

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

**DISSERTAÇÃO**

**DIAGNÓSTICO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Isospora* SCHNEIDER,  
1881 (APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM PÁSSAROS DE GAIOLA**

**LIANNA MARIA DE CARVALHO BALTHAZAR**

**2011**



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

DIAGNÓSTICO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Isospora* SCHNEIDER, 1881  
(APICOMPLEXA: EIMERIIDAE) EM PÁSSAROS DE GAIOLA

**LIANNA MARIA DE CARVALHO BALTHAZAR**

**Sob a orientação do Professor**

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

**Co-orientação**

Dr. Walter Flausino

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

**Seropédica, RJ**

**Fevereiro, de 2011**

636.686

B197d

T

Balthazar, Lianna Maria de Carvalho, 1959-.  
Diagnósticos das espécies do gênero  
Isospora Schneider, 1881 (Apicomplexa:  
Eimeriidae) em pássaros de gaiola / Lianna  
Maria de Carvalho Balthazar - 2011.  
62 f.: il.

Orientador: Carlos Wilson Gomes Lopes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade  
Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de  
Pós-Graduação em Ciências Veterinárias.

Bibliografia: f. 27-31.

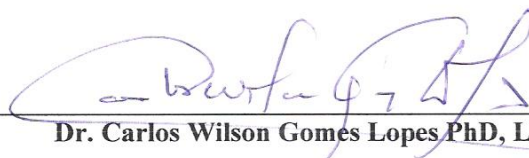
1. Pássaro de gaiola - Doenças - Teses.  
2. Isospora - Teses. 3. Coccidiose - Teses.  
I. Lopes, Carlos Wilson Gomes, 1947-. II.  
Universidade Federal Rural do Rio de  
Janeiro. Curso de Pós-Graduação em  
Ciências Veterinárias. III. Título.

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

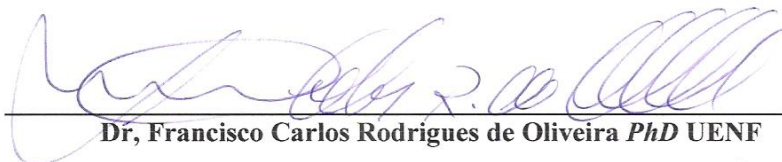
**LIANNA MARIA DE CARVALHO BALTHAZAR**

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

**DISSERTAÇÃO APROVADA EM 23/02/2011**



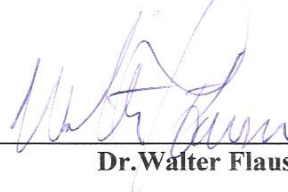
**Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes PhD, LD UFRRJ**



**Dr. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira PhD UENF**



**Dr. Ildemar Ferreira, DSc UFRRJ**



**Dr. Walter Flausino PhD UFRRJ**

## DEDICATÓRIA

*A Deus, que me direciona e me fortalece a cada dia para que seja feita a sua vontade.*

*Aos meus pais, Edir Sixel Balthazar e Maria do Socorro de Carvalho Balthazar, in memoriam, por todo amor e carinho e por tudo que me ensinaram, e, aos meus filhos Erick Balthazar de Souza Alves e Laura Balthazar de Souza Alves pelo apoio, amor e compreensão, mesmo nos momentos mais difíceis que sempre acreditaram na conclusão dessa etapa.*

*A Maria Iracy Carvalho de Paula e Diolita de Sales Alves, pelo grande apoio e carinho.*

*As minhas irmãs Anna Elisa de Carvalho Balthazar Jurema e Ilza Maria de Carvalho Balthazar pela amizade e incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a todos que me apoiaram e ajudaram com sugestões e recomendações para a conclusão desse trabalho.

Em especial, ao Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Laboratório de Coccídios e Coccidioses-Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), pela orientação, dedicação, amizade e acima de tudo pela paciência.

Aos Drs. Walter Flausino e Walter Leira Teixeira Filho também do Laboratório de Coccídios e Coccidioses-Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia, IV UFRRJ, pela grande amizade, pelos conselhos e sugestões.

Aos colegas do Laboratório de Coccídios e Coccidioses, especialmente ao Dr. Bruno Pereira Berto, pós-doutorando, pela amizade e parceria, aos discentes de Pós-Graduação Gisele Santos de Meireles, Landreani Ramirez Gonçalves, Cleide Domingues Coelho, Gilberto Flausino, Janaína da Soledad Rodrigues, Gideão da Silva Galvão, Paulo Daniel de Sant'Ana Leal, Ulisses Jorge Pereira Stelmann, Maria Eduarda Monteiro da Silva, e a aluna de graduação Natália Mello Pereira da Silva por toda compreensão, paciência e amizade.

A todos os proprietários dos pássaros por permitirem o acesso e a coleta das amostras.  
Finalmente a CAPES, agradeço por ter sido agraciada com bolsa de mestrado.

## **BIOGRAFIA**

LIANNA MARIA DE CARVALHO BALTHAZAR, filha de Edir Sixel Balthazar e Maria do Socorro de Carvalho Balthazar, brasileira, nasceu em 25 de outubro de 1962, em Jaboatão dos Guararapes em Pernambuco.

Iniciou sua formação profissional em 1979, ingressando no curso de graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro e graduando-se como médica veterinária em julho de 1983.

Desde então trabalhou no Jockey Club do Rio de Janeiro por 10 anos, como estagiária e médica veterinária, e também em diversos haras nos estados de Pernambuco, Paraná e Rio de Janeiro, e também em clínicas veterinárias com animais de companhia em Guapimirim e Teresópolis.

Em Março de 2009, iniciou o Mestrado no Curso de Pós Graduação em Ciências Veterinárias da UFRRJ.

*"Olhai as aves do céu, que não semeiam,  
nem colhem, nem ajuntam em celeiros; e  
vosso Pai celestial as alimenta."*

*Mateus, cap. 6. v. 26, Bíblia Sagrada.*



## RESUMO

Balthazar, Lianna Maria de Carvalho. **Diagnóstico das espécies do gênero *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) em pássaros de gaiola.** 2011. 62p. Dissertação (Mestre em Ciências Veterinárias, Parasitologia Veterinária). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

A coccidiose por ser de caráter limitante, muitas vezes assintomática, é observada na maioria das aves de gaiola, causando problemas de saúde e prejuízos econômicos tanto para pequenos quanto para grandes criadores. Este trabalho teve como objetivo principal verificar a infecção de coccídios em pássaros de gaiola do município de Teresópolis, localizado na Região Serrana. As aves de gaiola são mantidas como mascotes tanto pela sua beleza como pelo seu canto, e em sua maioria pertencem à ordem Passeriformes. Neste trabalho, os oocistos observados nas fezes desses pássaros de gaiola, foram identificados através das características fenotípicas e análise morfométrica como espécies do gênero *Isoospora* Schneider, 1881. Observou-se que a coccidiose em pássaros de gaiola no presente estudo não foi fator limitante no sistema de criação, apesar da presença de oocistos de coccídios nas fezes das aves estudadas.

Palavras chave: Oocistos; *Isoospora*; coccidiose; Eimeriidae; Teresópolis.

## ABSTRACT

Balthazar, Lianna Maria de Carvalho. **Diagnosis of the species of genus *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) in cage birds.** 2011. 62p. Dissertation (Master Science in Veterinary Sciences, Veterinary Parasitology). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2011.

Coccidiosis as being limiting in nature, often asymptomatic, is observed in most of these cage birds, causing health problems and economic losses for both small and for large breeders. The principal objective of this research was to describe coccidiosis in cage birds located in the City of Teresópolis, from the mountainous region of the State of the Rio de Janeiro. The cage birds are kept as pets for their beauty as for their singing and mostly belong to the order Passeriformes. In this study, oocysts recovered from feces of cage birds were species of the genus *Isospora* Schneider, 1881 identified by the phenotypic and morphometric characteristics. It could be observed that coccidiosis in cage birds in this study did not represent a limiting factor in this system of breeding in spite of the presence of coccidian oocysts in the feces of studied birds.

Keywords: Oocysts; *Isospora*; coccidiosis; Eimeriidae; Teresópolis

## LISTA DE TABELAS

	Págs
<b>Tabela 1.</b> Presença de coccídios nas famílias de pássaros de gaiola na região Serrana, RJ.....	18
<b>Tabela 2.</b> Presença de coccídios em pássaros de gaiola na região Serrana , RJ.....	19
<b>Tabela 3.</b> Distribuição do gênero <i>Isoospora</i> por espécie de pássaro de gaiola da família Cardinalidae na região Serrana, RJ.....	20
<b>Tabela 4.</b> Distribuição do gênero <i>Isoospora</i> por espécie de pássaro de gaiola da família Emberizidae na região Serrana, RJ.....	21
<b>Tabela 5.</b> Distribuição do gênero <i>Isoospora</i> por espécie de pássaro de gaiola da família Thraupidae na região Serrana, RJ.....	22
<b>Tabela 6.</b> Comparação das médias dos oocistos esporulados de <i>Isoospora chanchaoi</i> diagnosticados de <i>Sporophila frontalis</i> e <i>S. schistacea</i> .....	23
<b>Tabela 7.</b> Comparação das médias dos oocistos esporulados de <i>Isoospora saltatori</i> diagnosticados de <i>Saltator similis</i> e <i>Sporophila frontalis</i> .....	24
<b>Tabela 8.</b> Comparação das médias dos oocistos esporulados de <i>Isoospora ticoticoi</i> diagnosticados de <i>Saltator similis</i> e <i>Zonotrichia capensis</i> .....	25
<b>Tabela 9.</b> Morfometria dos oocistos das espécies do gênero <i>Isoospora</i> diagnosticadas de pássaros de gaiola na região Serrana.....	26

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Sanhaço-cinzento <i>Thraupis sayaca</i> , família Thraupidae.....	8
<b>Figura 2.</b> Tico-tico <i>Zonotrichia capensis</i> , família Emberizidae.....	8
<b>Figura 3.</b> Pixanção <i>Sporophila frontalis</i> , família Emberizidae.....	9
<b>Figura 4.</b> Curió <i>Sporophila angolensis</i> , família Emberizidae.....	9
<b>Figura 5.</b> Coleiro <i>Sporophila caerulescens</i> , família Emberizidae.....	10
<b>Figura 6.</b> Trinca-ferro-verdadeiro <i>Saltator similis</i> , família Cardinalidae.....	10
<b>Figura 7.</b> Gaiolas dos pássaros mantidos como animais de companhia.....	11
<b>Figura 8.</b> Procedimento de forragem do fundo da gaiola com papel toalha de folha dupla onde posteriormente foram coletadas as amostras de fezes.....	12
<b>Figura 9.</b> Papel toalha de folha dupla do fundo da gaiola com amostras de fezes para coleta.....	13
<b>Figura 10</b> Amostras em placas de Petri e mantidas em temperatura entre 20°C a 23°C para esporulação dos oocistos.....	14
<b>Figura 11.</b> Técnica de flutuação em solução saturada de açúcar modificada por Duszynski e Wilber (1997).....	14

## SUMÁRIO

	Págs
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	1
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	2
<b>2.1. COCCIDIOSE EM AVES DE GAIOLA.....</b>	2
<b>2.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS.....</b>	3
<b>2.2.1. Ciclo Enteroepitelial.....</b>	3
<b>2.2.2. Ciclo Sistêmico.....</b>	4
<b>2.3. SANIDADE EM AVES DE GAIOLA.....</b>	5
<b>2.3.1. Nutrição.....</b>	5
<b>2.3.2. Coccidiose em aves mantidas como animais de companhia em gaiolas.....</b>	6
<b>2.3.3. Diagnóstico da coccidiose em aves de gaiola.....</b>	6
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	7
<b>3.1. LOCAL DE COLETA.....</b>	7
<b>3.2. COLETA DAS AMOSTRAS.....</b>	7
<b>3.3. LOCAL DE TRABALHO.....</b>	12
<b>3.4. PROCEDIMENTO LABORATORIAL.....</b>	13
<b>3.4.1. Processamento das amostras.....</b>	13
<b>3.4.2. Visualização dos oocistos.....</b>	15
<b>3.4.3. Identificação das espécies.....</b>	15
<b>3.4.4. Identificação de novos hospedeiros.....</b>	15
<b>3.5. TESTES ESTATÍSTICOS.....</b>	16
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	17
<b>4.1. AVES DE GAIOLA E AMOSTRAS POSITIVAS PARA COCCÍDIOS.....</b>	17
<b>4.2. FAMÍLIAS DE PÁSSAROS DE COMPANHIA MAIS FREQUENTES NA REGIÃO ESTUDADA.....</b>	17
<b>4.3. DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Isospora</i> ENCONTRADAS EM CARDINALIDAE.....</b>	18
<b>4.4. DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Isospora</i> ENCONTRADAS EM EMBERIZIDAE.....</b>	19

4.5.DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Isohora</i> ENCONTRADAS EM THRAUPIDAE.....	21
4.6.INFECCÃO CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE COCCÍDIOS DENTRO DE UMA MESMA FAMÍLIA DE PÁSSAROS.....	22
4.7.INFECCÃO CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE COCCÍDIOS EM HOSPEDEIROS DE DIFERENTES FAMÍLIAS DE PÁSSAROS.....	23
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>27</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>28</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>33</b>
7.1. ANEXO A – BERTO, B.P.; BALTHAZAR, L.M.C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Two New Coccidian Parasites of Green-Winged Saltator ( <i>Saltator similis</i> ) from South América. <i>Acta Protozoologica</i> , v. 47, n.3, p.263-267, 2008.....	34
7.2. ANEXO B – RAMIREZ, L.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; BERTO, B.P.; BALTHAZAR, L.M.C.; LOPES, C.W.G. Caracterização de variações morfométricas com a utilização da regressão linear em espécies do gênero <i>Eimeria</i> em caprinos da região serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. <i>Revista Brasileira de Medicina Veterinária</i> , v.31, n.3, p.173-178, 2009.....	39
7.3. ANEXO C – BALTHAZAR, L.M.C.; BERTO, B.P.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. <i>Isohora ticoticoi</i> n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the rufous-collared sparrow <i>Zonotrichia capensis</i> in South America. <i>Acta Protozoologica</i> , v.48, n.4, p.345-349, 2009.....	45
7.4. ANEXO D – BALTHAZAR, L.M.C.; BERTO, B.P.; FLAUSINO, W. & LOPES, C.W.G. The slatecolored seedeater, <i>Sporophila schistacea</i> , a new host for <i>Isohora chanchaoi</i> . <i>Revista Brasileira de Medicina Veterinária</i> , v.31, n.4, p.253-255, 2009.....	50
7.5. ANEXO E – BERTO, B.P.; BALTHAZAR, L.M.C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Three new species of <i>Isohora</i> Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffy-fronted seedeater <i>Sporophila</i>	

*frontalis* Verreaux, 1869 (Passeriformes: Emberezidae) from South America.  
*Systematic Parasitology*, v.73, n.1, p.65-69, 2009..... 53

**7.6. ANEXO F – BERTO, B.P.; BALTHAZAR, L.M.C.; FLAUSINO, W.;**  
LOPES, C.W.G. New isosporoid coccidian parasites of sayaca tanager,  
*Thraupis sayaca*, from South América. *Acta Parasitologica*, v.54, n.2, p.90-  
94, 2009..... 58

## 1. INTRODUÇÃO

As aves canoras sempre atraíram o interesse do homem para sua criação em cativeiro. Atualmente, muitas dessas aves são mantidas como mascotes, gerando um crescente número de criadores.

A ordem Passeriformes é de distribuição mundial e com grande grupo de pássaros. As famílias de maior interesse são: Fringillidae, Estrildidae, Emberizidae e Tyrannidae.

Uma doença parasitária, causada por protozoários dos gêneros *Eimeria* Schneider, 1875 e *Isospora* Schneider, 1881, a coccidiose, vem a ser direta ou indiretamente responsável por mais da metade dos problemas de saúde das aves de gaiola. Estas infecções são responsáveis por importantes modificações na estrutura das vilosidades intestinais, acarretando a diminuição da absorção de nutrientes, podendo causar diarreias sanguinolentas ou não. Aves de todas as idades podem ser acometidas, onde a infecção ocasiona prejuízos econômicos em pequenas e grandes criações.

A coccidiose possui caráter limitante, sendo observada na maioria das aves de gaiola, entretanto na maioria das vezes, assintomática. Justifica-se, portanto, como objetivo principal verificar a presença de coccídios em aves de gaiola no município de Teresópolis, localizado na Região Serrana, RJ.

Tendo como objetivos específicos identificar os oocistos de *Isospora* e/ou *Eimeria* recuperados das fezes das espécies de aves examinadas, e verificar o envolvimento destes coccídios como um dos fatores limitantes neste sistema de criação.



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. COCCIDIOSE EM AVES DE GAIOLA

A coccidiose em aves de gaiola pode ser causada principalmente por protozoários dos gêneros *Eimeria* e *Isospora*. A transmissão de coccídios do gênero *Isospora* ocorre principalmente por via feco-oral. Os oocistos são de difícil destruição no meio ambiente, pois possuem parede resistente que os protege da desinfecção química, favorecendo assim, a sua viabilidade para infecção em criatórios de pássaros (BELLI et al., 2006).

Espécies da família Eimeriidae Minchin, 1903 associados à ordem Passeriformes são relatadas há mais de dois séculos (DUSZYNSKI et al., 2004). Além disso, estes mesmos autores validaram e agruparam aproximadamente 100 espécies de coccídios às diversas famílias desta ordem e ainda citam que espécies do gênero *Isospora* Schneider, 1881 são específicas a cada uma das famílias.

No Brasil, espécies do gênero *Isospora* foram descritas em Passeriformes por Carvalho Filho et al. (2005), Trachta-e-Silva et al. (2006), Berto et al. (2008a,b) e Balthazar et al. (2009a,b). Do mesmo modo, muitas das espécies de pássaros encontradas podem ser simpátricas no Brasil (BIRD LIFE INTERNATIONAL, 2007). Sendo assim, a transmissão de uma mesma espécie de coccídios pode ser observada entre espécies de pássaros simpátricos, surgindo, portanto, novos hospedeiros (BERTO et al., 2008a,b; 2009a,b; BALTHAZAR et al., 2009a).

Em pássaros de gaiola, as infecções parasitárias são pouco consideradas, pois o parasitismo pode ser confundido com a etiologia de outras doenças devido à similaridade dos sinais clínicos ou mesmo, devido à dificuldade de diagnóstico. Os oocistos podem não ser eliminados necessariamente a cada vez que o pássaro defeca, esse pássaro pode ser significativo para a infecção e não ter oocistos identificados em uma determinada amostra fecal examinada (CLYDE; PATTON, 1996; PAGE; HADDAD, 1995).

Em caso de óbito, é ideal que seja feita à necropsia, precavendo-se de um diagnóstico incorreto (DORRESTEIN, 2003; PERRUCCI et al., 1998).

As infecções por esses coccídios causam modificações na estrutura das vilosidades intestinais, ocorrendo uma diminuição no comprimento da vilosidade e na superfície de absorção de sua mucosa. Frequentemente ocorre à destruição das células epiteliais do intestino, impedindo a renovação da superfície das vilosidades, levando a perda de fluidos,

hemorragia e susceptibilidade a outras infecções (CLYDE; PATTON, 1996; DORRESTEIN, 2003; JOSEPH, 2003). Os pássaros com esta infecção têm desconforto causado pela dor, com esse problema derrubam muitas sementes para fora do comedouro causando a conhecida diarreia branca, que na verdade não é um quadro de diarreia, pois com a falta de nutrientes não absorvidos na alimentação, o organismo ataca as reservas existentes nos tecido adiposo e muscular, causando perda de peso onde destacará o osso do peito em forma de facão, conhecido vulgarmente por peito seco (OLIVEIRA,2004; REIS, 2010).

## **2.2. ASPECTOS BIOLÓGICOS**

### **2.2.1. Ciclo enteroepitelial**

Os coccídios desenvolvem um ciclo reprodutivo assexuado (merogonia) e sexuado (gametogonia) dentro das células do hospedeiro (fase endógena) e esporogonia no meio exterior (fase exógena), produzindo oocistos extremamente resistentes, que são eliminados com as fezes e completam seu desenvolvimento com a esporulação fora do hospedeiro. Estes oocistos após ingeridos pelo hospedeiro, sob ação das enzimas digestivas e dos sais biliares no trato digestivo, sofrem ruptura da dupla membrana de proteção, liberando os esporozoítos. Cada esporozoíto penetra em uma célula intestinal, e dependendo da espécie demonstram afinidade pelas células do intestino delgado e/ou grosso ou mesmo a alguma outra porção do trato digestório, e se desenvolve em trofozoíto, primeiro estágio celular do ciclo assexuado, processo de merogonia (esquizogonia). Após o período de maturação, este trofozoíto se rompe liberando os merozoítos de primeira geração, que penetram novamente nas células intestinais onde geram os esquizontes de segunda geração, que ao se romper liberarão novos merozoítos. Após uma, ou mais, gerações de merontes, o ciclo prossegue com a fase sexuada, através da gametogonia, ou seja, produção de gamontes que mais tarde se diferenciam em macro e microgametócitos. Estes, por sua vez, originam macro e microgametas respectivamente, cuja união produzirá oocistos imaturos que romperão a célula intestinal sendo eliminados do hospedeiro pelas fezes (TYZZER, 1929; TYZZER et al., 1932; LEVINE, 1985; BALL et al., 1989).

### 2.2.2. Ciclo Sistêmico

Estágios proliferativos de *Isoospora* foram primeiramente descritos por Garnham (1950) como gênero *Atoxoplasma*. Já Lainson (1958; 1959; 1960) relatou *Lankesterella* em pardais *Passer domesticus domesticus*. Ainda em 1958, o mesmo autor, ao visualizar gametócitos nas vísceras, também argumentou que a infecção poderia ser transmitida para os pardais através do ácaro *Dermanyssus gallinae* De Geer, 1778. Box (1966, 1970, 1981) afirmou que *Lankesterella* (atoxoplasmoses) de pardais e canários não poderiam ser transmitidos através de transfusão sanguínea ou através de ácaros ingurgitados, mas apenas através da ingestão de oocistos esporulados de *Isoospora*. Nessa mesma época, Box (1981) relacionou estágios viscerais de merogonia com infecção intestinal por *Isoospora*.

Com isso, dois ciclos de diferentes desenvolvimentos de espécies de *Isoospora* em Passeriformes são conhecidos: *Isoospora canaria*, e *Isoospora serini*.

*Isoospora canaria* restrito ao intestino com três esquizogonias e uma gametogonia, onde os estágios endógenos ocorrem somente no epitélio do intestino delgado. Este tipo de infecção é auto-limitante com ausência de reinfecção. Período pré-patente de quatro a cinco dias e não parasita macrófagos. Por outro lado, *Isoospora serini* produz infecção crônica, ciclo nos macrófagos com cinco merogonias (gerações assexuadas) e no epitélio intestinal ocorrem duas merogonias e uma gametogonia (estágio sexual). Período pré-patente de nove a dez dias (BOX, 1977).

