



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

VERÔNICA LIMA DA SILVA

AUSÊNCIA DE DETECÇÃO DE HEMOSPORÍDEOS EM *Antilophia bokermanni*
(PASSERIFORMES:PIPRIDAE), EM ÁREA DE MATA ÚMIDA NA CHAPADA DO
ARARIPE, CEARÁ

SERRA TALHADA,
2023

VERÔNICA LIMA DA SILVA

**AUSÊNCIA DE DETECÇÃO DE HEMOSPORÍDEOS EM *Antilophia bokermanni*
(PASSERIFORMES: PIPRIDAE), EM ÁREA DE MATA ÚMIDA NA CHAPADA DO
ARARIPE, CEARÁ**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Universidade Federal Rural de Pernambuco como exigência para obtenção do título de Mestre.

Linha de pesquisa: Ecologia, Conservação e uso da Biodiversidade de Ambientes Terrestres

Prof. Dr. Alexandre Mendes Fernandes
Orientador

SERRA TALHADA,

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S586a Silva, Verônica Lima da
Ausência de detecção de Hemosporídeos em *Antilophia bokermanni* (Passeriformes: Pipridae), em Área de Mata Úmida na Chapada do Araripe, Ceará / Verônica Lima da Silva. - 2023.
45 f.

Orientador: Alexandre Mendes Fernandes.
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação, Serra Talhada, 2023.

1. Hemosporídeos. 2. *Antilophia bokermanni*. 3. Hemoparasitos. 4. Mata úmida. I. Fernandes, Alexandre Mendes, orient. II. Título

CDD 338.95

VERÔNICA LIMA DA SILVA

**AUSÊNCIA DE DETECÇÃO DE HEMOSPORÍDEOS EM *Antilophia bokermanni*
(PASSERIFORMES: PIPRIDAE), EM ÁREA DE MATA ÚMIDA NA CHAPADA DO
ARARIPE, CEARÁ**

Dissertação julgada adequada para obtenção do
título de mestre em Biodiversidade e
Conservação. Defendida e aprovada em
__/__/____ pela seguinte Banca Examinadora.

Prof. Dr. ALEXANDRE MENDES FERNANDES - Orientador
[Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada
- UAST]

Dr^a. CAMILE LUGARINI – Membro Externo
[Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio]

Prof. Dr. FLÁVIO KULAIF UBAID – Membro Externo
[Departamento de Química e Biologia - Caxias/ Universidade Estadual do Maranhão -
UEMA]

Prof. Dr. AIRTON TORRES CARVALHO – Membro Externo (suplente)
[Departamento de Biociências/ Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA]

Prof^(a). Dr^(a). RENATA AKEMI SHINOZAKI MENDES – Membro Interno (suplente)
[Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE/ Unidade Acadêmica de Serra Talhada
- UAST]

Ao soldadinho-do-araripe e a lavadeira-da-mata.

Agradecimentos

Agradeço a minha mãe e ao meu avô, que sempre estiveram por perto durante toda essa jornada.

À minha avó Marli, *in memória*, mesmo em outro plano sei que olha por mim.

Ao meu amado Hígor, obrigada por segurar na minha mão e por me acalmar nos momentos difíceis.

Agradeço muitíssimo ao João Heriberto, sempre comigo em todos os campos, obrigada por compartilhar aprendizado, risadas e por me escutar sempre com paciência.

Agradeço imensamente ao Weber Girão por me incentivar a tentar o mestrado, por acreditar que eu era capaz e confiar no meu trabalho, pela oportunidade de colaborar com o trabalho de conservação do soldadinho-do-araripe através do projeto da Neotropical Bird Club Conservation e do NinhÓasis, por disponibilizar os equipamentos de campo, por sempre saber o que dizer nos piores momentos e por ser uma inspiração na Biologia da Conservação. Agradeço também a Karina Linhares, por todo apoio e acolhimento e pelos abraços demorados que sempre me confortavam, vocês foram muito importantes durante essa jornada, muito obrigada por tudo!

Aos meus companheiros de mestrado, Inayara, Alyson, Nathane e Juliano, obrigada pelas boas risadas e por se fazerem presentes (no grupo de WhatsApp kkk).

Ao Rafael (Rafa), pela ajuda com o mapa e por me receber na sua casa quando precisei ir à Serra Talhada.

Agradeço a Carol, Geovana e Pedro, por dedicarem do seu tempo para responder minhas dúvidas e pelas valiosas dicas sobre a confecção de esfregaços e coloração de lâminas.

Ao meu orientador Alexandre Mendes Fernandes, pelos ensinamentos durante todo o mestrado.

À banca avaliadora, Dr^a. Camile Lugarini, Prof. Dr. Flávio Kulaif Ubaid e aos suplentes Prof. Dr. Airton Torres Carvalho e a Prof. Dr^a. Renata Akemi Shinozaki Mendes pela disponibilidade e contribuições ao meu trabalho.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade – ICMBio/SISBIO, por conceder as licenças necessárias para realização desse trabalho e ao CEMAVE pelo fornecimento das anilhas metálicas.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Conservação (PGBC), à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE)/Unidade Acadêmica de Serra Talhada

(UAST) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível superior (CAPES) pela bolsa concedida durante os seis meses finais de mestrado.

E a todas as pessoas que de alguma forma contribuirão para a realização deste trabalho.

.

Resumo

A avifauna brasileira é uma das mais expressivas do mundo, possuindo atualmente 1.971 espécies reconhecidas. No entanto, as aves estão listadas como o grupo de vertebrados mais ameaçados de extinção pelo desmatamento, comércio ilegal e caça predatória. Com tantas ameaças, um declínio nas populações torna-se um assunto bastante preocupante. Assim, estudos sobre biologia, ecologia, comportamento, manejo e doenças, inclusive as transmitidas por parasitos, se fazem cada vez mais necessários. Examinar a presença de hemosporídeos em aves ameaçadas de extinção é de grande importância, pois os hemosporídeos são tidos como uma grande ameaça para a conservação dessas espécies, já que podem levar seus hospedeiros a um declínio populacional acentuado chegando até a extinção. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença e prevalência de protozoários hemosporídeos através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e de esfregaços sanguíneos, com o intuito de fornecer informações para auxiliar na conservação do soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*), passeriforme criticamente ameaçado de extinção com distribuição restrita à enclaves de floresta úmida da Chapada do Araripe no Ceará, Nordeste do Brasil. As aves foram capturadas com redes de neblina num período de 12 meses entre os anos de 2021 e 2022, e marcadas com anilha metálica. O sangue foi coletado da veia braquial dos indivíduos utilizando agulha hipodérmica e tubos capilares. Foram coletadas amostras de 67 indivíduos de *A. bokermanni*, no entanto, não foram encontrados parasitos em qualquer forma evolutiva em nenhuma das lâminas de esfregaço sanguíneo e todas as amostras analisadas via PCR foram negativas quanto a presença dos protozoários *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Sendo assim, esse trabalho sugere que a espécie *A. bokermanni* pode estar livre de hemosporídeos, devido ao tamanho reduzido da sua população, que pode estar inviabilizando a permanência de parasitos específicos na espécie.

Palavras-chave: *Antilophia bokermanni*, Parasitos do sangue, Hemoparasitos, Hemosporídeos, Mata úmida

Abstract

The Brazilian avifauna is one of the most expressive in the world, currently having 1,971 recognized species. However, birds are listed as the most endangered group of vertebrates due to deforestation, illegal trade and predatory hunting. With so many threats, a decline in populations becomes a matter of considerable concern. Thus, studies on biology, ecology, behavior, management and diseases, including those transmitted by parasites, are increasingly necessary. Examining the presence of hemosporidia in endangered birds is of great importance, as hemosporidia are considered a major threat to the conservation of these species, as they can lead their hosts to a sharp population decline, reaching extinction. In this sense, the present study aims to investigate the presence and prevalence of hemosporidian protozoa through the polymerase chain reaction (PCR) technique and blood smears, with the aim of providing information to assist in the conservation of the Araripe manakin. (*Antilophia bokermanni*), a critically endangered passerine bird with a distribution restricted to the rainforest enclaves of Araripe Plateau in Ceará, Northeastern Brazil. The birds were captured with mist nets over a period of 12 months between the years 2021 and 2022, and marked with a metal ring. Blood was collected from the individuals' brachial vein using a hypodermic needle and capillary tubes. Samples were collected from 67 individuals of *A. bokermanni*, however, no parasites were found in any evolutionary form in any of the blood smear slides and all samples analyzed via PCR were negative for the presence of the protozoa *Plasmodium*, *Haemoproteus* and *Leucocytozoon*. Therefore, this work suggests that the species *A. bokermanni* may be free of hemosporidia, due to the reduced size of its population, which may be preventing the permanence of specific parasites in the species.

Keywords: *Antilophia bokermanni*, Blood parasites, Hemoparasites, Haemosporidian, Humid Forest

Lista de figuras

Figura 1- A- Macho adulto de <i>A.bokermanni</i> e B- Fêmea adulta ou macho jovem de <i>A.bokermanni</i>	15
Figura 2- A- Localização do estado do Ceará no Nordeste do Brasil, B- Localização das áreas amostradas inseridas dentro dos limites da APA Chapada do Araripe no Ceará, C- Ampliação da localização das quatro áreas amostradas na APA Chapada do Araripe, em amarelo está indicada a área de ocorrência de <i>A. bokermanni</i> de acordo com a IUCN.....	27

Sumário

1- Introdução.....	12
2- Referências bibliográficas.....	16
3- Artigo científico.....	25
4. Conclusões.....	46

1- Introdução

A avifauna brasileira é uma das mais expressivas do mundo, possuindo atualmente 1.971 espécies reconhecidas (PACHECO et al., 2021). No entanto, a sobrevivência dessas espécies está fortemente ameaçada pelo desmatamento, comércio ilegal e caça predatória (GARCIA e MARINI, 2006). Dessa forma, os estudos sobre biologia, ecologia, comportamento, manejo, patógenos e parasitos se fazem cada vez mais necessários (BARINO, 2021).

