), 18°10'47" S, 43° 21'0" W, a 355 Km a nordeste de Belo Horizonte e a 57 Km de Diamantina, na região do Alto Jequitinhonha, onde predominam as fitofisionomias Cerrado e Campos Rupestres. Possui cobertura vegetal nativa de: campos de altitude, campos rupestres, Cerrados, cerradões e matas de altitude, tipologias vegetais que cobrem mais de 99,5% da área. Na área do Parque, as altitudes variam entre 750 e 1825m, sendo que as maiores altitudes se encontram nas serras da Mata dos Crioulos e do Gavião. A diversidade florística, a abundância de recursos hídricos e as peculiaridades geológicas propiciam uma fauna bastante rica (IEF, 2006).

Criado em junho de 1994, com uma área total de 10.755 ha, o parque abriga a nascente do Rio Preto, declarado em 1991, como rio de preservação permanente, além de

vários outros cursos de água que juntos representam grande importância hidrológica para a região, pertencente à grande bacia do Rio Jequitinhonha.

A característica topográfica realçada pelas altitudes elevadas exerce forte influência no clima, que é marcado por temperaturas cujas médias anuais giram em torno dos 18°C. A média das máximas é de aproximadamente 27,8°C em janeiro, onde concentra a maior quantidade de chuva (307 mm); enquanto a média das mínimas encontra-se próximo dos 11°C em julho. O inverno é seco, tendo sido julho o mês de menor índice pluviométrico registrado (Silva & Carmo, 2002).

A região do Parque está inserida no conjunto geográfico conhecido como Serra do Espinhaço. Geologicamente, a região é composta predominantemente por rochas quartzíticas, que conferem à paisagem formas de relevo bastante característico (Silva & Carmo, 2002).

### **Parque Estadual do Lajeado (TO)**

Localizado na Serra do Lajeado, a c. 25 km da cidade de Palmas, foi criado pelo governo estadual, através da Lei no. 1.244 em maio de 2001 e conta com 9.931 hectares de Cerrado estrito censo, localizado nas coordenadas 10° 00'00''S e 48° 15'27''W, no estado do Tocantins. É a maior área de Cerrado preservado do entorno da capital. Em sua volta, para proteger uma área maior, foi criada a Área de Proteção Ambiental (APA) da Serra do Lajeado, também de responsabilidade estadual, a cargo da agência de meio ambiente do estado, a Naturatins.

O clima predominante na região é do tipo C2wA'a', caracterizado pela ocorrência de duas estações, uma estação seca, de maio a setembro, e uma estação chuvosa, de outubro a

abril, sendo úmido e subúmido com moderada deficiência hídrica no inverno (Colenet *al.*, 2007).

### **O Instituto Ecológica (TO)**

O Instituto Ecológica (IE) é uma ONG brasileira com sede em Palmas (TO), pioneira na área de mudanças climáticas. Fundado no ano 2000, tem a missão de atuar na diminuição dos efeitos das mudanças climáticas através de pesquisa científica, conservação do meio ambiente e apoio ao desenvolvimento sustentável de comunidades na região do entorno da Ilha do Bananal, ao sudoeste do Estado do Tocantins. No âmbito global, o IE é reconhecido internacionalmente pela metodologia do Carbono Social, que evoluiu para um padrão de certificação de créditos de carbono. O Centro de Pesquisas em Biodiversidade Tropical do instituto está inserido no bioma Cerrado no município de Palmas, distrito de Taquaruçu, e sua área de preservação contribui com a diminuição do efeito das mudanças climáticas através de um programa voltado para conservação de áreas nativas, plantios de recuperação, educação ambiental, incentivo e comercialização de produtos sustentáveis (IEF, 2007).

### ***Áreas urbanas (zonas úmidas do baixo Mondego) em Portugal***

#### **Paul (Alagados) de Taipal**

Pequeno paul (área alagada) de altitude de 3 a 25 m, densamente coberto de vegetação aquática, localizado no vale do Baixo Mondego, a oeste de Coimbra (Montemor-o-Velho) com as coordenadas 40° 10' 47.3"N. 08° 41' 23.7" W (Figura 5). Zona úmida de importância internacional inscrita na lista de Sítios da Convenção de Ramsar. O paul

constitui uma área de alagamento por não ter drenagem devido às obras de regularização e em parcelamento do Baixo Mondego, quando o cultivo do arroz e a drenagem foram abandonados. O coberto vegetal é constituído por bunho (*Scirpus lacustris*) e caniço (*Phragmites australis*). O estrato arbóreo é formado por salgueiros (*Salix* spp.) e amieiros (*Alnus glutinosa*). A área de entorno é caracterizada por uma ocupação predominantemente agrícola, incluindo alguns arrozais e pequenas áreas com ocupação florestal. O paul apresenta diversas zonas de água livre, embora haja tendência para o aparecimento de caniço. Este sítio tem importância pela diversidade de aves aquáticas, sobretudo de patos invernantes, onde se destaca a presença de efetivos importantes de pato-colhereiro (*Anas clypeata*) a nível nacional. O paul é também bastante importante pela passagem outonal de passeriformes migradores, de que são exemplo o rouxinol-dos-caniços (*Acrocephalus scirpaceus*), a felosa-dos-juncos (*Acrocephalus schoenobaenus*), o rouxinol-grande-dos-caniços (*Acrocephalus arundinaceus*), a cigarrinha-ruiva (*Locustella luscinioides*), a cigarrinha-malhada (*Locustella naevia*), a felosa-poliglota (*Hippolais polyglotta*), a felosa-musical (*Phylloscopus trochilus*) e o pisco-de-peito-azul (*Luscinia svecica*). Tem um registro de presença de mais de 125 espécies de aves. Verifica-se alguma perturbação no local, devido à proximidade da auto-estrada.

### **Paul (Alagados) de Madriz**

É uma zona úmida de cerca de 89 ha, com altitude de 8 - 15m e de coordenadas 40° 07' 45.1" N, 08° 37' 59.2" W (Figura 5). Área com fatores geográficos, extensão e cobertura vegetal adequados à fixação e desenvolvimento de diversas comunidades de aves, que utilizam esta área quer como local de nidificação quer como refúgio de inverno ou para repouso e alimentação durante as migrações. Constitui um importante local de migração



outonal de passeriformes, tais como felosa-dos-juncos, felosa poliglota e felosa-musical, sendo também local de nidificação de aves de caniçal, nomeadamente garça-pequena (*Ixobrychus minutus*), e rouxinol-grande-dos-caniços e cigarrinha-ruiva. A vegetação aquática predominante é constituída por caniço e bunho, ocorrendo também tabua (*Typha latifolia*, *Typha angustifolia*). O paul é rodeado por pinhal. Está situado no conselho de Soure (freguesias de Alfarelos e de Vila Nova de Anços), imediatamente a Sul da povoação do Casal do Redinho. A área do paul foi ocupada no cultivo intensivo de arroz, tendo essa prática sido abandonada a partir de 1967, subsistindo atualmente algumas áreas de cultivo a jusante, para além da via férrea. A proliferação de erva-pinheirinha (*Myriophyllum* spp.) e a eutrofização são as principais ameaças no paul.

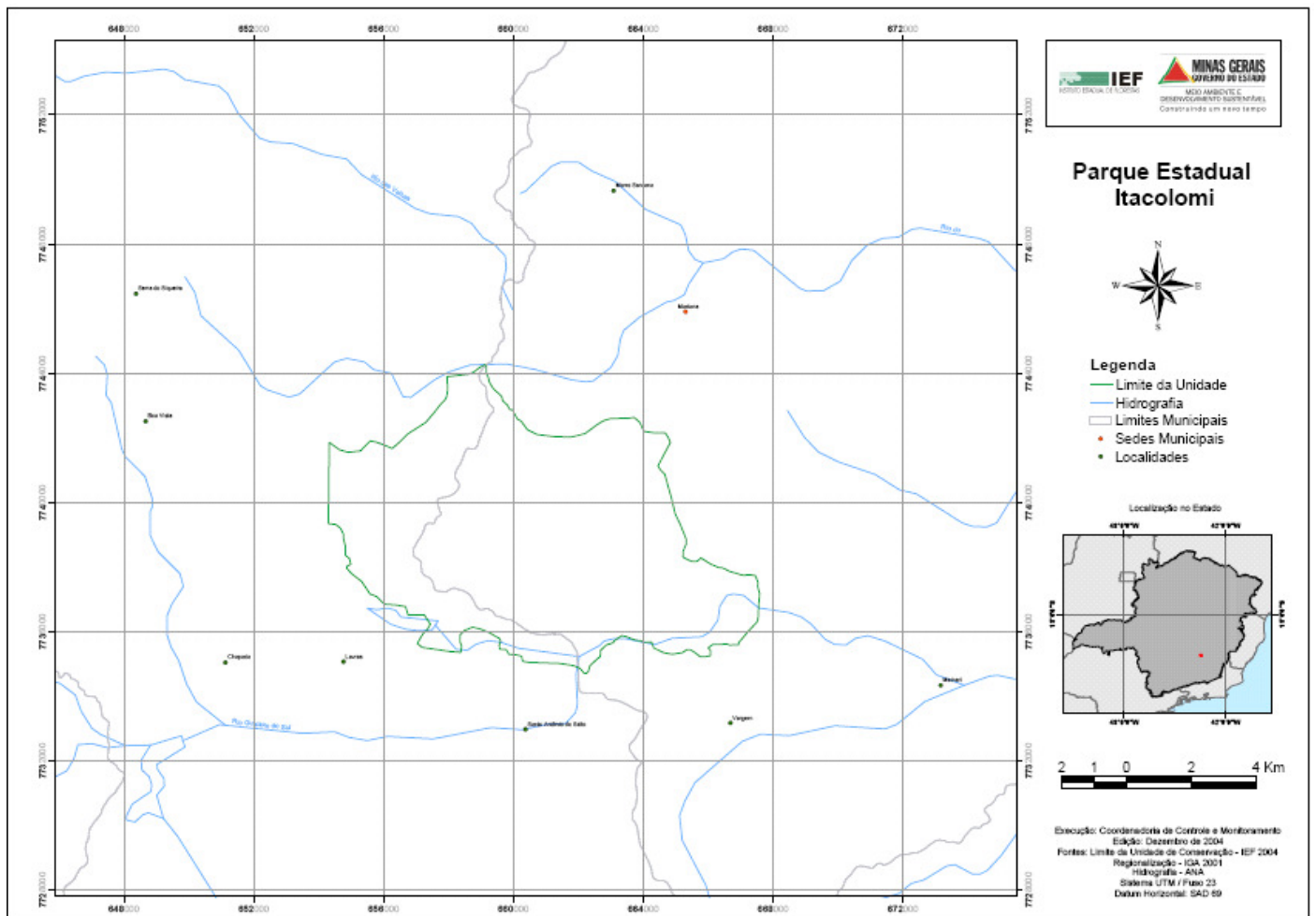


Figura 3. Localização geográfica do Parque Estadual do Itacolomi (PEI), em Minas Gerais.

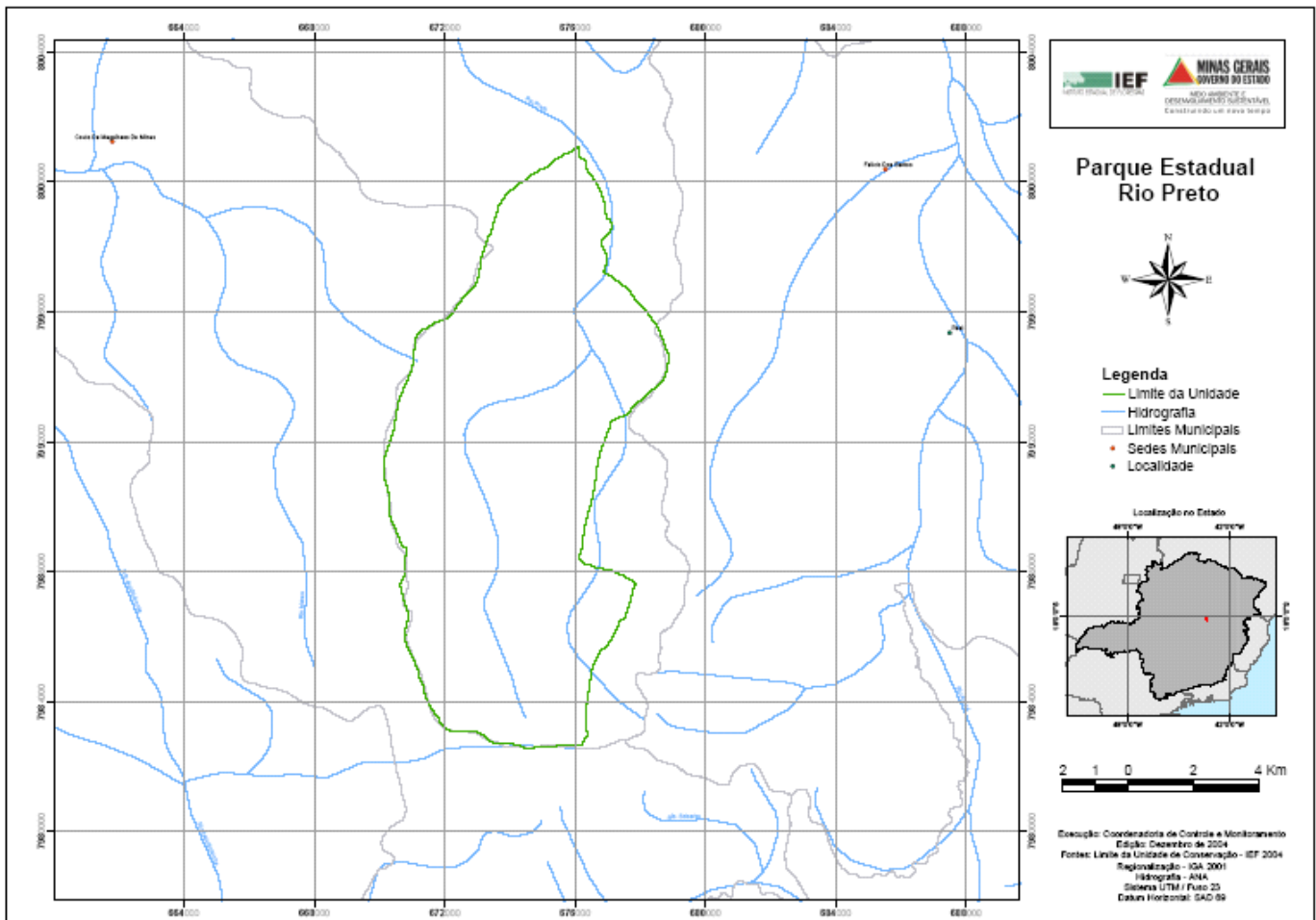


Figura 4. Localização geográfica do Parque Estadual do Rio Preto (PERPRETO), em Minas Gerais.



Figura 5. Mapa do Brasil evidenciando a localização das áreas de estudo no estado do Tocantins. AUP: Capital-Palmas; PEL: Parque Estadual do Lajeado.

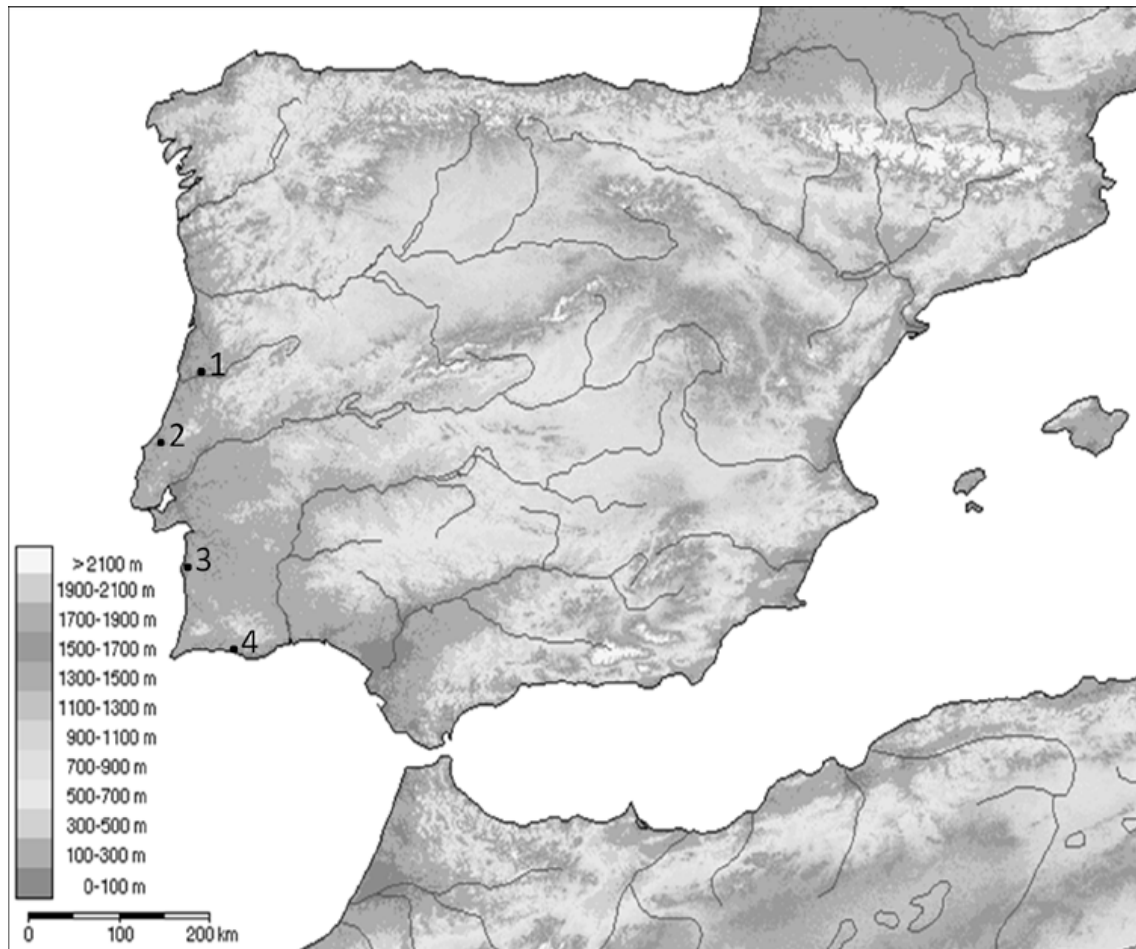


Figura 6. Áreas do baixo Mondego coletadas em Portugal: 1-Cidade de Coimbra (Parque Choupal) 2- Paul do Taipal, 3-Paul de Madriz, 4-Lisboa (Tapada de Mafra)

# CAPÍTULO 1

**Prevalência de malária em comunidades de aves em  
ambientes urbanos x protegidos:  
a urbanização influencia a saúde das aves?**



## RESUMO

Uma das principais consequências da degradação ambiental e alterações antrópicas dos habitats está no desequilíbrio das relações parasito-hospedeiro e alterações na estrutura da comunidade de vetores, assim como a dispersão dos parasitos e o surgimento de doenças infecciosas, como a malária. O objetivo principal deste estudo foi avaliar a relação entre a prevalência de malária e a saúde de aves em ambientes protegidos e urbanos no Cerrado dos estados de Minas Gerais e Tocantins, a fim de diagnosticar os fatores que influenciam a dinâmica vetor-parasito-hospedeiros nestes ambientes. O diagnóstico da malária aviária foi obtido por métodos moleculares e microscopia de esfregaço sanguíneo. A avaliação das condições gerais de saúde das aves foi realizada através da análise de parâmetros hematológicos: concentrações de hemoglobina, hematócrito, análise diferencial de glóbulos brancos (razão H/L) e índice de condição corporal. A prevalência total encontrada em ambientes preservados foi de 24% de infecção e não foi influenciada pelas variações sazonais (seca e chuva) ou biológicas das aves (período reprodutivo, de muda das penas ou descanso). Quando os dois Estados foram avaliados conjuntamente, houve diferença significativa na prevalência de aves em ambientes preservados (25,18%) em relação a ambientes urbanos (20,68%). O comportamento e ecologia das aves influenciaram na prevalência de hemoparasitos. As aves que forrageiam o sub-bosque até o chão apresentaram prevalência maior que aves que forrageiam no dossel; aves generalistas são mais prevalentes que aves exclusivas ou dependentes de mata. Quanto à guilda trófica, aves frugívoras são mais infectadas que as insetívoras. Aves mais pesadas também são mais parasitadas. Em relação à participação em bando misto, apenas em Minas Gerais aves que participam de bando misto foram mais prevalentes do que as não gregárias. O tipo de ninho não influenciou a prevalência, assim como nenhum dos fatores hematológicos foi capaz de explicar a parasitemia das aves. Nas amostragens realizadas no estado de Tocantins, apenas o táxon (família das aves) pode explicar as diferentes prevalências de hemoparasitos, porém, de maneira geral, com o aumento da abundância de espécies foi observada diminuição da prevalência de malária aviária. O conhecimento dos processos ecológicos e das complexas interações parasito-hospedeiro-vetor são necessários para direcionar as atividades de manejo nos diversos campos de conservação, incluindo o controle de doenças e biossegurança. Baseados em nossos resultados e na literatura, sugerimos que futuras pesquisas devam ser realizadas tendo em foco a descrição de alterações dos padrões de risco de infecção de doenças em ambientes com diversidade de espécies distintas, identificando os mecanismos responsáveis pelos modelos epidemiológicos de aves silvestres.

**Palavras-chave:** ecologia de doenças, Cerrado, conservação, diversidade, parâmetros ecológicos, parâmetros parasitológicos.

## INTRODUÇÃO

Alterações ambientais, sejam naturais ou por intervenção humana, alteram o balanço ecológico e o contexto sob os quais os hospedeiros ou os vetores e parasitos se desenvolvem e transmitem doenças (Patz, 2000). A manutenção da “saúde dos ecossistemas” e a redução do impacto antropogênico, além de trazer benefícios na conservação da biodiversidade, podem agregar valor na redução de doenças zoonóticas emergentes prejudiciais à população humana (Begon *et al.*, 2007).

O processo de urbanização crescente e desordenado, somado à falta de saneamento adequado nas grandes metrópoles, pode contribuir para o acúmulo de águas paradas e aumento das temperaturas em áreas urbanas, devido à impermeabilização do solo. Todos esses fatores são favoráveis à proliferação de insetos vetores de doenças, principalmente dípteros, que potencialmente infectam a fauna silvestre e as populações humanas que vivem nas proximidades dos centros urbanos, com diversas doenças parasitárias, entre elas, a malária (Primack & Rodrigues, 2001).

