



**PUC Minas**

Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais – PUC MINAS  
Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados - PPGBV

**AUSÊNCIA DE PARASITOS SANGUÍNEOS DO  
GÊNERO *PLASMODIUM* E *HAEMOPROTEUS* EM  
AVES MARINHAS EM ARQUIPÉLAGOS DO  
ATLÂNTICO SUL.**

Philippe Nicolau Mariano

Belo Horizonte, 23 de março de 2018.

Philippe Nicolau Mariano

**AUSÊNCIA DE PARASITOS SANGUÍNEOS DO  
GÊNERO *PLASMODIUM* E *HAEMOPROTEUS* EM  
AVES MARINHAS EM ARQUIPÉLAGOS DO  
ATLÂNTICO SUL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Biologia de Vertebrados pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Zoologia.

**Orientador:** Prof. Dra. Gisele Pires de Mendonça Dantas (PUC MINAS)

Belo Horizonte, 23 de março de 2018.

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela Biblioteca da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais

M333a	<p>Mariano, Philippe Nicolau</p> <p>Ausência de parasitos sanguíneos do gênero <i>Plasmodium</i> e <i>Haemoproteus</i> em aves marinhas em arquipélagos do Atlântico Sul / Philippe Nicolau Mariano. Belo Horizonte, 2018.</p> <p>27 f.: il.</p> <p>Orientadora: Gisele Pires de Mendonça Dantas</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados</p> <p>1. Plasmodium. 2. Ave marinha. 3. Parasitos. 4. Malária Aviária. I. Dantas, Gisele Pires de Mendonça. II. Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais. Programa de Pós-Graduação em Biologia de Vertebrados. III. Título.</p> <p>CDU: 576.89</p>
-------	--

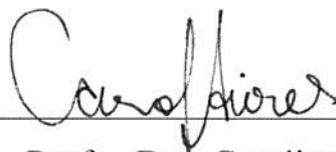
“Ausência de parasitos sanguíneos do gênero *Plasmodium* e *Haemoproteus* em aves marinhas em arquipélagos do Atlântico Sul.”

**Philippe Nicolau Mariano**

Defesa de Dissertação em 23/03/2018

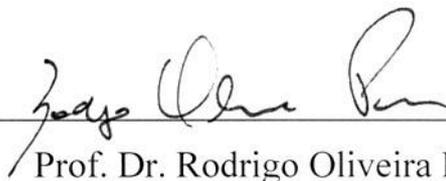
Resultado: **APROVADO**

Banca Examinadora:



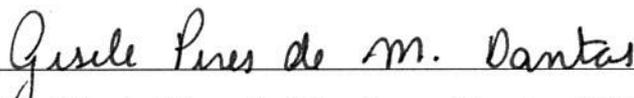
---

Prof. Dra. Caroline Cotrim Aires (UMC)



---

Prof. Dr. Rodrigo Oliveira Pessoa (UNIMONTES)



---

Prof. Dra. Gisele Pires de Mendonça Dantas (Orientadora PUC Minas)

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CAPES) e ao Programa de Pós-graduação em Biologia de Vertebrados da Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (PPBV - PUC MINAS) pela concessão da bolsa de estudos acadêmica; ao financiamento concedido pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e tecnológico (CNPq) (processo 488581/2013-5), ao IBAMA pela concessão da licença para condução do estudo proposto (SISBIO 45906-5); a Secretaria da Comissão Interministerial para os Recursos do Mar (SECIRM) pelo apoio as coletas de campo nos Arquipélagos de Trindade e Martim Vaz e em São Pedro e São Paulo; a Dra. Érika Martins Braga por ter cedido amostras de controle positivo para *Plasmodium* e *Haemoproteus*; a todas as pessoas que auxiliaram no trabalho de campo, Thais Augusta Maia, Jean Carlo Pedroso Cardoso, José Eustáquio Santos, Camila Dergan.