Diferentes grupos de parasitos como protozoários e helmintos podem ser encontrados se desenvolvendo no sangue das aves. Os mais registrados em aves silvestres são os filarídeos, que habitam as cavidades peritoneais e tecidos do corpo, liberando microfíliarias na corrente sanguínea de seus hospedeiros e os protozoários heteróxenos obrigatórios (Haemosporida), representados principalmente pelos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Esses protozoários possuem o ciclo sexuado em vetores hematófagos (hospedeiro definitivo), e o ciclo assexuado no sangue e tecidos das aves (hospedeiro intermediário) (ATKINSON e VAN RIPER, 1991; VALKIŪNAS, 2005). Os três gêneros são amplamente distribuídos geograficamente (CLARK et al., 2014) e parasitam vários grupos de vertebrados (VALKIŪNAS, 2005). Sendo transmitidos por insetos hematófagos pertencentes a ordem Diptera, conhecidos popularmente como pernilongos (Culicidae), borrachudos (Simuliidae) e maruins (Ceratopogonidae) (VALKIŪNAS, 2005; MARTINSEN et al., 2008; SANTIAGO-ALARCON et al., 2012).

Aves acometidas por infecções parasitárias na maioria das vezes se encontram anoréxicas, anêmicas e com plumagem arrepiada (ATKINSON, 2008), devido a uma baixa imunidade indivíduos que são expostos pela primeira vez a infecção demonstram ser mais afetados pela doença (BENSCH et al., 2000). Quando infectadas as aves podem permanecer com o parasito por muitos anos, ou até por toda a vida. Servindo como um reservatório de infecções para os insetos vetores, e com capacidade de levar espécies mais vulneráveis a extinções locais. Entretanto, o parasito ainda pode ser excluído do sangue periférico ou entrar em estágio latente e se abrigar nos tecidos do seu hospedeiro (VALKIŪNAS, 2005; JARVI et al., 2003).

O período de reprodução do hospedeiro é considerado um estímulo para desencadear as infecções por hemosporídeos, facilitando a transmissão da infecção para os filhotes recém nascidos (VALKIŪNAS, 2005). Para as aves, a reprodução é um

período que requer muita energia, em virtude da postura de ovos, cuidado parental e defesa de territórios (SAINO et al., 2002; GREENMAN et al., 2005). Essas atividades reprodutivas podem elevar o nível de estresse dos indivíduos, e consequentemente enfraquecer a função imunológica (NORRIS e EVANS, 200; FRIGERIO et al., 2017). Logo, hospedeiros imunocomprometidos estão mais vulneráveis as infecções parasitárias (NORTE et al., 2009). Parasitos também podem provocar diminuição do sucesso reprodutivo das aves, afetando diretamente a sobrevivência de seus hospedeiros (KNOWLES et al., 2010; VANSTREELS et al., 2014, DINHOPL et al., 2015), além de deixá-los mais vulneráveis a predadores (MØLLER e NIELSEN, 2007) e menos aptos para definir e defender territórios (MAKSIMOWICH e MATHIS, 2000).

A ampla distribuição de parasitos do sangue aliada a variação que existe entre parasitos e hospedeiros específicos e o elevado número de espécies hospedeiras que podem ser infectadas, os classificam como ótimos modelos para testar teorias evolutivas sobre as relações parasito-hospedeiro (RICKLEFS et al., 2004; FALLON et al., 2005). Um fator notável das relações parasito-hospedeiro é a grande variação na prevalência de hemoparasitos entre diferentes espécies hospedeiras (RICKLEFS et al., 2005; ISHTIAQ et al., 2007; LATTA e RICKLEFS, 2010). Os hemosporídeos que acometem aves exibem grande variação intraespecífica e interespecífica na sua prevalência, no entanto, os fatores que podem explicar essa variação, ainda não são bem conhecidos pelos pesquisadores (ELLIS et al., 2020; FECCHIO et al., 2020). Sendo assim, muitas hipóteses avaliando fatores evolutivos, ecológicos e sobre a história de vida dos hospedeiros foram elaboradas para explicar a variação na prevalência de hemosporídeos (FECCHIO, 2022). Entre essas hipóteses está a variação na prevalência de hemoparasitos pela exposição a vetores. Pressupõe-se que a massa corporal de uma ave é capaz de deixá-la mais suscetível a vetores, pois espécies maiores e mais pesadas apresentam maior superfície corporal, facilitando o ataque e o crescimento de insetos hematófagos (SCHEUERLEIN e RICKLEFS, 2004). Além de emitirem maior quantidade de dióxido de carbono (CO₂), composto químico que atrai os insetos vetores para localizar seus hospedeiros com mais facilidade (LEHANE, 2005).

Características individuais das espécies como idade e sexo também podem influenciar na ocorrência e prevalência de hemoparasitos em aves (WILSON et al., 2001; KUBACKA, 2019). A prevalência pode ser maior em indivíduos mais velhos, por terem maior período de exposição a vetores, se comparado a aves mais jovens, e também pelo acúmulo de novas infecções (WILSON et al., 2001; VALKIŪNAS, 2005).

Sendo assim, os indivíduos menos resistentes a infecções vão a óbito, enquanto os mais fortes têm maior probabilidade de manter a infecção em baixo nível por longos períodos (WILSON et al., 2001; VALKIŪNAS, 2005; WOOD et al., 2007). As influências ligadas ao sexo dos indivíduos podem estar relacionadas a fatores ecológicos ou fisiológicos. O fator ecológico refere-se à exposição a diferentes vetores, em virtude de características particulares de cada sexo, como por exemplo o período de incubação (FECCHIO et al., 2014). Já os fatores fisiológicos abordam como os hormônios sexuais podem agir na função imunológica, a exemplo da testosterona, que pode alterar indiretamente a função imune, levando machos adultos a ficarem mais vulneráveis a infecções (GREENMAN et al. 2005; FOO et al., 2016; ROVED et al., 2017).

Temperatura e precipitação são os fatores abióticos mais relevantes no processo de transmissão de hemosporídeos, porém, em ambientes tropicais a oferta de chuvas se torna o fator mais importante (VALKIŪNAS, 2005, LALUBIN et al., 2013). Variações sazonais na temperatura, oferta de chuvas e de recursos no ambiente atuam na dinâmica de doenças, influenciando os parasitos, vetores e hospedeiros (ALTIZER et al., 2006). Em períodos de chuva, são gerados cenários atrativos como, temperatura, umidade e locais com acúmulo de água para a proliferação de vetores de hemosporídeos (ALTO e JULIANO, 2001).

Durante muito tempo a detecção de infecções por hemoparasitos foi realizada apenas através da visualização de esfregaços sanguíneos por microscopia óptica, possibilitando a análise morfológica dos estágios sanguíneos (trofozoítas, gametócitos, etc.) do parasito (VALKIŪNAS, 2005). Atualmente, essa metodologia tem sido utilizada em apoio as técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR- *Polymerase Chain Reaction*) que permite a detecção de diferentes linhagens de parasitos de forma específica, sendo possível registrar um maior número de infecções causadas por parasitos do sangue (HELLGREN et al., 2004). Desse modo, a técnica de PCR é considerada muito eficiente, pois proporciona análises rápidas e bastante seguras, ainda que as amostras possuam baixa parasitemia ou pouco volume de sangue (RICHARD et al., 2002; CLARK et al., 2009).

Examinar a presença de hemosporídeos em aves ameaçadas de extinção é de grande importância, pois os hemosporídeos são tidos como uma ameaça para a conservação dessas espécies, já que podem levar seus hospedeiros a um declínio populacional acentuado chegando até a extinção (ATKINSON et al., 2008; ATKINSON e LA POINTE, 2009). De acordo com Carmona-Isunza et al. (2020) estudos avaliando a

ocorrência de hemoparasitos são mais comuns em aves não ameaçadas do que para aves incluídas em estados de ameaça. Além do mais, a maioria dos estudos que investigam hemosporídeos em aves silvestres foram realizados em nível de comunidade (FECCHIO et al., 2007, 2011; FERREIRA JUNIOR et al., 2017; RIBEIRO et al., 2020; RODRIGUEZ, 2021; FECCHIO et al., 2022). São poucos os que avaliam as influências de hemoparasitos em populações de espécies endêmicas e ameaçadas (NETO et al., 2015; FERREIRA-JUNIOR et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020).

No presente estudo foi analisada uma população de soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*), passeriforme piprídeo, endêmico dos enclaves de floresta úmida da Chapada do Araripe no estado do Ceará. Essa ave possui registros em apenas três municípios (Crato, Barbalha e Missão Velha) e está classificada como criticamente em perigo de extinção, com uma população estimada de apenas 800 indivíduos (IUCN, 2022; BIRDLIFE INTERNATIONAL, 2022). É uma espécie frugívora, mas que complementa sua alimentação com artrópodes (GAIOTTI et al., 2017). Apresenta forte dimorfismo sexual, o macho possui plumagem branca no corpo, cauda e asas negras e um manto vermelho (carmim). Que se estende da cabeça até metade do dorso (fig. 1-a). A fêmea e os jovens de ambos os sexos apresentam plumagem verde-oliva discreta por todo o corpo (fig. 1-b). Porém, os machos jovens vão mudando com o passar do tempo até atingir a plumagem de adulto (SILVA e LINHARES, 2011).

Diante do exposto, esse estudo considera a espécie *Antilophia bokermanni* um bom modelo para investigação de hemosporídeos, visto que ela habita uma floresta úmida com água disponível de nascentes e riachos durante todo o ano, permitindo condições favoráveis para a presença e desenvolvimento de potenciais vetores. Sendo assim, o presente estudo teve como objetivo investigar a presença e prevalência de protozoários hemosporídeos em uma população de soldadinhos-do-araripe (*Antilophia bokermanni*).



Figura 1. A- Macho adulto de *A.bokermanni* e B- Fêmea adulta ou macho jovem de *A.bokermanni*

2- Referências bibliográficas

ALTIZER, S.; DOBSON, A.; HOSSEINI, P.; HUDSON, P.; PASCUAL, M.; ROHANI, P. Seasonality and the dynamics of infectious diseases: Seasonality and infectious diseases. **Ecol. Lett.**, v.9, p.467–484, 2006.

ALTO, B.W.; JULIANO, S.A. Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for range expansion. **Journal of Medical Entomology**, v.38, p.646-656, 2001.

ATKINSON, C.T. *Haemoproteus*. In: ATKINSON, C.T.; THOMAS, N.J.; HUNTER, D.B. (eds). **Parasitic Diseases of Wild Birds**. Nova Jersey: Wiley-Blackwell, 2008. p.13-34.