As duas formas de coccidioses em canários podem servir como exemplo geral para a patogenicidade de coccídios em Passeriformes (ZINKE et al., 2004)

## 2.4. SANIDADE EM PÁSSAROS DE GAIOLA

### 2.4.1. Nutrição

Como modelo de nutrição, os criadores se baseiam na criação de canários. Os Passeriformes em sua maioria se alimentam de sementes e sua taxa basal metabólica é aproximadamente 65% maior que os não-Passeriformes (COUTTEL, 2003). A alimentação básica deve consistir de sementes diversas e um complemento que tenha proteína animal para substituir os insetos que são capturados pelas aves na natureza. A maioria das misturas de sementes comerciais é deficiente em várias vitaminas, como A, D<sub>3</sub>, E, K.

Basicamente a mistura de sementes se constitui de: alpiste (50%); painço (30%); senha (10%) e niger (10%), e, como complemento fubá grosso ou quirera de milho; farinha: ovo cozido, flocos de milho pré-cozidos e farelo de soja (com nível de proteínas entre 19 a 23%), complexos de vitaminas e de aminoácidos. Lembrando que a dieta vai variar dependendo do período em que a ave se encontra: reprodução, manutenção e muda. A atenção máxima deve ser dada à alimentação no período em que as fêmeas estão tratando de suas ninhadas. Elas, que em sua maioria não apreciam alimentos vivos, nesse período devoram grande quantidade de larvas *Tenebrio molitor* (besouro da farinha) ou larvas *Palembus dermestoides* (besouro do amendoim), pois constituem uma grande fonte de proteína bruta. O pepino se aceito, é um ótimo complemento alimentar, pois é rico em colágeno, um importante componente dos tecidos de revestimento, conferindo elasticidade e resistência às penas, evitando que elas se quebrem facilmente e as mantendo bonitas por mais tempo, principalmente as penas originadas na muda mais recente. Para o fornecimento de cálcio, a farinha de ostra ou o osso de ciba são boas alternativas, especialmente para as fêmeas, que utilizam grandes quantidades deste mineral na composição da casca dos ovos (OLIVEIRA, 2004; ANÔNIMO, 2010; REIS, 2010).

A água deve ser filtrada, renovada diariamente, e os bebedouros bem limpos, principalmente no caso dos trinca-ferros, que possuem o hábito de levar o alimento para o bebedouro, criando assim um ambiente propício para o surgimento de bactérias e fungos (REIS, 2010).

#### **2.4.2. Coccidioses em aves mantidas como animais de companhia em gaiolas**

Diversos estudos têm indicado que coccídios intestinais podem ter uma forte influência na saúde e fisiologia de seus hospedeiros, determinando com isso que podem inibir a absorção de carotenóides, um hidrocarboneto lipossolúvel e potente imunestimulante e antioxidante. Quanto ao gênero *Isospora*, por ser mais específico ao hospedeiro é o gênero mais frequente entre Passeriformes. Segundo Zinke et al. (2004), interações entre a carga parasitária e a saúde individual têm sugerido influenciar no sucesso da infecção, e endoparasitos, como os coccídios podem induzir um maior consumo de energia, reações imunes, disfunção de órgãos internos e doença clínica. Porém, a infecção subclínica é a mais comum, sendo associada ao estresse, à superpopulação e principalmente em animais jovens onde se pode observar a presença de diarreia mucóide ou com sangue, resultando com isso em desidratação. Em casos graves, observa-se destruição da mucosa intestinal o que pode induzir a má absorção, anemia e hipoproteinemia (PAGE; HADDAD, 1995; CLEYDE; PATTON, 1996)

#### **2.4.3. Diagnóstico da coccidiose em aves de gaiola**

A estimativa da intensidade de infecção por coccídios em aves de estimação é essencial para o diagnóstico da doença mesmo subclínica e consiste sempre na observação de oocistos não esporulados nas fezes. Nos casos graves, a associação com os sintomas clínicos sempre será importante (PAGE; HADDAD, 1995; CLEYDE; PATTON, 1996).

A observação dos oocistos é realizada através de métodos de flutuação (DORRESTEIN, 2003). As identificações das espécies far-se-ão sempre com base na morfometria dos oocistos esporulados (DUSZINSKI; WILBER, 1997).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. LOCAL DE COLETA**

O local selecionado por conveniência foi o município de Teresópolis localizado na região serrana, RJ, onde existe um número expressivo de pássaros de gaiola considerados como animais de companhia.

#### **3.2. COLETA DAS AMOSTRAS**

A coleta das amostras foi feita por conveniência em diversas propriedades onde os pássaros eram mantidos como animais de companhia. Sendo assim, as amostras foram coletadas do fundo das gaiolas onde previamente foi forrado com papel toalha de folha dupla, onde cada uma das amostras foi recolhida ao se recortar as áreas onde se observava o material defecado (Figuras 1 e 2). A seguir, esta amostra foi colocada em um frasco de vidro com tampa rosqueada, devidamente identificado com o nome da espécie do pássaro, local da coleta, estado clínico, idade do animal e data da coleta. Ao conteúdo fecal foram adicionadas cinco partes solução aquosa de dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) a 2,5% (w/v). Um total de 155 amostras foi obtido nessa região (Figuras 1-7).



**Figura 1.** Sanhaço-cinzento *Traupis sayaca*, família Traupidae.



**Figura 2.** Tico-tico *Zonotrichia capensis*, família Emberizidae.





**Figura 3.** Pixanxão *Sporophila frontalis*, família Emberizidae.



**Figura 4.** Curió *Sporophila angolensis*, família Emberizidae.





**Figura 5.** Coleiro *Sporophila caerulecens*, família Emberizidae.



**Figura 6.** Trinca-ferro-verdadeiro *Saltator similis*, família Cardinalidae.



**Figura 7.** Gaiolas dos pássaros mantidos como animais de companhia.



### 3.3. LOCAL DE TRABALHO

Este projeto foi desenvolvido em sua totalidade no Laboratório de Coccídios e Coccidioses – Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.



**Figura 8.** Procedimento de forragem do fundo da gaiola com papel toalha de folha dupla onde posteriormente foram coletadas as amostras de fezes.



**Figura 9.** Papel toalha de folha dupla do fundo da gaiola com amostras de fezes para coleta.

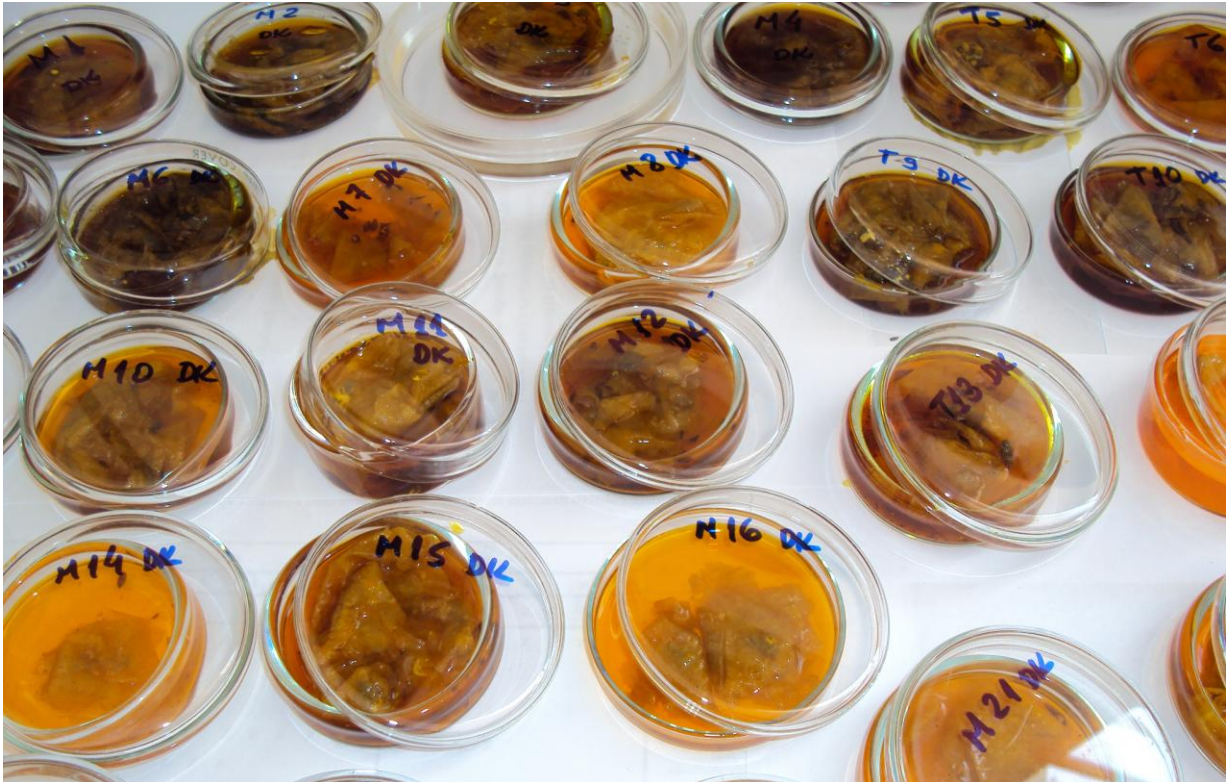
### **3.4. PROCEDIMENTO LABORATORIAL**

#### **3.4.1. Processamento das amostras**

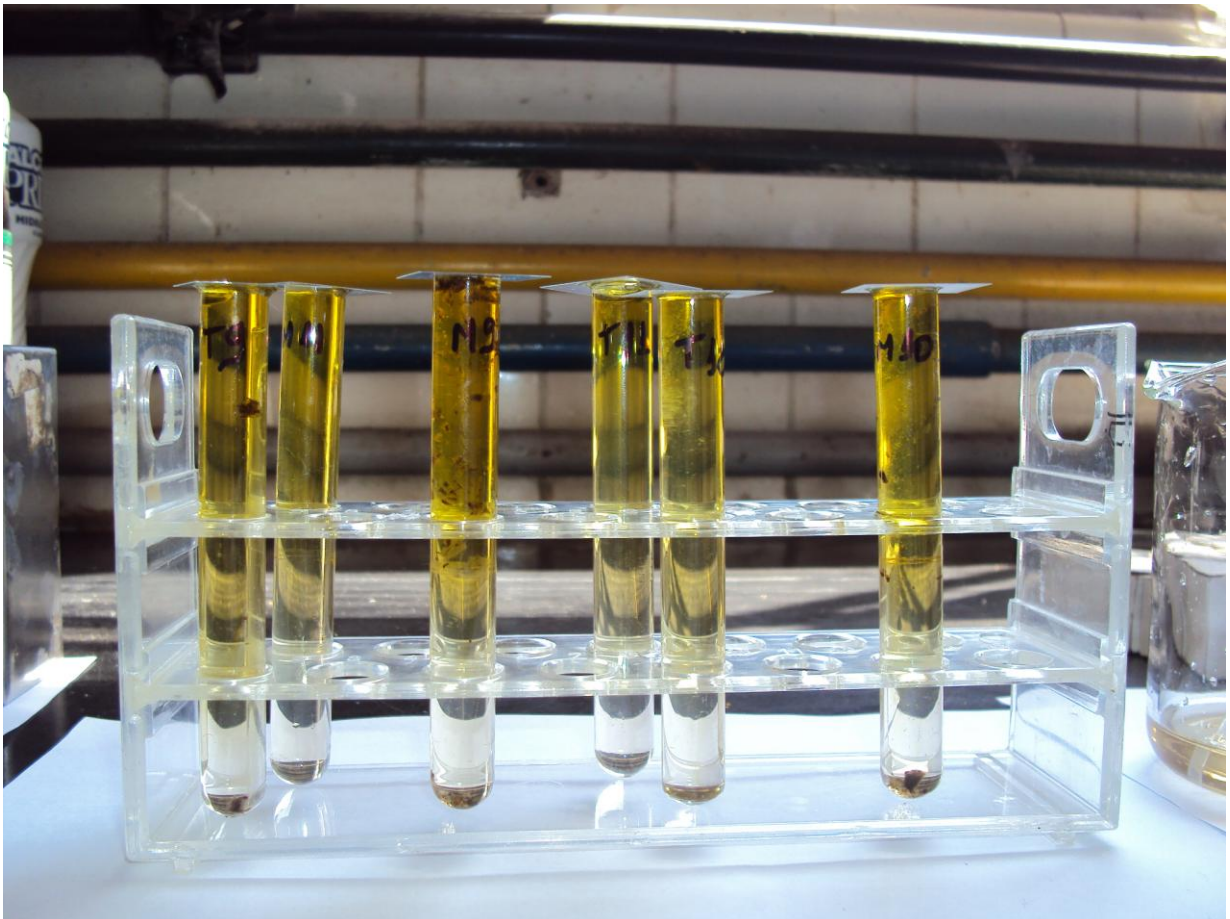
No laboratório, o conteúdo de cada amostra foi vertido em uma placa de Petri e mantido em temperatura ambiente até a verificação de no mínimo 70% dos oocistos esporulados em cada amostra, sendo que este percentual foi avaliado com auxílio de um microscópio binocular (Karl Zeiss, RFA) (Figura 10).

Após a esporulação dos oocistos, estes foram lavados e concentrados pela técnica descrita por Duszynski e Wilber (1997) e modificada através de flutuação em solução saturada de açúcar (500g sacarose, 350ml água, 5ml fenol), via centrifugação por cinco minutos, a 447 x G. O sedimento foi suspenso em água destilada em tubos de ensaio e centrifugado, repetidamente, até a retirada do excesso de dicromato de potássio. Após esse procedimento, o sedimento foi novamente centrifugado em solução saturada de açúcar (Figura 11).





**Figura 10** Amostras em placas de Petri e mantidas em temperatura entre 20°C a 23°C para esporulação dos oocistos.



**Figura 11.** Técnica de flutuação em solução saturada de açúcar modificada por Duszynski e Wilber (1997).

Depois da centrifugação, ao sedimento do tubo de ensaio foi acrescentada mais solução saturada de açúcar até o limite da abertura para formar um menisco convergente, onde foi depositada uma lamínula 12 x 24cm e mantida por um período entre 5 a 10 min. Após este período, a lamínula foi retirada e colocada cuidadosamente na superfície de uma lâmina de vidro para microscopia.

#### **3.4.2. Visualização dos oocistos**

Para visualização dos oocistos esporulados foi utilizado o mesmo microscópio binocular citado acima com auxílio de uma ocular micrométrica K-15X PZO (Polônia), em objetiva de 100X. Com isso foi caracterizado morfometricamente cada oocisto encontrado com base na proposta de Duszynski e Wilber (1997).

#### **3.4.3. Identificação das espécies**

Para identificação dos oocistos recuperados nas fezes dos pássaros foram utilizados os aspectos morfológicos como base as características fenotípicas, destacadas por Tenter et al. (2002) e, previamente já utilizadas na identificação e classificação de coccídios por Duszynski e Wilber (1997). Onde estes últimos autores consideraram o conceito de especificidade em nível de família, quando sugeriram que os oocistos recuperados de um hospedeiro fossem comparados com outras espécies de coccídios previamente descritas em pássaros de uma mesma família.

#### **3.4.4. Identificação de novos hospedeiros**

Após a identificação de cada espécie de coccídio, esta foi relacionada com o seu hospedeiro. Quando esta for observada em mais de um hospedeiro, caso não tenha sido previamente descrita, será considerado como um novo hospedeiro.

### 3.5. TESTES ESTATÍSTICOS

O estudo estatístico realizado consistiu inicialmente de medidas de tendência central para os diâmetros maior e menor, índice morfométrico ou teste de comparação de médias conforme Sampaio (2002).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras de fezes examinadas positivas, procedentes de aves de companhia e mantidas em gaiolas, pode-se considerar que somente espécies dispóricas tetrazóicas foram encontradas, e portanto consideradas do gênero *Isoospora* durante o período de avaliação. Não foram diagnosticados oocistos nas amostras de fezes de 25 pássaros das famílias Icteridae, Fringilidae e Turdidae.

### 4.1. AVES DE GAIOLA E AMOSTRAS POSITIVAS PARA COCCÍDIOS.

Das aves identificadas, ocorreu predominância de seis famílias encontradas na região serrana ou mais precisamente no município de Teresópolis. A família com maior número de pássaros positivos para coccídios, sendo assim a mais representativa, foi a Cardinalidae seguida da família Emberizidae e finalmente pela família Thraupidae (Tabela 1) na quantidade de espécies observadas como animais de companhia. Porém, a que teve um maior número de espécies infectados foi a família Emberizidae, seguida da família Cardinalide e Thraupidae respectivamente (Tabela 2) onde a espécie *Sporophila frontalis*, *S. caerulencens*, *Zonotrichia capensis* e *S. schistacea* foram parasitadas por espécies do gênero *Isoospora*. Apesar das famílias Cardinalide e Thraupidae terem um número maior de pássaros examinados, foi representado cada uma por somente uma espécie de pássaro. Em condições naturais não se observou esta relação sendo representativa à família Thraupidae com um maior número de espécies positivas, seguida das famílias Tyranidae e Coerebidae, onde na maioria das vezes não foram representadas por pássaros canoros (BERTO, 2010). O que não seria o caso para aves de gaiola por serem considerados como animais de companhia.

### 4.2. FAMÍLIAS DE PÁSSAROS DE COMPANHIA MAIS FREQUENTES NA REGIÃO ESTUDADA.

As principais famílias parasitadas por coccídios isosporóides foram da parvordem Corvida, infraordem Passeri: famílias Cardinalidae, Emberizidae, e Thraupidae. Classificação



esta já apresentada previamente para pássaros capturados na Ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro, RJ (BERTO, 2010).

**Tabela 1.** Presença de coccídios nas famílias de pássaros de gaiola na região Serrana, RJ.

Família	Número de pássaros examinados	Oocistos	
		Positivos	%
Cardinalidae	45	34	76
Emberizidae	81	25	31
Icteridae	8	0	0
Fringilidae	11	0	0
Thraupidae	4	2	50
Turdidae	6	0	0
Total	155	61	39

#### 4.3 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Isospora* ENCONTRADAS EM CARDINALIDAE

Na família Cardinalidae, das 45 amostras examinadas 76 % foram positivas sendo as espécies encontradas pertencentes somente ao gênero *Isospora* com as espécies *I. chanchaoi*, *I. saltatori* e *I. ticoticoi*, sendo que *I. saltatori* e *I. trincaferri* foram originalmente descritas no trinca-ferro (BERTO et al., 2008b), *I. ticoticoi* em *Z. capensis* (BALTHAZAR et al., 2009a) e *I. chanchaoi* em *S. frontalis* (BERTO et al., 2009a). As espécies *I. saltatori* e *I. trincaferri* foram as mais representativas para o trinca-ferro conforme suas descrições originais (Tabela 3)

**Tabela 2.** Frequência de coccídios do gênero *Isoospora* em pássaros de gaiola na região Serrana, RJ.

Hospedeiro		Oocistos		
Nome		Examinados	Positivos	%
Comum	Científico			
<b>Emberizidae:</b>				
Pixanxão	<i>Sporophila frontalis</i>	25	16	64
Coleiro	<i>S. caerulencens</i>	20	3	15
Cigarrinha-do-norte	<i>S. schistacea</i>	3	2	67
Tico-tico	<i>Zonotrichia capensis</i>	10	4	40
<b>Sub-total:</b>		<b>58</b>	<b>25</b>	<b>43,10</b>
<b>Cardinalidae:</b>				
Trinca-ferro	<i>Saltator similis</i>	45	34	76
<b>Thraupidae:</b>				
Sanhaço cinzento	<i>Thraupis sayaca</i>	4	2	50
<b>Total:</b>		<b>107</b>	<b>61</b>	<b>57</b>

#### 4.4 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Isoospora* ENCONTRADAS EM EMBERIZIDAE

Na família Emberizidae (Tabela 4), foram observadas uma alta diversidade de espécies onde a mais parasitada por coccídios foi o pixanxão (*Sporophila frontalis*), seguido do coleiro (*Sporophila caerulescens*), tico-tico (*Zonotrichia capensis*) e finalmente da cigarrinha-do-norte (*Sporophila schistacea*).

**Tabela 3.** Distribuição do gênero *Isoospora* por espécie de pássaro de gaiola da família Cardinalidae na região Serrana, RJ.

Hospedeiro					Oocistos		
Nome		Examinados			Espécies encontradas	Número de hospedeiros por espécie	
Comum	Científico	Total	positivos	negativos		positivos	%
<i>Trinca-ferro</i>	<i>Saltator similis</i>	45	34	11	<i>Isoospora chanchaoi</i>	2	5,9
					<i>I. saltatori</i>	27	79,4
					<i>I. teresopoliensis</i>	1	2,94
					<i>I. trincaferri</i>	16	47,05
					<i>I. ticoticoi</i>	1	2,94

No pixanção foi assinalada uma maior distribuição de espécies de coccídios entre os membros desta família, onde espécies foram originalmente descritas como *I. chanchaoi*, *I. frontalis*, e *I. teresopoliensis* em *S. frontalis* (BERTO et al., 2009a). Com exceção de *I. ticoticoi*, descrita previamente por Balthazar et al. (2009b) em *Z. capensis*, os outros coccídios foram assinalados em novos hospedeiros dentro da própria família Emberizidae: *I. chanchaoi*, na cigarrinha-do-norte; e *I. teresopoliensis* em *Z. capensis*, o que corrobora com as colocações de Duszynski e Wilber (1997). Entretanto, esta teoria é confrontada quando se encontra em espécies desta família oocistos de *I. saltatori* em *S. caerulencens* descrita previamente em trinca-ferro, da família Cardinalidae, por Berto et al. (2008b).

**Tabela 4.** Distribuição do gênero *Isospora* por espécie de pássaro de gaiola da família Emberizidae na região Serrana, RJ.

Hospedeiro					Oocistos		
Nome		Examinados			Espécies encontradas	Número de hospedeiros por espécie	
Comum	Científico	Total	positivos	negativos		positivos	%
Cigarrinha-do-norte	<i>Sporophila schistacea</i>	3	2	1	<i>Isospora chanchaoi</i>	2	100
Pixanxão	<i>S. frontalis</i>	25	16	9	<i>I. chanchaoi</i>	12	75
					<i>I. saltatori</i>	10	62,5
					<i>I. frontalis</i>	1	6,25
					<i>I. teresopoliensis</i>	2	12,5
Coleiro	<i>S. caerulencens</i>	20	3	17	<i>I. saltatori</i>	3	100
Tico-tico	<i>Zonotrichia capensis</i>	10	4	6	<i>I. ticoticoi</i>	4	100
					<i>I. teresopoliensis</i>	1	25

#### 4.5 DISTRIBUIÇÃO DAS ESPÉCIES DO GÊNERO *Isospora* ENCONTRADAS EM THRAUPIDAE

Nesta família (Tabela 5) das quatro amostras examinadas 50% foram positivas, onde *I. sanhaci* foi observada em duas amostras, enquanto *I. sayacae* e *I. silvasouzai* em um pássaro cada, consideradas como um novo hospedeiro, visto que estas espécies foram descritas por Berto et al. (2009b) e somente foram encontradas neste trabalho em *Thraupis sayaca*.