Agradeço em especial a professora Dra. Gisele P. M. Dantas por me aceitar no Laboratório de Ecologia e Evolução das Aves (LEEA) e por todos ensinamentos passados durante todo o mestrado.

Agradeço também a todos integrantes do LEEA por ser uma grande família e por compartilhar todo conhecimento na realização dos experimentos deste e de outros projetos.

Agradeço também a todos meus amigos de mestrado por todos os bons momentos compartilhados. Em especial agradeço ao Ítalo Martins por sempre compartilhar companheirismo e amizade.

Agradeço também a todos os professores do PPBV-PUC Minas que a sua maneira transmitiu o conhecimento, nos ensinou a caminhar, e nos tornar profissionais melhores.

E por fim agradeço a minha família em especial minha mãe, avó e namorada, por viver esse momento tão especial e de absorção de conhecimento que foi o mestrado e por apoio e incentivo dado em todos os momentos da minha vida. A todos vocês sou imensamente grato.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO.....</b>	<b>pág. 2</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>pág. 4</b>
<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>pág. 6</b>
<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>pág. 10</b>
<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>pág. 10</b>
<b>Grupo de Estudo.....</b>	<b>pág. 10</b>
<b>Local de Estudo.....</b>	<b>pág. 11</b>
<b>Coleta de Dados e PCR.....</b>	<b>pág. 13</b>
<b>Coleta de dados bibliográficos referentes à malária aviária e comparação entre espécies de aves.....</b>	<b>pág. 14</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>pág. 14</b>
<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>pág. 18</b>
<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>pág. 20</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>pág. 21</b>

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.....</b>	<b>pág. 7</b>
<b>Figura 2.....</b>	<b>pág. 12</b>
<b>Figura 3.....</b>	<b>pág. 13</b>

## **LISTA DE TABELA**

<b>Tabela 1.....</b>	<b>pág. 16</b>
----------------------	----------------

## RESUMO

Os parasitos mais comuns para aves estão agrupado nos gêneros *Babesia*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Haemoproteus*, *Hepatozoon* e microfilarias. A relação ecológica parasito-hospedeiro ainda está mal resolvida para o grupo das aves, principalmente para as aves marinhas brasileiras. Atualmente existem duas teorias que buscam explicar a relação parasito-hospedeiro (*trade – off* e amplitude de recursos), uma relaciona a co-evolução do parasito-hospedeiro e outra aos efeitos do ambiente na infectabilidade dos parasitos. Dentro desse contexto, o presente estudo busca detectar através de métodos moleculares parasitos sanguíneos intracelulares em quatro espécies de aves marinhas, sendo elas, *Sula dactylatra*, *S. sula*, *S. leucogaster* e *Fregata magnificens* com ocorrência no litoral brasileiro. O presente trabalho foi realizado em quatro Arquipélagos no litoral brasileiro: São Pedro e São Paulo, Fernando de Noronha, Atol das Rocas, e Trindade e Martim Vaz, onde foram amostrados 69 indivíduos de *S. leucogaster*, 42 indivíduos de *S. sula*, 93 indivíduos de *S. dactylatra* e 13 indivíduos *Fregata magnificens*. As amostras de sangue foram estocadas em etanol 70%, posteriormente o DNA genômico foi extraído com técnica de digestão por proteinase K e purificação com fenol e clorofórmio. Para cada amostra foram realizados três reações em cadeia de polimerase (PCR) independente, sendo que em cada foi utilizado um controle positivo para *Plasmodium* e *Haemoproteus*. Dessa forma, amplificação positiva foi considerada presença do parasita e a não amplificação a ausência do parasita, sendo as amplificações verificadas gel de agarose (2%). As quatro espécies de aves marinhas apresentaram ausência de parasitemia (*Plasmodium* e *Haemoproteus*), corroborando outros estudos que indicam que esse grupo apresenta baixa prevalência dessas parasitoses em ambientes naturais. Entretanto, estudos anteriores não levantaram hipóteses para justificar esse padrão, nós propomos que a baixa parasitemia em aves marinha podem ocorrer devido à 1) ausência do vetor para transmissão do parasito entre os indivíduos nas ilhas costeiras; 2) baixo número de indivíduos parasitados não sendo detectados na amostragem das colônias; 3) boa resposta imune evitando a instalação o parasito. Baseando-se nas hipóteses citadas acima, são ausentes os estudos de vetores arquipélagos amostrados o que impede a confirmação dessa hipótese, além da escassez de informação a respeito de qual seria o vetor de *Plasmodium* e *Haemoproteus* para as aves. Adicionalmente, das espécies