ATKINSON, C.T.; LA POINTE, D.A. Introduced avian diseases, climate change, and the future of Hawaiian honeycreepers. **Journal of Avian Medicine and Surgery**, v.23(1), p.53-63, 2009.

ATKINSON, C.T.; VAN RIPER III, C. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: Plasmodium, Leucocytozoon, and Haemoproteus. In: LOYE, J.E.; ZUK, M. (Eds.). **Blood parasite interactions: Ecology, evolution, and behaviour**. Reino Unido: Oxford University Press, 1991, p. 19- 47.

BARINO, G.T.M. Hemosporídeos parasitos (Haemosporida: Apicomplexa) em aves de rapina neotropicais: diversidade, abordagem integrativa e conservação. 2021. 212p. **Tese (Doutorado)** – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora.

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

BIRDLIFE INTERNATIONAL. **Species factsheet: *Antilophia bokermanni***. Disponível em: <<http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/araripe-manakin-antilophia-bokermanni>>. Acesso em: 03 de abril de 2022.

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

CLARK, P.; BOARDMAN, W.; RAIDAL, S. **Atlas of clinical avian hematology**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2009. 200p.

DINHOPL, N.; NEDOROST, N.; MOSTEGL, M.M.; WEISSENBACHER-LANG, C.; WEISSENBÖCK, H. In situ hybridization and sequence analysis reveal an association of *Plasmodium* spp. with mortalities in wild passerine birds in Austria. **Parasitology Research**, v.114(4), p.1455-62, 2015.

- ELLIS, V.A.; FECCHIO, A.; RICKLEFS, R.E. Haemosporidian parasites of neotropical birds: causes and consequences of infection. **The Auk**, 137(4), p.1-16, 2020.
- FALLON, S.M.; BERMINGHAM, E.; RICKLEFS, R.E. Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. **American Naturalist**, v.165, p.466–480, 2005.
- FECCHIO, A.; CHAGAS, C.R.F.; BELL, J.A.; KIRCHGATTER, K. Evolutionary ecology, taxonomy, and systematics of avian malaria and related parasites. **Acta Tropica**, v.204, p.1-13, 2020.
- FECCHIO, A.; DIAS, R.I.; FERREIRA, T.V.; ALDO, R.O.; DISPOTO, J.H.; WECKSTEIN, J.D.; BELL, J.Á.; TKACH, V.V.; PINHO, J.B. Host foraging behavior and nest type influence prevalence of avian haemosporidian parasites in the Pantanal. **Parasitology Research**, v.121, p.1407–1417, 2022.
- FECCHIO, A.; DIAS, R.I.; FERREIRA, T.V.; REYES, A.O.; DISPOTO, J.H.; WECKSTEIN, J.D.; BELL, J.A.; TKACH, V.V.; PINHO, J.B. Host foraging behavior and nest type influence prevalence of avian haemosporidian parasites in the Pantanal. **Parasitology Research**, v.121, p.1407–1417, 2022.
- FECCHIO, A.; LIMA, M.R.; SILVEIRA, P.; BRAGA, É.M.; MARINI, M.Â. High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil. **Emu**, v. 111(2), p.132-138, 2011.
- FECCHIO, A.; LIMA, M.R.; SILVEIRA, P.; RIBAS, A.C.A.; CAPARROZ, R.; MARINI, M. Â. Age, but not sex and seasonality, influence Haemosporida prevalence in white-banded tanagers (*Neothraupis fasciata*) from central Brazil. **Canadian Journal of Zoology**, v.93(1), p.71-77, 2014.
- FECCHIO, A.; MARINI, M.Â.; BRAGA, É.M. Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil Central. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 2(3), p.127-135, 2007.
- FERREIRA JUNIOR, F.C.; RODRIGUES, R.A.; ELLIS, V.A.; LEITE, L.O.; BORGES, M. A.; BRAGA, E.M. Habitat modification and seasonality influence avian haemosporidian parasite distributions in southeastern Brazil. **Plos One**, v. 12(6), p.1-18, 2017.
- FERREIRA-JUNIOR, F. C.; DE ANGELI DUTRA, D.; MARTINS, N. R, VALKIŪNAS, G.; BRAGA, É. M (2018) *Haemoproteus paraortalidum* n. sp. in captive Black-fronted Piping-guans *Aburria jacutinga* (Galliformes, Cracidae): high prevalence in a population reintroduced into the wild. **Acta tropica**, v. 188, p. 93-100, 2018.
- FOO, Y.Z.; NAKAGAWA, S.; RHODES, G.; SIMMONS, L.W. The effects of sex hormones on immune function: a meta-analysis. **Biological Reviews**, v.92(1), p.551-571, 2016.

FRIGERIO, D.; LUDWIG, S.C.; HEMETSBERGER, J.; KOTRSCHAL, K.; WASCHER, C. A. Social and environmental factors modulate leucocyte profiles in free-living greylag geese (*Anser anser*). **PeerJ**, v.5, p.1-21, 2017.

GAIOTTI, M.G.; MASCARENHAS, W.; MACEDO, R.H. The critically endangered and endemic Araripe manakin (*Antilophia bokermanni*): dietary assessment for conservation purposes. **The Wilson Journal of Ornithology**, v.129(4), p.783-791, 2017.

GARCIA, F. I.; MARINI, M. Â. Estudo comparativo entre as listas global, nacional e estaduais de aves ameaçadas no Brasil. **Natureza & Conservação**. v. 4(2), p. 24-49, 2006.

GREENMAN, C.G., MARTIN II, L.B.; HAU, M. Reproductive state, but not testosterone, reduces immune function in male house sparrows (*Passer domesticus*). **Physiological and Biochemical Zoology**, v.78(1), p.60-68, 2005.

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

IUCN. *Antilophia bokermanni*. The Iucn Red List of Threatened Species 2018: e.T22728410A130774493. Disponível em:<<https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T22728410A130774493.en>>. Acesso em: 03 de abril de 2022.

ISHTIAQ, F.; GERING, E.; RAPPOLE, J.H.; RAHMANI, A.R.; JHALA, Y.V.; DOVE, C.J.; MILENSKY, C.; OLSON, S.L.; PEIRCE, M.A.; FLEISCHER, R. C. Prevalence and diversity of avian hematozoan. **Journal of Wildlife Diseases**, v.43, p.382–398, 2007.

JARVI, S.I.; FARIAS, M.E.M.; BAKER, H.; FREIFELD, H.B.; BAKER, P.E.; VAN GELDER, E.; MASSEY, J.G.; ATKINSON, C.T. Detection of avian malaria (*Plasmodium* spp.) in native land birds of American Samoa. **Conservation Genetics**, v.4, p.629-637, 2003.

KNOWLES, S.C.L.; PALINAUSKAS, V.; SHELDON, B.C. Chronic malaria infections increase family inequalities and reduce parental fitness: experimental evidence from a wild bird population. **Journal of Evolutionary Biology**, v. 23(3), p.557-569, 2010.

KUBACKA, J.; GERLÉE, A.; FOUCHER, J.; KORB, J.; PODMOKŁA, E. Correlates of blood parasitism in a threatened marshland passerine: infection by kinetoplastids of the genus *Trypanosoma* is related to landscape metrics of habitat edge. **Parasitology**, v. 146(8), p.1036-1046, 2019.

LALUBIN, F.; DELÉDEVANT, A.; GLAIZOT, O.; CHRISTE, P. Temporal changes in mosquito abundance (*Culex pipiens*), avian malaria prevalence and lineage composition. **Parasites & Vectors**, v.6(307), p.1-8, 2013.

- LATTA, S.C.; RICKLEFS, R.E. Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. **Journal of Avian Biology**, v.41, p.25–33, 2010.
- LEHANE, M. **The Biology of Blood-Sucking in Insects**. New York: Cambridge University Press, 2005. 336p.
- MAKSIMOWICH, D.S.; MATHIS, A. Parasitized salamanders are inferior competitors for territories and food resources. **Ethology**, v.106, p.319-329, 2000.
- MARTINSEN, E.S.; PERKINS, S.L.; SCHAL, J.J. A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.47, p.261-273, 2008.
- MØLLER, A.P.; NIELSEN, J.T. Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. **Ecology**, v.88, p.871-881, 2007.
- NETO, J.M.; PÉREZ-RODRIGUEZ, A.; HAASE, M.; FLADE, M.; BENSCH, S. Prevalence and diversity of *Plasmodium* and *Haemoproteus* parasites in the globally-threatened Aquatic Warbler *Acrocephalus paludicola*. **Parasitology**, v.142, p.1183-1189, 2015.
- NORRIS, K.; EVANS, M. Ecological immunology: life history tradeoffs and immune defense in birds. **Behavioral Ecology**, v.11(1), p.19-26, 2000.
- NORTE, A.C.; ARAUJO, P.M.; SAMPAIO, H.L.; SOUSA, J.P.; RAMOS, J.A. Haematozoa infections in a great tit *Parus major* population in central Portugal: relationships with breeding effort and health. **Ibis**, v.151(4), p.677-688, 2009.
- OLIVEIRA, L.; DIAS, R.J.P.; ROSSI, M.F.; D'AGOSTO, M.; SANTOS, H.A. Molecular diversity and coalescent species delimitation of avian haemosporidian parasites in an endemic bird species of South America. **Parasitology Research**, v.119(12), p.4033-4047, 2020.
- PACHECO, J.F.; SILVEIRA, L.F.; ALEIXO, A.; AGNE, C.E.; BENCKE, G.A.; BRAVO, G.A.; BRITO, G.R.R.; COHN-HAFT, M.; MAURÍCIO, G.N.; NAKA, L.N.; OLMOS, F.; POSSO, S.; LEES, A.C.; FIGUEIREDO, L.F.A.; CARRANO, E.; GUEDES, R.C.; CESARI, E.; FRANZ, I.; SCHUNCK, F. & PIACENTINI, V.Q. Annotated checklist of the birds of Brazil by the Brazilian Ornithological Records Committee – second edition. **Ornithology Research**, v. 29(2), p. 94-105, 2021.
- RIBEIRO, P.V. A.; BAESSE, C.Q.; MAGALHÃES, V.C.T de; OLIVEIRA, M.M. de; CUNHA, M.J.R. da; MELO, C.; CURY, M.C. Haemosporidian parasites prevalence associated with physical conditioning of avian species from the Brazilian Cerrado. **Ciência e Natura**, v.42, p.1-16, 2020.
- RICHARD, F.A.; SEHGAL, H.I.J; SMITH, T.B. A comparative analysis of PCR-based detection methods for avian malaria. **Journal of Parasitology**, v.88(4), p.819-822, 2002.

