



Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas



Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente
Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais

Alta fidelidade temporal de interações parasito-hospedeiro

Vitor Leandro Lopes



Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas



Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio Ambiente
Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais

Vitor Leandro Lopes

Alta fidelidade temporal de interações parasito-hospedeiro

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Ouro Preto como parte das exigências do Programa de Pós- Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Patrícia de Abreu Moreira

Coorientadora: Fernanda Vieira da Costa

Ouro Preto/MG

Fevereiro/2019

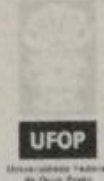
L881a Lopes, Vitor Leandro .
Alta fidelidade temporal de interações parasito-hospedeiro [manuscrito] /
Vitor Leandro Lopes. - 2019.
31f.: il.: tabs; mapas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Patrícia de Abreu Moreira.
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Fernanda Vieira Costa.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto. Instituto de
Ciências Exatas e Biológicas. Departamento de Biodiversidade, Evolução e Meio
Ambiente. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Biomas Tropicais .
Área de Concentração: Evolução e Funcionamento de Ecossistemas.

1. Biodiversidade . 2. Protozoário. I. Moreira, Patrícia de Abreu. II. Costa,
Fernanda Vieira. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

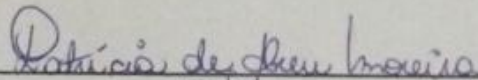
CDU: 574.1

 <p>UFOP Universidade Federal de Ouro Preto</p>	<p>Ministério da Educação Universidade Federal de Ouro Preto Programa de Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais ICEB - Campus - Morro do Cruzeiro Ouro Preto - MG - CEP 35.400-000 Fone: (031)3559-1747 E-mail: biomas@ufop.edu.br</p>
--	---

“Alta fidelidade temporal de interações parasito-hospedeiro.”

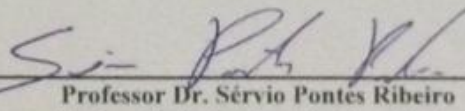
Autor: Vitor Leandro Lopes

Dissertação defendida e aprovada, em 22 de fevereiro de 2019, pela banca examinadora constituída pelos professores:



Professora Dra. Patricia de Abreu Moreira
Universidade Federal de Ouro Preto

Professor Dr. Walter Santos de Araújo
Universidade Estadual de Montes Claros



Professor Dr. Sérgio Pontes Ribeiro
Universidade Federal de Ouro Preto



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Ouro Preto
Instituto de Ciências Exatas e Biológicas (ICEB)
Programa de Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais



DECLARAÇÃO DE PARTICIPAÇÃO À DISTÂNCIA EM BANCA EXAMINADORA

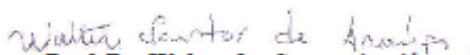
Montes Claros, 22 de fevereiro de 2019.

Eu, Prof. Dr. WALTER DOS SANTOS ARAÚJO, CPF 002.960.001-40, declaro que participei, de forma síncrona remota, no dia 22/02/2019, com os demais membros que assinaram a ata física deste ato público, da banca para defesa de dissertação de Vitor Leandro Lopes, discente do Programa de Pós-graduação em Ecologia de Biomas Tropicais - nível Mestrado Acadêmico, da Universidade Federal de Ouro Preto.

Considerando a avaliação do trabalho intitulado "*Alta fidelidade temporal de interações parasito-hospedeiro*" e os questionamentos da banca examinadora, ao preencher e assinar este documento, reitero minha decisão que o estudante pode ser considerado:

- (x) Aprovado.
- () Aprovado com condicionamentos e/ou modificações.
- () Reprovado.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Walter dos Santos Araújo
Docente da Universidade Estadual de Montes Claros

Sumário

Lista de Figuras	7
Lista de Tabelas	8
Resumo	11
Abstract	12
Introdução	13
Material e métodos	15
<i>Área de estudo</i>	<i>15</i>
<i>Desenho experimental.....</i>	<i>16</i>
<i>Detecção dos parasitos e interações parasito-hospedeiro</i>	<i>17</i>
Resultados	21
Discussão	25
Considerações finais	27
Referências	28

Lista de Figuras

Figura 1. Mapa da área de coleta, Centro de Lançamento Barreira do Inferno (CLBI), localizado no estado do Rio Grande do Norte, na cidade de Parnamirim-Brasil.

Figura 2. Climatograma indicando as médias de temperatura e a pluviosidade mensal acumulada durante o período de estudo.

Figura 3. Rede completa envolvendo todas as interações parasito-hospedeiro observadas ao longo do período de estudo.

Figura 4. Interações parasito-hospedeiro identificadas nas diferentes estações.

Figura 5. Rede de interações dos gêneros de parasitos *Haemoproteus* (A) e *Plasmodium* (B) ao longo dos dois anos de estudo.

Lista de Tabelas

Tabela 1. Combinações par a par e resultados da β -diversidade de interações. “ β_{WN} ” é a β -diversidade total de interações, “ β_{OS} ” é a β -diversidade de interações entre as espécies compartilhadas, que são responsáveis apenas pelas interações de rearranjo, e “ β_{ST} ” é a β -diversidade de interações causadas pela inserção/deleção de espécies.

Tabela 2. Valores encontrados para as métricas estruturais das redes de interação parasito-hospedeiro estudadas ao longo de dois anos.

Tabela 3. Linhagens parasitos identificadas, respectivas estações do ano em que foram encontradas e a identificação da sequência depositada no Genbank.

Tabela 4. Espécies de aves identificadas e as respectivas estações em que foram amostradas ao longo de dois anos de estudo.

Agradecimentos

À minha família:

Antônio, meu pai que sempre se fez presente e representativo em todos os momentos desta batalha, que me apoiou e fez com que eu chegasse até aqui, infelizmente não conseguiu esperar o último mês desta batalha até o sucesso. Que Deus o tenha e o guarde, sou imensamente grato por ter tido o melhor pai do mundo, você ainda vai sentir muito mais orgulho do filho que você criou.

À minha mãe e rainha Rosália pelos conselhos, orações nos momentos de alegrias e dificuldades, por ser misericordiosa com as dificuldades, sempre buscando me motivar e tirar forças de lugares inimagináveis, mostrando meu lado forte. Muito obrigado por tudo, sou grato por tudo que você tem feito por mim.

Alessandra e Josely, que foram fonte de inspiração, que Deus colocou em minha vida, sem vocês meu sonho não teria tornado realidade, sempre amorosos e apoiadores obrigado por tudo.

Bruno e Francy, sempre me recepcionando com alegria e entusiasmo, compartilhando de meus planos mirabolantes sempre emanando boas energias. Muito obrigado a vocês.

Eduardo, que com toda sua sabedoria e discernimento sempre me auxiliou nos momentos de dúvidas, nas tomadas de decisões. Em todos os momentos você se fez presente, abdicando de seus próprios sonhos para que os meus fossem concretizados, muito obrigado, sou eternamente grato a você.

Enfim, muito obrigado a todos vocês que contribuíram para que esse sonho fosse realizado. Essa vitória é nossa, cada um de vocês tem uma parte desse título.

Amo todos vocês.

Aos amigos:

Graças a Deus sou uma pessoa de muitas amigades, portanto, gostaria de agradecer algumas pessoas que foram especiais nessa trajetória. Eloá e Vanessa, que me convidaram para morar juntos e acabamos formando uma família, muito obrigado por terem tido paciência e me aceitado como eu sou.

Aos meus alunos de iniciação científica que são muitos, cada um com seu carisma e sua competência formando essa equipe foda. Muito obrigado por tudo. Aos meus novos amigos da UFOP, Marcela, Marília, Daniela, Fábio, Renata, Lucimar (Sophia), entre tantos outros que tive oportunidade de conhecer nessa etapa.

Aos professores que passaram pelo meu caminho e contribuíram de alguma forma para que eu evoluísse como profissional e como pessoa, minha eterna gratidão por tudo.

Ao Rubens Modesto, secretário do PPGEBT, sempre compreensivo, atento e companheiro nos momentos de dificuldade, sempre prestativo, dando seu melhor para que tudo fluísse da melhor forma possível, minha eterna gratidão.

A Fernanda Costa, minha co, minha amiga, minha chefe, obrigado por ser essa pessoa de pulso forte e tão decidida que me ajudou a gostar e compreender um pouco mais das estatísticas e das relações ecológicas. Obrigado por ser luz na minha vida e ter paciência comigo.

A Patrícia de Abreu Moreira, um sentimento que é difícil descrever palavras, eu sempre falo para todos, EU TIVE a melhor orientadora do mundo, até nos momentos delicados ela soube ser amorosa e compreender meu lado. Sou eternamente grato a Deus e ao professor Cristiano por tê-la colocado em minha vida. Não poderia deixar a Malu de fora desse agradecimento, pessoinha especial que sempre torna o ambiente mais feliz.

