

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
FUNDAÇÃO PARQUE ZOOLOGICO DE SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA

RAFAELA GUIMARÃES SANCHIOLI

**INTERAÇÕES ENTRE AVES DE VIDA LIVRE E O PLANTEL DE AVES EM
UM ZOOLOGICO NO SUDESTE DO BRASIL: RISCO DE TRANSMISSÃO DE
AGENTES PATOGÊNICOS**

São Carlos
2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
FUNDAÇÃO PARQUE ZOOLOGICO DE SÃO PAULO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CONSERVAÇÃO DA FAUNA

RAFAELA GUIMARÃES SANCHIOLI

**INTERAÇÕES ENTRE AVES DE VIDA LIVRE E O PLANTEL DE AVES EM
UM ZOOLOGICO NO SUDESTE DO BRASIL: RISCO DE TRANSMISSÃO DE
AGENTES PATOGÊNICOS**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Conservação da Fauna, para
obtenção do título de Mestre em
Conservação da Fauna.

Orientação: Prof. Dr. Augusto João
Piratelli

São Carlos
2018

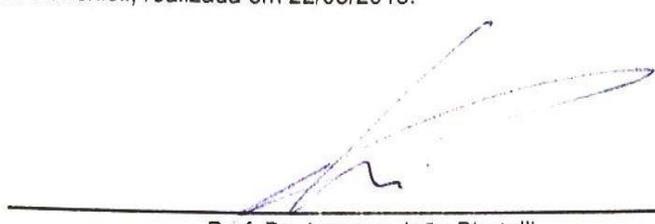


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Conservação da Fauna

Folha de Aprovação

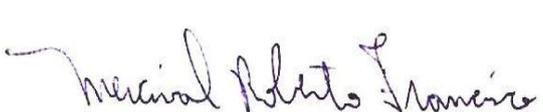
Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Rafaela Guimarães Sanchioli, realizada em 22/05/2018:



Prof. Dr. Augusto João Piratelli
UFSCar



Prof. Dr. Marcos Tokuda
PZMQB



Prof. Dr. Mercival Roberto Francisco
UFSCar

ÍNDICE

INTRODUÇÃO GERAL.....	6
ARTIGOS PRODUZIDOS.....	7
ABSTRACT.....	7
RESUMO.	8
KEYWORDS.....	8
INTRODUÇÃO	9
MÉTODOS.....	11
RESULTADOS.....	15
DISCUSSÃO.....	18
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	22
AGRADECIMENTOS.....	22
REFERÊNCIAS.....	23
APÊNDICES.....	27

Agradecimentos

Sou muita grata a várias pessoas queridas que contribuíram direta e indiretamente na realização deste trabalho. Agradeço ao professor Piratelli por aceitar meu pedido de orientação, por ser um exemplo de orientador e realmente “vestir a camisa” de todos os projetos que orienta. Agradeço, também, ao Parque Zoológico Quinzinho de Barros pela parceria e nos receber tão bem em todas as visitas para coleta de dados; à Dra. Virgínia Léo e Dra. Nádia Almosny pela atenção recebida e pela indicação do trabalho à Dra. Terezinha Knöb, a quem agradeço, enormemente, pela parceria e por “abrir as portas” do Departamento de Patologia, e ao doutorando Marcos Cunha pelas orientações e participação nas análises laboratoriais. Sou grata, também, ao Genoma Diagnóstico Veterinário e Fundação S.O.S. Mata Atlântica pela colaboração; ao ICMBio, Secretaria Municipal de Meio Ambiente de Sorocaba e ao Comitê de Ética da UFSCar pelas permissões concedidas. Agradeço, ainda, à Fundação Parque Zoológico de São Paulo e Universidade Federal de São Carlos por permitir a pesquisa através do mestrado profissional e aos amigos que o curso me trouxe. Por fim, agradeço de coração à minha família e minha querida mãe, Jadecir, por compreender minha ausência e ao meu companheiro André por estar presente durante todas as fases do trabalho.

Introdução Geral

Espécies de aves silvestres possuem diferentes microrganismos em sua microbiota, e alguns deles podem apresentar patogenicidade e causar infecção nos indivíduos portadores (Medina-Vogel 2010). O contato entre aves silvestres de vida livre e aves cativas favorece a transmissão destes agentes patogênicos entre as espécies (Orsini & Bondan 2006).

O risco de transmissão de agentes patogênicos de animais domésticos para populações de animais silvestres, também chamada de “*spillover*”, é uma preocupação crescente (Aguirre-Macedo & Kennedy 1999). Trabalhos recentes identificaram aves silvestres de vida livre soropositivas para o vírus da doença de Newcastle, a qual pode acometer aves silvestres cativas em contato com aves livres infectadas (Garcia et al. 2013). Trabalhos recentes identificaram aves silvestres de vida livre soropositivas para o vírus da doença de Newcastle, a qual pode acometer aves silvestres cativas em contato com aves livres infectadas (Garcia et al. 2013). Já foram registrados riscos de transmissão do vírus da raiva pelo contato entre morcegos e mamíferos de cativeiro (Felipe & Helio 2014) e de leptospirose de roedores para recintos de animais cativos (Machado et al. 2010). Espécies de mamíferos selvagens em cativeiro, como também aves de hábitos carnívoros, podem ser susceptíveis à infecção por toxoplasmose através do contato com gatos domésticos errantes e outros animais sinantrópicos (Vitaliano et al. 2004; Fornazari et al. 2011). Os ciconiiformes foram estudados como possíveis agentes disseminadores das salmonelas (Yorio & Giaccardi 2002) para fauna silvestre de vida livre (Henandez-Divers et al. 2006) e de cativeiro (Gopee et al. 2000).

Embora seja comum a observação de animais silvestres, domésticos e sinantrópicos nas dependências de parques zoológicos (Silva et al. 2010), estudos que investiguem este contato ainda são pouco realizados. O presente trabalho objetiva fornecer novas informações sobre estas relações através da análise de uma rede interações e identificação de microrganismos presentes nas espécies de vida livre que adentram os recintos. As observações das interações entre aves cativas e de vida livre podem elucidar a dinâmica ecológica destas relações interespecíficas, e a coleta de material biológico pode auxiliar na compreensão do impacto dessas interações.