estudadas somente *S. dactylatra* e *F.magnificens* possuem capacidade de voo suficiente para alcançarem à costa brasileira, porém *S. dactylatra* são aves pelágicas e não são vistas na costa, sendo a hipótese de baixa parasitemia ser decorrente do restrito fluxo entre as ilhas oceânicas e a costa plausível, onde seriam infectados. As colônias de aves marinhas são grandes, assim há uma possibilidade de não ter amostrado indivíduos parasitados meramente devido ao acaso, principalmente se a taxa de parasitemia for baixa. A capacidade de resposta imune também precisa ser avaliada com maior atenção, tendo poucas informações sobre o sistema imune das aves marinhas. Assim, estudos que busquem avaliar a baixa parasitemia em aves marinhas precisam ser investigados.

**Palavras Chaves:** *Plasmodium*, *Haemoproteus*, aves marinhas, parasitos sanguíneos.

## Abstract

The genera *Babesia*, *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, *Trypanosoma*, *Haemoproteus*, *Hepatozoon* and microfilariae are most common parasites for birds. Ecological relation between parasite-host is still poorly resolved at birds, mainly at Brazilian seabirds. There are two theories to explain the parasite-host relation (trade-off and amplitude of resources), one related to the co-evolution of the parasite-host and another to the effects of the environment on the infectivity of parasites. In this context, present study aims to detect intracellular blood parasites by molecular methods in four seabird species, *Sula dactylatra*, *S. sula*, *S. leucogaster* and *Fregata magnificens* at Brazilian coast. For this, we sampled 69 *S. leucogaster*, 42 *S. sula*, 93 *S. dactylatra* and 13 *Fregata magnificens*, from São Pedro and São Paulo, Fernando de Noronha, Atol das Rocas, and Trindade and Martim Vaz archipelagos. Blood samples were stored in 70% ethanol and genomic DNA was extracted with proteinase K digestion and phenol and chloroform purification. For each sample, three polymerase chain reactions independent (PCR) were performed with a positive control for *Plasmodium* and *Haemoproteus*. Positive amplification was considered as the presence of the parasite and negative as absence of the parasite (*Plasmodium* and *Haemoproteus*), corroborating other studies that indicate low prevalence of these parasitemias in this group from natural environments. However, previous studies did not raise hypotheses to justify this pattern, thus we propose that the low parasitemia in seabirds can occur due to 1) absence of the vector for transmission of the parasite among the individuals at the islands; 2) low number of parasitized individuals not being detected in the colonies sampling; 3) good immune response avoiding the parasite's installation. Based on the hypotheses mentioned above, there are no studies of archipelago vectors sampled, which do not allow the confirmation of this hypothesis, in addition to the lack of information about which would be the vector of *Plasmodium* and *Haemoproteus* for birds. Only, *S. dactylatra* and *F. magnificens* have sufficient flight capacity to reach the Brazilian coast, but *S. dactylatra* are pelagic birds and are not seen on the coast. In addition, the hypothesis of low parasitemia is resulted from restricted flow between the oceanic islands and Brazilian coast, where they would be infected. Seabird colonies are large, so there is a possibility of not sampling parasitized individuals merely because of probability, especially if the parasitemia rate is low. Immune response capability also needs to be assessed more carefully, with little

information on the seabirds immune system. Thus, studies that search evaluated low parasitemia in seabirds need to be investigated.

**Key words:** *Plasmodium*, *Haemoproteus*, seabirds, blood parasites.