Agradeço a CAPES pelo apoio financeiro que foi fundamental para que esse trabalho tornasse realidade.

Aos que não citei o nome, sintam-se agradecidos.

Aonde quer que eu vá
Serei luz
Em cada caminho que passar
Vão saber
Que, desde moleque, eu já saquei
Já entendi bem
Que o corre ia ser dobrado para ser alguém
Mas o sonho falou mais alto
E quanto mais alto parecia ser
Mais aumentava a vontade de vencer
E aí, hoje eu tô aqui
Cantando minha mensagem de amor e paz
Pra quem quiser sentir
E aí, dá pra sentir

Resumo

Interações antagonistas entre parasitos e aves são interessantes modelos para compreender a estrutura e dinâmica temporal das interações interespecíficas dentro de comunidades ecológicas. Abordagens envolvendo beta diversidade temporal possibilitam compreender a heterogeneidade das comunidades, dos parceiros interagentes, bem como das suas interações ao longo do tempo e, assim, entender o funcionamento do ecossistema como um todo. Neste contexto, esse estudo avaliou a estrutura e dinâmica temporal das interações entre parasitos e as aves ao longo de dois anos. Para tal, as seguintes perguntas foram formuladas: (1) Qual a contribuição da troca de espécies (*turnover*) e da perda/ganho de espécies (*aninhamento*) na composição da comunidade de parasitos e dos hospedeiros? Qual a contribuição da troca de espécies (*species turnover*) e do rearranjo (*rewiring*) nas interações parasito-hospedeiro? (2) As interações antagônicas entre parasitos e aves hospedeiras são consistentes ao longo do tempo? (3) A dinâmica temporal das interações parasito-hospedeiro são influenciadas por variações nas condições climáticas? As amostragens desse estudo foram realizadas mensalmente entre abril de 2013 e março de 2015, totalizando 24 amostras temporais. A detecção dos parasitos e, conseqüentemente, das interações parasito-hospedeiro foi realizada por meio da identificação molecular das linhagens dos hemosporídeos presentes no sangue das aves infectadas. Ao longo dos dois anos de coleta, capturamos 1.826 aves, encontramos 71 espécies de aves, 28 linhagens de hemosporídeos (*Plasmodium* e *Haemoproteus*) e uma prevalência de infecção em torno de 24%. Observamos que as redes antagonistas entre parasitos-hospedeiros possuem alta especificidade nas interações estabelecidas ao longo do tempo, associações muito coesas que não são afetadas pela sazonalidade e variações abióticas locais. Encontramos também que a inserção de novas espécies na comunidade interagente (*turnover*), e não os rearranjos das interações, são responsáveis pela dissimilaridade temporal existente no sistema estudado, afirmando que os parasitos possuem alta especificidade por determinadas aves, fato ainda não documentado na literatura. Os resultados aqui obtidos podem ser consistentes para outros sistemas antagonistas, tais como interações predador-presa e planta-herbívoro. Assim, esses achados podem dar suporte para a solução de problemas globais atuais, tais como os que envolvem agentes patogênicos emergentes que atualmente ameaçam a saúde dos ecossistemas.

Abstract

Antagonistic interactions between parasites and birds are interesting models to understand the structure and temporal dynamics of interspecific interactions within ecological communities. Approaches involving beta temporal diversity make it possible to understand the heterogeneity of communities, interacting partners, and their interactions over time, and thus understand the functioning of the ecosystem as a whole. In this context, this study evaluated the structure and temporal dynamics of the interactions between parasites and birds over two years. For this, the following questions were formulated: (1) What is the contribution of species exchange (turnover) and species loss / gain (nesting) in the composition of the parasite and host community? What is the contribution of species turnover and rewiring in parasite-host interactions? (2) Are the antagonistic interactions between parasites and host birds consistent over time? (3) Are the temporal dynamics of parasite-host interactions influenced by variations in climatic conditions? Samples from this study were performed monthly between April 2013 and March 2015, totaling 24 time samples. The detection of the parasites and, consequently, of the host-parasite interactions was carried out by means of the molecular identification of the strains of the hemosporids present in the blood of the infected birds. During the two years of collection, we captured 1,826 birds, found 71 species of birds, 28 strains of hemosporids (*Plasmodium* and *Haemoproteus*) and a prevalence of infection around 24%. We observed that antagonistic networks between host-parasites have high specificity in interactions established over time, very cohesive associations that are not affected by seasonality and local abiotic variations. We also found that the insertion of new species in the interacting community (turnover), and not the rearrangements of the interactions, are responsible for the temporal dissimilarity in the studied system, affirming that the parasites have high specificity for certain birds, a fact not yet documented in the literature. The results obtained here may be consistent for other antagonist systems, such as predator-prey and plant-herbivore interactions. Thus, these findings can support the solution of current global problems, such as those involving emerging pathogens that currently threaten the health of ecosystems.

Introdução

As interações antagonistas entre parasitos e aves são excelentes modelos para compreender a estrutura e dinâmica das interações interespecíficas dentro das comunidades ecológicas (Ings et al., 2009). Até o presente momento, poucos estudos compararam a estrutura e dinâmica temporal das redes de interações antagonistas ao longo do tempo e entre parasitos e aves esses estudos são inexistentes. Essas interações representam uma força seletiva dentro da comunidade, visto que os parasitos podem reduzir a aptidão dos hospedeiros e deixá-los mais susceptíveis à predação (Minchella e Scott, 1991). Estudos indicam, por exemplo, que o parasitismo estabelecido entre hemsporídeos e aves representam um forte impacto nas comunidades dos hospedeiros, causando a redução na coloração de suas penas, reduzindo seu sucesso reprodutivo, entre outros fatores que deixam os animais hospedeiros debilitados (Candolin, 2001) ou até mesmo levá-los ao óbito (Warner, 1968).

Parasitos intracelulares, tais como os hemsporídeos, desenvolveram diversas estratégias para manipular as células hospedeiras afim de sobreviver e prosperar. Em contrapartida, adaptações evolutivas das aves hospedeiras como a migração, possibilitam alterações nas comunidades de aves (Cheeseman e Weitzman, 2015). A ocorrência de interações mediadas pelos parasitos pode ser responsável por alterações significativas na prevalência podendo moldar assim a comunidade de hospedeiros (Shai Pilosof1, 2014), sendo que parasitos de climas tropicais possibilitam maior impacto sobre os hospedeiros quando comparado com demais climas (Møller, 2008).

Os parasitos desenvolvem especificidade por seus hospedeiros de modo que os mesmos vivem em harmonia, sendo raros os casos de óbito (Thompson, 1999), evidenciando assim a coevolução das espécies para perpetuação de ambas (Thompson, 2005). O estudo envolvendo redes de interações auxiliam na compreensão de como são estabelecidas e como se perpetuam as relações de afinidades entre parasitos e hospedeiros. Evidências sugerem que nos trópicos ocorra maior pressão mais seletiva por parte dos parasitos (Fischer, 1960), processo que resultaria em interações mais estáveis (MacArthur, 1955) e mais especializadas se avaliadas tanto em escalas ecológicas quanto evolutivas (Svenson, 2014).

Os hemosporídeos apresentam distribuição cosmopolita, estão ausentes apenas em áreas remotas, onde não existem condições apropriadas a sobrevivência do vetor (Warner 1968, van riper 1986), porém estudos envolvendo-os são escassos nos trópicos, contudo linhagens dos gêneros *Haemoproteus* e *Plasmodium* em aves são as mais estudadas nestes ambientes (Braga et al., 2011). Os parasitos do gênero *Haemoproteus* são divididos em dois subgêneros, *Haemoproteus* e *Parahaemoproteus*, os quais se diferenciam em seus hospedeiros vertebrados e seus vetores. O subgênero *Haemoproteus* infecta naturalmente hospedeiros vertebrados da ordem Columbiformes e são transmitidos por dípteros da família Hippoboscidae. O subgênero *Parahaemoproteus*, por sua vez, pode infectar aves de diversas ordens e são transmitidos por dípteros da família Ceratopogonidae. Parasitos do gênero *Plasmodium* também infecta aves de diferentes ordens e são transmitidos por mosquitos da família Culicidae (Valkiunas 2005).