A malária aviária é uma doença infecciosa, transmitida por protozoários parasitos sanguíneos que acometem aves de diversas espécies (Valkiunas, 2004). Estes parasitos pertencem ao filo Apicomplexa, dentre os quais os gêneros mais prevalentes em aves pertencem à ordem Haemosporida: *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon* (Julian & Galt, 1980; Bennett *et al.*, 1982; Hopinks *et al.*, 1990; Garvin *et al.*, 1993). Conforme proposto por Pérez-Tris *et al.* (2005), o termo malária aviária (hemosporídeos ou hemoparasitos aviários) aqui neste trabalho, refere-se a infecções por *Plasmodium* e/ou *Haemoproteus*.

Os hemoparasitos podem ser transmitidos entre os hospedeiros a partir do repasto sanguíneo de vetores, com consequente inoculação das formas infectantes, onde no sangue



das aves encontram-se as formas de trofozoíto, esquizonte e gametócito para *Plasmodium*, e apenas gametócito para *Haemoproteus* (Valkiunas, 2005). Os parasitos do gênero *Plasmodium* são transmitidos, na maioria das vezes, por mosquitos da família Culicidae (gêneros *Culex* e *Aedes*) e raramente do gênero *Anopheles*, como é o caso da malária humana (Atkinson & Van Riper III, 1991). O gênero *Haemoproteus* tem sido documentado em várias partes do mundo associado aos vetores das famílias Ceratopogonidae (em especial o gênero *Culicoides*) e Hippoboscidae (Grener *et al.*, 1975); enquanto que *Leucocytozoon* é veiculado principalmente por mosquitos das famílias Simuliidae e Ceratopogonidae (Marcondes, 2001).

Do ponto de vista ecológico, a presença de parasitos sanguíneos afeta a estrutura e a dinâmica temporal e espacial das comunidades silvestres (Holmes & Price, 1986; McCallum & Dobson, 1995; Loye & Carroll, 1995). Apesar de serem importantes para a biologia da conservação por influenciarem diretamente a saúde de aves silvestres, os parasitos de malária aviária raramente são analisados sob esta ótica. Entretanto, deve-se ressaltar que alguns estudos já confirmaram o papel dos parasitos como reguladores do tamanho de populações de hospedeiros e até como possíveis causadores de extinção de determinadas espécies (Van Riper III *et al.*, 1994; 1996; McCallum & Dobson, 1995; Lafferty & Holt, 2003). Em geral, observa-se que os indivíduos mais parasitados podem ser mais susceptíveis aos predadores e menos hábeis para estabelecer territórios (Schrader *et al.*, 2003). No Hawaii, por exemplo, a presença de malária e seu vetor limitam a distribuição de muitas espécies nativas de pássaros, regulando o tamanho de suas populações e atuando como fortes agentes de seleção (Kilpatrick *et al.*, 2006).

A prevalência e intensidade de infecção de parasitos em comunidade de aves, todavia, também pode ser influenciada pela biologia, ecologia e comportamento do hospedeiro (Rózsa, 1997; Clayton & Walter, 2001), assim como por fatores naturais como

sazonalidade e umidade (Valentim *et al.*, 2012). Estudos ecológicos avaliando a participação em bandos mistos e a composição de guildas tróficas aviárias foram realizados no Brasil sob diferentes abordagens e em diferentes ambientes (Aleixo, 1997; D'angelo-Neto *et al.*, 1998; Machado, 1999; Develey & Peres 2000; Maldonato-Coelho & Marini, 2003). Porém, nenhum destes estudos realizados em ambientes tropicais comparou as características ecológicas das aves à prevalência de hemoparasitos.

O estresse ambiental pode prejudicar as condições clínicas das aves ao torná-las mais susceptíveis à infecção, uma vez que o sistema imunológico desses animais pode não dispor de energia suficiente para exercer uma defesa efetiva (Rigby & Moret, 2000) e, por conseguinte, diminuir sua capacidade de sobreviver e reproduzir (Becker, 2003). A avaliação do estado de saúde das aves pode servir como fonte de informação sobre as condições ambientais, pois está diretamente relacionada à sobrevivência, crescimento e, conseqüentemente, com o seu sucesso reprodutivo (Hõrak *et al.*, 1998; Moreno *et al.*, 1998).

Dentre as formas de avaliar o estado de saúde das aves, além da investigação de hemoparasitos, podem ser utilizados os parâmetros fisiológicos, avaliados por meio de exames hematológicos os quais analisam: as concentrações de hemoglobina (Hb) e hematócrito - HCT (volume relativo de glóbulos vermelhos) para avaliação de anemia; razão de heterófilos/leucócitos - H/L (morfotipos de glóbulos brancos indicadores de estresse); além do índice de condição corporal ou IMC (relação entre o peso e medidas morfométricas do tarso). Estes índices hematológicos têm sido amplamente utilizados para monitorar as funções orgânicas de espécies de aves domésticas e silvestres (Gavett, 1986; Fairbrother *et al.*, 1990; Dawson & Bartolotti, 1997; Norte *et al.*, 2008; Muller *et al.*, 2011) e possibilitam o diagnóstico de alterações fisiológicas em aves, causadas por diversos fatores de estresse. Van Wyk *et al.* (1998) defendem o uso de variáveis hematológicas não só para investigar a

biologia e fisiologia de aves silvestres, mas também para obter indicações da associação entre alterações fisiológicas e condições ambientais.

Sendo assim, o objetivo geral deste estudo foi avaliar a influência de variáveis ambientais, ecológicas e o efeito da urbanização nas taxas de infestação de hemoparasitos aviários, no Cerrado da porção central dos Estado do Tocantins e de Minas Gerais, Brasil.

Para isso, foram testadas as previsões das hipóteses:

***Hipótese 1:*** *A presença de vetores é diferente entre ambientes preservados e urbanos influenciando na ocorrência de hemoparasitos.*

Previsão: Espera-se que a presença de vetores em ambientes urbanos seja maior devido à presença de rios poluídos e águas paradas, locais propícios à proliferação de suas larvas. Desta forma, espera-se maior ocorrência de hemoparasitos em ambientes urbanos devido à maior abundância esperada de vetores.

***Hipótese 2:*** *As diferentes fases do ciclo de vida das aves e sazonalidades ambientais podem influenciar a susceptibilidade à prevalência de hemoparasitos.*

Previsão: As aves podem apresentar imunocompetência reduzida no período reprodutivo em decorrência do estresse e esforço no investimento de energia durante a ovoposição e cuidado parental, tornando-as mais susceptíveis à infecção parasitológica. Além disso, durante a estação chuvosa e quente, mais propícia à proliferação de mosquitos, espera-se maior prevalência de hemosporídeos.

***Hipótese 3:*** *Existe relação entre as variáveis biológicas e ecológicas das aves e a infecção por hemoparasitos.*

Previsão: Espera-se encontrar uma prevalência maior de hemoparasitos em aves de maior peso (maior chance de ser encontrada pelo vetor), em aves da guilda dos onívoros (mais generalistas), em aves que participam de bando misto (agregação facilita encontro dos

vetores e transmissão vertical), em aves generalistas (que transitam em áreas de mata e abertas), em aves cujo formato do ninho (aberto, em forma de tigela) fique mais exposto ao ataque dos vetores e por fim, em aves que forrageiam em estrato vegetacional médio ou baixo (por estarem em alturas mais expostas à capacidade de vôo da maioria dos vetores).

***Hipótese 4:** Aves infectadas por hemoparasitos terão variáveis hematológicas e morfológicas de saúde diferenciadas.*

Previsão: Espera-se que os parâmetros morfológicos e hematológicos das aves infectadas por parasitos sejam alterados e deficitários em relação às não-parasitadas, devido aos danos dos mesmos à saúde das aves.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

### ***Áreas de Estudo***

O estudo foi conduzido entre fevereiro de 2008 e fevereiro de 2010, em períodos reprodutivos, de mudas das penas e de descanso das aves. As amostragens das comunidades de aves no Cerrado foram realizadas em ambientes preservados e em ambientes urbanos nos estados de Minas Gerais e Tocantins.

### **Ambientes Preservados**

**Parque Estadual do Lajeado (TO):** Localizado na Serra do Lajeado, a 25 km da cidade de Palmas, foi criado pelo governo estadual, através da Lei no. 1.244 em maio de

2001 e conta com 9.931 hectares de Cerrado estrito censo, localizado nas coordenadas 10° 00'00"S e 48° 15'27"W, no estado do Tocantins. É a maior área de Cerrado preservado no entorno da capital. Em sua volta, para proteger uma área maior, foi criada a Área de Proteção Ambiental (APA) da Serra do Lajeado, também de responsabilidade estadual, a cargo da agência de meio ambiente do estado, a Naturatins.

O clima predominante na região é do tipo C2wA'a', caracterizado pela ocorrência de duas estações, uma estação seca, de maio a setembro, e uma estação chuvosa, de outubro a abril, sendo úmido e subúmido com moderada deficiência hídrica no inverno (Colen *et al.*, 2007).

**O Instituto Ecológica (TO):** o Instituto Ecológica (IE) é uma ONG brasileira com sede em Palmas (TO), pioneira na área de mudanças climáticas. Fundado no ano 2000, tem a missão de atuar na diminuição dos efeitos das mudanças climáticas através de pesquisa científica, conservação do meio ambiente e apoio ao desenvolvimento sustentável de comunidades na região do entorno da Ilha do Bananal, ao sudoeste do Estado do Tocantins. No âmbito global, o IE é reconhecido internacionalmente pela metodologia do Carbono Social que evoluiu para um padrão de certificação de créditos de carbono. O Centro de Pesquisas em Biodiversidade Tropical do instituto está inserido no bioma Cerrado no município de Palmas, distrito de Taquaruçu, e sua área de preservação contribui com a diminuição do efeito das mudanças climáticas através de um programa voltado para conservação de áreas nativas, plantios de recuperação, educação ambiental, incentivo e comercialização de produtos sustentáveis.

**Parque Estadual do Rio Preto (MG):** Está localizado no município de São Gonçalo do Rio Preto, inserido no complexo da Serra do Espinhaço, entre as coordenadas geográficas 18° 07'2.6" S e 43° 20' 51.7"W, com altitude variando de 750 a 1620m (IEF, 2004). O

Parque foi criado em 1 de junho de 1994 através do Decreto no. 35.611. A área do Parque de 10.755 hectares abriga as nascentes do Rio Preto, um dos mais importantes da região. O Parque Estadual do Rio Preto possui como cobertura vegetal nativa os campos de altitude, os campos rupestres, os Cerrados, os cerradões e as matas de altitude, tipologias vegetais que cobrem mais de 99,5% da área. O regime climático é tipicamente tropical, Cwb na classificação de Koppen, a precipitação média anual entre 1250 e 1350 mm e temperatura média anual entre 18-20 °C (IEF, 2004).

**Parque Estadual do Itacolomi (MG):** O PEIT situa-se nos municípios de Ouro Preto e Mariana, entre as coordenadas geográficas 20° 22' 30''-20° 30' 00''S e 43° 32' 30''-43° 22' 30''W, abrangendo toda a Serra do Itacolomi, pertencente à Cadeia do Espinhaço. O Parque tem uma área aproximada de 7000 há, sendo o ponto mais elevado o pico do Itacolomi, com 1772 m, cuja presença foi referência geográfica para os bandeirantes durante o século XVIII (Castañeda, 1993). O PEIT está situado no extremo sul da Cadeia do Espinhaço, oeste dos domínios da mata atlântica, na zona de transição com o Cerrado. Sua vegetação é composta por floresta estacional semidecidual, floresta de galeria e campo rupestre, este com as fitofisionomias de campos quartzíticos e campos ferruginosos (Messias *et al.*, 1997).

### **Ambientes urbanos**

**Região Metropolitana de Palmas (TO):** Localizada na região central do estado, a cidade de Palmas foi fundada há 18 anos e possui população de 223.817 mil habitantes e uma das mais elevadas taxas de crescimento urbano do país (IBGE, 2010). O processo de degradação ambiental é acelerado, sendo um ótimo laboratório para estudar os efeitos da

urbanização sobre comunidades naturais. Nesta capital as amostras foram coletadas em **áreas verdes antropofizadas dentro da cidade de Palmas (próximo ao Rio Pratinha) e no Parque Municipal Cesamar.**

**Parque Municipal Cesamar (TO):** Foi criado como Unidade de Conservação no plano diretor de Palmas através da lei No. 1406 de 16 de dezembro de 2005. Está à margem direita do Rio Tocantins, à uma altitude média de 230 metros, na Mesorregião Oriental do Tocantins e na Microrregião do Porto Nacional. O Parque das Águas Cesamar Lázaro da Silveira ocupa uma área de 156 hectares às margens do Ribeirão Brejo Comprido, afluente direito do Rio Tocantins. Maior parque urbano de Cerrado na cidade de Palmas (TO), com piscinas naturais, cascatas e lago para atendimento ao público e importante área de lazer.

**Região Metropolitana de Belo Horizonte (MG):** A capital de Minas Gerais, fundada há 110 anos é uma metrópole com 2,3 milhões de habitantes (IBGE, 2010). A Bacia do Rio das Velhas sofre degradação ambiental devido a atividades humanas relacionadas a deflorestamento, mineração, siderurgia e adensamento populacional. Na área mais impactada há poluição dos córregos urbanos, problemas na coleta de lixo, drenagem urbana, que também gera dificuldades no controle das zoonoses e dos vetores de doenças, além da ocupação desordenada nas cidades. Nesta capital as amostras foram coletadas na **Estação Ecológica da Universidade Federal de Minas Gerais e no Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG.**

**Estação Ecológica da Universidade Federal de Minas Gerais (MG):** Esta área faz parte do Campus-Pampulha da Universidade Federal de Minas Gerais, fundada em 07 de setembro de 1927, e abrange uma área total de 114 hectares, localizada em 19° S, 43° W.

Esta área está preservada há pelo menos 50 anos. Sua área de 60 ha compreende uma porção de Mata Subcaducifólia e outra de Cerrado.

**Museu de História Natural e Jardim Botânico da UFMG:** O Museu de História Natural da UFMG tem a uma área de 64 ha ocupada por Floresta Estacional Semidecidual. A área original era mais do que o dobro da atual, fazendo parte da antiga Fazenda Boa Vista. Está preservada desde a implantação da cidade no início do século XX, e parte de sua vegetação atual é de árvores frutíferas e ornamentais (espécies nativas) cultivadas.

### *Variáveis ambientais e ecológicas*

**Sazonalidade Ambiental:** Como variável ambiental considerou-se a precipitação (meses de seca e chuva). As épocas de seca e chuva foram consideradas de acordo com os dados de pluviosidade do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET: [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)) Os períodos de coletas foram: seca (precipitação inferior a 200 mm/mês), e chuva (precipitação superior a 200 mm/mês). Além desta classificação, os dados foram comparados de acordo com as Normais Climatológicas disponíveis para cada mês e local de coleta (períodos entre 1961-1990) (Tabela 1).

As variáveis biológicas e ecológicas das aves foram: ciclo de vida (período reprodutivo, muda das penas e descanso), grupo taxonômico do hospedeiro, peso total das aves, guilda trófica, participação ou não em bandos mistos, tipo de hábitat, e estrato vegetacional de forrageio.

**Ciclo de vida:** O período reprodutivo e de muda das penas das aves foram considerados quando as aves capturadas encontravam-se com placa incubatória ou muda simétrica das primárias, respectivamente, de acordo com o Manual de Campo (IBAMA,



1994). O período de descanso foi considerado quando as aves não se encontravam em nenhuma das atividades acima relacionadas.

**Grupo taxonômico (família):** Somente os táxons (aves) com mais de 10 indivíduos amostrados foram avaliados, visto que sub ou superestimativas de prevalência estão relacionadas ao número de amostras insuficientes (Marshall, 1981).

**Peso total das aves:** As aves foram acondicionadas em sacos e pesadas utilizando balanças de mola (dinamômetro) de 0,1 g de precisão. Posteriormente o saco de coleta também era pesado e subtraído o peso da ave.

**Guildas tróficas:** O termo guilda representa um grupo de espécies que explora recursos ambientais de maneira semelhante, sem considerar a classificação taxonômica deste grupo (Root, 1967). Alguns autores trabalham com guildas alimentares agrupando espécies que apresentam a mesma dieta (Poulin *et al.*, 1992). Algumas categorias de guildas (como carnívoros ou nectívoros) não foram utilizadas, uma vez que dentre as espécies da comunidade deste estudo não haviam aves especialistas nestes itens alimentares. Desta forma, a dieta aqui considerada foi a predominante, pois esta pode ser modificada de acordo com a oferta sazonal (Ridgely & Tudor, 1989; Sick, 2001):

- frugívoro (fru);
- onívoro (oni);
- insetívoro (ins);
- granívoro (gra).

**Bando misto:** Quando duas ou mais espécies se associam em grupos para forragear juntas um mesmo recurso são consideradas como um bando misto (Powell, 1979). A classificação foi de acordo com Aleixo (2007), Machado (1999), Develey & Peres (2000), Maldonado-Coelho & Marini (2003). Foram consideradas duas classes quanto à participação em bandos mistos:

- participação regular ou esporádica (sim);
- nenhuma participação ou ausência de registros (não).

**Tipo de ninho:** de acordo com o tipo de construção de ninhos feito pelas aves, 2001; Sigrist, 2006; <http://www.wikiaves.com.br/>), estes são classificados como:

- ninhos abertos, tipo tigela (a);
- fechados, com pequena abertura principal e às vezes dividido em galerias (f);
- cavidade de troncos ou barrancos (c).

**Hábitat:** as aves foram classificadas de acordo com Ridgely & Tudor (1989), Sick, (2001) e Sigrist, (2006) e as classificações foram ajustadas a partir de observações em campo, de acordo com a composição da comunidade de aves amostrada:

- aves com a predominância de permanência ou dependência de áreas de mata, mata de galeria ou capoeira densa (ma);
- aves generalistas que transitam tanto em ambiente florestal quanto bordas de mata e áreas abertas (ge);
- aves com predominância de permanência ou dependência de áreas abertas ou campestres (ca).

**Sítio de forrageamento no estrato vegetacional:** O estrato da vegetação utilizado pelas aves para obtenção dos itens alimentares foi adaptado de D'angelo-Neto *et al.* (1998). As classificações foram ajustadas a partir de observações em campo, de acordo com a composição da comunidade de aves amostrada:

- Espécies que forrageiam preferencialmente no dossel (D);
- Espécies que foragiam em troncos, no estrato médio da vegetação (T);
- Espécies que foragiam do sub-bosque até o chão ou serrapilheira (S).

### ***Captura das aves em campo***

As aves foram capturadas utilizando 10 redes de neblina (malha de 35 mm), abertas desde o início da manhã (aproximadamente 6:00hs) até o meio-dia (12:00hs) e vistoriadas a cada 30 minutos. As aves foram acondicionadas em sacos de pano e os espécimes anilhados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres [(CEMAVE)/ Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)] . Foram mensurados dados biométricos como tarso e peso corporal, e coletadas amostras de sangue, como descrito a seguir. Após estes procedimentos as aves foram liberadas próximo ao local de captura.

### ***Captura dos insetos vetores***

Os mosquitos vetores foram capturados no utilizando armadilhas luminosas (Modelo HP) instaladas no campo às 18hs e recolhidas 12 horas depois. Em cada local foram instaladas três armadilhas, mantidas em campo durante cinco dias. Mosquitos foram

separados em família e foram depositados na coleção de insetos do Laboratório de Biodiversidade da UFOP.

### ***Coleta das amostras de sangue para análise***

Foram utilizadas agulhas de insulina descartáveis (BD 30 x 3mm) para a extração de sangue da veia braquial de uma das asas de cada ave capturada. A quantidade de sangue coletada dependeu do peso individual das aves e foi extraído apenas 10% do volume total de sangue (sendo que este correspondeu a aproximadamente 7% do seu peso total) (Sutherland *et al.*, 2004). Em campo foram preparados três esfregaços sanguíneos por ave em lâminas de vidro secas ao ar, fixadas com metanol e depois coradas com uma solução de GIEMSA em água tamponada (pH 7,2 - 7,4) a uma diluição de 1:10. Com apenas uma gota de sangue a concentração plasmática de glicose foi medida utilizando aparelho BREEZE 2 (Bayer Group).

### ***Análise laboratorial dos parâmetros hematológicos***

Em laboratório, os esfregaços sanguíneos foram analisados em microscopia óptica (M.O.) para verificação da presença de hemoparasitos no sangue das aves, além da quantificação e classificação dos glóbulos brancos. Foram examinados 200 campos microscópicos de cada esfregaço em lâmina (aumento de 1000 X, objetiva de imersão), sendo que para cada indivíduo foram confeccionadas duas lâminas.

Uma fração da amostra de sangue (ca de 50 µL) foi armazenada em tubos microcapilares de vidro contendo anticoagulante heparina, lacrados em uma das

extremidades com massa selante e outra fração armazenada em eppendorfs de 1,5 mL. As amostras foram mantidas a 4°C em geladeira por no máximo 5 horas até seu processamento.

Os microcapilares contendo amostras de sangue heparinizadas foram centrifugados a 3200 rpm, durante 10 minutos, onde foi separado o plasma (com os glóbulos brancos) das células vermelhas do sangue e determinada a porcentagem total de hematócrito (HCT), presente nas amostras.

### ***Diagnóstico molecular e M.O. da infecção por hemoparasitos (malária)***

#### **Extração de DNA**

A extração de DNA a partir de sangue armazenado em solução de lise foi realizada de acordo com as especificações do fabricante do Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega® MA, EUA). O DNA do sangue armazenado em álcool 70% foi extraído por fenol-clorofórmio, segundo Sambrook (2001). As amostras foram armazenadas a 4°C até o momento da amplificação.

#### **Diagnóstico Molecular por PCR**

O *screening* para a presença de *Plasmodium/Haemproteus* no sangue das aves foi feito por PCR de acordo com Fallon *et al.* (2003). Esta reação amplifica 195 pb de um fragmento do gene mitocondrial ssu rRNA, conservado entre os dois gêneros de parasitos. As sequências dos iniciadores utilizados foram:

343F → 5' – GCTCACGCATCGCTTCT - 3'

496R → 5' - GACCGGTCATTTTCTTTG - 3'

Na reação de amplificação, cada tubo recebeu entre 50 e 100 ng do “DNA-molde” que inclui o DNA da ave e do parasito juntos, 10 mM Tris HCl, pH 8,5, 50 mM KCl; (PHONEUTRIA®); 2.0-2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 μM dNTP; 0.5 U Taq DNA polimerase (PHONEUTRIA®); 0.4mM de cada iniciador, com volume final de 15 μl. O programa da amplificação se dá por uma desnaturação inicial do DNA a 94°C por 2 minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, seguida de anelamento a 62°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e 10 segundos, terminando em uma extensão final a 72°C por 3 minutos.