**Tabela 5.** Distribuição do gênero *Isoospora* por espécie de pássaro de gaiola da família Thraupidae na região Serrana, RJ.

Hospedeiro					Oocistos		
Nome		Examinados			Espécies encontradas	Número de hospedeiros por espécie	
Comum	Científico	Total	positivos	negativos		positivos	%
Sanhaço	<i>Thraupis</i>	4	2	2	<i>I. sanhaci</i>	2	50
cinzento	<i>sayaca</i>				<i>I. sayacae</i>	1	25
					<i>I. silvasouzai</i>	1	25

#### 4.6 INFECÇÃO CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE COCCÍDIOS DENTRO DE UMA MESMA FAMÍLIA DE PÁSSAROS.

Ao se observar a tabela 4 encontra-se a mesma espécie de *Isoospora* assinalada em mais de uma espécie de hospedeiros da mesma família onde se observa que cada espécie do gênero *Isoospora* encontrada em um maior número de espécies de pássaros está em concordância com as descrições originais (BERTO et al., 2009b) a exceção de *I. chanchaoi* que foi também encontrada na cigarrinha-do-norte *S. schistacea*. Estas observações foram compatíveis com Duszynski e Wilber (1997) que mencionaram ser compatível à presença de uma única espécie de *Isoospora* em mais de uma espécie de pássaro de mesma família. Esta afirmação pode ser verificada na tabela 6 onde se verifica que não há diferença entre os oocistos esporulados de *I. chanchaoi* recuperados das fezes do pichanchão e da cigarrinha-do-norte.

**Tabela 6.** Medidas para uma espécie de *Isospora* diagnosticada em duas espécies de pássaros da família Emberizidae

Média	Oocistos (µm)	
	<i>Isospora chanchaoi</i>	
	<i>Sporophila frontalis</i> Pixanxão	<i>S. schistacea</i> Cigarrinha-do-norte
<i>Oocistos:</i>		
Diâmetro maior	22,0 (21-23) <sup>a</sup>	22,4 (22-23) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	24,2 (23-26) <sup>a</sup>	24,7 (23-26) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,10 (1,0-1,1) <sup>a</sup>	1,10 (1,0-1,2) <sup>a</sup>
<i>Esporocistos:</i>		
Diâmetro maior	10,3 (10-11) <sup>a</sup>	11,0 (10-12) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	16,1 (15-17) <sup>a</sup>	16,6 (16-17) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,56 (1,5-1,6) <sup>a</sup>	1,52 (1,4-1,6) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Letras iguais em linha significa médias estatisticamente equivalentes (p>0,01) pelo teste t de Student

#### 4.7 INFECÇÃO CRUZADA ENTRE ESPÉCIES DE COCCÍDIOS EM HOSPEDEIROS DE DIFERENTES FAMÍLIAS DE PÁSSAROS.

Estas observações foram feitas com pássaros de gaiolas onde haviam mais de uma espécie e de famílias diferentes (Tabelas 7 e 8), porém duas situações são observadas. Na primeira observa-se que as medidas dos oocistos esporulados foram diferentes para *I. saltatori* procedente de *S. similis* e *S. frontalis* onde o primeiro está classificado na família Cardinalidae e o segundo na família Emberizidae (Tabela 7), enquanto que em *I. ticoticoi* não houve diferenças morfométricas entre os oocistos esporulados recuperados de duas espécies de pássaros, *S. similis* e *Z. capensis*, onde o primeiro está classificado na família Cardinalidae e o segundo na família Emberizidae. Situação esta que pode ser observada em outras espécies de hospedeiros onde, em muitas das vezes, uma só espécie de coccídio pode ser encontrada em espécies diferentes como é o caso da *Eimeria capraovina* (LIMA, 1980) frequentemente

encontrada em caprinos e ovinos e as espécies do gênero *Eimeria* que até o presente momento tem sido descritas em dois hospedeiros distintos, como seria neste último caso em bovinos e búfalos (LEVINE; IVENS, 1970; MARQUARDT, 1973; LEVINE, 1985)

**Tabela 7.** Comparação das médias dos oocistos esporulados de *Isoospora saltatori* diagnosticados de *Saltator similis* e *Sporophila frontalis*.

Média	Oocistos ( $\mu\text{m}$ )	
	<i>Isoospora saltatori</i>	
	<i>Saltator similis</i> Trinca-ferro	<i>Sporophila frontalis</i> Pixanção
<i>Oocistos:</i>		
Diâmetro maior	17,9 (16-20) <sup>a</sup>	21,6 (20-23) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	18,3 (17-20) <sup>a</sup>	20,6 (18-22) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,02 (1,0-1,1) <sup>a</sup>	1,05 (1,0-1,1) <sup>a</sup>
<i>Esporocistos:</i>		
Diâmetro maior	8,9 (8-10) <sup>a</sup>	9,2 (9-10) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	13,4 (12-15) <sup>a</sup>	14,6 (14-16) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,52 (1,4-1,7) <sup>a</sup>	1,60 (1,5-1,7) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Letras iguais em linha significa médias estatisticamente equivalentes ( $p > 0,01$ ) pelo teste t de Student

**Tabela 8.** Comparação das médias dos oocistos esporulados de *Isospora ticoticoi* diagnosticados de *Saltator similis* e *Zonotrichia capensis*.

Média	Oocistos ( $\mu\text{m}$ )	
	<i>Isospora ticoticoi</i>	
	<i>Saltator similis</i> Trinca-ferro	<i>Zonotrichia capensis</i> Tico-tico
<i>Oocistos:</i>		
Diâmetro maior	22,2 (21-23) <sup>a</sup>	22,6 (20-24) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	23,6 (23-25) <sup>a</sup>	23,4 (20-25) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,06 (1,0-1,1) <sup>a</sup>	1,04 (1,0-1,1) <sup>a</sup>
<i>Esporocistos:</i>		
Diâmetro maior	10,6 (10-11) <sup>a</sup>	10,8 (10-11) <sup>a</sup>
Diâmetro menor	16,4 (15-17) <sup>a</sup>	17,2 (16-18) <sup>a</sup>
Índice morfométrico	1,54 (1,4-1,6) <sup>a</sup>	1,59 (1,5-1,7) <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Letras iguais em linha significa médias estatisticamente equivalentes ( $p > 0,01$ ) pelo teste t de Student



**Tabela 9.** Morfometria dos oocistos das espécies do gênero *Isospora* diagnosticadas de pássaros de gaiola na região Serrana, RJ.

Coccídios	Oocisto			Esporocisto		
	Diâmetros (µm)		Índice morfomé- -trico	Diâmetros (µm)		Índice morfomé- -trico
	Maior	Menor		Maior	Menor	
<i>Isospora saltatori</i>	17,9 (16-20)	18,3 (17-20)	1,02 (1,0-1,1)	8,9 (8-10)	13,4 (12-15)	1,52 (1,4-1,7)
<i>I. trincaferri</i>	23,6 (22-25)	26,2 (24-29)	1,1 (1,0-1,2)	11,5 (10-13)	17,5 (17-18)	1,5(1,3-1,6)
<i>I. chanchaoi</i>	22,0 (21-23)	24,2 (23-26)	1,10 (1,0-1,1)	10,3 (10-11)	16,1 (15-17)	1,56 (1,5-1,6)
<i>I. frontalis</i>	26,9 (25-28)	27,9 (27-29)	1,0 (1,0-1,1)	11,1 (10-12)	19,6 (19-21)	1,8(1,6-1,9)
<i>I. ticoticoi</i>	22,6 (20-24)	23,4 (20-25)	1,04 (1,0-1,1)	10,8 (10-11)	17,2 (16-18)	1,59 (1,5-1,7)
<i>I. sanhaci</i>	21,0 (17-23)	22,1 (19-24)	1,0 (1,0-1,1)	9,9 (9-11)	17,0 (15-19)	1,7(1,5-1,9)
<i>I. sayacae</i>	27,4 (24-29)	28,9 (28-30)	1,1 (1,0-1,1)	11,8 (11-12)	23,4 (23-25)	2,0(1,9-2,2)
<i>I. silvasouzai</i>	22,6 (19-25)	25,5 (22-28)	1,1 (1,0-1,2)	10,5 (10-11)	17,6 (17-18)	1,7(1,6-1,8)
<i>I. teresopoliensis</i>	24,3 (23-25)	25,7 (24-27)	1,1 (1,0-1,1)	11,2 (10-12)	18,8 (18-20)	1,7(1,6-1,7)

## 5. CONCLUSÃO

Após a obtenção destes resultados pôde-se concluir que:

- Do total de 155 animais estudados, foram encontrados oocistos das espécies do gênero *Isospora*, onde nove foram identificadas como novas espécies parasitando aves da ordem Passeriformes procedentes da região serrana Fluminense, Estado do Rio de Janeiro;

- Pássaros de gaiola criados na região serrana do Rio de Janeiro são parasitados por coccídios do gênero *Isospora* ;

-A presença das espécies de *Isospora* *I. saltatori*, *I. trincaferri*, *I. chanchaoi*, *I. frontalis*, *I. teresopoliensis*, *I. sanhaci*, *I. sayacae*, *I. silvasouzai*, *I. ticoticoi* nos pássaros *Saltator similis* (trinca-ferro), *Sporophila frontalis* (pixanxão), *Thraupis sayaca* (sanhaço), e *Zonotrichia capensis* (tico-tico) coloca estas espécies de pássaros como hospedeiros para as espécies em questão;

- A presença de espécies de coccídios em mais de um hospedeiro está em concordância com os conceitos preconizados para espécies de uma mesma família, entretanto, isto não pode ser levado à risca tendo em vista as mudanças que ocorrem com a nova sistemática empregada para identificação da ordem Passeriforme o que foi observado neste trabalho o que necessita de biologia molecular quando esta espécie aparece em pássaros de mais de uma família e

- Em aves de gaiola da região serrana, a doença coccidiose diagnosticada, teve caráter subclínico.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANÔNIMO, Chanchão. Disponível em: <[www.infopassaros.hpg.com.br/chanchao.htm](http://www.infopassaros.hpg.com.br/chanchao.htm)>.

Acesso em: 16 mar. 2010.

BALL, S. J.; PITTILO, R. M.; LONG, P. L. Intestinal and extraintestinal life cycles of eimeriid coccidia. *Advances in Parasitology*, v. 28, n. 1, p. 1-54, 1989.

BALTHAZAR, L. M. C.; BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. *Isospora ticoticoi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the rufous-collared sparrow *Zonotrichia capensis* in South America. *Acta Protozoologica*, v. 48, n. 4, p. 345–349, 2009a.

BALTHAZAR, L.M.C.; BERTO, B.P.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. The slatecolored seedeater, *Sporophila schistacea*, a new host for *Isospora chanchaoi*. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 31, n. 4, p. 253-255, 2009b.

BELLI, S.I.; SMITH, N.C.; FERGUSON, D.J.P. The coccidian oocysts: a tough nut to crack! *Trends in Parasitology*, v. 22, n. 9, p. 416-423, 2006.

BERTO, B.P. *Morfologia e sistemática de coccídios (Apicomplexa: Eimeriidae) parasitas de aves Passeriformes da Ilha de Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil*. 2010. 141p. Tese (Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2010.

BERTO B. P.; BALTHAZAR L. M. C.; FLAUSINO W.; LOPES, C. W. G. New isosporoid coccidian parasites of sayaca tanager, *Thraupis sayaca*, from South America. *Acta Parasitologica*, v. 54, n. 2, p. 90-94, 2009b.

BERTO, B. P.; BALTHAZAR, L. M. C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Two New Coccidian Parasites of Green-Winged Saltator (*Saltator similis*) from South America. *Acta Protozoologica*, v. 47, n. 3, p. 263-267, 2008b.

BERTO, B. P.; BALTHAZAR, L. M. C.; FLAUSINO, W.; LOPES, C. W. G. Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffy-fronted

seed-eater *Sporophila frontalis* Verreaux, 1869 (Passeriformes: Emberizidae) from South America. *Systematic Parasitology*, v. 73, n.1, p. 65-69, 2009a.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. Three New Coccidian Parasites of Brazilian Tanager (*Ramphocelus bresilius dorsalis*) from South America. *Acta Protozoologica*, v. 47, n. 1, p. 77-81, 2008a.

BERTO, B. P.; FLAUSINO, W.; LUZ, H. R.; FERREIRA, I.; LOPES, C. W. G. *Isospora cagasebi* sp. nov. (Apicomplexa, Eimeriidae) from the bananaquit, *Coereba flaveola* of Brazil. *Acta Parasitologica*, v. 53, n. 2, p. 117-119, 2008c.

BIRD LIFE INTERNATIONAL. Data Zone, 2007. Disponível em <<http://www.birdlife.org>>. Acesso em: 8 ago. 2007.

BOX, E. D. *Atoxoplasma* associated with an isosporan oocyst in canaries. *Journal of Protozoology*, v. 17, n. 3, p. 391-396, 1970.

BOX, E. D. Blood and tissue protozoa of the English sparrow (*Passer domesticus domesticus*) in Galveston, Texas. *Journal of Protozoology*, v. 13, n. 2, p. 204-208, 1966.

BOX, E. D. *Isospora* as an extraintestinal parasite of passerine birds. *Journal of Protozoology*, v. 28, n. 2, p. 244-246, 1981.

BOX, E. D. Life cycles of two *Isospora* species in the canary, *Serinus canarius* Linnaeus. *Journal of Protozoology*, v. 24, n. 1, p. 57-67, 1977.

CARVALHO-FILHO, P.; MEIRELES, G.; RIBEIRO, C.; LOPES, C. W. G. Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed-eater, *Sporophila caerulescens* (Passeriformes: Emberizidae), from eastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 100, n. 2, p. 151-154, 2005.

CLEYDE, V.L.; PATTON, S. Diagnosis, Treatment, and Control of common parasites in companion and aviary birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 5, n. 2, p. 75-84, 1996.

COUTTEEL, P. Veterinary aspects of breeding management in captive passerines. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 12, n. 1, p. 3-10, 2003.

DORRESTEIN, G. M. Diagnostic approaches and management of diseases in captive passerines. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 12, n. 1, p. 11-20, 2003.

DUSZYNSKI, D. W.; UPTON, S. J.; COUCH, L. The coccidia of the world, 1999. Disponível em <<http://biology.unm.edu/biology/coccidia/table.html>>. Acesso em: 30 jun. 2009. 2004.

DUSZYNSKI, D. W.; WILBER, P. G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *Journal of Parasitology*, v. 83, n. 2, p. 333-336, 1997.

GARNHAM, P. C. C. Blood parasites of East African vertebrates, with a brief description of exo-erythrocytic schizogony in *Plasmodium pitmani*. *Parasitology*, v. 40, n. 3, p. 328–337, 1950.

JOSEPH, V. Infectious and Parasitic diseases of captive passerines. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 72, n. 1, 21-28, 2003.

LAINSON, R. *Atoxoplasma* Garnham, 1950, as a synonym for *Lankesterella* Labbé, 1899. Its life cycle in the English sparrow (*Passer domesticus domesticus*, Linn.). *Journal of Protozoology*, v. 6, n. 4, p. 360-371, 1959.

LAINSON, R. Some Observations on the Life-Cycle of *Atoxoplasma*, with Particular Reference to the Parasite's Schizogony and its Transmission by the Mite *Dermanyssus gallinae*. *Nature*, v. 182, n. 4644, p. 1250-1251, 1958.

LAINSON, R. The transmission of *Lankesterella* (= *Atoxoplasma*) in birds by the mite *Dermanyssus gallinae*. *Journal of Protozoology*, v. 7, n. 4, p. 321-322, 1960.

LIMA, J.D. Prevalence of coccidia in domestic goats from Illinois, Indiana, Missouri and Wisconsin. *Inst. Goat Sheep Res.*, v. 1, p.234-241, 1980.

LEVINE, N. D. *Veterinary Protozoology*. 1ª ed. Ames: Iowa State University Press, 1985. 414 p.

LEVINE, N.D.; IVENS, V. The coccidian parasites (Protozoa:Sporozoa) of ruminants. *Illinois Biological Monographs*, v.44, University of Illinois Press, Urbana. 1970.

MARQUARDT, W.C. Host and site specificity in the coccidia. In: D.M. Hammond and P.L. Long (eds.). *The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma, and Related Genera*, p. 23-42. University Park Press, Baltimore. 1973.

OLIVEIRA, E.de B. Criação de tico-tico. Disponível em: <[www.ibama.gov.br/sispass](http://www.ibama.gov.br/sispass)>. Acesso em: 14 jul. 2004.

PAGE, C.D.; HADDAD, K. Coccidial infections in birds. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*, v. 4, n. 3, p. 138-144, 1996.

PERRUCCI, S.; ROSSI, G.; MACCHIONI, G. *Isospora thibetana*, n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae), a parasite of the Tibetan siskin (*Serinus thibetanus*= *Carduelis thibetanus*) (*Passeriformes, Fringillidae*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, v. 45, n. 2, 198-201, 1998.

REIS, C.D., Criação de trinca ferro. Disponível em: <[www.coprap.org.br/site/artigos\\_vis.php?id=172](http://www.coprap.org.br/site/artigos_vis.php?id=172)> . Acesso em: 16 mar. 2010.

SAMPAIO, I. B. M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. 2ª ed. Belo Horizonte: FEP MVZ Editora, 2002. 265 p.

SHEATHER, A.L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. *Journal of Comparative Pathology*, v. 36, p. 266-275, 1923.

TENTER, A. M.; BARTA, J. R.; BEVERIDGE, I.; DUSZYNSKI, D. W.; MEHLHORN, H.; MORRISON, D. A.; THOMPSON, R. C. A.; CONRAD, P. A. The conceptual basis for a new classification of the coccidia. *International Journal for Parasitology*, v. 32, n. 5, p. 595-616, 2002.

TRACHTA E SILVA, E.A.; LITERÁK, I.; KOUDELA, B. Three new species of Isospora Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 101, n. 5, p. 573-576, 2006.

TYZZER, E. E. Coccidiosis in gallinaceous birds. *American Journal of Hygiene*, v. 10, n. 2, p. 269-283, 1929.

TYZZER, E. E.; THEILER, H.; JONES, E. E. Coccidiosis in gallinaceous birds: II. A comparative study of species of *Eimeria* of the chicken. *American Journal of Hygiene*, v. 15, n. 2, p. 319-393, 1932.

ZINKE, A.; SCHNEBEL, B.; DIERSCHKE, V. Prevalence and intensity of excretion of coccidial oocysts in migrating passerines on Helgoland. *Journal of Ornithology*, v.145, n.1, p.74-78, 2004.

## **7. ANEXOS**



ACTA  
PROTOZOOLÓGICA

Two New Coccidian Parasites of Green-Winged Saltator (*Saltator similis*)  
from South America

Bruno P. BERTO<sup>1</sup>, Lianna M. C. BALTHAZAR<sup>2</sup>, Walter FLAUSINO<sup>3</sup> and Carlos W. G. LOPES<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ REUNI scholarship); <sup>2</sup>Clinica Veterinária São Francisco, Teresópolis, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brazil – CNPq fellowship

**Summary.** Two new coccidian (Apicomplexa: Eimeriidae) species are reported from the green-winged saltator *Saltator similis* in Brazil. Oocysts of *Isospora saltatori* n. sp. are spherical to sub-spherical, 18.3 × 17.9 µm, with smooth, bi-layered wall, ~1.1 µm, and a shape-index of 1.0; micropyle, oocyst residuum and polar granule are absent. Sporocyst are ovoidal, 13.4 × 8.9 µm. Stieda body is small and flattened and the substieda body is small. Sporocyst residuum is present, and sporozoites present large and elongated refractile bodies at one end. Oocysts of *Isospora trincaferri* n. sp. are sub-spherical to ellipsoidal, 26.2 × 23.6 µm, with smooth, bi-layered wall, ~1.2 µm, and a shape-index of 1.1; no micropyle or oocyst residuum, but one polar granule is present. Sporocysts are ovoidal, 17.5 × 11.5 µm. Stieda body is bubble-shaped and the substieda body is large and prominent. Sporocyst residuum is composed of scattered granules and the sporozoites present sub-spherical refractile bodies at both ends.

**Key words:** *Isospora saltatori* n. sp., *Isospora trincaferri* n. sp., oocysts, coccidiosis, Passeriformes, Emberizidae, Rio de Janeiro, Brazil.

INTRODUCTION

The green-winged saltator *Saltator similis* (D'Orbigny, Lafresnaye 1837) (Cardinalidae) is found in Argentina, Bolivia, Brazil, Paraguay, and Uruguay, and ranges into the southern cerrado and the pantanal (Stotz *et al.* 1996, AOU 1998). The natural habitats of this bird species are subtropical or tropical moist lowland forests and heavily degraded former forest (Sick 1997).

Coccidiosis associated with the genus *Isospora* (Schneider 1881) was first reported by Boughton *et al.* (1938) in bird's species of the Cardinalidae family, in grosbeaks and cardinals.

*Isospora vanriperorum* (Levine 1982) was described in the northern cardinal *Cardinalis cardinalis* (Linnaeus 1758). This species was originally described as *I. cardinalis* by Levine *et al.* (1980); however, as this name was preoccupied for Gottschalk (1972), it was later re-named (Levine 1982).

*Isospora pityli* (McQuiston, Capparella 1992) and *I. formarum* (McQuiston, Capparella 1992) were described in the slate-coloured grosbeak *S. grossus* (Linnaeus 1766) in Ecuador. Recently, Lopes *et al.* (2007)

Address for correspondence: Carlos W. G. Lopes, Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), BR-465 km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil; E-mail: lopeswgc@ufrj.br / bertobp@ufrj.br

described *I. vanriperorum* in *S. similis* (McQuiston and Capparella 1992).

This paper describes two new species of *Isospora* which infect the green-winged saltator *S. similis* in Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil.

## MATERIAL AND METHODS

Fecal samples were collected from 15 caged birds from a single breeder of the green-winged saltator located in Teresópolis City (22°25'S and 42°59'W), Rio de Janeiro State, Brazil. These samples were collected immediately after defecation and placed into plastic vials containing potassium dichromate solution ( $K_2Cr_2O_7$ ) at 2.5% 1:6 (v/v), and transported to Laboratório de Coccidios e Coccidioses located at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Samples were placed in a thin layer of 2.5%  $K_2Cr_2O_7$  solution (~5 mm), in Petri plates, and incubated at 23–28°C for ten days until 70% of oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (sp. g. 1.20) and examined under a light microscope using the technique described by Duszynski and Wilber (1997). Morphological observations and measurements, in  $\mu\text{m}$ , were performed by using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective and ocular micrometer K-15X PZO (Poland). Line drawings were prepared using a binocular microscope Wild M-20 with drawing tube. Pictures were prepared using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®. Size ranges are in parenthesis followed by average, standard deviation, and shape index (length/width).

## RESULTS

Of the 15 caged birds, green-winged saltator, examined 13 of them shed oocysts of two distinct species. Initially, the oocysts were unsporulated; however, 70% had sporulated by day five.