A ocorrência do parasito está associada à ocorrência do hospedeiro, quando se trata de parasitos que são oportunistas e não possuem alta especificidade ao estabelecer suas interações. Para que a interação ocorra e se mantenha no tempo, é necessário que ambos estejam em sincronia no ambiente, haja a presença do vetor para efetuar a transmissão, e que as condições ambientais, tais como variações no clima, sejam favoráveis para ambos (Gonzalez-Quevedo et al., 2014). Além disso, a dinâmica temporal e o resultado de interações ecológicas podem ser influenciadas tanto pela inserção de novas espécies ao longo do tempo (CaraDonna et al., 2017), assim como pelo rearranjo de interações entre espécies que coocorrem temporalmente.

Nesse sentido, a beta diversidade temporal de interações entra como uma ferramenta que possibilita a compreensão de como ocorre a heterogeneidade da comunidade de aves, de parasitos, bem como das interações entre ambos ao longo do tempo. Assim, entender o funcionamento do ecossistema, frente as mudanças climáticas que influencia na ocorrência de espécies em determinadas regiões, definindo a contribuição do turnover de espécies, bem como o rearranjo das interações. Adicionalmente, o estudo das redes de interações entre aves e seus parasitos ao longo do tempo é útil para a compreensão de como alterações ecológicas podem moldar a coocorrência dos hospedeiros e parasitos, a influência de um sobre o outro e a dinâmica temporal desse antagonismo (Knowles, Palinauskas e Sheldon, 2010).

Neste contexto, esse estudo quer avaliar a estrutura e dinâmica temporal das interações entre parasitos e as aves ao longo de dois anos. Além disso, quantificar os níveis de

especialização ecológica (Blüthgen et al., 2006). Para tal, as seguintes perguntas foram formuladas: (1) Qual a contribuição da troca de espécies (*turnover*) e da perda/ganho de espécies (*aninhamento*) na composição da comunidade de parasitos e dos hospedeiros? Qual a contribuição da troca de espécies (*species turnover*) e do rearranjo (*rewiring*) nas interações parasito-hospedeiro? (2) As interações antagônicas entre parasitos e aves hospedeiras são consistentes ao longo do tempo? (3) A dinâmica temporal das interações parasito-hospedeiro são influenciadas por variações nas condições climáticas?

Material e métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado no Centro de Lançamento Barreira do Inferno (CLBI), uma base da Força Aérea Brasileira localizada na cidade de Parnamirim, estado do Rio Grande do Norte, distante seis km da capital do estado (5°55'30"S 35°9'47"W – Figura 1). O CLBI apresenta uma área de aproximadamente 1.800 hectares e está inserido em uma área de restinga, pertencente ao bioma Mata Atlântica. A restinga é caracterizada por uma vegetação sob influência marinha, ocorrendo sobre os depósitos arenosos costeiros (CONAMA 1996; Cerqueira, 2000). Por ser uma área de acesso restrito, não há indícios de retirada de madeira ou queimadas na área de estudo. O clima da região é classificado como tropical com verões secos e invernos chuvosos (As na classificação de Köppen) (Alvares *et al.*, 2014), com uma temperatura média de 25,6°C e pluviosidade média de 1.261 mm anuais. A estação chuvosa ocorre nos meses de março a julho, sendo abril o mês mais chuvoso, com precipitações de até 212 mm. A estação seca ocorre de agosto a fevereiro, sendo dezembro de 2013 o mês mais seco com precipitações em torno de 10.1 mm.

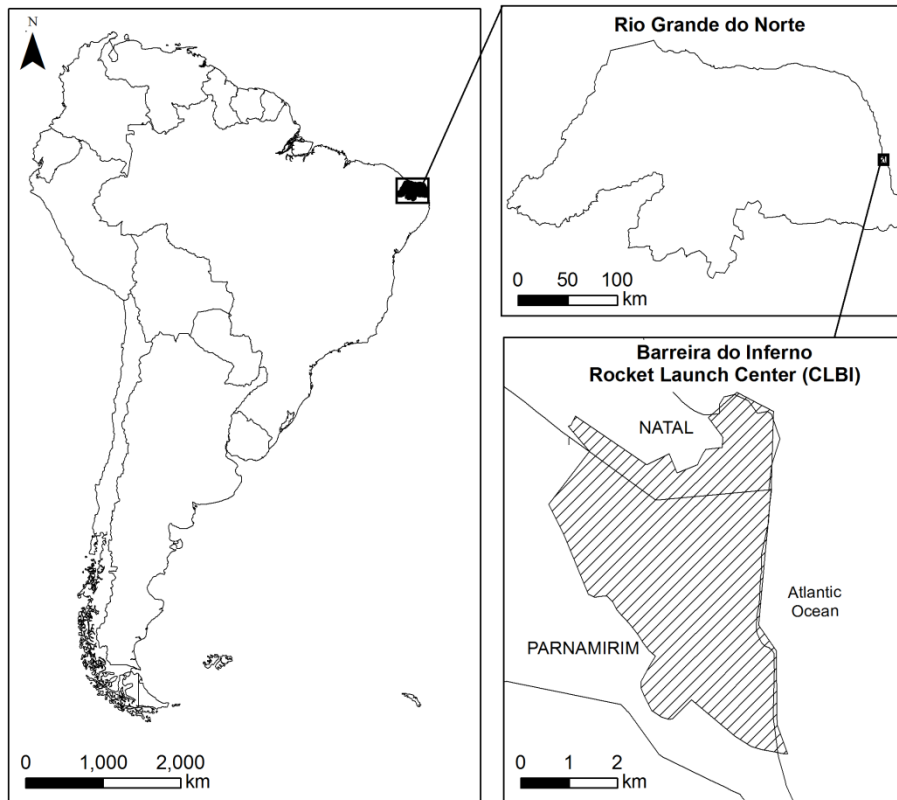


Figura 1. Mapa da área de coleta, Centro de Lançamento Barreira do Inferno (CLBI), localizado no estado do Rio Grande do Norte, na cidade de Parnamirim-Brasil.

Desenho experimental

A área de estudo foi delimitada por um quadrante de 350 m x 350 m (ca.12 ha), no qual foram definidos 49 pontos de amostragem distando 50 m entre si. As aves foram capturadas com uso de redes de neblina Ecotone (18 m x 3 m, cinco bolsas e malha de 19 mm), abertas às 4h50min, revisadas a cada 60 minutos, e fechadas às 09h50min. Assim, em cada ponto amostral foi instalada uma rede de neblina. As amostragens foram realizadas mensalmente entre abril de 2013 e março de 2015, totalizando 24 amostras temporais. Em cada mês, as coletas foram realizadas por dois dias consecutivos, nos quais 25 redes foram montadas no primeiro dia e 24 redes no segundo dia de captura. Os indivíduos capturados foram identificados e marcados com anilhas metálicas fornecidas pelo Centro de Pesquisas para Conservação de Aves Silvestres (CEMAVE).

Os dados climatológicos de temperatura média mensal e pluviosidade mensal acumulada durante o período de estudo, foram obtidos no Instituto Nacional de Meteorologia (INMET), com registros realizados pela Estação de Natal - RN, localizada a aproximadamente seis km da área de estudo (Figura 2).

Deteccção dos parasitos e interações parasito-hospedeiro

A deteção dos parasitos e, conseqüentemente, das interações parasito-hospedeiro foi realizada por meio da identificação molecular das linhagens dos hemosporídeos presentes no sangue das aves infectadas. Para tal, coletou-se o sangue das aves por punção da veia braquial com o auxílio de agulha estéril (13 x 4,5 mm). O sangue foi acondicionado em papel filtro e armazenado a -4°C até a extração do DNA. O material genômico foi extraído pelo método fenol-clorofórmio (Sambrook, 2011). O DNA foi utilizado para diagnóstico molecular de hemosporidiose por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) através da amplificação de uma região de 286 pares de bases, altamente conservada do gene SSU rRNA mitocondrial (Fallon *et al.*, 2003). É importante ressaltar que o gene dos parasitos de ambos os gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus* são amplificados na mesma reação. Os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados foram:

343F → 5' - GCTCACGCATCGCTTCT - 3'

496R → 5' - GACCGGTCATTTTCTTTG - 3'

Para a deteção da infecção utilizamos um controle positivo e um controle negativo em cada PCR diagnóstico. Os controles positivos foram amostras de DNA genômico de *Plasmodium gallinaceum* obtidos de filhotes de *Gallus gallus domesticus* infectados experimentalmente e gentilmente cedidos pelo Laboratório de Entomologia Médica do Centro de Pesquisa René Rachou - CPqRR, Belo Horizonte/MG. Os controles negativos são amostras de DNA obtidas de filhotes de *Gallus gallus domesticus* mantidos livres de infecção, gentilmente cedido pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte/MG. Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) 6%, não desnaturante, em tampão TBE 1X. Os géis foram fixados em solução de álcool etílico 10% e ácido acético 0,5%, corados em solução de nitrato de prata e os fragmentos de DNA evidenciados quando em solução reveladora de hidróxido de sódio e formaldeído (Sanguinetti *et al.*, 1994).