Artigos Produzidos

Este trabalho teve como resultado a produção de um manuscrito intitulado **Interações entre aves de vida livre e o plantel de aves em um zoológico no sudeste do Brasil: risco de transmissão de agentes patogênicos**, o qual será submetido para publicação na revista *Ornitologia Neotropical*.

Research Paper

Interações entre aves de vida livre e o plantel de aves em um zoológico no sudeste do Brasil: risco de transmissão de agentes patogênicos

Abstract. - **Interactions between free-lived and captive birds in a Zoo in Southeastern Brazil: risk of transmission of pathogens.** - Ex-situ conservation has become a common strategy, often used to save threatened species from extinction. However, captive animals are exposed to the risk of pathogenic transmission, both by domestic and wild free-living animals. This study aimed to sample free-lived wild birds found in bird enclosures in a zoo park in southeastern Brazil, assessing the risk of transmission of pathogens. We proceeded focal observations in all bird enclosures to identify the most visited ones and to study the behavior of visitors. We analyzed an interaction network to estimate the interactivity between free-living and captive animals. Next, we settled mist nets near the precincts with the highest frequency of visitation, to capture free-lived birds and collect biological samples. The network of interactions was represented by 14 visitor species and 10 visited enclosures. *Passer domesticus* and *Columbina talpacoti* were the most frequent visitors. Foraging on the ground and foraging on feeders were the most-frequent observed behaviors. The network presented low connectivity (26%) and a nested pattern (NODF = 53.39, $p = 0$). We captured 56 free-living birds from four species and collected 68 biological samples. *Escherichia coli* was the most frequently isolated agent (63.6%). Although enterobacteria were regularly identified in the collected samples, the impact of this relationship could not be directly measured. However, we have shown a latent risk of pathogen transmission, due to regularity and visit behavior of some free-lived bird species, which frequently host enterobacteria and intestinal parasites.

Resumo. - A conservação ex situ tornou-se uma estratégia comum, frequentemente utilizada para salvar espécies ameaçadas da extinção. No entanto, os animais em cativeiro estão expostos ao risco de transmissão patogênica, tanto por animais domésticos como por animais silvestres. Este estudo teve como objetivos amostrar aves silvestres de vida livre encontradas em recintos de aves em um parque zoológico no sudeste do Brasil, avaliando o risco de transmissão de patógenos. Realizamos

observações focais em todos os recintos de aves para identificar os mais visitados e o comportamento dos visitantes. Para estimar a interatividade entre animais livres e cativos, analisamos uma rede de interações. Em seguida, instalamos redes de neblina perto dos recintos mais visitados para capturar aves de vida livre e coletar amostras biológicas. A rede de interações foi representada por 14 espécies de visitantes e 10 recintos visitados. *Passer domesticus* e *Columbina talpacoti* foram os visitantes mais frequentes. Forrageamento no solo e forrageamento no comedouro foram os comportamentos mais observados. A rede apresentou baixa conectividade (26%) e um padrão aninhado (NODF = 53,39, $p = 0$). Capturamos 56 aves de vida livre de quatro espécies e coletamos 68 amostras biológicas. *Escherichia coli* foi o agente mais isolado (63,6%). Embora tenham sido identificadas enterobactérias nas amostras coletadas, o impacto direto desta relação não pode ser mensurado. Porém, evidenciamos um risco latente de transmissão de patógenos, pela frequência e comportamento de visitação de algumas espécies de vida livre, as quais frequentemente hospedam enterobactérias e parasitas intestinais.

Key words: Brazil, zoo park, ex situ conservation, interspecific relationship, interaction network, pathogens.

INTRODUÇÃO

A perda da biodiversidade é uma das crises mundiais mais dramáticas da atualidade, com redução de habitats e espécies a taxas alarmantes (Peres 2011, Dirzo et al. 2014), sendo a velocidade das extinções determinísticas considerada até mil vezes maior do que as extinções estocásticas (Pimm et al. 1995). Dentre as principais causas da perda da biodiversidade, a redução e fragmentação de ambientes naturais, o uso excessivo dos recursos naturais, a introdução de espécies exóticas, as mudanças climáticas, a caça e o comércio ilegal apresentam grande influência no processo (Diamond et al. 1989; Meyerson & Mooney 2007; Muylaert et al. 2016; Benítez-López et al. 2017). As diferentes pressões geradas sobre os recursos naturais dilapidam comunidades biológicas e apresentam implicações diretas sobre o equilíbrio dos ecossistemas mundiais (Ross 2012; Johnson et al. 2017).

Com a perda de ambientes naturais, muitas espécies não conseguem se adaptar às novas condições do meio, ameaçando sua sobrevivência e resultando em extinções (Ross 2012). Assim, a criação e reprodução de animais silvestres em cativeiro (conservação ex situ) podem colaborar com as medidas de conservação in situ. (Francisco & Silveira 2013). Há uma estimativa de que, nos próximos 200 anos, até três mil espécies de vertebrados terrestres dependerão da conservação ex situ para não serem extintas (Frankham 2005). Embora o termo “conservação ex situ” tenha sido difundido somente na década de 80, o histórico de táxons criticamente ameaçados salvos da extinção pelo resgate de indivíduos na natureza, bem como a reprodução em cativeiro, são muito anteriores (Francisco & Silveira 2013). Diversas espécies extintas na natureza, como o Condor da Califórnia (*Gymnogyps californianus*) (Blanco et al. 2009), a Ararinha Azul (*Cyanopsitta spixi*) (Monteiro 2015) e o Mutum-de-Alagoas (*Pauxi mitu*) (Francisco & Silveira 2013), só não deixaram de existir graças aos esforços da conservação em cativeiro (Frankham 2005).

