



Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia Animal

Prevalência, diversidade e estrutura da comunidade de
hemoparasitos (*Haemoproteus* e *Plasmodium*) em aves
do Cerrado do Brasil Central

ALAN FECCHIO

Brasília/DF

2011

Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-graduação em Biologia Animal

Prevalência, diversidade e estrutura da comunidade de
hemoparasitos (*Haemoproteus* e *Plasmodium*) em aves
do Cerrado do Brasil Central

ALAN FECCHIO

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Biologia Animal.

Orientador: Miguel Ângelo Marini, Ph. D.

Brasília/DF

2011



TESE DE DOUTORADO

ALAN FECCHIO

Título:

**“Prevalência, diversidade e estrutura da comunidade de hemoparasitos
(*Haemoproteus e Plasmodium*) em aves do Cerrado do Brasil Central”.**

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Miguel Ângelo Marini
Presidente / Orientador
UnB

Prof. Dr. Renato Caparroz
Membro Titular Externo não Vinculado ao Programa
UFG

Prof. Dr. Rafael Veríssimo Monteiro
Membro Titular Interno não Vinculado ao Programa
UnB

Prof. Dr. José Roberto Pujol
Membro Titular Interno Vinculado ao Programa
UnB

Profa. Dra. Regina Helena F. Macedo
Membro Titular Interno não Vinculado ao Programa
UnB

Prof. Dr. Reginaldo Constantino
Membro Suplente
Interno Vinculado ao Programa
UnB

Brasília, 21 de fevereiro de 2011.

AGRADECIMENTOS

Agradeço e dedico essa tese aos meus pais Egidio e Margarida, que sempre proporcionaram todo apoio necessário para sua conclusão. Sou realmente grato a esse casal.

Aos amigos, alunos e estagiários do laboratório de Ecologia e Conservação de Aves pelos inúmeros anilhamentos e litros de sangue coletados na ESECAE.

Ao Miguel Marini pela orientação durante os sete anos de pós-graduação na UnB.

Ao Mathew Medeiros e Maria Svensson pela ajuda e aprendizado durante os oitos meses de laboratório em Saint Louis. Em especial à Maria Svensson pelas análises das sequências dos parasitos e análises filogenéticas.

Aos professores Renato Caparroz (UFG), Regina H. F. Macedo (UnB), Rafael Monteiro (UnB), Reginaldo Constantino (UnB) e José R. Pujol-Luz (UnB) pelas críticas, correções e sugestões da tese.

À Maria da Graça Costa Ramos pela revisão ortográfica.

À Eloísa Sari por me receber e me instalar em Saint Louis.

Ao Robert Ricklefs por me receber em seu laboratório e financiar os reagentes.

À Patrícia Silveira pelas análises das lâminas.

Ao Edison Rogério Cansi pela carta de exportação de sangue.

Sou especialmente grato ao Marcos Lima pelas análises e modelagem dos Capítulos 1 e 2.

Ao IBAMA/SISBIO pelas licenças de captura de aves e coleta de sangue.

Ao IBAMA/CEMAVE pelas licenças de anilhamento e concessão de anilhas metálicas fornecidas a Miguel Marini.

À administração da Estação Ecológica de Águas Emendadas por permitir o desenvolvimento deste estudo.

Este estudo foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq através de recursos concedidos a Miguel Ângelo Marini e pelo National Science Foundation – NSF através de recursos concedidos a Robert Eric Ricklefs.

Ao CNPq e Capes pelos 46 meses de bolsas de estudo concedidas.

Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização desta tese.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	4
REVISÃO DA LITERATURA	6
CONCEITOS	9
HEMOPARASITOS	11
VETORES	12
LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS	14
PADRÕES DE PREVALÊNCIA	16
CONCLUSÃO	22
ÁREA DE ESTUDO	24
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO I - Alta prevalência de hemoparasitos em aves sociais no Cerrado do Brasil Central	42
INTRODUÇÃO	43
MÉTODOS	45
RESULTADOS	48
DISCUSSÃO	49
CONCLUSÃO	53
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54
TABELAS	60
CAPÍTULO II - Estrutura e organização da comunidade de hemoparasitos (<i>Haemoproteus</i> e <i>Plasmodium</i>) em aves do Cerrado do Brasil Central	62
INTRODUÇÃO	63

MÉTODOS	67
RESULTADOS	74
DISCUSSÃO	81
CONCLUSÃO	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
TABELAS	102
CONCLUSÃO GERAL	112
ANEXO I – Artigo no prelo no periódico Emu: High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil	116

RESUMO

Hemoparasitos têm fundamental importância na ecologia e evolução de aves, uma vez que são capazes de afetar a sobrevivência e reprodução de seus hospedeiros. A prevalência (porcentagem de indivíduos infectados na população de hospedeiros) dos parasitos da malária aviária (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) varia de zero a 100% entre diferentes espécies na comunidade de aves, embora as causas ecológicas e evolutivas dessa variação não sejam bem entendidas. Diante desse contexto, a proposta da presente tese foi determinar quais características reprodutivas (tipo de construção do ninho e altura do ninho) e da história de vida (peso, sistema social, tempo de incubação e *status* migratório) em aves poderiam explicar as taxas de parasitismo entre as diferentes espécies de hospedeiros em uma comunidade estudada durante cinco anos no Cerrado do Brasil Central. Adicionalmente, foi estudada a estrutura e organização da taxocenose dos parasitos da malária aviária através do sequenciamento de parte do gene mitocondrial (citocromo *b*) do parasito.

Usando Modelo Linear Misto Generalizado (GLMM) e método tradicional para detecção dos hemoparasitos (microscopia), mostramos uma significativa correlação positiva entre altura do ninho e prevalência de *Haemoproteus*, o que corrobora a hipótese que associa prevalência de hemoparasitos e estrato de nidificação em aves da América do Norte. Foram apresentadas novas evidências de que espécies sociais de aves neotropicais e com reprodução cooperativa são mais parasitadas por *Haemoproteus*. Ainda, espécies que nidificam em cavidades são mais parasitadas por *Plasmodium*.

Através de métodos moleculares para diagnóstico (amplificação e sequenciamento do gene mitocondrial do parasito) e GLMM, a socialidade das espécies de aves estudadas foi a melhor variável para explicar os valores de prevalência de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) entre as espécies de hospedeiros da comunidade de aves, onde espécies

sociais foram significativamente mais parasitadas. Espécies migratórias foram mais parasitadas por *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), embora a relação tenha sido marginalmente significativa.

A prevalência geral (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) não variou entre os cinco anos de estudo ou entre as estações seca e chuvosa. Entre os indivíduos nos quais foi possível determinar a idade, não houve diferença significativa na prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) em aves com menos de um ano de idade e aves com mais de um ano de idade.

Baseado na divergência de três ou mais substituições nucleotídicas em fragmentos de aproximadamente 600 pares de base do citocromo *b* dos parasitos, a taxocenose dos parasitos da malária aviária foi composta por 17 linhagens sendo oito pertencentes ao gênero *Plasmodium*, oito pertencentes a *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) e apenas uma linhagem pertencente a *Haemoproteus* (*Haemoproteus*). O número de espécies de hospedeiros que uma linhagem infectou variou de um a sete, e como esperado, o número de linhagens se aproximou do número de espécies de hospedeiros, confirmando a elevada diversidade desses hemoparasitos. Os dados sugerem que a maioria das espécies de hospedeiros pode ser infectada por uma grande variedade de hemoparasitos, uma vez que, o número de linhagens que uma espécie de hospedeiro abriga variou de uma a sete e o número de linhagens de hemoparasitos aumentou com o número de indivíduos infectados em cada espécie de hospedeiro.

Sugerimos que parâmetros comportamentais e reprodutivos das espécies de aves podem ser responsáveis por sua exposição diferencial aos vetores, explicando dessa forma, a variação na prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros dentro da comunidade de aves. A taxocenose de hemoparasitos estudada na comunidade de aves no Cerrado do Brasil Central confirma os padrões que estão surgindo em estudos envolvendo os parasitos da malária aviária utilizando marcadores moleculares: 1) elevada diversidade de

linhagens; 2) número de linhagens de hemoparasitos se aproximando do número local de espécies de hospedeiros e; 3) duas estratégias quanto ao uso das espécies de hospedeiros, desde extrema especialização à grande amplitude das espécies de hospedeiros utilizados.

Palavras-chave: biologia reprodutiva, *Haemoproteus*, hemosporídeos, malária aviária, *Parahaemoproteus*, *Plasmodium*, savana neotropical, taxocenose de parasitos.

ABSTRACT

Blood parasites play a fundamental role in the ecology and evolution of birds, because they are able to affect host fitness and survival. The prevalence of avian malaria parasites among different host species can vary from zero to 100%, nonetheless, the ecological and evolutionary reasons for this variation are still unclear. The goal of this thesis was to analyze if aspects of the host's natural history (nest height, nest type, body mass, migratory status, incubation time and social system), which we believe are variables associated with hosts' exposure to vectors, could explain the variation in blood parasite prevalence of a bird community from the Cerrado biome of central Brazil. Additionally, we studied the structure and organization of an assemblage of malaria parasites by sequencing part of the mitochondrial cytochrome *b* gene.

By using Generalized Linear Mixed Models (GLMM) and traditional methods to detect blood parasite infections (microscopy) we found a significant positive correlation between nest height and *Haemoproteus* prevalence, which is in accordance with the hypothesis that associates blood parasite prevalence in North American birds with nesting stratum. Additionally, new evidence is presented that Neotropical bird species that live in groups and are cooperative breeders are more parasitized by *Haemoproteus* and that cavity/closed cup nesters are more parasitized by *Plasmodium*.

Through molecular methods for diagnosis (by sequencing a part of the mitochondrial cytochrome *b* gene of parasite) and GLMM, the sociality of the bird species studied was the best variable to explain the high prevalence of *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) between host species in this bird community. Migratory species were also more parasitized by *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), although the relationship was only weakly significant. Malaria prevalence determined by PCR screening (pooled *Plasmodium* and *Haemoproteus*)

did not vary among the five years or between dry and rainy seasons. Among all individuals that could be aged, parasite prevalence did not differ between juveniles and adults.

Based on divergence in 600 sequenced nucleotides of the parasite's cytochrome *b* gene we differentiated 17 parasite lineages. The number of host species that a single lineage infected varied from one to seven, and as one would expect, the number of parasite lineages approached the number of host species, confirming the high diversity of these parasites.

The data suggest that most host species can be infected by a wide variety of parasite lineages, since the number of lineages that infected single host species ranged from one to seven and this number increased with the number of individuals infected. We concluded that behavioural parameters of hosts may be responsible for their differential exposure to vectors. Therefore, these parameters may be able to describe interspecific variation of blood parasite prevalence in other bird communities. The assemblage of blood parasites studied in bird communities in the Cerrado of central Brazil confirms the patterns that are emerging in studies of avian malaria parasites using molecular markers: 1) high species diversity; 2) number of parasite lineages approaching the number of host species within a local area; and 3) two strategies regarding use of host species by parasites, extreme specialization and broad range of host species used.

Key words: avian malaria, breeding biology, *Haemoproteus*, haemosporidian parasites, neotropical savanna, *Parahaemoproteus*, parasite assemblage, *Plasmodium*.

1. REVISÃO DA LITERATURA

Doenças infecciosas tornaram-se o foco de interesse de diversos pesquisadores em todo o mundo devido à crescente modificação do habitat causada pelo homem, o contato de animais domesticados com animais silvestres e à introdução de organismos abrigando patógenos e parasitos em áreas naturais (Daszak *et al.* 2000). O desmatamento e a fragmentação são os fatores que mais introduzem doenças em comunidades silvestres (Gilbert & Hubbell 1996). Além disso, patógenos e parasitos podem ameaçar a biodiversidade acelerando o declínio de populações de hospedeiros ou mesmo promover extinções de espécies, frequentemente acompanhada de modificações humanas no ambiente ou por introdução acidental de patógenos estranhos a esses hospedeiros (Altizer *et al.* 2001). Portanto, espécies invasoras hospedando parasitos e patógenos causam grande impacto ecológico e econômico, sendo incluídas como uma das principais causas da perda de biodiversidade global (Wilcove *et al.* 1998, Mack *et al.* 2000, Sala *et al.* 2000, Altizer *et al.* 2001).

Entre essas doenças, a malária (para definição do termo veja abaixo), talvez seja a mais conhecida e melhor estudada devido ao grande impacto econômico global. Das quatro espécies de *Plasmodium* conhecidas por causar a malária humana, *Plasmodium falciparum* é a mais letal e prevalente, conseqüentemente, a mais estudada, uma vez que, é responsável por 300 a 600 milhões de casos clínicos ao ano, matando um a dois milhões de pessoas a cada ano em todo o mundo (Snow *et al.* 2005, Hay *et al.* 2007). Apesar disso, sua origem e história evolutiva permaneciam controversas até a publicação recente de Liu *et al.* (2010). Esses autores concluíram que os humanos não contraíram *Plasmodium falciparum* de chimpanzés (*Pan troglodytes*) e, sim, de gorilas do oeste da África central (*Gorilla gorilla*). A descoberta foi possível através de uma intensa amostragem de primatas não humanos, em mais de 2.500

amostras coletadas de chimpanzés (*Pan troglodytes*), bonobos (*Pan paniscus*), gorilas do leste (*Gorilla beringei*) e gorilas do oeste (*Gorilla gorilla*) da África Central. Dessa forma, estudos de campo sobre biodiversidade de patógenos fornecem um valioso catálogo genético que permitirá ajudar a entender as origens de doenças humanas (Holmes 2010).

Estudos ecológicos e evolutivos de parasitos são uma poderosa ferramenta para o entendimento da disseminação de doenças infecciosas e zoonoses, uma vez que fornecem base teórica para sua prevenção e controle (Krasnov 2008). A visão de que parasitos são especializados em seus hospedeiros tem mudado nos últimos anos com estudos quantitativos de comunidades de ecto e endoparasitos de vertebrados (Poulin 1995, Ricklefs & Fallon 2002, Ricklefs *et al.* 2004, 2005, Fallon *et al.* 2005, Poulin 2007, Hellgren *et al.* 2009), mostrando considerável variação na amplitude de hospedeiros utilizados por esses parasitos.

A organização das comunidades de parasitos permite um melhor entendimento dos processos de facilitação e competição em comunidades biológicas (Krasnov 2008). Portanto, caracterizar a estrutura da comunidade de parasitos é o primeiro passo para o entendimento da evolução e dinâmica das comunidades de parasito-hospedeiros (Ricklefs *et al.* 2005). Entretanto, a relação entre comunidades de parasitos e seus hospedeiros é pobremente conhecida, particularmente, onde a taxonomia dos parasitos não é bem consolidada (Ricklefs *et al.* 2005, Poulin 2007).

Exemplos de parasitos e patógenos afetando a interação hospedeiro-hospedeiro foram observados durante o processo de invasão biológica (Prenter *et al.* 2004). Através do seu impacto sobre as interações das espécies nativas de hospedeiros, parasitos têm um importante papel no sucesso do invasor. Em um cenário de invasão biológica, a transmissão de parasitos da espécie invasora para a nativa pode ocorrer, facilitando o estabelecimento da espécie invasora e causando um profundo impacto em toda comunidade (Prenter *et al.* 2004). Uma revisão de estudos empíricos mostrou forte evidência que parasitos induziram a extinção de

espécies nativas de hospedeiros (de Castro & Bolker 2005). Invasores podem perder seus inimigos naturais como parasitos e patógenos (hipótese conhecida como *enemy release*; Torchin *et al.* 2003, Torchin & Mitchell 2004), através de processos estocásticos e seletivos, sendo um importante fator promovendo o sucesso de invasão de espécies exóticas (Hatcher *et al.* 2006). Entretanto, foi demonstrado recentemente que parasitos podem aumentar, ao invés de reduzir, o impacto predatório dos invasores (Dick *et al.* 2010).

Dessa forma, o estudo das interações entre parasitos e hospedeiros é de fundamental importância para se entender processos ecológicos, evolutivos e comportamentais, incluindo seleção sexual (Hamilton & Zuk 1982), migração (Altizer *et al.* 2000) e capacidade competitiva (Maksimowich & Mathis 2000). Por exemplo, parasitos podem tornar seus hospedeiros mais susceptíveis a predadores (Hudson *et al.* 1992, Laferty & Morris 1996, Møller & Nielsen 2007), menos hábeis para estabelecer e defender territórios (Schal 1992, Maksimowich & Mathis 2000) e, até mesmo, afetar a complexidade da vocalização e desenvolvimento neural (Spencer *et al.* 2005). Portanto, o impacto de parasitos sobre a sobrevivência e reprodução de seus hospedeiros tem manifestações não somente na dinâmica populacional do hospedeiro, mas também na abundância relativa, na estrutura de comunidade, dispersão e diversidade genética (Scott 1988).

Particularmente em aves, estudos da interação parasito-hospedeiro têm revelado alguns dos mais sofisticados exemplos de coevolução, como o papel do tamanho do corpo sobre a especificidade pelo hospedeiro (Johnson *et al.* 2005, Bush & Clayton 2006), coloração da plumagem (Hamilton & Zuk 1982) e defesa do hospedeiro (Clayton *et al.* 2003). Os efeitos do parasitismo, por meio de manipulação experimental, na fecundidade e sobrevivência de seus hospedeiros foram mostrados em algumas espécies de aves na região temperada (Richner *et al.* 1995, Oppliger *et al.* 1997, Siikamäki *et al.* 1997, Hakkarainen *et al.* 1998, Tompkins & Begon 1999, Marzal *et al.* 2005, Martínez-de la Puente *et al.* 2010). Por exemplo, indivíduos

abrigando hemoparasitos podem atrasar a reprodução (Rätti *et al.* 1993) ou produzir menos ovos (Korpimäki *et al.* 1993) e filhotes (Sundberg 1995, Marzal *et al.* 2005), comparados com aqueles livres de parasitos. Além disso, hemoparasitos podem afetar a sobrevivência dos hospedeiros. Por exemplo, Martínez-de la Puente *et al.* (2010) mostraram, reduzindo experimentalmente a intensidade de infecção de *Haemoproteus*, que esse hemoparasito pode afetar a sobrevivência de fêmeas do chapim-azul (*Cyanistes caeruleus*). Em condições naturais, hemoparasitos podem causar efeitos negativos indiretos em seus hospedeiros, por exemplo, indivíduos infectados são mais vulneráveis a aves de rapina (Møller & Nielsen 2007). Além disso, hemoparasitos foram apontados como uma das principais causas da extinção de várias espécies endêmicas de aves no Havaí (Warner 1968, Van Riper *et al.* 1986). Dessa forma, hemoparasitos têm efeito não somente na reprodução e sobrevivência de seus hospedeiros, mas também podem ter impacto direto na dinâmica populacional de seus hospedeiros e, possivelmente, efeitos secundários na estrutura de comunidade de aves.

2. CONCEITOS

2.1. Malária aviária

O termo “parasito da malária” está sendo amplamente usado na literatura técnica para se referir aos protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa que infectam o sangue de mamíferos, aves e répteis. Segundo a Organização Mundial da Saúde, “malária” é uma doença humana causada por quatro espécies de *Plasmodium* e transmitida por mosquitos do gênero *Anopheles* (Pérez-Tris *et al.* 2005). Segundo Valkiūnas (2005), o termo malária só poderia ser aplicado às infecções causadas por *Plasmodium*, uma vez que esse parasito sofre reprodução assexuada (esquizogonia) no sangue do hospedeiro vertebrado, uma característica

da história de vida que, aparentemente, foi perdida durante a evolução dos outros hemosporídeos (Perkins & Schall 2002, Pérez-Tris *et al.* 2005, Martinsen *et al.* 2008). Entretanto, Pérez-Tris *et al.* (2005) argumentam que essa justificativa só é aceita devido ao incompleto conhecimento das relações filogenéticas e patogencidade dos parasitos não humanos. Ricklefs *et al.* (2004), Bensch *et al.* (2004) e Pérez-Tris *et al.* (2005) defendem o uso do termo malária para *Plasmodium* e *Haemoproteus*, uma vez que *Plasmodium* de aves e répteis são mais próximos filogeneticamente a *Haemoproteus* que *Plasmodium* de mamíferos. Recentemente, Martinsen *et al.* (2008) sugeriu que essa situação seria melhor resolvida incluindo o clado monofilético composto por *Plasmodium* + *Haemoproteus* + *Parahaemoproteus* + *Hepatocystis* sob a rubrica de “parasitos da malária”.

2.2. Conceito de espécie dos parasitos da malária aviária

Ernest Mayr definiu espécie como “conjunto de populações que se reproduzem entre si naturalmente e são isoladas reprodutivamente de outras populações” (Mayr 1970, pág. 12). Desde então, vários conceitos e delimitações de espécies vêm sendo lançados na biologia moderna. Recentemente, de Queiroz (2007) listou 13 conceitos de espécie que são defendidos por biólogos contemporâneos. A existência de diversos conceitos de espécie é resultado das diferentes linhas de pesquisa na biologia (de Queiroz 2005). Por exemplo, biólogos que estudam zonas híbridas enfatizam barreiras geográficas no conceito de espécie, paleontologistas enfatizam diferenças morfológicas e sistematas enfatizam monofiletismo (de Queiroz 2005). Consequentemente, o conceito de espécie para os parasitos da malária aviária assim como, as espécies descritas, foi baseado em medidas morfológicas dos estágios evolutivos dos parasitos nos eritrócitos de seus hospedeiros vertebrados, espécies de hospedeiros infectados, forma dos gametócitos, presença e ausência de pigmento (Garham

1966, Valkiūnas 2005). Portanto, um conceito baseado apenas em similaridade fenotípica, sendo os conceitos de espécie baseados em isolamento reprodutivo (conceito biológico de espécie) e monofiletismo (conceito filogenético) inteiramente ignorados. Usando os três conceitos de espécie baseados em similaridade fenotípica, isolamento reprodutivo e monofiletismo, foi demonstrado que *Plasmodium azurophilum* (hemoparasito de lagarto do gênero *Anolis*) é, na verdade, um complexo de duas espécies crípticas (Perkins 2000). Através dessa comparação de conceitos de espécies (biológico, similaridade e filogenético) para *Plasmodium*, Perkins (2000) concluiu que o uso de aspectos fenotípicos é uma medida inadequada para definir espécies de protozoários.

3. HEMOPARASITOS

Um diverso grupo de parasitos helmintos e protozoários usa o sangue de aves como habitat para crescimento e reprodução. Esses parasitos incluem filarídeos que vivem nos tecidos e cavidades peritoniais de seus hospedeiros e liberam microfílarias na circulação; protozoários flagelados (*Trypanosoma*), que circulam no sangue periférico; e esporozoários intracelulares (Filo: Apicomplexa, Classe Haemosporida), os quais completam parte de seu complexo ciclo de vida dentro de células sanguíneas (Garnham 1966, Atkinson & Van Riper 1991, Valkiūnas 2005). Dentro do último grupo, *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* (Ordem Haemosporida) são os três principais gêneros encontrados em aves, e, até 2005, dos 45% da avifauna mundial analisada para hemoparasitos, *Haemoproteus* foi registrado em 50%, enquanto *Plasmodium* e *Leucocytozoon* foram registrados em 30% das espécies de aves (Valkiūnas 2005). Esses protozoários apresentam ampla distribuição global e já foram descritos parasitando diversos grupos de aves em praticamente todas as regiões geográficas (Bennett 1993, Bennett *et al.* 1993, 1994, Valkiūnas 2005). Hemosporídeos

desenvolvem-se em dois grupos de hospedeiros: vertebrados (répteis, aves e mamíferos) e insetos hematófagos da Ordem Diptera (vetores). A fase sexual ocorre nos vetores (hospedeiro definitivo). Dessa forma, os vertebrados são os hospedeiros intermediários (Valkiūnas 2005). Uma vez infectada, a ave mantém o parasito por vários anos, ou mesmo, a vida toda, sendo fonte de infecção para o vetor. A liberação da parasitemia ocorre, na maioria das espécies de hemosporídios, durante a reprodução do hospedeiro vertebrado, o que facilita a infecção dos vetores e a transferência de infecção para os filhotes (Valkiūnas 2005). Entretanto, o parasito pode ser eliminado do sangue periférico ou entrar em estágio latente, permanecendo nos tecidos do hospedeiro (Jarvi *et al.* 2002, 2003).

Apesar de ampla distribuição global, esses parasitos estão ausentes em áreas remotas, onde não existem vetores apropriados (Warner 1968, Van Riper *et al.* 1986). A ausência de hemoparasitos em ambientes áridos, de elevada altitude, salinos ou com baixas temperaturas foi atribuída à escassez ou ausência de vetores apropriados nesses locais (Van Riper *et al.* 1986, Bennett *et al.* 1992, 1995, Little & Earlé 1995, Tella *et al.* 1996, Piersma 1997, Sol *et al.* 2000, Jovani *et al.* 2001, Valera *et al.* 2003, Mendes *et al.* 2005).

4. VETORES

Insetos hematófagos popularmente conhecidos como pernilongos (Diptera: Culicidae), borrachudos (Diptera: Simuliidae) e maruins (Diptera: Ceratopogonidae), são vetores das espécies de hemoparasitos pertencentes aos gêneros *Plasmodium*, *Leucocytozoon* e *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), respectivamente (Atkinson & Van Riper 1991, Valkiūnas 2005, Martinsen *et al.* 2008), e mostram estratificação vertical durante o forrageamento (Bennett & Fallis 1960, Bennett & Coombs 1975, Henry & Adkins 1975).

Moscas parasitas (Diptera: Hippobocidae) de pombos e rolinhas (Columbidae), são vetores de *Haemoproteus* (*Haemoproteus*).

Maruins (Diptera: Ceratopogonidae) estão entre os menores insetos hematófagos. Em geral, medem 1 a 2 mm de comprimento e os maiores menos de 4 mm. Quatro gêneros têm importância médica e econômica por serem vetores de patógenos. O maior gênero *Culicoides*, possui mais de 1.400 espécies distribuídas mundialmente. A maioria das espécies é crepuscular ou noturna (Gibson & Torr 1999, Lehane 2005).

Pernilongos (Diptera: Culicidae) medem cerca de 3 a 6 mm de comprimento. Todas as fêmeas de mosquitos de importância parasitológica são hematófagas obrigatórias. A família possui grande número de espécies (cerca de 3.600) distribuídas por todas as regiões do globo. No Brasil, existem cerca de 500 espécies descritas, das quais pouco mais de 20 têm importância médico-veterinária (Eiras 2005).

Borrachudos (Diptera: Simuliidae) estão presentes em todos os continentes com exceção da Antártida, e possuem 2 a 6 mm de comprimento. A maioria das espécies tem atividade diurna e pode ocorrer em grandes densidades em algumas áreas (Malmqvist *et al.* 2004, Currie & Adler 2008).

Dípteros hematófagos desenvolveram diferentes graus de associação com seus hospedeiros. Por exemplo, *Haematobia* spp. (Muscidae) gastam quase toda sua vida como adulto na pele do seu hospedeiro. Por outro lado, e mais comumente, dípteros devem localizar uma distante e móvel fonte de alimento (Gibson & Torr 1999). Esse comportamento é dirigido por uma diversidade de estímulos visuais e olfatórios (Sutcliffe 1986, Gibson & Torr 1999, Lehane 2005). Poucas espécies são limitadas a um único mecanismo, uma vez que o comportamento de procura pelo hospedeiro de cada espécie é adaptado a sua própria condição biótica e abiótica (Gibson & Torr 1999).

O grau de associação entre insetos hematófagos e seus hospedeiros é extremamente variado. Algumas espécies são generalistas, se alimentando de uma grande amplitude de espécies de hospedeiros, enquanto outras são especialistas. Por exemplo, se alimentam do sangue de aves (ornitofílicas), mamíferos (zoofílicas), ou mais especificamente ainda de humanos (antropofílicas) (Gibson & Torr 1999).

5. LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS:

5.1. Estudos de malária aviária usando métodos tradicionais

Por mais de um século, hemoparasitos foram estudados, predominantemente, pela visualização de esfregaços sanguíneos em microscópio óptico corados por Giemsa. O conhecimento atual do ciclo de vida desses hemoparasitos, distribuição geográfica, especificidade pelos hospedeiros vertebrados e vetores, mudanças sazonais de infecção e outros aspectos da ecologia desses parasitos foram acumulados, primariamente, através de microscopia (Garnham 1966, Beaudoin *et al.* 1977, Atkinson & van Riper 1991, Valkiūnas 2005). A maior limitação desse método é a impossibilidade de identificar espécies, mesmo por especialistas, na maioria dos esfregaços. Essa limitação é maior para *Plasmodium* spp., devido à baixa intensidade de infecção (Valkiūnas 2005).

Cinco subgêneros de *Plasmodium* foram descritos usando métodos tradicionais: *Haemamoeba*, *Giovannolaia*, *Novyella*, *Huffia* e *Bennettinia* (Garnham 1966, Valkiūnas 2005), compreendendo 38 espécies (Valkiūnas 2005). Dois subgêneros de *Haemoproteus* foram descritos: *Haemoproteus* e *Parahaemoproteus* compreendendo 132 espécies (Valkiūnas 2005). Entretanto, as relações filogenéticas desses hemoparasitos, usando a morfologia, permanecem insuficientemente estudadas (Valkiūnas 2005).

Durante as décadas de 1970 e 1980 diversos estudos relatando a prevalência (porcentagem de indivíduos infectados na população) de hemoparasitos de aves foram conduzidos em vários países da Europa, África, América Central e, principalmente, América do Norte. Nesses estudos, utilizando a microscopia como método de detecção dos hemoparasitos, mais de 200.000 indivíduos pertencentes a centenas de espécies de hospedeiros foram examinados, com prevalência de parasitismo variando entre 5% e 40% (revisão em Fecchio *et al.* 2007).

Um novo método usado para detectar hemoparasitos, baseado na técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*), sugere que a malária aviária pode ser mais comum do que se acreditava previamente, com prevalência alcançando 100% (Fallon *et al.* 2003a, Ricklefs *et al.* 2005, Latta & Ricklefs 2010).

5.2. Estudos de malária aviária usando técnicas moleculares

Durante os últimos 12 anos, a PCR vem sendo amplamente utilizada em estudos para diagnóstico de malária aviária e outros hemoparasitos (Bensch *et al.* 2000, Sehgal *et al.* 2001, Waldenström *et al.* 2002, Fallon *et al.* 2003a, Beadell *et al.* 2004, Hellgren *et al.* 2004, Beadell *et al.* 2005, Fallon *et al.* 2005, Ricklefs *et al.* 2005, Beadell *et al.* 2006, Ishtiaq *et al.* 2007, Averis *et al.* 2009, Beadell *et al.* 2009, Latta & Ricklefs 2010, Capítulo 2).

Análises moleculares recentes dos parasitos da malária aviária baseadas, primariamente, em sequências mitocondriais, têm revelado uma rica diversidade genética entre linhagens de parasitos que não é aparente na sua morfologia (Ricklefs & Fallon 2002, Fallon *et al.* 2003b, 2004, Bensch *et al.* 2004, 2007, Latta & Ricklefs 2010). Dessa forma, a diversidade de espécies de *Plasmodium* e *Haemoproteus*, utilizando a morfologia como critério de suporte, é altamente subestimada (Ricklefs & Fallon 2002, Ricklefs *et al.* 2004).