As amostras dos animais positivos no diagnóstico molecular foram submetidas à Nested-PCR, descrita por Hellgren *et al.* (2004), que amplifica um fragmento do gene mitocondrial citocromo oxidase subunidade c (cyt b). Os *primers* utilizados foram:

HaemNFI → 5' - CATATATTAAGAGAAITATGGAG-3'

HaemNR3 → 5'- ATAGAAAGATAAGAAATACCATTC-3'

HaemF → 5'- ATGGTGCTTTCGATATATGCATG-3'

HaemR2 → 5'- GCATTATCTGGATGTGATAATGGT-3'

Os produtos de amplificação foram sequenciados a fim de se identificar a diversidade de linhagens na área amostrada. Os produtos da PCR foram purificados utilizando uma solução de polietileno-glicol 8000 20% em NaCl 2,5M seguindo o protocolo descrito por Sambrook (2001). A qualidade dos eletroferogramas gerados foi verificada através do programa Phred v.0.20425 (Ewing et al., 2005). As sequências foram visualizadas e editadas no programa Consed 12.0 e o alinhamento e montagem final das sequências realizadas através do programa Phrap v.0.990319. As sequências obtidas foram comparadas e as novas sequências identificadas pela primeira vez (Tabela 3) foram depositadas no GenBank (<http://www4.ncbi.nlm.nih.gov>) e MalAvi (Bensch 2009 - <http://mbio-serv2.mbioekol.lu.se/Malavi/>), bancos de dados de livre acesso. Sequências contendo diferenças em um ou mais nucleotídeos foram consideradas linhagens distintas de citocromo b, as sequências que apresentaram pico duplo, inviabilizando a identificação das linhagens, foram removidas deste conjunto de dados para executar as análises.

Análise dos dados

Os dados foram agrupados em estações visto que as frequências de interações mensais eram baixas inviabilizando as análises, para tal agrupamos os dados dos meses de março a julho, em que possuem alta pluviosidade (Figura 2), como estação chuvosa, os meses de agosto a fevereiro que possuem baixa pluviosidade compoem a estação seca, sendo assim tivemos duas estações secas e duas chuvosas.

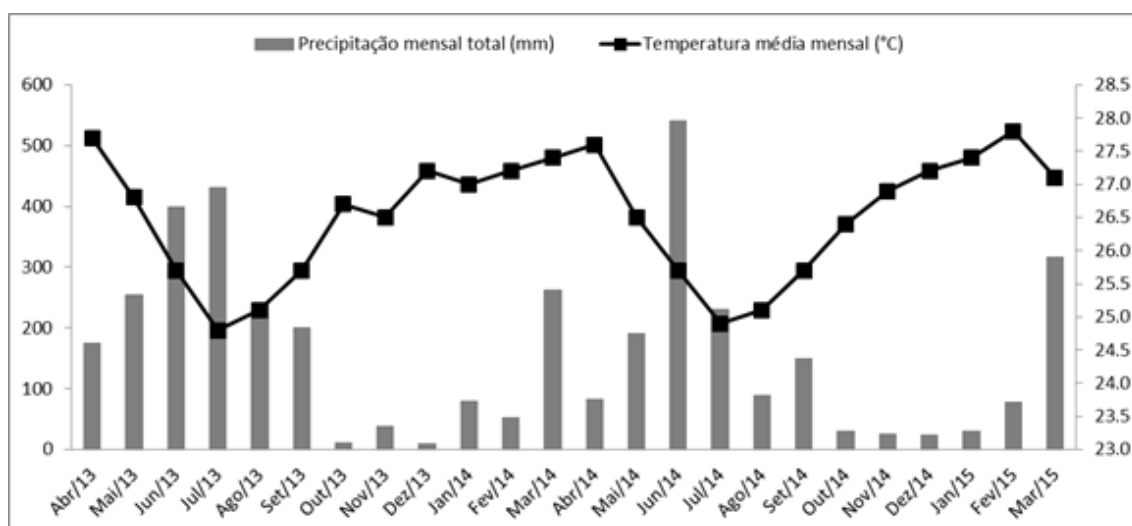


Figura 2. Climatograma indicando as médias de temperatura e a pluviosidade mensal acumulada durante o período de estudo.

Para compreender a contribuição da troca de espécies (*turnover*) e da perda/ganho de espécies (*aninhamento*) na composição da comunidade de parasitos e dos hospedeiros bem como a troca de espécies (*species turnover*) e do rearranjo (*rewiring*) nas interações parasito-hospedeiro, calculamos a diversidade alfa (α), que corresponde à média das espécies encontrada em cada estação e a diversidade gama (λ), que corresponde ao número total de espécies encontradas nos dois anos de estudo. A β -diversidade de espécies de aves e parasitos foi calculada usando o particionamento multiplicativo proposto por Whittaker (1960), em que $\beta = \frac{\gamma}{\alpha}$. Calculamos ainda a porcentagem de “turnover” e “aninhamento” (Baselga et al., 2010) para as comunidades de parasito e de hospedeiro para identificar a contribuição de cada um dos componentes para a dissimilaridade temporal das espécies interagentes. Assim, para identificar se existe diferença significativa nas dissimilaridades temporais das comunidades de parasito, bem como na comunidade de hospedeiro, utilizamos cada estação como variáveis preditoras e as β -diversidade de espécies como variáveis resposta em modelos lineares generalizados (GLM) (Crawley, 2012).

Para entender a decomposição da β -diversidade de interações, nós seguimos a abordagem proposta por Poisot *et al.* (2012): $\beta_{WN} = \beta_{ST} + \beta_{OS}$, em que β_{WN} indica a β -diversidade total de interações, que é calculada usando distintas interações entre comparações par a par de redes temporais (tempo1-tempo2 e assim por diante) e representa a dissimilaridade entre tempos. β_{WN} é a soma da dissimilaridade de pares de interações devido à troca temporal (*turnover*) de espécies (β_{ST}), mais a dissimilaridade de interações devido ao rearranjo temporal de interações entre espécies que coocorrem temporalmente (β_{OS}). Essa formula é baseada na medida de dissimilaridade, β_w , (Whittaker 1960), e definida como: $\beta_w = \frac{a+b+c}{(2a+b+c)/2} - 1$, onde b são interações encontradas em um tempo, c são interações encontradas em outro tempo, e a são interações encontradas em ambos os tempos. Assim, a β -diversidade temporal de interações entre espécies compartilhadas nos tempos, β_{OS} , consiste somente em variações nas redes devido ao rearranjo de interações (para mais detalhes, veja Poisot et al. 2012 e Carstensen et al. 2014). Todos os valores podem variar de 0 a 1, e β_{OS} sempre é igual ou menor que β_{WN} . Quando β_{OS} é igual a 1 indica que por exemplo, toda a dissimilaridade

entre as redes tempo X-tempo Y é devido ao rearranjo. Todas as medidas de β -diversidade foram calculadas com o pacote *betalink* (Poisot et al. 2012) para R (R Development Team 2017).

Foram construídas matrizes para as redes de interações parasito-hospedeiro: sendo a primeira para a rede completa de todas as interações observadas ao longo dos dois anos, posteriormente, construímos quatro matrizes contendo todas interações encontradas nas quatro estações estudadas, sendo duas secas e duas chuvosas. Por fim, confeccionamos duas matrizes finais uma para gênero de parasito. Nas matrizes as linhas correspondiam aos hospedeiros e as colunas aos parasitos, os preenchimentos eram equivalentes ao número de eventos de interações ocorridos entre o parasito e o hospedeiro.

Para testar se as interações são consistente ao longo do tempo utilizamos quatro métricas principais amplamente utilizadas em estudos de redes ecológicas, sendo elas: especialização (H_2') (Bluthgen, 2006), modularidade ponderada (Q) (Newman, 2006), aninhamento ponderado (WNODF) (Almeida-Neto, 2011), e por fim, a sobreposição de nicho dos parasitos (Horn) que foi calculada utilizando o índice Morisita-Horn (Oksanen, 2016). Essas métricas corresponderam às variáveis resposta, enquanto que as estação corresponde às variáveis explicativas dos GLMs usados para avaliar a consistência temporal da estrutura das redes antagonistas ao longo do tempo.

Para testar se a dinâmica temporal da comunidade era influenciada pela temperatura, precipitação e pelas diferentes estações, construímos GLMs em que cada estação foram variáveis preditoras e as interações foram as variáveis resposta. As métricas das redes antagonistas foram realizadas utilizando os pacotes *bipartite* (Dormann et al. 2014) e *vegan* no programa R (R Development Team 2017). Todas as redes de interação parasito-hospedeiro foram desenhadas no programa Pajek (Pajek, 1998).