Considerando a conservação ex situ como uma das formas de salvar espécies ameaçadas de extinção, os jardins zoológicos podem adotar a reprodução em cativeiro como uma importante ferramenta para tal fim (Skibins et al. 2017). Além de serem considerados centros de conservação, os zoológicos modernos devem oferecer ao público um maior conhecimento sobre os animais e as formas com que as pessoas podem contribuir com a sobrevivência de espécies ameaçadas (Ballantyne et al. 2007), trazendo a questão da conservação ao grande público (Carr & Cohen 2015). Por outro lado, animais silvestres mantidos em cativeiro são especialmente expostos a fatores estressantes, em decorrência dos recintos não representarem ambientes semelhantes a seus habitats naturais (Primack & Rodrigues 2001; Young 2003). O contato com outras espécies selvagens, assim como espécies domésticas e sinantrópicas, pode impactar nas condições sanitárias gerais dos animais cativos, tanto pela competição por alimento disponível no recinto, como pelo risco da transmissão de patógenos (Primack 2010).

O tamanho do recinto, o tipo de alimentação, a fonte de fornecimento de água e a presença de contactantes externos, podem induzir os animais cativos ao estresse e favorecer a disseminação e proliferação de doenças parasitárias (Snak et al. 2014). Desta forma, a investigação de microrganismos Gram-negativos e análises coproparasitológicas em aves de vida livre poderão elucidar o potencial de risco de transmissão destes patógenos aos animais de cativeiro que entrarem em contato com a avifauna livre. Embora os animais de cativeiro possuam limites como grades ou muros para delimitar o seu espaço e impedir sua fuga, eles são expostos ao contato com espécies silvestres de vida livre, predispondo-os a agentes infecciosos e doenças com danos severos (Silva 2008).

Através da identificação de espécies silvestres que são comumente encontradas em ambientes que abrigam animais silvestres, como o caso de parques zoológicos, seria possível uma avaliação da problemática do impacto que este contato direto pode apresentar para as espécies selvagens. Além da investigação sobre fatores de ameaça à saúde dos animais cativos, a identificação das espécies de vida livre que apresentam maior frequência de contato com os animais silvestres de cativeiro também é de grande importância para a elaboração de ações conservacionistas que objetivem a redução dos efeitos negativos desta relação.

Embora existam registros de transmissão de agentes patogênicos entre animais de vida livre e animais de cativeiro, são escassas as informações relacionadas ao entendimento destas relações interespecíficas. Já foram realizados estudos investigando a presença de bactérias patogênicas em ninhos de *P. domesticus* (Kozłowski et al. 1991; Dolejska et al. 2008; Vilela et al. 2012), os quais podem disseminar tais agentes durante contato com aves de cativeiro. Garças e cegonhas foram estudadas como possíveis transmissores de salmonelas para aves de vida livre (Henandez-Divers et al. 2006) e de cativeiro (Gopee et al. 2000).

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo que investiga o impacto destas interações através da interpretação de uma rede de interações e pela pesquisa de possíveis agentes patogênicos transmissíveis entre tais espécies. O presente estudo tem como objetivos realizar o levantamento da avifauna silvestre de vida livre encontrada em recintos de aves cativas e investigar o risco de transmissão de possíveis patógenos. Especificamente, pretendemos: (a) identificar as espécies de aves silvestres de vida livre encontradas em recintos de aves cativas; (b) avaliar a frequência e abundância das espécies silvestres de vida livre em contato com as aves cativas; (c) avaliar a ocorrência de enterobactérias e parasitas gastrointestinais na avifauna de vida livre que adentra o recinto das aves cativas e (d) avaliar se há risco de transmissão de agentes patogênicos entre aves de vida livre e aves de cativeiro.

MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDO. O presente estudo foi realizado no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros (doravante PZMQB), situado no município de Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil ($23^{\circ}30'25,34''S$; $47^{\circ}26'17,22''O$) (Figura 1). O parque possui mais de 128 mil metros quadrados e é cercado por lagos e fragmento de mata secundária mista, caracterizada pela transição entre Mata Atlântica e Cerradão (Smith et al. 2014). Inserido em um fragmento urbano do município de Sorocaba (Moraes & Almeida 2010) e cercado por uma área verde, o PZMQB também é uma rota de passagem de aves silvestres de vida livre, sendo muito comum a observação destas espécies nas próprias dependências do Parque Zoológico. Alguns animais conseguem adentrar os recintos dos animais cativos em busca de abrigo, água ou alimento (Pessutti et al. 2014).

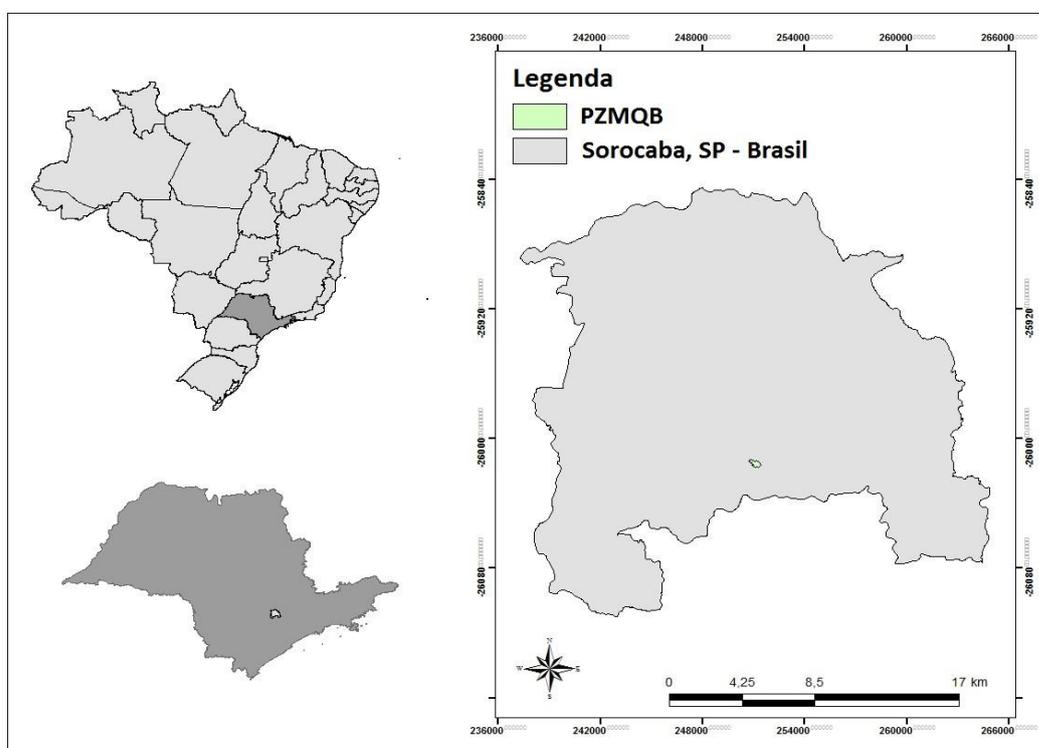


Figura 1. Localização do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, Brasil.