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

RICKLEFS, R.E.; SWANSON, B.L.; FALLON, S.M.; MARTÍNEZ-ABRAÍN, A.; SCHEUERLEIN, A.; GRAY, J.; LATTA, S.C. (2005). Community relationships of avian malaria parasites in Southern Missouri. **Ecological Monographs**, v.75, p.543–559, 2005.

RODRIGUEZ, M.D.; DOHERTY, P.F.; PIAGGIO, A.J.; HUYVAERT, K.P. Sex and nest type influence avian blood parasite prevalence in a high-elevation bird community. **Parasites & vectors**, v.14, p.1-12, 2021.

ROVED, J.; WESTERDAHL, H.; HASSELQUIST, D. Sex differences in immune responses: hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences. **Hormones and Behavior**, v.88, p.95-105, 2017.

SAINO, N.; INCAGLI, M.; MARTINELLI, R.; MØLLER, A.P. Immune response of male barn swallows in relation to parental effort, corticosterone plasma levels, and sexual ornamentation. **Behavior Ecology**, v.13(2), p.169-174, 2002.

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

SCHEUERLEIN, A.; RICKLEFS, R.E. Prevalence of blood parasites in European passeriform birds. **Proc R Soc Lond B Biol Sci**, v.271, p.1363–1370, 2004.

SILVA, W.A.G.; LINHARES, K.V. **Plano de ação nacional para a conservação do soldadinho-do-araripe**. Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, ICMBio, 2011. 72p.

VALKIŪNAS, G. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. Florida: CRC Press Boca Raton, 2005. 946p.

VANSTREELS, R.E.T.; KOLESNIKOVAS, C.K.; SANDRI, S.; SILVEIRA, P., BELO, N. O.; FERREIRA JUNIOR, F.C.; EPIPHANIO, S.; STEINDEL, M.; BRAGA, E.M.; CATÃO-DIAS, J.L. Outbreak of avian malaria associated to multiple species of *Plasmodium* in magellanic penguins undergoing rehabilitation in southern Brazil. **Plos One**, v. 9(4), p.1-11, 2014.

WILSON, K.; BJORNSTAD, O.N.; DOBSON, A.P.; MERLER, S.; POGLAYEN, G.; RANDOLPH, S.E.; READ, A.F.; SKORPING, A. Heterogeneities in macroparasite infections: patterns and processes. In: HUDSON, P.J, RIZZOLI, A.; GRENFELL, B.T.; HEESTERBEEK, H.; DOBSON, A.P. (eds.). **The Ecology of Wildlife Diseases**. Oxford: University Press, 2001, p. 6-44.

WOOD, M.J.; COSGROVE, C.L.; WILKIN, T.A. Within-population variation in prevalence and lineage distribution of avian malaria in blue tits, *Cyanistes caeruleus*. **Molecular Ecology**, v.16, p.3263-3273, 2007.

3- Artigo científico

Artigo científico a ser encaminhado a Revista [**Journal of Ornithology**].

Todas as normas de redação e citação, doravante, atendem as estabelecidas pela referida revista, exceto o idioma.

Declaração sobre plágio

Eu, Verônica Lima da Silva, autor(a) da dissertação intitulada “Ausência de Detecção de Hemosporídeos em *Antilophia bokermanni* (Passeriformes: Pipridae), em Área de Mata Úmida na Chapada do Araripe, Ceará”, vinculado ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação da Unidade Acadêmica de Serra Talhada da Universidade Federal Rural de Pernambuco, declaro que:

- O trabalho de pesquisa apresentada nesta dissertação, exceto onde especificado, representa uma pesquisa original desenvolvida por mim;
- Esta dissertação não contém material escrito ou dados de terceiros, de qualquer fonte bibliográfica, a menos que devidamente citada e referenciada no item “Referências Bibliográficas”.

Serra Talhada, ____ de _____ de _____

(assinatura)

Ausência de Detecção de Hemosporídeos no soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*), Pássaro Criticamente Ameaçado e Endêmico do Nordeste do Brasil

Verônica L. Silva¹, João H. Oliveira², Pedro Henrique O. Pereira³, Érica M. Braga³, Alexandre M. Fernandes^{1*}

¹Laboratório de Ornitologia, Programa de Pós Graduação em Biodiversidade e Conservação, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada, Pernambuco, Brasil

²Laboratório de Ornitologia (LABOR), Programa de Pós Graduação em Biodiversidade, Ambiente e Saúde, Universidade Estadual do Maranhão, Caxias, Maranhão, Brasil

³Laboratório de Malária, Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil

*Autor correspondente

E-mail: alexandre.mendesfernandes@ufrpe.br

Resumo

Examinar a presença de hemosporídeos em aves ameaçadas de extinção é de grande importância, pois os hemosporídeos são tidos como uma grande ameaça para a conservação dessas espécies, já que podem levar seus hospedeiros a um declínio populacional acentuado chegando até a extinção. Nesse sentido, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença e prevalência de protozoários hemosporídeos através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e de esfregaços sanguíneos, com o intuito de fornecer informações para auxiliar na conservação do soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*), passeriforme criticamente ameaçado de extinção com distribuição restrita à enclaves de floresta úmida da Chapada do Araripe no Ceará, Nordeste do Brasil. As aves foram capturadas com redes de neblina num período de 12 meses entre os anos de 2021 e 2022, e marcadas com anilha metálica. O sangue foi coletado da veia braquial dos indivíduos utilizando agulha hipodérmica e tubos capilares. Foram coletadas amostras de 67 indivíduos de *A. bokermanni*, no entanto, não foram encontrados parasitos em qualquer forma evolutiva em nenhuma das lâminas de esfregaço sanguíneo e todas as amostras analisadas via PCR foram negativas quanto a presença dos protozoários *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Sendo assim, esse trabalho sugere que a espécie *A. bokermanni* pode estar livre de hemosporídeos, devido ao tamanho reduzido da sua população, que pode estar inviabilizando a permanência de parasitos específicos na espécie.

Palavras-Chave: *Antilophia bokermanni*, Parasitas do sangue, Hemoparasitos, Hemosporídeos, Floresta úmida, Nordeste do Brasil

Introdução

Nas últimas décadas muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com relação a ecologia, diversidade e influência de parasitos sobre seus hospedeiros (Secchi et al. 2003). Esse conhecimento é de grande importância para a compreensão das relações parasito-hospedeiro, e para entender como o parasitismo exerce pressões evolutivas e ecológicas em seus hospedeiros (Quillfeldt et al. 2010). As aves possuem uma grande diversidade de protozoários hemossporídeos, sendo que os gêneros *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon* são registrados como os mais comuns, e também como os mais bem estudados quanto à sua evolução e ecologia (Foreyt 2001; Atkinson 2008; Sehgal 2015). Esses três gêneros são amplamente distribuídos geograficamente (Clark et al. 2014) e parasitam vários grupos de vertebrados (Valkiūnas 2005). Esses parasitos são transmitidos por insetos hematófagos pertencentes a ordem Diptera, conhecidos popularmente como pernilongos (Culicidae), borrachudos (Simuliidae) e maruins (Ceratopogonidae) (Valkiūnas 2005; Martinsen et al. 2008; santiago-alarcon et al. 2012).

As infecções causadas por hemossporídeos que acometem aves exibem grande variação intraespecífica e interespecífica na sua prevalência e intensidade. No entanto, os fatores que podem explicar essa variação, ainda não são bem conhecidos pelos pesquisadores (Ellis et al. 2020; Fecchio et al. 2020). Sendo assim, muitas hipóteses avaliando fatores evolutivos, ecológicos e sobre a história de vida dos hospedeiros foram elaboradas para explicar a variação na prevalência de hemossporídeos (Fecchio 2022). Uma delas é a variação na prevalência durante as estações do ano (Medeiros et al. 2016; Szöllősi et al. 2016). Uma vez que, em períodos de chuva, são gerados cenários atrativos como, temperatura, umidade e locais com acúmulo de água para a proliferação de vetores veículos de hemossporídeos (Alto e Juliano 2001).

Nessa perspectiva, esse estudo prevê uma alta taxa de infecção e prevalência por hemossporídeos em *Antilophia bokermanni*, já que esta ave ocorre em matas úmidas, com água disponível de nascentes durante todo o ano, permitindo condições favoráveis para a presença e desenvolvimento de potenciais vetores. O pássaro *Antilophia bokermanni* (Coelho e Silva, 1998) apresenta forte dimorfismo sexual, sendo conhecido popularmente como soldadinho-do-araripe (macho) e lavadeira-da-mata (fêmea). Pertence à família Pipridae e é endêmico dos enclaves de floresta úmida da Chapada do Araripe no estado do Ceará. Essa ave possui registros em apenas três municípios (Crato,

Barbalha e Missão Velha) e está classificada como criticamente em perigo de extinção, com uma população estimada de apenas 800 indivíduos (Iucn 2022; Birdlife International 2022).

As infecções causadas por hemoparasitos não ocorrem de forma uniforme para todos os grupos de aves. Algumas espécies de aves podem apresentar uma baixa prevalência ou ausência de infecções parasitárias. Isso pode ocorrer pela falta de vetores no ambiente, sistema imunológico competente do hospedeiro, especificidade parasita-hospedeiro (habilidade que o parasita tem de se adaptar ao seu hospedeiro) ou ter relação com o tamanho reduzido de uma população, por conta da baixa taxa de encontro de hospedeiros competentes (Martínez-Abraín et al. 2004; Kleindorfer et al. 2006; Quillfeldt et al. 2010 ou 2011; Balasubramaniam et al. 2013). A infecção por parasitas do sangue também pode estar ligada a genética do hospedeiro (Loiseau et al. 2011; Radwan et al. 2012). Baixa prevalência ou resultado negativo para hemospórideos também foi encontrado em estudos com aves marinhas, em ambientes distantes do continente onde os insetos vetores não estão presentes ou as condições para o seu desenvolvimento não são favoráveis (Quillfeldt et al. 2014; Campioni et al. 2017; Vanstreels et al. 2017; Rodrigues et al. 2019; Ilahiane et al. 2022; Roldán-zurabián et al. 2022).