Atualmente, acredita-se que exista uma espécie de hemoparasito para cada espécie de hospedeiro (Ricklefs & Fallon 2002, Bensch *et al.* 2004, 2007).

Apesar da ampla utilização de métodos moleculares nas duas últimas décadas, parasitólogos defendem o uso de microscopia como método eficiente e confiável para diagnóstico de hemoparasitos, contrariando estudos mostrando que a microscopia é ineficiente na detecção desses parasitos (Valkiūnas *et al.* 2008). Além disso, a PCR subestima a prevalência de *Plasmodium relictum* (Jarvi *et al.* 2002) e não pode ser considerada infalível como método de diagnóstico (Ribeiro *et al.* 2005). Recentemente, Loiseau *et al.* (2010) mostraram que a PCR não detecta infecção mista de hemosporídeos, diminuindo consideravelmente a prevalência.

6. PADRÕES DE PREVALÊNCIA

6.1. Variação na prevalência de hemoparasitos entre espécies de hospedeiros

A prevalência de hemoparasitos entre espécies de hospedeiros em comunidades de aves varia de zero a 100%, usando tanto a microscopia como método de diagnóstico (Greiner *et al.* 1975, White *et al.* 1978, Peirce 1981), ou diagnóstico molecular (Fallon *et al.* 2005, Ricklefs *et al.* 2005, Ishtiaq *et al.* 2007, Latta & Ricklefs 2010). Entretanto, as causas ecológicas e evolutivas dessa variação ainda não são bem entendidas.

Algumas hipóteses e teorias foram formuladas para explicar essa variação interespecífica na prevalência de parasitismo, levando em consideração fatores ecológicos, evolutivos e da história de vida das espécies de hospedeiros. Entre elas, a hipótese de Hamilton & Zuk (1982), a mais famosa e também alvo de calorosos debates (Read 1987, Cox 1989, Hamilton & Zuk 1989, Read & Harvey 1989a, Read & Harvey 1989b), postula que

parasitos e patógenos são um dos fatores responsáveis pela evolução e manutenção das características sexuais secundárias em aves, especialmente a coloração da plumagem. Esses autores propuseram que fêmeas usam a coloração da plumagem e outras características sexuais secundárias dos machos para avaliar a capacidade destes em resistir à infecção e infestação por parasitos (incluindo vírus, bactérias, protozoários e helmintos). A predição, derivada dessa teoria, é que machos mais coloridos, brilhantes ou com longas caudas seriam também mais resistentes à invasão por parasitos e se, a resistência é herdada, fêmeas que copularem com esses machos aumentariam a viabilidade de seus filhotes. Portanto, em espécies particularmente suscetíveis à invasão por parasitos, a seleção sexual deveria favorecer características que permitem às fêmeas julgarem as cargas parasitárias nos machos.

Uma década depois, Read (1991) usou o sistema de acasalamento em aves para explicar a variação na prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros. Usando uma comparação de espécies-irmãs para controlar os efeitos da filogenia, ele mostrou que a proporção de indivíduos infectados com hemoparasitos é, significativamente, menor em espécies poligínicas do que em espécies monogâmicas em Passeriformes da região temperada (América do Norte e Europa). Este autor sugere que espécies poligínicas são, em média, mais resistentes à infecção por hemoparasitos. Segundo o mesmo autor, isso poderia ocorrer se houver uma variação na resistência herdada e se a poliginia resultar da escolha no acasalamento de mais fêmeas por machos mais resistentes. Nesse sentido, fêmeas de espécies poligínicas poderiam escolher copular com machos mais resistentes aos parasitos e não copular com machos menos resistentes, mesmo que os primeiros já estejam pareados com outras fêmeas. Ou ainda, se a decisão da fêmea em escolher o macho é influenciada pelo resultado de competição macho-macho, essa poderia ser, em parte, afetada pela saúde dos combatentes.

No ano seguinte, Ricklefs (1992) associou a prevalência de hemoparasitos ao desenvolvimento embrionário de aves neotropicais e neárticas, mostrando que a prevalência é inversamente relacionada ao comprimento do período de incubação. Segundo o autor, essa correlação é dada pela relação direta entre imunocompetência e período de crescimento embrionário: longo período de incubação poderia permitir um aumento na proliferação de células B e grande diversificação dos genes da região variável da imunoglobulina antes delas se expressarem como anticorpos. Dessa forma, ele sugere que a habilidade dos indivíduos para prevenir infecção, controlar infecção, ou ambos aumenta com o comprimento do período de desenvolvimento embrionário, possivelmente através da maior diferenciação do sistema imune.

O parasitismo é apontado como um dos principais custos da reprodução social em aves (Brown & Brown 1986, Møller 1987, Loye & Carroll 1991). Entretanto, apenas ectoparasitos foram usados como modelos nesses estudos. Animais sociais têm maior chance de adquirir e acumular ectoparasitos do que indivíduos de espécies solitárias, devido à maior proximidade e contato físico entre os membros do grupo (Poulin 1991). Pensando em moscas Hippoboscidae com vetores para hemoparasitos, Tella (2002), testou se a transição evolutiva da reprodução solitária para a reprodução social, em aves, resultou em um aumento na aquisição de hemoparasitos nas espécies sociais. Usando uma comparação par a par de espécies congêneres, incluindo uma com reprodução solitária e outra com reprodução social, ele mostrou que a prevalência, número de espécies e de gêneros de hemoparasitos são maiores em espécies com reprodução colonial. Resultado semelhante foi encontrado por Bennett *et al.* (1978). Esses autores notaram que espécies de aves coloniais no Senegal apresentaram maiores valores de prevalência de hemoparasitos que as espécies solitárias.

Entretanto, todos esses estudos para explicar a variação na prevalência de hemoparasitos foram feitos analisando dados compilados da literatura. Por isso, os autores

incluiram os valores de prevalência obtidos por diferentes pesquisadores, usando diferentes técnicas e protocolos para diagnóstico de parasitismo, além de amostragem de aves capturadas em ambientes extremamente diversificados e diferentes períodos do ano. Dessa forma, alguns padrões de prevalência de hemoparasitos poderiam ter sido perdidos, devido à variação causada pelos fatores citados acima (Palacios & Martin 2006).

Em pequena escala geográfica, a variação nas taxas de parasitismo entre as espécies de hospedeiros foi explicada levando-se em consideração aspectos relacionados à ecologia dos vetores como: 1) altitude, onde espécies de aves que ocorrem em maiores altitudes são menos parasitadas, devido à menor abundância de vetores (Van Riper *et al.* 1986); 2) ilha versus continente, pois espécies que habitam ilhas são menos parasitadas, devido à menor abundância e à diversidade de vetores em ilhas, em relação ao continente (Super & Van Riper 1995); 3) altura do estrato dentro da floresta, espécies de aves que nidificam em maiores alturas ou forrageiam no dossel da floresta são mais parasitadas, devido à estratificação vertical dos vetores na floresta (Bennet & Fallis 1960, Garvin & Remsen 1997); 4) distribuição geográfica, onde espécies de hospedeiros com maior distribuição geográfica são mais parasitadas, devido à maior probabilidade de encontro com os parasitos (Tella *et al.* 1999); e 5) dependência de floresta, onde espécies dependentes de ambientes florestais são mais parasitadas que espécies de áreas abertas, provavelmente devido à maior abundância de vetores em florestas (Tella *et al.* 1999, Sebaio *et al.* 2010).

De acordo com as hipóteses levantadas acima, a variação interespecífica na prevalência de hemoparasitos poderia resultar da capacidade do hospedeiro para resistir e controlar infecções ou de exposição aos parasitos. Distinguir entre as duas possíveis causas em populações silvestres é praticamente impossível (Yezerinac & Weatherhead 1995). Entretanto, alguns estudos mostram que a prevalência de hemoparasitos poderia refletir o nível de exposição do hospedeiro ao parasito (Bennett 1960, Bennett & Cameron 1974,

Greiner *et al.* 1975). De fato, evidências experimentais suportam a visão de que abundância dos vetores é o principal fator influenciando a variação espacial na prevalência de hemoparasitos (Sol *et al.* 2000). Isso mostra que a variação interespecífica na prevalência de parasitismo poderia também ser atribuída a fatores causando exposição diferencial aos vetores.

6.2. Variação temporal na prevalência de hemoparasitismo

A variação sazonal na prevalência de hemoparasitos em regiões temperadas é evidente tanto em populações (Weatherhead & Bennett 1992, Hatchwell *et al.* 2000, Deviche *et al.* 2001, Bensch & Åkesson 2003, Bensch *et al.* 2007, Cosgrove *et al.* 2008), como em comunidades de aves silvestres (Bennett & Cameron 1974, Ricklefs *et al.* 2005). Nessas regiões, a prevalência de parasitos frequentemente aumenta durante a estação reprodutiva do hospedeiro (Atkinson & Van Riper 1991). Beaudoin *et al.* (1971) propuseram um modelo para explicar tal variação sazonal, levando em consideração a biologia dos vetores e o ciclo de vida de *Plasmodium*: o pico de prevalência ocorre no verão e outono, quando a abundância de vetores e indivíduos jovens (imunologicamente imaturos) na população de hospedeiros é alta. A prevalência é reduzida drasticamente no inverno devido à diminuição da atividade dos vetores e os parasitos manterem baixas abundâncias no sangue periférico dos hospedeiros em níveis que não podem ser detectados nas lâminas (infecção crônica), mas presentes nos tecidos. Na primavera, (estação que antecede o período reprodutivo dos hospedeiros) ocorre uma liberação de gametócitos (fase assexual) no sangue periférico.

Portanto, essa diferença temporal, encontrada em regiões temperadas, ocorre devido a três fatores não mutuamente excludentes. Primeiro, locais com baixas temperaturas limitam a transmissão de hemoparasitos durante os meses mais quentes do ano, período de maior

atividade dos vetores (Atkinson & Van Riper 1991). Segundo, o esforço reprodutivo dos hospedeiros os tornam mais vulneráveis a infecções através da redução de recursos alocados para defesa imunológica (Sheldon & Verhulst 1996). Terceiro, parasitos muitas vezes ajustam sua reprodução à dos hospedeiros para garantir uma transmissão eficiente aos futuros hospedeiros (Christe *et al.* 2000).

Pouco se sabe sobre a transmissão sazonal de hemoparasitos em regiões tropicais e subtropicais, onde os vetores permanecem ativos o ano todo (Atkinson *et al.* 1988). Essa questão continua sem resposta, uma vez que, foram realizados poucos estudos (com pelo menos 12 meses consecutivos) sobre sazonalidade de hemoparasitos nessas regiões e, além disso, os resultados que existem são contraditórios. Por exemplo, no Senegal foi encontrada diferença sazonal na prevalência do hemoparasito *Haemoproteus* (Bennett *et al.* 1978). Entretanto, o único estudo realizado na América do Sul não detectou tal diferença em aves do Cerrado (Fecchio *et al.* 2007).

CONCLUSÃO

A ampla distribuição geográfica dos parasitos da malária aviária, acompanhada do grande número de espécies de hospedeiros e vetores usados por eles, faz desse grupo de protozoários um excelente modelo para testar teorias ecológicas e evolutivas da interação parasito-hospedeiro, tais como: especialização pelos hospedeiros, mudança de hospedeiros, evolução da virulência, imunocompetência e seleção sexual.

Nos últimos 12 anos, estudos dos parasitos da malária aviária, empregando ferramentas moleculares e baseados em sequências mitocondriais, estão revelando a elevada diversidade desses parasitos e a complexidade da relação parasito-hospedeiro em comunidades de aves. Linhagens de hemoparasitos diferenciadas pelo número de substituições nucleotídicas em fragmento do gene mitocondrial (citocromo *b*) do parasito estão sendo utilizadas para definir limites de espécie para esses protozoários.

Embora a utilização de marcadores moleculares tenha se tornado proeminente em estudos envolvendo hemoparasitos de aves nos últimos anos, a microscopia ainda é útil podendo ser usada de maneira equivalente aos métodos moleculares por três razões. Primeira, a quantidade de indivíduos e espécies de aves analisadas usando a microscopia supera o número acumulado através de estudos usando marcadores moleculares. Segunda, a microscopia não é menos eficiente na detecção dos hemoparasitos como sugerido pelos defensores de métodos moleculares para diagnóstico. Terceira, as análises estatísticas são baseadas em nível de gênero, portanto a prevalência pode ser usada simplesmente, separando os gêneros dos parasitos da malária aviária, não sendo necessária a identificação de espécies através de marcadores moleculares. Conseqüentemente, o uso de sequências mitocondriais tem fundamental importância em estudos filogenéticos, de coespeciação e estruturação da comunidade desses hemoparasitos.

Finalmente, estudos empregando sequências mitocondriais dos parasitos da malária aviária associadas à morfologia (através de microscopia), serão fundamentais para confirmar a elevada diversidade desses hemoparasitos de aves, aumentando dessa forma o número de espécies crípticas existentes nesse grupo de protozoários. O desenvolvimento de marcadores moleculares e o sequenciamento do gene do parasito, associado com métodos tradicionais, podem ajudar no entendimento de muitas questões sobre a biologia de hemoparasitos, como manutenção da diversidade genética, especificidade pelo hospedeiro, resposta imune, filogenia e filogeografia.

ÁREA DE ESTUDO

O Cerrado é o segundo maior bioma do Brasil em área, ocupando mais de dois milhões de km², o que representa, aproximadamente, 23% do território nacional (Ribeiro & Walter 1998). Está localizado basicamente no Planalto Central do Brasil, além de pequenas porções no leste da Bolívia e nordeste do Paraguai, ocorrendo em altitudes que variam de cerca de 300 a 1600 m (Ribeiro & Walter 1998). Devido a sua posição central na América do Sul, faz fronteira com os principais biomas sul-americanos: Amazônia, ao norte e noroeste; Caatinga, a nordeste; Mata Atlântica, a leste, e Pantanal, a oeste (Silva & Santos 2005). Apesar disso, possui flora característica e diferenciada dos biomas adjacentes (Ribeiro & Walter 1998).

O clima do Cerrado é caracterizado pela presença de invernos secos e verões chuvosos, segundo a classificação de Köppen (Ribeiro & Walter 1998), portanto apresenta um efeito sazonal típico. Possui precipitação média anual de 1.500 mm, variando de 750 a 2.000 mm, sendo as chuvas praticamente concentradas de outubro a março (estação chuvosa) e a temperatura média do mês mais frio é superior a 18 °C (Ribeiro & Walter 1998).

A biodiversidade do Cerrado é elevada, por exemplo, plantas vasculares (herbáceas, arbustivas, arbóreas e cipós) somam mais de 7.000 espécies, sendo 44% endêmicas (Mendonça *et al.* 1998, Klink & Machado 2005). Nesse sentido, o Cerrado é a mais diversificada savana tropical do mundo (Klink & Machado 2005). A avifauna é rica (acima de 830 espécies) e, embora o número de endemismo seja baixo (3,4%), é o segundo bioma brasileiro em número de espécies de aves ameaçadas e endêmicas ameaçadas (Klink & Machado 2005, Marini & Garcia 2005). Apesar disso, o Cerrado tem apenas 2,2% de área legalmente protegida em unidades de conservação federais ou estaduais (Klink & Machado 2005).

Entre as unidades de conservação no Cerrado, a Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE), localizada na porção norte-nordeste do Distrito Federal, Brasil (15°32'-15°38'S e 47°33' - 47°37'W), possui uma elevada diversidade de aves (307 espécies). Isso representa 67,6% da avifauna registrada no Distrito Federal e 37,1% das espécies catalogadas para o Cerrado (Bagno & Abreu 2008). Essa unidade de conservação possui 10.547 ha e está isolada de outras reservas por áreas urbanas, fazendas e áreas alteradas, exceto pela presença de poucos corredores de vegetação natural. Várias fitofisionomias do Cerrado encontram-se representadas na ESECAE, particularmente o cerrado típico, os campos sujo e limpo e as veredas. A precipitação média anual na ESECAE varia de 1.400 a 1.450 mm, sendo os meses de novembro, dezembro e janeiro os mais chuvosos e a época seca ocorre nos meses de inverno, ou seja, junho a agosto (Maia & Baptista 2008).

O local de captura das espécies de aves que compõem a comunidade de hospedeiros estudada na presente tese consiste de uma área de 100 ha (1 km x 1 km) (denominada grade), delimitada dentro da ESECAE. Essa grade de estudos possui vegetação de cerrado denso (0,3%), cerrado típico (51,7%), cerrado ralo (29,6%), parque de cerrado (= campo de muruduns) (4,0%), campo sujo (5,7%) e campo limpo (7,7%). Trilhas abandonadas representam 0,5% e a estrada 0,5% da área de 100 ha (Figura 1).

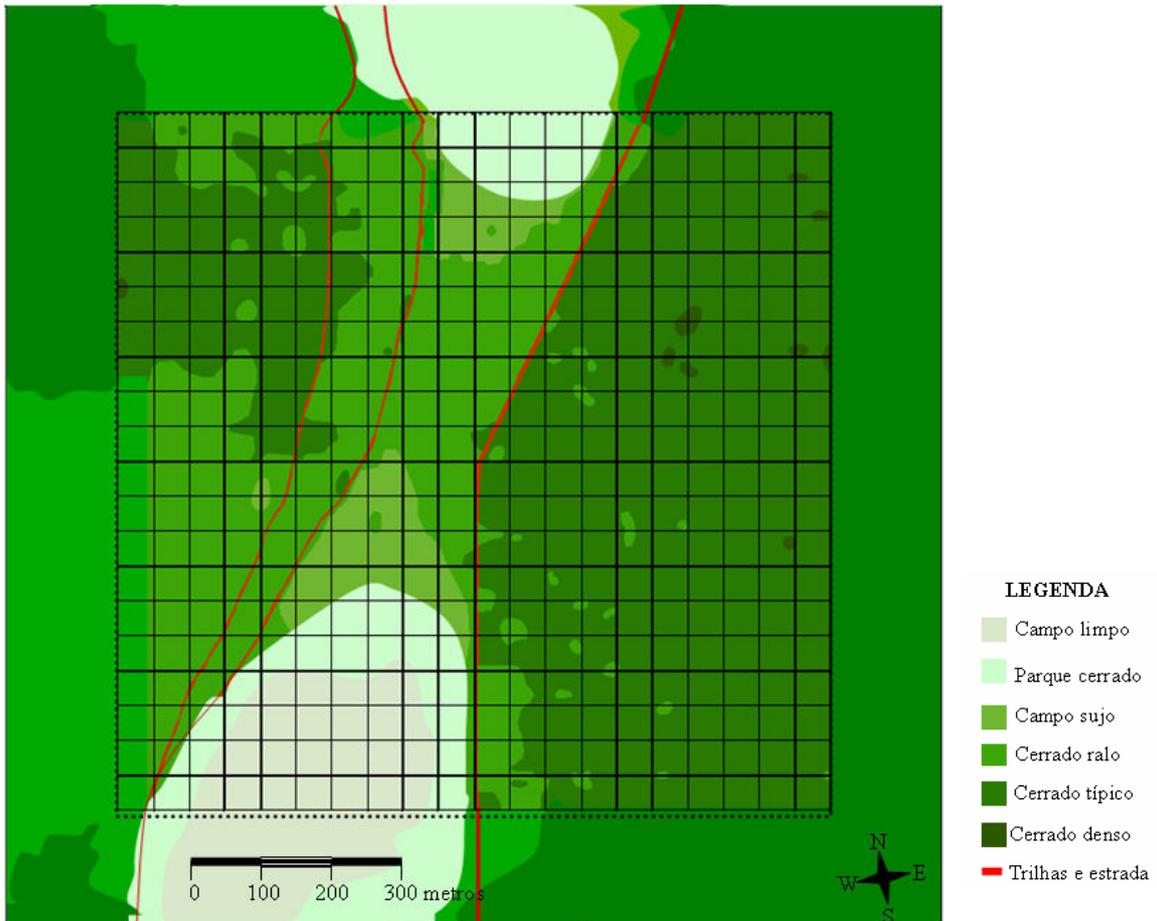


Figura 1. Representação esquemática da grade de estudos inserida na ESECAE com suas respectivas fitofisionomias.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altizer, S. M., Oberhauser, K. S., & Brower, L. P. 2000. Associations between host migration and the prevalence of a protozoan parasite in natural populations of adult monarch butterflies. **Ecological Entomology**. 25: 125-139.
- Altizer, S., Foufopoulos, J., & Gager, A. 2001. Diseases and conservation. **Encyclopedia of Biodiversity**. Vol 2. Academic Press, pgs. 109-126.
- Atkinson, C. T., Forrester, D. J., & Greiner, E. C. 1988. Epizootiology of *Haemoproteus meleagridis* (Protozoa: Haemosporina) in Florida: seasonal transmission and vector abundance. **Journal of Medical Entomology**. 25: 45-51.
- Atkinson, C.T., & Van Riper III., C. 1991. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leococytozoon*, and *Haemoproteus*. In: Loye, J. E. & Zuk, M. (Eds.). **Bird parasite interactions**. Oxford University Press, pgs. 19-48.
- Averis, S., Thompson, R. C., Lymbery, A. J., Wayne, A. F., Morris, K. D., & Smith, A. 2009. The diversity, distribution and host-parasite associations of trypanosomes in Western Australian wildlife. **Parasitology**. 136: 1269-1279.
- Bagno, M. A., & Abreu, T. L. S. 2008. Avifauna. In: Fonseca, F. E. (Org.). **Águas Emendadas**. Brasília: Athalaia Gráfica e Editora, pgs. 233-241.
- Beadell, J. S., & Fleischer, R. C. 2005. A restriction enzyme-based assay to distinguish between avian hemosporidians. **Journal of Parasitology**. 91: 683-685.
- Beadell, J. S., Covas, R., Gebhard, C., Ishtiaq, F., Melo, M., Schmidt, B. K., Perkins, S. L., Graves, G. R., & Fleischer, R. C. 2009. Host associations and evolutionary relationships of avian blood parasites from West Africa. **International Journal for Parasitology**. 39: 257-266.

- Beadell, J. S., Gering, E., Austin, J., Dumbacher, J. P., Peirce, M., Pratt, T. K., Atkinson, C. T., & Fleischer, R. C. 2004. Prevalence and differential host-specificity of two avian blood parasite genera in the Australo-Papuan region. **Molecular Ecology**. 13: 3829-3844.
- Beadell, J. S., Ishtiaq, F., Covas, R., Melo, M., Warren, B. H., Atkinson, C. T., Bensch, S., Graves, G. R., Jhala, Y. V., Peirce, M. A., Rahmani, A. R., Fonseca, D. M., & Fleischer, R. C. 2006. Global phylogeographic limits of Hawaii's avian malaria. **Proceedings of the Royal Society of London**. 273: 2935-2944.
- Beaudoin, R. L., Applegate, J. E., Davis, D. E., & Mclean, R. G. 1971. A model for the ecology of avian malaria. **Journal of Wildlife Diseases**. 7: 5-13.
- Bennett, G. F. 1960. On some ornithophilic blood-sucking Diptera in Algonquin Park, Ontario, Canada. **Canadian Journal of Zoology**. 38: 377-389.
- Bennett, G. F. 1993. Phylogenetic distribution and possible evolution of the avian species of the Haemoproteidae. **Systematic Parasitology**. 26: 39-44.
- Bennett, G. F., & Cameron, M. 1974. Seasonal prevalence of avian hematozoa in passeriform birds of Atlantic Canada. **Canadian Journal of Zoology**. 52: 1259-1264.
- Bennett, G. F., & Coombs, R. F. 1975. Ornithophilic vectors of avian hematozoa in insular Newfoundland. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1241-1246.
- Bennett, G. F., & Fallis, A. M. 1960. Blood parasites of birds in Algonquin Park, Canada, and a discussion of their transmission. **Canadian Journal of Zoology**. 38: 261-273.
- Bennett, G. F., Bishop, M. A., & Peirce, M. A. 1993. Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean life zones. **Systematic Parasitology**. 26: 171-179.
- Bennett, G. F., Blancou, J., White, E. M., & Williams, N. A. 1978. Blood parasites of some birds from Senegal. **Journal of Wildlife Diseases**. 14: 67-73.

- Bennett, G. F., Peirce, M. A., & Earlé, R. A. 1994. An annotated checklist of the valid avian species of *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida) and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). **Systematic Parasitology**. 29: 61-73.
- Bennett, G. F., Squires-Parsons, D., Siikamaki, P., Huhta, E., Allander, K., & Hillstrom, L. 1995. A comparison of the blood parasites of three Fenno-Scandian populations of the Pied Flycatcher *Ficedula hypoleuca*. **Journal of Avian Biology**. 26: 33-38.
- Bennett, G.F., Montgomerie, R., & Seutin, G., 1992. Scarcity of haematozoa in birds breeding on the Arctic tundra of North America. **Condor**. 94: 289-292.
- Bensch, S. M., Perez-Tris, J., Waldenström, J., & Hellgren, O. 2004. Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasites: multiple cases of cryptic speciation? **Evolution**. 58: 1617-1621.
- Bensch, S., & Akesson, A. 2003. Temporal and spatial variation of hematozoans in Scandinavian willow warblers. **Journal of Parasitology**. 89: 388-391.
- Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D., Östman, Ö., Hansson, B., Westerdahl, H., & Pinheiro, R. T. 2000. Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. **Proceedings of the Royal Society of London**. 267: 1583-1589.
- Bensch, S., Waldenstrom, J., Jonzén, N., Westerdahl, H., Hansson, B., Sejberg, D., & Hasselquist, D. 2007. Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. **Journal of Animal Ecology**. 76: 112-122.
- Brown, C. R., & Brown, M. B. 1986. Ectoparasitism as a cost of coloniality in Cliff Swallows (*Hirundo pyrrhonota*). **Ecology**. 67: 1206-1218.
- Bush, S. E., & Clayton, D. H. 2006. The role of body size in host specificity: reciprocal transfer experiments with feather lice. **Evolution**. 60: 2158-2167.

- Christe, P., Arlettaz, R., & Vogel, P. 2000. Variation in intensity of a parasitic mite (*Spinturnix myoti*) in relation to the reproductive cycle and immunocompetence of its bat host (*Myotis myotis*). **Ecology Letters**. 3: 207-212.
- Clayton, D. H., Bush, S. E., Goates, B. M., & Johnson, K. P. 2003. Host defense reinforces host-parasite cospeciation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 100: 15694-15699.
- Cosgrove C. L., Wood, M. J., Day, K. D., & Sheldon, B. C. 2008. Seasonal variation in *Plasmodium* prevalence in a population of blue tits *Cyanistes caeruleus*. **Journal of Animal Ecology**. 77: 540-548.
- Cox, F. E. G. 1989. Parasites and sexual selection. **Nature**. 341: 289.
- Currie, D. C., & Adler, P. H. 2008. Global diversity of black flies (Diptera: Simuliidae) in freshwater. **Hydrobiologia**. 595: 469-475.
- Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. 2000. Emerging infectious diseases of wildlife-threats to biodiversity and human health. **Science**. 287: 443-449.
- de Castro, F., & Bolker, B. 2005. Mechanisms of disease-induced extinction. **Ecology Letters**. 8: 117-126.
- de Queiroz, K. 2005. Ernst Mayr and the modern concept of species. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 102: 6600-6607.
- de Queiroz, K. 2007. Species concepts and species delimitation. **Systematic Biology**. 56: 879-886.
- Deviche, P., Greiner, E. C. & Manteca, X. 2001. Seasonal and age-related changes in blood parasite prevalence in Dark-eyed Juncos (*Junco hyemalis*, Aves, Passeriformes). **Journal of Experimental Zoology**. 289: 456-466.

- Dick, J. T. A., Armstrong, M., Clarke, H. C., Farnsworth, K. D., Hatcher, M. J., Ennis, M., Kelly, A., & Dunn, A. M. 2010. Parasitism may enhance rather than reduce the predatory impact of an invader. **Biology Letters**. 6: 636-638.
- Ebert, D., & Hamilton, W. D. 1996. Sex against virulence: the coevolution of parasitic diseases. **Trends in Ecology and Evolution**. 11: 79-82.
- Eiras, Á. E. 2005. Culicidae. In: Neves, D. P., Melo, A. L., Linardi, P. M., & Vitor, R. W. A. (Org.). **Parasitologia Humana**. Atheneu, pgs. 355-367.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., & Ricklefs, R. E. 2003b. Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. **Evolution**. 57: 606-615.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., & Ricklefs, R. E. 2005. Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. **The American Naturalist**. 165: 466-480.
- Fallon, S. M., Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., & Bermingham, E. 2003a. Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. **Journal of Parasitology**. 85: 1044-1047.
- Fecchio, A., Marini, M. Â., & Braga, É. M. 2007. Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**. 2: 127-135.
- Garnham, P. C. 1966. **Malaria parasites and other haemosporidia**. Blackwell Scientific Publication, 1114 pgs.
- Garvin, M. C., & Remsen, Jr. J. V 1997. An alternative hypothesis for heavier parasite loads of brightly colored birds: exposure at the nest. **The Auk**. 114: 179-191.
- Gibson, G., & Torr, S. J. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**. 13: 2-23.
- Gilbert, G & Hubbell, S. 1996. Plant disease and the conservation of Tropical Forests. **BioScience**. 46: 98-106.

- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. M., & Coombs, R. F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1762-1787.
- Hakkarainen, H., Ilmonen, P., Koivunen, V., & Korpimäki, E. 1998. Blood parasites and nest defense behaviour of Tengmalm's owls. **Oecologia**. 114: 574-577.
- Hamilton, W. D., & Zuk, M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? **Science**. 218: 384-387.
- Hamilton, W. D., & Zuk, M. 1989. Parasites and sexual selection. **Nature**. 341: 289-290.
- Hatcher, M. J., Dick, J. T. A., & Dunn, A. M. 2006. How parasites affect interactions between competitors and predators. **Ecology Letters**. 9: 1253-1271.
- Hatchwell, B. J., Wood, M. J., Anwar, M., & Perrins, C. M. 2000. The prevalence and ecology of the haematozoan parasites of European blackbirds, *Turdus merula*. **Canadian Journal of Zoology**. 78: 684-687.
- Hay, S. I., Okiro, E. A., Gething, P. W., Patil, A. P., Tatem, A. J., Guerra, C. A., & Snow, R. W. 2010. Estimating the Global Clinical Burden of *Plasmodium falciparum* Malaria in 2007. **Plos Medicine**. 7: 1-14.
- Hellgren, O., Pérez-Tris, J., & Bensch, S. 2009. A jack-of-all-trades and still a master of some: prevalence and host range in avian malaria and related blood parasites. **Ecology**. 90: 2840-2849.
- Hellgren, O., Waldenström, J., Bensch, S. 2004. A new PCR assay for imultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium* and *Haemoproteus* from avian blood. **Journal of Parasitology**.90: 797-802.
- Henry, L. G., & Adkins, T. R. J. 1975. Vertical distribution of biting midges in coastal South Carolina. **Annals of the Entomological Society of America**. 68: 321-324.
- Holmes, E. C. 2010. The gorilla connection. **Nature**. 467: 404-405.