Como controle positivo foi utilizado DNA genômico de *Plasmodium gallinaceum* obtido de pintinhos infectados experimentalmente e gentilmente cedidos pelo Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou - CPqRR, Belo Horizonte. E como controles negativos foram utilizadas amostras de DNA obtidas de pintinhos mantidos livres de infecção, gentilmente cedido pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) 6%, não desnaturante, em tampão TBE 1X. Os géis de poliacrilamida foram fixados em solução de álcool etílico 10% e ácido acético 0,5%, corados em solução de nitrato de prata e os fragmentos de DNA de 195 pb (contando com os *primers*) evidenciados quando em solução reveladora de hidróxido de sódio e formaldeído (Sanguinetti *et al.*, 1994). Os dados obtidos por PCR foram comparados àqueles obtidos por observação microscópica de esfregaços sanguíneos. Amostras que apresentaram discordância de resultados foram reavaliadas pelos dois métodos.

O diagnóstico final da prevalência de *Plasmodium/Haemoproteus* foi realizado através da associação dos resultados obtidos do exame dos esfregaços sanguíneos e dos

resultados das análises de PCR (ssu rRNA). A prevalência de *Plasmodium/Haemoproteus* foi calculada pela proporção de indivíduos em cada população de cada espécie infectados pelo parasito.

### *Análises Estatísticas*

A fim de classificar as áreas de coleta de acordo com a composição de espécies da comunidade de aves do Cerrado de Minas Gerais e Tocantins, foi realizada uma análise multivariada de *cluster* utilizando o índice de similaridade Jaccard no programa Past.

A prevalência de hemoparasitos entre ambientes preservado e urbano foi modelada utilizando “General Linear Models” (GLM), com distribuição de erros binomial.

O teste de Qui-quadrado com correção de Yates foi realizado para verificar diferenças entre as ocorrências de *Hemoparitos* para os diferentes períodos do ciclo de vida de acordo com as características biológicas e ecológicas das aves.

O efeito dos fatores fixos sazonais ambientais (seca e chuva); ciclo de vida (período reprodutivo, muda e descanso); ou fatores biológicos e ecológicos das aves (táxon, peso, guilda, participação em bando misto, tipo de ninho, habitat, e estrato de forrageamento); sob a prevalência de hemoparistos foi averiguado através da simplificação de modelos lineares generalizados (GLM). Testes *a posteriori* (Post-Hoc) de Tukey foram utilizados quando necessário.

Para avaliar o efeito da infecção nos parâmetros hematológicos de saúde das aves, análises de Regressão Linear foram utilizadas para identificar fatores preditivos de infecção, expressos como 1 (infectados) e 0 (não-infectados) para examinar separadamente as interações entre cada variável de saúde das aves (Hematócrito, glicose, peso) em relação à propensão de estar infectada.

Em todas as análises foi utilizado o programa R Development Core Team (2011), e adotado um nível de significância de 5%. Os dados foram testados quanto aos pressupostos de normalidade (Shapiro teste) e para a homogeneidade das variâncias (Bartlett teste).

## **RESULTADOS**

### *Dados climáticos e sazonais no período de estudos*

As aves foram coletadas em períodos reprodutivo, de muda das penas e descanso; e nas estações de seca e chuva, em ambientes preservados e urbanos dos estados de Minas Gerais e Tocantins. Foram capturados 672 indivíduos, pertencentes a 18 famílias e 107 espécies diferentes. Dados de temperatura média mensal de cada coleta e umidade relativa do ar em cada local foram amostrados (Tabela 1). O período de muda das penas ocorreu sempre na estação de chuva, o período de descanso na estação seca e o período reprodutivo nas estações de chuva em Tocantins e de seca em Minas Gerais.



Tabela 1. Temperatura média (°C), Umidade relativa do ar (%), estação do ano e período de coleta em cada mês do ano de 2008 e 2009, em Minas Gerais MG urb= ambiente urbano de Belo Horizonte (MG), e os seguintes ambientes preservados: MG<sub>i</sub>=Parque Estadual do Itacolomi e MG<sub>p</sub>= Parque Estadual do Rio Preto; e em Tocantins as coletas em ambientes urbanos e preservados foram realizadas nas mesmas estações e períodos.

Mês/Ano	Temperatura	Umidade	Estação	Período	Local
Maio/08	20.5	60	Seca	Descanso	MG urb
Jul/08	25.5	50	Seca	Descanso	TO (urb +p)
Ago/08	22.0	55	Seca	Descanso	MG urb
Set/08	19.0	70	Seca	Reprodução	MG i
Out/08	19.0	65	Seca	Reprodução	MG p
Nov/08	27.5	70	Chuva	Reprodução	TO (urb +p)
Fev/09	23.5	70	Chuva	Muda	MG urb
Mar/09	26.5	80	Chuva	Muda	TO (urb +p)
Abril/09	22.5	65	Seca	Descanso	MG urb
Jun/09	16.5	80	Seca	Descanso	MG i
Fev/10	21.0	60	Chuva*	Muda	MG p

**Fonte:** Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

\*Seca atípica, uma vez que a normal climatológica (61-90) indica precipitação média de 200mm para este período e choveu menos que 50mm.

### ***Insetos Vetores***

Não foi possível a comparação das abundâncias dos mosquitos nas duas regiões coletadas, uma vez que o número de armadilhas, ano de coleta e nível da identificação taxonômica foram diferentes. Desta forma apenas será apresentado aqui resultados qualitativos e exploratórios.

Foram coletados mosquitos em 2008 e 2009 e os indivíduos foram identificados até família. Dos 757 mosquitos coletados, foram identificados 151 Culicidae, 269 Ceratopogonidae, 15 Simuliidae e 322 Phlebotomidae (*Lutzomyia* spp) (Tabela 2).

Tabela 2. Número de indivíduos e famílias de Diptera encontrados em cada área amostrada.

<b>Famílias</b>	Pres TO	Urb TO	Pres MG	Urb MG	<b>TOTAL</b>
Culicidae	33	72	39	7	151
Ceratopogonidae	103	118	26	22	269
Simuliidae	14	0	0	1	15
Psychodidae	88	151	12	71	322
<b>TOTAL</b>	238	341	77	101	757

### *Análises da prevalência de hemoparasitos*

De acordo com os resultados da análise de similaridade da comunidade de aves entre os ambientes preservados e urbanizados, foi observada uma nítida separação entre os estados e entre os ambientes (Figura 1). As comunidades de aves do Tocantins e de Minas Gerais formaram dois grupos separados e dentro de cada região os ambientes preservados e urbanos também formaram grupos separados.

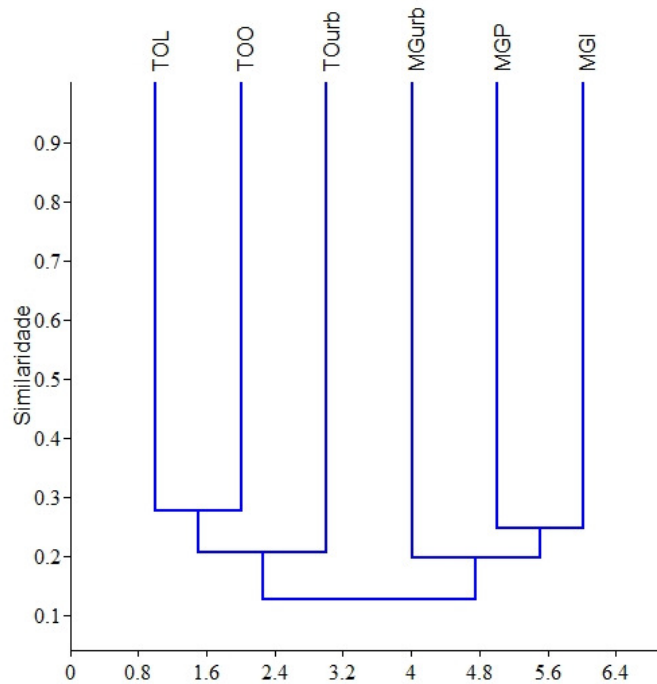


Figura 1. Cluster de Similaridade (Jaccard) comparando a composição de espécies de aves das áreas amostradas. Áreas urbanas: MG urb= área urbana de Belo Horizonte (MG) e TO urb= áreas urbanas de Palmas (TO), e as seguintes áreas preservadas em Minas Gerais: MGI=Parque Estadual do Itacolomi e MGP= Parque Estadual do Rio Preto; e em Tocantins: TOO= Ong Ecológica e TOL= Parque Estadual do Lajeado.

## Minas Gerais

Foram capturados em Minas Gerais 448 indivíduos, pertencentes a 17 famílias e 107 espécies, e foi encontrada uma prevalência de hemospórideos de 22,15%. Dentre eles, 18,57% de prevalência em ambientes urbanos e 23,94% em ambientes preservados. Em Minas Gerais, porém, a prevalência de hemoparasitos não pôde ser explicada pela associação das aves a ambientes preservados e urbanos (Hipótese 1), nem mesmo pelos padrões sazonais ambientais (estação seca e chuvosa) ou ciclo de vida das aves (período reprodutivo, de muda das penas ou de descaso) (Hipótese 2).

Em relação aos parâmetros biológicos e ecológicos da comunidade de aves (Hipótese 3), a prevalência foi maior em aves que forrageiam do sub-bosque ao chão em comparação com aves que forrageiam do sub-bosque ao dossel ( $X^2=6.93$ ,  $p < 0,01$ ) (Figura 2). O habitat preferencial também influenciou na parasitemia, pois aves generalistas apresentaram prevalência maior do que aves dependentes da mata ( $X^2=8.57$ ,  $p = 0,01$ ) (Figura 3). Aves que participam de bandos mistos apresentaram maior prevalência do que as que não participam ( $X^2=4.78$ ,  $p < 0,05$ ) (Figura 4). Outras características biológicas das aves como peso do indivíduo e tipo de ninho não puderam explicar as diferenças na prevalência de Hemoparasitos.

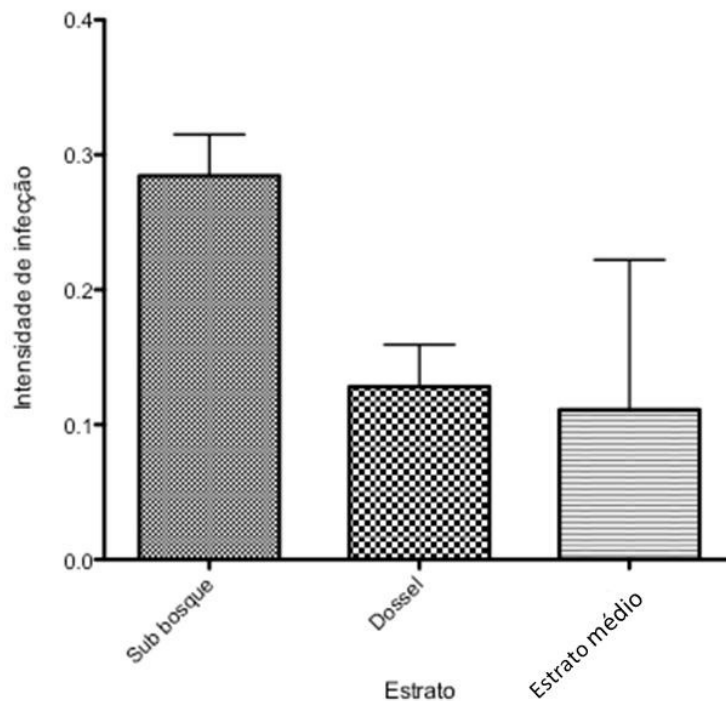


Figura 2. Intensidade de infecção de hemoparasitos em função do estrato de forrageamento das aves em Minas Gerais: sub-bosque, dossel ou estrato médio.

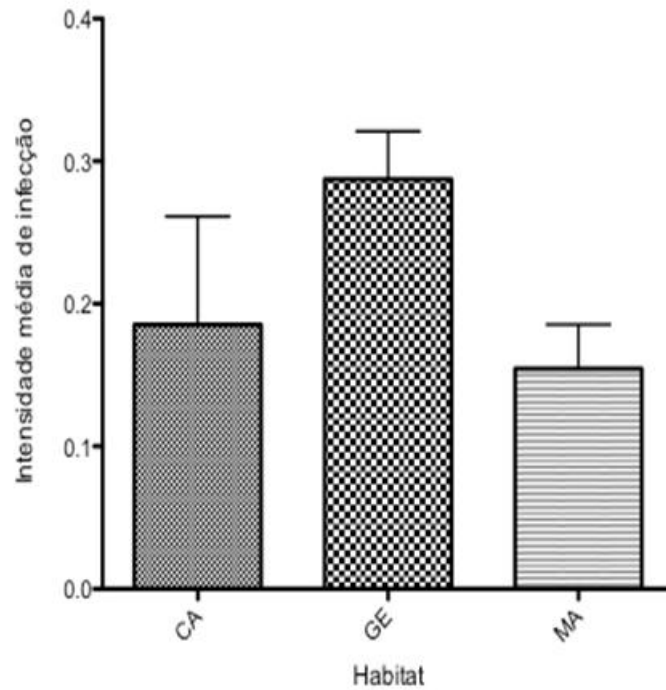


Figura 3. Intensidade de infecção de hemoparasitos em função do habitat preferencial das aves (CA= campestre, GE= generalistas, MA= mata) em Minas Gerais.

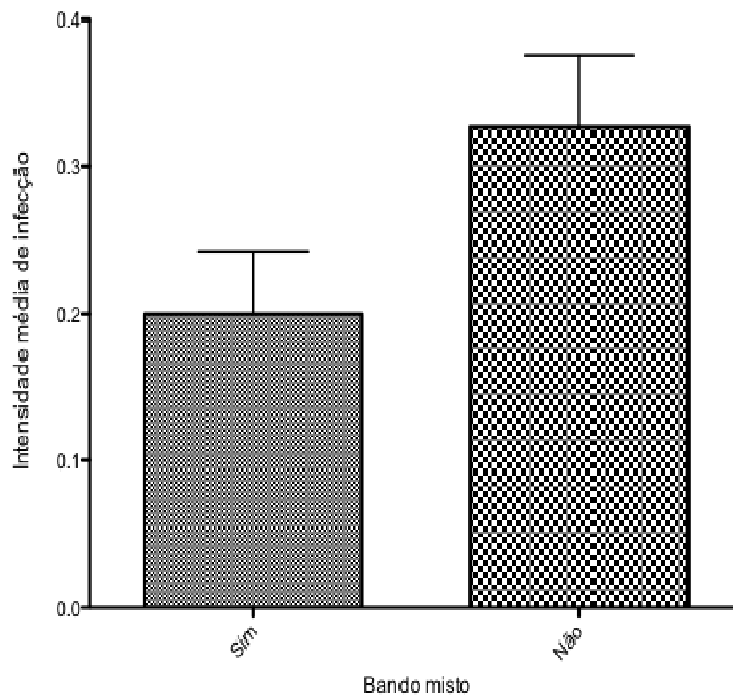


Figura 4. Intensidade de infecção de hemoparasitos em função da participação (Sim) ou (Não) das aves em bando misto em Minas Gerais.

Os táxons (família) apresentaram diferenças nas prevalências sendo que Turdidae e Vireonidae apresentaram prevalências maiores (Figura 5).

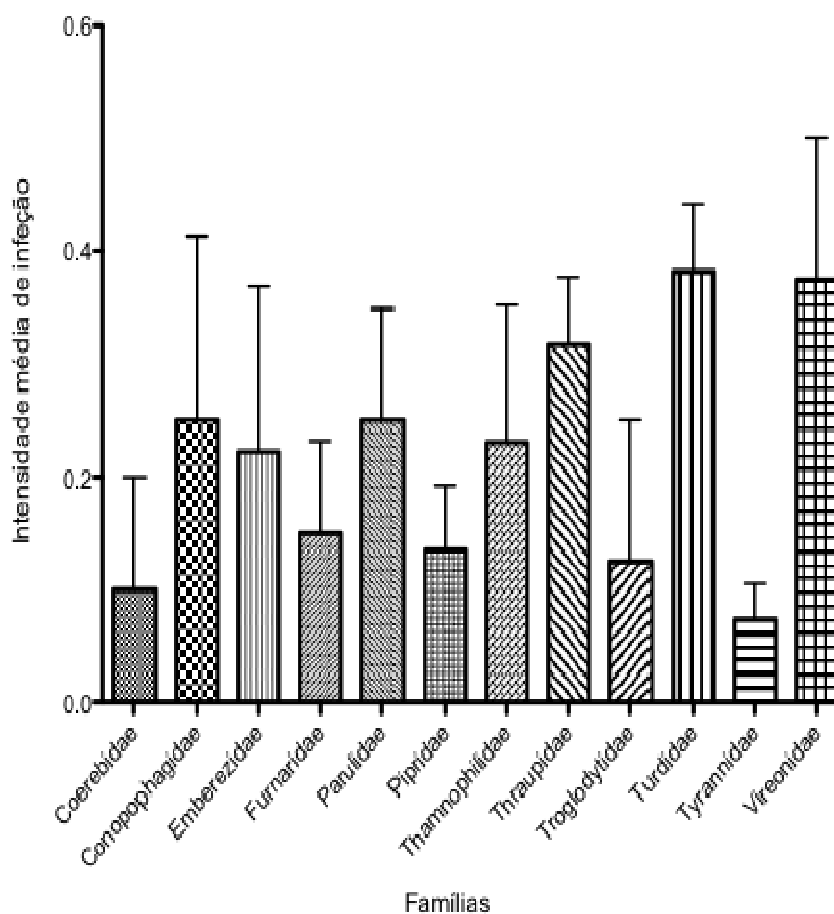


Figura 5. Intensidade de infecção de hemoparasitos em função do nível taxonômico (família) das aves em Minas Gerais.

## Tocantins

Em Tocantins foram capturados 224 indivíduos, pertencentes a 18 famílias e 77 espécies, com uma prevalência total de hemoparasitos de 26,5%, sendo que 21,63% em ambientes urbanos e 29,36% em ambientes preservados, porém esta diferença não foi significativa.

Em Tocantins, apenas o táxon pode explicar as diferentes prevalências de hemoparasitos nas aves, que foram maiores nas famílias Galbulidae e Emberezidae (Figura 6).

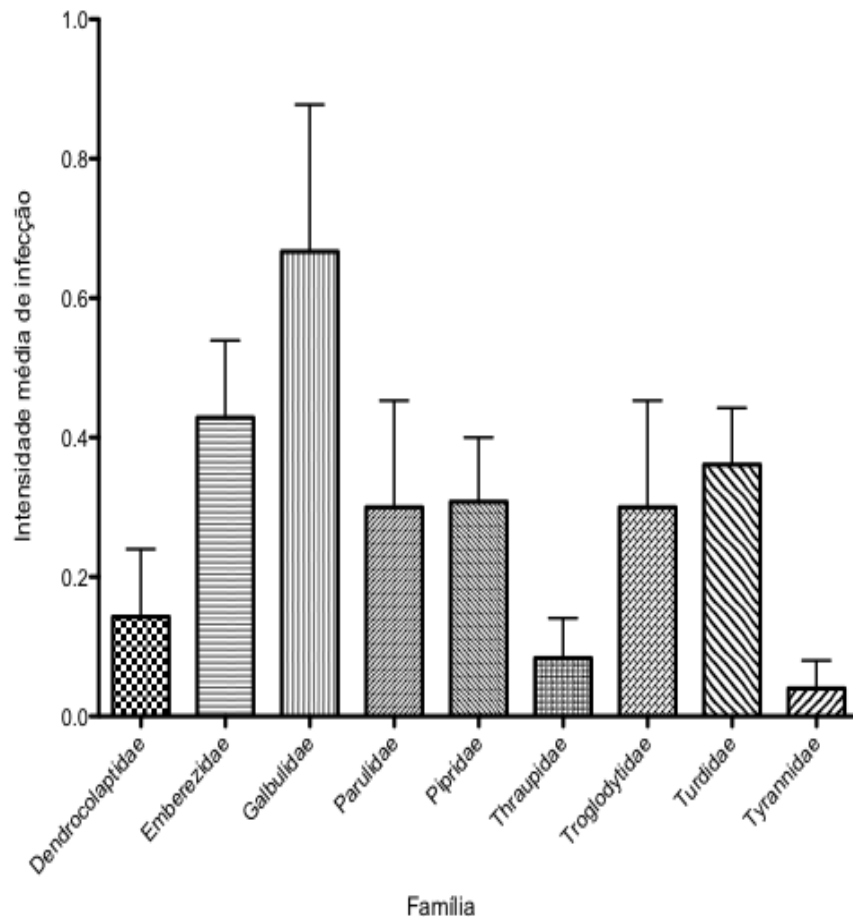


Figura 6. Intensidade de infecção de hemoparasitos em função do nível taxonômico (família) das aves em Tocantins.

### Minas Gerais + Tocantins

As espécies com menos de 10 indivíduos coletados foram eliminadas das análises, desta forma unindo os dois Estados, foram utilizados 672 indivíduos dos quais 24% estavam infectadas por hemoparasitos. Como não houve diferenças nas prevalências comparando a comunidade de Minas Gerais com a de Tocantins, foram utilizadas as mesmas análises para comparar as comunidades dos dois estados juntas. Houve diferença significativa na prevalência de aves dos ambientes preservados (25,18%) em relação aos ambientes urbanos (20,68%), sendo a maior prevalência encontrada nas aves de ambientes preservados ( $F_{1,285} = 4.33$ ,  $p < 0,05$ ).

Não foram encontradas diferenças significativas nos padrões sazonais entre a prevalência das aves em época de seca e chuva, ou entre os períodos reprodutivos, de mudadas penas ou de descanso das aves.

As aves que forrageiam do sub-bosque ao chão continuaram sendo mais prevalentes que as de dossel ( $F_{1,296} = 4.03$ ,  $p < 0,05$ ) e aves generalistas foram mais prevalentes que aves exclusivas de mata ( $F_{1,289} = 3.06$ ,  $p < 0,05$ ). Em relação à participação em bando misto ou tipo de ninho, não foram encontradas diferenças significativas na prevalência.

No entanto, em relação à guilda trófica, aves frugívoras apresentaram maiores prevalência do que as insetívoras ( $F_{1,300} = 3.52$ ,  $p = 0,01$ ). Aves mais pesadas também estavam mais parasitadas ( $X^2 = 8.61$ ,  $p < 0,01$ ).

Nenhum dos fatores hematológicos foi capaz de explicar a parasitemia das aves, quando a comunidade foi analisada separadamente por Estados ou quando analisadas juntas. Foi realizada uma regressão logística para avaliar se aves com alterações nos parâmetros sanguíneos eram mais propensas à infecção por hemoparasitos, mas nenhuma diferença significativa foi evidenciada.