Estudos com parasitas podem revelar precocemente doenças que podem vir a prejudicar a saúde das populações de aves (Rodriguez 2021). Por isso, é de amplo interesse buscar formas de diagnóstico e controle. Para isso, é importante conhecer a distribuição, diversidade e prevalência dos hemoparasitos, principalmente quando se trata de espécies de relevância para a conservação (Deviche 2001; Kubacka 2019). Assim, examinar a presença de hemospórideos em aves ameaçadas de extinção é de grande importância, pois os hemospórideos são tidos como uma grande ameaça para a conservação dessas espécies, já que podem levar seus hospedeiros a um declínio populacional acentuado chegando até a extinção (Atkinson et al. 2008; Atkinson e La pointe 2009). De acordo com Carmona-Isunza et al. (2020) estudos avaliando a ocorrência de hemoparasitos são mais comuns em aves não ameaçadas que para aves incluídas em categorias de ameaça. No Brasil existem poucos estudos investigando a ocorrência de hemoparasitos em aves ameaçadas (Motta et al. 2013; Ferreira-Junior et al 2018; da Silva et al. 2022), um deles trata-se de um estudo com piprídeos neotropicais que faz referência a espécie *A. bokermanni* (Fecchio et al. 2017). Nesse trabalho foram analisadas amostras sanguíneas (n=27), através da técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), mas todas foram

negativas para a presença de hemosporídeos. Consequentemente, existe a necessidade de uma investigação mais precisa, através da análise de um maior número de amostras e também da complementação do método de detecção. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar a presença e prevalência de protozoários hemosporídeos através das técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR) e de esfregaços sanguíneos no soldadinho-do-araripe (*Antilophia bokermanni*), com o intuito de fornecer informações para auxiliar na sua conservação.

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado na chapada do Araripe que está inserida no domínio da Caatinga, estendendo-se pelos estados do Ceará, Pernambuco e Piauí e ocupa uma área de aproximadamente 4.500 km². A região abriga uma vegetação bem diversificada, com cinco fitofisionomias: Mata úmida (área de estudo), Mata seca, Carrasco, Cerrado e Cerradão (Moro et al. 2015). No entanto, se diferencia da Caatinga semiárida que a circunda, principalmente por sua dinâmica hidro geológica, uma vez que as chuvas que caem sobre a sua camada superior infiltram até as camadas mais profundas e possibilita que a água reapareça em várias nascentes na encosta. Essa dinâmica confere a Chapada do Araripe um clima tropical úmido, com temperaturas que variam em média entre 23° C e 27° C e uma altitude de 800m em relação ao nível do mar (Silva e Linhares 2011; Lima et al. 2011). A amostragem foi realizada na encosta da Chapada do Araripe, dentro dos limites da Área de proteção Ambiental (APA) Chapada do Araripe, abrangendo os municípios de Barbalha e Crato no estado do Ceará. Em quatro áreas distintas: RPPN Arajara Park (Barbalha), RPPN Oásis Araripe, RPPN Araçá e Grangeiro (Crato) (Fig. 2).

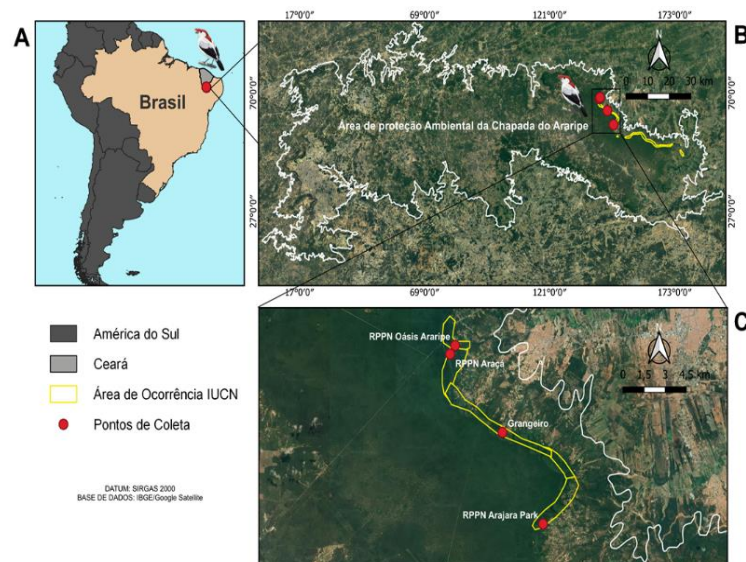


Fig. 2 A- Localização do estado do Ceará no Nordeste do Brasil, B- Localização das áreas amostradas inseridas dentro dos limites da APA Chapada do Araripe no Ceará, C- Ampliação da localização das quatro áreas amostradas na APA Chapada do Araripe, em amarelo está indicada a área de ocorrência de *A. bokermanni* de acordo com a IUCN

Captura e marcação das aves

As aves foram capturadas com redes de neblina (12m x 2,5m) num período de 12 meses entre os anos de 2021 e 2022. As redes foram dispostas ao longo das trilhas onde a espécie foi avistada vocalizando e próximo as fontes de água, e foram verificadas a cada 30 minutos para retirada das aves. Todos os indivíduos capturados foram acondicionados em sacos de pano e levados ao acampamento para processamento. As aves foram marcadas com anilha metálica de numeração exclusiva fornecidas pelo Centro de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE/ICMBio). Com exceção de dois indivíduos capturados na RPPN Arajara Park que não puderam ser anilhados.

Coleta de sangue e confecção de esfregaços sanguíneos

O sangue foi coletado da veia braquial (asa) dos indivíduos utilizando agulha hipodérmica descartável (0,45mm x 13 mm) e tubos capilares não heparinizados. As amostras de sangue foram acondicionadas em tubo *ependorf* com álcool 70% até a extração de DNA. Foi amostrado também uma gota de sangue para confecção de

esfregações sanguíneas, os mesmos foram secos ao ar e fixados com metanol absoluto por um minuto, ainda em campo. As lâminas foram coradas utilizando uma solução de GIEMSA em água tamponada (pH 6,98 - 7,2) com diluição de 1:10 durante 70 minutos, depois lavadas em água corrente e secas em temperatura ambiente.

Extração e quantificação de DNA e detecção de hemosporídeos

Para extração do DNA das amostras de sangue foi utilizado o protocolo de fenol-clorofórmio com precipitação de isopropanol (Sambrook e Russell 2001). A quantificação do DNA de todas as amostras foi realizada em espectrofotômetro NanoDrop™ Lite (Thermo Scientific®) de acordo com as orientações do fabricante. A detecção de infecção por hemosporídeos foi realizada através de diagnóstico molecular, pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) segundo Ciloglu et al. (2018) e Fallon et al. (2003).

Para análise das lâminas de esfregaço sanguíneo foi utilizado microscópio óptico com aumento de 1000x usando óleo de imersão, e observação de 100 campos microscópicos por lâmina. Todas as análises descritas aqui foram realizadas no laboratório de Malária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

Diagnóstico Molecular *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*

Para detecção de infecções por *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* foi utilizada a PCR de acordo com Ciloglu et al. (2018), que amplifica 379pb localizados em uma região não codificante do mtDNA para *Plasmodium*, 533pb entre a extremidade 5' do cyt b e uma região não codificante do mtDNA para *Haemoproteus* e 218pb no gene da subunidade 1 do citocromo c (COX1) do mtDNA para *Leucocytozoon*. As sequências de iniciadores (*primers*) utilizados foram:

PMF→ CCTCACGAGTCGATCAGG e PMR→ GGAAACCGGCGCTAC para *Plasmodium*;

HMF→ ATTGGATGTCAATTACCACAATC e

HMR→GGGAAGTTTATCCAGGAAGTT para *Haemoproteus*;

LMF→ TGGAACAATAATTGSATTATTTACAYT e LMR→

AACATATCATATTCCATCCATTTAGATTA para *Leucocytozoon*.

A PCR foi realizada com um volume total de 20,1 µL, cada tubo recebeu 9,5 µL de água ultrapura (Milli-Q®), 1,5 µL de solução tampão, 1,0 µL de MgCl₂, 1,4 µL de dNTP, 0,4 µL de cada iniciador, 0,3 µL de Taq e por último 4,0 µL de DNA. O programa de amplificação em termociclador consistiu em: 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, seguida de anelamento a 62°C por 1 minuto e 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos. A desnaturação inicial ocorreu a 95°C por 2 minutos, e a extensão final a 72°C durante 10 minutos, finalizando com temperatura de 4°C.

Diagnóstico Molecular *Plasmodium* e *Haemoproteus*

Para detectar os parasitos dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus* foi utilizada a PCR descrita por Fallon et al. (2003), que amplifica uma região bem conservada do gene SSU rRNA mitocondrial. As sequências de iniciadores (*primers*) utilizados foram:
343F → 5'GCTCACGCATCGCTTCT3'
496R → 5'GACCGGTCATTTTCTTTG3'

A reação de amplificação foi realizada com um volume total de 15 µL, cada tubo recebeu 1,5 µL de solução tampão, 8,2 µL de água ultrapura (Milli-Q®), 1,5 µL de MgCl₂, 1,0 µL de dNTP, 0,2 µL de Taq, 0,3 µL de cada iniciador e 2,0 µL de DNA. O programa de amplificação em termociclador consistiu em 30 ciclos de desnaturação a 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. A desnaturação inicial ocorreu a 94°C por 2 minutos e a extensão final a 72°C por 3 minutos, finalizando a temperatura de 4°C.

Como controle positivo foi usada uma amostra de DNA genômico de *Plasmodium gallinaceum* proveniente do banco de amostras do laboratório de Malária da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Como controle negativo foi adicionada água ultrapura (Milli-Q®) as mesmas condições da PCR. Os produtos das reações passaram por eletroforese em gel de poliacrilamida a 6%, em tampão TBE 1X. Os géis foram fixados em solução de álcool etílico 10% e ácido acético 0,5%, e corados em solução de nitrato de prata. Para evidenciar os fragmentos de DNA foi utilizada uma solução reveladora de hidróxido de sódio e formaldeído (Sanguinetti et al. 1994).