- Hudson, P. J., Dobson, A. P., & Newborn, D. 1992. Do parasites make prey vulnerable to predation? Red grouse and parasites. **Journal of Animal Ecology**. 61: 681-692.
- Ishtiaq, F., Gering, E., Rappole, J. H., Rahmani, A. R., Jhala, Y. V., Dove, C. J., Milensky, C., Olson, S. L., Peirce, M. A., & Fleischer, R. C. 2007. Prevalence and diversity of avian hematozoan. **Journal of Wildlife Diseases**. 43: 382-398.
- Jarvi, S. I., Farias, M. E. M., Baker, H., Freifeld, H. B., Baker, P. E., Van Gelder, E., Massey, J. G., & Atkinson, C. T. 2003. Detection of avian malaria (*Plasmodium* spp.) in native land birds of American Samoa. **Conservation Genetics**. 4: 629-637.
- Jarvi, S. I., Schultz, J. J., & Atkinson, C. T. 2002. PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. **Journal of Parasitology**. 88: 153-158.
- Johnson, K. P., Bush, S. E., & Clayton, D. H. 2005. Correlated evolution of host and parasite body size: tests of Harrison's rule using birds and lice. **Evolution**. 59: 1744-1753.
- Jovani, R., Tella, J. L., Furrero, M. G., Bertelloti, M., Blanco, G., Ceballos, O., & Donázar, J. A. 2001. Apparent absence of blood parasites in the Patagonian seabird community: is it related to the marine environment? **Waterbirds**. 24: 430-433.
- Klink, C. A., & Machado, R. B. 2005. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**. 19: 707-713.
- Korpimäki, E., Hakkarainen, H., & Bennett, G. F. 1993. Blood parasites and success of Tengmalm's owls: detrimental effects on females but not on males? **Functional Ecology**. 7: 420-426.
- Krasnov, B. R. 2008. **Functional and Evolutionary Ecology of Fleas: A model for Ecological Parasitology**. Cambridge University Press, 592 pgs.
- Laferty, K. D., & Morris, K. 1996. Altered behavior of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final hosts. **Ecology**. 77: 1390-1397.

- Latta, S. C., & Ricklefs, R. E. 2010. Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. **Journal of Avian Biology**. 41: 25-33.
- Lehane, M. 2005. The **Biology of Blood-Sucking in Insects**. Cambridge University Press, 336 pgs.
- Little, R. M., & Earlé, R. A. 1995. Sandgrouse (Pterocleididae) and Sociable Weavers *Philetarius socius* lack avian haematozoa in semi-arid regions of South Africa. **Journal of Arid Environments**. 30: 367-370.
- Liu, W., Li, Y, Learn, G. H., Rudicell, R. S., Robertson, J. D., Keele, B. F., Ndjango, J. N., Sanz, C. M., Morgan, D. B., Locatelli, S., Gonder, M. K., Kranzusch, P. J., Walsh, P.D., Delaporte, E., Mpoudi-Ngole, E., Georgiev, A. V., Muller, M. N., Shaw, G.V., Peeters, M., Sharp, P. M., Rayner, J. C., & Hahn, B. H. 2010. Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas. **Nature**. 467: 420-427.
- Loiseau, C., Iezhova, T., Valkiūnas, G., Chasar, A., Hutchinson, A., Buermann, W., Smith, T. B., & Sehgal, R. N. M. 2010. Spatial variation of haemosporidian parasite infection in African rainforest bird species. **Journal of Parasitology**. 96: 21-29.
- Loye, J. E., & Carroll, S. P. 1991. Nest ectoparasite abundance and cliff swallow colony site selection, nestling development, and departure time. In: Loye, J. E. & Zuk, M. (Eds.). **Bird parasite interactions**. Oxford University Press, pgs. 69-92.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Lonsdale, W. M., Evans, H., Clout, M., & Bazzaz, F. A. 2000. Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences and control. **Ecological Applications**. 10: 689-710.
- Maia, J. M. F., & Baptista, G. M. M. 2008. Clima. In: Fonseca, F. E. (Org.). **Águas Emendadas**. Brasília: Athalaia Gráfica e Editora, pgs. 101-109.
- Maksimowich, D. S., & Mathis, A. 2000. Parasitized salamanders are inferior competitors for territories and food resources. **Ethology**. 106: 319-329.

- Malmqvist, B., Adler, P. H., Kuusela, K., Merritt, R. W., & Wotton, R. S. 2004. Black flies in the boreal biome, key organisms in both terrestrial and aquatic environments: A review. **Écoscience**. 11: 187-200.
- Marini, M. Â., & Garcia, F. I. 2005. Bird conservation in Brazil. **Conservation Biology**. 19: 665-671.
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Tomás, G., Moreno, J., Morales, J., Lobato, E., Fraile, S. G., & Belda, E. B. 2010. The blood parasite *Haemoproteus* reduces survival in a wild bird: a medication experiment. **Biology Letters**. 6: 663-665.
- Martinsen, E. S., Perkins, S. L., & Schal, J. J. 2008. A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 47: 261-273.
- Marzal A., Lope, F., Navarro, C., & Møller, A. P. 2005. Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. **Oecologia**. 142: 541-545.
- Mayr, E. (1970). **Population, Species and Evolution: An Abridgment of Animal species and evolution**. Harvard University Press, 453 pgs.
- Mendes, L., Piersma, T., Lecoq, M., Spaans, B., & Ricklefs, R. E. 2005. Disease-limited distributions? Contrasts in the prevalence of avian malaria in shorebird species using marine and freshwater habitats. **Oikos**. 109: 396-404.
- Mendonça, R., Felfili, J., Walter, B., Silva Jr., J. C., Rezende, A., Filgueiras, T., & Nogueira, P. 1998. Flora vascular do Cerrado. In: Sano, S., & Almeida, S. (Eds.). **Cerrado. Ambiente e flora**. Embrapa – Cerrados, pgs. 288-556.
- Møller, A. P. 1987. Advantages and disadvantages of coloniality in the swallow, *Hirundo rustica*. **Animal Behaviour**. 35: 819-832.
- Møller, A. P., & Erritzoe, J. 2002. Coevolution of host immune defence and parasite-induced mortality: relative spleen size and mortality in altricial birds. **Oikos**. 99: 95-100.

- Møller, A. P., & Nielsen, J. T. 2007. Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. **Ecology**. 88: 871-881.
- Oppliger, A., Christie, P., & Richner, H. 1997. Clutch size and malarial parasites in female great tits. **Behavioral Ecology**. 8: 148-152.
- Palacios, M. G., & Martin, T. E. 2006. Incubation period and immune function: a comparative field study among coexisting birds. **Oecologia**. 146: 505-512.
- Peirce, M. A. 1981. Distribution and host-parasite check-list of the haematozoa of birds in Western Europe. **Journal of Natural History**. 15: 419-458.
- Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldenström, J., & Bensch, S. 2005. What are malaria parasites? **Trends in Parasitology**. 21: 209-211.
- Perkins, S. L. 2000. Species concepts and malaria parasites: detecting a cryptic species of *Plasmodium*. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 267: 2345-2351.
- Perkins, S. L., & Schall, J. J. 2002. A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. **Journal of Parasitology**. 88: 972-978.
- Piersma, T. 1997. Do global patterns of habitat use and migration strategies co-evolve with relative investments in immunocompetence due to spatial variation in parasite pressure? **Oikos**. 80: 623-631.
- Poulin, R. 1991. Group-living and infestation by ectoparasites in passerines. **The Condor**. 93: 418-423.
- Poulin, R. 1995. Phylogeny, ecology, and the richness of parasite communities in vertebrates. **Ecological Monographs**. 65: 283-302.
- Poulin, R. 2007. **Evolutionary Ecology of Parasites**. Princeton University Press, 332 pgs.
- Prenter, J., MacNeil, C., Dick, J. T. A., & Dunn, A. M. 2004. Roles of parasites in animal invasions. **Trends in Ecology and Evolution**. 19: 385-390.

- Rätti, O., Dufva, R., & Alatalo, R. V. 1993. Blood parasites and male fitness in pied flycatcher. **Oecologia**. 96: 410-414.
- Read, A. F. 1987. Comparative evidence supports the Hamilton and Zuk hypothesis on parasites and sexual selection. **Nature**. 328: 68-70.
- Read, A. F. 1991. Passerine polygyny: a role for parasites? **The American Naturalist**. 138: 434-459.
- Read, A. F., & Harvey, P. H. 1989a. Reassessment of comparative evidence for Hamilton and Zuk theory on the evolution of secondary sexual characters. **Nature**. 339: 618-620.
- Read, A. F., & Harvey, P. H. 1989b. Validity of sexual selection in birds. **Nature**. 340: 105.
- Ribeiro, J. F., & Walter, B. M. T. 1998. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: Sano, S. M., & Almeida, S. P. (eds.). **Cerrado ambiente e flora**. Embrapa, pgs. 89-166.
- Ribeiro, S. F., Sebaio, F., Branquinho, F. C. S., Marini, M. Â., Vago, A. R., & Braga, É. M. 2005. Avian malaria in Brazilian passerine birds: Parasitism detected by nested PCR using DNA from stained blood smears. **Parasitology**. 130: 261-267.
- Richner, H., Christe, P., & Oppliger, A. 1995. Paternal investment affects prevalence of malaria. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 92: 1192-1194.
- Ricklefs, R. E. 1992. Embryonic development period and the prevalence of avian blood parasites. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 89: 4722-4725.
- Ricklefs, R. E., & Fallon, S. M. 2002. Diversification and host switching in avian malaria parasites. **Proceedings of the Royal Society of London**. 269: 885-892.
- Ricklefs, R. E., & Fallon, S. M. 2002. Diversification and host switching in avian malaria parasites. **Proceedings of the Royal Society of London**. 269: 885-892.
- Ricklefs, R. E., Fallon, S. M., & Bermingham, E. 2004. Evolutionary relationships, cospeciation and host switching in avian malaria parasites. **Systematic Biology**. 53: 111-119.

- Ricklefs, R. E., Fallon, S. M., & Bermingham, E. 2004. Evolutionary relationships, cospeciation and host switching in avian malaria parasites. **Systematic Biology**. 53: 111-119.
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martínez-Abraín, A., Scheuerlein, A., Gray, J., & Latta, S. C. 2005. Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. **Ecological Monographs**. 75: 543-559.
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martínez-Abraín, A., Scheuerlein, A., Gray, J., & Latta, S. C. 2005. Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. **Ecological Monographs**. 75: 543-559.
- Sala, O. E., Chapin, F. S. 3rd, Armesto, J. J., Berlow, E., Bloomfield, J., Dirzo, R., Huber-Sanwald, E., Huenneke, L. F., Jackson, R. B., Kinzig, A., Leemans, R., Lodge, D. M., Mooney, H. A., Oesterheld, M., Poff, N. L., Sykes, M. T., Walker, B. H., Walker, M., & Wall, D. H. 2000. Global biodiversity scenarios for the year 2100. **Science**. 287: 1770-1774.
- Schall, J. J. 1992. Parasite-mediated competition in *Anolis* lizards. **Oecologia**. 92: 58-64.
- Scott, M. E. 1988. The impact of infection and disease on animal populations: implications for conservation biology. **Conservation Biology**. 2: 40-56.
- Sebaio, F., Braga, É. M., Branquinho, F., Manica, L. T., & Marini, M. Â. 2010. Blood parasites in Brazilian Atlantic Forest birds: effects of fragment size and habitat dependency. **Bird Conservation International**. 20: 1-8.
- Sehgal, R. N., Jones, H. I., & Smith, T. B. 2001. Host specificity and incidence of *Trypanosoma* in some African rainforest birds: a molecular approach. **Molecular Ecology**. 10: 2319-2327.
- Sheldon, B. C., & Verhulst, S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. **Trends in Ecology and Evolution**. 11: 317-321.

- Siikamäki, P., Rätti, O., Hovi, M., & Bennett, G. F. 1997. Association between haematozoan infections and reproduction in the Pied Flycatcher. **Functional Ecology**. 11: 176-183.
- Silva, J. M. C., & Santos, M. P. D. 2005. A importância relativa dos processos biogeográficos na formação da avifauna do Cerrado e de outros biomas brasileiros. In: Scariot, A., Filho, J. C. S., & Felfili, J. M. (Org.). **Cerrado: Ecologia, Biodiversidade e Conservação**. Ministério do Meio Ambiente, pgs. 224-233.
- Snow, R. W., Guerra, C. A., Noor, A. M., Myint, H. Y., & Hay, S. I. 2005. The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria. **Nature**. 304: 214-217.
- Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. **Ecography**. 23: 307-314.
- Spencer, K. A., Buchanan, K. L., Leitner, S., Goldsmith, A. R., & Catchpol, C. K. 2005. Parasites affect song complexity and neural development in a songbird. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 272: 2037-2043.
- Sundberg, J. 1995. Parasites, plumage coloration and reproductive success in the yellowhammer, *Emberiza citrinella*. **Oikos**. 74: 331-339.
- Super, P. E., & Van Riper III, C. 1995. A comparison of avian hematozoan epizootiology in two California Coastal Scrub communities. **Journal of Wildlife Diseases**. 31: 447-461.
- Sutcliffe, J. F. 1986. Black fly host location: a review. **Canadian Journal of Zoology**. 64: 1041-1053.
- Tella, J. L. 2002. The evolutionary transition to coloniality promotes higher blood parasitism in birds. **Journal of Evolutionary Biology**. 15: 32-41.
- Tella, J. L., Blanco, G., Forero, M. G., Gajón, Á., Donazar, J. A., & Hiraldo, F. 1999. Habitat, world geographic range, and embryonic development of hosts explain the prevalence of

- avian hematozoa at small spatial and phylogenetic scales. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 96: 1785-1789.
- Tella, J. L., Forero, M. G., Gajon, A., Hiraldo, F., & Donazar, J. A. 1996. Absence of blood-parasitization effects on Lesser Kestrel fitness. **The Auk** 113: 253-256.
- Tompkins, D. M., & Begon, M. 1999. Parasites can regulate wildlife populations. **Parasitology Today**. 15: 311-313.
- Torchin, M. E., & Mitchell, C. E. 2004. Parasites, pathogens, and invasions by plants and animals. **Frontiers in Ecology and the Environment**. 2: 183-190.
- Torchin, M. E., Lafferty, K. D., Dobson, A. P., McKenzie, V. J., & Kuris, A. M. 2003. Introduced species and their missing parasites. **Nature**. 421: 628-630.
- Valera, F., Carrillo, C. M., Barbosa, A., & Moreno, E. 2003. Low prevalence of haematozoa in Trumpeter finches *Bucanetes githagineus* from south-eastern Spain: additional support for a restricted distribution of blood parasites in arid lands. **Journal of Arid Environments**. 55: 209-213.
- Valkiūnas, G. 2005. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. Boca Raton, 946 pgs.
- Valkiūnas, G., Iezhova, T. A., Križanauskienė, A., Palinauskas, V., Sehgal, R. N. M., & Bensch, S. 2008. A comparative analysis of microscopy and PCR based detection methods for blood parasites. **Journal of Parasitology**. 94: 1395-1401.
- Van Riper, C. III, van Riper, S. G., Goff, M. L., & Laird, M. 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. **Ecological Monographs**. 56: 327-344.
- Waldenström, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D., & Ottosson, U. 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. **Molecular Ecology**. 11: 1545-1554.

- Warner, R. E. 1968. The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna. **The Condor**. 70: 101-120.
- Weatherhead, P. J., & Bennett, G. F. 1992. Ecology of parasitism of Brown-headed Cowbirds by haematozoa. **Canadian Journal of Zoology**. 70: 1-7.
- White, E. M., Greiner, E. C., Bennet, G. F., & Herman, C. M. 1978. Distribution of the hematozoa of Neotropical birds. **Revista de Biologia Tropical**. 26: 43-102.
- Wilcove, D. S., Rothstein, D., Dubow, J., Phillips, A., & Losos, E. 1998. Quantifying threats to imperiled species in the United States. **Bioscience**. 48: 607-615.
- Yezerinac, S. M., & Weatherhead, P. J. 1995. Plumage coloration, differential attraction of vectors and haematozoa infections in birds. **Journal of Animal Ecology**. 64: 528-537.

CAPÍTULO I

Alta prevalência de hemoparasitos em aves sociais no Cerrado do Brasil Central*

* Alan Fecchio^A, Marcos Robalinho Lima^B, Patrícia Silveira^C, Érika Martins Braga^D & Miguel Ângelo Marini^E (2011) **High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil** (artigo no prelo no periódico **EMU**, Anexo I).

^A Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília.

^B Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade de Brasília.

^C Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais.

^D Departamento de Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais.

^E Departamento de Zoologia, Universidade de Brasília.

INTRODUÇÃO

Um diverso grupo de parasitos, helmintos e protozoários, usam o sangue de aves como habitat para crescimento e reprodução. Entre os protozoários, *Plasmodium*, *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* (Subordem Haemosporina) são os três principais gêneros encontrados em aves e foram registrados parasitando 68% das espécies de aves examinadas (Atkinson & Van Riper 1991). Esses protozoários apresentam ampla distribuição global, assim como seus vetores (insetos hematófagos da ordem Diptera) e já foram descritos parasitando diversos grupos de aves em praticamente todas as regiões geográficas (Garnham 1966, Bennett 1993, Bennett *et al.* 1993, 1994, Valkiūnas 2005). O ciclo de vida desses hemoparasitos envolve uma fase sexual (esporogonia), que ocorre no hospedeiro invertebrado (vetores), e uma fase assexual (esquizogonia), que ocorre no seu hospedeiro vertebrado (centenas de espécies de aves). A ampla distribuição geográfica desses hemoparasitos acompanhada do grande número de espécies de hospedeiros faz deles excelentes modelos para testar teorias evolutivas da interação parasito-hospedeiro (Atkinson & Van Riper 1991).

Um dos aspectos mais interessantes dessa associação é a grande variação interespecífica de hemoparasitos em diferentes espécies de hospedeiros usando tanto a microscopia como método de diagnóstico (Greiner *et al.* 1975, White *et al.* 1978, Peirce 1981), como o diagnóstico molecular baseado em amplificações de diferentes genes alvo (Fallon *et al.* 2005, Ricklefs *et al.* 2005, Ishtiaq *et al.* 2007, Latta & Ricklefs 2010). Essa variação interespecífica de parasitismo foi atribuída a fatores ecológicos e evolutivos das espécies de hospedeiros como coloração da plumagem (Hamilton & Zuk 1982), sistema de acasalamento (Read 1991) e desenvolvimento embrionário (Ricklefs 1992). Em pequena escala geográfica e ecológica, a variação nas taxas de parasitismo entre as espécies de hospedeiros foi explicada levando-se em consideração aspectos relacionados à ecologia dos

vetores como, altitude (Van Riper *et al.* 1986), ilha versus continente (Super & Van Riper 1995), altura do estrato dentro da floresta (Garvin & Remsen 1997), distribuição geográfica (Tella *et al.* 1999) e dependência de floresta (Sebaio *et al.* 2010).

De acordo com os fatores ecológicos e evolutivos citados acima, a variação na prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros poderia resultar da capacidade do hospedeiro em resistir e controlar infecção ou da capacidade de reduzir exposição aos parasitos. Distinguir entre as duas possíveis causas em populações silvestres é praticamente impossível (Yezerinac & Weatherhead 1995). De fato, evidências experimentais suportam a visão de que abundância dos vetores é o principal fator influenciando a variação espacial de hemoparasitos (Sol *et al.* 2000). Dessa forma, fatores causando exposição diferencial aos vetores poderiam ter um papel importante na variação interespecífica de hemoparasitos em comunidades de aves (Bennett 1960, Bennett & Cameron 1974, Greiner *et al.* 1975).

Dípteros hematófagos das famílias Ceratopogonidae, Culicidae e Simuliidae são vetores das espécies de hemoparasitos pertencentes aos gêneros *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), *Plasmodium* e *Leucocytozoon*, respectivamente (Atkinson & Van Riper 1991, Valkiunas 2005, Martinsen 2008), e apresentam estratificação vertical durante o forrageamento (Bennett & Fallis 1960, Bennett & Coombs 1975, Henry & Adkins 1975). Estes insetos hematófagos precisam localizar suas fontes de alimento que, geralmente, são distantes e móveis (Gibson & Torr 1999), um comportamento dirigido por uma diversidade de estímulos visuais e olfatórios (Sutcliffe 1986, Gibson & Torr 1999, Lehane 2005).

Diante desse contexto, o objetivo do presente capítulo foi testar a hipótese de Bennett & Fallis (1960), a qual postula que espécies de aves que nidificam mais alto na floresta são mais parasitadas por hemoparasitos. Para reduzir possíveis efeitos na prevalência de hemoparasitos em cada espécie de hospedeiro devido ao baixo número de amostras, foram selecionadas as espécies mais abundantes na comunidade de aves estudada. Adicionalmente,

foram usadas três variáveis que possivelmente estão associadas à exposição aos vetores: tipo de construção do ninho, peso do corpo e sistema social. É esperado que: 1) espécies que constroem ninhos abertos serão mais parasitadas que espécies que constroem ninhos fechados ou em cavidades; 2) espécies mais pesadas serão mais parasitadas; e 3) espécies sociais serão mais parasitadas. Todas essas variáveis são associadas com a presença e abundância de vetores e, dessa forma, podem explicar a variação na prevalência de hemoparasitos existente entre espécies de aves em uma mesma comunidade.

MÉTODOS

Procedimentos de campo

As aves foram capturadas entre fevereiro de 2005 e setembro de 2009 na grade de estudos delimitada dentro da ESECAE. Foram utilizadas 10 a 20 redes de neblina de 12 m de comprimento por 2,5 m de altura e malha de 35 mm para a captura das aves. As redes permaneciam abertas desde o nascer do sol até o final da manhã e foram vistoriadas em intervalos médios de 30 minutos para a retirada das aves. Os indivíduos capturados foram identificados e marcados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisas para Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE / IBAMA).

Esfregaços sanguíneos foram confeccionados no campo, utilizando-se lancetas ou seringas hipodérmicas descartáveis para punção do tarso ou veia braquial da ave e obtenção de uma gota de sangue. Logo em seguida, os esfregaços foram secos ao ar e fixados em metanol absoluto. Para cada indivíduo capturado, uma a cinco lâminas foram confeccionadas.

Informações sobre as características reprodutivas e da história de vida das espécies de aves como tipo de ninho, altura do ninho, sistema social e peso foram retirados do banco de dados do projeto Demografia e Conservação de Aves dos Cerrados do Brasil Central, que

consiste de aproximadamente 6.000 indivíduos marcados e 2.000 ninhos monitorados entre 2002 e 2010 (Marini, dados não publicados).

Detecção dos hemoparasitos: microscopia

Recentemente, Valkiūnas *et al.* (2008) mostraram que a microscopia pode ser usada como método eficiente e confiável para diagnóstico de hemoparasitos, contrariando estudos mostrando que a PCR é mais sensível que a microscopia na detecção desses parasitos (Fallon *et al.* 2003, Ricklefs *et al.* 2005, Ricklefs & Sheldon 2007). Segundo Valkiūnas *et al.* (2008), a visualização dos esfregaços sanguíneos deve ser realizada por pesquisadores bem treinados e a análise efetuada em, no mínimo, 500 mil eritrócitos (100 campos microscópicos utilizando objetiva de menor aumento 40x e 100 campos utilizando objetiva de maior aumento 100x) em tempo de 20 a 25 minutos.

Em laboratório, as lâminas fixadas foram coradas por solução de GIEMSA diluída em água tamponada (pH 7,2-7,4) 1:10 e examinadas ao microscópio de luz (Olympus CX 31). No presente estudo, foram examinados 150 campos microscópicos com aumento de 400x e 200 campos com aumento de 1000x. A visualização de cada esfregaço levou em média 30 minutos e foram utilizados apenas esfregaços com boa qualidade e com distribuição homogênea de eritrócitos.

Análises estatísticas

Para determinar se a prevalência de hemoparasitos estava associada à altura de nidificação, peso das espécies, comportamento social e tipo de ninho, modelos lineares generalizados (GLMM, função “lmer” no pacote do R “lme4”) foram ajustados pela aproximação de Laplace (Bolker *et al.* 2009), usando uma distribuição de erro binomial e uma função de ligação logit. Em função da falta de independência dos dados devido à filogenia e

época de captura, espécie e data de captura foram consideradas como efeitos aleatórios no modelo, enquanto que as variáveis altura de nidificação, peso das espécies, comportamento social e tipo de ninho como efeitos fixos. Devido ao pequeno número de espécies com tipo de ninho fechado ou de cavidade, os dois tipos de ninhos foram agrupados como uma única variável categórica, nomeada ninho fechado. GLMM foi utilizado, pois possibilita a utilização do *status* individual de infecção (infectado ou não infectado) como variável dependente e ao mesmo tempo controla para diferenças de tamanho amostral. Portanto, informações não são perdidas devido a restrições do tamanho amostral, uma vez que, mais peso é dado para os dados que possuem um maior tamanho amostral (Patterson & Lello 2003, Jovani & Tella 2006). Além disso, GLMM é um poderoso método para analisar dados parasitológicos, pois possibilita o uso de dados que não são normalmente distribuídos, como dados de presença e ausência (infectado ou não), enquanto controla para correlações entre medidas que ocorrem devido a observações agrupadas (Patterson & Lello 2003). Adicionalmente, GLMMs são mais apropriados do que análises de contraste quando variáveis categóricas são incluídas na análise (Sodhi *et al.* 2008), permitindo que espécies sejam usadas como efeito aleatório para abranger a variação dentro espécies e, dessa forma, controlar para efeitos filogenéticos (Bolker *et al.* 2009).

Modelos parcimoniosos foram obtidos removendo sempre as variáveis de menor poder explicativo e comparando os modelos com teste de máxima verossimilhança usando a mudança na deviance do modelo como uma aproximação de qui-quadrado. Se ao remover uma variável não houvesse diminuição significativa no ajuste do modelo, o modelo simplificado era escolhido. A variância estimada do modelo também foi verificada para superdispersão dos dados. O modelo está adequado aos pressupostos de modelos mistos. Todas as análises estatísticas foram feitas no R, versão 2.10.1 (R Development Core Team, 2008). Todos os testes estatísticos foram bi-caudais com $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Foram analisadas 772 aves de 17 espécies, representando seis famílias da ordem Passeriformes e uma família da ordem Piciformes (Tabela 1). Apenas 83 indivíduos (10,7%) estavam parasitados, sendo *Haemoproteus* o gênero mais abundante (7,1% prevalência, n = 53 indivíduos infectados), seguido de *Plasmodium* (3,6% prevalência, n = 28 indivíduos infectados). A infecção por microfilária foi observada em apenas um indivíduo de *Camptostoma obsoletum*, apresentando baixa parasitemia (duas formas em 150 campos), e foi removida das análises. Nenhum outro gênero de hemoparasito e infecção mista foram encontrados.

Foram feitos dois modelos separando cada gênero de hemoparasito, uma vez que, as espécies de *Haemoproteus* e *Plasmodium* são transmitidas por vetores pertencentes a famílias distintas (Valkiūnas 2005). Consequentemente, os vetores para esses parasitos devem apresentar diferenças comportamentais quanto à procura pelo hospedeiro.

Analisando separadamente, o modelo mostrou que espécies de aves que constroem ninhos fechados (incluindo ninhos em cavidades) foram mais parasitadas por *Plasmodium* que espécies que constroem ninhos abertos (Tabela 2). Por outro lado, espécies de aves que constroem ninhos fechados (incluindo ninhos em cavidades) foram menos parasitadas por *Haemoproteus* que espécies que constroem ninhos abertos. Este gênero de parasito também foi mais prevalente em espécies sociais e que nidificam mais alto (Tabela 2).

DISCUSSÃO

O resultado mais interessante encontrado no presente estudo foi a maior prevalência de *Haemoproteus* nas espécies de aves com reprodução social. Um aumento na transmissão de ectoparasitos é considerado um custo universal para espécies que vivem em grupo (Alexander 1974). Animais sociais têm maior chance de adquirir e acumular ectoparasitos que indivíduos de espécies solitárias, devido à maior proximidade e contato físico entre os membros do grupo (Poulin 1991). Particularmente em aves, alguns estudos mostraram os custos de viver em grupo devido ao parasitismo em espécies de andorinhas (Hirundinidae). Por exemplo, existe uma relação positiva entre tamanho da colônia e abundância de ectoparasitos por ninho em espécies que formam grupos coloniais (Brown & Brown 1986, Møller 1987, Loye & Carroll 1991). Bennett *et al.* (1978) mostraram que espécies de aves coloniais foram mais parasitadas por hemoparasitos que espécies solitárias no Senegal. Tella (2002) usando método comparativo par a par, mostrou que a prevalência e a riqueza de espécies de hemoparasitos (tanto em número de espécies e número de gêneros) foram maiores em espécies coloniais do que em espécies solitárias. Entretanto, até o presente, esse é o primeiro estudo a mostrar que espécies com reprodução cooperativa (quatro das cinco espécies que formam bando possuem reprodução cooperativa) são significativamente mais parasitadas por hemoparasitos que espécies não sociais.

Maruins (Diptera: Ceratopogonidae) são vetores de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) (Garvin & Greiner 2003, Valkiūnas 2005, Martinsen *et al.* 2008) e a maioria das espécies desses insetos vetores tem atividades noturna ou crepuscular (Mellor *et al.* 2000, Lehane 2005, Martínez-de la Puente *et al.* 2009). Dessa forma, o comportamento de procura pelo hospedeiro deve ser mediado por olfato, sendo o dióxido de carbono o principal componente volátil usado por esse grupo de insetos para localizar o hospedeiro a longas

distâncias (Gibson & Torr 1999). Duas hipóteses não mutuamente excludentes podem explicar essa maior prevalência de *Haemoproteus* em espécies que vivem em grupo. Primeira, a proximidade dos membros do grupo, principalmente, para indivíduos de espécies que dormem em árvores dormitórios ou empoleirados lado a lado pode favorecer o encontro do hospedeiro pelo vetor, uma vez que uma maior quantidade de dióxido de carbono será emitida pelo grupo em comparação a indivíduos solitários. Essa explicação é plausível se for assumido que os vetores têm atividade noturna e que os indivíduos podem ser infectados na fase adulta ou sub-adulta. Segunda, ajudantes de ninho (quatro das cinco espécies que formam grupo social possuem reprodução cooperativa na comunidade de aves estudada) podem ter aumentado o número de visitas aos ninhos devido à vigilância ou para entrega de alimento aos filhotes, tornando esses ninhos mais fáceis de serem localizados visualmente pelos vetores devido à maior movimentação dos indivíduos em torno do ninho. Desde que insetos hematófagos também podem localizar seus hospedeiros guiados por estímulos visuais (Sutcliffe 1986, Gibson & Torr 1999, Lehane 2005), os vetores para *Haemoproteus* na área de Cerrado estudada, podem estar seguindo os pais e ajudantes de ninho para localizar os ninhos. Essa explicação é plausível se for assumido que as infecções de hemoparasitos são adquiridas primariamente no ninho, uma vez que, ninhos não possuem sistema imunológico maduro e comportamento de defesa contra o ataque de insetos hematófagos.