### *Isospora saltatori* n. sp.

**Description of oocysts:** Sporulated oocysts are spherical to sub-spherical (Figs 1A, 2A, B), and measure  $18.3 \pm 0.9$  (17–20)  $\times$   $17.9 \pm 1.0$  (16–20) (n=15). They present shape-index of 1.0 (1.0–1.1); are smooth, with a bi-layered wall, and are  $1.1 \pm 0.1$  (1.0–1.2) thick. Micropyle, oocyst residuum and polar granule are absent. Sporocysts are ovoidal, measuring  $13.4 \pm 0.7$  (12–15)  $\times$   $8.9 \pm 0.6$  (8–10) (n=15). They present shape-index of 1.5 (1.4–1.7); are smooth, thin, single-layered wall. Stieda body is small and flattened, ~0.5 high  $\times$  1.5 wide. The substieda body is small, ~0.7 high 1.8 wide. Sporocyst residuum forms a mass of granules. Sporozoites present large and elongated refractile bodies at one end.

**Type-host:** *Saltator similis* (D'Orbigny, Lafresnaye 1837) (Aves: Passeriformes: Cardinalidae).

**Type-specimens:** Oocysts were kept in 10% aqueous (v/v) buffered formalin, and deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. The repository number is P-20/2008, including phototypes and line drawings.

**Type-locality:** Teresópolis City (22°25'S and 42°59'W), Rio de Janeiro, Brazil.

**Site of infection:** Not investigated.

**Etymology:** The specific name is derived from the generic name of the host type.

### *Isospora trincaferri* n. sp.

**Description of oocysts:** Sporulated oocysts are sub-spherical to ellipsoidal (Figs 1B, 2C, D), and measure  $26.2 \pm 1.5$  (24–29)  $\times$   $23.6 \pm 0.8$  (22–25) (n=15). They present shape-index of 1.1 (1.0–1.2); are smooth, with a bi-layered wall, and are  $1.2 \pm 0.1$  (1.0–1.3) thick. Micropyle and oocyst residuum are absent, but one polar granule is present. Sporocysts are ovoidal, and measure  $17.5 \pm 0.6$  (17–18)  $\times$   $11.5 \pm 0.6$  (10–13) (n=15). They present shape-index of 1.5 (1.3–1.6); are smooth, thin, single-layered wall. Stieda body is bubble-shaped, ~1.7 high  $\times$  2.7 wide. The substieda body is large and prominent, ~2.8 high  $\times$  4.2 wide. Sporocyst residuum is composed of scattered granules. The sporozoites present sub-spherical refractile bodies at both ends.

**Type-host:** *Saltator similis* (D'Orbigny, Lafresnaye 1837) (Aves: Passeriformes: Cardinalidae).

**Type-specimens:** Oocysts were kept in 10% aqueous (v/v) buffered formalin, and deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. The repository number is P-21/2008, including phototypes and line drawings.

**Type-locality:** Teresópolis City (22°25'S and 42°59'W), Rio de Janeiro, Brazil.

**Site of infection:** Not investigated.

**Etymology:** The specific name is derived from the common local name for *S. similis*, which is Trinca-ferro.

## DISCUSSION

According to Duszynski and Wilber (1997), the new coccidian species should be compared in detail to the coccidian species that is most structurally similar to it within the same host family.

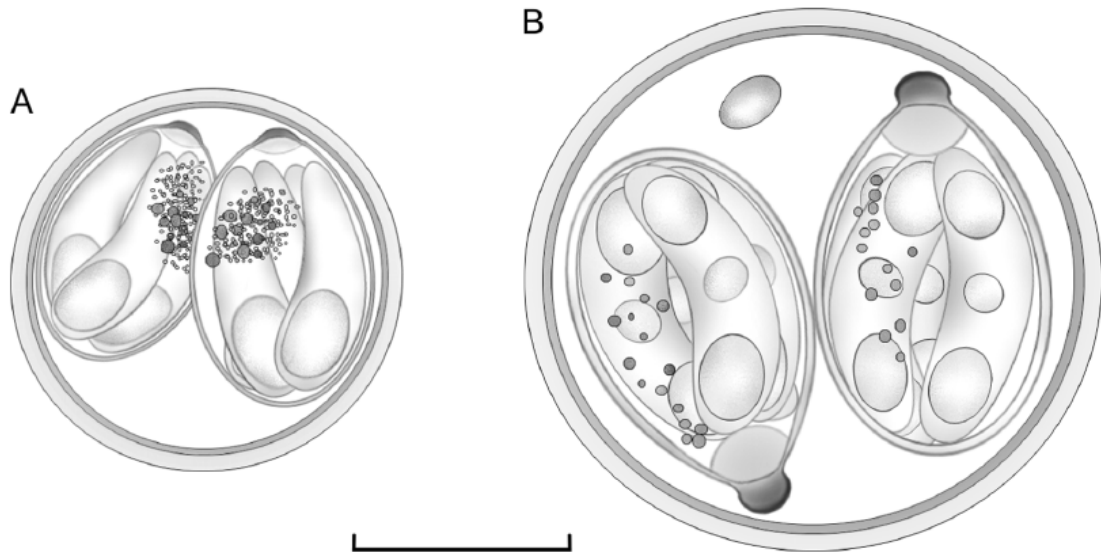


Fig. 1. Line drawings of sporulated oocysts of new coccidia species recovered from the green-winged saltator, *Saltator similis*. Scale bar = 10  $\mu$ m. A – *Isospora saltatori*; B – *Isospora trincaferri*.

Descriptions of parasites of the genus *Isospora* in Cardinalidae family are scarce. The first description was reported by Boughton *et al.* (1938) when coccidia were recovered from two cardinalids: (1) the rose-breasted grosbeak *Pheucticus ludovicianus* (Linnaeus 1766); and (2) the northern cardinal *C. cardinalis*. However, all coccidia were reported from captured birds in zoos, and none of them were described or named.

Three species have been described so far: *Isospora vanriperorum* was described by Levine (1982) from the northern cardinal *C. cardinalis*, and *I. pityli* and *I. formarum* by McQuiston and Capparella (1992) obtained from the slate-coloured grosbeak *S. grossus*.

The oocysts of *I. vanriperorum* and *I. formarum* are larger than *I. saltatori*. *Isospora pityli* is different because it does not present substieda body. *Isospora trincaferri* is larger than *I. pityli*, and presents large and prominent polar granule and substieda body, which are not found in *I. formarum* and *I. vanriperorum*, respectively.

According to AOU (1998), *S. similis* belongs to the Cardinalidae family; however, previous classifications included this species in the Emberizidae family (Paynter 1970, Sibley and Monroe 1990, Howard and Moore 1991). Thus, the oocysts recovered in this study also had been compared with the oocysts of *Isospora* described in emberizid birds.

Numerous coccidia have been described from birds that belong to Emberizidae family: (1) *Isospora emberizae* (Mandal, Chakravarty 1964), whose host, the red-headed bunting *Emberiza bruniceps* (Brandt 1841), is distributed in Asia and Europe; (2) *I. exigua* (McQuiston, Wilson 1988), *I. fragmenta* (McQuiston, Wilson 1988), *I. rotunda* (McQuiston, Wilson 1988), and *I. temeraria* (McQuiston, Wilson 1988), whose host, the small tree finch *Camarhynchus parvulus* (Gould 1837), is observed in Galapagos Islands; (3) *I. geospizae* (McQuiston, Wilson 1989) and *I. daphnensis* (McQuiston 1990), whose host, the medium-ground finch *Geospiza fortis* (Gould 1837), is also observed in Galapagos Islands, inhabit South America (Mandal and Chakravarty 1964, McQuiston and Wilson 1988, McQuiston and Wilson 1989, McQuiston 1990). These species are found in geographic isolation, disabling the hypothesis of cross transmission.

*Isospora paroariae* (Upton, Current, Clubb 1985), obtained from the red-crested cardinal *Paroaria coronata* (Miller 1776), presents a prominent substieda body, is larger than *I. saltatori* oocysts, and differs from *I. trincaferri* oocysts for not presenting polar granule (Upton *et al.* 1985).

*Isospora tiaris* (Ball, Daszak 1997) was described from sooty grassquit, *Tiaris fuliginosus* (Wied 1830) in Venezuela. *I. saltatori* oocysts are smaller, and the



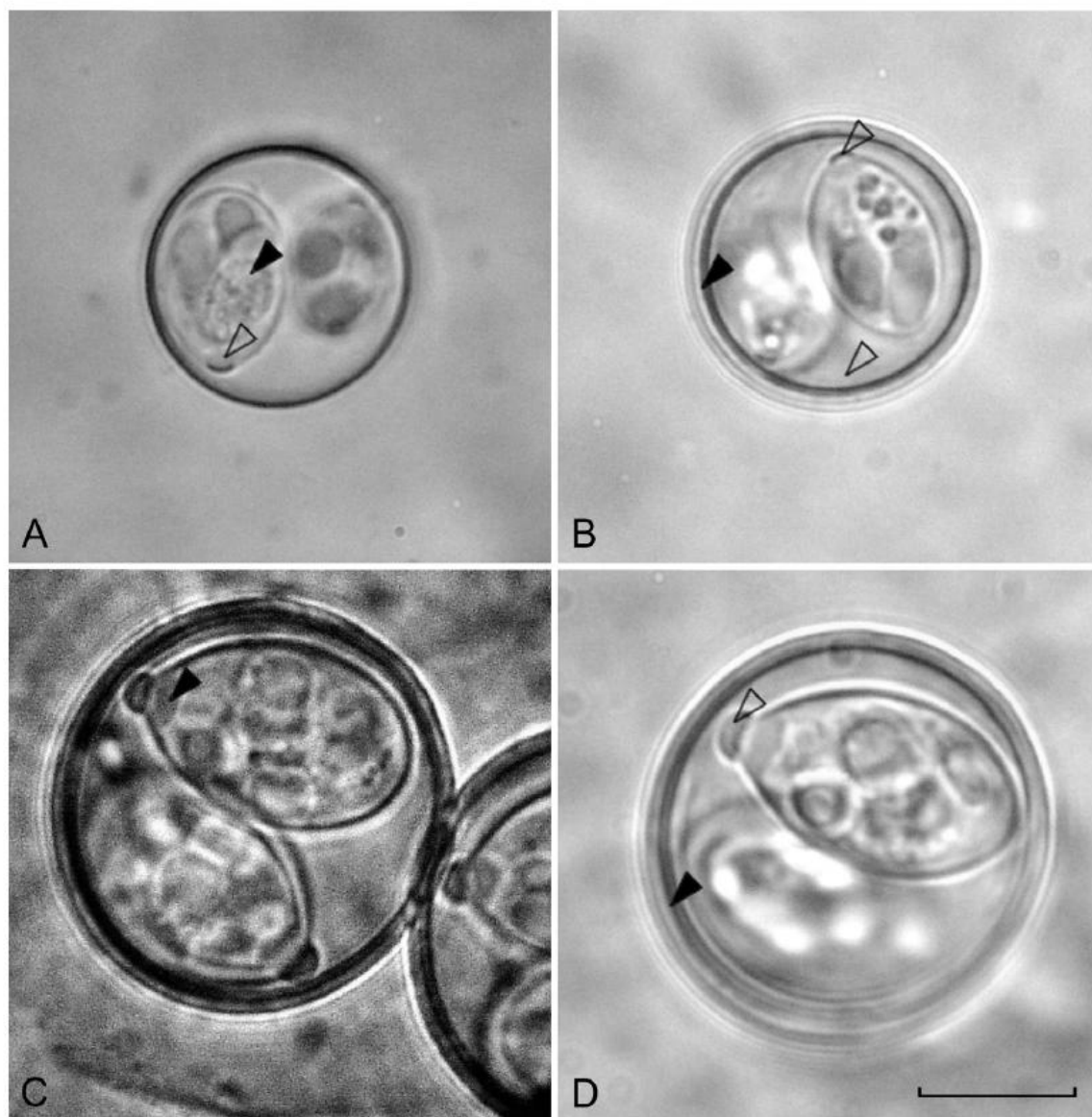


Fig. 2. Photographs of *Isospora saltatori*. A, B – *Isospora trincaferri*; C, D – all in the same scale. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$ . *I. saltatori* presents Stieda (B) (empty arrowhead) and substieda body (A) (empty arrowhead), sporocyst residuum (A) (filled arrowhead) and wall bi-layered oocyst (A) (filled arrowhead). *I. trincaferri* presents Stieda (D) (empty arrowhead) and substieda body (C) (filled arrowhead), and wall bi-layered oocyst (D) (filled arrowhead).

*I. trincaferri* oocysts present smaller sporocysts (Ball and Daszak 1997).

*Isospora sporophilae* (Carvalho Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes 2005), *I. flausinoi* (Carvalho Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes 2005), and *I. teixeirafilhoi* (Car-

valho Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes 2005), from the double-collared seed eater, *Sporophila caerulescens* (Vieillot 1823), does not present a substieda body, as do those oocysts reported in the current study (Carvalho Filho *et al.* 2005).

*Isoospora curio* (Silva, Literák, Koudela 2006), *I. braziliensis* (Silva, Literák, Koudela 2006), and *I. paranaensis* (Silva, Literák, Koudela 2006) were described from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Linnaeus 1766). *Isoospora braziliensis* and *I. paranaensis* differ from the oocysts recovered in this study due to the presence of single-layered wall. *Isoospora curio* is larger than *I. saltatori*, and differs from *I. trincaferri* because it does not present polar granule (Silva *et al.* 2006).

Based on all morphological characteristics mentioned in this study, the described species are considered new coccidian species obtained from the green-winged saltator *S. similis*.

**Acknowledgements.** The authors would like to thank the breeder of the green winged saltator located in Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil, for permit and assist the material collection.

#### REFERENCES

- AOU. (1998) Check-list of North American birds. American Ornithologists' Union, Washington
- Ball S. J., Daszak P. (1997) *Isoospora tiaris* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the sooty grassquit (*Tiaris fuliginosa*), a passeriform bird of South America. *J. Parasitol.* 83: 465–466
- Boughton D. C., Boughton R. B., Volk J. (1938) Avian hosts of the genus *Isoospora* (Coccidiidae). *Ohio J. Sci.* 38: 149–163
- Carvalho filho P. R., Meireles G. S., Ribeiro C. T., Lopes C. W. G. (2005) Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed eater, *Sporophila caeruleascens* (Passeriformes: Emberizidae), from Eastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 100: 151–154
- Duszynski D., Wilber P. (1997) A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *J. Parasitol.* 83: 333–336
- Gottschalk C. (1972) Beitrag zur Faunistik der Vogelkokzidien Thüringens und Sachsens. *Beitr. Vogelkd.* 18: 61–69
- Howard R., Moore A. (1991) A complete checklist of the birds of the world. Academic Press, London
- Levine N. D. (1982) *Isoospora vanriperorum* n. nom. for *I. cardinalis* Levine, Van Riper & Van Riper, 1980, preoccupied. *J. Protozool.* 29: 653
- Levine N. D., Van Riper S., Van Riper C. (1980) Five new species of *Isoospora* from Hawaiian Birds. *J. Protozool.* 27: 258–259
- Lopes B., Berto B. P., Massad F., Lopes C. W. G. (2007) *Isoospora vanriperorum* Levine, 1982 (Apicomplexa: Eimeriidae) in the green-winged saltator, *Saltator similis* (Passeriformes: Cardinalinae) in southeastern Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 16: 211–214
- Mandal A. K., Chakravarty M. M. (1964) Studies on some aspects of avian coccidia [Protozoa: Sporozoa]. 2. Five new species of *Isoospora* Schneider, 1881. *Proc. Zool. Soc.* 17: 35–45
- McQuiston T. E. (1990) *Isoospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *J. Parasitol.* 76: 30–32
- McQuiston T. E., Wilson M. (1988) Four new species of *Isoospora* from the small tree finch (*Camarihychnus parvulus*) from the Galapagos Island. *J. Protozool.* 35: 98–99
- McQuiston T. E., Wilson M. (1989) *Isoospora geospizae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the small ground finch (*Geospiza fuliginosa*) and the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *System. Parasitol.* 14: 141–144
- McQuiston T. E., Capparella A. (1992) Two new coccidian parasites from the slate-colored grosbeak (*Pitylus grossus*) of South America. *J. Parasitol.* 78: 805–807
- Paynter R. A. (1970) Peter's check-list of birds of the world. Museum of Comparative Zoology, Cambridge
- Sibley C. G., Monroe B. L. (1990) Distribution and taxonomy of the birds of the world. Yale University Press, Connecticut
- Sick H. (1997) Ornithologia Brasileira. Nova Fronteira, Rio de Janeiro
- Silva E. A. T., Literák I., Koudela B. (2006) Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 101: 573–576
- Stotz D. F., Fitzpatrick J. W., Parker T. A., Moskowitz D. K. (1996) Neotropical birds: ecology and conservation. University of Chicago Press, Chicago
- Upton S.J., Current W.L., Clubb S.L. (1985) Two new species of *Isoospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from passeriform birds of South America. *System. Parasitol.* 7: 227–229

Received on 29<sup>th</sup> April, 2008; revised version on 10<sup>th</sup> June, 2008; accepted on 20<sup>th</sup> June, 2008

## 7.2. ANEXO B

### CARACTERIZAÇÃO DE VARIAÇÕES MORFOMÉTRICAS COM A UTILIZAÇÃO DA REGRESSÃO LINEAR EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Eimeria* EM CAPRINOS DA REGIÃO SERRANA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL\*

CHARACTERIZATION OF MORFOMETRIC VARIATIONS USING THE LINEAR REGRESSION IN THE OOCYSTS OF THE SPECIES OF THE GENUS *Eimeria* IN CAPRINE FROM MOUNTAINOUS REGION OF THE STATE OF RIO DE JANEIRO, BRASIL

Landreani Ramirez<sup>1</sup>; Walter Leira Teixeira Filho<sup>2</sup>; Bruno Pereira Berto<sup>1</sup>; Lianna Maria de Carvalho Balthazar<sup>3</sup> e Carlos Wilson Gomes Lopes<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Ramirez, L.; Teixeira Filho, W.L.; Berto, B.P.; Balthazar, L.M.C.; Lopes, C.W.G. [Characterization of morfometric variations using linear regression in the oocysts of the species of the genus *Eimeria* in caprine from the mountainous region of the state of Rio de Janeiro, Brasil.] Caracterização de variações morfométricas com a utilização da regressão linear em espécies do gênero *Eimeria* em caprinos da região serrana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 31(3):173-178, 2009. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: landrynana@hotmail.com

Caprine of Saanen and Toggenburg breedings from the mountainous region at the municipality of Teresópolis in the state of Rio de Janeiro, where fecal samples were collected separately from two groups, divided in young and adult animals. The sporulated oocysts of eight distinct species were verified morphologically and morphometrically (width, length and shape index) and they were identified as *Eimeria alijeivi*, *E. arloingi*, *E. caprina*, *E. caprovina*, *E. christensenii*, *E. hirci*, *E. jolchijevi* e *E. ninakholyakimovae*. Linear regression was used for verifying changes in oocysts size shapes from both groups of age, besides the use of the Student's *t* test in the means comparisons. Significant differences were observed ( $p < 0.001$ ) in the size of the sporulated oocysts of some species. *Eimeria ninakholyakimovae* presented significant difference for length and width means, as well as, for the shape index between the oocysts from the young and adult animals. *Eimeria alijeivi*, *E. caprina* and *E. caprovina* presented significant differences for length and width means of sporulated oocysts from young and adult animals. It could conclude that the species identified in this study presented, in some cases, a high degree of polymorphism between oocysts from young and adult caprines for the same species of *Eimeria*.

**KEY WORDS.** *Eimeria*, morphology, esporulated oocysts, Coccidia, Teresópolis.

**RESUMO.** Caprinos das raças Saanen e Toggenburg pertencentes a criatórios leiteiros localizados no município de Teresópolis, Estado do Rio de Janeiro e criados de forma rústica, foram separados em dois grupos: animais jovens e adultos. Os oocistos esporulados das oito espécies encontradas parasitando esses

\* Aceito para publicação em 8 de setembro de 2009.

<sup>1</sup>Biólogo, MSc, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: landrynana@hotmail.com e bertobp@ufrj.br – bolsista REUNI.

<sup>2</sup>Biólogo, PhD, Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ. E-mail: leira@ufrj.br

<sup>3</sup>Médica-veterinária, CPGCV, UFRRJ. E-mail: liannavet@ufrj.br – bolsista CAPES.

<sup>4</sup>Médico-veterinário, PhD, LD, DPA, IV, UFRRJ, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: lopescw@ufrj.br – bolsista CNPq.



animais foram estudados quanto a sua morfologia e morfometria (diâmetros maior e menor) e índice morfométrico, sendo identificadas como: *Eimeria alijevi*, *E. arloingi*, *E. caprina*, *E. caprovina*, *E. christenseni*, *E. hirci*, *E. jolchijevi* e *E. ninakholyakimovae*. Foram utilizadas retas de regressão linear com a finalidade de verificar possíveis mudanças na forma destes oocistos entre os dois grupos, além do teste-t de Student na comparação entre as médias. Foram observadas diferenças significativas ( $p < 0,001$ ) em relação ao tamanho dos oocistos esporulados de algumas espécies. *Eimeria ninakholyakimovae* apresentou diferença significativa para as médias do diâmetro maior e menor, assim como, para o índice morfométrico entre os oocistos de animais jovens e adultos. *Eimeria alijevi*, *E. caprina* e *E. caprovina* apresentaram diferenças significativas para as médias dos diâmetros maior e menor entre os oocistos procedentes de animais jovens e adultos. Foi possível concluir que as espécies encontradas neste estudo apresentaram, em alguns casos, um alto grau de polimorfismo entre oocistos das espécies do gênero *Eimeria* procedentes de caprinos jovens e adultos.

**PALAVRAS-CHAVE.** *Eimeria*, morfologia, oocistos esporulados, Coccidia, Teresópolis.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Eimeria* foi descrito, pela primeira vez por Schneider em 1875 (sin. *Coccidium* Leuckart, 1879) parasitando camundongos (*Mus musculus*). Esta espécie foi denominada de *Eimeria falciformis*. Desde então, já foram descritas mais de 1.300 espécies deste gênero em diversas espécies de animais vertebrados e invertebrados (Duszynski et al., 1999).

A infecção de caprinos com coccídios do gênero *Eimeria* é bastante comum e, frequentemente, animais de qualquer idade encontram-se parasitados por uma ou mais espécies (Lima, 1980). Lloyd & Soulsby (1978) constataram que em rebanhos leiteiros a eimeriose é comum em caprinos entre um e três meses de idade. Porém, é raro uma espécie de *Eimeria* completar seu ciclo biológico em mais de um gênero hospedeiro. Isto se deve ao alto grau de especificidade que estes coccídios possuem com seus hospedeiros (Long & Joyner, 1984). Segundo Musaeu (1970), essa especificidade auxilia significativamente na sistemática destes coccídios.