Fonte: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE

ABUNDÂNCIA E DIVERSIDADE DOS VISITANTES. Inicialmente, foram realizadas observações focais em todos os recintos das aves para a identificação daqueles que eram mais visitados pelas aves de vida livre que frequentam o PZMQB. A seguir, os recintos com maior visitação foram selecionados para avaliação do risco de transmissão de patógenos, considerando-se a intensidade e a frequência de visitação dos animais de vida livre. Para esses, foram observados os

comportamentos dos animais e suas interações com os recintos (Figura 2A). As interações foram representadas através do tipo de ação observada pela ave de vida livre no recinto. Foram reconhecidas sete diferentes interações: forrageio do chão; forrageio do comedouro; forrageio do chão e comedouro; ave pousada na grade do recinto; ave pousada em árvore do recinto; utilizando água do recinto e retirando alimento do recinto. Além do tipo de interação observada, também foram registrados o recinto visitado, espécie visitante, número de indivíduos visitantes e o tempo de interação (em segundos). Os métodos empregados no registro de abundância e diversidade foram baseados na observação direta das espécies que adentravam os recintos, durante o período total de quatro meses (fevereiro a maio de 2017), três vezes por semana. Cada recinto foi observado durante 20 minutos por dia. A sequência das observações seguiu um modelo aleatório, onde cada dia a observação iniciava em um recinto diferente.

AMOSTRAS BIOLÓGICAS. Para a captura das aves de vida livre e coleta de amostras biológicas, foram instaladas três redes de neblina (10 x 2m; 32 mm de malha) (Figura 2B) próximas aos recintos com maior frequência de visitação. As coletas foram realizadas às segundas-feiras (dias em que o PZMQB é fechado à visitação pública) semanalmente, durante o período de três meses (junho a agosto de 2017). Cada indivíduo capturado foi acondicionado individualmente em sacos de pano e pesado com balanças do tipo dinamômetro (Pesola®) de 10-50g com precisão de 0,5-0,1g.

Para individualização e controle das coletas, as aves foram marcadas com um corte na extremidade de uma ou duas retrizes (Figura 2C). Os indivíduos receberam um código de identificação de acordo com as penas marcadas. Após a marcação da pena, foi feito o registro da ave capturada, anotando-se o nome da espécie, a identificação de acordo com a marcação da pena, sexo, data, local e peso. Para indivíduos recapturados, os mesmos procedimentos de coleta de material e anotação de dados foram realizados.

Após avaliação do estado clínico geral dos indivíduos capturados, pela verificação do escore corporal e hidratação das aves, foram coletadas amostras biológicas a partir de swabs (hastes flexíveis de plástico com algodão estéril em somente uma extremidade, utilizada para coleta de material para cultura bacteriológica) (Figura 2D) de cloaca para análise microbiológica através de isolamento bacteriano.