A associação entre altura de nidificação e prevalência de *Haemoproteus* encontrada no presente estudo corrobora a hipótese que explica altas taxas de hemoparasitos em comunidades de aves na região temperada proposta por Bennet & Fallis (1960). Esses autores argumentam que os vetores para hemoparasitos são mais abundantes no dossel das florestas, existindo uma relação positiva entre altura de nidificação e taxas de parasitismo. Espécies de *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) são os vetores para *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) (Garvin & Greiner 2003, Valkiūnas 2005, Martinsen *et al.* 2008) e

mostram estratificação vertical durante o forrageamento (Henry & Adkins 1975, Bennett & Coombs 1975, Mellor *et al.* 2000). Dessa forma, espécies de aves que nidificam mais alto e, conseqüentemente, na altura de forrageamento dos vetores serão mais parasitadas. Apenas um estudo testou essa hipótese em comunidade de aves na região temperada usando microscopia como método de diagnóstico, e os autores encontraram tal relação (Garvin & Remsen 1997). Entretanto, Ricklefs *et al.* (2005) analisaram altura dos ninhos com outras variáveis para explicar diferenças nas taxas de parasitismo entre as espécies de hospedeiros em uma comunidade de aves no Missouri, EUA, e esses autores não encontraram relação entre altura de nidificação e prevalência de hemoparasitos, usando métodos moleculares para diagnóstico. O presente estudo é o terceiro a encontrar essa associação, sendo o primeiro a testar esta hipótese em região tropical. Dessa forma, altura do ninho, parece ser um bom previsor para explicar a variação interespecífica na prevalência de hemoparasitos em comunidades de aves.

Espécies de *Plasmodium* desenvolvem-se apenas em mosquitos (Diptera: Culicidae), e são transmitidos por espécies dos gêneros *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta* e *Mansonia* (Valkiūnas 2005). O comportamento de procura pelo hospedeiro nesses insetos é mediado por odor, sendo o dióxido de carbono o principal, ou em combinação com outros compostos voláteis emitidos pelos hospedeiros (Gibson & Torr 1999, Takken & Knols 1999). Dessa forma, esses compostos podem ser acumulados dentro de cavidades aumentando as chances dos vetores encontrarem a fonte de odor, o hospedeiro. Isso pode explicar a maior prevalência de *Plasmodium* encontrada em espécies de aves que constroem ninhos fechados ou em cavidades. De maneira oposta, o fato de espécies de hospedeiros que constroem ninhos fechados ou em cavidades serem menos parasitadas por *Haemoproteus* sugere que essas aves são expostas de maneira diferencial aos insetos vetores, onde ninhos fechados ou em cavidades conferem certa proteção ao ataque dos insetos vetores de *Haemoproteus*. Tomás *et al.* (2008) e Martínez-de la Puente *et al.* (2009) mostraram existir diferenças na abundância e

prevalência de infestação por maruins (Diptera: Ceratopogonidae) e borrachudos (Diptera: Simuliidae) em ninhos construídos em cavidades para três espécies de Passeriformes na Espanha. Apesar de não serem feitas medidas de abundância e prevalência de infestação por insetos em ninhos fechados ou em cavidades no presente estudo, as espécies de mosquitos (Diptera: Culicidae) podem ser mais abundantes que os maruins (Diptera: Ceratopogonidae) nesse tipo de ninho na área de Cerrado estudada. Essa possível diferença na prevalência de infestação por insetos vetores em ninhos fechados ou em cavidades poderia explicar a dicotomia na prevalência de *Plasmodium* e *Haemoproteus* encontrada em espécies de hospedeiros que constroem esses tipos de ninhos.

Ao contrário do esperado, não houve associação entre peso das espécies de hospedeiros e prevalência de hemoparasito. Peso do corpo poderia determinar as taxas de hemoparasitismo porque aves grandes produzem maior quantidade de dióxido de carbono, o principal composto volátil usado por insetos hematófagos para localização dos hospedeiros (Sutcliffe 1986, Gibson & Torr 1999, Lehane 2005). Além disso, grandes corpos fornecem maior superfície para ataque e estabelecimento de parasitos (Atkinson & Van Riper 1991). Peso do corpo explicou 20% da variação na prevalência de hemoparasitos em Passeriformes na Europa (Scheuerlein & Ricklefs 2004). Essa relação foi predominantemente definida pelas prevalências de *Leucocytozoon* e *Trypanosoma*, hemoparasitos transmitidos por Simuliidae, e foi inexistente para *Haemoproteus* e *Plasmodium*, parasitos transmitidos por Ceratopogonidae e Culicidae, respectivamente (Scheuerlein & Ricklefs 2004). Portanto, o peso das espécies de hospedeiros não parece ser um bom preditor de variação interespecífica na prevalência de *Plasmodium* e *Haemoproteus*.

CONCLUSÃO

Características reprodutivas e comportamentais das espécies de hospedeiros, na área de Cerrado estudada, definiram as prevalências de parasitismo para *Plasmodium* e *Haemorphoteus*. Isso mostra que os insetos vetores desses hemoparasitos são atraídos pelas espécies de hospedeiros de maneira distinta. Consequentemente, tais características promovem exposição diferencial a esses hemoparasitos, ao menos, em pequena escala. Altura do ninho parece ser um robusto previsor para explicar a variação interespecífica na prevalência de hemoparasitos em comunidades de aves, pelo menos, quando a microscopia é usada como método de diagnóstico. Adicionalmente, o presente estudo forneceu nova evidência de que formação de grupos aumenta a taxa de parasitismo em aves, pelo menos, para *Haemoproteus*. Assumindo que esse gênero de hemoparasito de aves tem efeito sobre a sobrevivência e reprodução de seus hospedeiros (Merino *et al.* 2000, Martínez-de la Puente *et al.* 2010), deve existir uma compensação entre os benefícios gerados pela reprodução cooperativa (Cockburn 1998) e os custos associados a esse comportamento. Dessa forma, o aumento nas taxas de hemoparasitos poderia ser incluído como um dos aspectos negativos da reprodução cooperativa. Futuros estudos com o objetivo de mostrar os efeitos da cooperação sobre as variáveis reprodutivas deveriam considerar a presença desses hemoparasitos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alexander, R. D. 1974. The evolution of social behavior. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 5: 325-383.
- Atkinson, C. T., Forrester, D. J., & Greiner, E. C. 1988. Epizootiology of *Haemoproteus meleagridis* (Protozoa: Haemosporina) in Florida: seasonal transmission and vector abundance. **Journal of Medical Entomology**. 25: 45-51.
- Atkinson, C.T., & Van Riper III., C. 1991. Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leococytozoon*, and *Haemoproteus*. In: Loye, J. E. & Zuk, M. (Eds.). **Bird parasite interactions**. Oxford University Press, pgs. 19-48.
- Bennett, G. F. 1960. On some ornithophilic blood-sucking Diptera in Algonquin Park, Ontario, Canada. **Canadian Journal of Zoology**. 38: 377-389.
- Bennett, G. F. 1993. Phylogenetic distribution and possible evolution of the avian species of the Haemoproteidae. **Systematic Parasitology**. 26: 39-44.
- Bennett, G. F., & Cameron, M. 1974. Seasonal prevalence of avian hematozoa in passeriform birds of Atlantic Canada. **Canadian Journal of Zoology**. 52: 1259-1264.
- Bennett, G. F., & Coombs, R. F. 1975. Ornithophilic vectors of avian hematozoa in insular Newfoundland. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1241-1246.
- Bennett, G. F., & Fallis, A. M. 1960. Blood parasites of birds in Algonquin Park, Canada, and a discussion of their transmission. **Canadian Journal of Zoology**. 38: 261-273.
- Bennett, G. F., Bishop, M. A., & Peirce, M. A. 1993. Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean life zones. **Systematic Parasitology**. 26: 171-179.
- Bennett, G. F., Blancou, J., White, E. M., & Williams, N. A. 1978. Blood parasites of some birds from Senegal. **Journal of Wildlife Diseases**. 14: 67-73.

- Bennett, G. F., Peirce, M. A., & Earlé, R. A. 1994. An annotated checklist of the valid avian species of *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida) and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). **Systematic Parasitology**. 29: 61-73.
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., & White, J. S. S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. **Trends in Ecology and Evolution**. 24: 127-135.
- Brown, C. R., & Brown, M. B. 1986. Ectoparasitism as a cost of coloniality in Cliff Swallows (*Hirundo pyrrhonota*). **Ecology**. 67: 1206-1218.
- Cockburn, A. 1998. Evolution of helping behavior in cooperatively breeding birds. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 29: 141-177.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., & Ricklefs, R. E. 2005. Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. **The American Naturalist**. 165: 466-480.
- Fallon, S. M., Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., & Bermingham, E. 2003. Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. **Journal of Parasitology**. 85: 1044-1047.
- Garnham, P. C. 1966. **Malaria parasites and other haemosporidia**. Blackwell Scientific Publication, 1114 pgs.
- Garvin, M. C., & Greiner, E. C. 2003. Ecology of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in southcentral Florida and experimental *Culicoides* vectors of the avian hematozoan *Haemoproteus danilewskyiruse*. **Journal of Wildlife Diseases**. 39: 170-178.
- Garvin, M. C., & Remsen, Jr. J. V. 1997. An alternative hypothesis for heavier parasite loads of brightly colored birds: exposure at the nest. **The Auk**. 114: 179-191.
- Gibson, G., & Torr, S. J. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**. 13: 2-23.

- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. M., & Coombs, R. F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1762-1787.
- Hamilton, W. D., & Zuk, M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? **Science**. 218: 384-387.
- Henry, L. G., & Adkins, T. R. J. 1975. Vertical distribution of biting midges in coastal South Carolina. **Annals of the Entomological Society of America**. 68: 321-324.
- Jovani, R., & Tella, J. L. 2006. Parasite prevalence and sample size: misconceptions and solutions. **Trends in Parasitology**. 22: 214-218.
- Latta, S. C., & Ricklefs, R. E. 2010. Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. **Journal of Avian Biology**. 41: 25-33.
- Lehane, M. 2005. The **Biology of Blood-Sucking in Insects**. Cambridge University Press, 336 pgs.
- Loye, J. E., & Carroll, S. P. 1991. Nest ectoparasite abundance and cliff swallow colony site selection, nestling development, and departure time. In: Loye, J. E. & Zuk, M. (Eds.). **Bird parasite interactions**. Oxford University Press, pgs. 69-92.
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Lobato, E., Aguilar, J. R., Cerro, S., Castañeda, R. R., & Moreno, J. 2009. Does weather affect biting fly abundance in avian nests? **Journal of Avian Biology**. 40: 653-657.
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Tomás, G., Moreno, J., Morales, J., Lobato, E., Fraile, S. G., & Belda, E. B. 2010. The blood parasite *Haemoproteus* reduces survival in a wild bird: a medication experiment. **Biology Letters**. 6: 663-665.
- Martinsen, E. S., Perkins, S. L., & Schal, J. J. 2008. A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): Evolution of life-history traits and host switches. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 47: 261-273.

- Mellor, P. S., Boorman, J., & Baylis, M. 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. **Annual Review of Entomology**. 45: 307-340.
- Merino, S., Moreno, J., Sanz, J. J., & Arriero, E. 2000. Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in blue tits (*Parus caeruleus*). **Proceedings of the Royal Society of London B**. 267: 2507-2510.
- Møller, A. P. 1987. Advantages and disadvantages of coloniality in the swallow, *Hirundo rustica*. **Animal Behaviour**. 35: 819-832.
- Paterson, S., & Lello, J. 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. **Trends in Parasitology**. 19: 370-375.
- Peirce, M. A. 1981. Distribution and host-parasite check-list of the haematozoa of birds in Western Europe. **Journal of Natural History**. 15: 419-458.
- Poulin, R. 1991. Group-living and infestation by ectoparasites in passerines. **The Condor**. 93: 418-423.
- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Read, A. F. 1991. Passerine polygyny: a role for parasites? **The American Naturalist**. 138: 434-459.
- Ricklefs, R. E. 1992. Embryonic development period and the prevalence of avian blood parasites. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 89: 4722-4725.
- Ricklefs, R. E., & Sheldon, K. S. 2007. Malaria prevalence and white-blood-cell response to infection in a tropical and in a temperate thrush. **The Auk**. 124:1254-1266.
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martínez-Abraín, A., Scheuerlein, A., Gray, J., & Latta, S. C. 2005. Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. **Ecological Monographs**. 75: 543-559.

- Scheuerlein, A., & Ricklefs, R. E. 2004. Prevalence of blood parasites in European passerine birds. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 271: 1363-1370.
- Sebaio, F., Braga, É. M., Branquinho, F., Manica, L. T., & Marini, M. Â. 2010. Blood parasites in Brazilian Atlantic Forest birds: effects of fragment size and habitat dependency. **Bird Conservation International**. 20: 1-8.
- Sodhi, N. S., Koh, L. P., Peh, K. S. H., Tan, H. T. W., Chazdon, R. L., Corlett, R. T., Lee, t. M., Colwell, R. K., Brook, B. W., Sekercioglu, C. H., & Bradshaw, C. J. A. 2008. Correlates of extinction proneness in tropical angiosperms. **Diversity and Distributions**. 14: 1-10.
- Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. **Ecography**. 23: 307-314.
- Super, P. E., & Van Riper III, C. 1995. A comparison of avian hematozoan epizootiology in two California Coastal Scrub communities. **Journal of Wildlife Diseases**. 31: 447-461.
- Sutcliffe, J. F. 1986. Black fly host location: a review. **Canadian Journal of Zoology**. 64: 1041-1053.
- Takken, W., & Knols, B. G. J. 1999. Odor-mediated behavior of afrotropical malaria mosquitoes. **Annual Review of Entomology**. 44: 131-157.
- Tella, J. L. 2002. The evolutionary transition to coloniality promotes higher blood parasitism in birds. **Journal of Evolutionary Biology**. 15: 32-41.
- Tella, J. L., Blanco, G., Forero, M. G., Gajón, Á., Donázar, J. A., & Hiraldo, F. 1999. Habitat, world geographic range, and embryonic development of hosts explain the prevalence of avian hematozoa at small spatial and phylogenetic scales. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 96: 1785-1789.

- Tomás, G., Merino, S., Martínez-de la Puente, J., Moreno, J., Morales, J. & Lobato, E. 2008. Determinants of abundance and effects of blood-sucking flying insects in the nest of a hole-nesting bird. **Oecologia**. 156: 305-312.
- Valkiūnas, G. 2005. **Avian malaria parasites and other haemosporidia**. Boca Raton, 946 pgs.
- Valkiūnas, G., Iezhova, T. A., Križanauskienė, A., Palinauskas, V., Sehgal, R. N. M., & Bensch, S. 2008. A comparative analysis of microscopy and PCR based detection methods for blood parasites. **Journal of Parasitology**. 94: 1395-1401.
- Van Riper, C. III, van Riper, S. G., Goff, M. L., & Laird, M. 1986. The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. **Ecological Monographs**. 56: 327-344.
- White, E. M., Greiner, E. C., Bennet, G. F., & Herman, C. M. 1978. Distribution of the hematozoa of Neotropical birds. **Revista de Biología Tropical**. 26: 43-102.
- Yezerinac, S. M., & Weatherhead, P. J. 1995. Plumage coloration, differential attraction of vectors and haematozoa infections in birds. **Journal of Animal Ecology**. 64: 528-537.

Tabela 1. Características reprodutivas e da história de vida de aves do Cerrado do Brasil Central e prevalência de hemoparasitos usando a microscopia como método de diagnóstico

Táxon	Variáveis analisadas				Indivíduos		Parasito	
	Média da altura do ninho (m)	Média do peso (g)	Tipo ninho	Sistema social	Analisados	Infectados (%)	<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium</i>
Picidae								
<i>Veniliornis mixtus</i>	3,25	24,1	cavidade	casal	13	7,7	0	1
Dendrocolaptidae								
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	2,00	29,8	cavidade	casal	32	6,3	0	2
Furnariidae								
<i>Synallaxis albescens</i>	0,30	11,9	fechado	casal	19	10,5	0	2
<i>Phacellodomus rufifrons</i>	3,30	22,5	fechado	grupo	60	6,7	0	4
Tyrannidae								
<i>Elaenia cristata</i>	1,50	18,1	aberto	casal	135	2,2	0	3
<i>Elaenia chiriquensis</i>	1,61	15,3	aberto	casal	136	3,7	2	3
<i>Camptostoma obsoletum</i>	1,44	7,1	aberto	casal	12	8,3	1	0
<i>Suiriri suiriri</i>	4,44	20,0	aberto	grupo	59	40,7	24	0
<i>Suiriri islerorum</i>	1,38	19,9	aberto	casal	8	0	0	0
<i>Myiarchus swainsoni</i>	1,18	23,3	cavidade	casal	23	8,7	1	1
Mimidae								
<i>Mimus saturninus</i>	1,22	63,2	aberto	grupo	12	25	1	2
Thraupidae								
<i>Neothraupis fasciata</i>	0,59	29,2	aberto	grupo	139	14,4	14	6
<i>Cypsnagra hirundinacea</i>	3,70	26,7	aberto	grupo	31	35,5	10	1
Emberizidae								
<i>Ammodramus humeralis</i>	0,00	16,5	aberto	casal	39	2,6	0	1
<i>Emberizoides herbicola</i>	0,17	26,0	aberto	casal	15	0	0	0
<i>Volatinia jacarina</i>	0,42	9,9	aberto	casal	19	15,8	2	1
<i>Sporophila plumbea</i>	1,23	10,4	aberto	casal	20	5	0	1
Total					772	10,7	55 (7,1%)	28 (3,6%)

Tabela 2. Modelo linear misto generalizado (GLMM) da prevalência de hemoparasitos com relação ao tipo de ninho, altura do ninho, sistema social e peso de 17 espécies de aves do Cerrado do Brasil Central. Modelos lineares mistos generalizados (GLMM) finais: (a) *Plasmodium* e (b) *Haemoproteus*. Cada modelo foi simplificado ao eliminar termos não significativos usando o método *backward stepwise*. Termos dos modelos foram retidos quando sua eliminação causava uma mudança significativa ($P < 0,05$) na deviência do modelo. Todos os modelos tiveram como modelo inicial as quatro variáveis sem interação e espécie e data de coleta como variável e foi utilizada a distribuição de erros binomial e a função logit. As estimativas e desvio padrão estão em logits

Modelo	Termos	Estimativa (EP)	Z	P
(a) <i>Plasmodium</i>	Intercepto	-3,5810 (0,2782)	-12,870	<0,001
	Ninho fechado ^a	0,8782 (0,4132)	2,215	0,037
	variância dos efeitos aleatórios: espécie < 0,001; data 0,155			
(b) <i>Haemoproteus</i>	Intercepto	-5,0649 (0,4879)	-10,380	<0,001
	Ninho fechado ^a	-3,3920 (1,0458)	-3,243	0,001
	Altura do ninho	0,5043 (0,1004)	5,021	<0,001
	Grupo ^b	2,4334 (0,4823)	5,045	<0,001
variância dos efeitos aleatórios: espécie < 0,001; data 0,283				

^a Estimado em relação a espécies que possuem tipo de ninho aberto.

^b Estimado em relação a espécies que possuem um sistema social de casal.

CAPÍTULO II

Estrutura e organização da comunidade de hemoparasitos (*Haemoproteus* e *Plasmodium*) em aves do Cerrado do Brasil Central*

* Alan Fecchio^A, Marcos Robalinho Lima^B, Linda Maria Elenor Svensson^C, Robert Eric Ricklefs^C & Miguel Ângelo Marini^E. **Structure and organization of avian malaria parasites assemblage in a neotropical savanna in Brazil** (artigo a ser submetido para **Ecology** em 2011).

^A Programa de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília.

^B Programa de Pós-graduação em Ecologia, Universidade de Brasília.

^C Department of Biology, University of Missouri-Saint Louis.

^D Departamento de Zoologia, Universidade de Brasília.

INTRODUÇÃO

Um dos maiores desafios para ecólogos, na atualidade, é entender como interações entre espécies influenciam a estrutura da comunidade, coexistência de espécies e a biodiversidade (Hatcher *et al.* 2006). Foi demonstrado que parasitos e patógenos são uma importante força determinando a estrutura de comunidades ecológicas (Begon *et al.* 1992, Hudson & Greenman 1998, Wood *et al.* 2007), influenciando as interações entre competidores e predadores (Hatcher *et al.* 2006) e, até mesmo, no funcionamento e produtividade de ecossistemas (Hudson *et al.* 2006). A organização das comunidades de parasitos permite um melhor entendimento dos processos de facilitação e competição em comunidades biológicas (Krasnov 2008). Apesar disso, a relação entre comunidades de parasitos e seus hospedeiros é pobremente conhecida, particularmente, onde a taxonomia dos parasitos não é bem consolidada (Ricklefs *et al.* 2005, Poulin 2007). Portanto, caracterizar a estrutura da comunidade de parasitos é o primeiro passo para o entendimento da evolução e dinâmica das comunidades de parasito-hospedeiros (Ricklefs *et al.* 2005).

Nos últimos 12 anos, análises moleculares dos parasitos da malária aviária (*sensu* Pérez-Tris *et al.* 2005) baseadas, primariamente, em sequências mitocondriais, estão revelando uma rica diversidade genética entre as linhagens desses parasitos que não é aparente na sua morfologia (Ricklefs & Fallon 2002, Fallon *et al.* 2003a, 2004, Bensch *et al.* 2004, 2007, Latta & Ricklefs 2010). Dessa forma, a diversidade de espécies de *Plasmodium* e *Haemoproteus* utilizando a morfologia como critério de suporte é altamente subestimada (Ricklefs & Fallon 2002, Ricklefs *et al.* 2004). Atualmente, acredita-se que exista uma espécie de hemoparasito para cada espécie de hospedeiro (Ricklefs & Fallon 2002, Bensch *et al.* 2004, 2007). Com o uso de marcadores moleculares, a visão de que parasitos são especializados em seus hospedeiros tem mudado nos últimos anos com estudos quantitativos

de comunidades dos parasitos da malária aviária (Ricklefs & Fallon 2002, Ricklefs *et al.* 2004, 2005, Fallon *et al.* 2005, Beadell *et al.* 2009, Hellgren *et al.* 2009). Esses estudos mostraram considerável variação na amplitude de hospedeiros utilizados por *Plasmodium* e *Haemoproteus* (protozoários pertencentes ao Filo Apicomplexa). E, embora a coespeciação seja um aspecto proeminente em alguns sistemas parasito-hospedeiro (Moran & Baumann 1994, Clayton *et al.* 2003, Johnson & Clayton 2003, Krasnov 2008), o sistema hemoparasito-ave não exhibe estreita associação entre a diversificação dos parasitos e seus hospedeiros (Ricklefs & Fallon 2002, Ricklefs *et al.* 2004, 2005, Beadell *et al.* 2009). Por exemplo, uma única linhagem de *Plasmodium* pode infectar até oito espécies de hospedeiros da mesma comunidade de aves e uma única espécie de ave pode ser infectada por até 12 linhagens de hemoparasitos (Ricklefs *et al.* 2005).

Além dessa plasticidade quanto ao uso das espécies de hospedeiros utilizados, uma outra característica atribuída a esses hemoparasitos é a grande variação na frequência com que eles são encontrados em populações e comunidades de aves. A prevalência (porcentagem de indivíduos infectados na população de hospedeiro) varia de zero a 100% embora as causas ecológicas e evolutivas levando a essa variação interespecífica não são bem entendidas. Considerando espécies de hospedeiros como diferentes recursos usados pelos parasitos, características comportamentais, reprodutivas e da história de vida de cada espécie de ave poderia promover exposição diferencial ou resistência a esses parasitos. Por exemplo, a altura de nidificação das espécies de hospedeiros na floresta determina a prevalência de hemoparasitos (Bennett & Fallis 1960, Garvin & Remsen 1997, Fecchio *et al.* 2011). Segundo Bennett & Fallis (1960), os vetores para hemoparasitos são mais abundantes no dossel das florestas, dessa forma, espécies de aves que controem ninhos em maiores alturas no estrato da floresta estarão mais expostos aos vetores e, conseqüentemente, serão mais infectados por hemoparasitos. Assumindo que exposição diferencial aos vetores é um dos determinantes da

prevalência de hemoparasitos em aves, as seguintes predições podem ser feitas: 1) espécies migratorias são expostas a duas ou mais faunas de insetos vetores e hemoparasitos durante seu ciclo anual (Møller & Erritzøe 1998, Waldenström *et al.* 2002), dessa forma é esperado que espécies migratórias sejam mais parasitadas que espécies residentes; 2) ninhos fechados conferem certa proteção ao ataque de insetos hematófagos (Read 1991, Fecchio *et al.* 2011), assim é esperado que espécies que controem ninhos abertos serão mais parasitadas do que espécies que constroem ninhos fechados ou em cavidades; 3) a socialidade promove um aumento nas taxas de parasitismo (Alexander 1974, Poulin 1991, Côté & Poulin 1995) e atração de vetores (Davis *et al.* 1991, Nunn & Heymann 2005), assim é esperado que espécies de aves com reprodução social sejam mais parasitadas; 4) espécies maiores e mais pesadas fornecem maior superfície para o ataque ou estabelecimento de insetos hematófagos (Scheuerlein & Ricklefs 2004) além de emitir maior quantidade de CO₂, o principal composto volátil usado pelos vetores de hemoparasitos para localizar seus hospedeiros (Gibson & Torr 1999, Lehane 2005), portanto é esperado que espécies de aves mais pesadas sejam mais parasitadas.

Outro determinante de prevalência de hemoparasitos é a resistência dos hospedeiros (Ricklefs 1992, 1993, Tella *et al.* 1999). Ricklefs (1992) mostrou que a prevalência de hemoparasitos é inversamente relacionada ao comprimento do período de incubação em aves. Segundo esse autor, essa correlação é dada pela relação direta entre imunocompetência e período de crescimento embrionário. Ele sugere que a habilidade dos indivíduos para prevenir infecção, controlar infecção, ou ambos aumenta com o comprimento do período de desenvolvimento embrionário, possivelmente através da maior diferenciação do sistema imune, porque longo período de incubação poderia permitir um aumento na proliferação de células B e grande diversificação dos genes da região variável da imunoglobulina antes delas

se expressarem como anticorpos. Portanto é esperado que aves com maior período de incubação sejam menos parasitadas.

Todos esses aspectos têm um importante papel no desenvolvimento de teorias sobre a coevolução parasito-hospedeiro, seleção sexual e evolução da virulência (Hamilton & Zuk 1982, Ebert & Hamilton 1996, Moller & Erritzoe 2002). A diversidade, a distribuição geográfica e as relações filogenéticas dos parasitos da malária aviária e outros hemosporídeos são pobremente conhecidas (Fallon *et al.* 2005). Estudos de hemoparasitos são escassos em relação ao seu potencial de estudo, e muita informação básica é ainda necessária para o entendimento de fatores ecológicos e evolutivos moldando a distribuição desses parasitos entre as espécies de hospedeiros da mesma comunidade de aves (porém ver Ricklefs *et al.* 2005, Latta & Ricklefs 2010). Ainda, estudos filogenéticos de parasitos, dentro de um contexto regional, são necessários para avaliar a associação parasito-hospedeiro em nível de comunidade, incluindo o grau de especialização pelo hospedeiro e localização geográfica das linhagens de parasitos (Fallon *et al.* 2005). Diante desse contexto, o objetivo desse estudo foi determinar quais características reprodutivas, comportamentais e da história de vida das espécies de hospedeiros explicam a variação interespecífica na prevalência de hemoparasitos (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) em uma comunidade de aves estudada durante cinco anos no Cerrado do Brasil Central. Adicionalmente, através da amplificação e sequenciamento de parte do DNA mitocondrial dos parasitos (citocromo *b*) será possível estudar a organização e dinâmica temporal dessa taxocenose de hemoparasitos, além de contribuir com estimativas mais precisas sobre a diversidade de *Plasmodium* e *Haemoproteus* em aves neotropicais.

MÉTODOS

Procedimentos de campo

As amostras de sangue da comunidade de aves foram coletadas (licença IBAMA número 15256-1) entre novembro de 2005 e setembro de 2009 durante os anilhamentos realizados pelo Laboratório de Ecologia e Conservação de Aves da Universidade de Brasília como parte de um estudo de longa duração Demografia e Conservação de Aves dos Cerrados do Brasil Central. O local de coleta consistiu de uma área de 100 ha (1 km x 1 km) (denominada grade) delimitada dentro da ESECAE. Informações sobre as características reprodutivas e da história de vida das espécies de aves como tipo de ninho, altura do ninho, sistema social, tempo de incubação, *status* migratório e peso foram retirados do banco de dados do projeto Demografia e Conservação de Aves dos Cerrados do Brasil Central que consiste de aproximadamente 6.000 indivíduos marcados e 2.000 ninhos monitorados entre 2002 e 2010 (Marini, dados não publicados).

Durante os anilhamentos, os indivíduos foram marcados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisas para Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE / IBAMA), pesados, medidos e em seguida liberados. Foram utilizadas 10 a 20 redes de neblina de 10 ou 12 m de comprimento por 2,5 m de altura e malha de 35 mm. As redes permaneciam abertas desde o nascer do sol até o final da manhã e eram vistoriadas em intervalos médios de 30 minutos para a retirada das aves.

Aproximadamente 0,05 mL de sangue foi coletado da veia braquial (asa) ou da veia tarsal (tarso) usando uma lanceta ou agulha hipodérmica descartáveis e conservado em microtubo com aproximadamente 1 mL de etanol absoluto.

Detecção dos hemoparasitos: diagnóstico molecular

Extração de DNA - O DNA do sangue foi obtido usando o método convencional de extração com fenol:clorofórmio:álcool isoamílico (25:24:1) seguido por precipitação em etanol (Sambrook & Russel 2001).

Detecção dos hemoparasitos - Todas as amostras de DNA extraído foram inicialmente examinadas quanto à presença de hemoparasitos pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando iniciadores desenhados para amplificar um segmento de 154 pares de bases de DNA mitocondrial com os seguintes iniciadores: 343F 5' - GCT CAC GCA TCG CTT CT - 3' e 496R 5' - GAC CGG TCA TTT TCT TTG - 3' (Fallon *et al.* 2003b). As reações da PCR foram feitas em volume final de 10 µL com as seguintes concentrações: tampão 1X, 2,5 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, 0,5 µM de cada iniciador e 0,25U de Taq polimerase. Um µL de DNA total extraído foi usado para cada amplificação. As condições do termociclador foram as seguintes: denaturação inicial de 2 minutos a 94 °C seguida por 35 ciclos com 50 segundos de denaturação a 94 °C, 50 segundos de anelamento a 55 °C, e extensão a 72 °C por 25 segundos. Isso foi seguido por uma extensão final de 2 minutos a 72 °C.

Para cada 24 amostras de DNA foram usados dois controles negativos (H₂O) e dois controles positivos: um contendo DNA de ave parasitada por *Haemoproteus* e um por *Plasmodium*, ambos detectados através de microscopia e previamente sequenciados. A visualização do produto de amplificação foi feita em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio. O indivíduo foi considerado parasitado sempre que uma banda de aproximadamente 150 pares de base foi visualizada no gel.