Resultados

Ao longo de 12 meses de estudo foram coletadas amostras de 67 indivíduos de *A. bokermanni*. A investigação por hemoparasitos foi realizada através de dois métodos: exame microscópico de lâminas de esfregaço sanguíneo (n=14) e análises moleculares por PCR (n=71). No entanto, não foram encontrados parasitos em qualquer forma evolutiva em nenhuma das lâminas de esfregaço sanguíneo e todas as amostras analisadas via PCR foram negativas quanto a presença dos protozoários *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Todas as amostras coletadas nesse estudo tiveram seu DNA quantificado em espectrofotômetro para confirmação da qualidade do material a ser amplificado, e o controle positivo (*Plasmodium gallinaceum*) utilizado na reação de amplificação foi visualizado em fortes bandas. Esses procedimentos demonstram que o DNA extraído não foi degradado e que não houveram erros na amplificação do material.

Discussão

A técnica de PCR utilizada nesse estudo é amplamente utilizada e bastante precisa na detecção de infecções parasitárias de baixa intensidade (Levin et al. 2013; Carlson et al. 2018). Sendo assim, os resultados desse estudo sugerem que os protozoários hemosporídeos dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* não estão presentes na população amostrada de *A. bokermanni*. Uma vez que foram analisadas um número considerável de amostras de indivíduos de diferentes localidades da distribuição da espécie, apoiando os achados negativos do exame microscópico.

Os resultados deste estudo estão de acordo com Fecchio et al. (2017), que testou via PCR 27 amostras de sangue de *A. bokermanni* para hemosporídeos e todas foram negativas. Em contra partida, sua espécie irmã *Antilophia galeata* (soldadinho) foi testada através da inspeção microscópica de lâminas de esfregaços sanguíneos e apresentou uma taxa de prevalência de 51,6% para os protozoários *Plasmodium* spp. e 1,61% para *Haemoproteus* spp. (Ribeiro 2018). Sebaio et al. (2012) e Ribeiro et al. (2020) também relataram ocorrência de hemosporídeos em *A. galeata*. Ademais, outros estudos com piprídeos demonstraram resultados positivos para a presença de hemosporídeos (Bosholn et al. 2015; Fecchio et al. 2017; Bosholn et al. 2020). Ainda é interessante mencionar que Cabral et al. (2022) em seu trabalho de revisão indicou o piprídeo *Lepidothrix coronata* entre as dez espécies mais infectadas por hemosporídeos

dos gêneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*. Esses dados só demonstram que os piprídeos são considerados ótimos modelos para a compreensão da evolução e ecologia do sistema parasito-hospedeiro, pois estão distribuídos em habitats com altas temperaturas e precipitações, que podem promover grande densidade e diversidade de vetores (Fecchio et al 2017).

Segundo Szöllösi et al. (2020) a transmissão de uma infecção pode ser bastante comprometida se a ave hospedeira de um parasita específico possuir uma população muito reduzida. É sabido que a espécie *A. bokermanni* sofre com a perda de habitat em decorrência da agropecuária e da expansão urbana rumo a encosta da Chapada do Araripe, e que ocupa uma área de aproximadamente 28 km², com uma população estimada em apenas 800 indivíduos (Iucn 2022; Birdlife International 2022). Essas condições podem ter contribuído para impedir o sucesso de parasitas especializados, resultando em uma população sem infecções específicas para o hospedeiro. Diante disso, é possível considerar que a população reduzida de *A. bokermanni* inviabilizaria a permanência de parasitas especializados, isso poderia explicar a ausência de hemosporídeos na espécie. Além disso, a diversidade de parasitas também está sujeita ao tamanho da área e da população do hospedeiro, alguns estudos sugerem que espécies ameaçadas com distribuição restrita estão mais propensas a alojar poucos parasitas (Altizer et al. 2007; Kamiya et al. 2013). Resultados semelhantes com baixa prevalência de hemosporídeos foram relatados numa pequena população de *Acrocephalus paludicola*, passeriforme globalmente ameaçado (Neto et al. 2015) e em quatro passeriformes endêmicos da Austrália, com distribuição fragmentada e populações em declínio (Eastwood et al. 2019). Todavia, no Brasil, Ferreira-Junior et al (2018) e da Silva et al. (2022) investigaram através de PCR e microscopia a presença de hemosporídeos em uma população de cativo da Jacutinga (*Aburria jacutinga*), cracídeo ameaçado de extinção da Mata Atlântica e em indivíduos selvagens e de cativo do passeriforme criticamente ameaçado no Brasil *Gubernatrix cristata* (cardeal-amarelo). Na Jacutinga, tanto o exame microscópico como a detecção por PCR foram positivas para *Plasmodium* e *Haemoproteus*. Já no cardeal-amarelo foi detectado *Plasmodium* em apenas três indivíduos de cativo. Mas, *Trypanosoma* e microfírias foram encontradas nos esfregaços sanguíneos das aves silvestres e de cativo.

No domínio da Mata Atlântica Brasileira (semelhante ao habitat da espécie em estudo) Sebaio et al. (2012) encontrou em uma comunidade de aves maior prevalência e maior intensidade parasitária na estação chuvosa do que na estação seca. Esse resultado

pode estar relacionado com o aumento de poços de água durante a estação chuvosa e da umidade presente no ambiente, que pode criar condições adequadas para a proliferação de mosquitos transmissores de hemosporídeos. Assim, esperávamos detectar alta parasitemia e prevalência de hemosporídeos em *A. bokermanni*, devido ao ambiente de mata úmida que a espécie habita apresentar condições favoráveis (disponibilidade de água e umidade) para o desenvolvimento de insetos vetores, como já foi detectado em outras espécies de aves que habitam áreas úmidas (Gomes et al. 2012; Oliveira et al. 2020; Abad et al. 2021). Azevedo et al. (2015) desenvolveu um estudo entomológico na Área de Proteção Ambiental da Chapada do Araripe (APA) em uma área de mata úmida e na RPPN Arajara Park (presente neste estudo). Nas duas áreas foi verificada a presença de insetos da ordem Díptera, considerados vetores potenciais na transmissão de hemosporídeos, com amostragem expressiva na área de mata úmida. No entanto, segundo Sehgal et al. (2015) além da presença de vetores adequados no ambiente, as condições ambientais também precisam ser favoráveis para ocorrer a transmissão da infecção. Além disso, o hospedeiro só será suscetível aos hemoparasitos em um estágio de vida específico.

Contudo, até mesmo para *Ciconia ciconia* (cegonha-branca) que se alimenta em ambientes úmidos e de água doce onde os vetores são mais abundantes, também foi relatada ausência de hemoparasitos (Jovani et al. 2002). Nesse sentido, podemos sugerir que *A. bokermanni* pode possuir uma forte resistência a infecções causadas por hemosporídeos. Essa resistência pode impedir que a infecção se instale no hospedeiro ou uma vez instalada seria rapidamente combatida por um sistema imunológico muito eficiente. Segundo Martínez-Abraín et al. (2004) apesar da ocorrência de potenciais vetores e de um conjunto de parasitos em um determinado ambiente, as aves podem estar livres de hemoparasitos se possuírem um sistema imunológico altamente competente. Isso se deve a evolução do sistema imunológico agindo contra outros patógenos (bactéria, vírus), ou simplesmente pela evolução de um sistema imunológico forte e com bons modos de reparo. O processo de coevolução das estruturas de defesa do hospedeiro e a não adaptação do parasita pode estar relacionada à muitos fatores, dentre eles a constituição genética da espécie que pode possibilitar defesa imunológica eficiente, características da história de vida, comportamento, idade e sexo do hospedeiro, além das condições ambientais (Dunn et al. 2011; Dunn et al. 2013; Wood et al. 2013; Arriero et al. 2015; Lutz et al. 2015). Alguns estudos com aves marinhas apontam a resistência imunológica do hospedeiro como um dos fatores para explicar a

ausência de hemospórideos (Ilahiane et al. 2022; Svensson et al. 2009; Roldán-Zurabián et al. 2022).

Entre outras espécies de aves que aparentam estar livres de hemoparasitos estão as aves limícolas (Figuerola et al. 1996), aves marinhas (González-Solís e Abella 1997; Merino e Mínguez 1998; Merino et al. 1997; Engstrom et al. 2000; Jovani et al. 2001; Campioni et al. 2017; Vanstreels et al. 2017; Ilahiane et al. 2022; Roldán-zurabián et al. 2022) aves de rapina (Blanco et al. 1998; Martínez-Abraín e Urios 2002), psitacídeos (Gilardi et al. 1995; Masello et al. 2006; Allgayer et al. 2009), codornas selvagens (Crook et al. 2009), bacurais (Forero et al. 1997) e alguns passeriformes (Rytkönen et al. 1996; Valkiūnas et al. 2003; Haas e Kisková 2010).

A hipótese de que os soldadinhos-do-araripe podem estar sendo severamente parasitados e morrendo também não pode ser descartada. Isso poderia explicar o declínio populacional que a espécie vem sofrendo nos últimos anos, apesar de apresentar uma boa taxa de sucesso reprodutivo (72%) (Gaiotti et al. 2019; Birdlife International 2022). Alternativamente, uma parasitemia aguda pode estar dificultando a captura de indivíduos. Segundo Valkiūnas et al. (2003) aves com parasitemia severa podem ser mais inativas, ou seja, estão menos suscetíveis a captura por redes de neblina. Isso seria mais uma possível explicação para os resultados encontrados nesse estudo. Entretanto, sugerimos que o soldadinho-do-araripe pode estar livre de hemospórideos, devido ao tamanho reduzido da sua população, que pode estar inviabilizando a permanência de parasitos específicos na espécie. Ainda assim, seria interessante a realização de estudos investigando a ocorrência de hemoparasitos na comunidade de aves residente na mesma área de ocorrência da espécie, juntamente com a identificação de potenciais mosquitos vetores. Além de estudos de resistência imunológica, que também podem contribuir com a conservação de *A. bokermanni*.