A infecção por espécies do gênero *Eimeria* pode ser determinada a partir da observação dos oocistos nas fezes dos animais, sendo a descrição das espécies baseada na morfologia dessas formas exógenas

(Joyner, 1982). No entanto, vários fatores podem alterar a morfologia dos oocistos dentro de uma mesma espécie, assim como, espécies distintas podem possuir estádios evolutivos com morfologia semelhante (Todd & Ernst, 1977).

De acordo com Fayer (1980) os fatores de diapausa são as chaves para a epidemiologia dos coccídios em termos de sobrevivência dos cistos nos tecidos e dos oocistos, uma vez que garantem seu desenvolvimento, sobrevivência, dispersão e continuidade. Assinalou ainda que o aparecimento da infecção, na maioria das vezes, acontece quando animais são mantidos confinados, facilitando o acúmulo de grande quantidade de oocistos juntamente com hospedeiros susceptíveis. No entanto, o número de oocistos produzidos por um animal infectado, é afetado por outros fatores além deste. Entre estes fatores podem ser citados: potencial inerente a cada espécie, imunidade ou resistência desenvolvida pelo hospedeiro, fator crowding, que é a concorrência com outras espécies de coccídios no mesmo hospedeiro nutrição, diferentes espécies de hospedeiro, fatores de estresse do hospedeiro, coccidiostáticos, além das condições que afetam a esporulação e sobrevivência dos oocistos, tais como, o efeito da umidade, temperatura, fatores físicos e químicos, assim como, a dispersão física e biológica destes.

Várias características devem ser consideradas para a identificação e classificação de uma espécie de coccídio, tais como: espécie hospedeira susceptível, localização de cada estágio evolutivo no hospedeiro, patogenicidade, especificidade imunológica, período pré-patente, tempo de esporulação, variação enzimática e densidade do DNA. É fundamental também considerar as características biológicas e fisiológicas na determinação de uma espécie. Uma característica morfológica considerada de grande importância no auxílio da diferenciação das espécies do gênero *Eimeria* é o índice morfométrico (diâmetro maior [DM] dividido pelo menor [dm]), uma vez que o tamanho do oocisto pode ser variável, mas seu índice morfométrico (IM) tende a ser constante, permitindo verificar a tendência da forma do oocisto, o que foi demonstrado através de trabalhos realizados com eimerias de aves e camundongos, sendo considerado um dado de maior precisão na comparação entre espécies, como também, na variação intra-específica (Long & Joyner, 1984). Ainda segundo estes autores, o oocisto apresenta variação de medidas e parece atingir o seu tamanho máximo em torno da metade do período de patência.

A morfologia dos oocistos tende a apresentar aspectos que podem ser descritos de maneira qualitativa e quantitativa, com grande variação e combinação de características específicas (Joyner, 1982).

Anteriormente, em 1981, Norton e Joyner haviam trabalhado com análise gráfica da inclinação da reta de regressão do dm sobre o DM para cada oocisto, facilitando a avaliação dessa estrutura. Desse modo, Joyner (1982) propôs a substituição do cálculo do IM utilizado habitualmente, uma vez que apesar de ocorrerem deformações, os oocistos apresentavam sua forma característica dentro de uma mesma faixa de dimensões, tendendo a ser mais constante do que o tamanho.

Alguns trabalhos já foram realizados utilizando a análise de regressão linear na avaliação da morfologia, tanto de oocistos, como de esporocistos de várias espécies de coccídios, além de analisar e identificar possíveis diferenças inter e intraespecíficas, assim como, o polimorfismo que essas estruturas podem sofrer.

Teixeira-Filho et al. (2000) realizaram um trabalho sobre a importância da idade do hospedeiro na forma dos oocistos das espécies do gênero *Eimeria* que parasitavam caprinos leiteiros no município de Maricá, Estado do Rio de Janeiro. Foi observado que a variação no tamanho dos oocistos estava relacionada às sucessivas infecções encontradas em condições naturais e, do estado fisiológico do hospedeiro, como enfatizado por Fayer (1980). Com base na análise dos oocistos foi constatado que a idade dos animais teve influência na sua forma.

Pereira et al. (2001) utilizaram dados morfométricos de oocistos de *Hammondia heydorni*, de diferentes grupos de hospedeiros para avaliar o uso da análise de regressão linear do dm em relação ao DM dos oocistos utilizando o teste-t de Tukey na comparação dos coeficientes e na caracterização de variações intra-específicas decorrentes de aspectos biológicos dos hospedeiros.

Mais recentemente, Berto et al. (2008a) trabalharam com oocistos esporulados de *Tyzzzeria parvula*, provenientes de infecções naturais de gansos (*Anser anser*) em duas regiões distintas do Estado do Rio de Janeiro, onde, em uma, os animais eram criados livremente e, na outra, eram mantidos em gaiolas nos aviários. Foram realizados estudos morfométricos, bem como, as regressões lineares dos oocistos esporulados com a finalidade de analisar possíveis variações entre os dois grupos de oocistos, assim como, dentro de um mesmo grupo. Os resultados observa-

dos indicaram que, apesar dos oocistos esporulados encontrados serem diferentes nas suas medidas e apresentarem às vezes diferenças significativas, os animais eram parasitados por uma única espécie que é altamente polimórfica.

Ainda, Berto et al. (2008b) ao determinar a presença do coccídio *Isospora hemidactyli* parasito da lagartixa doméstica (*Hemidactylus mabouia*) comum em residências da região metropolitana do Rio de Janeiro, observaram que, após a realização dos histogramas e regressão linear para as medidas dos oocistos esporulados desta espécie, eles confirmaram a homogeneidade de seus oocistos apesar da grande amplitude de variação.

Este trabalho teve como objetivo determinar o polimorfismo dos oocistos esporulados de espécies do gênero *Eimeria* encontrados nas fezes de caprinos jovens e adultos procedentes do município de Teresópolis, Estado do Rio de Janeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal dos animais que pertenciam às raças Saanem e Toggenburg criados de forma rústica no município de Teresópolis, na região serrana do estado do Rio de Janeiro. Estas foram divididas em dois grupos (animais jovens e adultos) e transportadas ao laboratório de Coccídios e Coccidioses, Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro para serem examinadas. Foram coletadas 370 amostras de fezes. Cada amostra das fezes foi examinada com a finalidade de verificar-se a presença de oocistos do gênero *Eimeria*, utilizando-se a técnica de centrifugo-flutuação em solução saturada de açúcar, de acordo com Menezes & Lopes (1995).

Para identificação dos oocistos recuperados das fezes dos animais utilizou-se, como base, as características fenotípicas destacadas por Tenter et al. (2002) e as características morfológicas dos oocistos esporulados conforme Duszynski & Wilber (1997).

Foi então realizada a análise de variância, com a finalidade de verificar diferenças em relação aos diâmetros maior (DM), menor (dm) e índice morfométrico (IM) dos oocistos esporulados oriundos de caprinos jovens e adultos. Utilizou-se o teste t de Student para comparação entre as medidas dos DM, dm e IM, através dos cálculos de média, variância, grau de liberdade e valor de "p", presumindo variâncias equivalentes. A análise da reta de regres-



são linear foi realizada de acordo com Norton & Joyner (1981), com a finalidade de avaliar a forma dos oocistos e os gráficos com os resíduos, bem como os coeficientes de inclinação das retas foram obtidos de acordo com Armitage & Berry (1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foram identificadas as seguintes espécies do gênero *Eimeria*: *E. alijevi*, *E. arloingi*, *E. caprina*, *E. caprovina*, *E. christenseni*, *E. hirci*, *E. jolchijevi* e *E. ninakohlyakimovae*.

Tabela 1. Comparação morfométrica dos oocistos esporulados do gênero *Eimeria* recuperados de caprinos procedentes do município de Teresópolis, RJ.

Espécies	Médias (µm)					
	Diâmetro maior		Diâmetro menor		Índice Morfométrico	
	Jovens <sup>1</sup>	Adultos <sup>2</sup>	Jovens	Adultos	Jovens	Adultos
<i>E. alijevi</i>	19,4 <sup>a</sup>	20,6 <sup>b</sup>	18,4 <sup>a</sup>	19,3 <sup>b</sup>	1,1 <sup>a</sup>	1,1 <sup>a</sup>
<i>E. arloingi</i>	28,5 <sup>a</sup>	28,3 <sup>a</sup>	20,3 <sup>a</sup>	20,6 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>
<i>E. caprina</i>	28,5 <sup>a</sup>	31,7 <sup>b</sup>	20,5 <sup>a</sup>	22,8 <sup>b</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>
<i>E. caprovina</i>	27,5 <sup>a</sup>	28,6 <sup>b</sup>	21,0 <sup>a</sup>	21,7 <sup>b</sup>	1,3 <sup>a</sup>	1,3 <sup>a</sup>
<i>E. christenseni</i>	37,2 <sup>a</sup>	36,6 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>	24,1 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>	1,5 <sup>a</sup>
<i>E. hirci</i>	23,9 <sup>a</sup>	23,8 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>
<i>E. jolchijevi</i>	30,9 <sup>a</sup>	31,1 <sup>a</sup>	21,4 <sup>a</sup>	21,9 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>	1,4 <sup>a</sup>
<i>E. ninakohlyakimovae</i>	24,7 <sup>a</sup>	22,6 <sup>b</sup>	19,9 <sup>a</sup>	19,7 <sup>a</sup>	1,2 <sup>a</sup>	1,1 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>Amostras provenientes de caprinos jovens.

<sup>2</sup>Amostras provenientes de caprinos adultos.

<sup>3</sup>Letras iguais nas linhas das colunas de diâmetros maior e menor e índice morfométrico indicam médias equivalentes ( $P > 0,001$ ) pelo teste-t de Student.

Na Tabela 1, encontram-se as medidas dos oocistos esporulados e o índices morfométricos das espécies encontradas. A forma dos oocistos das diferentes espécies procedentes de caprinos jovens e adultos foi similar aos resultados obtidos por Pires & Lopes (1985; 1986), Levine (1985) e Alyousif et al. (1992), com exceção de *E. hirci*, que se apresentou de forma ovóide; o mesmo ocorreu com *E. caprovina*, que Menezes (1996) observou de forma sub-esférica.

Com base nos resultados obtidos pelo teste-t, pode-se notar que ocorreu diferença significativa ( $P \leq 0,001$ ) para as médias de DM e IM dos oocistos de *E. ninakohlyakimovae*, *E. alijevi*, *E. caprina* e *E. caprovina*, que também apresentaram diferença significativa para as médias dos DM e dm dos oocistos oriundos de animais jovens e adultos.

Quanto à análise da inclinação da reta (Figuras 1 e 2), conforme Norton & Joyner (1981) e Pereira et al. (2001), comparando-se os coeficientes de regressão constatou-se, em alguns casos, diferenças significativas dos oocistos dos dois grupos estudados, o que sugere que as espécies encontradas neste estudo apresentaram um alto grau de polimorfismo entre oocistos desses grupos.

Nossos resultados estão de acordo com os de Long & Joyner (1984) onde os autores afirmaram que o tamanho do oocisto não é necessariamente constante, assim como, com o trabalho realizado por Pereira

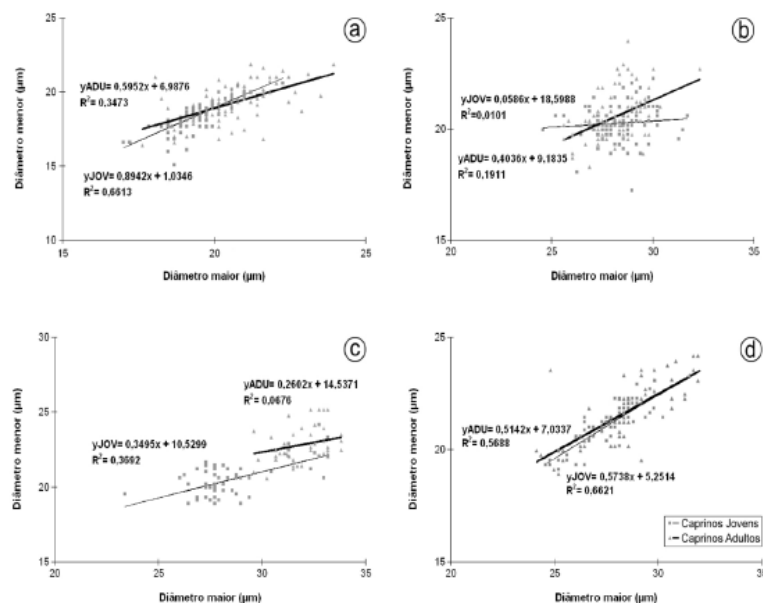


Figura 1. Distribuição dos oocistos esporulados do gênero *Eimeria* recuperados das fezes de caprinos procedentes do município de Teresópolis, RJ. A. *Eimeria alijevi*; B. *Eimeria arloingi*; C. *Eimeria caprina*; D. *Eimeria caprovina*.

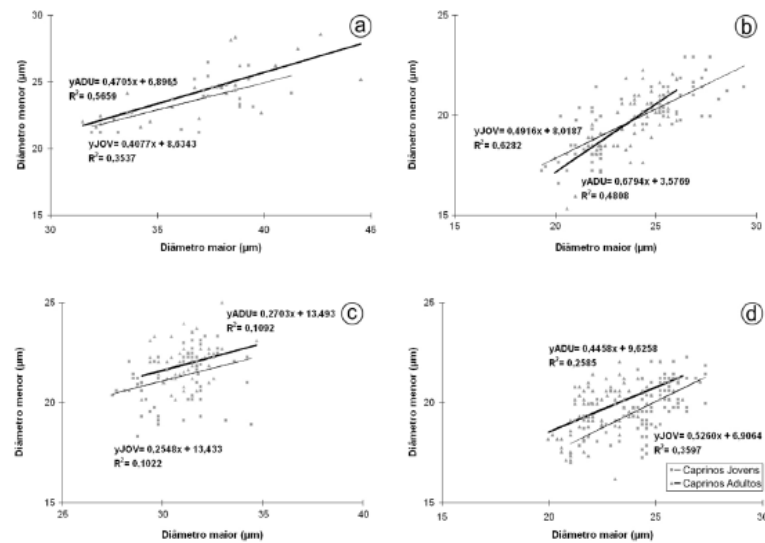


Figura 2. Distribuição dos oocistos esporulados do gênero *Eimeria* recuperados das fezes de caprinos procedentes do município de Teresópolis, RJ. A. *Eimeria chrintenseni*; B. *Eimeria hirci*; C. *Eimeria jolchijevi*; D. *Eimeria ninakohlyakimovae*.

et al. (2001) em que a análise da forma do oocisto pela reta de regressão e pelo teste-t para verificar diferenças na inclinação das retas pode se constituir em mais uma ferramenta útil na análise morfométrica dos oocistos esporulados de coccídios.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alyousif, M.S.; Kasim, A.A. & Al-Ahawa, Y.R. Coccidia of the domestic goat (*Capra hircus*) in Saudi Arabia. *Int. J. Parasitol.*, 22:807-811, 1992.

Armitage, P. & Berry, G. *Statistical methods in medical research*. Blackwell Science, London. 1995, 620p.

Berto, B.P.; Flausino, W.; Almeida, C.R.R. & Lopes, C.W.G. Polymorphism of *Tyzzeria parvula* (Kotlán, 1933) Klimes, 1963 (Apicomplexa: Eimeriidae) oocysts from the greylag geese, *Anser anser* L., 1758 from two distinct sites. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 30:215-219, 2008a.

Berto, B.P.; Lopes, B. do B.; Flausino, W.; Teixeira-Filho, W.L. & Lopes, C.W.G. Contribution on the study of *Isospora hemidactyli* Carini, 1936 and a report of an adeleid pseudoparasite of the house gecko *Hemidactylus mabouia*, from the Rio de Janeiro metropolitan region, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17:150-154, 2008b.

Dubey, J.P. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue-cyst forming coccidia of man and animals, p.171-175. In: Kreier J.P. (Ed.), *Parasitic Protozoa*. Academic Press, New York. 1977.

Duszynski, D.W. & Wilber, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *J. Parasitol.*, 83:333-336, 1997.

Duszynski, D.W., Wilson, W.D., Upton, S.J. & Levine, N.D. Coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) in the primates and the scandentia. *Int. J. Parasitol.*, 20:761-797, 1999.

Fayer, R. Epidemiology of Protozoan Infections: the Coccidia. *Vet. Parasitol.*, 6:75-103, 1980.

Joyner, L.P. Host and site specificity, p.35-62. In: Long, P.L. (Ed.), *The biology of coccidia*. University Park Press, Baltimore. 1982.

Levine, N.D. *Veterinary Protozoology*. Iowa State Univ. Press, Ames. 1985, 414p.

Lima, J.D. Prevalence of coccidia in domestic goats from Illinois, Indiana, Missouri and Wisconsin. *Inst. Goat Sheep Res.*, 1:234-241, 1980.

Lloyd, S. & Soulsby, E.J.L. Survey of parasites in dairy goats. *Am. J. Vet. Res.*, 39:1057-1059, 1978.

Long, P.L. & Joyner, L.P. Problems in the identification of species of *Eimeria*. *J. Protozool.*, 31:535-541, 1984.

Menezes, R.C.A.A. & Lopes, C.W.G. Epizootiologia da *Eimeria arloingi* em caprinos na microrregião Serrana Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Univ. Rural*, 17:5-12, 1995.

Menezes, R.C.A.A. & Lopes, C.W.G. Aspectos morfológicos de *Eimeria ninakohlyakimovae* (Apicomplexa: Eimeriidae) em caprinos leiteiros na microrregião Serrana Fluminense, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 18:212-215, 1996.

Musaev, M.A. Especificidade dos coccídios aos seus hospedeiros e algumas questões de sua taxonomia. *Izv. Akad. Nauk. Azerbajanskoi - SSR*, 2:52-61, 1970.

Norton, C.C. & Joyner, L.P. *Eimeria acervulina* and *E. mivati*: oocysts, life-cycle and ability to develop in the chicken embryo. *Parasitol.*, 83:269-279, 1981.

Pereira, M.J.S.; Fonseca, A.H. & Lopes, C.W.G. Regressão Linear na caracterização de variações morfométricas em Coccidia. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 10:75-78, 2001.

Pires, P.P. & Lopes, C.W.G. Espécies de *Eimeria* (Apicomplexa: Eimeriidae) em caprinos anglo-nubianos no Estado do Rio de Janeiro. *Arq. Univ. Fed. Rural R.J.*, 8:71-79, 1985.

- Pires, P.P. & Lopes, C.W.G. Alguns aspectos na epidemiologia da coccidiose caprina. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 8:71-73, 1986.
- Tadros, W. & Laarman, J.J. *Sarcocystis* and related coccidian parasites: a brief general review, together with a discussion on some biological aspects of their life cycles and a new proposal for their classification. *Acta Leiden*, 44:1-107, 1976.
- Teixeira-Filho, W.L.; Menezes, R.C.A.A. & Lopes, C.W.G. Importância da idade do hospedeiro na forma dos oocistos das espécies do gênero *Eimeria*, parasitos de caprinos leiteiros. *Rev. Univ. Rural*, 22:53-58, 2000.
- Tenter, A.M.; Barta, J.R.; Beveridge, I.; Duszynski, D.W.; Mehlhorn, H.; Morrison, D.A.; Thompson, A. & Conrad, P.A. The conceptual basis for a new classification of the coccidian. *Int. J. Parasitol.*, 32:595-616, 2002.
- Todd, K.S. & Ernst, J.V. Coccidia of mammals except man, p.71-99. In: Kreier, J.P. (Ed.), *Parasitic protozoa*. Academic Press, New York. 1977.

ACTA  
PROTOZOOLÓGICA

*Isospora ticoticoi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Rufous-collared Sparrow *Zonotrichia capensis* in South America

Lianna M. C. BALTHAZAR<sup>1</sup>, Bruno P. BERTO<sup>1</sup>, Walter FLAUSINO<sup>2</sup> and Carlos W. G. LOPES<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – CAPES and REUNI scholarship; <sup>2</sup>Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, RJ, Brasil – CNPq fellowship

**Summary.** This current study reports a new isosporoid (Apicomplexa: Eimeriidae) species parasitizing rufous-collared sparrows, *Zonotrichia capensis*, kept in captivity located in the mountainous region of Rio de Janeiro, Brazil. *Isospora ticoticoi* n. sp. oocysts are spherical to sub-spherical, 23.3 × 22.4 μm, with smooth, bilayered wall, ~1.2 μm. Micropyle and oocyst residuum are absent, however, sometimes, polar granules are present. Sporocysts are ellipsoidal, 17.0 × 10.8 μm. Stieda and substieda bodies are present. Sporocyst residuum is present, sporozoites have one refractile body and a nucleus.

**Key words:** *Isospora ticoticoi*, oocysts, coccidiosis, Passeriformes, Emberizidae, Rio de Janeiro, Brazil.

## INTRODUCTION

The rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis* Muller, 1776, is an emberizid bird found in a wide range of habitats, often near humans, from the extreme south-east of Mexico to Tierra del Fuego, and on the island of Hispaniola. In Brazil, it is a very common cage bird due to its beauty and vocalization (Lougheed and Handford 1992, Sick 1997, CBRO 2007).

The Emberizidae family is one of the families with more descriptions of isosporoid coccidian parasites. Un-

til this moment 19 species were described in this family. Brazil has 73 distinct emberizid species catalogued; being that many of these species, or others exotic species, are bred in captivity (CBRO 2007).

The current study describes a new *Isospora* species infecting rufous-collared sparrows, *Z. capensis*, kept in captivity located in the mountainous region of Rio de Janeiro, Brazil.

## MATERIAL AND METHODS

Fecal samples were collected from ten birds of two distinct breeders of rufous-collared sparrow located in Teresópolis City (22°25' S, 42°59' W), Rio de Janeiro State, Brazil. Three samples were collected from a first breeder, whereas the rest of the samples were collected from the other breeder. Birds were held in individual

Address for correspondence: Carlos W. G. Lopes, Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), BR-465 km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brazil. E-mail: lopescwg@ufrj.br / bertobp@ufrj.br



cages; samples were collected immediately after defecation and placed into plastic vials containing potassium dichromate solution 2.5% ( $K_2Cr_2O_7$ ) (1:6 w/v). Samples were carried to the Laboratório de Coccidios e Coccidioses located at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Samples were placed in a thin layer (~ 5 mm) of  $K_2Cr_2O_7$  2.5% solution in Petri plates, and incubated at 23–28°C for 10 days or until 70% of oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (S.G. 1.20) and microscopically examined using the technique described by Duszynski and Wilber (1997). Morphological observations (microcyst [M], oocyst residuum [OR], polar granule [PG], Stieda body [SB], substieda body [SSB], sporocyst residuum [SR], sporozoite [SZ], refractile body [SRB], nucleus [N]) and measurements, in  $\mu m$ , were performed using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective lens and ocular micrometer K-15X PZO (Poland). Line drawings were prepared using a binocular microscope Wild M-20 with drawing tube. Pictures were taken using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®. Size ranges are shown in parenthesis followed by average and shape index (L/W ratio).

## RESULTS

Ten rufous-collared sparrows were examined; two of them shed oocysts in the feces. All the positive samples were originating from the first breeder. Initially, the oocysts were non-sporulated, while 70% sporulated by day four.