Amplificação do citocromo b – Para construir a filogenia e separar as espécies de hemoparasitos, as amostras de DNA dos indivíduos parasitados (pelo método descrito acima) foram analisadas novamente para se obter um tamanho maior do segmento de DNA

mitocondrial do parasito. Para essa segunda etapa, foi usado outro tipo de marcador molecular, o citocromo *b* do DNA mitocondrial dos parasitos. Foi usado um par de iniciadores desenhados para amplificação de um segmento do citocromo *b* do DNA mitocondrial de *Plasmodium*: DW4 5' – TGT TTG CTT GGG AGC TGT ATT CAT AAT GTG - 3' com 3932R 5' – GGG TTA TGT ATT ACC TTG GGG TC - 3'. As reações da PCR foram feitas com 10 µL de volume com as seguintes concentrações finais: tampão 1X, 2,75 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, 0,5 µM de cada iniciador, 1x BSA e 0,625 unidades de Taq polimerase. Foi usado 0,5 µL de DNA extraído em cada reação. As condições do termociclador foram as seguintes: denaturação inicial de 4 minutos a 94 °C seguida por 35 ciclos com 20 segundos de denaturação a 94 °C, 10 segundos de anelamento a 49 °C e extensão a 68 °C por 45 segundos. Isso foi seguido por uma extensão final de 3 minutos a 68 °C.

Foram usados um controle negativo (H₂O) e um controle positivo contendo DNA de ave parasitada por *Haemoproteus* ou por *Plasmodium*, ambos detectados através de microscopia e previamente sequenciados. A visualização do produto de amplificação foi feita em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio.

Para as amostras que não amplificaram ou que apresentaram bandas fracas, uma segunda reação foi feita com o produto da reação descrita acima, utilizando um par de iniciadores que amplificam uma região interna do segmento obtido pelo método descrito acima: 926R 5'- CAT CCA ATC CAT AAT AAA GCA T-3' e 413F 5'-GTG CAA CYG TTA TTA CTA A-'. As reações dessa PCR foram feitas com 20 µL de volume com as seguintes concentrações finais: tampão 1X, 2,75 mM MgCl₂, 0,2 mM de dNTP, 0,5 µM de cada iniciador, 1x BSA e 0,625 unidades de Taq polimerase. Foi usado 0,5 µL de DNA obtido da reação acima descrita. As condições do termociclador foram as seguintes: denaturação inicial de 60 segundos a 94 °C seguida por 28 ciclos com 20 segundos de denaturação a 94 °C,

10 segundos de anelamento a 52 °C e extensão a 68 °C por 50 segundos. Isso foi seguido por uma extensão final de 7 minutos a 68 °C. Devido à alta chance de contaminação pela *Nested PCR*, a cada três amostras de DNA foi usado um controle negativo contendo água obtida da primeira reação descrita acima. A visualização do produto de amplificação foi feita em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio.

Sequenciamento - As sequências de DNA mitocondrial para análise foram obtidas pelo sequenciamento direto dos produtos de PCR, utilizando o *kit* de sequenciamento *Big Dye Terminator Cycle Sequencing* (Applied Biosystems), seguindo recomendações do fabricante. Sequenciamento do gene citocromo *b* dos parasitos foi conduzido em um sequenciador automático ABI Prism 377 (Applied Biosystems). As sequências foram editadas e alinhadas usando o programa BIOEDIT (Hall 1999).

Análises filogenéticas

Cada haplótipo e sequências únicas foram combinadas com sequências do GenBank (21 de junho de 2010), do banco de dados Malvi (Bensch *et al.* 2009) e banco de dados não publicados (Ricklefs, dados não publicados), todos através do BioEdit (Hall 2005). Adicionalmente para as buscas com 100% de combinação, foram selecionadas sequências de parasitos (mínimo de duas por clado ou mais se os *taxa* foram espécies descritas) usadas em Outlaw & Ricklefs (2009) e alinhadas usando o programa Clustal X versao 2.0 (Larkin *et al.* 2007).

A análise filogenética foi realizada pelo método de Máxima Verossimilhança e a confiança dos clados foi avaliada por 100 réplicas de *bootstraps* com auxílio do programa RAxML BlackBox (Stamatakis *et al.* 2008). Esse programa assume um modelo de evolução GTR+G (*General Time Reversible* com taxas variáveis entre sítios seguindo parâmetro Gamma) e estima a proporção de sítios invariáveis. Foi usado o método de ponto médio de

enraizamento. Este método é uma forma alternativa para definição de grupo externo quando estes não são conhecidos ou não são evolutivamente próximos dos *taxa* em análise (Hess & De Moraes Russo 2007). A premissa do ponto médio de enraizamento é que os *taxa* terminais incluídos na árvore apresentam taxas de evolução similares (Hess & De Moraes Russo 2007). Foram excluídas as sequências de *Plasmodium* de mamíferos das análises porque esse grupo parece apresentar taxas de evolução mais altas do que hemosporídeos de aves e lagartos (Outlaw & Ricklefs 2010), violando dessa forma a premissa do ponto médio de enraizamento.

Adicionalmente, foi feita uma análise Bayesiana com partição dos códons (Ronquist & Huelsenbeck 2003). O melhor modelo evolutivo para cada posição do códon foi determinado pelo programa MrModeltest v. 2.2 (Nylander 2004). Os modelos escolhidos foram GTR+G+I, HKY+G e GTR+G para os códons 1, 2 e 3, respectivamente. Quando os modelos não diferiram significativamente, foram escolhidos os mais simples. Foram rodadas três milhões de gerações, com amostragem a cada 500 passos e desconsideradas as 30 mil gerações como *burn-in*.

Definindo linhagens de hemoparasitos

As linhagens de hemoparasitos foram definidas baseado em divergência de, aproximadamente, 600 nucleotídeos sequenciados do gene citocromo *b* do parasito. Como a maioria dessas linhagens não são espécies descritas, as mesmas foram definidas, primariamente, com base em variação genética e espécie de hospedeiro utilizado (Fallon *et al.* 2005). Não existe acordo na quantidade de variação genética de DNA mitocondrial para definir espécie de hemoparasitos (Ricklefs *et al.* 2004, 2005). Fallon *et al.* (2003) separaram linhagens de hemoparasitos diferindo apenas 1% nas sequências mitocondriais e Perkins (2000) sugeriu 3% de variação em *Plasmodium* de lagartos. Divergência de sequências de citocromo *b* menores que 1% foram observadas em espécies descritas de *Plasmodium* de

mamíferos (Escalante *et al.* 1998) e linhagens diferindo apenas 0,5% exibiram completo desequilíbrio de ligação, sendo consideradas evolutivamente independentes (Bensch *et al.* 2004). No presente estudo, sequências diferindo por três ou mais substituições nucleotídicas ou, aproximadamente, 0,5% foram consideradas linhagens distintas se encontradas em diferentes espécies de hospedeiros. Se estes haplótipos apresentaram mais de 0,5% de divergência genética, mas foram encontrados na mesma espécie de hospedeiro ou houve sobreposição das espécies de hospedeiros utilizadas por estes haplótipos, os mesmos foram considerados pertencentes à mesma linhagem de parasito. Por exemplo, os haplótipos CEN e CEunique4 (distância genética 0,96%) foram encontrados em espécies de aves distintas e considerados duas linhagens. Por outro lado, os haplótipos CEH, CEG e CEunique1 (distância genética entre CEH-CEG = 0,53% e CEH-CEunique1 = 0,78%) foram encontrados em várias espécies de hospedeiros que se sobrepõem e, portanto, considerados pertencentes à mesma linhagem de parasito (Figura 1).

Análises estatísticas

As análises foram baseadas em valores de probabilidade para tabelas de contingência (teste G), comparando número de indivíduos infectados e não infectados (Sokal & Rohlf 1995).

Para determinar a influência das características biológicas das espécies de aves sobre a prevalência de hemoparasitos, Modelos Lineares Mistos Generalizados (GLMM) foram ajustados pela aproximação de Laplace (Bolker *et al.* 2009) para dados usando a função “glmer” implementado no pacote R “lme4” (R Development Core Team 2008), com uso de distribuição de erro binomial e uma função de ligação logit. Para controlar a falta de independência dos dados devido à filogenia, um erro de estrutura hierárquica taxonômica (Ordem/Família/Gênero/Espécies) foi considerado como efeito aleatório no modelo, enquanto

as variáveis altura de nidificação, peso das espécies, sistema social, tipo de ninho, tempo de incubação e *status* migratório, como efeitos fixos. Devido ao pequeno número de espécies com tipo de ninho fechado ou de cavidade, os dois tipos de ninhos foram agrupados como uma única variável categórica, nomeada ninho fechado.

Foi usado GLMM por três motivos. Primeiro, ele é um poderoso método para analisar dados parasitológicos, uma vez que, esse tipo de análise acomoda dados que não são normalmente distribuídos, tal como dados de presença e ausência (infectado e não infectado). Segundo, informações não são perdidas devido a restrições do tamanho amostral, uma vez que, mais peso é dado para os dados que possuem um maior tamanho amostral (Patterson & Lello 2003, Jovani & Tella 2006). Terceiro, GLMM também controla para correlações entre medidas que são o resultado de observações agrupadas, nesse caso, medidas agrupadas devido à filogenia (Patterson & Lello 2003, Jovani & Tella 2006). Adicionalmente, GLMM são mais apropriados do que análises de contraste, para controle filogenético, quando variáveis categóricas são incluídas na análise (Sodhi *et al.* 2008).

Modelos parcimoniosos foram obtidos removendo sempre as variáveis de menor poder explicativo e comparando os modelos com teste de máxima verossimilhança, usando a mudança na deviância do modelo como uma aproximação de qui-quadrado. Se ao remover uma variável não houvesse diminuição significativa no ajuste do modelo, o modelo simplificado era escolhido. Os pressupostos dos modelos finais mais adequados foram verificados por gráficos da distribuição de resíduos e pela moda condicional dos efeitos aleatórios. A variância estimada do modelo também foi verificada para superdispersão dos dados. O modelo está adequado aos pressupostos de modelos mistos. Todas as análises estatísticas foram feitas no R, versão 2.10.1 (R Development Core Team, 2008). Todos os testes estatísticos foram bi-caudais com $\alpha = 0,05$.

RESULTADOS

Prevalência geral

Foram analisados 790 indivíduos de 54 espécies de aves representando 19 famílias (Tabela 1). A prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) determinada através de PCR foi de 21% (166 indivíduos infectados) e variou de zero a 100%. As famílias mais parasitadas (com pelo menos 15 indivíduos analisados) foram Bucconidae, Thraupidae e Mimidae (Tabela 2). Tyrannidae e Emberizidae tiveram prevalência moderada. Dendrocolaptidae, Furnariidae e Picidae tiveram zero de prevalência, apesar do elevado número de indivíduos analisados nessas famílias (Tabela 2).

Estabilidade temporal na prevalência

A prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) não variou durante os cinco anos de estudo ($G_{aj} = 8,082$, $gl = 4$, $P = 0,089$; Tabela 3) ou entre as estações seca e chuvosa ($G_{aj} = 0,074$, $gl = 1$, $P = 0,786$).

Prevalência com relação à idade do hospedeiro

Entre os indivíduos nos quais foi possível determinar a idade, não houve diferença significativa ($G_{aj} = 2,543$, $gl = 1$, $P = 0,111$) na prevalência de (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) em aves com menos de um ano de idade ($n = 23$ indivíduos examinados e 8,7% infectados) e aves com mais de um ano de idade ($n = 723$ indivíduos examinados e 21,4% infectados; Tabela 4).

Variação na prevalência entre espécies de hospedeiros

A prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) das 19 espécies de aves com pelo menos 12 indivíduos analisados é apresentada na Tabela 5. A prevalência dos hemoparasitos variou de alta (89%, 16 infectados em 18 analisados) em *Nystalus chacuru* a zero em sete espécies: *Veniliornis mixtus*, *Lepidocolaptes angustirostris*, *Synallaxis albescens*, *Phacellodomus rufifrons*, *Camptostoma obsoletum*, *Emberizoides herbicola* e *Sporophila plumbea*. A prevalência de malária foi altamente heterogênea entre as espécies de aves ($G_{aj} = 271,000$, $gl = 18$, $P < 0,001$).

Relações filogenéticas de *Plasmodium* e *Haemoproteus* em aves do Cerrado do Brasil

Central

Foram obtidas sequências de 149 aves infectadas. Desses indivíduos, 26 (17%) apresentaram dupla infecção, baseado nos picos duplos do cromatograma. Foram encontrados 89 haplótipos de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), dois haplótipos de *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) e 38 haplótipos de *Plasmodium* na comunidade de aves estudada durante cinco anos no Cerrado do Brasil Central. Gênero do hemoparasito foi determinado analisando esses haplótipos com sequências previamente analisadas por Martinsen *et al.* (2008).

Baseado em aproximadamente 0,5% de substituições nucleotídicas no fragmento do gene mitocondrial (citocromo *b*) do parasito e espécies de hospedeiros utilizados, esses 129 haplótipos foram separados em 17 linhagens de hemoparasitos, sendo oito pertencentes ao gênero *Plasmodium* (destacado em negrito), oito pertencentes a *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) e apenas uma linhagem pertencente a *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) (Figura 1).

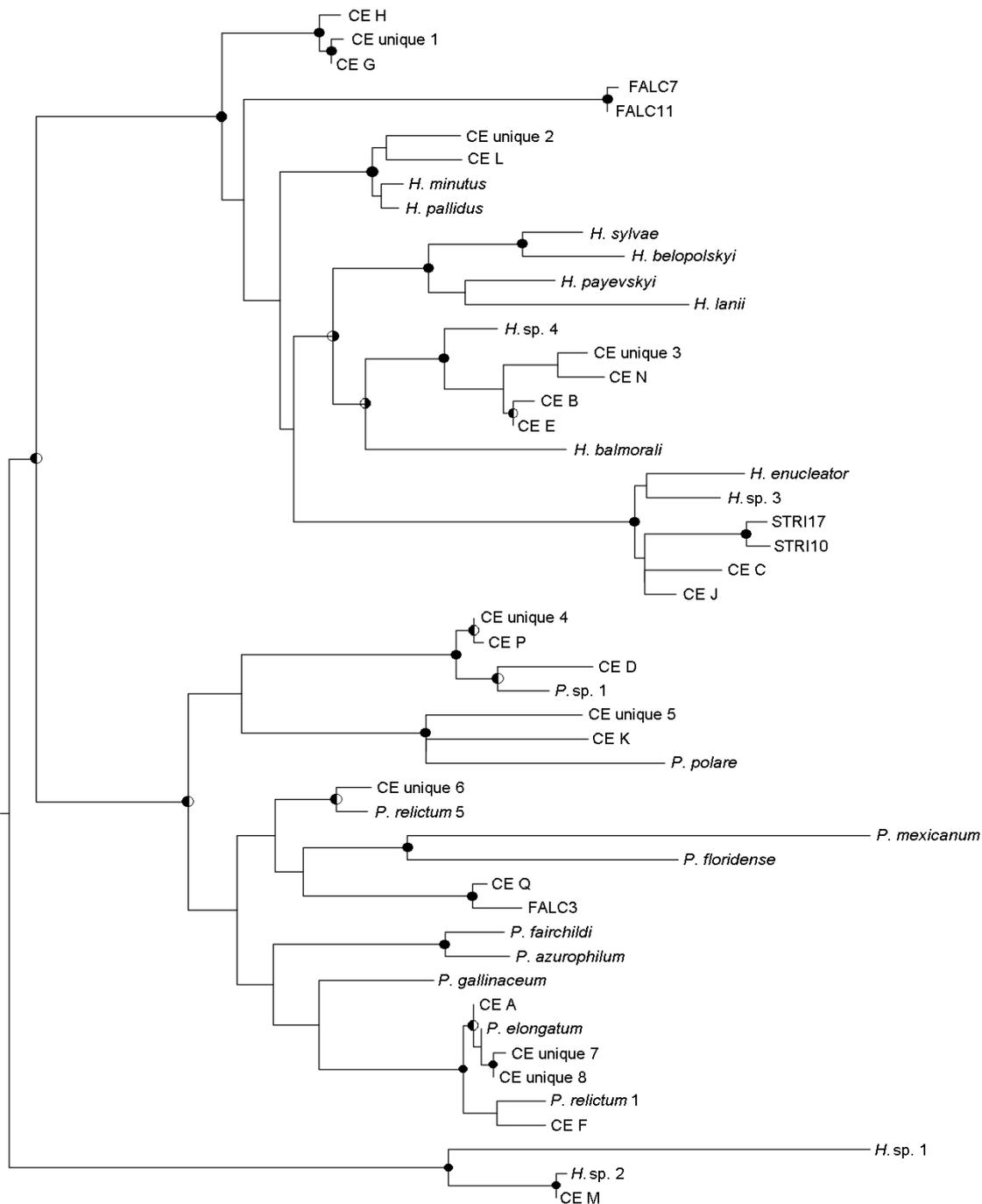


Figura 1. Filogenia dos parasitos da malária aviária em aves do Cerrado baseada em 600 pares de base do gene mitocondrial citocromo *b*. A hipótese filogenética foi inferida usando o método de Máxima Verossimilhança. Os valores de *bootstraps* acima de 70 para análise de Máxima Verossimilhança são indicados por círculos cheios e valores acima de 95 obtidos com base na análise Bayesiana são indicados por círculos preenchidos pela metade. O prefixo CE denota os haplótipos encontrados na comunidade de aves do Cerrado do Brasil Central.

Distribuição das linhagens de *Plasmodium* e *Haemoproteus* por família de hospedeiros

A distribuição das linhagens de hemoparasitos por família de aves da comunidade estuda é apresentada na Tabela 6. Foram registradas 17 linhagens parasitando nove famílias de aves no Cerrado do Brasil Central. As linhagens CEC e CEJ foram registradas, exclusivamente, em Bucconidae, **CEPU4** em Thraupidae e **CEF** em Emberizidae.

Distribuição das linhagens de *Plasmodium* e *Haemoproteus* por espécie de hospedeiros

A distribuição das linhagens de hemoparasitos por espécie de hospedeiros da comunidade de aves estuda é apresentada na Tabela 7. As linhagens CEEB, CEGHU1, **CEAU7U8** e CEC foram as mais abundantes, sendo CEEB encontrada com maior frequência em *Neothraupis fasciata* e *Cypsnagra hirundinacea* (57,5% e 30% de frequência de ocorrência respectivamente), CEGHU1 em *Suiriri suiriri* (45%) e CEC exclusiva de *Nystalus chacuru* e *Nystalus maculatus*. Outras linhagens especializadas foram CEJ, **CEF** e **CEPU4** exclusivas de *Nystalus chacuru*, *Volatinia jacarina* e *Neothraupis fasciata* respectivamente. As demais linhagens foram encontradas esparsamente entre as espécies de hospedeiros ou foram únicas, sendo difícil fazer conclusões sobre especialização. Interessantemente, quatro linhagens de hemoparasitos foram registradas apenas uma vez, apesar da existência de potenciais hospedeiros (espécies de aves filogeneticamente próximas e/ou livres de parasitos). Os dados sugerem que a maioria das espécies de hospedeiros pode ser infectada por uma grande variedade de hemoparasitos, já que o número de linhagens que uma espécie de hospedeiro abriga variou de uma a sete (Figura 2, Tabela 7). O número de linhagens de hemoparasitos aumentou com o número de indivíduos infectados em cada espécie (Figura 2).

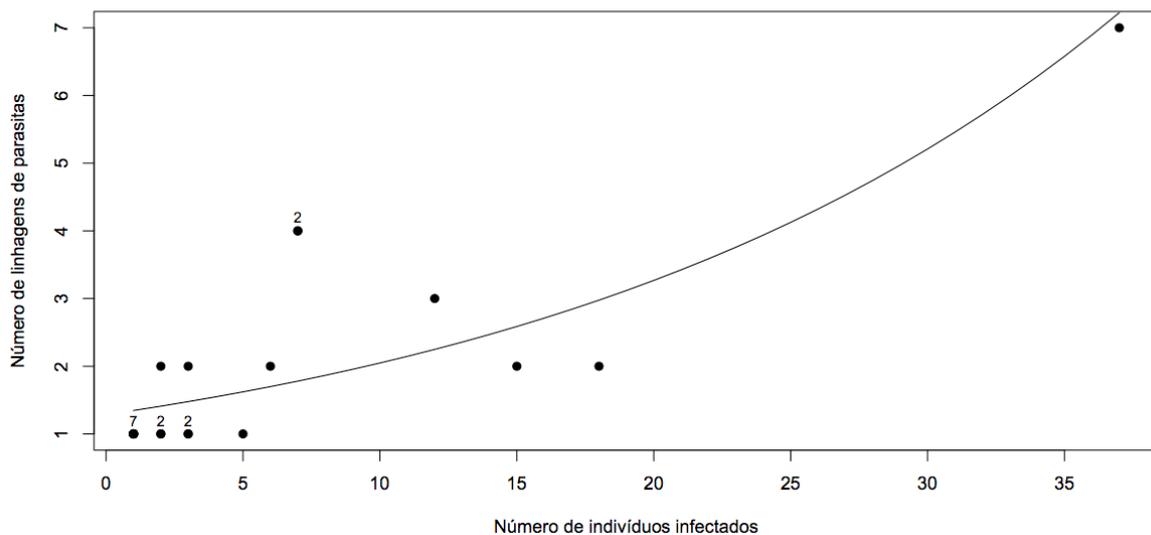


Figura 2. Número de linhagens de hemoparasitos em função do número de infecções registradas para cada espécie de hospedeiro na ESECAE. Números ao lado de cada círculo indicam o número de repetições ($F_{1,15} = 26,31$, $P < 0,01$).

Número de hospedeiros por linhagem de parasito

O número de espécies de hospedeiros em que uma linhagem foi registrada variou de um a sete dentro da comunidade de aves estudada (Figura 3, Tabela 7). O número de espécies de hospedeiros aumentou com o número de registros para cada linhagem de hemoparasito (Figura 3). Como esperado para algumas linhagens, o número de hospedeiros igualou ou alcançou o número de registros de infecção, sugerindo que esses hemoparasitos são amplamente distribuídos através de uma grande variedade de hospedeiros dentro de uma comunidade de aves (por exemplo, linhagem CEGHU1, CEEB e **CEAU7U8** na Tabela 7). Ainda, linhagens de hemoparasitos com maior plasticidade no uso de hospedeiros são mais abundantes (Figura 3, Tabela 7).

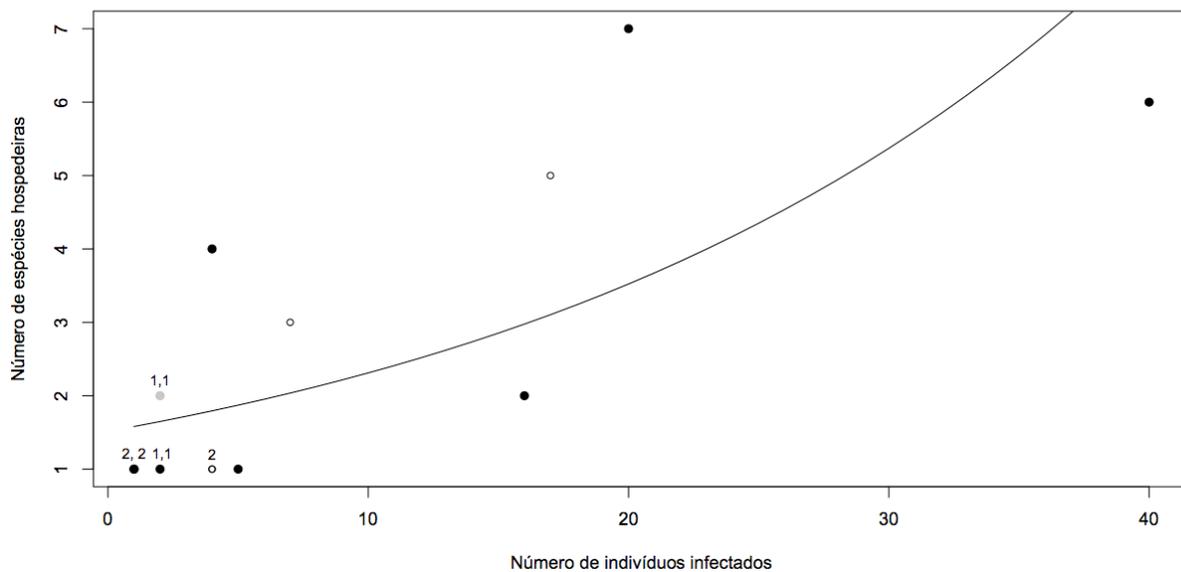


Figura 3. Número de espécies de hospedeiros em função do número de infecções registradas para cada linhagem de hemoparasito na comunidade de aves da ESECAE. Linhagens de *Plasmodium* são indicadas por círculos vazios, *Haemoproteus (Parahaemoproteus)* por círculos pretos e *Haemoproteus (Haemoproteus)* por círculo cinza. Números acima de cada círculo indicam o número de repetições ($F_{1,19} = 41,53$, $P < 0,01$).

Variação na prevalência de *Plasmodium* e *Haemoproteus (Parahaemoproteus)* com relação às características ecológicas das espécies de hospedeiros

Foram analisados 605 indivíduos de 14 espécies (mínimo de 14 indivíduos por espécie) representando as famílias Furnariidae, Tyrannidae, Mimidae, Thraupidae e Emberizidae, todas da ordem Passeriformes (Tabela 8).

Dois modelos foram ajustados separando cada gênero de hemoparasito, uma vez que, as espécies de *Haemoproteus (Parahaemoproteus)* e *Plasmodium* são transmitidas por vetores pertencentes a famílias distintas: Ceratopogonidae e Culicidae respectivamente (Valkiūnas 2005). Conseqüentemente, os vetores para esses parasitos devem apresentar diferenças

comportamentais quanto à procura e preferência pelos hospedeiros. Apenas uma infecção por *Haemoproteus* (*Haemoproteus*) foi detectada, portanto não foi feito um GLMM para esse subgênero de hemoparasito.

Para *Plasmodium*, nenhuma das variáveis relacionadas à exposição aos vetores (peso, sistema social, tipo de ninho, altura do ninho e *status* migratório) ou resistência ao parasito (tempo de incubação) teve associação com a prevalência desse gênero de hemoparasito entre as espécies de aves analisadas (Tabela 9).

Por outro lado, o modelo mostrou que, para *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), espécies sociais de aves são significativamente mais parasitadas que as espécies solitárias e espécies residentes são significativamente menos parasitadas por esse grupo de hemoparasito (Tabela 9).

DISCUSSÃO

Prevalência geral

A estabilidade temporal na prevalência de hemoparasitos na comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central contrasta com a bem estabelecida literatura mostrando que a sazonalidade na prevalência de hemoparasitos é um aspecto proeminente em aves da região temperada (Beaudoin *et al.* 1971, Weatherhead & Bennett 1991, Deviche *et al.* 2001, Bensch *et al.* 2007, Cosgrove *et al.* 2008). Poucos estudos foram realizados na região tropical com amostras coletadas no mesmo local e em diferentes períodos, sendo, dessa forma, impossível inferir sobre aspectos temporais na prevalência de hemoparasitos (Bennett *et al.* 1978, Waldenström *et al.* 2002, Fallon *et al.* 2004, Fecchio *et al.* 2007, este estudo). Entretanto, a maioria desses estudos mostrou não existir sazonalidade na prevalência de hemoparasitos (porém ver Bennett *et al.* 1978). Por exemplo, Fallon *et al.* (2004) mostraram que a prevalência e composição das linhagens de hemoparasitos permaneceram estáveis durante o período de um ano em uma comunidade de aves em Porto Rico, e que a comunidade de hemoparasitos permaneceu relativamente estável em um período de 10 anos, ocorrendo a extinção de apenas uma linhagem de hemoparasito nesse sistema. Devido à alta diversidade de linhagens e heterogeneidade na prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros na comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central, não foi possível determinar se as linhagens apresentaram diferenças temporais na prevalência durante os cinco anos de estudo. Aparentemente, a dinâmica temporal de hemoparasitos difere entre as regiões tropical e temperada e futuros estudos envolvendo amostragem de aves em diferentes períodos do ano poderão confirmar a inexistência de sazonalidade na prevalência de hemoparasitos na região tropical.

A prevalência de malária também não variou entre indivíduos jovens e adultos no presente estudo. As amostras foram coletadas do início ao final da estação reprodutiva, para a maioria das espécies, e incluiu um número baixo de indivíduos recém saídos do ninho. Apesar do reduzido número de jovens amostrados, os resultados do presente estudo são semelhantes aos estudos realizados em uma comunidade de aves em floresta temperada nos Estados Unidos e floresta tropical em Porto Rico (Ricklefs *et al.* 2005, Latta & Ricklefs 2010). Diversos estudos mostraram diferenças significativas na prevalência de malária aviária entre jovens e adultos (Weatherhead & Bennett 1991, Dale *et al.* 1996, Merilä & Andersson 1999, Sol *et al.* 2000, 2003). Por exemplo, foi observado que a intensidade de infecção de hemoparasitos reduziu drasticamente na transição de jovens para adultos da pomba *Columba livia* (Sol *et al.* 2003). Por outro lado, Weatherhead & Bennett (1991) mostraram que a prevalência de hemoparasitos aumentou com a idade nos machos de pássaro-preto-da-asa-vermelha (*Agelaius phoeniceus*). Em contraste, estudos baseados em PCR como método de diagnóstico, não encontraram diferenças nas taxas de parasitismo entre idades (Ricklefs *et al.* 2005, Latta & Ricklefs 2010, este estudo). Uma possível explicação para a semelhança nas taxas de parasitismo entre jovens a adultos na comunidade de aves estudada no Cerrado é que indivíduos altamente parasitados são eliminados da população, devido aos efeitos deletérios dos hemoparasitos, persistindo apenas os poucos indivíduos resistentes e que conseguem reduzir a intensidade de infecção a um nível não letal. Alternativamente, as diferenças na prevalência de hemoparasitos encontrada entre jovens e adultos nos demais estudos pode ser um artefato do método de diagnóstico, uma vez que, todos os estudos citados acima e que encontraram diferenças entre idade dos hospedeiros usaram a microscopia.