Foi avaliado também se além do grupo taxonômico, a abundância de indivíduos em cada família influenciava na prevalência de hemoparasitos e este resultado foi significativo ( $X^2 = 4.70$ ,  $p < 0,05$ ), com o aumento da abundância (número de indivíduos em cada família) de aves, a prevalência diminui (Figura 7).



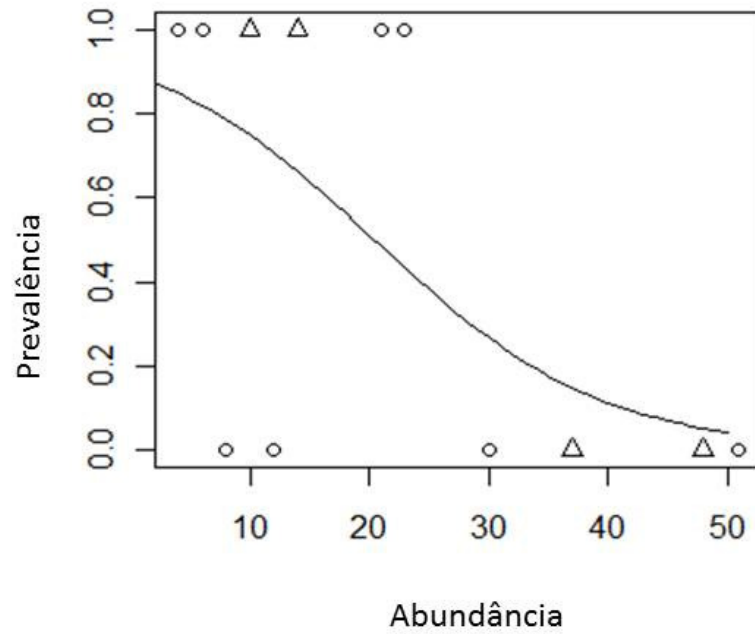


Figura 7. Regressão Logística da prevalência de hemoparasitos e abundância (número de indivíduos em cada família) de aves. Os círculos representam os ambientes preservados e triângulos ambientes urbanos.

## DISCUSSÃO

A prevalência total encontrada (24%) foi maior que em outros estudos que trataram de comunidade de aves do Cerrado de ambientes tropicais. Fecchio *et al.* (2007) verificaram que apenas 6,9% da comunidade de aves do Cerrado próximo a Brasília estavam infectadas por hemosporídeos. No mesmo local, Fecchio *et al.* (2011) encontraram que 10,7% das aves estavam infectadas por *Haemoproteus* ou *Plasmodium*, e que em ambientes mais secos e com menor pluviosidade como no Cerrado, a prevalência é menor, provavelmente devido a dificuldade dos vetores em encontrarem as condições de umidade necessárias para proliferarem. Os resultados do presente trabalho foram apoiados pelos resultados encontrados por Belo *et al.* 2011 em aves do Cerrado de Tocantins (também no Parque Estadual do Lajeado), onde 29,3% da comunidade foi infectada por hemoparasitos quando a infecção foi detectada apenas por PCR, tendo aumentado para 42,2% quando associaram à microscopia óptica. Tanto no estudo acima citado quanto em nosso estudo, as coletas foram realizadas em Unidades de Conservação com presença de grandes rios, cujas matas de galeria, assim como outras fitofisionomias florestais, são ambientes que fornecem as condições mínimas para o desenvolvimento dos insetos vetores. Durrant *et al.* (2006), por exemplo, trabalhando em florestas tropicais nas Guianas, encontram uma prevalência de hemosporídeos de 42,1% em 195 aves de 53 espécies diferentes, sendo que 64,8% de *Plasmodium* e 35,2% de *Haemoproteus*. Ribeiro *et al.* (2005) encontraram uma prevalência de 39,6% em comunidade de aves em fragmentos de Floresta Atlântica de Minas Gerais.

### ***Relação entre a prevalência e o os fatores ambientais e sazonais***

Neste estudo foram encontrados resultados que indicaram uma diferença da prevalência entre os ambientes urbanos e preservados apenas quando os resultados de Minas Gerais e Tocantins foram analisados juntos, sendo que a maior prevalência foi encontrada nos ambientes preservados. Outros autores, entretanto, encontraram maior prevalência de *Plasmodium* spp. em áreas degradadas (34,1%) em Camarões, na África, em comparação com ambientes preservados (24,3%) (Chasar *et al.*, 2009). Belo *et al* (2011) também encontraram uma prevalência de malária aviária em comunidade de aves em Tocantins, maior em ambientes urbano (56,2%, n=108) que preservado (42,2%, n=76).

Valkiunas (2005), porém, relata que há diminuição da probabilidade de infecção por hemoparasitos com o aumento da pressão antrópica. O autor relata que aves (*Fringilla coelebs*) que vivem em cidades são 2,4 vezes menos infectadas que em seus habitats naturais, provavelmente devido à quantidade de inseticidas utilizados nos grandes centros, que diminuem consideravelmente as populações de vetores. Evans *et al.* (2009) observou também maior prevalência em áreas rurais(76%) que em áreas urbanas (61%). Provavelmente ambientes rurais (ou protegidos), propiciam condições mais favoráveis para um maior número de indivíduos atingirem a idade adulta, o que explicaria maior prevalência nos ambientes protegidos, uma vez que os adultos apresentam maior probabilidade de encontro com o vetor e estar infectados que os ninhegos (Norte *et al.*, 2009). Outra possível razão seria que áreas urbanas (com predomínio de áreas pavimentadas, pouco solo exposto e cursos d'água canalizados), poderiam estar contribuindo para a diminuição de áreas favoráveis para a reprodução de mosquitos vetores, assim como acontece em habitats fragmentados ou perturbados conforme relatado por Tella *et al.* (1999). Bonier *et al.* (2007) mostram ainda que características de plasticidade e flexibilidade fisiológicas,

comportamentais e ecológicas de aves urbanas garantem uma maior tolerância ambiental, predispondo-as a ter mais sucesso que aves de ambientes rurais, mais sensíveis a perturbações do hábitat.

Em relação a outras variáveis ambientais, como por exemplo, os períodos de seca e chuva, esperava-se encontrar uma maior prevalência durante o período chuvoso, uma vez que este propiciaria uma maior disponibilidade de poças e reservatórios temporários de água para a proliferação dos vetores (Valentim *et al.*, 2012). Estes resultados podem refletir as escolhas dos locais de coletas terem sido sempre próximas a cursos d'água, principalmente em locais dentro das matas de galeria, tanto em ambiente urbano, quanto preservado. Desta forma, a disponibilidade de cursos d'água para a proliferação dos vetores seria mantida ao longo de todo o ano.

Assim como no nosso estudo, Fecchio *et al.* (2007) também não encontraram efeito do ciclo de vida na prevalência de hemospórideos em aves do Cerrado da região de Brasília. Esse resultado indica que a depressão do sistema imune esperada durante o esforço do período reprodutivo visto em estudos realizados em ambientes temperados (p.ex. Weatherhead & Bennett, 1991; Hatchwell *et al.*, 2000; Deviche *et al.*, 2001) pode não ser tão importante para influenciar a prevalência de hemoparasitos nas aves em ambientes tropicais.

### ***Relação entre a prevalência e os fatores biológicos e ecológicos das aves***

Alguns parâmetros biológicos e comportamentais das aves explicaram as diferenças na prevalência. A maior prevalência nas aves que forrageiam no sub-boque pode ser explicada pelo ritmo circadiano dos vetores, que pode ser modificado pelas condições locais (Kettle *et al.*, 1995). Segundo Kettle *et al.* (1995), em ambiente florestal a atividade dos

vetores é maior ao nível do solo do que na copa das árvores. Em florestas tropicais os Culicidae apresentam um padrão de atividade contínua próximo ao solo do nascer ao por do sol, enquanto que no dossel ocorre um padrão bimodal com maior atividade durante a noite. Esse fato pode explicar a maior prevalência em aves que forrageiam próximo ao chão e sub-bosque, uma vez que os mosquitos estão em atividade contínua e homogênea dia e noite neste estrato.

Aves que participam de bandos mistos apresentaram maior prevalência e isso já foi relatado por Ribeiro *et al.* (2005) e Fecchio *et al.* (2011), que encontraram uma correlação positiva entre a prevalência de hemosporídeos e aves que participavam de bandos mistos na Mata Atlântica de Minas Gerais e no Cerrado de Brasília, respectivamente. Este fato é explicado provavelmente pela agregação das aves, pois este tipo de comportamento propicia uma maior facilidade de encontro do hospedeiro por parte dos vetores devido à atração pela liberação mais concentrada de dióxido de carbono (Marquardt *et al.*, 2004). Poulin *et al.* (1991) já descrevia padrão semelhante onde aves sociais, gregárias ou que nidificam em colônias são mais parasitadas por ectoparasitos devido à proximidade e contato físico entre os membros do grupo.

A maior prevalência de aves generalistas em relação ao habitat, ou seja, que transitam entre ambientes florestais e áreas abertas podem ser explicadas pelo aumento das chances de encontro hospedeiro-vetor (Marquardt *et al.*, 2004). Estes indivíduos poderiam se expor a diferentes comunidades de vetores de hemoparasitos, típicas de ambiente de mata ou campestre. Marini & Couto *et al.* (1997) observaram maior prevalência de ectoparasitos em aves de borda de mata em um fragmento em Minas Gerais, além de menor sobrevivência diária de ninhegos. Allan *et al.* (2003) testaram a densidade de infecção de carrapatos em fragmentos de mata com diferentes tamanhos e observaram que nos fragmentos menores as aves eram quatro vezes mais infectadas do que nas áreas maiores. Esse resultado pode,

provavelmente, estar relacionado ao maior efeito de borda em fragmentos de áreas menores. Aves típicas de borda de mata foram classificadas aqui neste estudo como generalistas, sendo portanto esta uma possível explicação para os nossos resultados.

Aves frugívoras foram mais parasitadas do que as insetívoras e isso talvez possa ser explicado pela maior exposição aos vetores. Espécies frugívoras permanecem mais tempo manipulando os frutos, pousadas nas plantas que estão frutificando, enquanto que aves insetívoras normalmente capturam insetos durante o voo. Alguns autores apontam que aves onívoras são mais parasitadas (Belo *et al.*, 2011). Outros estudos apontam os insetívoros como mais prevalentes (Ribeiro *et al.*, 2005). Grandes frugívoros como Trogonidae, Cotingidae, e algumas espécies de saíras (Thraupidae), são aves que dependem de uma grande disponibilidade de frutos ao longo do ano e são capazes de se deslocarem por grandes distâncias à procura de árvores com frutificações abundantes e nutritivas, mas que muitas vezes ocorrem numa baixa densidade no ambiente (Motta-Júnior, 1990). Assim, ampliam a extensão da área de forrageamento, ficando portanto mais expostas a diferentes comunidades de vetores. Os insetívoros especializados, como os Dendrocolaptidae, também ocupam territórios extensos na busca por alimento, porém esta família não foi abundante nas coletas do presente estudo.

Provavelmente, o peso é um bom preditor de prevalência de hemoparasitos em comunidades de aves, devido à maior liberação de dióxido de carbono que atrai os vetores, além de uma maior superfície corporal para que eles se estabeleçam e se alimentem (Atkinson & van Riper, 1991). Aves de maior peso foram mais infectadas por hemoparasitos. As pistas de localização dos mosquitos são visuais (cor e formato do corpo) e químicas (dióxido de carbono e ácido láctico) (Marquardt *et al.*, 2004). Valkiunas (2005) evidenciaram este comportamento em aves da família Turdidae, que são mais prevalentes

entre os passeriformes provavelmente pelo seu maior tamanho e peso comparados a outros pertencentes à mesma ordem.

Em relação à maior prevalência de certas famílias em cada Estado, este fato pode estar relacionado à preferência de hospedeiros. Por exemplo, mosquitos do gênero *Simulium* são especialistas em mamíferos e aves. Existem especificidades vetor-hospedeiro bem particulares, por exemplo, *S. euryadminiculum* é atraído por secreção da glândula uropigial de um único hospedeiro, uma ave aquática norte-americana (*Gavia immer*). Algumas espécies são específicas de grupos taxonômicos, como patos ou de comunidades de aves do dossel, ou hospedeiros de um tamanho particular (ex: de grandes mamíferos). Outros como *S. venustum* são generalistas e *S. damnosum* é atraído pelo suor humano (Marquardt *et al.*, 2004).

Em um estudo de revisão, Keesing *et al.* (2006) mostram claramente que a questão chave da prevalência de uma infecção emergente está relacionada à riqueza e abundância de hospedeiros e seu impacto na população de vetores e parasitos. Essas investigações sugerem que o aumento da diversidade de espécies pode reduzir o risco de uma doença por regular a abundância de importantes espécies de hospedeiros (por exemplo, por competição ou mesmo predação) ou redistribuindo (efeito de diluição) as probabilidades de alimentação dos vetores no caso de doença por eles veiculadas (menores taxas de encontro com o hospedeiro potencial). A menor prevalência em função do aumento da abundância das famílias de aves pode ser explicada pelo sistema das doenças de múltiplos hospedeiros, como a malária. Nesse sistema parasito-múltiplos vetores-múltiplos hospedeiros, o adição de espécies menos competentes como reservatório (ou hospedeiro) pode diminuir a probabilidade de encontro entre o patógeno e espécies focais. A explicação da possível redução do número de contatos entre indivíduos susceptíveis e infectados proporcionado pelo aumento de espécies hospedeiras só é válido assumindo que a transmissão entre

espécies é menor que dentro das espécies e em casos de mecanismos de doenças frequência-dependente (Keesing *et al.*, 2006)

Espécies "não-hospedeiras" entretanto, podem também influenciar indiretamente a dinâmica das doenças. Nesse caso, o incremento da riqueza de espécies pode surtir efeito contrário, amplificando a fonte de infecção. Um exemplo desse sistema seria o aumento do número de espécies que são recurso para os hospedeiros potenciais, que tanto pode aumentar a sobrevivência de espécies infectadas ou propiciar a sua recuperação (Keesing *et al.*, 2006). Por outro lado, se por acaso a aumento ocorre no número de predadores, estes podem tanto se alimentar preferencialmente de indivíduos infectados, mais vulneráveis, quanto diminuir a movimentação das presas, diminuindo assim o contato com os propágulos do patógeno. Ou seja, o efeito do incremento de espécies pode tanto diluir, quanto amplificar o risco de doenças, dependendo da "estrutura ecológica" da doença, dos seus vetores e hospedeiros dentro do sistema de infecção. Em resumo, o risco de doenças pode ser reduzido em teoria pela manipulação da abundância de espécies-chave (manejo de reservatórios), mais do que adicionando espécies aleatoriamente. Porém em sistemas agrícolas essa estratégia pode funcionar melhor do que em sistemas naturais, onde ainda são escassos os conhecimentos para subsidiar esta avaliação de forma mais acurada.

Um dos temas prioritários a ser abordado no conhecimento dos processos ecológicos e interações complexas existentes nos ecossistemas é relacionar os efeitos da degradação ambiental com a ecologia de comunidades de parasitos. Tais estudos são necessários para direcionar as atividades de manejo nos diversos campos de conservação, extrativismo sustentável, controle de doenças e biossegurança (Begon *et al.*, 2007). O estudo de parasitismo está relacionado aos efeitos deste desequilíbrio na relação hospedeiro-parasito-vetor. Os índices hematológicos e sua associação com a presença de malária aviária podem



contribuir para a conservação de aves ao serem utilizados como ferramenta para subsidiar a avaliação do estado de conservação ambiental.

Os resultados obtidos neste estudo corroboram a literatura e, assim sugere-se que futuras pesquisas devam ser realizadas tendo em foco a descrição de alterações dos padrões de risco de infecção em ambientes com diversidade de espécies distintas, identificando os mecanismos responsáveis pelas mudanças de risco e esclarecendo mecanismos adicionais em modelos epidemiológicos de aves silvestres.

## REFERÊNCIAS

- Aleixo, A. 2007. Composition of mixed-species Bird flocks and abundance of flocking species in a semideciduous forest of southeastern Brazil. *Ararajuba* 5(1): 11-18.
- Atkinson, C.T., & van Riper III, C. 1991. *Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Leucocytozoon, and Haemoproteus*. In “Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behaviour” (J. E. Loye and M. Zuk, eds.), 19-48. Oxford Univ. Press, Oxford.
- Becker, P. H. 2003. *Biomonitoring whit birds in Bioindicators and Biomonitors* (Markert, B. A., Breure, A. M., Zechmerster, H. G.,eds.). Elsevier Science Ltda, pp 677-737.
- Begon, M., Townsend, C.R., Harper, J.L. 2007.*Ecologia: de indivíduos a ecossistemas*. 4ª ed. Artmed, Porto Alegre, 752p.
- Belo, N.O., Pinheiro, R.T., Reis, E.S., Ricklefs, R.E., Braga, E.M. 2011. Prevalence and Lineage Diversity of Avian Haemosporidians from Three Distinct Cerrado Habitats in Brazil.*PLoS ONE* 6(3): e17654. doi:10.1371.
- Bennett, G. F., Whiteway, M. A., Woodworth-Lynas, C.B. 1982.Host-parasite catalogue of the avian haematozoa.*Memorial University of Newfoundland Occasional Papers in Biology*5: 243.
- Bennett, G.F., Earle, R.A., Peirce, M.A., Huchzermeyer, F.W., Squires-Parsons, D. 1991. Avian Leucocytozoidae: the leucocytozoids of the Phasianidae sensu latu. *Journal of Natural History*25: 1407-1428.
- Bonier, F., Paul R.M., Wingfield, J.C. 2007. Urban birds have broader environmental tolerance. *Biology Letters* 3: 670–673.
- Campbell, T.W. 1988.*Avian Hematology and Cytology*. Second Edition, Iowa State University Press, Ames. 369 p.

- Campbell, T.W. 1994. *Hematology in Avian Medicine: Principles and Application* (Ritchie, B.W., Harrison, G.J., Harrison, L.R., eds.) Wingers Publishy, Lake Worth. 612 p.
- Campos, N. 2001. *Gestão de Águas: novas visões e paradigmas*. In: Campos, N. & Studart, T. (eds). *Gestão das Águas: princípios e práticas*, 2a edição, ABRH, 19-26pp.
- Clayton, D.H., Walther, B.A. 2001. Influence of host ecology and morphology on the diversity of Neotropical bird lice. *Oikos*94: 455-467.
- Colen, A.G.N., Silva, D.S., Martins, A.K.E. 2007. Elaboração de mapas de Geounidades do Parque Estadual de Lajeado no Município de Palmas-TO. *Anais XIII Simp Bras Sensoriamento Remoto* 1: 2455-2462.
- D'angelo-Neto, S., Venturin, N., Oliveira-Filho, A.T., Costa, F.A.F. 1998. Avifauna de quatro fisionomias florestais de pequeno tamanho (5-8 ha) no campus da UFLA. *Revista Brasileira de Biologia*58(3): 463-472.
- Dawson, R.D., Bortolotti, G.R. 1997. Total plasma protein level as an indicator of conditions in wild American Kestrels (*Falco sparverius*). *Can. J. Zool.* 75: 680-686.
- Develey, P. F., Peres, C.A. 2000. Resource seasonality and the structure of mixed species bird flocks in a coastal Atlantic forest of southeastern Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 16: 33-53.
- Deviche, P., Greiner, E.C., Manteca, X. 2001. Seasonal and age-related changes in blood parasite prevalence in Dark-eyed Juncos (*Junco hyemalis*, Aves, Passeriformes). *Journal of Experimental Zoology*289: 456-466.
- Dobson, A.P., May, R.M. 1986. *Disease and Conservation*. In: *Conservation Biology. The science of scarcity and diversity*. Massachussets, p. 345-365.
- Evans, K. L., Gaston, K. J., Sharp, S. P., McGowan, A., Simeoni, M., Hatchwell, B. J. 2009. Effects of urbanisation on disease prevalence and age structure in blackbird *Turdus merula* populations. *Oikos* 118: 774-782.

- Fairbrother, A., Craig, M.A., Walker, K., O'Loughlin, D. 1990. Changes in mallard (*Anas platyrhynchos*) serum chemistry due to age, sex, and reproductive condition. *J. of Wildlife Disease* 26: 67-76.
- Fallon, S.M., Bermingham, E., Ricklefs, R.E. 2003. Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. *Evolution* 57: 606-615.
- Fecchio, A., Marini, M.Â., Braga, E.M. 2007. Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil Central. *Neotropical Biology and Conservation* 2: 127-135.
- Fechio, A.L., Silveira, M. R., Braga, P., Marini, M.Â. 2011. High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil. *EMU* 111: 132-138.
- Garvin, M.C., Remsen, J.V., Bishop, M.A. 1993. Hematozoa from passeriform birds in Louisiana. *J. Parasitol.* 79: 318-321.
- Gavett, A. P., Wakeley, J.S. 1986. Blood constituents and their relation to diet in urban and rural house sparrows. *The Condor* 88: 279-284.
- Greener, E.C., Bennett, G.F., White, E.F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. *Can. J. Zool.* 53: 1762-1787.
- Hatchwell, B.J., Wood, M.J., Anwar, M., Perrins, C.M. 2000. The prevalence and ecology of the haematozoan parasites of European Blackbirds, *Turdus merula*. *Canadian Journal of Zoology* 78: 684-687.
- Holmes, J.C., Price, P. 1986. *Communities of parasites*. In: Community ecology: patterns and processes. Anderson D.J., Kikkawa J. Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 187-213.
- Hopkins, B.A., Skeeles, J.K., Houghten, G.E. 1990. A survey of infectious diseases in wild turkeys (*Meleagris gallopavo silvestris*) from Arkansas. *J. Wildl. Dis.* 26: 468-472.

- Horak, P., Ots, I., Murumagi, A. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: a response to brood size manipulation. *Ecology* 12: 750-756.
- IBAMA, 1994. Manual de anilhamento de Aves. Brasília, Centro de Pesquisas para Conservação das Aves Silvestres, Ibama, 146p.
- IBGE – Censo 2010, disponível em: [http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados\\_divulgados/index.php?uf=17](http://www.censo2010.ibge.gov.br/dados_divulgados/index.php?uf=17), acessado em: 10 junho 2012.
- IEF, 2004. Instituto Estadual de Florestas, MG. *Plano de Manejo do Parque Estadual do Rio Preto*. Encarte 3 – Análise da Unidade de Conservação.
- Jones, K.E., Nikkita, G.P., Marc, A.L., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P. 2007. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451: 990-994.
- Julian, R.J., Galt, D. E. 1980. Mortality in Muscovy Ducks (*Cairina moschata*) caused by Haemoproteus infection. *J. Wildl. Dis.* 16: 39-44.
- Keesing, F., Holt, R.D., Ostfeld, R.S. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters* 9: 485–498.
- Kettle, D. S. 1995. *Medical and Veterinary Entomology*. Ed. Cab International, Wallingford, UK, 2a edição, 725p.
- Kilpatrick, A. M., LaPointe, D. A., Atkinson, C. T., Woodworth, B. L., Lease, J. K., Reiter, M. E., Gross, K. 2006. Effects of chronic avian malaria (*Plasmodium relictum*) infection on reproductive success of Hawaii amakihi (*Hemignathus virens*). *The Auk* 123: 764-774.
- Lafferty, K.D., Holt, R.D. 2003. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecological Letters* 6: 654-664.
- Loye, J., Carroll, S. 1995. Birds, bugs and blood – avian parasitism and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 10: 203-235.