Referências

- Abad CS, Tellkamp MP, Amaro IR, Spencer LM (2021) Incidence of avian malaria in hummingbirds in humid premontane forests of Pichincha Province, Ecuador: A pilot study. *Veterinary World* 14:889-896. doi:10.14202/vetworld.2021.889-896
- Altizer S, Nunn CL, Lindenfors P (2007). Do threatened hosts have fewer parasites? A comparative study in primates. *Journal of animal Ecology* 76:304–314.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2007.01214.x>
- Alto BW, Juliano SA (2001) Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for range expansion. *Journal of Medical Entomology* 38:646-656. <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.5.646>
- Allgayer MC, Guedes NMR, Chiminazzo C, Cziulik M, Weimer TA (2009) Clinical pathology and parasitologic evaluation of free-living nestlings of the hyacinth macaw (*Anodorhynchus hyacinthinus*). *Journal of Wildlife Diseases* 45:972-981.
<https://doi.org/10.7589/0090-3558-45.4.972>
- Atkinson CT (2008) *Haemoproteus*. In: Atkinson CT, Thomas NJ, Hunter BC (eds) *Parasitic diseases of wild birds*, 1^a ed. Wiley-Blackwell, Iowa, pp 11–34
- Atkinson CT, La Pointe DA (2009) Introduced avian diseases, climate change, and the future of Hawaiian honeycreepers. *Journal of Avian Medicine and Surgery* 23:53-63.
<https://doi.org/10.1647/2008-059.1>
- Arriero E, Müller I, Juvaste R, Martínez FJ, Bertolero A (2015) Variation in immune parameters and disease prevalence among lesser black-backed gulls (*Larus fuscus* sp.) with diferente migratory strategies. *PLoS ONE* 10(2):e0118279.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118279>
- Azevedo FR, Moura ES, Azevedo R, Santos CM, Nere DR (2015) Inventário da Entomofauna de Ecossistemas da Área de Proteção Ambiental do Araripe com bandejas d'água amarelas. *Holos* 3:121–134. <https://doi.org/10.15628/holos.2015.2249>

Balasubramaniam S, Mulder RA, Sunnucks P, Pavlova A, Amós JN, Melville J (2013) Prevalence and diversity of avian haematozoa in three species of Australian passerine. *Emu* 113:353–358. <https://doi.org/10.1071/MU13012>

Birdlife International (2022). Species factsheet: *Antilophia bokermanni*. <http://datazone.birdlife.org/species/factsheet/araripe-manakin-antilophia-bokermanni>. Acesso em 03 de abril de 2022

Bosholn M, Anciães M, Gil D, Weckstein JD, Disposto JH, Fecchio A (2020) Individual variation in feather corticosterone levels and its influence on haemosporidian infection in a Neotropical bird. *Ibis* 162:215–226. <https://doi.org/10.1111/ibi.12709>

Bosholn M, Fecchio A, Silveira P, Braga EM, Anciães M (2015) Effects of avian malaria on male behaviour and female visitation in lekking blue-crowned manakins. *Journal of Avian Biology* 47:457–465. <https://doi.org/10.1111/jav.00864>

Blanco G, Gajon A, Doval G, Martinez F (1998) Absence of blood parasites in Griffon vultures from Spain. *Journal of Wildlife Diseases* 34:640–643. doi:10.7589/0090-3558-34.3.640. PMID: 9706578

Cabral JAB (2022) Hemosporidioses aviárias no Brasil: uma análise cienciométrica. Dissertação, Universidade Federal de Ouro Preto

Campioni, L, Martínez-de la Puente J, Figuerola J, Granadeiro JP, Silva MC, Catry P (2017) Absence of haemosporidian parasite infections in the long-lived Cory's shearwater: evidence from molecular analyses and review of the literature. *Parasitology research* 117:323–329. <https://doi.org/10.1007/s00436-017-5676-7>

Carlson JS, Nelms B, Barker CM, Reisen WK, Sehgal RNM, Cornel AJ (2018) Avian malaria co- infections confound infectivity and vector competence assays of *Plasmodium homopolare*. *Parasitology Research* 117:2385–94. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5924-5>

Carmona-isunza, MC, Ancona S, Figuerola J, Gonzalez-Voyer A, De la Puente JM (2020) An urge to fill a knowledge void: Malaria parasites are rarely investigated in

threatened species. PLoS pathogens 16:e1008626.

<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008626>

Ciloglu A, Ellis VA, Bernotienė R, Valkiūnas G, Bensch S (2018) A new one-step multiplex PCR assay for simultaneous detection and identification of avian haemosporidian parasites. Parasitology Research 118:191-201.

<https://doi.org/10.1007/s00436-018-6153-7>

Clark NJ, Clegg SM, Lima MR (2014) A review of global diversity in avian haemosporidians (*Plasmodium* and *Haemoproteus*: *Haemosporida*): new insights from molecular data. International Journal for Parasitology 44:329-

338.<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.01.004>

Coelho G, Silva WAG (1998) A new species of *Antilophia* (Passeriformes: Pipridae) from Chapada do Araripe, Ceará, Brazil. Ararajuba 6: 81–84

Crook KI, Perkins S, Greiner EC (2009) Apparent absence of *Parahaemoproteus* lophortyx and other hematozoa in North Florida populations of bobwhite quail (*Colinus virginianus*). Journal of Parasitology 95:1142-1144. <https://doi.org/10.1645/GE-2039.1>

da Silva BR, Vanstreels RET, Serafini PP, Fontana CS, da Silva TW, Chiarani E, Locatelli-Dittrich R (2022) Blood parasites of passerines in the Brazilian Pampas and their implications for a potential population supplementation program for the endangered Yellow Cardinal (*Gubernatrix cristata*). Parasitology Research 121:3203-3215.

Deviche P, Greiner E, 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. <https://doi.org/10.1002/jez.1027>

Dunn JC, Cole EF, Quinn JL (2011) Personality and parasites: sex-dependent associations between avian malaria infection and multiple behavioural traits. Behavioral Ecology and Sociobiology 65:1459-71. <http://www.jstor.org/stable/41414604>

Dunn PO, Bollmer JL, Freeman-Gallant CR, Whittingham LA (2013) MHC variation is related to a sexually selected ornament, survival, and parasite resistance in common yellowthroats. *Evolution* 67:679-87. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2012.01799.x>

Eastwood JR, Peacock L, Hall ML, Roast M, Murphy SA, Silva AG, Peters A (2019) Persistent low avian malaria in a tropical species despite high Community prevalence. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 8:88-93. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2019.01.001>

Ellis VA, Fecchio A, Ricklefs RE (2020) Haemosporidian parasites of neotropical birds: causes and consequences of infection. *The Auk* 137:1-16. <https://doi.org/10.1093/auk/ukaa055>

Engstrom H, Dufva R, Olsson G (2000) Absence of haematozoa and ectoparasites in a highly sexually ornamented species, the Crested Auklet. *Waterbirds* 23:486-488. <https://doi.org/10.2307/1522187>

Fallon SM, Ricklefs RE, Swanson BL, Bermingham E (2003) Detecting Avian Malaria: An Improved Polymerase Chain Reaction Diagnostic. *Journal of Parasitology* 89:1044–1047. doi:10.1645/ge-3157

Fecchio A, Chagas CRF, Bell JA, Kirchgatter K (2020) Evolutionary ecology, taxonomy, and systematics of avian malaria and related parasites. *Acta Trop* 204:105364. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105364>

Fecchio A, Dias RI, Ferreira TV, Aldo RO, Dispoto JH, Weckstein JD, Bell JÁ, Tkach VV, Pinho JB (2022) Host foraging behavior and nest type influence prevalence of avian haemosporidian parasites in the Pantanal. *Parasitology Research* 121:1407–1417. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07453-3>

Fecchio, A et al (2017) Host associations and turnover of haemosporidian parasites in manakins (Aves: Pipridae). *Parasitology* 144:984-993. <https://doi.org/10.1017/S0031182017000208>

Ferreira-Junior FC, de Angeli Dutra D, Martins NR, Valkiūnas G, Braga ÉM (2018) *Haemoproteus paraortalidum* n. sp. in captive Black-fronted Piping-guans *Aburria*

jacutinga (Galliformes, Cracidae): high prevalence in a population reintroduced into the wild. *Acta tropica* 188:93-100. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.035>

Figuerola J, Velarde R, Bertolero A, Cerda F (1996) Absence of haematozoa in a breeding population of Kentish plover *Charadrius alexandrinus* in Northeast Spain. *Journal für Ornithologie* 137:523-525

Forero M, Tella JL, Gajon A (1997) Absence of blood parasites in the red-necked nightjar. *Journal of Field Ornithology* 68:575-579

Foreyt WJ (2001) *Parasitologia veterinária: manual de referência*. Roca, São Paulo

Gaiotti MG, Oliveira JH, Macedo RH (2019) Breeding biology of the critically endangered Araripe Manakin (*Antilophia bokermanni*) in Brazil. *The Wilson Journal of Ornithology* 131:571-582. <https://doi.org/10.1676/18-170>

Gilardi, KV, Lowenstine LJ, Gilardi JD, Munn CA (1995) A survey for selected viral, chlamydial, and parasitic diseases in wild dusky-headed parakeets (*Aratinga weddellii*) and tui parakeets (*Brotogeris sanctithomae*) in Peru. *Journal of Wildlife Diseases* 31:523-528. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-31.4.523>

Haas M, Kisková J (2010) Absence of blood parasites in the Alpine Accentor *Prunella collaris*. *Oecologia Montana*, 19:0-34

Gomes RCFS, Teixeira BLB, Gusmão CLS, Fernandes AM (2020) Humidity effects on avian blood parasites in the Caatinga of Brazil. *Ornithology Research* 28:98-104. <https://doi.org/10.1007/s43388-020-00009-y>

Gonzalez-Solis J, Abella JC (1997) Negative records of haematozoan parasites on Cory's shearwater *Calonectris diomedea*. *Ornis Fennica* 74:153-155

Iucn (2022) *Antilophia bokermanni*. The Iucn Red List of Threatened Species 2018: e.T22728410A130774493. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.20182.RLTS.T22728410A130774493.en>. Acesso em: 03 de abril de 2022

Ilahiane L, de Pascalis F, Pisu D, Pala D, Ferrario F, Cucco M, Rubolini D, Cecere JG, Pellegrino I (2022) No evidence of avian malaria in two Mediterranean endemic seabirds. *Marine Ornithology* 50:13-17

Jovani R, Tella JL, Forero MG, Bertellotti M, Blanco G, Ceballos O, Donazar JA (2001) Apparent absence of blood parasites in the Patagonian seabird community: is it related to the marine environment? *Waterbirds* 24:430-433

Jovani R, Tella JL, Blanco G, Bertellotti M (2002) Absence of haematozoa on colonial White Storks *Ciconia ciconia* throughout their distribution range in Spain. *Ornis Fennica* 79:41-44.