Organização e diversidade da taxocenose de *Plasmodium* e *Haemoproteus*

A taxocenose de hemoparasitos na comunidade de aves incluiu 17 linhagens, sendo composta, em grande parte, por linhagens do clado *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*). No geral, a taxocenose foi dominada por uma única linhagem (CEEB, Tabela 7) de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), que representou 31% dos registros de infecção. Se uma generalização pode ser feita sobre a taxocenose de hemoparasitos da comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central é que, por um extremo algumas linhagens são capazes de infectar uma ampla variedade de espécies de hospedeiros (por exemplo, linhagens **CEAU7U8**, CEEB e CEGHU1) como visto na Tabela 7, e por outro lado, algumas linhagens são altamente especializadas pelo hospedeiro (por exemplo, linhagens **CEF**, **CEPU4**, CEC e CEJ). Recentemente, Hellgren *et al.* (2009) mostraram que, tanto para *Plasmodium* como para *Haemoproteus*, espécies de parasitos com a habilidade de completar seu ciclo de vida e infectar uma ampla diversidade de espécies de hospedeiros (ampla compatibilidade) foram mais prevalentes nas populações de seus hospedeiros compatíveis. Em outras palavras, quanto mais generalista for o parasito mais prevalente ele será em uma dada população de hospedeiro. Portanto, a habilidade do parasito em infectar e completar seu desenvolvimento em diferentes espécies de hospedeiros (mesmo que isso comprometa sua especialização a uma única espécie de hospedeiro) pode aumentar o sucesso de transmissão do parasito, dessa forma, aumentando sua prevalência na comunidade de aves (Combes 1997). Como a comunidade de aves na ESECAE representa um conjunto de populações isoladas de hospedeiros, mais estudos envolvendo coletas em outras comunidades são necessários para esclarecer se a prevalência de uma determinada linhagem na taxocenose de hemoparasitos estudada no Cerrado do Brasil Central reflete condições ecológicas locais ou se é uma característica histórica da espécie de parasito.

O sistema parasito-hospedeiro-vetor da malária aviária é extremamente diversificado com relação às três partes envolvidas (Hellgren *et al.* 2009). Com estimativas de 10 mil espécies de hemoparasitos dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus* em todo mundo, o que representa aproximadamente, uma espécie de hemoparasito para cada espécie de hospedeiro (Bensch *et al.* 2004). Na taxocenose estudada no Cerrado do Brasil Central foram encontradas 17 linhagens de hemoparasitos em 54 espécies de aves. Como a comunidade de aves foi composta por espécies com baixa abundância (um a quatro indivíduos em 31 espécies) e o número de linhagens aumentou com o número de indivíduos infectados (Figura 2), seria esperado um aumento no número de novas linhagens com o aumento do número de registros de infecção e, conseqüentemente, se aproximaria das estimativas de uma linhagem de parasito para cada espécie de hospedeiro (Ricklefs & Fallon 2002, Bensch *et al.* 2004). No presente capítulo, haplótipos diferindo por três ou mais substituições nucleotídicas em 600 pares de base foram considerados evolutivamente independentes e, portanto, representam diferentes espécies. Essa quantidade de variação genética é, atualmente, aceita nos estudos envolvendo esses hemoparasitos para separar espécies (Bensch *et al.* 2004, Ricklefs *et al.* 2004, 2005, Hellgren *et al.* 2009, Latta & Ricklefs 2010).

Características reprodutivas e da história de vida determinam a prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros?

Espécies com reprodução social foram mais parasitadas por *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) na comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central. O parasitismo é um custo atribuído à socialidade, em sistemas onde a transmissão dos parasitos ocorre por contato (Alexander 1974, Poulin 1991). Por exemplo, Poulin (1991) mostrou que a prevalência de ácaros de pena (Acarina: Proctophyllodidae, parasitos transmitidos por contato direto entre os hospedeiros) foi, significativamente, maior em espécies sociais do que em

espécies solitárias, enquanto nenhuma diferença foi encontrada na abundância de moscas ectoparasitas (Diptera: Hippoboscidae, parasitos móveis) entre as 45 espécies sociais e solitárias de Passeriformes amostradas nesse estudo. Uma meta-análise feita por Côté & Poulin (1995), usando diferentes *taxa* de hospedeiros vertebrados e parasitos com diferentes modos de transmissão, mostrou que o parasitismo aumentou com o grau de socialidade dos hospedeiros em parasitos transmitidos por contato direto. Por outro lado, houve uma diminuição significativa na intensidade de infecção para parasitos móveis (aqueles que não necessitam da proximidade entre hospedeiros para serem transmitidos) com o aumento do tamanho do grupo dos hospedeiros. Entretanto, esses estudos não incluíram, nas análises, parasitos transmitidos por vetores.

Se hemoparasitos necessitam de um vetor para serem transmitidos, seria esperado um aumento ou diminuição na prevalência desses hemoparasitos com o aumento da socialidade dos hospedeiros? Segundo Mooring & Hart (1992) viver em grupo diminui a probabilidade de ataque por artrópodos hematófagos, através do efeito de diluição de encontro do hospedeiro, portanto seria esperada menor prevalência de hemoparasitos em espécies com reprodução social. Alternativamente, seria esperado um aumento nas taxas de encontro do hospedeiro por parasitos que localizam seus hospedeiros através de estímulos olfatórios, como por exemplo, a emissão de CO₂ e odores que é potencializada com a proximidade dos hospedeiros, ou seja, o aumento do tamanho do grupo. Esta última hipótese poderia ser aplicada a hemoparasitos, que são transmitidos entre os hospedeiros através de vetores que usam estímulos olfatórios na procura pelo hospedeiro tanto em aves (Yezerinac & Weatherhead 1995) quanto em mamíferos (Davies *et al.* 1991). Dando suporte a essa hipótese Tella (2002) mostrou que a transição evolutiva da reprodução solitária para reprodução colonial impôs um grande risco de infecção por hemoparasitos em espécies de aves com reprodução colonial. Resultado semelhante foi reportado previamente por Bennett *et al.* (1978), que encontraram maior

prevalência de hemoparasitos em espécies coloniais em uma comunidade de aves no Senegal. Ainda, Brown & Sethi (2002) mostraram que a abundância de mosquitos *Culex* e *Aedes* (Diptera: Culicidae) aumentou significativamente com o tamanho da colônia de andorinhas-do-dorso-acanelado (*Petrochelidon pyrrhonota*). Em primatas neotropicais, Davis *et al.* (1991) mostraram que a prevalência de malária aumentou com o tamanho do grupo e Nunn & Heymann (2005) mostraram a mesma relação, mas controlando para possíveis efeitos filogenéticos nas análises. Dessa forma, um aumento na prevalência de hemoparasitos (parasitos transmitidos por vetores) também pode ser atribuído como custo à socialidade em vertebrados.

Espécies migratórias foram mais parasitadas por *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), que espécies residentes, embora a diferença tenha sido marginalmente significativa. A migração impõe um considerável custo para os indivíduos, sendo associada a um aumento no parasitismo, uma vez que, aves migratórias são expostas a duas ou mais faunas de parasitos e insetos vetores durante seu ciclo anual (Møller & Erritzøe 1998, Waldenström *et al.* 2002, Alerstam *et al.* 2003). Portanto, seria esperada maior prevalência de hemoparasitos nas espécies migratórias de aves na comunidade estudada. Entretanto, não houve diferença na prevalência de *Plasmodium* entre espécies migratórias e residentes no Cerrado do Brasil Central. Uma possível explicação para isto é que as linhagens de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) podem ser menos virulentas que as linhagens de *Plasmodium* adquiridas na área de invernada, permitindo que seus hospedeiros cheguem à área de reprodução. Por outro lado, parte dos hospedeiros infectados por linhagens de *Plasmodium* pode morrer durante a migração, diminuindo a prevalência desse parasito na comunidade de aves durante o período reprodutivo. No presente estudo não foi possível determinar a dinâmica de transmissão dos hemoparasitos, por exemplo, se as espécies migratórias infectam as espécies residentes com linhagens provenientes da área de invernada ou se as espécies migratórias

(incluindo filhotes) deixam o Cerrado com linhagens adquiridas na área de reprodução. Apenas um estudo mostrou que migrantes de longa distância provenientes da Europa (invernada na África e reprodução na Europa) foram infectados por linhagens de hemoparasitos de espécies residentes de aves da África durante a invernada (Waldenström *et al.* 2002). Se a migração e a reprodução promovem um aumento nas taxas de parasitismo, uma possível explicação para essa estratégia reprodutiva entre as espécies estudadas na comunidade de aves do Cerrado, seria um escape da maior pressão de parasitos na suas áreas de invernada. Por exemplo, *Elaenia chiriquensis* migra da Amazônia para reproduzir no Cerrado (Marini & Cavalcanti 1990), e se a riqueza de espécies de patógenos e parasitos diminuem com o aumento da latitude (Guernier *et al.* 2004), elas sofreriam menos pressão de parasitos durante o período reprodutivo em áreas de maior latitude, ou seja, no Cerrado.

Não houve relação entre altura de nidificação e prevalência de hemoparasitos na comunidade de aves estudada. Segundo Bennett & Fallis (1960) a prevalência de hemoparasitos deveria ser positivamente relacionada à altura de nidificação das espécies de aves na comunidade, uma vez, que os vetores desses parasitos são mais abundantes no dossel da floresta. Apenas três estudos testaram a hipótese de Bennet & Fallis (1960), dos quais dois deram suporte a essa hipótese, sendo um deles em comunidade de aves nos Estados Unidos (Garvin & Remsen 1997) e o outro no Brasil (Capítulo 1). Ricklefs *et al.* (2005) não encontraram relação entre prevalência de hemoparasitos e altura de nidificação em uma comunidade de aves no Missouri, EUA. Curiosamente, os estudos que não suportam a hipótese foram feitos usando métodos moleculares para diagnóstico (Ricklefs *et al.* 2005, este estudo). Os vetores para esses hemoparasitos apresentam estratificação vertical na floresta (Bennett & Coombs 1975, Henry & Adkins 1975, Veras & Castellón 1998, Mellor *et al.* 2000). Possivelmente, a maior abundância e diversidade de vetores no dossel das florestas (Veras & Castellón 1998) também promovam uma maior diversidade de hemoparasitos nesse

estrato da vegetação. Consequentemente devem existir espécies de hemoparasitos que se tornam mais abundantes no sangue periférico nas espécies de hospedeiros que nidificam nesse estrato da floresta, sendo, dessa forma, mais facilmente detectável em esfregaços sanguíneos, aumentando a prevalência nessas espécies. Portanto, a associação entre altura de nidificação e prevalência de hemoparasitos encontrada nos estudos usando microscopia pode ser um artefato do método de diagnóstico, assumindo que o método molecular é mais eficiente na detecção dos hemoparasitos.

Não houve associação entre peso das espécies de hospedeiros e prevalência de hemoparasitos. Davies *et al.* (1991) mostraram que a prevalência de *Plasmodium* aumentou com aumento do peso em espécies de primatas na Amazônia. Dessa forma, peso do corpo poderia explicar a variação na prevalência de hemoparasitismo porque aves grandes produzem maior quantidade de dióxido de carbono e odores, os principais compostos voláteis usados por insetos hematófagos para localização dos hospedeiros (Sutcliffe 1986, Takken *et al.* 1997, Gibson & Torr 1999, Mboera & Takken 1999, Lehane 2005). Em uma compilação de dados, peso do corpo explicou 20% da variação na prevalência de hemoparasitos em Passeriformes na Europa, mas a relação foi predominantemente definida pelas prevalências de *Leucocytozoon* e *Trypanosoma*, hemoparasitos transmitidos por Simuliidae, e foi inexistente para *Haemoproteus* e *Plasmodium*, parasitos transmitidos por Ceratopogonidae e Culicidae, respectivamente (Scheuerlein & Ricklefs 2004). Entretanto, não foi encontrada relação entre prevalência de hemoparasitos e peso quando os hospedeiros foram capturados na mesma comunidade (Ricklefs *et al.* 2005, Capítulo1, este estudo). Portanto, peso das espécies de hospedeiros não parece ser um bom preditor de variação interespecífica na prevalência de *Plasmodium* e *Haemoproteus* em aves.

Ninhos fechados ou em cavidade poderiam conferir certa proteção contra o ataque de insetos hematófagos e, portanto, espécies que constroem esse tipo de ninho seriam menos

parasitadas (Read 1991, Fecchio *et al.* 2011). Essa premissa ganha suporte, com os estudos que mostraram existir relação entre local do dormitório e infecção por malária em primatas na Amazônia: espécies que dormem em locais fechados como ocos de árvores ou emaranhados de epífitas são menos parasitadas do que espécies que dormem em locais abertos (Heymann 2001, Nunn & Heymann 2005). Os autores concluíram que dormir em locais fechados pode conter os compostos voláteis emitidos pelos indivíduos e que são usados por insetos hematófagos orientados por olfato para localizar seus hospedeiros (Heymann 2001, Nunn & Heymann 2005). Alternativamente, se os vetores para hemoparasitos são atraídos por odores e CO₂ emitidos por seus hospedeiros (Allan *et al.* 2006, Syed & Leal 2009), poderia existir um acúmulo desses compostos voláteis nos ninhos fechados, aumentando a probabilidade dos insetos encontrarem a fonte de odor, dessa forma, aumentando a prevalência de hemoparasitos em espécies que constroem ninhos em cavidades ou ninhos fechados (Fecchio *et al.* 2011). Entretanto, não houve diferença nas taxas de infecção por hemoparasitos em relação ao tipo de ninho na comunidade de aves estudada. Portanto, mais estudos são necessários para esclarecer se o tipo de ninho influencia as taxas de hemoparasitismo em aves.

Os dados do presente estudo não suportam a hipótese de que longo período de incubação em aves promove um aumento da função imune, reduzindo dessa forma, a prevalência de hemoparasitos (Ricklefs 1992, 1993). Resultado semelhante ao do presente estudo, foi encontrado em 12 espécies coexistentes de Passeriformes no Arizona, EUA (Palacios & Martin 2006). Esses autores mostraram que ninhegos de espécies com grande pressão de hemoparasitos na comunidade de aves apresentaram maior resposta imune celular, mas esse aumento não foi acompanhado de um maior período de desenvolvimento embrionário, não existindo relação entre prevalência de hemoparasitos e tempo de incubação. Resultados consistentes com a hipótese de Ricklefs (1992) foram mostrados por Arriero & Møller (2008), usando compilação de dados de espécies paleárticas, e por Tella *et al.* (1999),

utilizando aves de rapina amostradas em diferentes locais na Espanha. Portanto, estudos de espécies coexistentes na mesma comunidade são necessários para se encontrar um padrão relacionado à imunocompetência em aves, uma vez que, a prevalência de hemoparasitos e tempo de incubação variam com latitude (Greiner *et al.* 1975, Martin 2002, Merino *et al.* 2008) e dados compilados da literatura podem não refletir as condições locais de cada hospedeiro.

CONCLUSÃO

A taxocenose estudada no presente capítulo confirma dois padrões que estão surgindo em comunidades de aves-hemoparasitos usando marcadores moleculares: 1) elevada diversidade de linhagens, onde o número de espécies de hemoparasitos pode igualar o número de espécies de hospedeiros em uma determinada comunidade e 2) linhagens de hemoparasitos extremamente generalistas, contrariando a bem estabelecida premissa (através da morfologia como critério de suporte) que os parasitos da malária aviária são especializados quanto ao uso de seus hospedeiros.

Duas características da história de vida em aves (migração e reprodução social) associadas à exposição diferencial aos insetos vetores para hemoparasitos explicaram a variação na prevalência de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) na comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central. Embora as outras três características não tenham explicado a variação na prevalência, mais estudos são necessários para concluir até que ponto tais características, de fato, podem ser consideradas boas previsoras da variação na prevalência de hemoparasitos em comunidades de aves. Adicionalmente, em estudos de campo com amostras coletadas no mesmo local e analisadas pelo mesmo pesquisador, seria mais provável detectar os padrões existentes no sistema que estudos com dados compilados da literatura devido às diferenças espaciais e temporais na prevalência de hemoparasitos e uso de diferentes protocolos para detecção dos parasitos (Palácios & Martin 2006). Finalmente, se características ecológicas e evolutivas das diferentes espécies de aves determinam os padrões de distribuição dos hemoparasitos entre seus hospedeiros, todas essas variáveis deveriam ser incluídas em análises multivariadas ao invés de testá-las uma a uma em análises univariadas, uma vez que, análises univariadas podem mascarar as interações existentes entre as variáveis fornecendo resultados incorretos (Tella *et al.* 1999).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alerstam, T., Hedenström, A., & Akesson, S. 2003. Long-distance migration: evolution and determinants. **Oikos**. 103: 247-260.
- Alexander, R. D. 1974. The evolution of social behavior. **Annual Review of Ecology and Systematics**. 5: 325-383.
- Allan, S. A, Bernier, U. R., & Kline, D. L. 2006. Laboratory evaluation of avian odors for mosquito (Diptera: Culicidae) attraction. **Journal of Medical Entomology**. 43: 225-231.
- Arriero, E., & Møller, A. P. 2008. Host ecology and life-history traits associated with blood parasite species richness in birds. **Journal of Evolutionary Biology**. 21: 1504-1513.
- Beadell, J. S., Covas, R., Gebhard, C., Ishtiaq, F., Melo, M., Schmidt, B. K., Perkins, S. L., Graves, G. R., & Fleischer, R. C. 2009. Host associations and evolutionary relationships of avian blood parasites from West Africa. **International Journal for Parasitology**. 39: 257-266.
- Beaudoin, R. L., Applegate, J. E., Davis, D. E., & Mclean, R. G. 1971. A model for the ecology of avian malaria. **Journal of Wildlife Diseases**. 7: 5-13.
- Begon, M., Bowers, R. G., Kadianakis, N., & Hodgkinson, D. E. 1992. Disease and community structure: the importance of host self-regulation in a host-host-pathogen model. **The American Naturalist**. 139: 1131-1150
- Bennett, G. F., & Coombs, R. F. 1975. Ornithophilic vectors of avian hematozoa in insular Newfoundland. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1241-1246.
- Bennett, G. F., & Fallis, A. M. 1960. Blood parasites of birds in Algonquin Park, Canada, and a discussion of their transmission. **Canadian Journal of Zoology**. 38: 261-273.
- Bennett, G. F., Blancou, J., White, E. M., & Williams, N. A. 1978. Blood parasites of some birds from Senegal. **Journal of Wildlife Diseases**. 14: 67-73.

- Bensch, S. M., Perez-Tris, J., Waldenström, J., & Hellgren, O. 2004. Linkage between nuclear and mitochondrial DNA sequences in avian malaria parasites: multiple cases of cryptic speciation? **Evolution**. 58: 1617-1621.
- Bensch, S., Hellgren, O., & Pérez-Tris, J. 2009. MalAvi: A public database of malaria parasites and related haemosporidians in avian hosts based on mitochondrial cytochrome b lineages. **Molecular Ecology Resources**. 9: 1353-1358.
- Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D., Östman, Ö., Hansson, B., Wester Dahl, H., & Pinheiro, R. T. 2000. Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. **Proceedings of the Royal Society of London**. 267: 1583-1589.
- Bensch, S., Waldenstrom, J., Jonzén, N., Wester Dahl, H., Hansson, B., Sejberg, D., & Hasselquist, D. 2007. Temporal dynamics and diversity of avian malaria parasites in a single host species. **Journal of Animal Ecology**. 76: 112-122.
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., & White, J. S. S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. **Trends in Ecology and Evolution**. 24: 127-135.
- Brown, C. R., & Sethi, R. A. 2002. Mosquito abundance is correlated with cliff swallow (*Petrochelidon pyrrhonota*) colony size. **Journal of Medical Entomology**. 39: 115-120.
- Clayton, D. H., Bush, S. E., Goates, B. M., & Johnson, K. P. 2003. Host defense reinforces host-parasite cospeciation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 100: 15694-15699.
- Combes, C. 1997. Fitness of parasites: pathology and selection. **International Journal for Parasitology**. 27: 1-10.

- Cosgrove C. L., Wood, M. J., Day, K. D., & Sheldon, B. C. 2008. Seasonal variation in *Plasmodium* prevalence in a population of blue tits *Cyanistes caeruleus*. **Journal of Animal Ecology**. 77: 540-548.
- Côté I. M., & Poulin, R. 1995. Parasitism and group size in social animals: a meta-analysis. **Behavioral Ecology**. 6: 159-165.
- Dale, S., Kruszewicz, A., & Slagsvold, T. 1996. Effects of blood parasites on sexual and natural selection in the pied flycatcher. **Journal of Zoology**. 238: 373-393.
- Davies, C. R., Ayres, J. M., Dye, C., & Deane, L. M. 1991. Malaria infection rate of Amazonian primates increases with body weight and group size. **Functional Ecology**. 5: 655-662.
- Deviche, P., Greiner, E. C. & Manteca, X. 2001. Seasonal and age-related changes in blood parasite prevalence in Dark-eyed Juncos (*Junco hyemalis*, Aves, Passeriformes). **Journal of Experimental Zoology**. 289: 456-466.
- Ebert, D., & Hamilton, W. D. 1996. Sex against virulence: the coevolution of parasitic diseases. **Trends in Ecology and Evolution**. 11: 79-82.
- Escalante, A. A., Freeland, D. E., Collins, W. E., & Lal, A. A. 1998. The evolution of primate malaria parasites based on the gene encoding cytochrome *b* from the linear mitochondrial genome. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. 95: 8124-8129.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., & Ricklefs, R. E. 2003. Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. **Evolution**. 57: 606-615.
- Fallon, S. M., Bermingham, E., & Ricklefs, R. E. 2005. Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. **The American Naturalist**. 165: 466-480.

- Fallon, S. M., Ricklefs, R. E., Latta, S., & Bermingham, E. 2004. Temporal stability of insular avian malarial parasite communities. **Proceedings of the Royal Society of London**. 271: 493-500.
- Fallon, S. M., Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., & Bermingham, E. 2003. Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. **Journal of Parasitology**. 85: 1044-1047.
- Fecchio, A., Lima, M. R., Silveira, P., Braga, É. M., & Marini, M. A. 2011. High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil, **Emu**, 2011 (no prelo)
- Fecchio, A., Marini, M. Â., & Braga, É. M. 2007. Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**. 2: 127-135.
- Garvin, M. C., & Remsen, Jr. J. V 1997. An alternative hypothesis for heavier parasite loads of brightly colored birds: exposure at the nest. **The Auk**. 114: 179-191.
- Gibson, G., & Torr, S. J. 1999. Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. **Medical and Veterinary Entomology**. 13: 2-23.
- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. M., & Coombs, R. F. 1975. Distribution of the avian hematozoa of North America. **Canadian Journal of Zoology**. 53: 1762-1787.
- Guernier, V., Hochberg, M., & Guégan, J. 2004. Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. **PLOS Biology**. 2: 0740-0746.
- Hall, T. 2005. BioEdit v7.0.5. Carlsbad, CA: Ibis Therapeutics
- Hamilton, W. D., & Zuk, M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? **Science**. 218: 384-387.
- Hatcher, M. J., Dick, J. T. A., & Dunn, A. M. 2006. How parasites affect interactions between competitors and predators. **Ecology Letters**. 9: 1253-1271.

- Hellgren, O., Pérez-Tris, J., & Bensch, S. 2009. A jack-of-all-trades and still a master of some: prevalence and host range in avian malaria and related blood parasites. **Ecology**. 90: 2840-2849.
- Henry, L. G., & Adkins, T. R. J. 1975. Vertical distribution of biting midges in coastal South Carolina. **Annals of the Entomological Society of America**. 68: 321-324.
- Hess, P. N., & De Moraes Russo, C. A. 2007. An empirical test of the midpoint rooting method. **Biological Journal of the Linnean Society**. 92: 669-674.
- Heymann, E. W. 2001. Malaria infection rate of Amazonian primates: the role of sleeping habits. **Folia Primatologica**. 72: 153.
- Hudson, P. J., Dobson, A. P., & Lafferty, K. D. 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? **Trends in Ecology and Evolution**. 21: 381-385.
- Hudson, P., & Greenman, J. 1998. Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. **Trends in Ecology and Evolution**. 13: 387-390.
- Johnson, K. P., & Clayton, D. H. 2003. Coevolutionary history of ecological replicates: comparing phylogenies of wing and body lice to Columbiform hosts. In: Page, R. (Ed.). **Tangled trees: Phylogeny, Cospeciation, and Coevolution**. The University of Chicago Press, pgs. 262-286.
- Jovani, R., & Tella, J. L. 2006. Parasite prevalence and sample size: misconceptions and solutions. **Trends in Parasitology**. 22: 214-218.
- Krasnov, B. R. 2008. **Functional and Evolutionary Ecology of Fleas: A model for Ecological Parasitology**. Cambridge University Press, 592 pgs.
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan, P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., & Higgins, D. G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. **Bioinformatics**. 23: 2947-2948.

- Latta, S. C., & Ricklefs, R. E. 2010. Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. **Journal of Avian Biology**. 41: 25-33.
- Lehane, M. 2005. The **Biology of Blood-Sucking in Insects**. Cambridge University Press, 336 pgs.
- Marini, M. Â., & Cavalcanti, R. B. 1990. Migrações de *Elaenia albiceps chilensis* e *Elaenia chiriquensis albivertex* (Aves: Tyrannidae). **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi, Série Zoologia**. 6: 59-66.
- Martin, T. E. 2002. A new view of avian life-history evolution tested on an incubation paradox. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 269: 309-316
- Mboera, L. E. G. & Takken, W. 1999. Odour-mediated host preference of *Culex quinquefasciatus* in Tanzania. **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 92: 83-88.
- Mellor, P. S., Boorman, J., & Baylis, M. 2000. *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. **Annual Review of Entomology**. 45: 307-340.
- Merilä, J., & Andersson, M. 1999. Reproductive effort and success are related to haematozoan infections in blue tits. **Ecoscience**. 6: 421-428.
- Merino, S., Moreno, J., Vasquez, R. A., Martinez, J., Sánchez-Monsálvez, I., Estades, C. F., Ippi, S., Sabat, P., Rozzi, R., & Mcgehee, E. 2008. Haematozoa in forest birds from southern Chile: Latitudinal gradients in prevalence and parasite lineage richness. **Austral Ecology**. 33: 329-340.
- Møller, A. P., & Erritzoe, J. 1998. Host immune defence and migration in birds. **Evolutionary Ecology**. 12: 945-953.
- Møller, A. P., & Erritzoe, J. 2002. Coevolution of host immune defence and parasite-induced mortality: relative spleen size and mortality in altricial birds. **Oikos**. 99: 95-100.
- Mooring M. S., & Hart, B. L. 1992. Animal grouping for protection from parasites: Selfish herd and encounter-dilution effects. **Behaviour**. 123: 173-193.

- Moran, N., & Baumann, P. 1994. Phylogenetics of cytoplasmically inherited microorganisms of arthropods. **Trends in Ecology and Evolution**. 9: 15-20.
- Nunn, C. L., & Heymann, E. W. 2005. Malaria infection and host behavior: a comparative study of Neotropical primates. **Behavioral Ecology and Sociobiology**. 50: 30-37.
- Nylander, J. A. A. 2004. MrModeltest v2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre. Uppsala.
- Outlaw, D. C., & Ricklefs, R. E. 2009. On the phylogenetic relationships of haemosporidian parasites from raptorial birds (Falconiformes and Strigiformes). **Journal of Parasitology**. 95: 1171-1176.
- Outlaw, D. C., & Ricklefs, R. E. 2010. Comparative Gene Evolution in Haemosporidian (Apicomplexa) Parasites of Birds and Mammals. **Molecular Biology and Evolution**. 27: 537-542.
- Palacios, M. G., & Martin, T. E. 2006. Incubation period and immune function: a comparative field study among coexisting birds. **Oecologia**. 146: 505-512.
- Paterson, S., & Lello, J. 2003. Mixed models: getting the best use of parasitological data. **Trends in Parasitology**. 19: 370-375.
- Pérez-Tris, J., Hasselquist, D., Hellgren, O., Krizanauskiene, A., Waldenström, J., & Bensch, S. 2005. What are malaria parasites? **Trends in Parasitology**. 21: 209-211.
- Perkins, S. L. 2000. Species concepts and malaria parasites: detecting a cryptic species of *Plasmodium*. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 267: 2345-2351.
- Posada, D., & Crandall, K. A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**. 14 : 817-818.
- Poulin, R. 1991. Group-living and infestation by ectoparasites in passerines. **The Condor**. 93: 418-423.
- Poulin, R. 2007. **Evolutionary Ecology of Parasites**. Princeton University Press, 332 pgs.

- R Development Core Team. 2008. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>
- Read, A. F. 1991. Passerine polygyny: a role for parasites? **The American Naturalist**. 138: 434-459.
- Ricklefs, R. E. 1992. Embryonic development period and the prevalence of avian blood parasites. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 89: 4722-4725.
- Ricklefs, R. E. 1993. Sibling competition, hatching asynchrony, incubation period, and lifespan in altricial birds. In: Power, D. M. (Ed.). **Current Ornithology**. Vol 11. Plenum Press, pgs. 196-276.
- Ricklefs, R. E., & Fallon, S. M. 2002. Diversification and host switching in avian malaria parasites. **Proceedings of the Royal Society of London**. 269: 885-892.
- Ricklefs, R. E., Fallon, S. M., & Bermingham, E. 2004. Evolutionary relationships, cospeciation and host switching in avian malaria parasites. **Systematic Biology**. 53: 111-119.
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martínez-Abraín, A., Scheuerlein, A., Gray, J., & Latta, S. C. 2005. Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. **Ecological Monographs**. 75: 543-559.
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**. 19: 1572-1574.
- Sambrook J., & Russel, D. 2001. Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2344 pgs.
- Scheuerlein, A., & Ricklefs, R. E. 2004. Prevalence of blood parasites in European passerine birds. **Proceedings of the Royal Society of London B**. 271: 1363-1370.
- Sodhi, N. S., Koh, L. P., Peh, K. S. H., Tan, H. T. W., Chazdon, R. L., Corlett, R. T., Lee, t. M., Colwell, R. K., Brook, B. W., Sekercioglu, C. H., & Bradshaw, C. J. A. 2008.

- Correlates of extinction proneness in tropical angiosperms. **Diversity and Distributions**. 14: 1-10.
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. 1995. **Biometry**. W. H. Freeman, 887 pgs.
- Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. 2000. Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. **Ecography**. 23: 307-314.
- Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. 2003. Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. **Oecologia**. 135: 542-547.
- Stamatakis, A., Hoover, P., & Rougemont, J. 2008. A rapid bootstrap algorithm for the RAxML web servers. **Systematic Biology**. 57: 758-771.
- Sutcliffe, J. F. 1986. Black fly host location: a review. **Canadian Journal of Zoology**. 64: 1041-1053.
- Syed, Z., & Leal, W. S. 2009. Acute olfactory response of *Culex* mosquitoes to a human- and bird-derived attractant. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 106: 18803-18808.
- Takken, W., Dekker, T., & Wijnholds, Y. G. 1997. Odor-mediated flight behavior of *Anopheles gambiae* giles *Sensu Stricto* and *An. stephensi* liston in response to CO₂, Acetone, and 1-Octen-3-ol (Diptera: Culicidae). **Journal of Insect Behavior**. 10: 395-407.
- Tella, J. L. 2002. The evolutionary transition to coloniality promotes higher blood parasitism in birds. **Journal of Evolutionary Biology**. 15: 32-41.
- Tella, J. L., Blanco, G., Forero, M. G., Gajón, Á., Donazar, J. A., & Hiraldo, F. 1999. Habitat, world geographic range, and embryonic development of hosts explain the prevalence of avian hematozoa at small spatial and phylogenetic scales. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 96: 1785-1789.