- Machado, C.G. 1999. A Composição dos bandos mistos de aves na Mata Atlântica da Serra de Paranapiacaba, no sudeste brasileiro. *Rev. Brasil. Biol.* 59(1): 75-85.
- Machado, C.G., Rodrigues, M.R. 2000. *Alteração de altura de forrageamento de espécies de aves quando associadas a bandos mistos*. In: Alves, M. A. S., Silva, J. M. C., Sluys, M. V., Bergallo H.G., Rocha, C. F. D. (Eds). *A ornitologia no Brasil: Pesquisa atual e perspectivas*. UERJ, Rio de Janeiro, Brasil, p.231-237.
- Maldonado-Coelho, M., Marini, M.Â. 2003. Composição de bandos mistos de aves em fragmentos de Mata Atlântica no sudeste do Brasil. *Papéis Avulsos de Zoologia* 43 (3): 31-54.
- Marcondes, C.B. 2001. *Entomologia médica e veterinária*. Ed. Atheneu, SP, 432p.
- Marini, M.Â., Couto, D. 1997. *Correlações ecológicas entre ectoparasitas e aves de florestas de Minas Gerais*. In. *Contribuições ao conhecimento ecológico do Cerrado*. In: Leite, L.L., Saito, C.H. Depto. de Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, p.210-218.
- Marquardt, W. C. (ed) 2005. *Biology of disease vectors*. Editora Elsevier Academic Press, 2a.edição, San Diego, California, 785p.
- Marshall, A.G. 1981. *The ecology of ectoparasitic insects*. New York, Academic Press, 459p.
- McCallum, H., Dobson, A. 1995. Detecting disease and parasite threats to endangered species and ecosystems. *TREE* 10: 190-194.
- Moreno, J., Leon, A., Fargalho, J.A., Moreno, E. 1998. Breeding time, health and immune response in the chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica*. *Oecologia* 115: 312-319.
- Motta-Junior, J.C., Granzinoli, M.A.M., Develey, P.F. 2008. Birds of the Estação Ecológica de Itirapina, State of São Paulo, Brazil. *Biota Neotrop.* 8(3): 15-24.

- Müller, C., Jenni-Eiermann, S., Jenni, L. 2011. Heterophils/Lymphocytes-ratio and circulating corticosterone do not indicate the same stress imposed on Eurasian kestrel nestlings. *Functional Ecology* 25: 566–576.
- Norte, A. C., Ramos, J. A., Araújo, P.M., Sousa, J.P., Sheldon, B. C. 2008. Health-State Variables and Enzymatic Biomarkers as Survival Predictors in Nestling Great Tits (*Parus Major*): Effects of Environmental Conditions *The Auk* 125(4):943-952.
- Norte, A. C., Sheldon, B. C., Sousa J. P. 2009. Environmental and genetic variation in body condition and bloodprofile of great tit *Parus major* nestlings. *J. Avian Biol.* 40: 157-165.
- Patz, J.A. 2000. Unhealthy landscapes: policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environmental Health Perspect* 112: 1092-1098.
- Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldestrom, J., Bensch, S. 2005. What are malaria parasites? *Trends Parasitology* 21(5): 209–211.
- Poulin, B., Lefebvre, G., McNeil, R. 1992. Tropical avian phenology in relation to abundance and exploitation of food resources. *Ecology* 73(6): 2295-2309.
- Poulin, R. 1991. Group-living and infestation by ectoparasites in passerines. *Condor* 93: 418-423.
- Powell, G. V. N. 1979. Structure and dynamics of interespecific flocks in a Neotropical mid-elevation forest. *The Auk* 96: 375-390.
- Primack, R.B., Rodrigues, E. 2001. *Biologia da Conservação*. Londrina, 328p.
- R Development Core Team (2011). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

- Ribeiro, S.F., Sebaio, F., Branquinho, F.C.S., Marini, M.A., Vago, A.R., Braga, E.M. 2005. Avian malaria in Brazilian passerini birds: parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. *Parasitology* 130(3): 261-267.
- Ridgely, R.S. Tudor, G. 1989. The birds of South America. University of Texas Press, Auscin. vol.I 516p.e II. 814p.
- Rigby, M.C., Moret, Y. 2000. *Life-history trade-offs with immune defenses*. In: Evolutionary biology of host-parasite relationships: theory meets reality. Elsevier Science, B.V. Amsterdam, pp. 129-142.
- Root, R.B. 1967. The niche exploitation pattern of the blue-gray gnatcatcher. *Ecological Monographs* 37(1): 317-350.
- Rózsa, L. 1997. Patterns in the abundance of avian lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera). *Journal of Avian Biology* 28: 249-254.
- Sambrook, J., Russell, D.W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual* --.3rd ed. -- New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1441p.
- Sanguinetti, C.J., Neto, E.D., Simpson, A.J.G. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques* 17: 915-919.
- Schrader, M.S., Walters, E.L., James, F.C., Greiner, E.C. 2003. Seasonal prevalence of a haematozoan parasite of red-bellied woodpeckers (*Melanerpes carolinus*) and its association with host condition and overwinter survival. *Auk* 120(1): 130-137.
- Sick, H. 2001. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro. Editora Nova Fronteira.
- Sigrist, T. 2006. *Aves do Brasil: uma visão artística*. 2ª Ed. Avis Brasilis, São Paulo, 672p.
- Sutherland, W. J., Newton, I., Green, R. E. 2004. *Bird Ecology and Conservation – A Handbook of Techniques*. Ed. Oxford University Press, 386p.
- Tella, J. L., Guillermo, B., Foreros, M. G., Gajo, A. L., Dona'Zar, A. 1999. Habitat, world geographic range, and embryonic development of hosts explain the prevalence of



- avian hematozoa at small spatial and phylogenetic scales. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 1785–1789.
- Valkiunas, G. 2005. *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. Ed. CRC Press, Washington, D. C., 932p
- Van Riper III, C., Atkinson, C.T., Seed, T.M. 1994. Plasmodia of Birds. *Parasitic Protozoa* 7: 73-140.
- Van Wyk, E., van der Bank, H., Verdoorn, G. H. 1998. Dynamics of haematology and blood biochemistry in free-living African Whitebacked Vulture (*Pseudogyps africanus*) nestlings. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120: 495–508.
- Weatherhead, P.J., Bennett, G.F. 1991. Ecology of Red-winged Blackbird parasitism by haematozoa. *Canadian Journal of Zoology* 69: 2352-2359.

## CAPÍTULO 2

Saúde e prevalência de malária aviária em ambientes tropical e temperado: *Turdus* spp. (Turdidae) e *Passer domesticus* (Passeridae) como modelos de estudo



## RESUMO

As mudanças climáticas globais podem elevar as temperaturas entre 1,4 e 5,8 °C nos próximos 100 anos. Estas alterações irão influenciar a conservação da biodiversidade, a incidência de doenças veiculadas por vetores e mudanças no ciclo de vida de muitos animais e plantas. O aumento de doenças veiculadas por vetores, como a malária aviária, é uma realidade neste cenário futuro e pode afetar a dinâmica das populações de aves. O objetivo principal deste estudo foi avaliar se a prevalência de malária aviária é dependente da temperatura ou da riqueza de espécies, comparando regiões tropical (Brasil) e temperada (Portugal) em que os hospedeiros se encontram. Foram colhidas amostras de sangue de *Passer domesticus* e de duas espécies de *Turdus* spp., comuns a ambos países investigados para avaliar a prevalência de malária e relacionar com o estado de saúde das aves. Diagnóstico da malária aviária foi obtido através do uso de técnicas moleculares (PCR) e microscopia óptica. Os parâmetros de saúde avaliados foram: taxa de glicose, concentração de hemoglobina, volume relativo de glóbulos vermelhos (HCT) e contagem diferencial de glóbulos brancos (razão H/L), além do índice de massa corporal. Armadilhas luminosas foram utilizadas para capturar os insetos e identificar os vetores locais. A prevalência de malária aviária no Brasil foi de 35 % em *T. leucomelas* e de 25% em *P. domesticus*. Em Portugal, a prevalência de infecção foi de 69% em *T. merula* e de 47% em *P. domesticus*. Tanto para *Turdus*, quanto para *P. domesticus*, a prevalência e a intensidade de infecção foram significativamente maiores em Portugal. Indivíduos infectados apresentaram a taxa de hemoglobina significativamente menor que os não-infectados. Este resultado provavelmente está associado com uma maior disponibilidade e riqueza de hospedeiros em ambientes tropicais, havendo um efeito de “diluição” na prevalência destes parasitos. Embora a variação da prevalência entre as duas regiões não possa ser explicada apenas pelo fator temperatura, o aquecimento global interage ainda com outros “drivers” da extinção de espécies, como fragmentação e perda de habitats, super-exploração e introdução de espécies. Todos estes fatores, associados aos danos causados por hemoparasitos na saúde das aves refletem uma necessidade de implementação deste tipo de diagnóstico em medidas de conservação de espécies de aves, aplicado a outros ecossistemas.

**Palavras-chave:** pardal comum, *Turdus* spp., hemoparasitos, malária aviária, saúde de aves silvestres.

## INTRODUÇÃO

O clima é um dos principais fatores que controla a distribuição geográfica dos biomas, o funcionamento dos ecossistemas e a taxa de crescimento das plantas e animais (Moutinho, 2006). As mudanças climáticas globais são hoje consideradas uma ameaça global para a saúde humana e dos ecossistemas. Grande parte destas alterações que provocam os aumentos globais de temperatura é causada pelas emissões antropogênicas de gases poluentes, que retêm calor e favorecem o efeito estufa (Schryver *et al.*, 2009). Este evento começou a se intensificar após a Revolução Industrial no final do século XIX, com o aumento significativo da concentração de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e metano (CH<sub>4</sub>) na atmosfera, devido à queima de combustíveis fósseis e mudanças no uso do solo, principalmente, desmatamento e queimadas (Ghini *et al.*, 2008). Durante o último século, a temperatura global aumentou 0,7 °C e estima-se que até o ano 2100 aumente ainda mais, entre 1,4 °C em um cenário mais otimista, com a estagnação das emissões de CO<sub>2</sub>, e 5,8 °C em um cenário pessimista, na ausência do controle destes gases (IPCC, 2001; 2007).

Alguns estudos que simulam os possíveis cenários decorrentes do aumento da temperatura global prevêem impactos negativos sobre a biodiversidade (Bradshaw & Holzapfel, 2006; Devictor *et al.*, 2008; Schryver *et al.*, 2009), como o aumento de doenças veiculadas por vetores (Cumming, 2006; Jones *et al.*, 2008), além de alterar o ciclo biológico de diversas espécies de animais (Schryver *et al.*, 2009) e plantas (Ghini, 2008) e causar até mesmo extinção de espécies (Thomas *et al.*, 2004; Sekercioglu, 2008).

Segundo Barbraud & Welmersklrh (2006) e Donnelly *et al.*(2009), as aves são um dos grupos mais vulneráveis às mudanças climáticas. Um dos principais impactos causado pelo aquecimento global das temperaturas e que pode influenciar a dinâmica de populações das aves é o aumento da ocorrência de doenças parasitárias transmitidas por insetos vetores

(Cosgrove *et al.*, 2008). Este fato deve-se ao aumento da temperatura e alterações dos ciclos hidrológicos, que podem criar condições favoráveis para a proliferação de mosquitos transmissores de hemosporídeos, como a malária (Lopez-Vélez & Moreno, 2005).

Estas alterações climáticas e ambientais causadas por intervenção humana têm alterado e destruído habitats, desestruturando comunidades biológicas e o funcionamento de ecossistemas. Dentro deste panorama, é de relevante importância avaliar o impacto do estresse ambiental no equilíbrio da relação hospedeiro-parasito-vetor (Lafferty & Holt, 2003).

A malária aviária é uma doença infecciosa, transmitida por protozoários parasitos sanguíneos que acometem aves de diversas espécies (Valkiunas, 2004). Estes parasitos pertencem ao filo Apicomplexa, dentre os quais os gêneros mais prevalentes em aves pertencem à ordem Haemosporida: *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon* (Julian & Galt, 1980; Bennett *et al.*, 1982; Hopinks *et al.*, 1990; Garvin *et al.*, 1993). Conforme proposto por Pérez-Tris *et al.* (2005), o termo malária aviária (hemosporídeos ou hemoparasitos aviários) neste trabalho, refere-se a infecções por *Plasmodium* e/ou *Haemoproteus*.

Os hemoparasitos podem ser transmitidos entre os hospedeiros a partir do repasto sanguíneo de vetores, com consequente inoculação das formas infectantes, onde no sangue das aves encontram-se as formas de trofozoíto, esquizonte e gametócito para *Plasmodium*, e apenas gametócito para *Haemoproteus* (Valkiunas, 2005) (Figura 1). Os parasitos do gênero *Plasmodium* são transmitidos, na maioria das vezes, por mosquitos da família Culicidae (gêneros *Culex* e *Aedes*) e raramente do gênero *Anopheles*, como é o caso da malária humana (Atkinson & Van Riper III, 1991). O gênero *Haemoproteus* tem sido documentado em várias partes do mundo associado aos vetores das famílias Ceratopogonidae (em especial o gênero *Culicoides*) e Hippoboscidae (Greener *et al.*, 1975); enquanto que *Leucocytozoon* é

veiculado principalmente por mosquitos das famílias Simuliidae e Ceratopogonidae (Marcondes, 2001).

Dentre as formas de avaliar o estado de saúde das aves, além da investigação de hemoparasitos, podem ser utilizados os parâmetros fisiológicos, avaliados por meio de exames hematológicos os quais analisam: as concentrações de hemoglobina (Hb) e hematócrito - HCT (volume relativo de glóbulos vermelhos) para avaliação de anemia; razão de heterófilos/leucócitos - H/L (morfotipos de glóbulos brancos indicadores de estresse); além do índice de condição corporal ou IMC (relação entre o peso e medidas morfométricas do tarso). Estes índices hematológicos têm sido amplamente utilizados para monitorar as funções orgânicas de espécies de aves domésticas e silvestres (Gavett, 1986; Fairbrother *et al.*, 1990; Dawson & Bartolotti, 1997; Norte *et al.*, 2008; Muller *et al.*, 2011) e possibilitam o diagnóstico de alterações fisiológicas em aves, causadas por diversos fatores de estresse. Van Wyk *et al.* (1998) defendem o uso de variáveis hematológicas, não só para investigar a biologia e fisiologia de aves silvestres, mas também para obter indicações da associação entre alterações fisiológicas e condições ambientais.

A maioria dos trabalhos sobre o efeito do aumento das temperaturas globais e malária aviária foi realizado na América do Norte e Europa (Martin *et al.*, 2004; 2007; Ricklefs & Sheldon, 2007; Marzal *et al.*, 2011; Lachish *et al.*, 2011). O Brasil é considerado um país-chave para estudos de impactos de alterações climáticas globais (Moutinho, 2006). Sua megadiversidade, associada ao fato da existência de raros trabalhos que avaliam os impactos das mudanças climáticas em ambientes tropicais, principalmente na América Latina (Peterson & Shaw, 2003; Marengo, 2004; Nobre *et al.*, 2005; Marini *et al.*, 2009), torna este estudo de comparação entre os ambientes tropicais e temperados, inovador.

Nesse estudo foram investigadas as associações entre a prevalência de hemoparasitos e saúde de aves comparando dados em clima tropical (Brasil) com uma região de clima

temperado (Portugal). Dentro deste objetivo principal, as seguintes hipóteses foram formuladas:

***Hipótese 1:** A prevalência de hemoparasitos varia entre os ambientes tropicais e temperados.*

Previsão: Espera-se que a prevalência de hemoparasitos em ambientes tropicais seja maior em relação aos ambientes temperados, devido às elevadas temperaturas e pluviosidade nestas regiões, propícias à proliferação dos vetores destes hemoparasitos.

***Hipótese 2:** Existe um efeito da infecção por hemoparasitos nos parâmetros hematológicos de saúde das aves*

Previsão: Espera-se que os parâmetros morfológicos e hematológicos de aves infectadas pelo parasito estejam alterados em relação às não-parasitadas, devido aos danos na saúde das aves.

***Hipótese 3:** Há uma influência da estabilidade climática na prevalência de hemoparasitos e nos parâmetros hematológicos de saúde das aves.*

Previsão: Devido ao clima estável nos trópicos (que propicia a persistência dos vetores e dos parasitos ao longo do ano), espera-se que não haja variações sazonais na prevalência de hemoparasitos e nos parâmetros hematológicos (resposta similar do sistema imune ao longo do ano) nos trópicos, porém esta variação deve ocorrer no ambiente temperado.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Áreas de Estudo*

Foi utilizado como modelo deste estudo o pardal comum (*Passer domesticus*), presente em ambos os países e duas espécies do gênero *Turdus*: *T. leucomelas*, no Brasil e *T. merula* em Portugal. No Brasil, as amostragens foram realizadas entre fevereiro de 2008 e dezembro de 2009, na região urbana de Belo Horizonte e em áreas preservadas no estado de Minas Gerais (Parque Estadual do Rio Preto e Parque Estadual do Itacolomi). Em Portugal as amostragens foram realizadas entre março e novembro de 2010 na região urbana de Coimbra e em áreas preservadas (Áreas Protegidas do Baixo Mondego).

### *Dados climáticos e sazonais no período de estudos*

A fonte dos dados meteorológicos no Brasil foi o Instituto Nacional de Meteorologia (INMET: [www.inmet.gov.br](http://www.inmet.gov.br)) e em Portugal foram utilizados dados de termo-higrômetro de campo e do Boletim Climatológico Anual produzido pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Ensino Superior/Instituto de Meteorologia, I. P. Lisboa- Portugal ([www.meteo.pt](http://www.meteo.pt)).

### *Captura das aves em campo*

As aves foram capturadas utilizando 10 redes de neblina (malha de 35 mm), abertas desde o início da manhã (aproximadamente 6:00hs) até o meio-dia (12:00hs) e vistoriadas a cada 30 minutos. As aves foram acondicionadas em sacos de pano e os espécimes anilhados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisa para a Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE) e licenças concedidas pelo Instituto Chico Mendes de Conservação



da Biodiversidade (ICMBio) no Brasil, e pela Central de Anilhagem Portuguesa (CEMPA/ICNB), em Portugal. Foram mensurados dados biométricos como tarso, peso corporal e coletadas amostras de sangue como descrito a seguir. Após estes procedimentos as aves foram liberadas próximo ao local de captura.

### *Índice de massa corporal*

A avaliação da condição corporal foi feita por intermédio de um índice de massa corporal (IMC) ou “Body Condition”, calculado a partir do resíduo da equação de regressão linear da massa corporal com o comprimento do tarso (Dubiec *et al.*, 2005, Friedl & Edler, 2005). O IMC, por ser a diferença entre a massa medida e a teórica, fornece a estimativa da quantidade de massa acumulada pelos indivíduos em relação ao padrão teórico da amostra, podendo ser considerado um indicador de reservas energéticas.

### *Captura dos insetos vetores*

Os mosquitos vetores foram capturados no Brasil, utilizando armadilhas luminosas (modelo HP) instaladas no campo às 18:00hs e recolhidas 12 horas depois. Em cada local foram instaladas três armadilhas, mantidas em campo durante cinco dias. Mosquitos foram separados em família e foram depositados na coleção de insetos do Laboratório de Biodiversidade da UFOP. Em Portugal, as armadilhas utilizadas foram tipo CDC, instaladas uma unidade em cada dia de coleta em uma zona úmida próxima de Coimbra, sendo que cada campanha de coleta tinha duração de 2 dias. Os mosquitos foram identificados até espécie.

### ***Coleta das amostras de sangue para análise***

Foram utilizadas agulhas de insulina descartáveis (BD 30 x 3mm) para a extração de sangue da veia braquial de uma das asas de cada ave capturada. A quantidade de sangue coletada dependeu do peso individual das aves, e foi extraído apenas 10% do volume total de sangue (sendo que este corresponde a aproximadamente 7% do seu peso total) (Sutherland *et al.*, 2004). Em campo foram preparados três esfregaços sanguíneos por ave em lâminas de vidro secas ao ar, fixadas com metanol e depois coradas com uma solução de GIEMSA em água tamponada (pH 7,2 - 7,4) a uma diluição de 1:10. Com apenas uma gota de sangue a concentração plasmática de glicose foi medida utilizando aparelho BREEZE 2 (Bayer Group).

### ***Análise laboratorial dos parâmetros hematológicos***

Em laboratório os esfregaços sanguíneos foram analisados em microscopia óptica (M.O.) para verificação da presença de hemoparasitos no sangue das aves e para quantificação e classificação dos glóbulos brancos (razão Heterófilos/Linfócitos - H/L). Foram examinados 200 campos microscópicos de cada esfregaço (aumento de 1000 X, objetiva de imersão).

Uma fração da amostra de sangue (ca. de 50 µL) foi armazenada em tubos microcapilares de vidro contendo anticoagulante heparina, lacrados em uma das extremidades com massa selante, e outra fração armazenada (ca de 50µL) em eppendorfs de 1,5 mL. As amostras foram mantidas a 4°C em geladeira por no máximo 5 horas até seu processamento.

Os microcapilares contendo amostras de sangue heparinizadas foram centrifugados a 3200 rpm, durante 10 minutos, onde foi separado o plasma (com os glóbulos brancos) das células vermelhas do sangue e determinada a porcentagem total de hematócrito (HCT), presente nas amostras.

A concentração de hemoglobina (Hb) foi medida num espectrofotômetro portátil (HEMOCUE Hb 201) que lê comprimento de onda 540 nm, segundo técnica descrita por Campbell (1988 e 1994).

### ***Diagnóstico molecular e M.O. da infecção por hemoparasitos (malária)***

#### **Extração de DNA**

A extração de DNA a partir de sangue armazenado em solução de lise foi realizada de acordo com as especificações do fabricante do Kit Wizard® Genomic DNA Purification (Promega® MA, EUA). O DNA do sangue armazenado em álcool 70% foi extraído por fenol-clorofórmio segundo Sambrook (2001). As amostras foram armazenadas a 4°C até o momento da amplificação.