### *Isospora ticoticoi* n. sp. (Figs 1a–d, 2a–c)

**Description of sporulated oocyst:** Oocyst shape (N = 14): spherical to sub-spherical; number of walls: 2; wall thickness: 1.2 (1.1–1.3); outer wall smooth, about 2/3 of total thickness; L × W: 23.3 × 22.4 (20–25 × 20–24), with shape-index: 1.0 (1.0–1.1); M and O: absent; PG: usually absent; however, sometimes, a unique spherical granule or scattered granules are present.

**Description of sporocyst and sporozoites:** Sporocyst shape (N = 14): ellipsoidal; L × W: 17.0 × 10.8 (15–18 × 10–11); shape-index: 1.6 (1.5–1.7); SB: present, nipple-like, 1.0 high × 2.0 wide; SSB: prominent and compartmentalized; a central and denser portion, 1.5 high × 2.4 wide; the outer portion is larger and colorless, 2.2 high × 3.8 wide; SR: present; SR characteristics: composed of scattered granules of different sizes; SZ: vermiform with 1 posterior SRB and a N.

**Type-host:** The rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis* (Muller, 1776) (Passeriformes: Emberizidae).

**Type-locality:** Teresópolis City (22°25' S, 42°59' W), Rio de Janeiro, Brazil.

**Material deposited:** Oocysts stored in 10% aqueous buffered formalin (v/v), and deposited in the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, at UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings are deposited at the same location. The repository number is P-34/2009

**Site of infection:** Unknown. Oocysts collected from fecal samples.

**Prevalence:** 20% (Two of ten examined birds).

**Etymology:** The specific epithet is derived from the common local name for the host, which is 'tico-tico'.

## DISCUSSION

In spite of *Z. capensis* to be a very common cage bird in Brazil, the native birds are protected by law. Thus, the breeders make difficult the collect and, for that reason, only ten fecal samples could be collected.

Descriptions of isosporan coccidia parasitizing birds of the Emberizidae are frequent. Boughton *et al.* (1938) recovered oocysts from feces of 13 emberizid species, including the golden-crowned sparrow *Z. atricapilla* Gmelin, 1789. Hadley (1910) reports a coccidium parasitizing the white-throated sparrow *Z. albicollis* Gmelin, 1789. These oocysts, however, were not described or named.

*Isospora emberizae* Mandal, Chakravarty, 1964 was described from the red-headed bunting *Emberiza bruniceps* Brandt, 1841. *Isospora exigua* McQuiston, Wilson, 1988, *I. fragmenta* McQuiston, Wilson, 1988, *I. rotunda* McQuiston, Wilson, 1988 and *I. teneraria* McQuiston, Wilson, 1988 parasites the small tree-finch *Camarhynchus parvulus* Gould, 1837; and *I. geospizae* McQuiston, Wilson, 1989 and *I. daphnensis* McQuiston, 1990 were described from the medium ground-finch *Geospiza fortis* Gould, 1837 (Mandal and Chakravarty 1964; McQuiston and Wilson 1988, 1989; McQuiston 1990).

*Isospora paroariae* Upton, Current, Clubb, 1985 was described from the red-crested cardinal, *Paroaria coronata* Miller, 1776; and *Isospora tiaris* Ball, Daszak, 1997 was described from soot grassquit, *Tiaris fuliginosa* Wied, 1830 (Upton *et al.* 1985, Ball and Daszak 1997).

Carvalho-Filho *et al.* (2005) identified three new species from the double-collared seedeater, *Sporophila caerulea* Vieillot, 1823, from Eastern Brazil: *I. sporophilae* Carvalho-Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes,

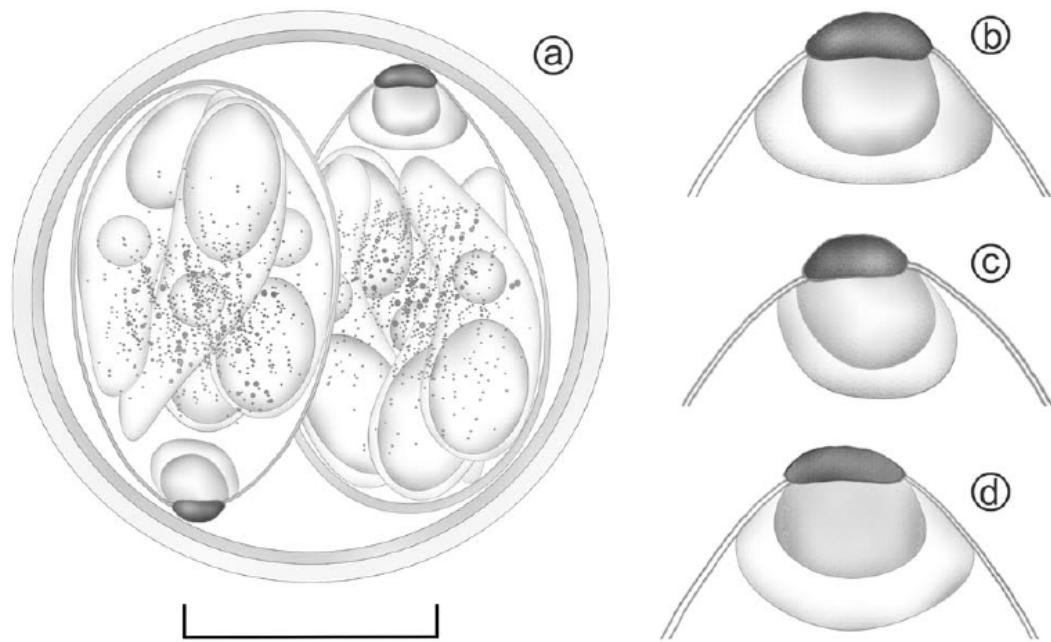


Fig. 1. Line drawings of *Isoospora ticoticoi*, a new coccidium species recovered from the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*. (a) sporulated oocyst with its respective variations of (b, c, d) Stieda and substieda bodies detached. Scale-bar: 10  $\mu\text{m}$  for oocyst (a); and 5  $\mu\text{m}$  for Stieda and substieda bodies (b, c, d).

2005, *I. flausinoi* Carvalho-Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes, 2005 and *I. teixeirafilhoi* Carvalho-Filho, Meireles, Ribeiro, Lopes, 2005.

*Isoospora braziliensis* Silva, Literák, Koudela, 2006, *I. paranaensis* Silva, Literák, Koudela, 2006 and *I. curio* Silva, Literák, Koudela, 2006 were identified from the lesser seed-finch *Oryzoborus angolensis* Linnaeus, 1766, from Brazil (Silva *et al.* 2006).

Dolnik and Loonen (2007) described, for the first time, an avian isosporan parasite that succeeds transmission while in the High Arctic: *Isoospora plectrophenaxia* Dolnik, Loonen, 2007, parasitized the snow bunting *Plectrophenax nivalis* Linnaeus, 1758.

Recently, Berto *et al.* (2009a) described three new species from the buffy-fronted seedeater *S. frontalis* Verreaux, 1869: *Isoospora frontalis* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009, *I. teresopoliensis* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009 and *I. chanchaoi* Berto, Balthazar, Flausino, Lopes, 2009.

According to Duszynski and Wilber (1997), a new coccidian species should be compared in details to coccidian species described in the family of the host. Therefore, *I. ticoticoi* was compared to the coccidia from the Emberizidae.

*Isoospora ticoticoi* oocysts can be easily distinguished due to compartmentalization of the SSB, since that no coccidium parasite of emberizid birds presents this characteristic.

*Isoospora emberizae*, whose host, *E. bruniceps*, is distributed in Asia and Europe; *I. exigua*, *I. fragmenta*, *I. rotunda* and *I. temeraria*, whose host, *C. parvulus*, occurs in the Galapagos Islands; and *I. geospizae* and *I. daphnensis*, whose host, *G. fortis*, occurs in the Galapagos Islands. Geographic isolation is considered to be a segregation factor for species of *Isoospora* (McQuiston and Wilson 1988).

*Isoospora ticoticoi* has not a compact SR founded in *I. paroariae*, *I. sporophilae*, *I. flausinoi*, *I. teixeirafilhoi*, *I.*





*paranaensis*, *I. plectrophenaxia* and *I. chanchaoi*. *Isospora tiaris*, *I. frontalis* and *I. teresopoliensis* oocysts are larger than *I. ticoticoi*, while *I. braziliensis* oocysts are lesser. Finally, *I. curio* not presents SSB.

In agreement with Grulet *et al.* (1982), Berto *et al.* (2009b), Berto *et al.* (2009c) and Berto *et al.* (2009d), some variations in the SB and SSB (Figs 1b–d) were observed in the sporocysts of this new species; however, these variations are not sufficient enough to describe another new species.

Based on the differential morphological features mentioned in this study, this species described above is therefore considered as new to science, representing the twentieth *Isospora* species described from the Emberizidae.

**Acknowledgements.** The authors would like to thank to the breeders of rufous-collared sparrows located in Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil, for permitting and assisting with the collection of the material.

#### REFERENCES

- Ball S. J., Daszak P. (1997) *Isospora tiaris* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the sooty grassquit (*Tiaris fuliginosa*), a passeriform bird of South America. *J. Parasitol.* **83**: 465–466
- Berto B. P., Balthazar L. M. C., Flausino W., Lopes C. W. G. (2009a) Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux, 1869 (Passeriformes: Emberizidae) from South America. *Syst. Parasitol.* **73**: 65–69
- Berto B. P., Balthazar L. M. C., Flausino W., Lopes C. W. G. (2009b) New isosporoid coccidian parasites of sayaca tanager, *Thraupis sayaca*, from South America. *Acta Parasitol.* **54**: 90–94
- Berto B. P., Flausino W., Luz H. B., Ferreira I., Lopes C. W. G. (2009c) Two new *Isospora* species from Brazilian tanager (*Ramphocelus bresilius dorsalis*) of South America. *Parasitol. Res.* **105**: 635–639.
- Berto B. P., Luz H. B., Flausino W., Ferreira I., Lopes C. W. G. (2009d) New species of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the short-crested flycatcher *Myiarchus ferox* (Gmelin) (Passeriformes: Tyrannidae) in South America. *Syst. Parasitol.* **74**: 75–80
- Boughton D. C., Boughton R. B., Volk J. (1938) Avian hosts of the genus *Isospora* (Coccidiidae). *Ohio J. Sci.* **38**: 149–163
- Carvalho-Filho P. R., Meireles G. S., Ribeiro C. T., Lopes C. W. G. (2005) Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed eater, *Sporophila caeruleascens* (Passeriformes: Emberizidae), from Eastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **100**: 151–154

«

**Fig. 2.** Photographs (a, b, c) of *Isospora ticoticoi*, a new coccidian species recovered from the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*. Scale bar: 10 µm.

- CBRO. 2007. Lista das aves do Brasil. Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos, Rio de Janeiro
- Dolnik O. V., Loonen, M. J. J. E. (2007) *Isospora plectrophenaxia* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae), a new coccidian parasite found in Snow Bunting (*Plectrophenax nivalis*) nestlings on Spitsbergen. *Parasitol. Res.* **101**: 1617–1619
- Duszynski D., Wilber P. (1997) A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeridae. *J. Parasitol.* **83**: 333–336
- Gruet O., Landau I., Baccam D. (1982) Les *Isospora* du Moineau domestique; multiplicité des especes. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* **57**: 209–235
- Hadley P. B. (1910) Coccidiosis in the English sparrow and other wild birds. *Zentralbl. Bakteriol.* **56**: 522–523
- Loughheed S. C., Handford P. (1992) Vocal dialects and the structure of geographic variation in morphological and allozymic characters in the Rufous-collared Sparrow. *Zonotrichia capensis*. *Evolution* **46**: 1443–1456
- Mandal A. K., Chakravarty M. M. (1964) Studies on some aspects of avian coccidia [Protozoa: Sporozoa]. 2. Five new species of *Isospora* Schneider, 1881. *Proc. Zool. Soc.* **17**: 35–45
- McQuiston T. E., Wilson M. (1988) Four new species of *Isospora* from the small tree finch (*Camarhynchus parvulus*) from the Galapagos Island. *J. Protozool.* **35**: 98–99
- McQuiston T. E., Wilson M. (1989) *Isospora geospizae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the small ground finch (*Geospiza fuliginosa*) and the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *System. Parasitol.* **14**: 141–144
- McQuiston T. E. (1990) *Isospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *J. Parasitol.* **76**: 30–32
- Sick H. (1997) Ornitologia Brasileira. Nova Fronteira, Rio de Janeiro
- Silva E. A. T., Literák I., Koudela B. (2006) Three new species of *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* **101**: 573–576
- Upton S. J., Current W. L., Clubb S. L. (1985) Two new species of *Isospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from passeriform birds of South America. *System. Parasitol.* **7**: 227–229

Received on 10<sup>th</sup> June, 2009; revised version on 15<sup>th</sup> September, 2009; accepted on 17<sup>th</sup> September, 2009



## 7.4. ANEXO D

### THE SLATE-COLORED SEEDEATER, *Sporophila schistacea*, A NEW HOST FOR *Isospora chanchaoi*\*

#### A CIGARRINHA-DO-NORTE, *Sporophila schistacea*, UM NOVO HOSPEDEIRO PARA *Isospora chanchaoi*

Lianna Maria de Carvalho Balthazar<sup>1</sup>; Bruno Pereira Berto<sup>2</sup>; Walter Flausino<sup>3</sup>  
and Carlos Wilson Gomes Lopes<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Balthazar, L.M.C.; Berto, B.P.; Flausino, W. & Lopes, C.W.G. The slate-colored seedeater, *Sporophila schistacea*, a new host for *Isospora chanchaoi*. [A cigarrinha-do-norte, *Sporophila schistacea*, um novo hospedeiro para *Isospora chanchaoi*.] *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 31(4):253-255, 2009. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465, Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: liannavet@ufrj.br

This study reports a slate-colored seedeater, *Sporophila schistacea*, parasitized by *Isospora chanchaoi*. This coccidium was originally described parasitizing *S. frontalis* and had never been reported in *S. schistacea*. Its oocysts were spherical to sub-spherical or ovoid, 24.7 x 22.4 µm, with a smooth, bi-layered wall. Both a micropyle and an oocyst residuum were absent, but one or two polar granules were present. The sporocysts were ellipsoidal, 16.6 x 11.0 µm. The Stieda body was nipple-shaped and the substieda body was small but prominent. The sporocyst residuum formed a compact mass of granules, and the sporozoites were large and elongate, with a refractile body and a nucleus. Thus, based on this study, the slate-colored seedeater *S. schistacea* is considered as new host for *I. chanchaoi*.

**KEY WORDS.** Morphology, sporulated oocysts, coccidia, Emberizidae, Passeriformes, Teresópolis.

**RESUMO.** Este estudo relata a cigarrinha-do-norte, *Sporophila schistacea*, parasitada por *Isospora chanchaoi*. Este coccídio foi originalmente descrito parasitando *S. frontalis* e nunca havia sido relatado em *S. schistacea*. Seus oocistos foram esféricos a sub-esféricos ou ovóides, 24,7 x 22,4 µm, com parede lisa e dupla. Micrópila e resíduo estavam ausentes, mas um ou dois grânulos polares estavam presentes. Os esporocistos foram elipsóides, 16,6 x 11,0 µm. Corpo de Stieda mamiliforme e corpo substieda pequeno, porém proeminente. O resíduo do esporocisto formava uma massa compacta de grânulos. Esporozóitos grandes e alongados, com um corpo refrátil

e um núcleo. Assim, baseado neste estudo, a cigarrinha-do-norte é considerada um novo hospedeiro para *I. chanchaoi*.

**PALAVRAS-CHAVE.** Morfologia, oocistos esporulados, coccídios, Emberizidae, Passeriformes, Teresópolis.

### INTRODUCTION

The slate-colored seedeater *Sporophila schistacea* Lawrence, 1862 is a bird of the Emberizidae family. It is native species in Brazil and has an extremely large range, being found too in Belize, Bolivia, Colombia, Costa Rica, Ecuador, French Guiana, Guyana, Honduras, Mexico, Panama, Peru, Surina-

\* Accepted for publication on June 23, 2009

<sup>1</sup>Médica-veterinária. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (CPGCV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465, Km-07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: liannavet@ufrj.br - CAPES scholarship.

<sup>2</sup>Biólogo. M. Micro. Vet., CPGCV, UFRRJ, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ. E-mail: bertobp@ufrj.br - REUNI scholarship.

<sup>3</sup>Biólogo, PhD, Departamento de Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária(IV), UFRRJ, BR 465, Km 07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: flausino@ufrj.br

<sup>4</sup>Médico-veterinário. PhD, LD, DPA, IV, UFRRJ, BR 465, Km 07. Seropédica, RJ. E-mail: lopescwg@ufrj.br - CNPq fellowship.

me, Trinidad and Tobago, and Venezuela. Its natural habitats are subtropical or tropical moist lowland forests and heavily degraded former forest. Besides, it is a very common cage bird due to your beauty and vocalization (Stotz et al., 1996; Sick, 1997; CBRO, 2007).

Coccidiosis is a parasitic disease affecting the intestinal tract of animals, caused by coccidian protozoa. Passeriformes are principally parasitized by *Isospora* Schneider, 1881 genus. Most birds infected with these coccidia are asymptomatic; however, young or immuno-compromised birds may suffer severe symptoms, including death (Soulsby, 1987).

Primordially, Hadley (1910) and Boughton et al. (1938) recovered oocysts from feces of emberizid birds; however, these oocysts were not described or named. In the last years, 10 of descriptions of new coccidian species were done in the Emberizidae family (Mandal & Chakravarty, 1964; Upton et al., 1985; McQuiston & Wilson, 1988; McQuiston & Wilson, 1989; McQuiston, 1990; Ball & Daszak, 1997; Carvalho-Filho et al., 2005; Silva et al., 2006; Dolnik & Loonen, 2007).

Recently, Berto et al. (2009) described three new species of *Isospora* from the buffy-fronted seedeater *S. frontalis* Verreaux, 1869: *Isospora frontalis* Berto et al., 2009, *I. teresopoliensis* Berto et al., 2009 and *I. chanchaoi* Berto et al., 2009.

The aim of this study was to report *I. chanchaoi* parasitizing slate-colored seedeaters *S. schistacea* from the mountainous region of the State of the Rio de Janeiro, Brazil.

#### MATERIALS AND METHODS

Fecal samples were collected from two birds of a single breeder of the slate-colored seedeater located

in Teresópolis City (22° 25' S and 42° 59' W), Rio de Janeiro State, Brazil. Birds were held in individual cages; samples were collected immediately after defecation and placed into plastic vials containing potassium dichromate solution 2.5% ( $K_2Cr_2O_7$ ) (1:6 w/v). Samples were carried to Laboratório de Coccidios e Coccidioses at PSA (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Samples were placed in a thin layer (~ 5 mm) of  $K_2Cr_2O_7$  2.5% solution in Petri plates, and incubated at 23-28°C for 10 days or until 70% of oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (sp. g. 1.20) and examined microscopically using a technique described by Duszynski & Wilber (1997).

Morphological observations and measurements, in  $\mu m$ , were performed using a binocular microscope Carl Zeiss with apochromatic oil immersion objective lens and ocular micrometer K-15X PZO (Poland).

Pictures were taken using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®. Size ranges are in parenthesis followed by average and shape index (length/width). Means comparisons by Student's t-test were performed using the software Excel XP (Microsoft Co., Redmond, WA, USA), based on Sampaio (2002).

#### RESULTS AND DISCUSSION

Two slate-colored seedeaters were examined; one of them shed oocysts in the feces. Initially, the oocysts were non-sporulated, while 70% sporulated by day two.

These sporulated oocysts (Figure 1) were sub-spherical or ovoid, with smooth and bi-layered wall.

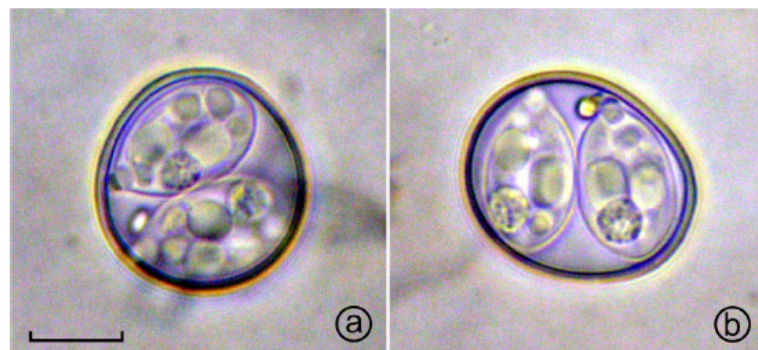


Figure 1. Photographs (a, b) of sporulated oocysts of *Isospora chanchaoi* recovered from the slate-colored seedeater *Sporophila schistacea*. Scale-bar: 10 $\mu m$



Table 1. Means comparisons of the sporulated oocysts of *Isoospora chanchaoi* recovered from the emberizids *Sporophila frontalis* and *S. schistacea*.

Means	Oocysts samples (µm)	
	Berto et al. (2009) <sup>1</sup>	Present study <sup>2</sup>
Oocysts		
Width	24.2 (23-26) <sup>a</sup>	24.7 (23-26) <sup>a</sup>
Length	22.0 (21-23) <sup>a</sup>	22.4 (22-23) <sup>a</sup>
Shape-index	1.1 (1.0-1.1) <sup>a</sup>	1.1 (1.0-1.2) <sup>a</sup>
Sporocysts		
Width	16.1 (15-17) <sup>a</sup>	16.6 (16-17) <sup>a</sup>
Length	10.3 (10-11) <sup>a</sup>	11.0 (10-12) <sup>a</sup>
Shape-index	1.6 (1.5-1.6) <sup>a</sup>	1.5 (1.4-1.6) <sup>a</sup>

<sup>1</sup>Samples recovered from *S. frontalis*.

<sup>2</sup>Samples recovered from *S. schistacea*.

<sup>a</sup>Same letters within each row denote statistically equivalent means (P>0.001) by Student's t-test.

Micropyle and oocyst residuum were absent, while one or two polar granules were present. Sporocysts were ellipsoidal, with a smooth, thin, single-layered wall. Stieda body was nipplelike and substieda body small, but prominent. Sporocyst residuum formed a compact mass of granules. Sporozoites were large and elongated with one large refractile body and a nucleus.

These oocysts were similar to *I. chanchaoi* oocysts. Table 1 shows the means comparisons between the oocysts recovered in this study and the *I. chanchaoi* oocysts of the original description of Berto et al. (2009).

Based on the morphological features and means comparisons mentioned in this study, the slate-colored seedeater *S. schistacea* is therefore considered as new host for *I. chanchaoi*.