- Veras, R. S., & Castellón, E. G. 1998. *Culicoides* Latreille (Diptera, Ceratopogonidae) in Brazilian Amazon. V. Efficiency of traps and baits and vertical stratification in the Forest Reserve Adolpho Ducke. **Revista Brasileira de Zoologia**. 15: 145-152.
- Waldenström, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D., & Ottosson, U. 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. **Molecular Ecology**. 11: 1545-1554.
- Weatherhead, P. J., & Bennett, G. F. 1991. Ecology of Red-winged Blackbird parasitism by haematozoa. **Canadian Journal of Zoology**. 69: 2352-2359.
- Wood, C. L., Byers, J. E., Cottingham, K. L., Altman, I., Donahue, M. J., & Blakeslee, A. M. H. 2007. Parasites alter community structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**. 104: 9335-9339
- Yezerinac, S. M., & Weatherhead, P. J. 1995. Plumage coloration, differential attraction of vectors and haematozoa infections in birds. **Journal of Animal Ecology**. 64: 528-537.

Tabela 1. Prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) na comunidade de aves do Cerrado do Brasil Central entre 2005 e 2009. As espécies e famílias de aves estão organizadas filogeneticamente

Família	Espécie	Abreviação	Indivíduos Analisados	Infectados	Prevalência
Columbidae	<i>Columbina talpacoti</i>	COLTAL	1	1	1,000
Psittacidae	<i>Aratinga aurea</i>	ARAAUR	2	2	1,000
Caprimulgidae	<i>Caprimulgus parvulus</i>	CAPPAR	2	0	0,000
Caprimulgidae	<i>Hydropsalis torquata</i>	HYDTOR	4	0	0,000
Trochilidae	<i>Eupetomena macroura</i>	EUPMAC	2	0	0,000
Trochilidae	<i>Colibri serrirostris</i>	COLSER	3	0	0,000
Trochilidae	<i>Chlorostilbon aureoventris</i>	CHLAUR	2	0	0,000
Trochilidae	<i>Heliactin bilophus</i>	HELBIL	1	0	0,000
Galbulidae	<i>Galbula ruficauda</i>	GALRUF	2	0	0,000
Bucconidae	<i>Nystalus chacuru</i>	NYSCHA	18	16	0,889
Bucconidae	<i>Nystalus maculatus</i>	NYSMAC	3	3	1,000
Picidae	<i>Veniliornis mixtus</i>	VENMIX	15	0	0,000
Picidae	<i>Colaptes campestris</i>	COLCAM	3	0	0,000
Melanopareiidae	<i>Melanopareia torquata</i>	MELTOR	4	0	0,000
Thamnophilidae	<i>Thamnophilus torquatus</i>	THATOR	3	0	0,000
Dendrocolaptidae	<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	LEPANG	34	0	0,000
Furnariidae	<i>Synallaxis albescens</i>	SYNALB	14	0	0,000
Furnariidae	<i>Phacellodomus rufifrons</i>	PHARUF	62	0	0,000
Tyrannidae	<i>Myiopagis viridicata</i>	MYIVIR	2	0	0,000
Tyrannidae	<i>Elaenia cristata</i>	ELACRI	91	5	0,055
Tyrannidae	<i>Elaenia chiriquensis</i>	ELACHI	137	12	0,088
Tyrannidae	<i>Elaenia obscura</i>	ELA OBS	1	1	1,000
Tyrannidae	<i>Camptostoma obsoletum</i>	CAMOBS	15	0	0,000

continua na próxima página

Família	Espécie	Abreviação	Indivíduos Analisados	Infectados	Prevalência
Tyrannidae	<i>Suiriri suiriri</i>	SUISUI	31	18	0,581
Tyrannidae	<i>Suiriri islerorum</i>	SUIISL	16	2	0,125
Tyrannidae	<i>Phaeomyias murina</i>	PHAMUR	12	1	0,083
Tyrannidae	<i>Euscarthmus rufomarginatus</i>	EUSRUF	1	0	0,000
Tyrannidae	<i>Sublegatus modestus</i>	SUBMOD	1	0	0,000
Tyrannidae	<i>Culicivora caudacuta</i>	CULCAU	2	0	0,000
Tyrannidae	<i>Myiophobus fasciatus</i>	MYIFAS	2	0	0,000
Tyrannidae	<i>Myiodynastes maculatus</i>	MYIMAC	2	0	0,000
Tyrannidae	<i>Tyrannus savana</i>	TYRSAV	3	1	0,333
Tyrannidae	<i>Myiarchus swainsoni</i>	MYISWA	40	6	0,150
Tyrannidae	<i>Myiarchus tyrannulus</i>	MYITYR	1	0	0,000
Tityridae	<i>Pachyramphus polychopterus</i>	PACPOL	1	1	1,000
Vireonidae	<i>Cyclarhis gujanensis</i>	CYCGUJ	8	0	0,000
Troglodytidae	<i>Troglodytes musculus</i>	TROMUS	5	1	0,200
Turdidae	<i>Turdus rufiventris</i>	TURRUF	1	0	0,000
Turdidae	<i>Turdus leucomelas</i>	TURLEU	4	2	0,500
Turdidae	<i>Turdus amaurochalinus</i>	TURAMA	7	1	0,143
Turdidae	<i>Turdus subalaris</i>	TURSUB	1	0	0,000
Mimidae	<i>Mimus saturninus</i>	MIMSAT	15	6	0,400
Thraupidae	<i>Saltator atricollis</i>	SALATR	5	4	0,800
Thraupidae	<i>Neothraupis fasciata</i>	NEOFAS	78	47	0,603
Thraupidae	<i>Cypsnagra hirundinacea</i>	CYPHIR	22	17	0,773
Thraupidae	<i>Tangara cayana</i>	TANCAY	1	1	1,000
Thraupidae	<i>Hemithraupis guira</i>	HEMGUI	3	1	0,333

continua na próxima página

Família	Espécie	Abreviação	Indivíduos Analisados	Infectados	Prevalência
Emberizidae	<i>Ammodramus humeralis</i>	AMMHUR	42	5	0,119
Emberizidae	<i>Sicalis citrina</i>	SICCIT	1	0	0,000
Emberizidae	<i>Emberizoides herbicola</i>	EMBHER	14	0	0,000
Emberizidae	<i>Volatinia jacarina</i>	VOLJAC	28	10	0,357
Emberizidae	<i>Sporophila plumbea</i>	SPOPLU	18	0	0,000
Emberizidae	<i>Charitospiza eucosma</i>	CHAEUC	2	2	1,000
Emberizidae	<i>Coryphospingus cucullatus</i>	CORCUC	2	0	0,000
			790	166	0,210

Tabela 2. Prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) entre as 19 famílias de aves capturadas entre 2005 e 2009 no Cerrado do Brasil Central

Família	Analisados	Parasitados	Prevalência
Tityridae	1	1	1,000
Columbidae	1	1	1,000
Psittacidae	2	2	1,000
Bucconidae	21	19	0,905
Thraupidae	109	70	0,642
Mimidae	15	6	0,400
Turdidae	13	3	0,231
Troglodytidae	5	1	0,200
Emberizidae	107	17	0,159
Tyrannidae	357	46	0,129
Caprimulgidae	6	0	0,000
Dendrocolaptidae	34	0	0,000
Furnariidae	76	0	0,000
Galbulidae	2	0	0,000
Melanopareiidae	4	0	0,000
Picidae	18	0	0,000
Thamnophilidae	3	0	0,000
Trochilidae	8	0	0,000
Vireonidae	8	0	0,000
	790	166	21

Tabela 3. Prevalência anual (*Plasmodium + Haemoproteus*) em aves do Cerrado do Brasil Central

Ano	Diagnóstico PCR			Prevalência
	Negativo	Positivo	Total	
2005	57	8	65	0,123
2006	138	43	181	0,238
2007	129	39	168	0,232
2008	162	50	212	0,236
2009	138	26	164	0,160
Total	624	166	790	0,210

Tabela 4. Prevalência (*Plasmodium + Haemoproteus*) com relação à idade do hospedeiro

Idade	Diagnóstico PCR			Prevalência
	Negativo	Positivo	Total	
Menos de um ano	21	2	23	0,087
Acima de um ano	568	155	723	0,214
Total	589	157	746	0,210

Tabela 5. Prevalência (*Plasmodium* + *Haemoproteus*) das 19 espécies mais abundantes. Nomes das espécies são encontrados na Tabela 1

	Diagnóstico PCR			Prevalência
	Negativo	Positivo	Total	
NYSCHA	2	16	18	0,889
CYPHIR	5	17	22	0,773
NEOFAS	31	47	78	0,603
SUISUI	13	18	31	0,581
MIMSAT	9	6	15	0,400
VOLJAC	18	10	28	0,357
MYISWA	34	6	40	0,150
SUIISL	14	2	16	0,125
AMMHUM	37	5	42	0,119
ELACHI	125	12	137	0,088
PHAMUR	11	1	12	0,083
ELACRI	86	5	91	0,055
VENMIX	15	0	15	0,000
LEPANG	34	0	34	0,000
SYNALB	14	0	14	0,000
PHARUF	62	0	62	0,000
CAMOBS	15	0	15	0,000
EMBHER	14	0	14	0,000
SPOPLU	18	0	18	0,000
Total	557	145	702	0,207

Tabela 6. Distribuição das linhagens de hemoparasitos entre as famílias de aves. As linhagens estão organizadas da esquerda para direita e as famílias de hospedeiros de cima para baixo em ordem decrescente de frequência de ocorrência das linhagens de parasitos

Famílias de hospedeiro	Linhagens (nomeadas com o prefixo CE)																Gênero		Total	
	EB	GHU1	AU7U8	C	D	J	F	N	PU4	K	L	M	Q	U2	U3	U5	U6	H ²		P ³
Thraupidae	35	2	5		4			1	4	2		1	1	1				40	16	56
Tyrannidae	2	15	12					2			2							21	12	33
Bucconidae				16		5												21	0	21
Emberizidae	2	2					4	1					1					5	5	10
Mimidae					3													0	3	3
Psittacidae ¹	1	1																2	0	2
Turdidae																1	1	0	2	2
Columbidae ¹											1							1	0	1
Tityridae ¹														1				1	0	1
Total	40	20	17	16	7	5	4	4	4	2	2	2	2	1	1	1	1	91	38	129

¹ Famílias com menos de 10 indivíduos analisados para hemoparasitos.

² *Haemoproteus*.

³ *Plasmodium*.

Tabela 7. Distribuição das linhagens de hemoparasitos entre as espécies de aves. As linhagens estão organizadas da esquerda para direita e as espécies de hospedeiros de cima para baixo em ordem decrescente de frequência de ocorrência das linhagens de parasitos. Nomes das espécies são encontrados na Tabela 1

Espécie	Linhagens (nomeadas com o prefixo CE)																Gênero		Total	
	EB	GHU1	AU7U8	C	D	J	F	N	PU4	K	L	M	Q	U2	U3	U5	U6	H ²		P ³
NEOFAS	23	2	5					1	4			1	1					27	10	37
NYSCHA				13		5												18	0	18
CYPHIR	12				3													12	3	15
SUISUI		9						1		2								12	0	12
ELACHI	2	2	2					1										5	2	7
VOLJAC	1						4	1					1					2	5	7
MYISWA		3	3															3	3	6
ELACRI			5															0	5	5
AMMHUR	1	2																3	0	3
MIMSAT					3													0	3	3
NYSMAC				3														3	0	3
ARAAUR ¹	1	1																2	0	2
SALATR ¹										2								0	2	2
SUIISL			2															0	2	2
COLTAL ¹												1						1	0	1
HEMGUI ¹					1													0	1	1
PACPOL ¹														1				1	0	1
PHAMUR		1																1	0	1
TANCAY ¹															1			1	0	1
TURAMA ¹																	1	0	1	1
TURLEU ²																1		0	1	1
Total	40	20	17	16	7	5	4	4	4	2	2	2	2	1	1	1	1	91	38	129

¹ Espécies com menos de 10 indivíduos analisados para hemoparasitos. ² *Haemoproteus*. ³ *Plasmodium*.

Tabela 8. Características reprodutivas e da história de vida de 14 espécies de aves do Cerrado do Brasil Central e prevalência de hemoparasitos usando sequências mitocondriais para diagnóstico. Nomes das espécies são encontrados na Tabela 1

Taxon	Variáveis analisadas					Indivíduos analisados para hemoparasito	Indivíduos infectados por	
	Média da altura do ninho (cm)	Tipo de ninho	Sistema social	Tempo de incubação (dias)	Média do peso (g)		<i>Haemoproteus</i> (<i>Parahaemoproteus</i>) (% infectado)	<i>Plasmodium</i> (% infectado)
Furnariidae								
SYNALB	30	fechado	casal	17,5	11,9	14	0	0
PHARUF	330	fechado	grupo	16,5	22,5	62	0	0
Tyrannidae								
ELACRI	150	aberto	casal	17	18,1	91	0	5 (0,055)
ELACHI ¹	161	aberto	casal	14,8	15,3	137	5 (0,036)	2 (0,015)
CAMOBS	144	aberto	casal	18,0	7,1	15	0	0
SUISUI	444	aberto	grupo	19,2	20,0	31	12 (0,387)	0
SUIISL	138	aberto	casal	18,1	19,9	16	0	2 (0,125)
MYISWA ¹	118	cavidade	casal	15,5	23,3	40	3 (0,075)	3 (0,075)
Mimidae								
MIMSAT	122	aberto	grupo	14,3	63,2	15	0	3 (0,200)
Thraupidae								
NEOFAS	59	aberto	grupo	13	29,2	78	25 (0,321)	8 (0,103)
CYPHIR	370	aberto	grupo	16	26,7	22	12 (0,545)	3 (0,136)
Emberizidae								
AMMHUM	0	aberto	casal	12	16,5	42	3 (0,071)	0
EMBER	17	aberto	casal	16	26,0	14	0	0
VOLJAC ¹	42	aberto	casal	10,2	9,9	28	2 (0,071)	5 (0,179)
Total						605	62 (0,102)	31 (0,051)

¹Espécies migratórias.

Tabela 9. Modelo Linear Misto Generalizado (GLMM) examinando a variação na prevalência de hemoparasitos com relação ao tipo de ninho (aberto, fechado e cavidade), altura do ninho (média da altura de construção do ninho para cada espécie), tempo de incubação, sistema social (casal ou grupo), *status* migratório (residente ou migratório) e peso de 14 espécies de aves do Cerrado do Brasil Central. Modelos Lineares Mistos Generalizados (GLMM) finais para: (a) infectados por *Plasmodium*; (b) infectados por *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*). Cada modelo foi simplificado pela eliminação de termos não significativos usando o método *backward stepwise*. Termos dos modelos foram retidos quando sua eliminação causava uma mudança significativa ($P < 0,05$) na deviance do modelo. Interações não foram incluídas nos modelos iniciais e efeito taxonômico hierárquico (Família/Gênero/Espécies) foi considerado para estrutura de efeitos aleatória. Foram utilizadas a distribuição de erros binomial e a função logit. As estimativas e erro padrão estão em logits

Modelo	Termos	Estimativa (EP)	Z	P
(a) <i>Plasmodium</i>	Intercepto	-3,2050 (0,3832)	-8,364	<0,001
	variância dos efeitos aleatórios: espécies:(gênero:família) 1,2201; gênero:família <0,001; família <0,001			
(b) <i>Haemoproteus</i> (<i>Parahaemoproteus</i>)	Intercepto	-4,7497 (1,3534)	-3,510	<0,001
	Grupo ¹	4,0135 (0,9159)	4,384	<0,001
	Residentes ²	-1,4918 (0,7534)	-1,980	0,047
variância dos efeitos aleatórios: espécies:(gênero:família) <0,001; gênero:família 0,3902; família 2,623				

¹ Estimado em relação às espécies que se reproduzem em casal.

² Estimado em relação às espécies que migram.

CONCLUSÃO GERAL

Por que a prevalência dos parasitos da malária aviária varia de zero a 100% entre as espécies de hospedeiros da mesma comunidade de aves? A necessidade de responder a essa pergunta (Revisão da Literatura) em uma comunidade de aves na região tropical justifica a presente tese. Os resultados e as conclusões apresentados nos Capítulos 1 e 2 explicaram de maneira satisfatória a variação na prevalência dos parasitos da malária aviária entre as espécies de hospedeiros em uma comunidade de aves na região tropical por três razões. Primeira, as prevalências foram obtidas através de diagnóstico tradicional (microscopia) e molecular. Segunda, foram utilizados GLMM, que até o presente é o melhor método para análises com dados parasitológicos. Terceira, as prevalências foram obtidas com número satisfatório de indivíduos analisados para hemoparasitos em cada espécie de ave.

Na comunidade de aves estudada no Cerrado do Brasil Central, características reprodutivas e da história de vida das espécies de hospedeiros explicaram a prevalência dos hemoparasitos da malária aviária (*Haemoproteus* e *Plasmodium*). A socialidade dos hospedeiros foi a variável que melhor explicou a prevalência de *Haemoproteus* entre as espécies de aves estudadas nessa comunidade, usando tanto a microscopia como métodos moleculares para diagnóstico desses parasitos. Dessa forma, esse gênero de hemoparasito pode ser incluído aos custos associados ao comportamento social em aves, mesmo não sendo transmitido por contato direto, como são os ectoparasitos.

As diferenças encontradas nos modelos para explicar a prevalência de *Plasmodium* e *Haemoproteus* no primeiro (usando microscopia como método de diagnóstico) e segundo (métodos moleculares) capítulos, não podem ser atribuídas à eficiência dos métodos para diagnóstico e sim, às diferenças no tamanho da amostra e composição da comunidade de aves. Como os resultados apresentados na presente tese são baseados em amostragem local,

generalizações a respeito da taxocenose de hemoparasitos estudada podem ser feitas com cautela, uma vez que, inferências sobre a associação parasito-hospedeiro e aspectos coevolutivos dependem de análises através de regiões, englobando a distribuição das espécies de parasitos e de seus respectivos hospedeiros. Além disso, mais estudos em comunidades de aves tropicais são necessários para esclarecer os determinantes da prevalência de hemoparasitos entre as espécies de hospedeiros, uma vez que, duas das quatro hipóteses formuladas até o presente para explicar a variação na prevalência de hemoparasitos foram baseadas em estudos com amostragem de aves da região temperada (Revisão da Literatura).

E elevada diversidade de espécies de hemoparasitos na taxocenose estudada na presente tese confirma os padrões encontrados em comunidades de aves tanto na região tropical como na região temperada. Como estabelecido previamente, o número de espécies de hemoparasitos pode se igualar ao número de espécies de hospedeiros em uma determinada comunidade de hemoparasito-ave. Por exemplo, se forem consideradas as 12 espécies de hospedeiros com pelo menos 12 indivíduos analisados na comunidade de aves estudada na ESECAE, a taxocenose foi composta por 11 linhagens de hemoparasitos.

Indiscutivelmente, o tamanho da amostra em cada espécie de hospedeiro limita a capacidade do estudo em revelar padrões na comunidade de parasitos, especialmente, onde a diversidade de ambos é elevada. Por exemplo, no segundo capítulo, com quase 800 amostras abrangendo 54 espécies de aves coletadas durante cinco anos, apenas 14 espécies puderam ser analisadas no Modelo Linear Misto Generalizado (GLMM), devido à restrição do tamanho amostral em cada espécie de ave. Apesar de GLMM ser uma poderosa ferramenta em estudos envolvendo parasitos, não foi possível criar modelos para cada linhagem de *Plasmodium* ou *Haemoproteus*, devido à elevada diversidade encontrada na taxocenose desses parasitos. Portanto, interpretações estatisticamente válidas para cada linhagem de hemoparasito, com

relação à distribuição do hospedeiro e variação entre anos foram restringidas pela elevada diversidade de linhagens encontrada no presente estudo.

Nos últimos 12 anos, estudos dos parasitos da malária aviária, empregando ferramentas moleculares e baseados em sequências mitocondriais, estão revelando a elevada diversidade desses parasitos e a complexidade da relação parasito-hospedeiro em comunidades de aves. No segundo capítulo, as espécies de hemoparasitos foram definidas pelo número de substituições nucleotídicas em um fragmento do gene mitocondrial (citocromo *b*) do parasito. Esse nível de resolução genética é, atualmente, aceito para definir limites de espécie para esses protozoários.

Embora a utilização de marcadores moleculares tenha se tornado proeminente em estudos envolvendo hemoparasitos de aves nos últimos anos, a microscopia ainda é útil, podendo ser usada de maneira equivalente aos métodos moleculares por três razões. Primeira, a quantidade de indivíduos e espécies de aves analisados usando a microscopia supera o número acumulado através de estudos usando marcadores moleculares. Segunda, a microscopia não é menos eficiente na detecção dos hemoparasitos como sugerido pelos defensores de métodos moleculares para diagnóstico. Terceira, as análises estatísticas são baseadas em nível de gênero, portanto a prevalência pode ser usada simplesmente, separando os gêneros dos parasitos da malária aviária, não sendo necessária a identificação de espécies através de marcadores moleculares. Consequentemente, o uso de sequências mitocondriais tem fundamental importância em estudos filogenéticos, de coespeciação e estruturação de comunidade desses hemoparasitos.

Finalmente estudos empregando sequências mitocondriais dos parasitos da malária aviária associadas à morfologia (através de microscopia) serão fundamentais para confirmar a elevada diversidade desses hemoparasitos de aves, aumentando dessa forma, o número de espécies crípticas existentes nesse grupo de protozoários. O desenvolvimento de marcadores

moleculares e sequenciamento do gene do parasito, associado com métodos tradicionais, podem ajudar no entendimento de muitas questões sobre a biologia de hemoparasitos, como manutenção da diversidade genética, especificidade pelo hospedeiro, resposta imune, filogenia e filogeografia.

ANEXO I

**High prevalence of blood parasites in social birds
from a neotropical savanna in Brazil***

* Artigo no prelo no periódico **Emu**

High prevalence of blood parasites in social birds from a neotropical savanna in Brazil

Alan Fecchio^{A,F}, Marcos Robalinho Lima^B, Patrícia Silveira^C, Érika Martins Braga^D and Miguel Ângelo Marini^E

^APrograma de Pós-graduação em Biologia Animal, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70919-970, Brazil.

^BPrograma de Pós-graduação em Ecologia, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil.

^CPrograma de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil.

^DDepartamento de Parasitologia, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brazil.

^EDepartamento de Zoologia, ICB, Universidade de Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil.

^FCorresponding author. Email: alanfecchio@yahoo.com.br

Abstract. Blood parasites play a fundamental role in the ecology and evolution of passerine birds because they are able to affect the fitness and survival of their hosts. The prevalence of avian malarial parasites among host species can vary from 0 to 100% but the ecological and evolutionary reasons for this variation are not clear. In this study we tested if height or type of nest, body mass or social system, which we believe are variables associated with exposure of hosts to vectors, could explain the variation in the prevalence of blood parasites in a bird community from the Cerrado biome of central Brazil. We found a significant positive correlation between nest-height and prevalence of *Haemoproteus*, which is consistent with the hypothesis linking prevalence of blood parasites with nesting stratum in North American birds. We also found evidence for increased levels of parasitism by *Haemoproteus* in neotropical birds that live in groups and breed cooperatively and increased levels of parasitism by *Plasmodium* in species that nest in cavities or closed cups. We suggest that reproductive and behavioural parameters of hosts may be responsible for their differential exposure to vectors and that these parameters may therefore be able to indicate interspecific variation in the prevalence of blood parasites in other bird communities.

Additional keywords: avian malaria, breeding biology, haemosporidian parasites.

Introduction

A diverse group of parasites – helminths and protozoa – use the blood of birds as habitat for growth and reproduction. Among the protozoans, *Plasmodium*, *Haemoproteus* and *Leucocytozoon* (phylum Apicomplexa: order Haemosporida) are the three main genera found in birds (Valkiūnas 2005). These protozoans have a wide geographical distribution, as do their vectors (hematophagous insects of the order Diptera), and have already been described parasitising a diverse group of birds in nearly all geographical regions (Bennett 1993; Bennett *et al.* 1993, 1994; Valkiūnas 2005).

Avian blood parasites have been shown to have an adverse effect on the reproductive performance of their hosts in some of the bird species of temperate regions that have been studied (Siikamäki *et al.* 1997; Hakkarainen *et al.* 1998; Merino *et al.* 2000; Marzal *et al.* 2005). These studies have shown that individuals infected with blood parasites delay reproduction (Rätti *et al.* 1993), lay fewer eggs (Korpimäki *et al.* 1993) and raise fewer chicks to fledging (Sundberg 1995; Marzal *et al.* 2005) compared with individuals free of infection. In addition, blood parasites can also affect survival of their hosts. For example,

Martínez-de la Puente *et al.* (2010) have recently shown, by experimentally reducing intensity of infection using medication, that *Haemoproteus* can affect survival of female Blue Tits (*Cyanistes caeruleus*). In natural conditions, haemosporidian blood parasites can also have indirect negative effects on their avian hosts; for example, infected individuals are usually more vulnerable to birds of prey (Møller and Nielsen 2007). Haemosporidian blood parasites have also been shown to be one of the major causes of extinction of several endemic Hawaiian bird species (Warner 1968; van Riper *et al.* 1986). Haemosporidian blood parasites therefore are not only costly to their hosts in terms of reproduction and survival, but can also have major effects on the population dynamics of hosts and, possibly, secondarily affect the structure of avian communities.

The broad geographical distribution of haemosporidian blood parasites, together with their varying host-specificity and the high number of host species they can infect, as well as the negative effects that these parasites have on their hosts, makes them excellent models to test different evolutionary theories of parasite–host interactions (Atkinson and van Riper 1991; Bensch *et al.* 2000; Ricklefs *et al.* 2004; Fallon *et al.* 2005). An interesting

aspect of these parasite–host interactions is the great variation in prevalence of blood parasites among different species of hosts (Greiner *et al.* 1975; White *et al.* 1978; Peirce 1981; Fallon *et al.* 2005; Ricklefs *et al.* 2005; Ishtiaq *et al.* 2007; Latta and Ricklefs 2010). Although the ecological and evolutionary causes for this variation are still poorly understood, hypotheses that consider the life-history traits and evolutionary factors of the hosts have been postulated (Hamilton and Zuk 1982; Read 1991; Ricklefs 1992).

However, Garvin and Remsen (1997) argue that ecological conditions are also important predictors of the incidence of blood parasites, and that host resistance might not play such an important role as has been postulated, because co-adaptive interactions among parasites and hosts must occur for resistance to evolve. Thus, certain aspects of a host's natural history might expose them more to blood parasite vectors, which could increase the probability of infection, regardless of the existence of any possible co-adaptive interactions among parasite and hosts (Bennett and Fallis 1960; Garvin and Remsen 1997). For example, vectors are usually more abundant in the forest canopy than in lower forest strata, and if exposure to vectors is an important predictor of the prevalence of blood parasites one would expect canopy nesters to have higher prevalence of blood parasites than species that nest at a lower level of a forest (Bennett and Fallis 1960). Indeed, Bennett and Fallis (1960) and Garvin and Remsen (1997), in studies of two different bird communities in North America, found that the prevalence of blood parasites was significantly and positively correlated with the nesting height of bird species. However, such a correlation was not found by Ricklefs *et al.* (2005) in another North American bird community. A possible explanation could be that parasite prevalence varies at low taxonomic levels, primarily among species within genera, and therefore life-history traits would not be strongly associated with parasites prevalence, indicating that other intrinsic individual characteristics of the hosts might be associated with parasite prevalence (Ricklefs *et al.* 2005).

Another life-history trait that can be related to higher exposure to parasites in general, including blood parasites, is levels of animal congregation. For example, Bennett *et al.* (1978) found that colonial bird species in a savanna in Senegal had higher levels of blood parasites than solitary species. Tella (2002), using congeneric species-pair comparisons, also tested if there were differences in levels of infection between species that reproduce solitarily and socially. He found that prevalence of blood parasites was higher for colonial species and that these species also hosted a higher number of species and genera of blood parasites.

Based on the ecological and evolutionary factors above, interspecific variation in the prevalence of haematozoan blood parasites could be a result of the host's capacity to resist and control infections or the host's ability to reduce exposure to parasites. Indeed, experimental evidence supports the view that the abundance of vectors can have a major role in determining spatial variation in the prevalence of blood parasites (Sol *et al.* 2000). Thus, factors causing differential exposure to vectors could play an important role in determining interspecific variation of prevalence of blood parasites in avian communities.

Hematophagous insects are vectors of blood parasites, with biting midges (Diptera : Ceratopogonidae), mosquitoes (Diptera : Culicidae) and black flies (Diptera : Simuliidae) vectors for *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*), *Plasmodium* and *Leucocy-*

tozoon respectively (Atkinson and van Riper 1991; Valkiūnas 2005; Martinsen *et al.* 2008). These insects show vertical stratification when foraging (Bennett and Fallis 1960; Bennett and Coombs 1975; Henry and Adkins 1975) and have developed different degrees of association with their hosts. Hematophagous Diptera have to locate their food sources, which are usually distant and mobile (Gibson and Torr 1999), using a range of visual and olfactory cues (Sutcliffe 1986; Gibson and Torr 1999; Lehane 2005).

In a bird community in a Cerrado biome in central Brazil, we tested the hypothesis of Bennett and Fallis (1960), which postulates that bird species that nest higher in forest strata are more heavily parasitised. In addition, we also examined the effects of three other variables that we think are associated with host exposure to vectors; these were: type of nest, body mass and social system. We expect that: (1) bird species that build open nests to be more heavily parasitised than species that have closed nests or nest in cavities; (2) heavier species will be more heavily parasitised; and (3) social species will be more heavily parasitised. All these variables are associated with the presence and abundance of vectors and hence can explain, to some extent, variation in the prevalence of blood parasites in avian communities. Foraging stratum, another variable that could be associated with host exposure (Read 1991; Garvin and Remsen 1997), was not analysed in the present study because data on foraging behaviour in our study area were available for only 5 of the 17 species analysed.

Materials and methods

Study area

The study was conducted in Estação Ecológica de Águas Emendadas (ESECAE), a 10 500 ha Cerrado (neotropical savanna) nature reserve, close to Brasília, which is located in the Federal District of Brazil (15°32'–15°38'S, 47°33'–47°37'W; 1040 m above sea level). Other than a few natural corridors, ESECAE is surrounded by urban areas, farms and modified lands, which isolate it from other nature reserves. The Cerrado has two clearly marked seasons: a cold, dry season from May to September, and a warm rainy season from October to April (Eiten 1993). The average annual rainfall in the Federal District varies from 1500 and 1750 mm with average temperature varying between 20 and 26°C (Eiten 1993).

Blood sampling

We selected 17 abundant species of bird in the area for which we had data on the prevalence of blood parasites (Fecchio *et al.* 2007). We selected the most abundant species to reduce any confounding effects on blood parasite prevalence owing to low sample sizes. These species have been monitored by one of us (MÂM) since 2002 as part of a long-term project studying the demography and reproductive biology of birds of the Cerrado. Species are monitored over a 100-ha grid within ESECAE. Information regarding natural-history traits, such as height and type of nest, body mass and social system, were retrieved from the dataset of this long-term project, which consists of ~2000 nests and 6000 banded individuals. Birds were captured using mist-nests (35-mm mesh) from February 2005 to September 2009 in four different vegetation physiognomies

of the biome Cerrado: ‘cerrado’ *sensu stricto*; ‘campo cerrado’ – open cerrado; ‘campo sujo’ – grassland with sparse shrubs; and ‘campo limpo’ – grassland without shrubs. Detailed descriptions of the different vegetation physiognomies can be found in Oliveira-Filho and Ratter (2002). Mist-nets remained opened from sunrise to midday and were checked every 30 min. Captured individuals were banded with a metal band from the Brazilian birding agency (Centro Nacional de Pesquisa para Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE)/Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio)), measured and weighed. For each bird, a blood sample was obtained from the femoral or braquial vein using disposable needles or lancets. Blood smears were prepared and air-dried followed by fixation in absolute methanol in the field. For each individual bird captured, one to five slides were made.