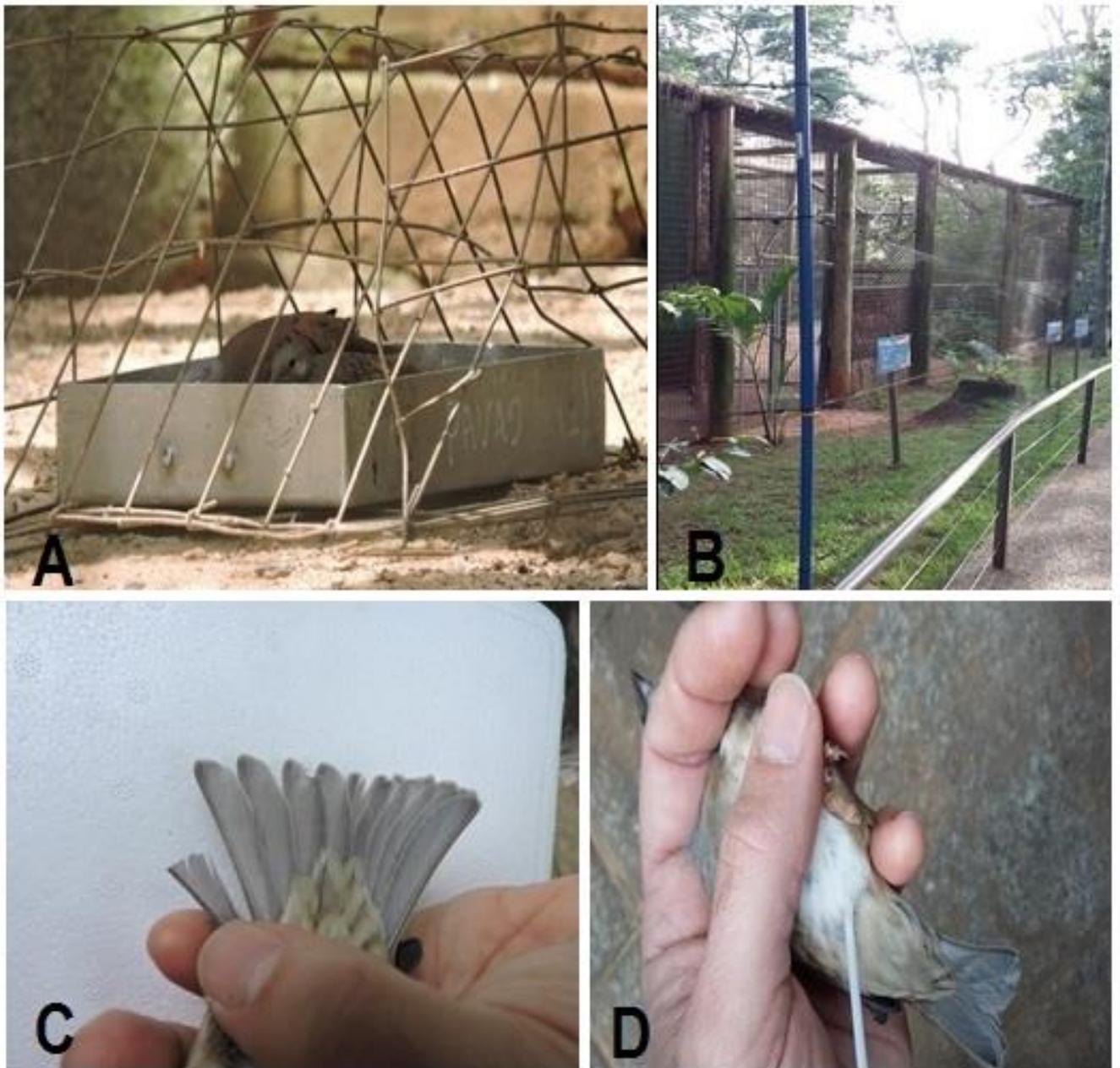


Figura 2. (A) *Columbina talpacoti* forrageando em comedouro no recinto de *A. hyacinthinus* e *Pavo cristatus* no Parque Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, Brasil. (B) Redes-de-neblina instaladas próximas aos recintos dos psitacídeos. (C) Corte de retriz em *Passer domesticus* para marcação do indivíduo capturado. (D) Coleta de material biológico em *Passer domesticus* através de swab cloacal.

As amostras foram acondicionadas em tubos de meio de transporte Stuart e refrigeradas até posterior análise. As fezes encontradas nos sacos de contenção foram, logo após a retirada da ave imobilizada, armazenadas refrigeradas até encaminhamento para análise coproparasitológica. As amostras microbiológicas foram analisadas no laboratório do Departamento de Patologia da

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, e as amostras coproparasitológicas, por laboratório colaborador. Todos os indivíduos foram soltos próximos ao local da captura após os procedimentos.

As amostras coletadas em swabs estéreis para análise microbiológica foram acondicionadas em tubo com meio de transporte Stuart e, posteriormente, armazenadas sob refrigeração (temperatura entre 2°C e 8°C) até as análises serem realizadas, em um período máximo de sete dias. As amostras bacteriológicas foram processadas no laboratório do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. Os swabs coletados foram identificados e transferidos do meio de transporte Stuart para tubos enriquecidos com água peptonada tamponada a 1% e armazenados à temperatura de 4°C por 24 horas e, após semeadas em meio de cultura Ágar MacConkey, sendo este um meio seletivo para crescimento de enterobactérias. Os swabs também foram enriquecidos em caldo seletivo de Tetrionato com posterior plaqueamento em Ágar XLT4. As amostras foram incubadas em aerobiose à temperatura de 37°C, com leituras em 24 horas. As colônias bacterianas isoladas foram submetidas à identificação por características bioquímica-fisiológicas convencionais e com kit comercial para identificação de enterobactérias (Koneman 2001).

As amostras de fezes coletadas foram acondicionadas em frascos limpos, sem adição de conservantes, com tampa de rosca e refrigeradas até posterior análise, em até 2 dias. Os métodos laboratoriais utilizados para a realização do exame coproparasitológico foram baseados em sedimentação simples (método de Hoffman, et al. 1934) e no método de McMaster modificado (Long & Rowell 1958), através de flutuação em solução hipersaturada de cloreto de sódio (NaCl) (Monteiro Filho 2011; Snak 2014). As amostras foram processadas por laboratório colaborador.

ANÁLISE DOS DADOS. Para estimar a interatividade entre animais de vida livre e cativos, realizou-se a análise da rede de interações (Jordano et al. 2003; Carlo & Yang 2011). A rede de interações demonstra como se dão as interações entre as espécies e com que intensidade elas ocorrem. Para a confecção da rede de interações, foi elaborada uma matriz quantitativa de interações aves “visitantes” x aves “visitadas”, a qual representou a quantidade de interações observadas entre as espécies envolvidas (Bascompte et al. 2006). Nessa análise gráfica, as linhas representam a frequência das interações e as barras indicam as espécies envolvidas. O aninhamento da rede foi avaliado através da métrica de NODF. Este método calcula a métrica de aninhamento baseada na sobreposição e no preenchimento decrescente (NODF) para uma matriz binária segundo Almeida-Neto et al. (2008). A significância de NODF foi avaliada por um teste de Monte Carlo com 1000 aleatorizações através do modelo nulo C_e , no qual a probabilidade de interação entre dois grupos estudados é proporcional ao seu total de interações (Mello et al., 2011). A força das interações foi avaliada pela conectância da rede. A conectância, dada pela razão entre o número de interações existentes e o número total de interações possíveis, mede o percentual de interações

que ocorrem em uma rede e revela a coesão desta métrica. Outra métrica avaliada foi o grau médio das espécies, representado pelo número de interações em que cada espécie esteve envolvida. A matriz e as análises foram desenvolvidas no software R versão 3.4.2 através dos pacotes bipartite, igraph e Rcmdr (Dormann et al. 2008; R Development Core Team 2014) para a elaboração da rede de interações.