Identificamos as espécies centrais de aves e de parasitos (i.e., espécies que realizaram maior frequência de interações) para as redes antagonistas envolvendo os dois gêneros de hemosporídeos no intuito de identificar quais espécies são mais importantes dentro de cada sistema de estudo. Consideramos espécies centrais aquelas que realizavam mais interações que a média da rede (Costa et al., 2016).

Resultados

Ao longo dos dois anos de coleta, capturamos 1.826 aves e registramos 360 recapturas. Do total de capturas, 1.071 (59 %) foram amostradas no período chuvoso e 755 (41 %) no período seco. As espécies de aves mais abundantes na estação chuvosa foram *Coereba flaveola*, *Turdus amaurochalinus*, e *Elaenia chilensis*, enquanto que *Coereba flaveola*, *Elaenia cristata*, e *Tachyphonus rufus* foram as mais abundantes na estação seca. Das 1.826 aves analisadas para presença de *Plasmodium* e *Haemoproteus*, 446 foram positivas pelo diagnóstico molecular, uma prevalência em torno de 24%.

Em relação aos hospedeiros, encontramos uma diversidade gama de 71 espécies, com um alfa médio de 48 espécies por estação. Tanto a diversidade alfa, quanto a beta dos hospedeiros não variaram entre as estações. Apesar de não haver diferença significativa na comunidade de aves entre as estações, a dissimilaridade existente ao longo dos meses de amostragem é especialmente devido à troca (84% de turnover) e não devido à perda de espécies ao longo do tempo (16% de aninhamento).

Para os parasitos foi possível obter 151 sequências de boa qualidade que não apresentaram picos duplos, das quais 44 linhagens (29%) pertencem a parasitos do gênero *P. (Plasmodium)* spp, 96 linhagens (63.5%) do subgênero *H. (Parahaemoproteus)* spp, e 11 linhagens (7.5%) do subgênero *H. (Haemoproteus)* spp. Encontramos uma diversidade gama de 28 linhagens de hemosporídeos, sendo 18 *Plasmodium* e 10 de *Haemoproteus*, e uma diversidade alfa média de 13 linhagens por estação. Tanto a diversidade alfa, quanto a beta diversidade dos parasitos não variaram entre as estações. Além disso, encontramos que a dissimilaridade temporal existente é especialmente devido à troca de espécies (70% de turnover) e não devido à perda ou incremento de espécies ao longo do tempo (i.e., 30% de aninhamento).

Ao longo dos dois anos de estudo, encontramos 27 espécies de aves infectadas por 28 linhagens de hemosporídeos, totalizando 151 eventos de interações parasito-hospedeiro (Figura 3) sendo 64 (42%) na estação chuvosa e 87 (58%) na estação seca (Figura 4). Para a riqueza de interações tivemos 52 pares distintos entre os dois gêneros estudados. *Plasmodium* foi o gênero que apresentou maior riqueza de linhagens 64% (18/28) enquanto que *Haemoproteus* apresentou 36% (10/28) das linhagens identificadas

(Figura 5). A β -diversidade temporal de interações parasito-hospedeiro não variou entre as estações (Tabela 2) e não foi afetada pela temperatura e precipitação (Tabela 2). As comparações para a par (tempo-tempo) das interações indicam que 51% da dissimilaridade temporal das interações é devido à troca de espécies (i.e., *turnover* de espécies) enquanto que 49% é ao rearranjo de interações entre parceiros que coocorrem temporalmente (i.e., *rewiring*).

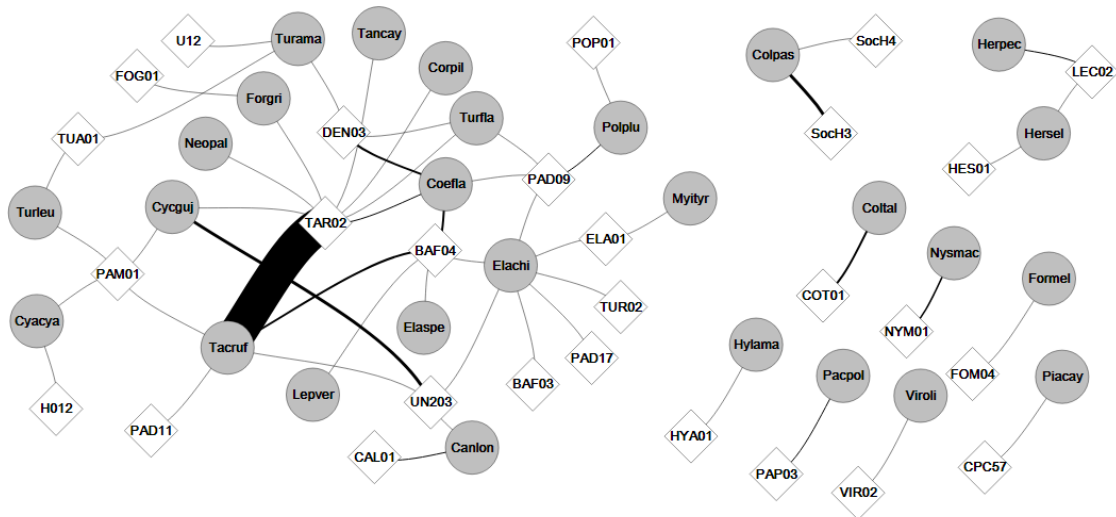


Figura 3 – Rede de todas interações observadas ao longo do trabalho, em que os círculos representam as espécies das aves e os losangos representam as linhagens dos parasitos.

Tabela 1. Combinações par a par e resultados da β -diversidade de interações. “ β_{WN} ” é a β -diversidade total de interações, “ β_{OS} ” é a β -diversidade de interações entre as espécies compartilhadas, que são responsáveis apenas pelas interações de rearranjo, e “ β_{ST} ” é a β -diversidade de interações causadas pela inserção/deleção de espécies.

Estações	Par a par	β_{WN}	β_{OS}	β_{ST}
1	Chuva1-Chuva2	0.95	0.88	0.06
2	Chuva1-Seca1	0.75	0.52	0.23
3	Chuva1-Seca2	0.85	0	0.85
4	Chuva2-Seca1	0.76	0.41	0.35
5	Chuva2-Seca2	0.9	0.5	0.4
6	Seca1-Seca2	0.79	0.14	0.65
Total		0.83	0.41	0.42

Já as redes que foram construídas a partir das matrizes agrupadas por estações (Figura 4), tiveram os valores médios para modularidade ($Q = 0.58$), um baixo aninhamento ($WNODF = 1.36$), uma alta especialização ($H2' = 0.75$) e uma baixíssima sobreposição de nicho entre os parasitos ($Horn = 0.04$). O aninhamento das redes, bem

como a especialização, e a sobreposição de nicho entre os parasitos, foram consistentes ao longo do tempo (i.e., não foram influenciados pelas estações) e não variaram com as oscilações de temperatura e precipitação ao longo das estações (Tabela 2, Figura 2). Em contrapartida, a modularidade não foi influenciada pela temperatura e precipitação, mas variou entre as estações, sendo maior na chuvosa 1 (Tabela 2).

Tabela 2 - Valores encontrados para as métricas estruturais das redes parasito-hospedeiro estudadas ao longo de dois anos.

Sazonalidade	Modularidade	Aninhamento ponderado	Especialização	Sobreposição de nicho
Chuvosa 1	0.64*	0.88*	0.77*	0.06*
Seca 1	0.59*	2.11*	0.79*	0.05*
Chuvosa 2	0.63*	2.44*	0.45*	0.05*
Seca 2	0.44	0*	1*	0*
Médias	0.58	1.36	0.75	0.04