#### **Diagnóstico Molecular por PCR**

O *screening* para a presença de *Plasmodium/Haemproteus* no sangue das aves foi feito por PCR de acordo com Fallon *et al.* (2003). Esta reação amplifica 195 pb de um fragmento do gene mitocondrial (ssu rRNA), conservado entre os dois gêneros de parasitos. As sequências dos iniciadores utilizados foram:

343F → 5' – GCTCACGCATCGCTTCT - 3'

496R → 5' - GACCGGTCATTTTCTTTG - 3'

Na reação de amplificação, cada tubo recebeu entre 50 e 100 ng do “DNA-molde”, 10 mM Tris HCl, pH 8,5, 50 mM KCl; (PHONEUTRIA®); 2.0-2.5 mM MgCl<sub>2</sub>; 200 μM dNTP; 0.5 U Taq DNA polimerase (PHONEUTRIA®); 0.4mM de cada iniciador, com volume final de 15 μl. O programa da amplificação se dá por uma desnaturação inicial do DNA a 94°C por 2 minuto, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 1 minuto, seguida de anelamento a 62°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e 10 segundos, terminando em uma extensão final a 72 °C por 3 minutos.

Como controle positivo foi utilizado DNA genômico de *Plasmodium gallinaceum* obtido de pintinhos infectados experimentalmente e gentilmente cedidos pelo Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou - CPqRR, Belo Horizonte. E como controles negativos foram utilizadas amostras de DNA obtidas de pintinhos mantidos livres de infecção, gentilmente cedido pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) 6%, não desnaturante, em tampão TBE 1X. Os géis de poliacrilamida foram fixados em solução de álcool etílico 10% e ácido acético 0,5%, corados em solução de nitrato de prata e os fragmentos de DNA de 195 pb (contando com os *primers*) evidenciados quando em solução reveladora de hidróxido de sódio e formaldeído (Sanguinetti *et al.*, 1994). Os dados obtidos por PCR foram comparados àqueles obtidos por observação microscópica de esfregaços sanguíneos. Amostras que apresentaram discordância de resultados foram reavaliadas pelos dois métodos.

O diagnóstico final da prevalência de *Plasmodium/Haemoproteus* foi realizado através da associação dos resultados obtidos do exame dos esfregaços sanguíneos e dos

resultados das análises de PCR (ssu rRNA). A prevalência de *Plasmodium/Haemoproteus* foi calculada pela proporção de indivíduos em cada população de cada espécie/região infectados pelo parasito.

### **Intensidade de infecção**

A intensidade de infecção, assim como a fase do ciclo reprodutivo do *Plasmodium* (Trofozoíto, Esquizonte, Gamonte) ou de *Haemoproteus* (Gametócitos), também foi mensurada através da análise dos esfregaços sanguíneos em M.O. A intensidade de infecção refere-se ao número de células infectadas encontradas em 10.000 células não-infectadas de cada indivíduo e calculada a intensidade média dividindo pelo número de aves infectadas.

### ***Análises Estatísticas***

A prevalência de hemoparasitos entre ambiente tropical e temperado foi modelada utilizando “General Linear Models” (GLM), com distribuição de erros binomial, para cada uma das variáveis resposta: Região (temperada ou tropical) e separadamente por espécie (*P. domesticus* ou *Turdus* spp.). Para determinar qual fator influencia a intensidade de infecção em cada região e em cada espécie foi utilizado o mesmo modelo (GLM), porém com distribuição de erros Poisson (devido à distribuição de erros destes dados não se apresentarem como uma função normal).

Para avaliar o efeito da infecção nos parâmetros hematológicos de saúde das aves, foram realizados testes-T (ou Wilcox para dados com distribuição não-normal) para examinar separadamente as interações entre cada variável de saúde das aves (HCT, glicose, Hb, IMC, razão H/L) em relação às aves infectadas ou não infectadas.

Para verificar se houve influência sazonal na prevalência de hemoparasitos em ambientes tropical e temperado, análises de regressão logística foram utilizadas para identificar fatores preditivos de infecção por hemoparasitos, expressados como 1 (infectados) e 0 (não-infectados), por indivíduo de ave amostrada em período reprodutivo ou não-reprodutivo, incluído desta vez como variável preditiva.

Em todas as análises foi utilizado o programa R Development Core Team (2011), e adotado um nível de significância de 5%. Os dados foram testados quanto aos pressupostos de normalidade (Shapiro teste) e para a homogeneidade das variâncias (Bartlett teste).

## **RESULTADOS**

Foram coletados ao todo 103 indivíduos de *T. leucomelas* e 40 de *Passer domesticus* na região tropical (Brasil) e 102 indivíduos de *T. merula* e 66 de *Passer domesticus* na região temperada (Portugal).

### ***Dados climáticos e sazonais no período de estudos***

As aves foram coletadas em períodos reprodutivo e não-reprodutivo do seu ciclo de vida. Os dados meteorológicos de temperatura média mensal de cada coleta e umidade relativa do ar no Brasil e em Portugal são apresentados nas tabelas 1 e 2 respectivamente.

A temperatura média e precipitação média anual no Brasil e em Portugal (Tabela 3) mostram que o ano de 2010 em Portugal foi atípico, superando em 20% a precipitação de acordo com a normal climatológica (70-2000) e 0,25°C acima da temperatura média prevista.

Tabela 1. Temperatura média (°C), Umidade relativa do ar (%) e período de coleta em cada mês do ano de 2008 e 2009, nos estados de Minas Gerais, onde Não-Rep=período não reprodutivo.

Mês/Ano	Temperatura	Umidade	Período	Local
Maio/08	20.5	60	Não-Rep	MG
Ago/08	22.0	55	Não-Rep	MG
Set/08	19.0	70	Reprodução	MG
Out/08	19.0	65	Reprodução	MG
Fev/09	23.5	70	Não-Rep	MG
Abril/09	22.5	65	Não-Rep	MG
Jun/09	16.5	80	Não-Rep	MG
Fev/10	21.0	60	Não-Rep	MG

**Fonte** INMET

Tabela 2. Temperatura média (°C), Umidade relativa do ar (%) e período de coleta em cada mês do ano de 2010, em Portugal, onde Não-Rep=período não reprodutivo.

Ano 2010	Temperatura	Umidade	Período
Mar	12.0	73	Não-Rep
Abril	ND	ND	Reprodução
Maio	18.5	80	Reprodução
Junho	19.0	90	Reprodução
Julho	21.0	75	Reprodução
Ago	22.5	72	Não-Rep
Set	19.5	79	Não-Rep
Out	16.5	85	Não-Rep
Nov	09.5	84	Não-Rep

**Fonte** I.P.



Tabela 3. Temperatura média (°C), Precipitação média (mm de chuva) anual nos estados de Minas Gerais (MG) em 2008 e 2009, e em Portugal (PT) em 2010.

Ano	MG		PT	
	°C	Mm	°C	Mm
2008	19.5	1695	ND	ND
2009	19.5	1685	ND	ND
2010	ND	ND	15.5*	1063*

Fonte INMET e I.P.

\*Ano atípico em Portugal

### *Insetos Vetores*

Não foi possível a comparação das abundâncias dos mosquitos nas duas regiões coletadas, uma vez que o número de armadilhas, anos de coleta e nível da identificação taxonômica foram diferentes. Desta forma apenas será apresentado aqui resultados qualitativos e exploratórios.

Em Portugal, no total de 567 indivíduos coletados no ano de 2010, só foram capturados mosquitos da família Culicidae e apenas 14 eram da subfamília Anophelinae, dentre eles: *Anopheles algeriensis* (n=1), *A. maculipennis* (n=8), *A. claviger* (n=4) e *A. plumbeus* (n=1). Houve predominância nítida da subfamília Culicinae (principalmente *Culex pipiens*, n=322 e *C. theileri* n=195) e apenas 36 indivíduos de *Ochlerotatus caspius* (Culicinae).

No Brasil foram coletados mosquitos em 2008 e 2009 e os indivíduos foram identificados até família. Dos 757 mosquitos coletados, foram identificados 151 Culicidae, 269 Ceratopogonidae, 15 Simuliidae e 322 Pshycodidae (*Lutzomyia* spp).

### ***Análise da prevalência de hemoparasitos***

O estágio evolutivo em que representantes dos gêneros *Plasmodium*/*Haemoproteus* se encontravam em cada amostra foi diagnosticado através do exame dos esfregaços sanguíneos. Os indivíduos de *P. domesticus* capturados no Brasil e positivos para malária apresentaram apenas a forma evolutiva de trofozoíto (Tabela 4). Em Portugal, dentre os 31 indivíduos infectados, 20 apresentavam apenas a forma trofozoítica e 11, as formas evolutivas de trofozoíto + merozoíto + gametócito.

Dos 36 indivíduos infectados de *Turdus* capturados no Brasil, 29 apresentavam apenas trofozoítos e apenas sete apresentaram trofozoíto + gametócito. Nas amostras de Portugal, na maioria das lâminas parasitadas (n=47) apenas a forma de trofozoíto foi encontradas. Em 23 indivíduos, todas as outras formas evolutivas foram detectadas. Dentre elas merozoítos (em 13 indivíduos) e gametócitos (em 16 indivíduos).

Tabela 4. Tamanho amostral e fase do ciclo evolutivo de *Plasmodium* sp. nas lâminas de esfregaço sanguíneo de indivíduos do gênero *Turdus* e Pardais em ambiente tropical (Brasil) e temperado (Portugal).

Ciclo evolutivo	Tropical (BR)		Temperado (PT)	
	Pardais	<i>Turdus</i>	Pardais	<i>Turdus</i>
N amostral	40	102	66	103
Infectados	8	36	31	70
Trofozoíto	8	29	27	47
Merozoíto	0	0	5	13
Gametócito	0	7	6	16

No Brasil, a prevalência de infecção por *Plasmodium/Haemoproteus* em *T. leucomelas* foi de 35% e em *P. domesticus* foi de 25%. Em Portugal, a prevalência de infecção em *T. merula* foi de 69% e 47% em *P. domesticus* (Figura 1). Tanto para *Turdus*, quanto para *Passer*, a prevalência foi maior em Portugal ( $F=33.43$ ,  $df=304$ ,  $p < 0,05$ ). Quando analisados os dados das duas regiões em separado em relação às espécies, apenas em Portugal *Turdus* é mais prevalente que *P. domesticus* ( $F=7.05$ ,  $df=305$ ,  $p < 0,05$ ).

A intensidade de infecção também foi maior em Portugal ( $F=25.67$ ,  $df=142$ ,  $p < 0,01$ ) e maior em *Turdus* em relação aos pardais ( $F=15.50$ ,  $df=141$ ,  $p < 0,05$ ) (Figuras 2 e 3).

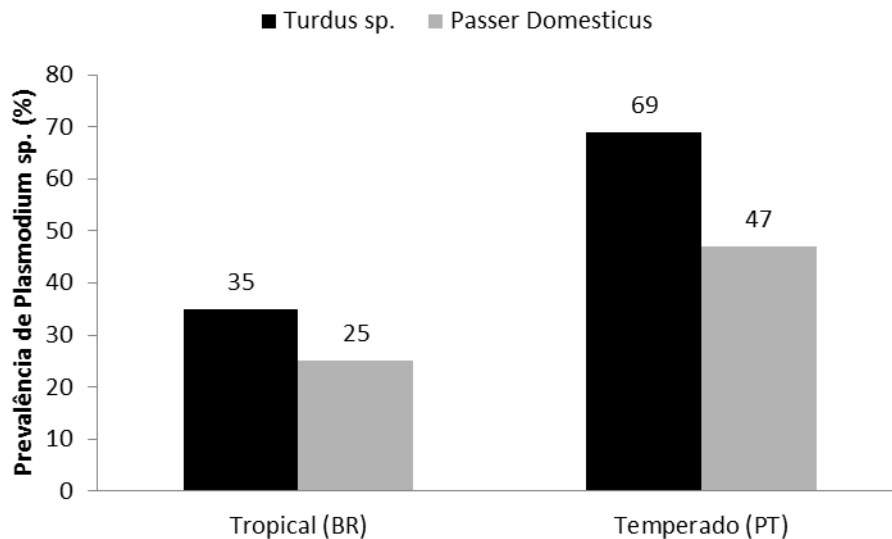


Figura 1. Prevalência de infecção por *Plasmodium*/*Haemoproteus* em aves do gênero *Turdus* sp. e *Passer domesticus* em ambiente tropical (Brasil) e Temperado (Portugal).

Nas análises de esfregaço sanguíneo, além de *Plasmodium* sp., foi encontrada microfilária, outro hemoparasita. Dos 102 indivíduos de *T. leucomelas* capturados no Brasil, seis deles estavam infectados por microfilária; em Portugal, dos 103 indivíduos de *T. merula* capturados, apenas um indivíduo estava infectado. Dentre os 106 indivíduos de *P. domesticus* capturados, apenas um apresentava infecção por microfilária, tanto no Brasil quanto em Portugal.

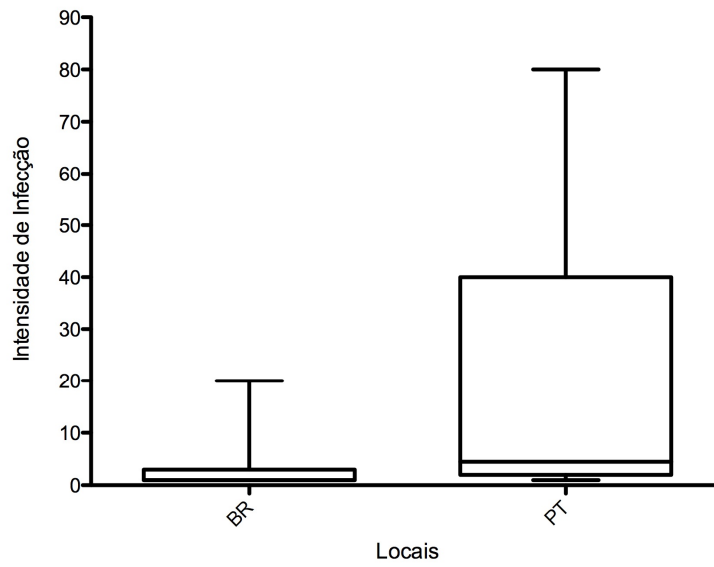


Figura 2. Intensidade de infecção por *Plasmodium* sp. em aves do gênero *Turdus* em ambiente Tropical (BR) e temperado (PT).

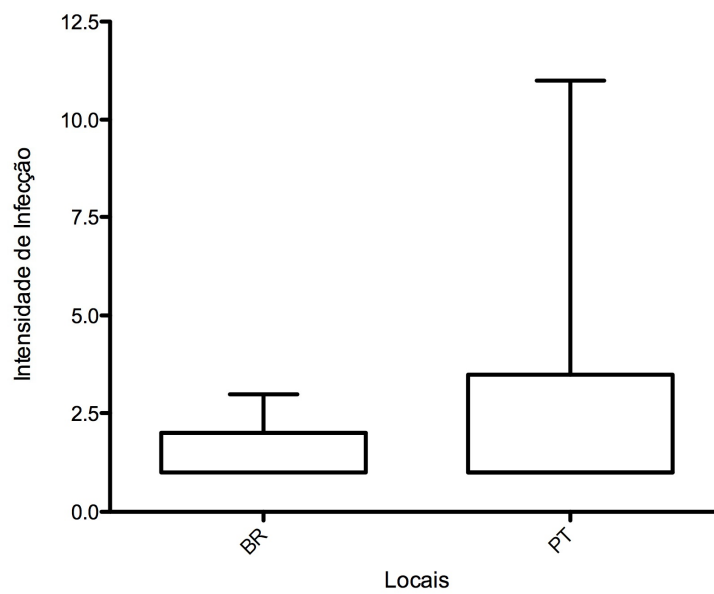


Figura 3. Intensidade de infecção por *Plasmodium* sp. em *Passer domesticus* em ambiente Tropical (BR) e temperado (PT).

### *Parâmetros hematológicos e de saúde das aves*

A infecção de hemoparasitos não alterou significativamente os valores de IMC (Índice de Massa Corporal). Dos parâmetros hematológicos analisados, a concentração de Glicose, os valores de % de Hematócrito (HCT) e razão H/L (Heterófilos/Linfócitos) não variaram significativamente entre indivíduos parasitados e não-parasitados. A concentração de Hemoglobina (mensurada apenas em Portugal) foi afetada pela presença de parasitos. Indivíduos infectados apresentaram a taxa de hemoglobina menor que os não-parasitados ( $t=3.389$ ,  $df=156.421$ ,  $p<0.01$ ).

Em relação às espécies (*Passer domesticus* ou *Turdus* sp.), os parâmetros hematológicos variaram apenas para os pardais onde a taxa de glicose ( $W=8961$ ,  $p<0.05$ ) foi mais alta em pardais do Brasil. Por outro lado, os pardais em Portugal apresentaram a razão H/L (Heterófilos/Linfócitos) menor ( $W=1410.5$ ,  $p<0.01$ ) e o Hematócrito (HCT) foi mais alto em relação aos pardais do Brasil ( $W=8111.5$ ,  $p<0.05$ ) (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5. Número de indivíduos de *P. domesticus*, média e desvio padrão dos parâmetros hematológicos e de saúde em ambiente tropical (BR) e temperado (PT), onde IMC= Índice de Massa Corporal, GLI=Taxa de Glicose no sangue, H/L= Razão de Heterófilos/Linfócitos, HCT=Hematócrito e Hb= Taxa de hemoglobina.

Índices hematológicos	Tropical (BR)		Temperado (PT)	
	N	Média $\pm$ DP	N	Média $\pm$ DP
IMC	40	-0,07 $\pm$ 1,12	65	0,04 $\pm$ 0,91
GLI	39	374,46 $\pm$ 94,48	61	326,32 $\pm$ 79,15
HCT	38	48,81 $\pm$ 4,87	58	53,10 $\pm$ 6,15
Hb	ND	ND	65	17,06 $\pm$ 3,55
H/L	32	1,15 $\pm$ 1,10	60	0,43 $\pm$ 0,38

Tabela 6. Número de indivíduos do gênero *Turdus* sp., média e desvio padrão dos parâmetros hematológicos e de saúde em ambiente tropical (BR) e temperado (PT); onde IMC= Índice de Massa Corporal, GLI=Taxa de Glicose no sangue, H/L= Razão de Heterófilos/Linfócitos, HCT=Hematócrito e Hb= Taxa de hemoglobina.

Índices hematológicos	Tropical (BR)		Temperado (PT)	
	N	Média ± DP	N	Média ± DP
IMC	81	0,01 ± 0,99	102	-0,003 ± 0,99
GLI	71	317,87 ± 64,49	94	326,84 ± 69,49
HCT	50	47,62 ± 9,79	99	50,43 ± 6,95
Hb	ND	ND	101	13,67 ± 2,03
H/L	93	0,33 ± 0,53	94	0,23 ± 0,26

### *Efeito do ciclo de vida*

A prevalência de infecção por hemoparasitos em *T. leucomelas* no Brasil não foi influenciada pelo período do ciclo de vida em que a ave se encontrava (reprodutivo ou não reprodutivo), apesar dos resultados do teste apontar uma tendência à uma maior prevalência no período reprodutivo (F=3.18, df=99, p=0,07). Em Portugal, no entanto, *T. merula* apresentou uma prevalência maior no período não-reprodutiva (F=20.06, df=97, p < 0,01).

Em relação aos parâmetros hematológicos das aves em Portugal os valores de HCT foram mais elevados no período não-reprodutivo (F=14.77, df=46, p < 0,05) e no Brasil a razão H/L foi maior no período reprodutivo (F=11.74, df=89, p < 0,01).

Para *P. domesticus* não foi possível avaliar o efeito do ciclo de vida, uma vez que estes foram coletados apenas no período não-reprodutivo tanto no Brasil quanto em Portugal.

## DISCUSSÃO

### *Prevalência de hemoparasitos entre os ambientes tropical e temperado.*

A diferença na prevalência de malária nas aves nos ambientes tropical e temperado era esperada de acordo com nossas hipóteses iniciais. Foi encontrada uma maior prevalência nas aves da região temperada. Provavelmente a maior riqueza e abundância de aves em ambientes tropicais tenha um efeito de diluição da prevalência nestes ambientes. Um aumento da biodiversidade poderia diluir o papel de um determinado hospedeiro eficiente como fonte de infecção de um mosquito, porque os vetores poderiam se alimentar de hospedeiros alternativos (menos eficientes na transmissão da malária), levando a um menor número de mosquitos infectados. Ou seja, o aumento da riqueza e abundância em espécies pode diminuir o risco de doença através do “efeito de diluição” (Keesing *et al.*, 2006). Além disso, a susceptibilidade e a habilidade de cada hospedeiro em controlar infecções (resistência) são únicas em cada indivíduo e este fator espécie-específico estaria agindo como um fator limitante para a disseminação destes parasitos nos trópicos. De fato, considerando ainda o balanço das diferenças na resposta imune entre cada espécie, (Martin *et al.*, 2004) estas predições podem explicar esta hipótese.

Apenas o parâmetro latitudinal de temperatura entre ambientes tropical x temperada parece não ser um bom parâmetro para avaliar o papel dos vetores na transmissão da malária aviária. Entretanto, não há um consenso entre os autores que investigaram tal fato, pois existem relatos a favor e contra esse parâmetro. Por exemplo, Ricklefs (1992) e Valkiunas *et al.* (2003) encontraram prevalência maior em aves de região temperada comparada a região tropical. Martin *et al.* (2007), usando técnicas moleculares (PCR), encontrou o mesmo padrão de maior prevalência em ambientes temperados para pardais, porém somente no início da período reprodutivo a prevalência de malária foi maior na região temperada.



Ricklefs & Sheldon (2007), entretanto, não encontraram diferença na prevalência de hemossporídeos em espécies do gênero *Turdus* spp. em ambiente tropical (na América Central, utilizando 47 indivíduos de *T. gray*) e temperado (na América do Norte, utilizando 40 indivíduos de *T. migratorius*). Porém, corroborando com os nossos resultados, estes mesmos autores encontraram uma intensidade de infecção mais baixa em ambientes tropicais.

Mendes *et al.* (2005), todavia, encontraram maior prevalência de malária em aves limícolas encontradas em habitat de água doce (tropical) em relação a ambientes costeiros em clima temperado. Este dado, porém, pode estar relacionado à necessidade do vetor de encontrar ambientes com água doce e temperatura adequada para a reprodução (Alto & Juliano, 2001), o que não ocorre freqüentemente em ambientes costeiros. Durrant *et al.* (2006) também encontraram uma maior prevalência de hematozoários e haplotipos (linhagens) de cada um deles (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) em comunidades de aves em ambiente tropical (Guianas) em relação ao temperado (Uruguai). Porém, quando examinados separadamente (em infecções não mistas), a prevalência de *Plasmodium* não foi diferente entre as regiões, mas a prevalência de *Haemoproteus* foi maior no ambiente temperado.