RESULTADOS

Após observação inicial de todos os recintos de aves do plantel, foram selecionados os recintos com maior contato de aves de vida livre para posterior observação. Os recintos selecionados foram os das araras-azuis (*Anodorhynchus hyacinthinus*) (3 indivíduos), araras-canindé (*Ara ararauna*) (16 indivíduos), araras-vermelhas (*Ara chloropterus*) (4 indivíduos), araras-vermelhas-pequenas (*Ara macao*) (4 indivíduos), aves pantaneiras, aviário de imersão, mutum-de-penacho (*Crax fasciolata*) (2 indivíduos), casuar (*Casuaris casuaris*) (1 indivíduo), grou-coroado (*Balearica pavonina*) (2 indivíduos) e o misto de carcará (*Caracara plancus*) (2 indivíduos) e gavião-do-rabo-branco (*Geranoaetus albicaudatus*) (2 indivíduos). Nesses recintos, foi realizado um total de 66 horas de observações, finalizadas após a estabilização da curva de acumulação de espécies novas (Figura 3). Após finalizadas as observações, foram selecionados os recintos com mais espécies visitantes para posterior captura e coleta de material biológico destas.

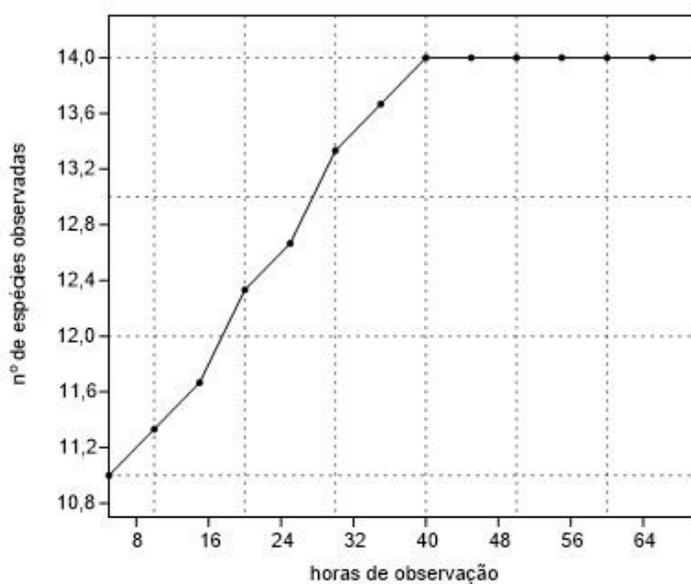


Figura 3. Curva de acumulação de espécies novas visitantes aos recintos de aves do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros em Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil.

Foram observadas 14 espécies de aves silvestres de vida livre (espécies visitantes) apresentando algum tipo de interação com as aves do plantel do PZMQB (espécies visitadas),

totalizando 487 interações. *Passer domesticus* e *Columbina talpacoti* foram as visitantes mais frequentes, com 298 e 66 observações registradas, respectivamente, ambas interagindo com sete recintos visitados. As aves com menor número de interações foram *Turdus albicollis*, *Nycticorax nycticorax*, *Pygochelidon cyanoleuca* e *Turdus rufiventris*, as quais interagiram com apenas um dos recintos. Constataram-se os seguintes tipos de interações: retirada de alimento do recinto, forrageio no comedouro, forrageio no chão, forrageio no chão e comedouro, ave pousada na grade do recinto, ave pousada em árvore do recinto e utilização da água do recinto. O forrageio no chão e o forrageio no comedouro foram os comportamentos mais observados (Apêndice 1).

A rede de interações foi representada por 14 espécies visitantes e 10 recintos visitados (Figura 4).

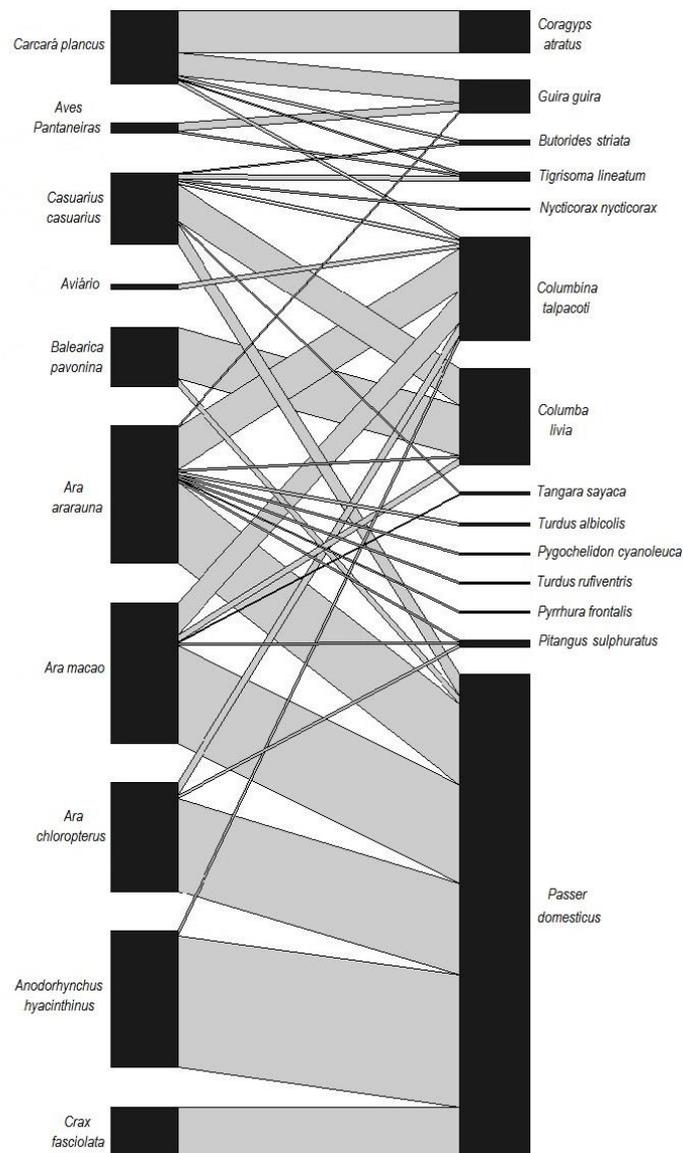


Figura 4. Representação da rede de interações entre aves de vida livre (direita) e aves do plantel (esquerda) no Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, município de Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil. As linhas indicam a frequência de interações, enquanto que as barras representam as espécies envolvidas.