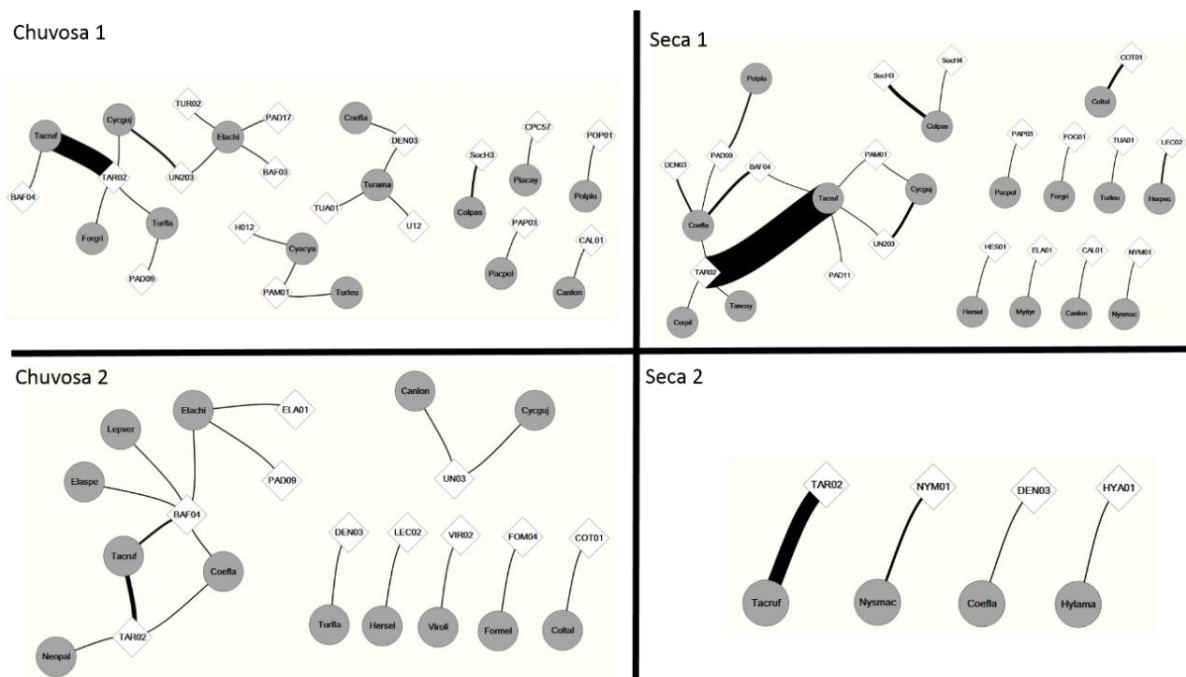
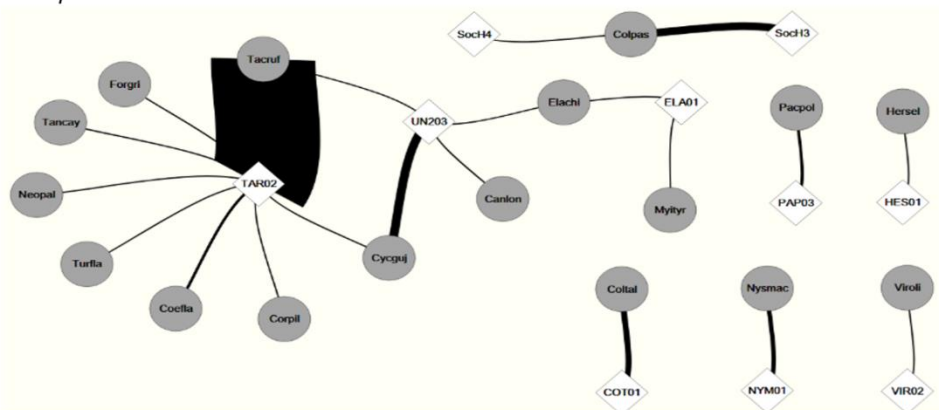


Figura 4. Interações parasito-hospedeiro identificadas nas diferentes estações.

Encontramos uma estrutura semelhante das redes parasito-hospedeiro de ambos os gêneros. Observamos uma modularidade (Q) que variou de 0.40 para *Plasmodium* a 0.42 para *Haemoproteus*. O aninhamento ponderado (WNODF) variou de 2.28 para *Plasmodium* a 4.05 para *Haemoproteus*. A especialização (H_2') variou de 0.63 para

Plasmodium a 0.88 para *Haemoproteus*. A sobreposição de nicho dos parasitos (Horn) variou de 0.02 a 0.06. Apesar da semelhança na estrutura geral dessas sub-redes, na rede de interações do gênero *Plasmodium*, (Figura 5) as linhagens de parasito que foram centrais (i.e., espécies que realizaram maior frequência de interações) em todos os períodos de amostragem foram: BAFLA04, DENPET03, LECOR02, PADOM09 e PALMIT01 (veja as espécies de parasitos na Tabela 3). Com relação aos hospedeiros dos parasitos do gênero *Plasmodium*, observamos as seguintes espécies centrais: *Coereba flaveola* (6%), *Elaenia chilensis* (3%), *Polioptila plumbea* (2%), *Tachyphonus rufus* (4%), e *Turdus leucomelas* (2%) (veja as espécies de hospedeiros na Tabela 4). Considerando as linhagens encontradas para o gênero *Haemoproteus*, encontramos apenas uma linhagem central de parasito (TARUF02) com 78 eventos de interação com o hospedeiro *Tachyphonus rufus* (52% do total de interações observadas). As espécies *Columbina passerina* (5%) e *Cyclarhis gujanensis* (5%), também foram centrais na rede de *Haemoproteus*.

Haemoproteus



Plasmodium

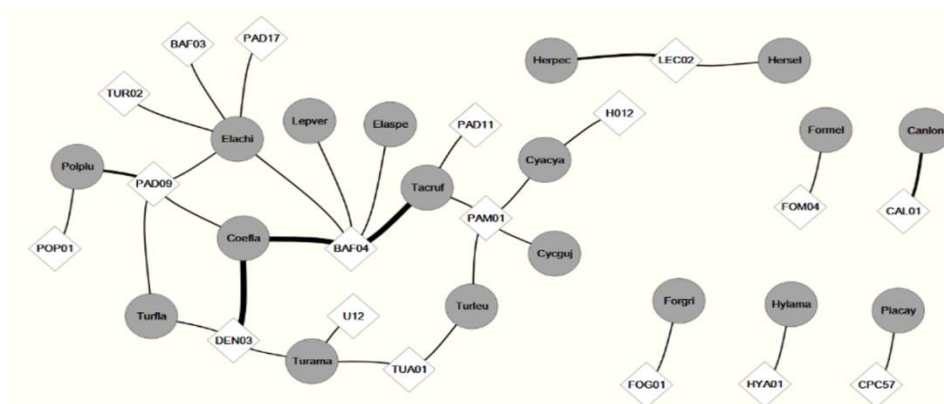


Figura 5. Rede de interações dos gêneros de parasitos *Haemoproteus* (A) e *Plasmodium* (B) ao longo dos dois anos de estudo.

Discussão

Nosso estudo propicia uma primeira análise da estruturação da comunidade de parasitos e aves com uso de rede de interações antagônicas em uma escala temporal em ambientes tropicais. No geral, encontramos redes de interações um tanto quanto consistente ao longo do tempo, sem que fatores abiótico influenciasses na dinâmica temporal e encontramos alta fidelidade das interações estabelecidas, fato descrito pelas métricas e pela contribuição das trocas de espécies.

A consistência da β -diversidade dos parasitos e hospedeiros foi constante ao longo do tempo. Esse padrão temporal não alterou de forma significativa ao longo das estações indicando que os indivíduos pertencentes àquela comunidade possuem consistência nas relações estabelecidas, sendo adaptados as condições ambientais proporcionadas pelo mesmo (Castilheiro, Santos-filho e Oliveira, 2016). Entretanto, a troca de espécies ao longo do tempo (i.e., 84% de *turnover*) é explicada pela influência da dinâmica de migração de algumas aves, como *Zenaida auriculata* e *Elaenia chilensis*, que exploram a região de estudo em épocas de reprodução (estação Chuvosa) (Alves 2007). A composição da comunidade de vetores está relacionada à dinâmica fenológica do vetor, que necessita de condições específicas para manutenção no ambiente e efetuar a transmissão dos parasitos, processo que deve ser melhor explorado em futuros estudos.

Já para as interações parasito-hospedeiros, observamos que o mecanismo de troca de espécies tanto de parasitos quanto dos hospedeiros ao longo do tempo foi mais determinante do que o rearranjo das interações entre espécies coocorrentes, sugere-se fidelidade das interações. Visto que o mecanismo de rearranjo não é o mais importante para dissimilaridade temporal, logo percebe-se que a comunidade apresenta-se especializada, assim, se há troca, troca-se o hospedeiro e, conseqüentemente, o parasito que interage com o mesmo. Em um trabalho que analisou a composição da β -diversidade entre polinizadores-plantas nas ilhas Canárias e tiveram a estruturação similar ao que encontramos, concluíram que a distância é responsável por reduzir a similaridade das plantas, dos polinizadores e com o aumento da distância as interações possuem menor fidelidade nas relações estabelecidas (Trøjelsgaard, 2014).