Diversos outros fatores, como seleção de habitat, estratégias de forrageamento, agregação, migração e características intrínsecas da história de vida das espécies, podem estar influenciando a parasitemia em aves (Mendes *et al.*, 2005). Assim, é provável que a presença ou ausência do parasito, dependa da presença ou ausência de espécies hospedeiras adequadas, e menos dos atributos particulares dos habitats. Quando analisamos as espécies separadamente, *Turdus* sp. foi mais prevalente que *P. domesticus* apenas em Portugal. No Brasil, não houve diferença na prevalência entre as duas espécies. Apesar de *P. domesticus* estarem mais infectados em ambiente nativo (Portugal) que em ambiente onde ele foi introduzido (Brasil), para as espécies nativas de ambos locais (*Turdus* sp) houve maior

prevalência em clima temperado. Este fato contradiz os resultados encontrados por Marzal *et al.* (2011), baseados na hipótese “*The enemy release hypothesis*”, que prediz que aves invasoras (como o pardal) podem ser menos afetadas por inimigos naturais no novo ambiente, se comparadas aos seus competidores nativos. Os indivíduos do gênero *Turdus* também apresentaram maiores taxas de infecção por microfilária que os pardais no Brasil.

Além da riqueza e abundância de espécies, outros fatores podem promover esta diferença encontrada entre as populações de cada ambiente. Fatores climáticos podem influenciar o grau de parasitemia em cada local. Os vetores de hemoparasitos requerem um mínimo de condições de temperatura e umidade para completarem o ciclo de vida (Hoop & Foley, 2001). Apesar de Portugal apresentar temperaturas médias e pluviosidade inferiores ao Brasil, ambientes temperados apresentam uma maior variação térmica ao longo do ano. Assim, estações bem definidas, com elevações de temperaturas concentradas apenas no verão, propiciam um aumento das populações dos vetores nesse período (Valentim *et al.*, 2011). De acordo com Valkiunas, (2005), além da presença do vetor, suas exigências ecológicas e densidades populacionais são fundamentais para viabilizar a transmissão do parasito. Assim, de acordo com nossos dados, podemos inferir que em ambientes tropicais, onde chuva e calor estão mais distribuídos ao longo do ano, haveria condições para a manutenção de populações ativas dos vetores, que poderiam infectar os hospedeiros ao longo de todo o ano, o que explicaria, nas nossas amostras, a presença de apenas as formas mais recentes de infecção (trofozoítos), que são mais dificilmente detectáveis. Nos esfregaços de lâmina das amostras de Portugal, foram encontradas todas as formas evolutivas na maioria das amostras.

## ***Efeito da infecção por hemoparasitos nos parâmetros hematológicos de saúde das aves***

O índice de massa corporal não foi um bom indicador para avaliar a relação entre parasitemia por *Plasmodium* e condição de saúde das aves, conforme já relatado por outros autores em relação à infestação por ectoparasitos (Storni *et al.*, 2005). Aves com baixo IMC não apresentaram maior propensão a serem infectados por hemoparasitos. Schultz *et al.* (2010) também não encontraram nenhuma relação entre parasitemia de hemoparasitos e diminuição nos índices de massa corporal em *Ploceus capensis* na África do Sul. O mesmo foi observado para as medidas de glicose no sangue. Estes dois fatores podem estar mais relacionados com a disponibilidade de alimento ao longo do ano e ao período reprodutivo (Scharader *et al.*, 2003) ou à lesões hepáticas e septicemia, do que à infecção crônica por agentes maláricos (Atkinson & van Riper III, 1991). Hatchwell *et al.* (2000), entretanto, constataram uma diminuição do IMC com o aumento da parasitemia por outro grupo de hemoparasita (*Leucocytozoon*), em 82 indivíduos de *Turdus merula*.

Os parâmetros hematológicos de saúde das aves foram alterados pela infecção por hemoparasitos. A concentração de hemoglobina foi menor em aves infectadas por malária quando comparadas às aves não-infectadas, indicando que o parasito causa danos às hemácias do hospedeiro infectado. Com a diminuição de hemoglobina, o agente malárico diminui também a capacidade do sangue de carrear oxigênio, levando a uma possível diminuição do “fitness” reprodutivo das aves (Norte *et al.*, 2008). Outros autores mostram a importância da hemoglobina no período reprodutivo, quando há aumento da energia gasta no esforço reprodutivo durante a incubação de ovos e cuidado com a prole (Sanz *et al.*, 2004; Owen & Moore 2006, Lobato *et al.*, 2011). Esta mesma tendência não foi observada nos valores de hematócrito (HCT). Este resultado pode estar relacionado à uma liberação rápida

de células vermelhas imaturas na circulação, em resposta à diminuição da capacidade de transporte de oxigênio, porém com o teor de hemoglobina baixo (Campbell, 1994). Sugere-se, portanto, que o índice Hb possa ser um indicador mais sensível dos efeitos negativos da infecção por haemosporídeos.

Outro estudo constatou uma pior condição corporal e menor taxa de hemoglobina em aves infectadas por *Plasmodium*, e maior índice H/L (estresse) naquelas infectadas por *Haemoproteus* (Norte *et al.*, 2009). A porcentagem de H/L, no entanto, foi mais alta no Brasil, indicando um possível estresse justamente onde a prevalência e intensidade de infecção eram menores em relação a Portugal. Apesar deste fato ser contraditório, fatores de estresse fisiológicos, hormonais ou ambientais podem reativar um estado crônico de parasitemia (Atkinson & Van Ripper, 1991). Além desse índice (H/L), no Brasil outros índices também mostraram uma provável condição de estresse das aves coletadas em ambiente tropical, evidenciado nas maiores taxas de glicose e menores porcentagens de HCT.

### ***Relação entre a prevalência de hemoparasitos, os parâmetros hematológicos de saúde das aves e as fases do ciclo de vida***

Estudos em aves silvestres livres tornam a identificação dos fatores específicos que conduzem às mudanças temporais e espaciais em parasitemia uma tarefa difícil. Estes padrões são difíceis de serem detectados devido à sub-amostragem de aves com infecção aguda, que são aquelas que poderiam mostrar um efeito da infecção na depressão das condições corporais e fisiológicas (Valkiūnas, 2005).

No Brasil não foi encontrada diferença na prevalência de hemoparasitos entre os períodos reprodutivo e não-reprodutivo, provavelmente porque o clima estável nos trópicos

promove a persistência de parasitos e seus vetores ao longo do ano, fazendo com que não haja diferença entre os períodos do ciclo de vida. Além disso, foi visto que o sistema imune das aves em ambiente tropical é similar ao longo do ano, e provavelmente mais forte que o sistema imune de aves temperadas, apenas no início da período reprodutivo (Martin *et al.*, 2007).

Apesar de apenas marginalmente significativo, houve uma tendência clara de uma maior prevalência no período reprodutivo no Brasil para *T. leucomelas*. Diversos autores demonstram que no período reprodutivo a prevalência aumenta, devido a uma competição do sistema imune com o gasto energético durante a reprodução (Atkison *et al.*, 1988; Hatchwell *et al.*, 2000; Gravin *et al.*, 2003; Cubas, 2007). O período reprodutivo (durante a primavera e verão) também coincide com a maior atividade dos mosquitos. Marzal *et al.* (2005), demonstraram experimentalmente que, administrando o medicamento anti-malárico em aves durante o período reprodutivo, há um aumento no sucesso de eclosão dos ovos e no sucesso dos ninhegos em sair do ninho, comparados com o controle.

Nosso estudo, porém revelou que em ambiente temperado a prevalência foi maior no período não-reprodutivo para *T. merula*. Este resultado pode estar sendo mascarado pelo pouco refinamento na divisão da sazonalidade climática em ambientes tropicais, uma vez que nestes locais as diferenças sazonais são mais nítidas. Martin *et al.* (2007), por exemplo, observaram uma variação sazonal na prevalência de hemoparasitos em aproximadamente 50 pardais coletados em cada ambiente tropical (Panamá) e temperado (EUA). Neste estudo eles puderam concluir que apenas durante o início da período reprodutivo, a prevalência de hemoparasitos foi maior em ambiente temperado.

Ricklefs & Sheldon (2007), porém também não encontram diferenças no padrão de prevalência de hemosporídeos entre período reprodutivo e não-reprodutivo em *Turdus* spp. estudados tanto em ambientes temperados quanto tropicais.

### ***Considerações Finais***

Para prever o curso de uma epidemia, é importante entender totalmente a dinâmica de transmissão da doença. Para isso é imprescindível entender os vários componentes biológicos das populações de mosquitos que afetam a razão de transmissão de doenças transmitida por vetores. Dentre estes fatores que compõem o modelo de transmissão de doenças, a capacidade vetorial é um dos principais componentes. Esta, por sua vez, é dependente da densidade populacional do vetor em relação ao hospedeiro (razão de reprodução, nascimento e mortalidade), probabilidade do vetor sobreviver um dia e se alimentar de um hospedeiro (índice de hospedeiro preferencial x frequência de alimentação), duração do período de incubação (sendo que a distribuição ao longo do ano dos estágios de desenvolvimento é dependente da temperatura ambiente) (Marquardt *et al.*, 2004).

Os resultados das análises dos parâmetros de prevalência e saúde das aves não nos permite inferir sobre o que vai acontecer caso haja aumento da temperatura nos ambientes com clima temperado. Ao avaliarmos os resultados de estudos similares podemos encontrar algumas pistas que fortalecem as nossas idéias iniciais. Uma delas, e talvez a mais importante, diz respeito à ecologia dos vetores. Provavelmente, em regiões tropicais, a sazonalidade dos períodos de seca e chuva pode ser mais importante para os vetores que as temperaturas. Em clima temperado, algumas espécies podem adiar o desenvolvimento do ciclo reprodutivo em função da temperatura, por exemplo, a mudança de estágio de ovo para larval pode durar dois dias em temperatura entre 22-24 °C e até 12 dias em temperaturas entre 10-12 °C, ou mesmo diapausar por todo o inverno. Isso tem reflexo nas taxas de parasitemia, que diminuem no inverno e há um pequeno aumento no início da primavera, em resposta à progressão do ciclo reprodutivo das aves. Este processo assegura que os parasitos estarão em sua forma acessível no sangue periférico das aves, em sincronia com o

aparecimento dos vetores na primavera e quando os ninhegos estão mais susceptíveis à infecção (Kettle, 1995).

Em clima tropical, entretanto, com sazonalidade de temperatura menos distinta (ou nítida), as espécies podem prolongar o período reprodutivo ao longo de todo o ano, refletindo em pouca variação do tamanho populacional dos adultos (Kettle, 1995).

Assim, com os aumentos globais de temperatura, pode ser que haja uma extensão da “janela” de oportunidade dos vetores se desenvolverem no inverno temperado e possivelmente acarretar futuros aumentos nas taxas de infecção das aves nestes locais.

Em um artigo de revisão, Jones *et al.* (2007) enfatizam que doenças transmitidas por vetores são responsáveis por 22,8% dos eventos de doenças infecciosas emergentes e que este valores têm aumentado para 28,8% na última década. Este aumento corresponde a anomalias climáticas ocorrendo desde 1990, sustentando a hipóteses de que mudanças no clima podem conduzir ao surgimento de doenças que têm vetores dependentes de alterações nas condições ambientais, tais como precipitação e temperatura. No entanto, esta controversa questão exige novas análises para testar relações causais entre a emergência de doenças infecciosas e eventos de mudança globais. Neste mesmo artigo foi visto que a riqueza de espécies hospedeiras é um preditor mais significativo para o surgimento de doenças zoonóticas de origem da vida silvestre que fatores como a densidade populacional, latitude ou pluviosidade (como observado para emergência de doenças não relacionada à vida silvestre). O padrão de eventos de doenças transmitidas por vetores não se correlacionou com nenhuma das variáveis ambientais examinadas neste estudo, embora tenha sido notado que a variável climática utilizada nesta análise (chuva) não representou fenômenos de mudanças climáticas.

Estas associações devem ser interpretadas com cautela, uma vez que as doenças podem ser causa ou consequência de más condições corporais.

Doenças infecciosas emergentes são predominantemente zoonoses (60,3%) e a maioria delas (71,8%) originárias de animais silvestres, as quais vêm crescendo significativamente ao longo do tempo, impulsionadas principalmente por fatores sócio-econômicos e ambientais (Jones *et al.*, 2007). Service (1991) propõe como medida extrema de zooprofilaxia de doenças humanas veiculadas por vetores o aumento de espécies hospedeiras alternativas, próximas a ambientes urbanos. Por enquanto, a preservação de fragmentos grandes de áreas contínuas de vegetação, que podem suportar uma maior diversidade de espécies, interações e processos ecológicos, parece ser a única estratégia plausível.

Finalmente, nossa análise sugere que a redução do impacto ambiental das atividades antrópicas e os esforços para conservar e proteger áreas ricas em diversidade da vida silvestre podem ser ainda mais valorizados, uma vez que a manutenção da biodiversidade pode estar correlacionada à redução do risco de futuras doenças zoonóticas.



## REFERÊNCIAS

- Alto, B.W., Juliano, S.A. 2001. Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for range expansion. *Journal of Medical Entomology* 38: 646-656.
- Atkinson, C. T. 1988. Epizootiology of *Haemoproteus melagrisdis* (Protozoa, Haemosporina) in Florida: potential vectors and prevalence in naturally infected *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Medicine Entomology* 25: 39–44.
- Atkinson, C.T., VAN RIPER III, C. 1991. *Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Leucocytozoon, and Haemoproteus*. In “Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behaviour” (J. E. Loye and M. Zuk, eds.), Oxford Univ. Press, Oxford. 19-48.
- Barbraud, C., Welmersklrch, H., 2006. Antarctic birds breed later in response to climate change. *PNAS* 103: 6248-6251.
- Bennett, G. F., Whiteway, M. A., Woodworth-Lynas, C. B. 1982. Host-parasite catalogue of the avian haematozoa. *Memorial University of Newfoundland Occasional Papers in Biology* 5: 243 pp.
- Bonnevie BT, Craig AJFK, Hulley PE, Underhill GD. 2003. Moulting, breeding season, mass, wing length, and dispersal in Cape Robins (*Cossypha caffra*) and Olive Thrushes (*Turdus olivaceus*): results from mist-netting garden birds. *Ostrich* 74: 81–86.
- Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M. 2006. Evolutionary response to rapid climate change. *Science* 312: 1477-1478.
- Campbell, T.W. 1988. *Avian Hematology and Cytology*. Second Edition, Iowa State University Press, 369 p.

- Campbell, T.W. 1994. *Hematology in Avian Medicine: Principles and Application* (B.W. Ritchie, G.J. Harrison & L.R. Harrison, eds.). Wingers Publishy, Lake Worth, 612 p.
- Cosgrove, C. L., Wood, M. J., Day, K. P., Sheldon, B. C. 2008. Seasonal variation in Plasmodium prevalence in a population of blue tits *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Animal Ecology* 77: 540-548.
- Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. 2007. *Tratado de animais selvagens*. Ed.Roca, São Paulo, 1353 p.
- Cubas, Z. S., Silva, J. C. R., Catão-Dias, J. L. 2007. *Tratado de animais selvagens*. Ed.Roca, São Paulo, 1353 p.
- Cumming, G. S., Vuuren, D. P. V. 2006. Will climate change affect ectoparasite species range? *Global Ecology and Biogeography* 15: 486-497.
- Devictor, V., Julliard, R., Couvet, D., Jiguet, F. 2008. Birds are tracking climate warming, but not fast enough. *Proceedings of the Royal Society* 5: 1-5.
- Donnelly, A., Cooney, T., Jennings, E., Buscardo, E., Jones, M. 2009. Response of birds to climate variability: evidence from the western fringe of Europe. *Int J Biometeorol.* 53: 211–220.
- Dubiec, A., Witek, M., Cichon, M. 2005. Seasonal decline in leukocyte concentrations and reproductive output in female Great Tits (*Parus major*). *Auk* 122: 829-834.
- Fairbrother, A., Craig, M.A., Walker, K., O'Loughlin, D. 1990. Changes in mallard (*Anas platyrhynchos*) serum chemistry due to age, sex, and reproductive condition. *Journal of Wildlife Disease* 26: 67-76.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., Ricklefs, R. E. 2003. Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. *Evolution* 57: 606-615.

- Friedl, T. W. P., EDLER, R. 2005. Stress-dependent trade-off between immunological condition and reproductive performance in the polygynous red bishop (*Euplectes orix*). *Evolutionary Ecology* 19: 221-239.
- Garvin, M. C., Remsen, J. V. 1997. An alternative hypothesis for heavier parasite loads of brightly colored birds: Exposure at the nest. *Auk* 114: 179–191.
- Gavett, A. P., Wakeley, J.S. 1986. Blood constituents and their relation to diet in urban and rural house sparrows. *The Condor* 88: 279-284.
- Ghini, R., Hamada, E., Bettiol, W. 2008. Climate changes and plant diseases. *Sci. Agric.* 65: 98-107.
- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. *Can. J. Zool.* 53: 1762-1787.
- Hatchwell, B. J., Wood, M. J., Anwar, M. A. A., Chamberlain, D. E., Perrins, C. M. 2001. The haematozoa parasites of common blackbirds *Turdus merula*: Associations with host condition. *Ibis* 143: 420–426.
- Hopp, M., Foley, J. 2001. Global-scale relationships between climate and the dengue fever vector, *Aedes aegypti*. *Climatic Change* 48: 441–463.
- Hörak, P., Ots, I., Murumagi, A. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: a response to brood size manipulation. *Ecology* 12: 750-756.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) 2007. *Climate change 2007: impacts, adaptation, and vulnerability*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). 2001. *Climate Change and Biodiversity Technical Paper V*. In: H Gitay, A Suárez, RT. Watson, DJ Dokken (Eds). IPCC, Geneva, Switzerland. pp 85.

- Jones-Kate, E., Nikkita, P.G., Marc, L.A. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451: 990-993.
- Julian, R.J., Galt, D. E. 1980. Mortality in Muscovy Ducks (*Cairina moschata*) caused by Haemoproteus infection. *J. Wildl. Dis.* 16: 39-44.
- Keesing, F., Holt, R. D., Ostfeld, R. S. 2006. Effects of species diversity on disease risk. *Ecology Letters* 9: 485-498.
- Kettle, D. S. 1995. *Medical and Veterinary Entomology*. Ed. Cab International, Wallingford, UK, 2a edição, 725p.
- Lafferty, K.D., Holt, R.D. 2003. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecological Letters* 6: 654-664.
- Lobato, D.N.C., Braga, É.M., Belo, N.O., Antonini, Y. 2011. Hematological and parasitological health conditions of the Pale-breasted Thrush (*Turdus leucomelas*) (Passeriformes: Turdidae) in southeastern Brazil. *Zoologia* 28(6): 771-776.
- López-Vélez, R., Moreno, R. M. 2005. Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Ver. Esp. Salud Pública* 79: 177-190.
- Marcondes, C.B. 2001. *Entomologia médica e veterinária*. Ed. Atheneu, SP, 432p
- Marengo, O. J. A. 2004. Interdecadal variability and trends of rainfall across the Amazon basin. *Theoretical and Applied Climatology* 78: 79-96.
- Marini, M. A., Barbet-Massin, M., Lopes, L. E., Jiguet, F. 2009. Predicted Climate-Driven Bird Distribution Changes and Forecasted Conservation Conflicts in a Neotropical Savanna. *Conservation Biology Contributed Paper* 45: 345-354.
- Marquardt, W. C. (ed). 2005. *Biology of disease vectors*. Editora Elsevier Academic Press, 2a.edição, San Diego, California, 785p.

- Martin L.B., M. Pless, J. Svoboda, Wikelski, M. 2004. Immune activity in temperate and tropical house sparrows: a common-garden experiment. *Ecology* 85: 2323–2331.
- Martin, L. B., Pless, M. I., Wikelski, M. C. 2007. Greater seasonal variation in blood and ectoparasite infections in a temperate than a tropical population of House Sparrows *Passer domesticus* in North America. *Ibis* 149: 419–423.
- Martin, L. B., Pless, M. I., Wikelski, M. C. 2007. Greater seasonal variation in blood and ectoparasite infections in a temperate than a tropical population of House Sparrows *Passer domesticus* in North America. *Ibis* 149: 419–423.
- Marzal, A., Lope, F., Navarro, C., Moller, A. P. 2005. Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. *Oecologia* 142: 541-545.
- Marzal, A., Ricklefs, R.E., Valkiu, N.A.S., Albayrak, T., Arriero, E. 2011. Diversity, Loss, and Gain of Malaria Parasites in a Globally Invasive Bird. *PLoS ONE* 6(7): e21905. doi:10.1371.
- Mendes, L., Piersma, T., Lecoq, M., Spaans, B., Ricklefs, R. 2005. Disease-limited distributions? Contrasts in the prevalence of avian malaria in shorebird species using marine and freshwater habitats. *Oikos* 109: 396–404.
- Moreno, J., Leon, A., Fargalho, J.A., Moreno, E. 1998. Breeding time, health and immune response in the chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica*. *Oecologia* 115: 312-319.
- Moutinho, P. 2006. *Biodiversidade e mudanças climáticas sob um enfoque amazônico*. In: Rocha, C. F. D.; Bergallo, H. G. & Alves, M. A. S. *Biologia da conservação: essências*. São Carlos. Ed. Rima.
- Müller, C., Jenni-Eiermann, S., Jenni, L. 2011. Heterophils/Lymphocytes-ratio and circulating corticosterone do not indicate the same stress imposed on Eurasian kestrel nestlings. *Functional Ecology* 25: 566–576.