## REFERENCES

- Ball, S. J. & Daszak, P. *Isoospora tiaris* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the sooty grassquit (*Tiaris fuliginosa*), a passeriform bird of South America. *J. Parasitol.*, 83: 465-466, 1997.
- Berto, B. P.; Balthazar, L. M. C.; Flausino, W. & Lopes, C. W. G. Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux, 1869 (Passeriformes: Emberizidae) from South America. *Syst. Parasitol.*, 73:65-69, 2009.
- Boughton, D. C.; Boughton, R. B. & Volk J. Avian hosts of the genus *Isoospora* (Coccidiidae). *Ohio J. Sci.*, 38: 149-163, 1938.
- Carvalho-Filho, P. R.; Meireles, G. S.; Ribeiro, C. T. & Lopes, C. W. G. Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed eater, *Sporophila caerulescens* (Passeriformes: Emberizidae), from Eastern Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 100: 151-154, 2005.
- CBRO. *Lista das aves do Brasil*. Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos, Rio de Janeiro. 2007, 32p.
- Dolnik, O. V. & Loonen, M. J. J. E. *Isoospora plectrophenaxia* n. sp (Apicomplexa: Eimeriidae), a new coccidian parasite found in Snow Bunting (*Plectrophenax nivalis*) nestlings on Spitsbergen. *Parasitol. Res.*, 101: 1617-1619, 2007.
- Duszynski, D.W. & Wilber, P.G. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *J. Parasitol.*, 83: 333-336, 1997.
- Hadley, P.B. Coccidiosis in the English sparrow and other wild birds. *Zentralbl. Bakteriol.*, 56: 522-523, 1910.
- Mandal, A. K. & Chakravarty, M. M. Studies on some aspects of avian coccidia [Protozoa: Sporozoa]. 2. Five new species of *Isoospora* Schneider, 1881. *Proc. Zool. Soc.*, 17: 35-45, 1964
- McQuiston, T.E. & Wilson, M. Four new species of *Isoospora* from the small tree finch (*Camarhynchus parvulus*) from the Galapagos Island. *J. Protozool.*, 35: 98-99, 1988
- McQuiston, T. E. & Wilson, M. *Isoospora geospizae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the small ground finch (*Geospiza fuliginosa*) and the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *Syst. Parasitol.*, 14: 141-144, 1989.
- McQuiston, T. E. *Isoospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *J. Parasitol.*, 76: 30-32, 1990.
- Sampaio, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. FEPMVZ, Belo Horizonte. 2002, 265p.
- Sick, H. *Ornitologia Brasileira*. Nova Fronteira, Rio de Janeiro. 1997, 862p.
- Silva, E. A. T.; Literák, I. & Koudela, B. Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 101: 573- 576, 2006
- Soulsby, E. J. L. *Parasitología y enfermedades parasitarias*. México, Interamericana. 1987, 823p.
- Stotz, D.F.; Fitzpatrick J.W.; Parker T.A. & Moskovits D.K. *Neotropical birds: ecology and conservation*. University of Chicago Press, Chicago. 1996, 546p.
- Upton S.J.; Current W.L. & Clubb S.L. Two new species of *Isoospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from passeriform birds of South America. *Syst. Parasitol.*, 7: 227-229, 1985.

## Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux (Passeriformes: Emberizidae) in South America

Bruno P. Berto · Lianna M. C. Balthazar ·  
Walter Flausino · Carlos W. G. Lopes

Received: 25 July 2008 / Accepted: 8 October 2008  
© Springer Science+Business Media B.V. 2009

**Abstract** Three new coccidian (Apicomplexa: Eimeriidae) species from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux in Brazil are reported in the current study. *Isoospora frontalis* n. sp. oöcysts are spherical to sub-spherical,  $27.9 \times 26.9 \mu\text{m}$ , with a smooth, bi-layered wall  $c.1.4 \mu\text{m}$  thick. A micropyle and an oöcyst residuum are absent, but polar granules are present. Sporocysts are elongate ellipsoidal,  $19.6 \times 11.1 \mu\text{m}$ . The Stieda body is knob-like and the substieda body is slight. The sporocyst residuum is composed of scattered granules, and the sporozoites are vermiform with a refractile body and a nucleus. *Isoospora teresopolensis* n. sp. oöcysts are

spherical to sub-spherical,  $25.7 \times 24.3 \mu\text{m}$ , with a smooth, bi-layered wall  $1.3 \mu\text{m}$  thick. A micropyle, oöcyst residuum and polar granule are absent. Sporocysts are ovoid,  $18.8 \times 11.2 \mu\text{m}$ . The Stieda body is nipple-shaped and the substieda body is large and prominent. The sporocyst residuum is composed of scattered granules, and the sporozoites are large and elongate, with a refractile body and nucleus. Oöcysts of *Isoospora chanchaoi* n. sp. are spherical to sub-spherical or ovoid,  $24.2 \times 22.0 \mu\text{m}$ , with a smooth, bi-layered wall  $c.1.2 \mu\text{m}$  thick. Both a micropyle and an oöcyst residuum are absent, but one or two polar granules are present. The sporocysts are ellipsoidal,  $16.1 \times 10.3 \mu\text{m}$ . The Stieda body is nipple-shaped and the substieda body is small but prominent. The sporocyst residuum forms a compact mass of granules, and the sporozoites are large and elongate, with a refractile body and a nucleus.

B. P. Berto  
Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias,  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ),  
Rio de Janeiro, RJ, Brazil  
e-mail: bertobp@ufrrj.br

L. M. C. Balthazar  
Clínica Veterinária São Francisco, Rua São Francisco,  
411, 25950-000 Teresópolis, RJ, Brazil  
e-mail: liannavet@yahoo.com.br

W. Flausino · C. W. G. Lopes (✉)  
Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de  
Veterinária, UFRRJ, BR-465 km 7,  
23890-000 Seropédica, RJ, Brazil  
e-mail: lopeswg@ufrrj.br

W. Flausino  
e-mail: flausino@ufrrj.br

### Introduction

The buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis* Verreaux is an emberizid bird listed as vulnerable by the IUCN (World Conservation Union) because the population is likely to be small and rapidly declining as a result of deforestation and trapping. It is native to Argentina, Brazil and Paraguay. In Brazil, *S. frontalis* is found in Rio de Janeiro, Minas Gerais and São Paulo States, but rarely found in Espírito

Santo, Paraná, Santa Catarina and Rio Grande do Sul States (Capper et al., 2007).

Coccidiosis caused by species of *Isospora* Schneider, 1881, described in birds of the genus *Sporophila* Linnaeus, was first reported by Carvalho-Filho et al. (2005), when oöcysts were recovered from faeces of the double-collared seedeater *S. caerulescens* Vieillot.

The current study describes three new *Isospora* species infecting the buffy-fronted seedeater *S. frontalis* in Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil.

### Materials and methods

Faecal samples were collected from 11 birds of a single breeder of the buffy-fronted seedeater located in Teresópolis City (22°25'S; 42°59'W), Rio de Janeiro State, Brazil. Birds were held in individual cages; samples were collected immediately after defecation and placed into plastic vials containing potassium dichromate solution 2.5% ( $K_2Cr_2O_7$ ) (1:6 w/v). Samples were transported to the Laboratório de Coccídios e Coccidioses located at the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Samples were placed in a thin layer (c.5 mm) of  $K_2Cr_2O_7$  2.5% solution in Petri plates and incubated at 23–28°C for 10 days or until 70% of the oöcysts were sporulated. Oöcysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (sp. g. 1.20) and examined microscopically using a technique described by Duszynski and Wilber (1997). Morphological observations and measurements, in micrometres, were made using a Carl Zeiss binocular microscope with an apochromatic oil immersion objective lens and a PZO K-15X ocular micrometer. Line drawings were prepared using a binocular microscope Wild M-20 with a drawing tube. Pictures were taken using a Sony CD Mavica MVC-CD250 digital camera. Size ranges are in parenthesis followed by the mean, standard deviation and shape index (length/width).

### Results

Eleven buffy-fronted seedeater birds were examined; eight of them shed oöcysts in the faeces. Initially, the oöcysts were non-sporulated, but 70% had sporulated by day two.

### *Isospora frontalis* n. sp.

*Type-host:* *Sporophila frontalis* Verreaux (Aves: Passeriformes: Emberizidae).

*Type-locality:* Teresópolis City (22°25'S; 42°59'W), Rio de Janeiro, Brazil.

*Type-material:* Oöcysts in 10% aqueous buffered formalin (v/v) are deposited in the Parasitology Collection, Department of Animal Parasitology, UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings are also deposited. The repository number is P-22/2008.

*Prevalence:* 9% (1 of 11 examined birds shed oöcysts in the faeces). Other isosporoid coccidia were not associated.

*Site:* Not investigated.

*Etymology:* The specific name is derived from the specific name of the type-host.

### Description of oöcysts (Figs. 1A, 2A, B)

Sporulated oöcysts spherical to sub-spherical,  $27.9 \pm 0.6$  (27–29)  $\times$   $26.9 \pm 1.2$  (25–28) ( $n = 15$ ), with shape-index of 1.0 (1.0–1.1), smooth, with  $1.4 \pm 0.1$  (1.3–1.5) thick bi-layered-wall. Micropyle and oöcyst residuum absent, but splinter-like or comma-shaped polar granules present. Sporocysts elongate ellipsoidal,  $19.6 \pm 0.7$  (19–21)  $\times$   $11.1 \pm 0.7$  (10–12) ( $n = 15$ ), with average shape-index 1.8 (1.6–1.9) and smooth, thin, single-layered wall. Stieda body knob-like, c.0.8 deep  $\times$  1.7 wide; substieda body slight. Sporocyst residuum composed of scattered granules. Sporozoites vermiform, with posterior refractile body and centrally located nucleus.

### *Isospora teresopoliensis* n. sp.

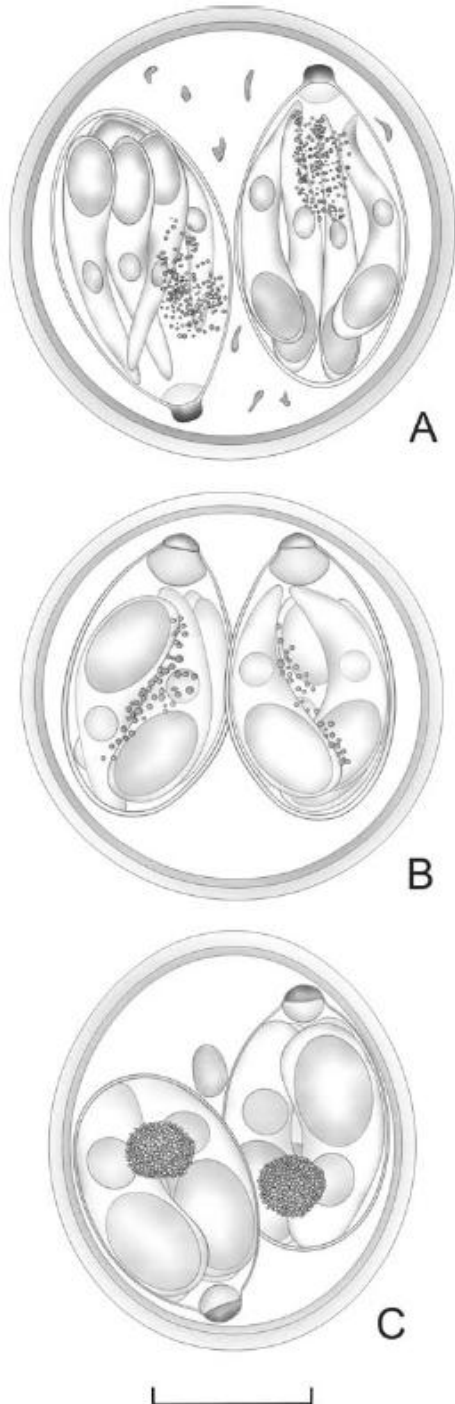
*Type-host:* *Sporophila frontalis* Verreaux (Aves: Passeriformes: Emberizidae).

*Type-locality:* Teresópolis City (22°25'S; 42°59'W), Rio de Janeiro, Brazil.

*Type-material:* Oöcysts in 10% aqueous buffered formalin (v/v) are deposited in the Parasitology Collection, Department of Animal Parasitology,

**Fig. 1** Line drawings of sporulated oöcysts of new coccidian species recovered from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis*. A. *Isospora frontalis* n. sp.; B. *I. teresopoliensis* n. sp.; C. *I. chanchaoi* n. sp. Scale-bar: 10  $\mu$ m





UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings are also deposited. The repository number is P-23/2008.

**Prevalence:** 18% (2 of 11 examined birds shed oocysts in the faeces). In one of them no other isosporoid coccidia were associated, but in the other bird this coccidium was associated with *I. chanchaoi* n. sp.

**Site:** Not investigated.

**Etymology:** The specific name is derived from the city of origin of the host.

#### Description of oocysts (Figs. 1B, 2C, D)

Sporulated oocysts spherical to sub-spherical,  $25.7 \pm 1.0$  (24–27)  $\times$   $24.3 \pm 0.9$  (23–25) ( $n = 15$ ), with shape-index of 1.1 (1.0–1.1) and smooth bi-layered wall  $1.3 \pm 0.1$  (1.2–1.4) thick. Micropyle, oocyst residuum and polar granule absent. Sporocysts ovoid,  $18.8 \pm 0.7$  (18–20)  $\times$   $11.2 \pm 0.5$  (10–12) ( $n = 15$ ), with shape-index of 1.7 (1.6–1.7) and smooth, thin, single-layered wall. Stieda body is nipple-shaped,  $c.0.8$  deep  $\times$   $1.9$  wide; substieda body large, prominent,  $c.2.2$  deep  $\times$   $3.7$  wide. Sporocyst residuum composed of scattered granules. Sporozoites large, elongate, with large refractile body and centrally located nucleus.

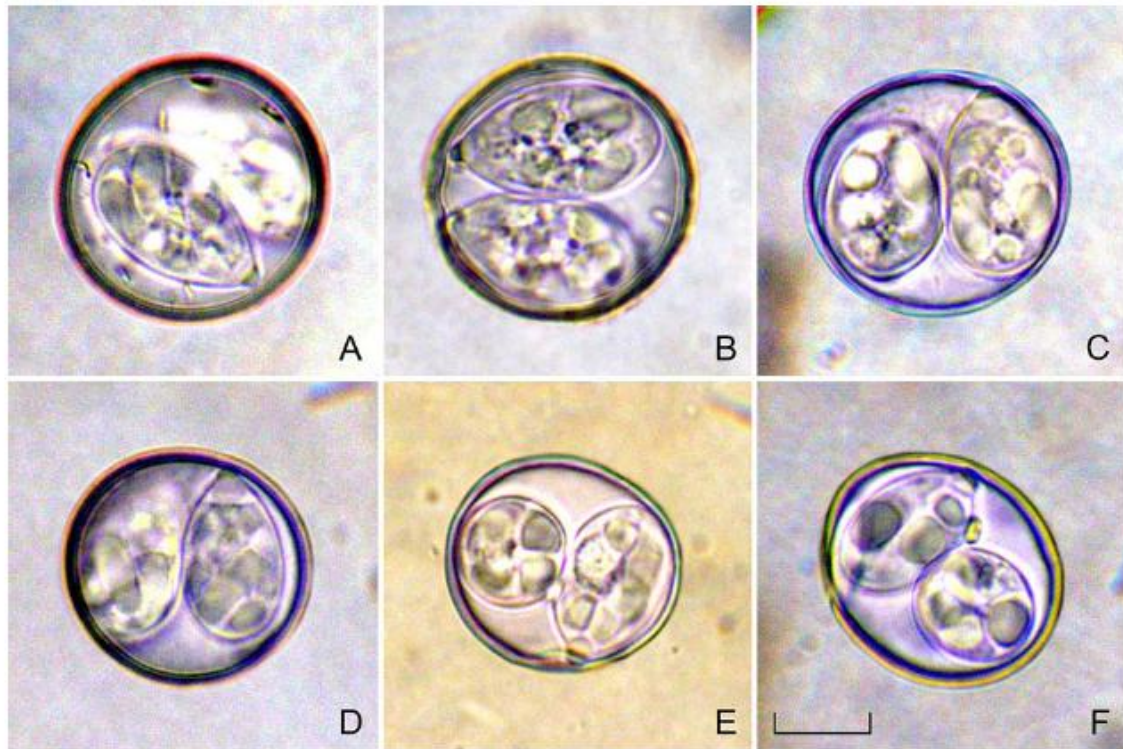
#### *Isospora chanchaoi* n. sp.

**Type-host:** *Sporophila frontalis* Verreaux (Aves: Passeriformes: Emberizidae).

**Type-locality:** Teresópolis City (22°25'S; 42°59'W), Rio de Janeiro, Brazil.

**Type-material:** Oocysts in 10% aqueous buffered formalin (v/v) deposited in the Parasitology Collection, Department of Animal Parasitology, UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil. Phototypes and line drawings are also deposited. The repository number is P-24/2008.

**Prevalence:** 55% (6 of 11 examined birds shed oocysts in the faeces). In five of them no other isosporoid coccidia were associated, but in the bird examined last this coccidium was associated with *I. teresopolensis* n. sp.



**Fig. 2** Photographs of sporulated oocysts of new coccidian species recovered from the buffy-fronted seedeater *Sporophila frontalis*. A,B. *Isospora frontalis* n. sp.; C,D. *I. teresopoliensis* n. sp.; E,F. *I. chanchaoi* n. sp. Scale-bar: 10  $\mu$ m

*Site*: Not investigated.

*Etymology*: The specific name is derived from the common local name for the host, which is 'chanchão'.

#### Description of oocysts (Figs. 1C, 2E, F)

Sporulated oocysts spherical to sub-spherical or ovoid,  $24.2 \pm 0.9$  (23–26)  $\times$   $22.0 \pm 0.8$  (21–23) ( $n = 15$ ), with shape-index of 1.1 (1.0–1.1) and smooth,  $1.2 \pm 0.0$  (1.1–1.2) thick, bi-layered wall. Micropyle and oocyst residuum absent, but 1–2 polar granules present. Sporocysts ellipsoidal,  $16.1 \pm 0.7$  (15–17)  $\times$   $10.3 \pm 0.4$  (10–11) ( $n = 15$ ), with shape-index of 1.6 (1.5–1.6) and smooth, thin, single-layered wall. Stieda body is nipple-shaped,  $c.0.8$  deep  $\times$  2.0 wide; substieda body small but prominent,  $c.1.4$  deep  $\times$  2.2 wide. Sporocyst residuum forms compact mass of granules. Sporozoites large, elongate, with single large refractile body and single nucleus.

#### Discussion

Numerous coccidia have been described from birds belonging to the family Emberizidae: *Isospora emberizae* (Mandal & Chakravarty, 1964), whose host, the red-headed bunting *Emberiza bruniceps* Brandt, is distributed in Asia and Europe; *I. exigua* (McQuiston & Wilson, 1988), *I. fragmenta* (McQuiston & Wilson, 1988), *I. rotunda* (McQuiston & Wilson, 1988) and *I. temeraria* (McQuiston & Wilson, 1988), whose host, the small tree finch *Camarhynchus parvulus* Gould, occurs in the Galapagos Islands; and *I. geospizae* (McQuiston & Wilson, 1989) and *I. daphnensis* (McQuiston, 1990), whose host, the medium-ground finch *Geospiza fortis* Gould, occurs in the Galapagos Islands but is also present in South America (Mandal & Chakravarty, 1964; McQuiston & Wilson, 1988, 1989; McQuiston, 1990). These species are found in geographically isolated sites, calling into question the suggestions of cross-transmission.



According to Duszynski and Wilber (1997), any new coccidian species should be compared in details with those species that have the most similar characteristics and whose hosts belong to the same host family. Therefore, the specimens investigated in this study were compared with those species listed below:

- *I. paroariae* (Upton et al., 1985) obtained from the red-crested cardinal *Paroaria coronata* Miller, has oöcysts which are smaller than those of *I. frontalis* n. sp. and *I. teresopoliensis* n. sp., and differ from oöcysts of *I. chanchaoi* because they lack a polar granule (Upton et al., 1985).
- *I. tiaris* (Ball & Daszak, 1997), described from the sooty grassquit *Tiaris fuliginosus* Wied in Venezuela, has smaller oöcysts than *I. frontalis* and *I. teresopoliensis*, and does not have ellipsoidal sporocysts as occur in *I. chanchaoi* (see Ball & Daszak, 1997).
- *I. sporophila* (Carvalho-Filho et al., 2005), *I. flausinoi* (Carvalho-Filho et al., 2005) and *I. teixeirafilhoi* (Carvalho-Filho et al., 2005), from the double-collared seed eater *S. caerulescens*, have smaller oöcysts than *I. frontalis*, *I. teresopoliensis* and *I. chanchaoi* (see Carvalho-Filho et al., 2005).
- *I. curio* (Silva et al., 2006), *I. brazilensis* (Silva et al., 2006) and *I. paranaensis* (Silva et al., 2006), described from the lesser seed-finch *Oryzoborus angolensis* Linnaeus, lack a substieda body in the oöcysts, unlike those species reported in the current study (Silva et al., 2006), and both *I. brazilensis* and *I. paranaensis* also differ due to the presence of a single-layered oöcyst wall.

Based on the differential morphological features mentioned in this study, the specimens described above are therefore considered as new to science.

**Acknowledgements** The authors are grateful to the breeder of the buffy-fronted seed-eater located in Teresópolis City, Rio

de Janeiro State, Brazil, for permitting and assisting with the collection of the material.

## References

- Ball, S., & Daszak, P. (1997). *Isoospora tiaris* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the sooty grassquit (*Tiaris fuliginosa*), a passeriform bird of South America. *Journal of Parasitology*, 83, 465–466.
- Capper, D., Wege, D., & Pople, R. (2007). *Sporophila frontalis*. IUCN red list of threatened species. <http://www.iucnredlist.org/>, version (06/2008).
- Carvalho-Filho, P., Meireles, G., Ribeiro, C., & Lopes, C. (2005). Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the double-collared seed eater, *Sporophila caerulescens* (Passeriformes: Emberizidae), from eastern Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 151–154.
- Duszynski, D., & Wilber, P. (1997). A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, 83, 333–336.
- Mandal, A., & Chakravarty, M. (1964). Studies on some aspects of avian coccidia [Protozoa: Sporozoa]. 2. Five new species of *Isoospora* Schneider, 1881. *Proceedings of the Zoological Society (Calcutta)*, 17, 35–45.
- McQuiston, T. (1990). *Isoospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *Journal of Parasitology*, 76, 30–32.
- McQuiston, T., & Wilson, M. (1988). Four new species of *Isoospora* from the small tree finch (*Camarhynchus parvulus*) from the Galapagos Island. *Journal of Parasitology*, 35, 98–99.
- McQuiston, T., & Wilson, M. (1989). *Isoospora geospizae*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the small ground finch (*Geospiza fuliginosa*) and the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Island. *Systematic Parasitology*, 14, 141–144.
- Silva, E., Literák, I., & Koudela, B. (2006). Three new species of *Isoospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the lesser seed-finch, *Oryzoborus angolensis* (Passeriformes: Emberizidae) from Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 101, 573–576.
- Upton, S., Current, W., & Clubb, S. (1985). Two new species of *Isoospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from passeriform birds of South America. *Systematic Parasitology*, 7, 227–229.