A alta especialização complementar das redes antagonistas estudadas e sua consistência temporal indicam que as espécies interagentes apresentam grande especificidade ao estabelecer suas interações e que os parasitos apresentam seletividade

em escolher a espécie de hospedeiro. Associações altamente especializadas como nesse caso, indicam que existem grupos de espécies que interagem mais entre si, e que estas carregam traços funcionais compatíveis entre as espécies, sendo assim as redes antagonicas mostram alta proximidade filogenética entre linhagens de parasitos e alta especialização em suas interações com hospedeiros (Svensson-Coelho et al., 2014).

Observamos alta modularidade nas redes de interações parasito-hospedeiro, indicando que, de modo geral, certos grupos de parasitos tendem a infectar determinados grupos de hospedeiros, corroborando a alta especialização complementar encontrada. Evidências recentes indicam que redes de interação entre morcegos e moscas parasitas são especializadas e modulares, sugerindo especificidade das moscas com relação a seus hospedeiros (Durán 2018).

As redes estudadas possuem baixo aninhamento e sobreposição de nicho, propriedades que foram constantes ao longo do tempo. Redes aninhadas apresentam propriedades biológicas importantes, tais como a presença de um núcleo de espécies generalistas (i.e., espécies centrais), aqui formado por parasitos e hospedeiros que tendem a interagir com espécies especialistas, padrão temporal já documentado em outros sistemas antagonistas, como redes planta-herbívoro (Kemp 2017). A baixíssima sobreposição de nicho entre os parasitos indica que há baixo compartilhamento de espécies de hospedeiros. A baixa sobreposição de nicho e sua consistência temporal em redes antagonistas também indica efeitos indiretos da competição, que conseqüentemente restringe o compartilhamento de recursos e promove alta fidelidade de hospedeiro por parte dos parasitos (Thébault e Fontaine, 2012).

As espécies centrais de parasitos nas redes, apresentam uma proximidade filogenética entre si justificando a formação de um núcleo coeso, em que as espécies que o compõem tendem a interagir mais entre si (Rodrigues em preparação). Tal fato se dá pela especialização dos parasitos em escolher seus hospedeiros, tornando o sistema redundante à perda de espécies ou interações, evidenciando uma história evolutiva entre os parasitos e seus hospedeiros (Bascompte e Jordano, 2003). Os pares de espécies mais representativos ao longo do tempo se mantiveram para ambos os gêneros, a similaridade das sub-redes se dá fato da maioria das espécies de aves serem presentes o ano inteiro, salvo poucas espécies migratórias. Essa centralidade para os hospedeiros está relacionada a história das aves que possuem traços funcionais similares, tais como *Cantorchilus longirostris* e *Formicivora grisea* que utilizam pequenos frutos e artrópodes como recurso

alimentar, e utilizam o sub-bosque da floresta, local onde muitas das vezes os vetores responsáveis pela transmissão dos parasitos se reproduzem. A proximidade funcional das guildas alimentares das aves já é *descrito* na literatura como um fator responsável pela manutenção da vida dos parasitos bem como na estruturação das redes (Dallas e Cornelius, 2015).

A alta fidelidade entre os hospedeiros e seus parasitos indica que o sistema estudado é coeso, em que as espécies que interagem desenvolvem coevoluções ao longo do tempo que permitem os mesmos em viver em harmonia, tal fato se justifica pela maior interação entre determinadas espécies em que o parasito não tem tanto sucesso de óbito do hospedeiro (Thompson, 1999). As métricas de redes de interação entre parasitos e seus hospedeiros, parece ser um padrão comum em sistemas antagonistas, tais como associações entre peixes e parasitos (Lima *et al.*, 2012) e mamíferos e ectoparasitos (Graham, 2009). A estabilidade temporal das redes, podem ser mecanismo chave para a manutenção dessas interações, que podem ser importante num contexto evolutivo dos parasitos bem como dos hospedeiros.

Considerações finais

A β -diversidade dos parasitos e hospedeiros é consistente na Mata Atlântica ao longo do tempo, em que a troca de espécies é o fator mais importante na estruturação desta comunidade, sendo ele influenciado pelas aves migratórias que utilizam esta área em determinadas épocas do ano.

Já as redes antagonistas entre parasitos-hospedeiros possuem alta especificidade nas interações estabelecidas ao longo do tempo, associações muito coesas as quais não são afetadas pela sazonalidade e variações abióticas locais. Apesar da inserção de novas espécies na comunidade ter maior contribuição na dissimilaridade, o rearranjo também apresentou contribuições significativas, fato ainda não descrito na literatura para redes antagonistas

Os resultados aqui obtidos podem ser consistentes para outros sistemas antagonistas, tais como interações predador-presa e planta-herbívoro. Assim, esses achados podem dar suporte para a solução de problemas globais atuais, tais como os que envolvem agentes patogênicos emergentes que atualmente ameaçam a saúde dos ecossistemas.

Referências

- Almeida-Neto M, Ulrich W. A straightforward computational approach for measuring nestedness using quantitative matrices. *Environ Model Softw.* Elsevier Ltd; 2011; 26: 173-178.
- Alvares, C. A. (2014) “Köppen’s climate classification map for Brazil,” *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), pp. 711–728. doi: 10.1127/0941-2948/2013/0507.
- ALVES, M.A.S. (2007). Sistemas de migrações de aves em ambientes terrestres no Brasil: exemplos, lacunas e propostas para o avanço do conhecimento. Ararajuba: revista brasileira de ornitologia 15(2):231-238.
- Bascompte, J., Jordano, P. and Melia, C. J. (2003) “The nested assembly of plant – animal mutualistic networks,” 100(16), pp. 9383–9387.
- Batagelj V, Mrvar A. Pajek(1998) - a program for large network analysis. *Connections*. 21: 47-57. Available:<http://vlado.fmf.uni-lj.si/pub/networks/pajek/>
- Braga, É. M. *et al.* (2011) “Recent advances in the study of avian malaria: An overview with an emphasis on the distribution of *Plasmodium* spp in Brazil,” *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 106(SUPPL. 1), pp. 3–11. doi: 10.1590/S0074-02762011000900002.
- Candolin, U. and Voigt, H. (2001) “Correlation between male size and territory quality : consequence of male competition or predation susceptibility ?,” 2(May), pp. 225–230.
- CaraDonna, P. J. *et al.* (2017) “Interaction rewiring and the rapid turnover of plant–pollinator networks,” *Ecology Letters*, 20(3), pp. 385–394. doi: 10.1111/ele.12740.
- Castilheiro, W, Santos-filho, M. and Oliveira, R. F. De (2016) “BETA DIVERSITY OF BIRDS (Passeriformes , Linnaeus , 1758) IN SOUTHERN, *Cienc. anim. bras.*, Goiânia, v.18, 1-18, e-40703, doi: 10.1590/1089-6891v18e-40703.
- Cheeseman, K., Weitzman, J. B. and Diderot, Cellular Microbiology (2015) “Microreview Host – parasite interactions : an intimate epigenetic relationship,” 17, pp. 1121–1132. doi: 10.1111/cmi.12471.
- CONAMA (1996) *Resolução Nº 07, DE 23 de julho de 1996.*
- Dallas, T. and Cornelius, E. (2015) “Co-extinction in a host-parasite network : identifying key hosts for network stability,” *Nature Publishing Group.* Nature Publishing Group, pp.

1–10. doi: 10.1038/srep13185.

Dick, C. W. and Patterson, B. D. (2007) “Against all odds : Explaining high host specificity in dispersal-prone parasites,” 37, pp. 871–876. doi: 10.1016/j.ijpara.2007.02.004.

Dormann CF, Strauss R. (2014) A method for detecting modules in quantitative bipartite networks. Peres-Neto P, editor. *Methods Ecol Evol.*; 5: 90-98.

Fallon, A. 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.

Gonzalez-quevedo, C.; Davies, R.G. & Richardson, D.S (2014). Predictors of malaria infection in a wild bird population: landscape-level analyses reveal climatic and anthropogenic factors. *Journal of Animal Ecology*, v. 83, p. 1091–1102.

Graham, C. H. et al. (2006). Habitat history improves prediction of biodiversity in rainforest fauna. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 103: 632-636

Hellgren, O., Waldenström, J. and Bensch, S. (2004). A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *Journal of Parasitology* 90, 797–802. doi: 10.1645/GE-184R1.

Ings, T.C., Montoya, J.M., Bascompte, J., Bluthgen, N., Brown, L., & Dormann, C.F. et al. (2009). Ecological networks - beyond food webs. *J. Anim. Ecol.*, 78, 253–269.

Kemp, J. E. *et al.* (2017) “Invariant antagonistic network structure despite high spatial and temporal turnover of interactions,” (September 2016), pp. 1315–1324. doi: 10.1111/ecog.02150. Fischer, A. G. 1960. Latitudinal variations in organic diversity. *Evolution* 14:64–81.