As barras e linhas mais espessas representam as espécies mais frequentes e com maior força de interação. A rede apresentou um padrão aninhado (NODF = 53.39, $p = 0$), ou seja, as espécies com menor número de interações interagiram com aquelas com maior número de interações e estas interagiram entre si. Os valores de NODF das matrizes simuladas foram abaixo do NODF observado, assim o padrão encontrado não segue um padrão aleatório; algumas espécies frequentaram mais os recintos do que outras. A probabilidade de uma espécie visitar um recinto não é a mesma para todos. A conectância da rede foi baixa, apresentando 26% de possibilidade das interações ocorrerem. O grau médio das espécies também foi baixo, representado por 3,7 e 2,64 para recintos visitados e espécies visitantes, respectivamente.

Foram capturadas 56 aves de vida livre de quatro espécies diferentes; *Passer domesticus* (n=53), *Tangara sayaca* (n=1), *Columbina talpacoti* (n=1) e *Turdus leucomelas* (n=1). Ocorreram quatro recapturas de *Passer domesticus*. Foram coletadas 68 amostras biológicas, sendo 56 de swabs cloacais e 12 de fezes. As amostras de swabs cloacais foram coletadas em todas as espécies capturadas, enquanto que as amostras de fezes foram coletadas apenas em *P. domesticus*, devido à quantidade insuficiente de amostras de fezes nas demais espécies amostradas. As análises microbiológicas a partir dos swabs cloacais identificaram nove diferentes enterobactérias (Figura 5): *Escherichia coli* (63,6%), *Klebsiella pneumoniae* (11,3%), *Klebsiella oxytoca* (2,3%), *Enterobacter cloacae* (11,3%), *Citrobacter koseri* (2,3%); *Acinetobacter baylyi* (2,3%), *Hafnia alvei* (2,3%), *Raoultella ornithinolytica* (2,3%) e *Pantoea agglomerans* (2,3%).

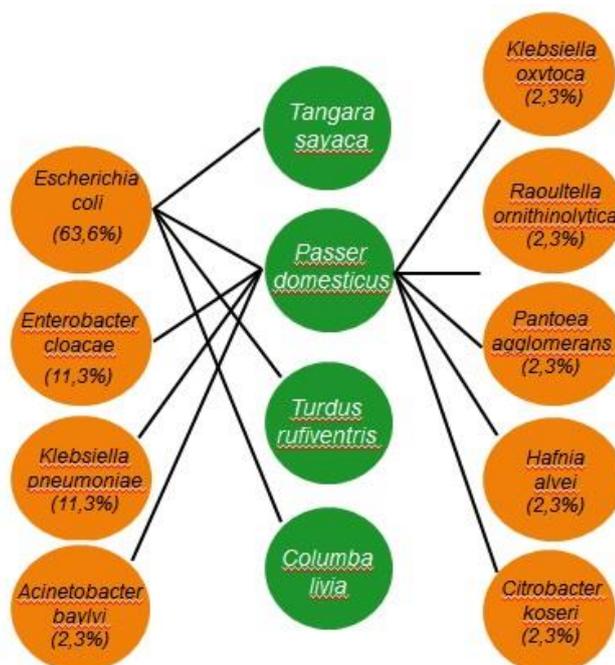


Figura 5. Mapa conceitual representando a incidência das enterobactérias nas aves capturadas no PMQB.

Não houve crescimento bacteriano em 12 amostras cloacais analisadas. Todas as amostras de fezes resultaram negativo para as análises coproparasitológicas para pesquisa de helmintos e protozoários.

DISCUSSÃO

A fácil capacidade de se estabelecerem em ambientes diversos (Carlton 1996) pode explicar o grande número de indivíduos de algumas das espécies presentes em contato com aves cativas. Nos recintos de *A. macao*, *A. hyacinthinus*, *A. chloropterus* e *A. ararauna* observou-se a presença de *P. domesticus* em abundância, possivelmente justificada pela arborização dos recintos e maior oferta de recursos alimentares disponíveis em comedouros e dispersos pelo chão. Por apresentarem hábitos alimentares generalistas, *P. domesticus*, *C. talpacoti* e *C. livia* foram capazes de interagir com um maior número de espécies diferentes, contrapondo-se aos resultados obtidos pelas observações das demais espécies visitantes, as quais estiverem em contato com as espécies que apresentam hábitos semelhantes, como observado nas interações entre *G. guira* e *C. plancus* e entre *C. atratus* e *C. plancus*, espécies essencialmente carnívoras (Sick 2001). Os recintos mais visitados foram aqueles onde havia alimentação disponível durante todo o dia. Apesar dos animais de tais recintos serem alimentados somente duas vezes ao dia, durante todo o período de observação foi registrada a presença de algum alimento nos comedouros ou pelo chão do recinto. As aves cativas que recebiam alimentação à base de carne apresentaram menor número de interações, possivelmente pelo fato da dieta ser fornecida somente uma vez ao dia e por não estar disponível durante todo o tempo, devido ao seu rápido consumo.

A rede de interações entre as aves de vida livre e as aves do plantel do PZMQB apresentou padrão aninhado. O aninhamento da rede pode ser determinado por alguns fatores, como os hábitos alimentares das espécies estudadas e o espaçamento das grades dos recintos. As aves visitantes de hábitos frugívoros e granívoros interagiram mais com os recintos onde a dieta fornecida inclui frutas e grãos, enquanto que as visitantes estritamente carnívoras buscaram maior contato com os recintos onde carne e camundongos abatidos faziam parte da alimentação fornecida. As espécies que apresentaram maior número de interações e frequência das visitas contribuíram significativamente com o aninhamento da rede.

A interação entre aves de vida livre e de cativeiro pode trazer riscos de transmissão de patógenos por contato direto ou através da contaminação de áreas do cativeiro, como os comedouros e bebedouros, os quais foram os locais onde mais houve contato de aves de vida livre entre os espaços dos recintos estudados. Embora o contato com o solo, grades e poleiros tenham apresentado menor frequência, também devem ser considerados como locais passíveis para transmissão de agentes patogênicos.