Kamiya T, O'Dwyer K, Nakagawa S, Poulin R (2013) What determines species richness of parasitic organisms? A meta-analysis across animal, plant and fungal hosts. *Biological Reviews* 89:123–134. <https://doi.org/10.1111/brv.12046>

Kleindorfer S, Lambert S, Paton DC (2006) Ticks (*Ixodes* sp.) and blood parasites (*Haemoproteus* spp.) in New Holland Honeyeaters (*Phylidonyris novaehollandiae*): evidence for site specificity and fitness costs. *Emu* 106:113–118. <https://doi.org/10.1071/MU05055>

Kubacka J, Gerlée A, Foucher J, Korb J, Podmokla E (2019) Correlates of blood parasitism in a threatened marshland passerine: infection by kinetoplastids of the genus *Trypanosoma* is related to landscape metrics of habitat edge. *Parasitology* 146:1036-1046. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000350>

Levin II, Parker PG (2013) Comparative host–parasite population genetic structures: obligate fly ectoparasites on Galapagos seabirds. *Parasitology* 140:1061–1010. <https://doi.org/10.1017/S0031182013000437>

Lima FF, Feitosa JRM, Santos F, Pereira SM, Saraiva AAF, Benedikt TR, Melo JPP, Freitas FI (2011) Geopark Araripe: Histórias da Terra, do Meio Ambiente e da Cultura. Governo do Estado do Ceará, Fortaleza

Loiseau C, Zoorob R, Robert A, Chastel O, Julliard R, Sorci G (2011) *Plasmodium relictum* infection and MHC diversity in the house sparrow (*Passer domesticus*). *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 278:1264–1272. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.1968>

Lutz HL, Hochachka WM, Engel JJ, Bell JA, Tkach VV, Bates JM, Shannon JH, Jason DW (2015) Parasite prevalence corresponds to host life history in a diverse assemblage

of Afrotropical birds and haemosporidian parasites. PLOS ONE 10(5): e0128851.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128851>

Martinez-Abraín A, Urios G (2002) Absence of blood parasites in nestlings of the Eleonora's Falcon (*Falco eleonora*). Journal of Raptor Research 36:139-141

Martínez-Abraín A, Esparza B, Oro D (2004) Lack of blood parasites in bird species: Martinsen ES, Perkins SL, Schal JJ (2008) A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. Molecular Phylogenetics and Evolution. 47:261-273.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.11.012>

Masello JF, Choconi RG, Sehgal RMN, Tell LA, Quillfeldt P (2006) Blood and intestinal parasites in wild Psittaciformes: a case study of burrowing parrots (*Cyanoliseus patagonus*). Ornitologia Neotropical 17:515-29.
<http://dx.doi.org/10.22029/jlupub-217>

Medeiros MC, Ricklefs RE, Brawn JD, Ruiz MO, Goldberg TL, Hamer GL (2016) Overlap in the seasonal infection patterns of avian malaria parasites and west Nile virus in vectors and hosts. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 95:1121–1129. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0236>

Moro MF, Macedo MB, Moura-Fé MMD, Castro ASF, Costa RCD (2015) Vegetação, unidades fitoecológicas e diversidade paisagística do estado do Ceará. Rodriguésia 66:717-743. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201566305>

Motta ROC, Romero Marques MV, Ferreira Junior FC, Andery DDA, Horta RS, Peixoto RB, Lacorte GA, Moreira PDA, Paes Leme FDO, Melo MM, Martins NRDS, Braga ÉM (2013). Does haemosporidian infection affect hematological and biochemical profiles of the endangered Black-fronted piping-guan (*Aburria jacutinga*)? Peer J 1:e45.
<https://doi.org/10.7717/peerj.45>

Merino S, Barbosa A, Moreno J, Potti J (1997) Absence of haematozoa in a wild chinstrap penguin *Pygoscelis antarctica* population. Polar Biology 18:227-8.
<https://doi.org/10.1007/s0030000050181>

Merino S, Minguez E (1998) Absence of haematozoa in a breeding colony of the Storm Petrel *Hydrobates pelagicus*. Ibis 140:180-181

Neto JM, Pérez-Rodríguez A, Haase M, Flade M, Bensch S (2015) Prevalence and diversity of *Plasmodium* and *Haemoproteus* parasites in the globally-threatened Aquatic Warbler *Acrocephalus paludicola*. Parasitology 142:1183-1189.
<https://doi.org/10.1017/S0031182015000414>

Oliveira L, Dias RJP, Rossi MF, D'Agosto M, Santos HA (2020) Molecular diversity and coalescent species delimitation of avian haemosporidian parasites in an endemic bird species of South America. Parasitol Res 119:4033–4047.
<https://doi.org/10.1007/s00436-020-06908-9>

Quillfeldt P, Martínez J, Hennicke J, Ludynia K, Gladbach A, Masello JF, Riou S, Merino S (2010) Hemosporidian blood parasites in seabirds-a comparative genetic study of species from Antarctic to tropical habitats. Naturwissenschaften. 97:809-17.
<https://doi.org/10.1007/s00114-010-0698-3>

Quillfeldt, P, Martínez PJ, Bugoni L, Mancini PL, Merino S (2014) Blood parasites in noddies and boobies from Brazilian offshore islands—differences between species and influence of nesting habitat. Parasitology 141:399-410.
<https://doi.org/10.1017/S0031182013001649>

Radwan J, zagalska-neubauer M, Cichoń M, Sendekca J, Kulma K, Gustafsson L, Babik W (2012) MHC diversity, malaria and lifetime reproductive success in collared flycatchers. Mol. Ecol. 21:2469–2479. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05547.x>

Ribeiro PVA (2018) Perfil leucocitário e hemoparasitos de *Antilophia galeata* (Passeriformes: Pipridae) em um fragmento florestal de Cerrado. Dissertação, Universidade Federal de Uberlândia

Ribeiro PVA, Baesse CQ, Magalhães VCT de, Oliveira MM de, Cunha MJR da; Melo C, Cury MC (2020) Haemosporidian parasites prevalence associated with physical conditioning of avian species from the Brazilian Cerrado. Ciência e Natura 42:1-16.
<https://doi.org/10.5902/2179460X40002>

- Rodrigues P, Navarrete C, Campos E, Verdugo C (2019) Low occurrence of hemosporidian parasites in the Neotropic cormorant (*Phalacrocorax brasilianus*) in Chile. *Parasitology research* 118:325-333. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-6146-6>
- Rodriguez MD, Doherty PF, Piaggio AJ, Huyvaert KP (2021) Sex and nest type influence avian blood parasite prevalence in a high-elevation bird community. *Parasites & vectors* 14:1-12. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04612-w>
- Roldán-zurabián F, Ruiz-López MJ, De la puente JM, Figuerola J, Drummond H, Ancona S (2022) Apparent absence of avian malaria and malaria-like parasites in northern blue-footed boobies breeding on Isla Isabel. *Scientific Reports* 12:1-6. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11075-1>
- Rytönen S, Ilomäki K, Orell M, Welling P (1996). Absence of blood parasites in Willow Tits *Parus montanus* in Northern Finland. *Journal of Avian Biology* 27:173-174. <https://doi.org/10.2307/3677148>
- Sehgal RNM (2015) Manifold habitat effects on the prevalence and diversity of avian blood parasites. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 4:421–30. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.09.001>
- Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York
- Sanguinetti CJ, Dias Neto E, Simpson AJ (1994) Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques* 17: 914–921
- Santiago-Alarcon D, Palinauskas V, Schaefer HM (2012) Diptera vectors of avian haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biol Reviews* 87:928–964. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2012.00234.x>
- Sebaio F, Braga ÉM, Branquinho F, Fecchio A.; Marini MÂ (2012) Blood parasites in passerine birds from the Brazilian Atlantic Forest. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 21:7-15. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012000100003>

Secchi ER, Danilewicz D, Ott PH (2003) Applying the phylogeographic concept to identify franciscana dolphin stocks: implications to meet management objectives. *Journal of Cetacean Research and Management* 5:61-8.

Sehgal RN (2015) Manifold habitat effects on the prevalence and diversity of avian blood parasites. *Int J Parasitol Parasites Wildl* 4:421-30.

<https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.09.001>

Silva WA, Linhares KV (2011) Plano de ação nacional para a conservação do soldadinho-do-araripe. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Brasília

Svensson MLE, Ricklefs R (2009) Low diversity and high intra-island variation in prevalence of avian *Haemoproteus* parasites on Barbados, Lesser Antilles. *Parasitology* 136:1121-1131. doi:10.1017/S0031182009990497

Szöllősi E, Garamszegi LZ, Hegyi G, Laczi M, Rosivall B, Torok J (2016) *Haemoproteus* infection status of collared flycatcher males changes within a breeding season. *Parasitology Research* 115:4663–4672. <https://doi.org/10.1007/s00436-016-5258-0>

Szöllősi E, Tóth Z, Mahr K, Hoi H, Lendvai AZ (2020) Extremely low malária prevalence in a wetland specialist passerine. *Parasitology* 147:87-95. <https://doi.org/10.1017/S0031182019001215>

Valkiunas G (2005) Avian malaria parasites and other haemosporidians. CRC Press, Florida

Valkiūnas, G, Salaman P, Iezhova TA (2003) Paucity of hematozoa in Colombian birds. *Journal of Wildlife Diseases* 39:445-448. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-39.2.445>

Vanstreels R, Uhart M, Rago V, Hurtado R, Epiphanyo S, Catão-Dias J (2017) Do blood parasites infect Magellanic penguins (*Spheniscus magellanicus*) in the wild? Prospective investigation and climatogeographic considerations. *Parasitology* 144:698-705. doi:10.1017/S0031182016002407

Wood MJ, Childs DZ, Davies AS, Hellgren O, Cornwallis CK, Perrins CM, Sheldon, BC (2013) The epidemiology underlying age-related avian malaria infection in a long-lived host: the mute swan *Cygnus olor*. *Journal of Avian Biology* 44:347-58.
<https://doi.org/10.1111/j.1600-048X.2013.00091.x>

4- Conclusões

A partir dos resultados aqui apresentados, este estudo sugere que o soldadinho-do-araripe pode estar livre de hemosporídeos, devido ao tamanho reduzido da sua população, que pode estar inviabilizando a permanência de parasitos específicos na espécie. Ainda assim, seria interessante a realização de estudos investigando a ocorrência de hemoparasitos na comunidade de aves residente na mesma área de ocorrência da espécie, juntamente com a identificação de potenciais mosquitos vetores. Além de estudos de resistência imunológica, que também podem contribuir com a conservação de *A. bokermanni*.