Keymer, A.E. e Anderson, R.M. (1979). The dynamics of infection of *Tribolium confusum* by *Hymenolepis diminuta*: the influence of infective-stage density and spatial distribution. *Parasitology*, v. 79, p. 195–207, 1979.

Knowles, S. C. L., Palinauskas, V. and Sheldon, B. C. (2010) “Chronic malaria infections increase family inequalities and reduce parental fitness : experimental evidence from a wild bird population,” 23(1982), pp. 557–569. doi: 10.1111/j.1420-9101.2009.01920.x.

Lima, D. P. *et al.* (2012) “Patterns of interactions of a large fish – parasite network in a tropical floodplain,” pp. 1–9. doi: 10.1111/j.1365-2656.2012.01967.x.

MacArthur, R. (2014) “Fluctuations of Animal Populations and a Measure of Community Stability,” 36(3), pp. 533–536.

Michael Staab (2016) “Journal of Plant Ecology Advance Access published February 29, 2016,” (0), pp. 1–36.

Møller, A. P. (2010). Host-parasite interactions and vectors in the barn swallow in relation to climate change. *Global Change Biology* 16, 1158–1170. doi: 10.1111/j.1365-2486.2009.02035.x.

Oksanen J, F. Guillaume Blanchet RK, Legendre P, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL(2016), et al. *vegan:Community Ecology Package*. <https://cran.r-project.org/package=vegan>

Pilosof S.(2014) “Potential parasite transmission in multi-host networks based on parasite sharing.”

R Development Team. (2018) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing; 2015.

Sambrook, J. and Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning : a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sanguinetti CJ, Neto ED, Simpson AJG (1994) Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. *Biotechniques*, 17:915-919.

Sehgal, R.N.M (2010) Deforestation and avian infectious diseases. *The Journal of Experimental Biology*, v. 213, p. 955-960.

Society, E. (2013) “THE MEASUREMENT OF NICHE OVERLAP AND SOME RELATIVES ’,” 59(1), pp. 67–77.

Svensson, C M., Ellis V, Bette A. Loiselle, John G. Blake e Robert E. Ricklefs (2014) “Reciprocal Specialization in Multihost Malaria Parasite Communities of Birds : A Temperate- Tropical Comparison The University of Chicago,” (October). doi: 10.1086/678126.

Thébault, E. and Fontaine, C. (2012) “Stability of Ecological Communities and the Architecture of Mutualistic and Trophic Networks” 853(2010). doi: 10.1126/science.1188321.

Thompson, J. N. (1999). *The Evolution of Species Interactions*. *Science*, 284(5423),

2116–2118.doi:10.1126/science.284.5423.2116

Trøjelsgaard K, Jordano P, Carstensen DW, Olesen JM. (2015) Geographical variation in mutualistic networks: similarity, turnover and partner fidelity. *Proc. R. Soc. B* 282: 20142925.<http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2014.2925>

Tylianakis, J.M., Laliberte', E., Nielsen, A., Bascompte, J., (2010). Conservation of species interaction networks. *Biol. Conserv.* 143, 2270–2279. -Minchella, D. J. and Scott, M. E. (1991) "Parasitism : A Cryptic Determinant of Animal Community Structure," 6(8).

Valkiunas, G. (2005) *Avian Malaria Parasites and other Haemosporidia*. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Warner EA. The role of introduced diseases in the extinction of the endemic Hawaiian avifauna. *The condor*, 70(2): 101-120, 1986.

Tabelas

Tabela 3 – Linhagens de parasitos identificadas, respectivas estações em que foram encontradas e a identificação da sequência depositada no Genbank.

Linhagem de Parasitos	Gênero	Chuvosa	Seca	Seq Genbank
BAFLA03	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264393
BAFLA04	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264394
CALON01	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK291501
COTAL01	<i>H. Haemoproteus</i>	x	x	MK264395
CPCT57	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264392
DENPET03	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264396
ELALB01	<i>H. Parahaemoproteus</i>	x	x	MK264397
FOGRI01	<i>P. Plasmodium</i>		x	MK291502
FOMEL04	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK291503
H012	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264398
HYAMA01	<i>P. Plasmodium</i>		x	MK291505
LECOR02	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264399
NYMAC01	<i>H. Parahaemoproteus</i>		x	MK291506
PADOM09	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264400
PADOM11	<i>P. Plasmodium</i>		x	MK264401
PADOM17	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264402
PAMIT01	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264403
PAPOL03	<i>H. Parahaemoproteus</i>	x	x	MK264404
POPLU01	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK291507
SocH3	<i>H. Haemoproteus</i>	x	x	MK264405
SocH4	<i>H. Haemoproteus</i>		x	MK264406
TARUF02	<i>H. Parahaemoproteus</i>	x	x	MH260577
TUAMA01	<i>P. Plasmodium</i>	x	x	MK264407
TURNUD02	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264408
U12	<i>P. Plasmodium</i>	x		MK264409
UN203	<i>H. Parahaemoproteus</i>	x	x	MK264410
VIREO02	<i>H. Parahaemoproteus</i>	x		MK264411

Tabela 4 – Espécies de aves identificadas e as respectivas estações em que foram encontradas.

Espécies de Aves	Chuvosa	Seca
<i>Basileuterus culicivorus</i>	x	x
<i>Camptostoma obsoletum</i>	x	x
<i>Cantorchilus longirostris</i>	x	x
<i>Chiroxiphia pareola</i>	x	x
<i>Cnemotriccus fuscatus</i>	x	x
<i>Coccyzus melacoryphus</i>	x	x
<i>Coereba flaveola</i>	x	x
<i>Columbina passerina</i>	x	x
<i>Columbina picui</i>		x
<i>Columbina talpacoti</i>	x	x
<i>Coryphospingus pileatus</i>	x	x
<i>Cyanerpes cyaneus</i>		x
<i>Cyanocorax cyanopogon</i>	x	
<i>Cyanoloxia brissonii</i>	x	x
<i>Cyclarhis gujanensis</i>	x	x
<i>Dacnis cayana</i>	x	x
<i>Dendroplex picus</i>		x
<i>Elaenia chilensis</i>	x	x
<i>Elaenia chiriquensis</i>	x	x
<i>Elaenia cristata</i>	x	x
<i>Elaenia flavogaster</i>	x	x
<i>Elaenia spectabilis</i>	x	x
<i>Empidonomus</i>	x	
<i>Empidonomus varius</i>	x	
<i>Euphonia chlorotica</i>	x	x
<i>Euscarthmus meloryphus</i>		x
<i>Formicivora grisea</i>	x	x
<i>Formicivora melanogaster</i>	x	x
<i>Galbula ruficauda</i>		x
<i>Hemitriccus margaritaceiventer</i>	x	x
<i>Herpsilochmus pectoralis</i>	x	x
<i>Herpsilochmus sellowi</i>	x	x
<i>Hydropsalis torquata</i>	x	x
<i>Hylophilus amaurocephalus</i>	x	x
<i>Leptotila verreauxi</i>	x	x
<i>Mimus gilvus</i>	x	
<i>Myiarchus ferox</i>	x	
<i>Myiarchus tyrannulus</i>	x	x
<i>Myiodynastes maculatus</i>	x	

<i>Myiopagis viridicata</i>		x
<i>Myiothlypis flaveola</i>	x	x
<i>Neopelma pallescens</i>	x	x
<i>Nyctidromus albicollis</i>	x	x
<i>Nystalus maculatus</i>	x	x
<i>Pachyramphus polychopterus</i>	x	x
<i>Phaeomyias murina</i>	x	x
<i>Piaya cayana</i>	x	x
<i>Picumnus fulvescens</i>	x	x
<i>Pitangus sulphuratus</i>	x	x
<i>Polioptila plumbea</i>	x	x
<i>Procacicus solitarius</i>	x	x
<i>Schistochlamys ruficapillus</i>	x	x
<i>Sporophila albogularis</i>	x	
<i>Synallaxis frontalis</i>		x
<i>Synallaxis scutata</i>		x
<i>Tachyphonus rufus</i>	x	x
<i>Tangara cayana</i>	x	x
<i>Tangara palmarum</i>		x
<i>Tangara sayaca</i>	x	x
<i>Taraba major</i>	x	x
<i>Thamnophilus doliatus capistratus</i>	x	x
<i>Thamnophilus pelzelni</i>		x
<i>Tolmomyias flaviventris</i>	x	x
<i>Troglodytes musculus</i>	x	
<i>Trogon curucui</i>	x	x
<i>Turdus amaurochalinus</i>	x	x
<i>Turdus flavipes</i>	x	x
<i>Turdus leucomelas</i>	x	x
<i>Turdus rufiventris</i>	x	
<i>Vireo olivaceus</i>	x	x