## New isosporoid coccidian parasites of sayaca tanager, *Thraupis sayaca*, from South America

Bruno Pereira Berto<sup>1\*</sup>, Lianna M.C. Balthazar<sup>2</sup>, Walter Flausino<sup>3</sup> and Carlos Wilson Gomes Lopes<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) – REUNI scholarship; <sup>2</sup>Clínica Veterinária São Francisco, Rua São Francisco, 411, 25950-000, Teresópolis, RJ, Brasil; <sup>3</sup>Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ, BR-465 km 7, 23890-000 Seropédica, RJ, Brasil – CNPq fellowship

### Abstract

Three new coccidian (Apicomplexa, Eimeriidae) species from the sayaca tanager, *Thraupis sayaca*, from Brazil, are reported in the current study. *Isoospora sanhaci* sp. nov. oocysts are spherical to subspherical,  $22.1 \times 21.0 \mu\text{m}$ , with smooth, bilayered wall,  $\sim 1.0 \mu\text{m}$ . Micropyle, oocyst residuum and polar granule are absent, while Stieda and substieda bodies are present. Sporocysts are elongated,  $17.0 \times 9.9 \mu\text{m}$ . Sporocyst residuum is present, sporozoites have one refractile body and a nucleus. *Isoospora sayacae* sp. nov. are spherical to subspherical,  $28.9 \times 27.4 \mu\text{m}$ , with smooth, bilayered wall,  $\sim 1.3 \mu\text{m}$ . Micropyle, oocyst residuum and polar granule are absent, while Stieda and substieda bodies are present. Sporocysts are bottle-shaped,  $23.4 \times 11.8 \mu\text{m}$  and containing a sporocyst residuum and sporozoites with one refractile body and a nucleus. *Isoospora silvasouzai* sp. nov. are spherical to subspherical,  $25.5 \times 22.6 \mu\text{m}$ , with a smooth, bilayered wall,  $\sim 1.0 \mu\text{m}$ . Micropyle and oocyst residuum are absent, but one polar granule is present. Sporocysts are pyriform ellipsoidal,  $17.6 \times 10.5 \mu\text{m}$ . Stieda and substieda bodies and sporocyst residuum are present and sporozoites have one refractile body and a nucleus.

### Keywords

*Isoospora sanhaci*, *I. sayacae*, *I. silvasouzai*, oocysts, coccidiosis, Passeriformes, Thraupidae, Rio de Janeiro, Brazil

### Introduction

The sayaca tanager, *Thraupis sayaca* Linnaeus, 1766, is a thrupid bird with a large host range. This host species is found in Argentina, Bolivia, Brazil, Colombia, Paraguay, Peru, Uruguay and Venezuela. In Brazil, it is found throughout the country except in the north. This species inhabits landscapes with trees and shrubs, plantations and, primarily, urbane areas (Stotz *et al.* 1996, Sick 1997).

Isoosporoid coccidia parasitizing Andean tanagers was reported by Boughton *et al.* (1938): (1) the southern palm tanager, *Thraupis palmarum* Wied, 1821; (2) the magpie tanager, *Cissopis leveriana* Gmelin, 1788; (3) the southern silver-beaked tanager, *Ramphocellus carbo* Pallas, 1764; and (4) the Brazilian tanager, *Ramphocellus bresilius* Sclater, 1855. All of these coccidia were from captured birds in zoos, but none of them were described or named.

Six species have been described so far. Three of them: *Isoospora thraupis* Lainson, 1994; *I. andesensis* Templar, McQuiston et Capparella, 2004; and *I. irisidornisi* Metzelaars, Spaargaren, McQuiston et Capparella, 2005 were described in the palm tanager, *T. palmarum*, in the common bush tanager, *Chloropingus ophthalmicus* Du Bus de Gisignies, 1847, and in the yellow-throated tanager, *Iridosornis analis* Tschudi, 1844,

respectively (Lainson 1994, Templar *et al.* 2004, Metzelaars *et al.* 2005).

Recently, Berto *et al.* (2008) described three new species from the Brazilian tanager, *R. bresilius*: *Isoospora tiesanguini* Berto, Flausino, Luz, Ferreira et Lopes, 2008; *I. marambaisensis* Berto, Flausino, Luz, Ferreira et Lopes, 2008; and *I. sepetibensis* Berto, Flausino, Luz, Ferreira et Lopes, 2008.

The current study describes three new *Isoospora* species infecting *T. sayaca* in Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil.

### Materials and methods

Fecal samples were collected from 2 birds collected from a breeder in Teresópolis City ( $22^{\circ}25'S$  and  $42^{\circ}59'W$ ), Rio de Janeiro State, Brazil. Birds were held in individual cages, samples were collected immediately after defecation and placed into plastic vials with potassium dichromate 2.5% solution ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ) (1:6 v/v). Samples were transported to the Laboratório de Coccídios e Coccidioses located at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). They were placed in a thin layer ( $\sim 5 \text{ mm}$ )  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  2.5% solution in Petri plates, and incubated at  $23\text{--}28^{\circ}\text{C}$  for 10 days or until 70% of oocysts

\*Corresponding author: lopescw@ufrj.br or bertobp@ufrj.br

were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar solution (sp. g. 1.20) and examined microscopically using a technique described by Duszynski and Wilber (1997). Morphological observations (micropyle [M], oocyst residuum [OR], sporocyst residuum [SR], polar granule [PG], Stieda body [SB], substieda body [SSB], parastieda body [PSB], sporozoite [SZ], refractile body [SRB], nucleus [N]) and measurements, in  $\mu\text{m}$ , were performed using a Carl Zeiss binocular microscope with apochromatic oil immersion objective lens and K-15X PZO (Poland) ocular micrometer. Line drawings were prepared using a Wild M-20 binocular microscope with drawing tube. Oocysts were photographed using a digital camera model CD Mavica MVC-CD250 Sony®. Size ranges are shown in parentheses followed by average and shape index (L/W ratio).

## Results

Two sayaca tanager birds were **examined**; one of them shed oocysts in the feces. Initially, the oocysts were non-sporulated, while 70% sporulated by day three.

### *Isospora sanhaci* sp. nov. (Figs 1a-d; 4a, b)

Description of sporulated oocyst: Oocyst shape (n = 19) spheroidal to subspheroidal; number of walls, 2; wall thickness 1.0 (0.9–1.2); outer wall smooth, about 2/3 of total thickness; L  $\times$  W, 22.1  $\times$  21.0 (19–24  $\times$  17–23), with L/W ratio 1.0 (1.0–1.1); M, OR, PG, all absent.

Description of sporocyst and sporozoites: Sporocyst shape (n = 19): ovoidal, tapering to a rounded pointed at 1 end; L  $\times$  W, 17.0  $\times$  9.9 (15–19  $\times$  9–11); L/W ratio 1.7 (1.5–1.9); SB present, nipple-like, 0.4 high  $\times$  1.4 wide; SSB present, prominent, 1.5 high  $\times$  3.1 wide, giving the SB/SSB complex a nipple/areola-like appearance; PSB absent; SR present; SR characteristics, composed of many small, scattered granules; SZ vermiform with 1 posterior SRB and a centrally located N.

Type-host: The sayaca tanager, *Thraupis sayaca* Linnaeus, 1766 (Passeriformes, Thraupidae).

Type-locality: Teresópolis City (22°25'S and 42°59'W), Rio de Janeiro State, Brazil.

Material deposited: Oocysts are kept in 10% aqueous buffered formalin (v/v) and deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro State, Brazil; phototypes and line drawings are deposited as well. The repository number is P-25/2008.

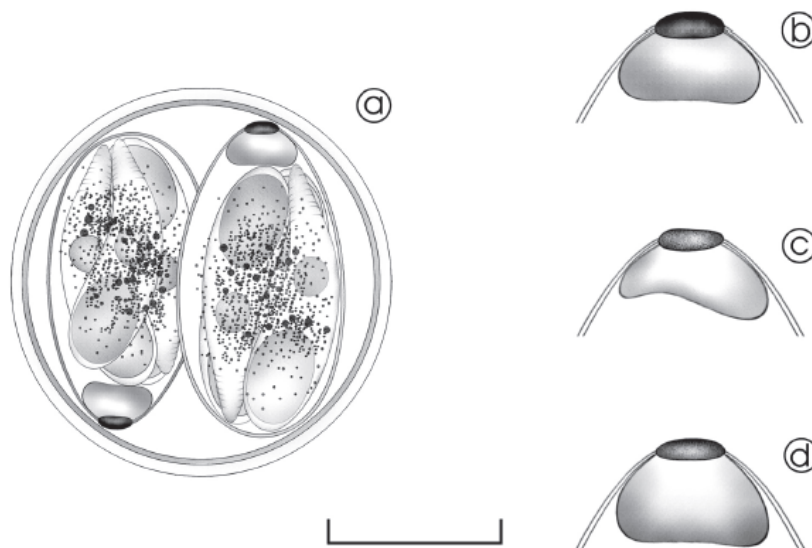
Site of infection: Unknown. Oocysts collected from fecal samples.

Prevalence: 50% (one of two examined birds).

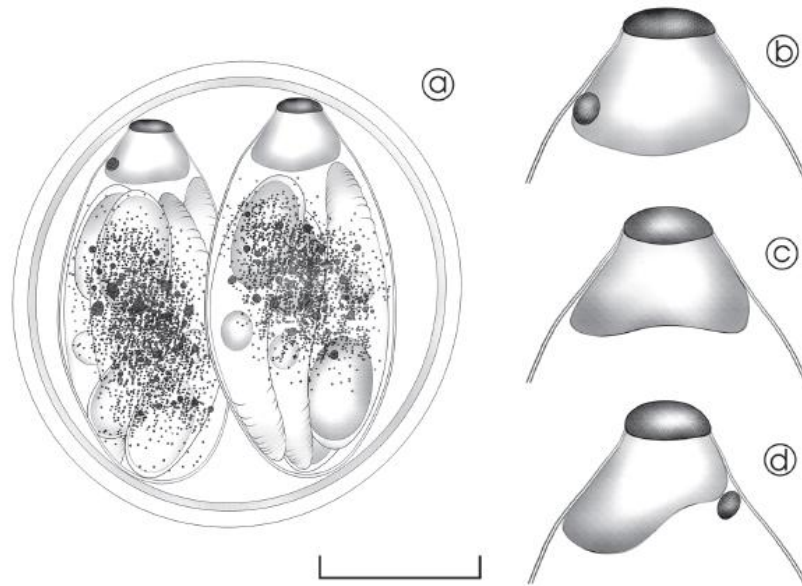
Etymology: The specific name is derived from the common local name for *T. sayaca*, which is Sanhaço.

### *Isospora sayacae* sp. nov. (Figs 2a-d; 4c, d)

Description of sporulated oocyst: Oocyst shape (n = 15) spheroidal to subspheroidal; number of walls 2; wall thickness 1.3 (1.1–1.5); outer wall smooth, about 2/3 of total thickness; L  $\times$



**Fig. 1.** Line drawings of *Isospora sanhaci*, a new coccidium species recovered from the sayaca tanager, *Thraupis sayaca*: **a** – sporulated oocyst with its respective variations of **b**, **c**, **d** Stieda and substieda bodies detached. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$  for oocysts, and 5  $\mu\text{m}$  for Stieda and substieda bodies

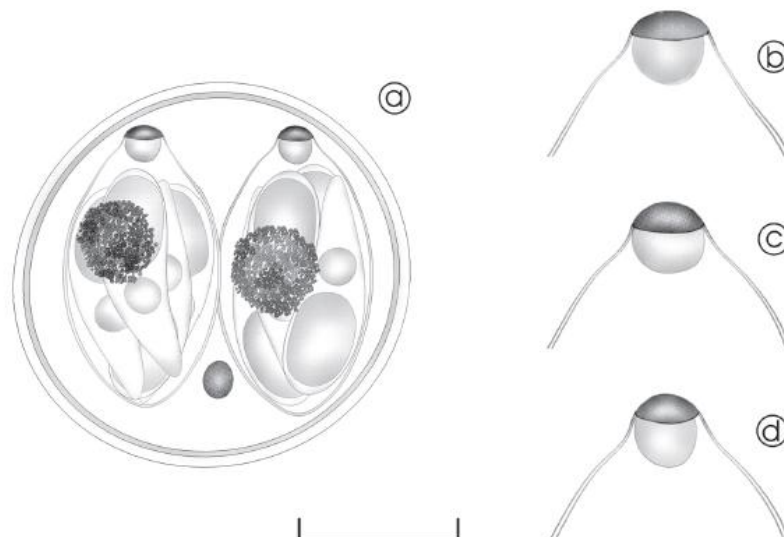


**Fig. 2.** Line drawings of *Isospora sayacae*, a new coccidium species recovered from the sayaca tanager, *Thraupis sayaca*: **a** – sporulated oocyst with its respective variations of **b**, **c**, **d** Stieda and substieda bodies detached. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$  for oocysts, and 5  $\mu\text{m}$  for Stieda and substieda bodies

W, 28.9  $\times$  27.4 (28–30  $\times$  24–29), with L/W ratio 1.1 (1.0–1.1); M, OR, PG, all absent.

Description of sporocyst and sporozoites: Sporocyst shape (n = 15) bottle-shaped; L  $\times$  W, 23.4  $\times$  11.8 (23–25  $\times$  11–12); L/W ratio 2.0 (1.9–2.2); SB present, prominent, lightly flat-

tened, 0.9 high  $\times$  2.0 wide; SSB present, large, sometimes one spherule is present, 3.1 high  $\times$  4.4 wide; PSB absent; SR present; SR characteristics: composed of a large number of scattered granules; SZ vermiform with 1 posterior SRB and a centrally located N.



**Fig. 3.** Line drawings of *Isospora silvasouzai*, a new coccidium species recovered from the sayaca tanager, *Thraupis sayaca*: **a** – sporulated oocyst with its respective variations of **b**, **c**, **d** Stieda and substieda bodies detached. Scale bar = 10  $\mu\text{m}$  for oocysts, and 5  $\mu\text{m}$  for Stieda and substieda bodies



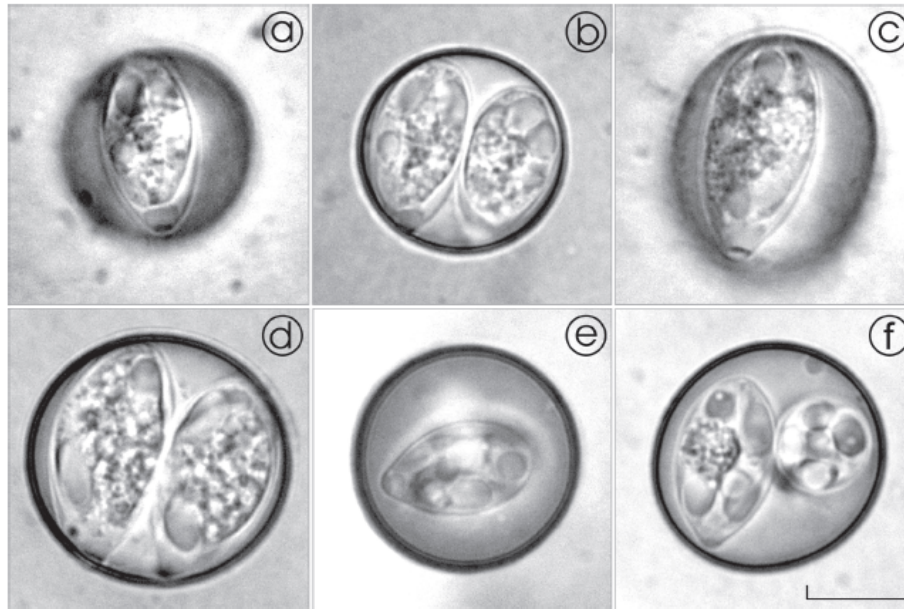


Fig. 4. Photographs of sporulated oocysts of new coccidia species recovered from the sayaca tanager, *Thraupis sayaca*: a, b – *Isospora sanhaci*; c, d – *Isospora sayacae*; and e, f – *Isospora silvasouzai*. Scale bar = 10  $\mu$ m

Type-host: The sayaca tanager, *Thraupis sayaca* Linnaeus, 1766 (Passeriformes, Thraupidae).

Type-locality: Teresópolis City (22°25' S and 42°59' W), Rio de Janeiro State, Brazil.

Material deposited: Oocysts are kept in 10% aqueous buffered formalin (v/v) and deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro State, Brazil; phototypes and line drawings are deposited as well. The repository number is P-26/2008.

Site of infection: Unknown. Oocysts collected from fecal samples.

Prevalence: 50% (one of two examined birds).

Etymology: The specific name is derived from the specific name of the host type, *T. sayaca*.

***Isospora silvasouzai* sp. nov.** (Figs 3a-d; 4e, f)

Description of sporulated oocyst: Oocyst shape (n = 15) spheroidal to subspheroidal; number of walls 2; wall thickness 1.0 (0.9–1.1); outer wall smooth, about 2/3 of total thickness; L  $\times$  W, 25.5  $\times$  22.6 (22–28  $\times$  19–25), with L/W ratio 1.1 (1.0–1.2); M and OR absent; PG present.

Description of sporocyst and sporozoites: Sporocyst shape (n = 15): elongated, pear-shaped; L  $\times$  W, 17.6  $\times$  10.5 (17–18  $\times$  10–11); L/W ratio 1.7 (1.6–1.8); SB present, lightly flattened, delicate, 0.7 high  $\times$  1.8 wide; SSB present, small, 1.4 high  $\times$  1.7 wide; PSB absent; SR present; SR characteristics: forms a large compact mass of granules; SZ vermiform with 1 posterior SRB and N.

Type-host: The sayaca tanager, *Thraupis sayaca* Linnaeus, 1766 (Passeriformes, Thraupidae).

Type-locality: Teresópolis City (22°25' S and 42°59' W), Rio de Janeiro State, Brazil.

Material deposited: Oocysts are kept in 10% aqueous buffered formalin (v/v) and deposited at the Parasitology Collection, in the Department of Animal Parasitology, UFRRJ, located in Seropédica, Rio de Janeiro State, Brazil; phototypes and line drawings are deposited as well. The repository number is P-27/2008.

Site of infection: Unknown. Oocysts collected from fecal samples.

Prevalence: 50% (one of two examined birds).

Etymology: The specific name is derived from the family name of a Brazilian parasitologist Dr. Wilson Jacinto Silva de Souza, given in his honor for his contribution to the study of protozoa.

## Discussion

The three new species described in this study can be easily distinguished from others by the size and the presence or absence of some structures. Oocysts of *Isospora sayacae* are larger and more differentiated from oocysts of other species even when observed at  $\times 400$  magnification. Besides, they have bottle-shaped sporocysts. *Isospora sanhaci* oocysts do not have a PG as observed in *I. silvasouzai* oocysts.

The unique spherule associated with the SSB of *I. sayacae* sporocysts is a feature unreported in other coccidia and not de-

tached by Duszynski and Wilber (1997). How its presence is not constant and it is found in only one of the two sporocysts, it should be just a large piece of SR seen near SSB.

In agreement with Grulet *et al.* (1982), some variations in the SB and SSB (Figs 1b-d, 2b-d and 3b, d) were observed in the sporocysts of these new species; however, these variations are not significant to separate and describe them as new species. These variations may be a result of the sporulation process, the position of the SZ inside of the sporocyst, or the position of the oocyst and sporocyst under the coverslip.

According to Duszynski and Wilber (1997), a new coccidian species should be compared in details to coccidian species that is most feature-similar to it, and belong to the same host family. Therefore, the specimens investigated in this study were compared to others as following: *Isoospora thraupis* described by Lainson (1994) presents oocysts smaller than *I. sayacae* oocysts, differs from *I. silvasouzai* oocysts because it presents PG, and can be distinguished from *I. sanhaci* sporocysts because it presents large and prominent SSB. According to Templar *et al.* (2004), *I. andesensis* present triangular-shaped SB with no evident SSB. These morphological features were not present in the oocysts described in the current study. Also, *I. iridosornisi* (Metzelaars *et al.* 2005) differs from *I. sanhaci* and *I. sayacae* oocysts due to the presence of PG, and differs from *I. silvasouzai* oocysts because it presents ellipsoidal-elongated sporocysts and lightly flattened and delicate SB. *Isoospora tiesangui* described by Berto *et al.* (2008) presents oocysts smaller than *I. sayacae* oocysts, and does not present PG; however, it is observed in *I. silvasouzai* oocysts. Although *I. tiesangui* and *I. sanhaci* oocysts are similar, they can be differentiated because *I. sanhaci* presents elongated sporocysts, they are not ovoidal and SB is more evident. *I. marambaiensis* oocysts, described by Berto *et al.* (2008), are larger than *I. sanhaci* and *I. silvasouzai* oocysts; it differs from *I. sayacae* oocysts because it presents bottle-shaped sporocysts and prominent and large SB and SSB. Finally, *I. sepetibensis* described by Berto *et al.* (2008) presents PG which is not observed in *I. sanhaci* and *I. sayacae* oocysts. It can be differ-

entiated from *I. silvasouzai* because it presents sporocysts elongated pear-shaped and a delicate SB.

Based on all morphological features mentioned in this study, the described specimens are considered new coccidian species obtained from the sayaca tanager, *T. sayaca*.

**Acknowledgements.** The authors are thankful to the sayaca tanager breeder from Teresópolis City, Rio de Janeiro State, Brazil, for permitting and assisting the material collection.

## References

- Berto B.P., Flausino W., Luz H.R., Ferreira I., Lopes C.W.G. 2008. Three new coccidian parasites of Brazilian tanager (*Ramphocelus bresilius dorsalis*) from South America. *Acta Protozoologica*, 47, 77–81.
- Boughton D.C., Boughton R.B., Volk J. 1938. Avian hosts of the genus *Isoospora* (Coccidiidae). *Ohio Journal of Science*, 38, 149–163.
- Duszynski D., Wilber P. 1997. A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, 83, 333–336. DOI: 10.2307/3284470.
- Grulet O., Landau I., Baccam D. 1982. Les *Isoospora* du Moineau domestique; multiplicité des espèces. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 57, 209–235.
- Lainson R. 1994. Observations on some avian coccidia (Apicomplexa: Eimeriidae) in Amazonian Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 89, 303–311.
- Metzelaars H., Spaargaren T., McQuiston T.E., Capparella A.P. 2005. *Isoospora iridosornisi*, a new coccidian parasite (Apicomplexa, Eimeriidae) from the yellow-throated tanager, *Iridosornis analis* of South America. *Acta Parasitologica*, 50, 191–193.
- Sick H. 1997. Ornitologia Brasileira. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, 862 pp.
- Stotz D.F., Fitzpatrick J.W., Parker T.A., Moskovits D.K. 1996. Neotropical birds: ecology and conservation. University of Chicago Press, Chicago, 546 pp.
- Templar A.C., McQuiston T.E., Capparella A.P. 2004. A new coccidian parasite, *Isoospora andesensis*, from the common bush tanager *Chlorospingus ophthalmicus* of South America. *Acta Protozoologica*, 43, 369–371.

(Accepted January 5, 2009)