Microscopy

In contrast to other studies that have stated that polymerase chain reaction (PCR) methods are usually more sensitive than microscopy in the detection of blood parasites (Fallon *et al.* 2003; Ricklefs *et al.* 2005; Ricklefs and Sheldon 2007), Valkiūnas *et al.* (2008) showed that microscopy, when used properly, is an efficient and reliable method to detect blood parasites. Valkiūnas *et al.* (2008) recommended that blood smears should be examined by experienced and well-trained personnel, that each sample be examined microscopically for 20–25 min, and at least 500 000 blood cells should be screened (100 fields at low magnification at 400× and then 100 fields at high magnification at 1000×).

In the laboratory fixed blood smears were stained with GIEMSA stain diluted with buffered water (pH 7.2–7.4) 1 : 10 and were examined under a light microscope (Olympus CX 31, Olympus Corporation, Tokyo, Japan). For the present study, 150 fields were examined at a magnification of 400× and then 200 fields were examined at a magnification of 1000×. The microscopy of each sample took ~30 min and only slides in good conditions and with homogenous distribution of blood cells were analysed.

Statistical analysis

To determine the influence of the biological traits of species on the prevalence of blood parasites, generalised linear mixed models (GLMM) were fitted by Laplace approximation (Bolker *et al.* 2009) to the data using the function ‘glmer’ implemented in the R package ‘lme4’ (R Development Core Team 2008), with the use of a binomial error distribution and logit link function. In order to account for non-independence owing to phylogeny, a hierarchical taxonomic (Order–Family–Genus–Species) error structure was considered as a random effect in the model, and the variables mean nest-height, mean mass of species, social system and nest-type as fixed effects. Because we had a small number of species that were cavity or closed-cup nesters, we pooled both nests into one category, called closed nests.

We used GLMM for three reasons. First, it is a powerful method to analyse parasitological data, since this type of analysis accommodates data that are not normally distributed, such as presence–absence data (in this case, infected or not infected). Second, this method takes into account differences in sample size, because more weight will be given to data with larger samples.

In our case, we considered species as a random effect in our error structure, therefore allowing us to control for differences in sample size. Third, GLMM also manages to control for correlations between measures that are a result of grouped observations, in our case, measures that are grouped by phylogeny (Paterson and Lello 2003; Jovani and Tella 2006). In addition, GLMM is more appropriate than independent contrast analysis, for phylogenetic control, when categorical variables are included in the analysis (Sodhi *et al.* 2008), which is the case here.

Parsimonious models were obtained by backwards stepwise removal of variables with the lowest explanatory power (highest *P* values) from a more complex model and nested models were compared by likelihood ratio tests, using the change in deviance as a Chi-square approximation. As long as this procedure caused no significant ($P < 0.05$) decrease in model fit (i.e. a significant change in model deviance), the simplified model was preferred, until a minimal adequate model was obtained. Therefore, the final model was arrived at when only significant terms remained. Our initial complex model included all four main terms. Model assumptions were verified through diagnostic plots of residual distribution and conditional modes of the random effects. Also, estimated model variance was verified for overdispersion. Our model was consistent with mixed model assumptions.

Results

We sampled 772 birds of 17 species from six different avian families within the orders Passeriformes and Piciformes (Table 1). Only 83 (10.7%) individuals were parasitised, with *Haemoproteus* being the most frequent genus in the individuals found to be infected (7.1% prevalence, $n = 55$ individuals parasitised), followed by *Plasmodium* (3.6% prevalence, $n = 28$ individuals parasitised). Microfilarial infection was observed in only one individual (*Camptostoma obsoletum*), at low intensity of infection (two different types in 150 fields), and this was omitted from the analysis. We did not find any mixed infections or other parasite genera.

GLMM were fitted for each blood parasite (*Plasmodium* and *Haemoproteus*) separately, since the vectors of these parasites belong to different taxonomic families. Therefore, it is expected that these vectors would have different foraging behaviour and host preferences.

For *Plasmodium*, the fitted model showed that bird species that build closed nests (cavity and closed-cup nesters) had significantly higher prevalence than species that were open-cup nesters (Table 2). However, for *Haemoproteus*, it was the other way round, with bird species that build open nests having significantly higher prevalence when compared with species that built closed nests. In addition, bird species that lived in groups, as well as species that built their nests higher had significantly higher prevalence (Table 2).

Discussion

The prevalence of *Haemoproteus* in the Cerrado area we studied was significantly higher for bird species that nested at higher levels and had open-cup nests. Conversely, *Plasmodium* was more prevalent in species that had closed-cup or cavity nests. Another interesting result of our study was that the prevalence of *Haemoproteus* was higher for group-living species of birds. It has

Table 1. Reproductive parameters and life-history traits of 17 species of birds from the Cerrado of central Brazil, and prevalence of blood parasites

Taxon	Mean height of nests (m)	Variables analysed			Individuals		Blood parasite	
		Mean body mass (g)	Type of nest	Social system	Analysed	Infected (%)	<i>Haemoproteus</i>	<i>Plasmodium</i>
Picidae								
<i>Veniliornis mixtus</i>	3.25	24.1	Cavity	Pair	13	7.7	0	1
Dendrocolaptidae								
<i>Lepidocolaptes angustirostris</i>	2.00	29.8	Cavity	Pair	32	6.3	0	2
Furnariidae								
<i>Synallaxis albescens</i>	0.30	11.9	Closed cup	Pair	19	10.5	0	2
<i>Phacellodomus rufifrons</i>	3.30	22.5	Closed cup	Group	60	6.7	0	4
Tyrannidae								
<i>Elaenia cristata</i>	1.50	18.1	Open cup	Pair	135	2.2	0	3
<i>Elaenia chiriquensis</i>	1.61	15.3	Open cup	Pair	136	3.7	2	3
<i>Camptostoma obsoletum</i>	1.44	7.1	Open cup	Pair	12	8.3	1	0
<i>Suiriri suiriri</i>	4.44	20.0	Open cup	Group	59	40.7	24	0
<i>Suiriri islerorum</i>	1.38	19.9	Open cup	Pair	8	0.0	0	0
<i>Myiarchus swainsoni</i>	1.18	23.3	Cavity	Pair	23	8.7	1	1
Mimidae								
<i>Mimus saturninus</i>	1.22	63.2	Open cup	Group	12	25	1	2
Thraupidae								
<i>Neothraupis fasciata</i>	0.59	29.2	Open cup	Group	139	14.4	14	6
<i>Cypsnagra hirundinacea</i>	3.70	26.7	Open cup	Group	31	35.5	10	1
Emberizidae								
<i>Ammodramus humeralis</i>	0.00	16.5	Open cup	Pair	39	2.6	0	1
<i>Emberizoides herbicola</i>	0.17	26.0	Open cup	Pair	15	0	0	0
<i>Volatinia jacarina</i>	0.42	9.9	Open cup	Pair	19	15.8	2	1
<i>Sporophila plumbea</i>	1.23	10.4	Open cup	Pair	20	5	0	1
Total					772	10.7	55 (7.1%)	28 (3.6%)

Table 2. Generalised linear mixed model (GLMM) examining variation in prevalence of blood parasites associated with nest height (mean height of nests for each species), mean body mass for each species, social system (pair or group living) and type of nest (open, cavity nest, or closed-cup nest) for 17 species of birds from the Cerrado of central Brazil

Final GLMM for *Plasmodium* infections and *Haemoproteus* infections. Each model was simplified by backwards stepwise elimination of non-significant terms starting with terms that had the lowest explanatory power (highest *P* values). Model terms were retained if their removal caused a significant change in model deviance (i.e. $P < 0.05$). Interactions were not included in initial models and a hierarchical taxonomic effect (Order–Family–Genus–Species) was considered for random effects structure and a binomial error distribution with a logit link function was used. The estimates and standard errors (s.e.) are in logits. Random effects variances are presented hierarchically (i.e. species within genus within family within order) up to the highest taxonomic hierarchy (i.e. order)

Model	Terms	Estimate (s.e.)	Z	P
<i>Plasmodium</i>	Intercept	−3.499 (0.251)	−13.947	<0.001
	Closed nest ^A	0.882 (0.417)	2.116	0.034
	Random effects variance: species : genus : (family : order) <0.001; genus : (family : order) <0.001; family : order = 0.014; order <0.001			
<i>Haemoproteus</i>	Intercept	−4.762 (0.432)	−11.011	<0.001
	Closed nest ^A	−3.185 (1.021)	−3.119	<0.001
	Nest height	0.459 (0.096)	4.771	<0.001
	Group ^B	2.282 (0.465)	4.908	<0.001
	Random effects variance: species : genus : (family : order) <0.001; genus : (family : order) <0.001; family : order <0.001; order <0.001			

^AEstimated relative to species that are open nesters.

^BEstimated relative to species that live in pairs.

already been suggested that ectoparasites are a common cost to social species (Alexander 1974), because social animals have a higher chance of acquiring and accumulating ectoparasites com-

pared with solitary species, owing to the close proximity and physical contact among members of a group (Poulin 1991). In birds, studies of colonial species of swallows (Hirundinidae) have

shown the costs associated with group living with a positive correlation between colony size and abundance of ectoparasites per nest (Brown and Brown 1986; Møller 1987; Loye and Carroll 1991). Bennett *et al.* (1978) noted that colonial species of bird in Senegal had higher prevalence of blood parasites than solitary species. Tella (2002), using a pairwise comparative method, showed that prevalence and richness of blood parasites (both in terms of number of species and genera), were higher in colonial species than in their solitary sister species. To the best of our knowledge, this study is the third to show that social species have significantly higher levels of blood parasites than non-social species in birds.

Biting midges are the main insect vectors of *Haemoproteus* (*Parachaemoproteus*) (Garvin and Greiner 2003; Valkiūnas 2005; Martinsen *et al.* 2008) and most of them are active at sunset or night (Mellor *et al.* 2000; Lehane 2005; Martínez-de la Puente *et al.* 2009). Host-seeking behaviour by this group of insects is mainly mediated by olfactory cues, with carbon dioxide being the main volatile compound used to locate hosts at long distances (Gibson and Torr 1999). We can think of two non-exclusive theories to explain the higher *Haemoproteus* prevalence found for group-living species. First, the proximity of group members may form a large biomass, specially for bird species that brood together side by side in dormitory trees, which in turn can facilitate location of hosts by the vectors, since more carbon dioxide is being released by a group of brooding birds than by solitary individuals. This is a plausible explanation given that most *Haemoproteus* vectors are nocturnal and rely mainly on olfactory signals to find their hosts. If this is the case, than infection is probably happening when individuals are adults or subadults, and not necessarily when they are nestlings. Second, helpers at the nest (four of the five species that live in groups in the studied avian community were cooperative breeders) may increase the number of visits to the nest, making these nests easier to be located by visual cues owing to increase movement of individuals around the nest. Since hematophagous insects can also find their hosts by the use of visual cues (Sutcliffe 1986; Gibson and Torr 1999; Lehane 2005), it is possible that *Haemoproteus* vectors are following the adults and helpers to track down their hosts, or in this case chicks and nestlings. This is also a probable explanation, because nestlings and chicks probably have a naïve immunological system and poor behavioural defence strategies against hematophagous insects. If this is the case, however, it is expected that most blood-parasite infections will be acquired primarily in the nest.

The association found between *Haemoproteus* prevalence and nest-height in our study supports the hypothesis of Bennett and Fallis (1960), which argues that blood-parasite prevalence should be positively correlated with nest-height, since blood-parasite vectors are more abundant in the forest canopy, at least in temperate regions. *Culicoides* species (Diptera : Cerapogonidae) are vectors of *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) (Garvin and Greiner 2003; Valkiūnas 2005; Martinsen *et al.* 2008), show vertical stratification during foraging and are more abundant in the forest canopy (Bennett and Coombs 1975; Henry and Adkins 1975; Mellor *et al.* 2000). Thus, bird species that nest higher, and consequently at the height where vectors are more abundant, will be more heavily parasitised, because these bird species are being more exposed to these vectors. Only two studies, both in tem-

perate regions, have tested this hypothesis, with one study finding such a positive association between nest height and blood-parasite prevalence (Garvin and Remsen 1997), whereas the other did not (Ricklefs *et al.* 2005). The present study is the third to test this association and the first to examine it in a tropical region. Therefore, it seems that nest-height could be a good predictor of blood-parasite prevalence in avian communities.

Plasmodium species only develop in mosquitoes (Diptera : Culicidae) and are transmitted by species of the genera *Aedes*, *Anopheles*, *Culiseta* and *Mansonia* (Valkiūnas 2005). Host-seeking behaviour of these insects is mediated by olfactory cues, with carbon dioxide being the main compound, though other combinations of volatile compounds released by the hosts are also used (Gibson and Torr 1999; Takken and Knols 1999). It is possible that these compounds accumulate inside closed spaces, such as nest-cavities and closed-cup nests, which could make it easier for the vectors to locate the source of the compounds and therefore their host. This could be the reason why we found that bird species that nested in closed-cup nests or in cavities had significantly higher prevalence. However, the results for *Haemoproteus* were the reverse, with bird species that nest in cavities or with closed-cup nests having significantly lower prevalence, thus suggesting that birds are exposed differentially to insect vectors, and for some reason, cavity- and closed-cup nests confer some protection against *Haemoproteus*. Tomás *et al.* (2008) and Martínez-de la Puente *et al.* (2009) have shown that there are differences in abundance and infestation of biting midges and black flies in three cavity-nesting passerine species in Spain, and biting midges were significantly more abundant than black flies. Even though we did not take any measures of abundance and prevalence of vector infestation in closed-cup nests and cavity nests, it is possible that mosquitoes, for some reason, are more abundant than biting midges in these types of nests in our Cerrado study area. If this is the case, than one would expect to see differences in the prevalence of *Plasmodium* and *Haemoproteus* for cavity and closed-cup nesting species, as was observed in our study.

We did not find any association between body mass and blood-parasite prevalence. We expected to find this association, since heavier birds release more carbon dioxide. Additionally, bigger bodies provide more surface area for parasites to feed and establish (Atkinson and van Riper 1991). For instance, Scheuerlein and Ricklefs (2004) showed that >20% of the variation in prevalence of blood parasites in European passerines was attributed to species body mass. However, this relation occurred mainly for *Leucocytozoon* and *Trypanosoma*, whereas prevalence of *Haemoproteus* and *Plasmodium* was not related to body mass (Scheuerlein and Ricklefs 2004). Thus, species mass does not seem to be a good predictor of interspecific variation of prevalence, at least for *Haemoproteus* and *Plasmodium*.

Our results are comparable with other studies that have used microscopy as the method of diagnosis in examining the variation in prevalence of blood parasites (Bennett and Fallis 1960; Bennett *et al.* 1978; Hamilton and Zuk 1982; Read 1991; Ricklefs 1992; Garvin and Remsen 1997; Tella 2002). Even though the use of molecular tools for the identification of *Haemoproteus* and *Plasmodium* has increased in the last 10 years, mainly because these allow for the sequencing of mitochondrial (mt) DNA of these blood parasites and, therefore, lineage analysis, microscopy can still be an efficient tool in comparative analysis for three

reasons. First, the number of individuals analysed by this method can be much larger than by molecular methods, making pairwise comparisons between regions much easier. Second, analyses are done at the level of genus of the blood parasite, and thus there is no need to have sequencing data. Conversely, when using molecular tools, there is the need to sequence the lineages to find out to which genus they belong too. Third, microscopy is a reliable method to determine prevalence (Valkiūnas *et al.* 2008).

In this study, reproductive and behavioural parameters of the host species determined the prevalence of *Plasmodium* and *Haemoproteus*. It seems that the insect vectors of these blood parasites use different signals to track down their host, and consequently, there is differential exposure of the hosts to these blood parasites. For instance, nest-height appears to be a good predictor of interspecific variation in the prevalence of blood parasites in bird communities (Bennett and Fallis 1960; Garvin and Remsen 1997; the present study). In addition, this study has presented evidence that species that live in groups, and more specifically cooperative breeders, are more susceptible to blood parasites. Therefore assuming that *Haemoproteus* can cause negative effects on the survival and reproduction of their hosts (Merino *et al.* 2000; Martínez-de la Puente *et al.* 2010), it seems that blood parasites can be included as a cost to both social living and cooperative breeding, even though this parasite is not transmitted by direct contact among hosts.

Acknowledgements

We thank two anonymous reviewers for valuable comments on the manuscript. This study was partly funded by a research grant from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq – Brazil and Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) to MÂM. We thank CNPq for a researcher fellowship to MÂM and ÉMB and for doctorate scholarships provided to AF, MRL and PS. We also thank the administrators of ESECAE/DF for the permit to conduct this study, and CEMAVE/ICMBio for the banding permits and metal bands.

References

- Alexander, R. D. (1974). The evolution of social behavior. *Annual Review of Ecology and Systematics* **5**, 325–383. doi:10.1146/annurev.es.05.110174.001545
- Atkinson, C. T., and van Riper, C. III (1991). Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon*, and *Haemoproteus*. In 'Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behavior'. (Eds J. E. Loye and M. Zuk.) pp. 19–48. (Oxford University Press: Oxford, MA.)
- Bennett, G. F. (1993). Phylogenetic distribution and possible evolution of the avian species of the Haemoproteidae. *Systematic Parasitology* **26**, 39–44. doi:10.1007/BF00009646
- Bennett, G. F., and Coombs, R. F. (1975). Ornithophilic vectors of avian hematozoa in insular Newfoundland. *Canadian Journal of Zoology* **53**, 1241–1246. doi:10.1139/z75-148
- Bennett, G. F., and Fallis, A. M. (1960). Blood parasites of birds in Algonquin Park, Canada, and a discussion of their transmission. *Canadian Journal of Zoology* **38**, 261–273. doi:10.1139/z60-033
- Bennett, G. F., Blancou, J., White, E. M., and Williams, N. A. (1978). Blood parasites of some birds from Senegal. *Journal of Wildlife Diseases* **14**, 67–73.
- Bennett, G. F., Bishop, M. A., and Peirce, M. A. (1993). Checklist of the avian species of *Plasmodium* Marchiafava & Celli, 1885 (Apicomplexa) and their distribution by avian family and Wallacean life zones. *Systematic Parasitology* **26**, 171–179. doi:10.1007/BF00009724
- Bennett, G. F., Peirce, M. A., and Earlé, R. A. (1994). An annotated checklist of the valid avian species of *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* (Apicomplexa: Haemosporida) and *Hepatozoon* (Apicomplexa: Haemogregarinidae). *Systematic Parasitology* **29**, 61–73.
- Bensch, S., Stjernman, M., Hasselquist, D., Örjan, Ö., Hansson, B., Wester-dahl, H., and Pinheiro, R. T. (2000). Host specificity in avian blood parasites: a study of *Plasmodium* and *Haemoproteus* mitochondrial DNA amplified from birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* **267**, 1583–1589. doi:10.1098/rspb.2000.1181
- Bolker, B. M., Brooks, M. E., Clark, C. J., Geange, S. W., Poulsen, J. R., Stevens, M. H. H., and White, J. S. S. (2009). Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution* **24**, 127–135. doi:10.1016/j.tree.2008.10.008
- Brown, C. R., and Brown, M. B. (1986). Ectoparasitism as a cost of coloniality in Cliff Swallows (*Hirundo pyrrhonota*). *Ecology* **67**, 1206–1218. doi:10.2307/1938676
- Eiten, G. (1993). Vegetação do Cerrado. In 'Cerrado: Caracterização, Ocupação e Perspectivas'. (Ed. M. N. Pinto.) pp. 17–73. (Editora Universidade de Brasília: Brasília.)
- Fallon, S. M., Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., and Bermingham, E. (2003). Detecting avian malaria: an improved polymerase chain reaction diagnostic. *Journal of Parasitology* **89**, 1044–1047. doi:10.1645/GE-3157
- Fallon, S. M., Bermingham, E., and Ricklefs, R. E. (2005). Host specialization and geographic localization of avian malaria parasites: a regional analysis in the Lesser Antilles. *American Naturalist* **165**, 466–480. doi:10.1086/428430
- Fecchio, A., Marini, M. Á., and Braga, É. M. (2007). Baixa prevalência de hemoparasitos em aves silvestres no Cerrado do Brasil. *Neotropical Biology and Conservation* **2**, 127–135.
- Garvin, M. C., and Greiner, E. C. (2003). Ecology of *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) in southcentral Florida and experimental *Culicoides* vectors of the avian hematozoan *Haemoproteus danilewskyirus*. *Journal of Wildlife Diseases* **39**, 170–178.
- Garvin, M. C., and Remsen, J. V. Jr (1997). An alternative hypothesis for heavier parasite loads of brightly colored birds: exposure at the nest. *Auk* **114**, 179–191.
- Gibson, G., and Torr, S. J. (1999). Visual and olfactory responses of haematophagous Diptera to host stimuli. *Medical and Veterinary Entomology* **13**, 2–23. doi:10.1046/j.1365-2915.1999.00163.x
- Greiner, E. C., Bennett, G. F., White, E. M., and Coombs, R. F. (1975). Distribution of the avian hematozoa of North America. *Canadian Journal of Zoology* **53**, 1762–1787. doi:10.1139/z75-211
- Hakkarainen, H., Ilmonen, P., Koivunen, V., and Korpimäki, E. (1998). Blood parasites and nest defense behaviour of Tengmalm's Owls. *Oecologia* **114**, 574–577. doi:10.1007/s004420050482
- Hamilton, W. D., and Zuk, M. (1982). Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* **218**, 384–387. doi:10.1126/science.7123238
- Henry, L. G., and Adkins, T. R. J. (1975). Vertical distribution of biting midges in coastal South Carolina. *Annals of the Entomological Society of America* **68**, 321–324.
- Ishtiaq, F., Gering, E., Rappole, J. H., Rahmani, A. R., Jhala, Y. V., Dove, C. J., Milensky, C., Olson, S. L., Peirce, M. A., and Fleischer, R. C. (2007). Prevalence and diversity of avian hematozoan. *Journal of Wildlife Diseases* **43**, 382–398.
- Jovani, R., and Tella, J. L. (2006). Parasite prevalence and sample size: misconceptions and solutions. *Trends in Parasitology* **22**, 214–218. doi:10.1016/j.pt.2006.02.011
- Korpimäki, E., Hakkarainen, H., and Bennett, G. F. (1993). Blood parasites and success of Tengmalm's Owls: detrimental effects on females but not on males? *Functional Ecology* **7**, 420–426. doi:10.2307/2390029
- Latta, S. C., and Ricklefs, R. E. (2010). Prevalence patterns of avian haemosporida on Hispaniola. *Journal of Avian Biology* **41**, 25–33. doi:10.1111/j.1600-048X.2009.04685.x
- Lehane, M. J. (2005). 'The Biology of Blood-sucking in Insects.' (Cambridge University Press: New York.)

- Loye, J. E., and Carroll, S. P. (1991). Nest ectoparasite abundance and Cliff Swallow colony site selection, nestling development, and departure time. In 'Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behavior'. (Eds J. E. Loye and M. Zuk.) pp. 69–92. (Oxford University Press: Oxford, MA.)
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Lobato, E., Aguilar, J. R., Cerro, S., Castañeda, R. R., and Moreno, J. (2009). Does weather affect biting fly abundance in avian nests? *Journal of Avian Biology* **40**, 653–657. doi:10.1111/j.1600-048X.2009.04726.x
- Martínez-de la Puente, J., Merino, S., Tomás, G., Moreno, J., Morales, J., Lobato, E., Fraile, S. G., and Belda, E. B. (2010). The blood parasite *Haemoproteus* reduces survival in a wild bird: a medication experiment. *Biology Letters* **6**, 663–665. doi:10.1098/rsbl.2010.0046
- Martinsen, E. S., Perkins, S. L., and Schal, J. J. (2008). A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): evolution of life-history traits and host switches. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **47**, 261–273. doi:10.1016/j.ympev.2007.11.012
- Marzal, A., de Lope, F., Navarro, C., and Møller, A. P. (2005). Malarial parasites decrease reproductive success: an experimental study in a passerine bird. *Oecologia* **142**, 541–545. doi:10.1007/s00442-004-1757-2
- Mellor, P. S., Boorman, J., and Baylis, M. (2000). *Culicoides* biting midges: their role as arbovirus vectors. *Annual Review of Entomology* **45**, 307–340. doi:10.1146/annurev.ento.45.1.307
- Merino, S., Moreno, J., Sanz, J. J., and Arriero, E. (2000). Are avian blood parasites pathogenic in the wild? A medication experiment in Blue Tits (*Parus caeruleus*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* **267**, 2507–2510. doi:10.1098/rspb.2000.1312
- Møller, A. P. (1987). Advantages and disadvantages of coloniality in the swallow, *Hirundo rustica*. *Animal Behaviour* **35**, 819–832. doi:10.1016/S0003-3472(87)80118-5
- Møller, A. P., and Nielsen, J. T. (2007). Malaria and risk of predation: a comparative study of birds. *Ecology* **88**, 871–881. doi:10.1890/06-0747
- Oliveira-Filho, A. T., and Ratter, J. A. (2002). Vegetation physiognomies and woody flora of the Cerrado biome. In 'The Cerrados of Brazil: Ecology and Natural History of a Neotropical Savanna'. (Eds P. S. Oliveira and R. J. Marquis.) pp. 91–120. (Columbia University Press: New York.)
- Paterson, S., and Lello, J. (2003). Mixed models: getting the best use of parasitological data. *Trends in Parasitology* **19**, 370–375. doi:10.1016/S1471-4922(03)00149-1
- Peirce, M. A. (1981). Distribution and host-parasite check-list of the haematozoa of birds in western Europe. *Journal of Natural History* **15**, 419–458. doi:10.1080/00222938100770321
- Poulin, R. (1991). Group-living and infestation by ectoparasites in passerines. *Condor* **93**, 418–423. doi:10.2307/1368958
- R Development Core Team (2008). 'R: A Language and Environment for Statistical Computing.' (R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.) Available at <http://www.R-project.org> [Verified 10 March 2011].
- Rätti, O., Dufva, R., and Alatalo, R. V. (1993). Blood parasites and male fitness in Pied Flycatcher. *Oecologia* **96**, 410–414. doi:10.1007/BF00317512
- Read, A. F. (1991). Passerine polygyny: a role for parasites? *American Naturalist* **138**, 434–459. doi:10.1086/285225
- Ricklefs, R. E. (1992). Embryonic development period and the prevalence of avian blood parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **89**, 4722–4725. doi:10.1073/pnas.89.10.4722
- Ricklefs, R. E., and Sheldon, K. S. (2007). Malaria prevalence and white-blood-cell response to infection in a tropical and in a temperate thrush. *Auk* **124**, 1254–1266. doi:10.1642/0004-8038(2007)124[1254:MPAWRT]2.0.CO;2
- Ricklefs, R. E., Fallon, S. M., and Bermingham, E. (2004). Evolutionary relationships, cospeciation and host switching in avian malaria parasites. *Systematic Biology* **53**, 111–119. doi:10.1080/10635150490264987
- Ricklefs, R. E., Swanson, B. L., Fallon, S. M., Martínez-Abraín, A., Scheuerlein, A., Gray, J., and Latta, S. C. (2005). Community relationships of avian malaria parasites in southern Missouri. *Ecological Monographs* **75**, 543–559. doi:10.1890/04-1820
- Scheuerlein, A., and Ricklefs, R. E. (2004). Prevalence of blood parasites in European passerine birds. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences* **271**, 1363–1370. doi:10.1098/rspb.2004.2726
- Siikamäki, P., Rätti, O., Hovi, M., and Bennett, G. F. (1997). Association between haematozoan infections and reproduction in the Pied Flycatcher. *Functional Ecology* **11**, 176–183. doi:10.1046/j.1365-2435.1997.00075.x
- Sodhi, N. S., Koh, L. P., Peh, K. S. H., Tan, H. T. W., Chazdon, R. L., Corlett, R. T., Lee, T. M., Colwell, R. K., Brook, B. W., Sekercioglu, C. H., and Bradshaw, C. J. A. (2008). Correlates of extinction proneness in tropical angiosperms. *Diversity & Distributions* **14**, 1–10. doi:10.1111/j.1472-4642.2007.00398.x
- Sol, D., Jovani, R., and Torres, J. (2000). Geographical variation in blood parasites in feral pigeons: the role of vectors. *Ecography* **23**, 307–314. doi:10.1034/j.1600-0587.2000.d01-1639.x
- Sundberg, J. (1995). Parasites, plumage coloration and reproductive success in the Yellowhammer, *Emberiza citrinella*. *Oikos* **74**, 331–339. doi:10.2307/3545664
- Sutcliffe, J. F. (1986). Black fly host location: a review. *Canadian Journal of Zoology* **64**, 1041–1053. doi:10.1139/z86-156
- Takken, W., and Knols, B. G. J. (1999). Odor-mediated behavior of Afrotropical malaria mosquitoes. *Annual Review of Entomology* **44**, 131–157. doi:10.1146/annurev.ento.44.1.131
- Tella, J. L. (2002). The evolutionary transition to coloniality promotes higher blood parasitism in birds. *Journal of Evolutionary Biology* **15**, 32–41. doi:10.1046/j.1420-9101.2002.00375.x
- Tomás, G., Merino, S., Martínez-de la Puente, J., Moreno, J., Morales, J., and Lobato, E. (2008). Determinants of abundance and effects of blood-sucking flying insects in the nest of a hole-nesting bird. *Oecologia* **156**, 305–312. doi:10.1007/s00442-008-1001-6
- Valkiūnas, G. (2005). 'Avian Malaria Parasites and Other Haemosporidia.' (CRC Press: Boca Raton, FL.)
- Valkiūnas, G., Iezhova, T. A., Križanuskienė, A., Palinauskas, V., Sehgal, R. N. M., and Bensch, S. (2008). A comparative analysis of microscopy and PCR based detection methods for blood parasites. *Journal of Parasitology* **94**, 1395–1401. doi:10.1645/GE-1570.1
- van Riper, C. III, van Riper, S. G., Goff, M. L., and Laird, M. (1986). The epizootiology and ecological significance of malaria in Hawaiian land birds. *Ecological Monographs* **56**, 327–344. doi:10.2307/1942550
- Warner, R. E. (1968). The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna. *Condor* **70**, 101–120. doi:10.2307/1365954
- White, E. M., Greiner, E. C., Bennet, G. F., and Herman, C. M. (1978). Distribution of the hematozoa of Neotropical birds. *Revista de Biología Tropical* **26**, 43–102.

Manuscript received 23 July 2010, accepted 14 December 2010