- Nobre, C. A., Assad, E. D., Oyama, M. D. 2005. Mudança ambiental no Brasil: o impacto do aquecimento global nos ecossistemas da Amazônia e na agricultura. *Sci. Am. Brasil*, Special Issue: A Terra na Estufa, 70-75.
- Norte, A. C., Araújo, M. M., Sampaio, H. L., Sousa, J. P., Ramos, J. A. 2009. Haematozoa infections in a great tit *Parus major* population in Central Portugal: relationship with breeding effort and health. *Ibis* 151: 677-688.
- Norte, A. C., Sheldon, B. C., Sousa J. P., Ramos, J. A. 2008. Repeatability and method-dependent variation of blood parameters in wild-caught Great Tits *Parus major*. *Acta Ornithologica* 43(1): 235-244.
- Owen, J. C., Moore, F. R. 2006. Seasonal differences in immunological condition of three species of thrushes. *Condor* 108: 389–398.
- Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldestrom, J., Bensch, S. 2005. What are malaria parasites? *Trends Parasitol* 21: 209–211.
- Peterson, A. T., Shaw, J. 2003: *Lutzomyia* vectors for cutaneous leishmaniasis in southern Brazil: ecological niche models, predicted geographic distributions, and climate change effects. *Int. J. Parasitol.* 33: 919-931.
- R Development Core Team (2011). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.
- Ricklefs, R. E. 1992. Embryonic development period and prevalence of avian blood parasites. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 89: 4722-4725.
- Ricklefs, R. E., Sheldon, K. S. 2007. Malaria prevalence and white-blood-cell response to infection in a tropical and in a temperate thrush. *The Auk* 124(4): 1254-1266.

- Rigby, M.C., Moret, Y. 2000. *Life-history trade-offs with immune defenses*. In: Evolutionary biology of host-parasite relationships: theory meets reality. Elsevier Science, B.V. Amsterdam, pp. 129-142.
- Sambrook, J., Russell, D.W. 2001. *Molecular cloning: a laboratory manual* -- 3rd ed. -- New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1441p.
- Sampaio, G., Marengo, J., Nobre, C. 2008. *A Atmosfera e as mudanças climáticas*. In: Buckeridge, M. S. (ed.) *Biologia & Mudanças Climáticas no Brasil*. Editora Rima, São Carlos, 316p.
- Sanguinetti, C. J., Neto, E. D., Simpson, A. J. G. 1994. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques* 17: 915-919.
- Sanz, J. J., J. Moreno, S. Merino, Tomás, G. 2004. A trade-off between two resource-demanding functions: post-nuptial molt and immunity during reproduction in male Pied Flycatchers. *Journal of Animal Ecology* 73: 441–447.
- Schrader, M.S., Walters, E.L., James, F.C., Greiner, E.C. 2003. Seasonal prevalence of a haematozoan parasite of red-bellied woodpeckers (*Melanerpes carolinus*) and its association with host condition and overwinter survival. *Auk* 120(1): 130-137.
- Schryver, A. M., Brakkee, K.W., Goedkoop, M.J., Huijbregts, M. A. J. 2009. Characterization factors for global warming in life cycle assessment based on damages to humans and ecosystems. *Environmental Science and Technology* 43: 1689-1695.
- Schultz, A., Underhill, L.G., Earle, R.A., Underhill, G. 2010. Infection prevalence and absence of positive correlation between avian haemosporidian parasites, mass and body condition in the cape weaver *Ploceus capensis*. *Ostrich* 81(1): 69–76.
- Sekercioglu, C.H., Schneider, S.H., Fay, J.P., Loarie, S.R. 2008. Climate change, elevational range shifts, and bird extinctions. *Conservation Biology* 22(1): 140-150.

- Shelly, L., Sarah, K. C. L., Alves, R. 2011 Fitness effects of endemic malaria infections in a wild bird population: the importance of ecological structure. *Journal of Animal Ecology* 80: 1196-1206.
- Snäll, T., Benestad, R. E. Stenseth, N. C. 2009. Expected future plague levels in a wildlife host under different scenarios of climate change. *Global Change Biology* 15: 500-507.
- Storni, A., Alves, M.A.S., Valim, M.P. 2005. Ácaros de penas e carrapatos (Acari) associados a *Turdus albicollis*, Vieillot (Aves, Muscicapidae) em uma área de Mata Atlântica da Ilha Grande, Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Zool.* 22: 419-423.
- Sutherland, W. J., Newton, I., Green, R. E. 2004. *Bird Ecology and Conservation – A Handbook of Techniques*. Ed. Oxford University Press, 386p
- Thomas, C.D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., Siqueira, M. F., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Jaarsveld, A. S. V., Midgley, G. F., Miles, L., Huerta, M. A. O., Peterson, A. T., Phillips, O. L., Williams, S. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427: 145– 148.
- Valkiunas, G. 2005. *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. Ed. CRC Press, Washington, D. C., 932p.
- Van Wyk, E., van der Bank, H., Verdoorn, G. H. 1998. Dynamics of haematology and blood biochemistry in free-living African Whitebacked Vulture (*Pseudogyps africanus*) nestlings. *Comparative Biochemistry and Physiology* 120: 495–508.
- Ventim, R., Tenreiro, P., Grade, N., Encarnação, P., Araújo, M., Mendes, L., Pérez-Tris, J., Ramos, J. 2012. Characterization of haemosporidian infections in warblers and sparrows at south-western European reed beds. *Journal of Ornithology*:1-8. doi:10.1007/s10336-011-0767-1 Published on line.



## CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

**Capítulo 1:** Em estudos de comunidades, as interações entre parasitos e seus hospedeiros podem ser definidas por uma rede de parâmetros, muitas vezes antagônicos. Determinar o padrão geral ecológico dessas interações pode ajudar a compreender e prever a propagação de parasitos e doenças em geral (Graham *et al.*, 2009).

Todas estas variáveis avaliadas no primeiro capítulo desta tese (peso, estrato de forrageamento, nível de agregação social, tipo de ninho, dieta, hábitat) estão associados com a exposição dos hospedeiros aos vetores e, portanto, puderam explicar, em certa medida, a variação na prevalência de parasitos no sangue em comunidades de aves do Cerrado de Minas Gerais e Tocantins.

Podemos concluir que aspectos da história natural e fatores ecológicos do hospedeiro podem ser responsáveis por sua exposição diferencial aos vetores e que esses parâmetros podem, portanto, serem capazes de indicar variação interespecífica na prevalência de parasitos do sangue nas comunidades de aves.

A influência da riqueza e composição da comunidade de espécies de aves na prevalência de infecção de hemoparasitos pode ser um ponto de partida na compreensão da complexa relação entre vetor-hospedeiro-parasito em aves silvestres.

**Capítulo 2:** Utilizando as espécies de *Turdus spp.* e *Passer domesticus* como modelo de estudo, podemos constatar que a prevalência de malária é maior em ambientes temperados que tropicais e que tais fatores foram responsáveis por alterações nos parâmetros hematológicos destas aves.

Este estudo demonstrou também que a malária aviária pode comprometer o estado de saúde das aves e que em ambiente temperado esse efeito é maior.

Assim, como conclusão final, sugere-se que há uma necessidade de implementação deste tipo de diagnóstico, como medida preventiva e de conservação de aves em outros ecossistemas tropicais e temperados.

## REFERÊNCIAS

- Atkinson, C. T., van Riper III, C. 1991. *Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Leukocytozoon, and Haemoproteus*. In: Loye, J. E. & Zuk, M. (eds.), *Blood-parasite interactions: Ecology, evolution, and behaviour*. Oxford University Press, 19-47p.
- Atkinson, C. T. 1988. Epizootiology of *Haemoproteus melagrisdis* (Protozoa, Haemosporina) in Florida: potential vectors and prevalence in naturally infected *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Medicine Entomology* 25: 39-44.
- Atkinson, C. T., Dusek, R. J., Woods, K.L. 2000. Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected Hawaii Amakihi. *J. Wildl. Dis.* 36: 197-204.
- Becker, P. H. 2003. *Biomonitoring whit birds*. In: Markert, B. A.; Breure, A. M. & Zechmerster, H. G. (eds.), *Bioindicators and Biomonitoring*. Elsevier Science Ltda, 677-737p.
- Bennett, G. F., Borrero, H. J. I. 1976. Blood parasite of some birds from Colombia. *J. Wildl. Dis.* 12: 454-458.
- Bennett, G. F., Aguirre, A. A., Cook, R. S. 1991. Blood parasites of some birds from northeastern Mexico. *Journal of Parasitology* 77: 38-41.
- Bennett, G. F., Whiteway, M. A., Woodworth-Lynas, C. B. 1982. Host-Parasite Catalogue of the avian haematozoa. *Memorial University of Newfoundland Occasional Papers in Biology* 5: 243p.
- Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D. 2000. Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 267: 1583-1589.

- Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M. 2006. Evolutionary response to rapid climate change. *Science* 312: 1477-1478
- Campbell, T. W. 1994. *Hematology*. In: Avian Medicine: Principles and Application (eds. B.W. Ritchie, G.J. Harrison & L.R. Harrison ) Wingers Publishy, 612p.
- Campbell, T. W. 1995. *Avian Hematology and Cytology*. Second Edition, Iowa State University Press, 369p.
- Carey, C., Morton. M. L. 1976. Aspects of circulatory physiology of montane and lowland birds. *Comp. Biochem. Physiol.* 54: 61-74.
- Chasar, A., Loiseau, C., Valkiunas, G., Iezhova, T., Smith, T.B., Sehgal, R.N.M. 2009 Prevalence and diversity patterns of avian blood parasites in degraded African rainforest habitats. *Molecular Ecology* 18: 4121–4133.
- Clinchy, M., Zanette, L., Boonstra, R., Wingfield, J. C., Smith, J. N. M. 2004. Balancing food and predator pressure induces chronic stress in songbirds. *Proc. R. Soc. Lond.* 271: 2473-2479.
- Clutton-Brock, T.H., Sheldon, B.C. 2010. Individuals and populations: the role of long-term, individual-based studies in ecology and evolutionary biology. *Trends in Ecology and Evolution* 25: 562-573.
- Coles, E. H. 1984. *Patologia clínica veterinária*. 3. ed. São Paulo, 566 p.
- Cosgrove, C. L., Wood, M. J., Day, K. P., Sheldon, B. C. 2008. Seasonal variation in Plasmodium prevalence in a population of blue tits *Cyanistes caeruleus*. *Journal of Animal Ecology* 77: 540-54.
- Cumming, G. S., Vuuren, D. P. V. 2006. Will climate change affect ectoparasite species range? *Global Ecology and Biogeography* 15: 486-497.
- Dawson, R. D., Bortolotti, G. R. 1997. Total plasma protein level as an indicator of conditions in wild American Kestrels (*Falco sparverius*). *Can. J. Zool.* 75: 680-686.

- Devictor, V., Julliard, R., Couvet, D., Jiguet, F. 2008. Birds are tracking climate warming, but not fast enough. *Proceedings of the Royal Society* 5: 1-5.
- Diamond, A. W. 1974. Annual cycles in Jamaican forest birds. *J. Zool.* 173:277–301.
- Eeva, T., Lehikoinen, E., Sunell, C. 1997. The quality of pied flycatcher (*Ficedula hypoleuca*) and great tit (*Parus major*) females in an air pollution gradient. *Ann. Zool. Fennici* 34: 61-71.
- Fair, J. M., Ricklefs, R. E. 2002. Physiological, growth, and immune responses of Japanese quail chicks to the multiple stressors of immunological challenge and lead shot. *Environmental Contamination and Toxicology* 42:77-87.
- Fairbrother, A., Craig, M. A., Walker, K., O'Loughlin, D. 1990. Changes in mallard (*Anas platyrhynchos*) serum chemistry due to age, sex, and reproductive condition. *J. Wildlife Disease* 26: 67-76.
- Feldman, R. A., Freed, L. A., Cann, R. L. 1995. A PCR test for avian malaria in Hawaiian birds. *Mol. Ecol.* 4: 663-673.
- Fränze, O. 2003. *Bioindicators and environmental stress assessment*. In: Bioindicators and Biomonitoring (Markert, B. A., Breure, A. M., Zeehmeister, H. G. eds.), Elsevier Science Ltd. 42-83p.
- Frisch, J. D., Frisch, C. D. 2005. *Aves brasileiras e plantas que as atraem*. 3<sup>a</sup> ed. São Paulo: Editora Dalgas Ecoltec, 480p.
- Furness, R. W., Greenwood, J. J. D. 1993. *Birds as monitors of environmental change*. Chapman and Hall, London, UK.
- Garcia-Navarro, K., Pachaly, J. R. 1994. *Manual de Hematologia Veterinária*. Ed. Varela, São Paulo, 169p.
- Garvin, M. C., Remsen, J. V.; Bishop, M. A. 1993. Hematozoa from passeriform birds in Louisiana. *J. Parasitol.*, 79: 318-321.

- Graham, S.P., Hassan, H.K., Burkett-Cadena, N.D., Guyer, C., Unnasch, T.R. 2009. Nestedness of Ectoparasite-Vertebrate Host Networks. *PLoS One* 4 (11):e7873. doi:10.1371/journal.pone.0007873.
- Gratz, N. G. 1991. Emergency control of *Aedes aegypti* as a disease vector in urban areas. *J Am Mosq Control Assoc.* 7: 353-65.
- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. *Can. J. Zool.* 53: 1762-1787.
- Hamilton, W. D., Zuk, M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: A role for parasites? *Science* 218: 384-387.
- Henning, L., Felger, I., Beck, H. P. 1999. Rapid DNA extraction for molecular epidemiological studies of malaria. *Acta Tropica* 72: 149-155.
- Holmes, J.C., Price, P. 1986. *Communities of parasites*. In: Community ecology: patterns and processes (Anderson, D.J., Kikkawa, J. eds.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, 187-213p.
- Holmes, J.C. 1996. Parasitism and threats to biodiversity in shrinking ecosystems. *Biodivers. Conserv.* 5: 975-983.
- Hopinks, B. A., Skeeles, J. K., Houghten, G. E. 1990. A survey of infectious diseases in wild turkeys (*Meleagris gallopavo silvestris*) from Arkansas. *J. Wildl. Dis.* 26: 468-472.
- Hörak, P., Ots, I., Murumagi, A. 1998. Haematological health state indices of reproducing Great Tits: a response to brood size manipulation. *Ecology* 79: 750-756.
- Hudson, P., Greenman, J. 1998. Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. *Trends in Ecology and Evolution* 13:387-390.
- IEF, 2006. Disponível em: <http://www.ief.mg.gov.br/parques/riopreto/riopreto.asp>. Acesso em 30 junho 2012.

- Julian, R. J., Galt, D. E. 1980. *Mortality*. In Muscovy Ducks (*Cairina moschata*) caused by Haemoproteus infection. *J. Wildl. Dis.* 16: 39-44.
- Kirkpatrick, M., Ryan, M.J. 1991. The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature* 350: 33-38.
- Kratter, A. W., Steadman, D. W., Smith, C. E., Filardi, C. E., Webb, H. P. 2001. The avifauna of a lowland forest site on Isabel, Solomon Islands. *Auk* 118: 472–483.
- Lafferty, K.D., Holt, R.D. 2003. How should environmental stress affect the population dynamics of disease? *Ecological Letters* 6: 654-664.
- Lafferty, K.D. 1997. Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on environment? *Parasitology Today* 13: 251-255.
- Lobato, D.N.C., Braga, É.M., Belo, N.O., Antonini, Y. 2011. Hematological and parasitological health conditions of the Pale-breasted Thrush (*Turdus leucomelas*) (Passeriformes: Turdidae) in southeastern Brazil. *Zoologia* 28(6): 771-776.
- López-Vélez, R., Moreno, R. M. 2005. Cambio climático en España y riesgo de enfermedades infecciosas y parasitarias transmitidas por artrópodos y roedores. *Rev. Esp. Salud Pública* 79: 177-190.
- Marcondes, C.B. 2001. *Entomologia médica e veterinária*. Ed. Atheneu, São Paulo, 432p.
- Marini, M.Â. & Durães, R. 2001. Annual cycles of molt and reproduction of passerines from central-south Brazil. *Condor* 103(4): 767-775.
- Martin, L. B., Pless, M. I., Wikelski, M. C. 2007. Greater seasonal variation in blood and ectoparasite infections in a temperate than a tropical population of House Sparrows *Passer domesticus* in North America. *Ibis* 149: 419–423.
- Marzal, A., Lope, F., Navarro, C. 2004. Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. *Oecologia* 142: 541–545.

- Matos, M. S., Matos, P. F. 1988. *Laboratório clínico médico-veterinário*. Ed. Atheneu, São Paulo, 180p.
- Minchella, D.J., Scott, M.E. 1991. Parasitism: A cryptic determinant of animal community structure. *Trends in Ecology and Evolution*6(8): 250-254.
- Moreno, J., Leon, A., Fargalho, J.A., Moreno, E. 1998. Breeding time, health and immune response in the chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica*. *Oecologia* 115: 312-319.
- Moreno, J., Merino, S., Saz, J. J., Arriero, E. 2002. An indicator of maternal stress immunity in Magellanic penguins *Spheniscus magellanicus*. *Ann. Zool. Fenn.* 38: 111-116.
- Murphy M. T. 1996. Survivorship, breeding dispersal and mate fidelity in Eastern Kingbirds. *Condor* 98: 82-92.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C., Fonseca, G.A.B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.
- Ots, I., Horak, P. 1996. Great tits *Parus Major* trade for reproduction. *Proc. R. Soc. Lond.* 263: 1443-1447.
- Peakall, D. B., Boyd, H. 1987. *Birds as bio-indicators of environmental conditions*. In: The Value of Birds (Diamond, A.W., Filion, F.L. eds.), Cambridge, 113-119p.
- Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldestrom, J., Bensch, S. 2005. What are malaria parasites? *Trends Parasitol* 21: 209-211.
- Philips, J.R. 1990. What's bugging your birds? Avian parasitic arthropods. *Wildlife Rehabilitation*8:155-203.
- Post, J., Rebel, M. J., ter Huurne, A. A. H. M. 2003. Automated blood cell count: a sensitive and reliable method to study corticosterone-related stress in broilers. *Poultry Science* 82: 591-595.
- Primack, R. B., Rodrigues, E. 2001. *Biologia da Conservação*, Londrina, 328p.



- Pruett-Jones, S. G., Pruet-Jones, M. A., Jones, H. I. 1990. Parasites and sexual selection in birds of paradise. *American Zoologist* 30: 287-298.
- Prys-Jones R. P. 1982. Molt and weight of some land- birds on Dominica, West Indies. *Journal of Field Ornithology* 53: 352–362.
- Quillfeldt, P., Maselo, J. F., Mostl, E. 2004. Blood chemistry in relation to nutrition and ectoparasite load in Wilson's storm-petrels *Oceanites oceanicus*. *Polar Biology* 27: 168-176.
- Ribeiro, J. F., Walter, B. M. T. 1998. *Fitofisionomias do bioma Cerrado*. In: *Cerrado: Ambiente e Flora* (Sano, S. M., Almeida, S. P. eds.), 556p. Embrapa, Planaltina, 89-166p.
- Richard, F. A., Sehgal, R. N. M., Jones, H. I. 2002. A comparative analysis of PCR-based detection methods for avian malaria. *J. Parasitol.* 88: 819-822.
- Ricklefs, R. E. 1992. Embryonic development period and prevalence of avian blood parasites. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 89: 4722-4725.
- Ricklefs, R. E. *Economia da natureza*. 2003. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ISBN: 8527707985
- Ricklefs, R. E., Sheldon, K. S. 2007. Malaria prevalence and white-blood-cell response to infection in a tropical and in a temperate thrush. *The Auk* 124(4): 1254-1266.
- Rigby, M.C., Moret, Y. 2000. *Life-history trade-offs with immune defenses*. In: *Evolutionary biology of host-parasite relationships: theory meets reality*. Elsevier Science, B.V. Amsterdam, pp. 129-142.
- Schryver, A. M., Brakkee, K.W., Goedkoop, M.J., Huijbregts, M. A. J. 2009. Characterization factors for global warming in life cycle assessment based on damages to humans and ecosystems. *Environmental Science and Technology* 43: 1689-1695.

- Shutler, D., Mullie, A., Clark, R.G. 2004. Tree swallow reproductive investment, stress, and parasites. *Journal of Zoology* 82: 442-448.
- Sick, H. 2001. *Ornitologia brasileira*. 4<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira, 912p.
- Sigrist, T. 2006. *Aves do Brasil: uma visão artística*. 2<sup>a</sup> ed. São Paulo: Editora Avis Brasilis, 672p.
- Silva, F. R., Carmo, V. A. 2002. *Caracterização das paisagens como subsídio às ações de planejamento do parque estadual do rio preto – município de São Gonçalo do Rio Preto - Minas Gerais*. In: X Simpósio de Geografia Física Aplicada, Curitiba. Universidade Federal de Minas Gerais - Instituto de Geociências.
- Snow, D.W., B.K. Snow. 1964. Breeding seasons and annual cycles of Trinidad land-birds. *Acta Zoologica* 49: 1-39.
- Thomas, C.D., Cameron, A., Green, R. E., Bakkenes, M., Beaumont, L. J., Collingham, Y. C., Erasmus, B. F. N., Siqueira, M. F., Grainger, A., Hannah, L., Hughes, L., Huntley, B., Jaarsveld, A. S. V., Midgley, G. F., Miles, L., Huerta, M. A. O., Peterson, A. T., Phillips, O. L., Williams, S. E. 2004. Extinction risk from climate change. *Nature* 427: 145– 148.
- Valkiunas, G. 2005. *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. Ed. CRC Press, Washington, D. C., 932p.
- Valkiunas, G., Iezhova, T. A., Brooks, D. R. 2004. Additional observations on blood parasites of birds in Costa Rica. *J. Wildl. Dis.* 40 (3): 555–561.
- Van Riper III, C., Van Riper, S. G., Gaff, M. L., Laird, M. 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaii land birds. *Ecological Monographs* 56: 327-344.
- Voelker, G., Rohwer, S. 1998. Contrasts in the scheduling of molt and migration in eastern and western Warbling-Vireos. *Auk* 115: 142–155.

- Waldenstrom, J., Bensch, S., Kiboi, S. 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Mol. Ecol.* 11: 1545-1554.
- Weddle, C. B. 2000. Effects of ectoparasites on nestling body mass in the house sparrow. *The Condor* 102: 684-687.
- Weiss R. A., McMichael A. J. 2004. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. *Nat Med* 10: 70-76.
- Williams, T. D. 2005. Immune defence and host life history. *Am. Nat.* 160: 9-22.
- Wilson, K., Bjornstad, O. N., Dobson, A. P. 2001. *Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes*. In: The Ecology of Wildlife Diseases (Hudson, P.J., Rizzoli, A., Grenfell, B.T., Heesterbeek, H., Dobson, A.P. eds). Oxford University Press, Oxford, U.K.,
- Wood, M. J., Cosgrove, C. L., Wilkin, T. A. 2007. Within-population variation in prevalence and lineage distribution of avian malaria in blue tits, *Cyanistes caeruleus*. *Molecular Ecology* 16: 3263-3273.
- Zar, J. H. 1998. *Biostatistical analysis*. 4<sup>a</sup>ed. New Jersey: Prentice Hall, 929p.
- Zinkl, J. G. 1986. *Avian hematology*. In: Veterinary Hematology (Williams & Wilkins, eds.). University of California, 256-273p.