Entre as enterobactérias identificadas nas amostras analisadas no presente estudo, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Klebsiella pneumoniae* foram os agentes infecciosos isolados com maior frequência. *E. coli* foi detectada em 63,6% das 44 amostras cloacais positivas para enterobactérias em pardais, confirmando-se a alta incidência desta enterobactéria na espécie. *Escherichia* é considerado o gênero da Família Enterobacteriaceae mais comumente encontrado em aves (Dorrestein et al., 1985; Godoy, 2001), e sua presença foi anteriormente identificada em 86% de amostras de *P. domesticus* em estudo realizado na Austrália (Gordon & Cowling, 2003). Estudos sobre a presença de patógenos em ninhos de *P. domesticus* entrou incidências variando de 9% (Dolejska et al. 2008; Vilela et al. 2012) a 11% (Kozłowski et al. 1991) dos ninhos amostrados. *E. coli* apresenta alta incidência em psitacídeos de cativeiro, sendo registradas prevalências de 72,7% a 84,21% em amostras cloacais de animais cativos no estado do Paraná, Brasil (Serafini et al. 2015; Vaz et al. 2017). Considerando a alta incidência de *E. coli* em *P. domesticus* e seu elevado número de contatos com os recintos de psitacídeos observados no presente estudo, acredita-se que essa espécie possua alta probabilidade de transmissão de *E. coli* aos psitacídeos do plantel do PZMQB.

Embora *E. coli* seja considerada parte da microbiota normal e não represente, geralmente, um problema clínico e nem epidemiológico principal (Harlin & Wade 2009), indivíduos imunossuprimidos podem apresentar alterações clínicas relacionadas ao microorganismo, sendo que a gravidade do quadro clínico da ave infectada dependerá do potencial de virulência do agente envolvido (Hacker et al. 1997; Kariyawasam et al. 2006). Assim como confirmado no presente estudo, *E. coli*, *Klebsiella* spp. e *Enterobacter* spp. (Braconaro et al. 2015) podem ser encontradas em aves clinicamente saudáveis, embora apresentem significância em aves não saudáveis. Bactérias do gênero *Enterobacter* são agentes oportunistas não frequentes em aves (Vaz et al. 2017). *Klebsiella pneumoniae* tem a característica de ser um microorganismo resistente a vários antibióticos de uso comum (Piñeiro et al. 2012), é considerado um dos mais importantes patógenos oportunistas Gram-negativos, podendo ser isolado de amostras de várias espécies de psitacídeos e passeriformes clinicamente saudáveis (Gibbs et al. 2007), ainda que esta enterobactéria seja frequentemente identificada como agente patogênico respiratório (El Fertas Aissani et al. 2013).

Amostras fecais de 34 psitacídeos cativos em um zoológico do estado de São Paulo, Brasil, identificaram um total de 11 positivas para *Klebsiella* spp. de duas diferentes espécies: *K. pneumoniae* (17,6%) e *K. oxytoca* (14,7%) (Knobl 2017). Investigação de enterobactérias em psitacídeos provenientes do comércio ilegal identificou *Klebsiella* spp. como terceiro agente Gram-negativo isolado com maior frequência, extrapolado apenas por *E. coli* e *Enterobacter* spp. (Hidasi et al. 2013), corroborando com o presente estudo, no qual tais enterobactérias também representaram os agentes isolados com maior frequência. Dentre os resultados obtidos através de análise microbiológica dos cultivos das amostras cloacais de ninhos de psitacídeos, bactérias do gênero *Enterobacter* também estiveram entre os agentes patogênicos isolados em maior número (Serafini et al. 2015). A presença de *Raoultella ornithinolytica* foi descrita em um exemplar de psitacídeo (*Psittacus*

erithacus) (Gonzalez-Lama & Gomez 2007). O gênero foi recentemente descrito (Drancourt et al. 2001), e uma das questões mais importantes é o perfil resistente a múltiplos fármacos dessas bactérias (Kaya et al. 2015).

Também já foram anteriormente registradas prevalências de 27,3% de *Klebsiella oxytoca* em passeriformes (Giacopello et al. 2016). Dados obtidos a partir de amostras cloacais de *P. domesticus* em pesquisa com aves selvagens (Rogers 2006) assemelham-se à baixa incidência de bactérias do mesmo gênero no presente estudo, indicando percentuais isolados de 7,7% e 2,3%, respectivamente. Pesquisa de bactérias Gram-negativas em 100 passeriformes provenientes do comércio ilegal registrou a presença de bactérias da Família Enterobacteriaceae em 97,5% das amostras analisadas (Davies et al. 2016).

Acinetobacter baylyi, *Citrobacter koseri*, *Hafnia alvei*, *Pantoea agglomerans* e *Raoultella ornithinolytica* foram os agentes que apresentaram baixo potencial isolado no presente estudo, representados, cada, por 2,3% das amostras analisadas. Embora *Citrobacter* esteja presente em menor número de registros, está entre os agentes infecciosos bacterianos que mais acometem aves de vida livre (Gerlach 1994; Piñeiro et al. 2012). Pesquisa de microbiologia em psitacídeos também obteve baixo potencial isolado de bactérias do gênero *Citrobacter*, representado por 8,5% das amostras analisadas (Serafini et al. 2015).

Devido à sua alta resistência a uma gama de antimicrobianos e persistência no meio ambiente por muito tempo, *Acinetobacter* é uma grande preocupação (Doughari et al. 2011). *Acinetobacter* spp. são amplamente distribuídos no ambiente e representam um dos organismos predominantes na água (Özvatan et al. 2016). Embora animais positivos para *Acinetobacter* spp. possam ser assintomáticos e considerados clinicamente saudáveis, como o caso do indivíduo de *Passer domesticus* capturado no presente estudo, a infecção desta enterobactéria pode resultar em sinais sistêmicos de infecção e até mesmo em choque séptico (Chen et al. 2008).

Hafnia alvei foi identificada em 2,3% das amostras processadas no presente estudo (representando por um indivíduo de *Passer domesticus*) e isolada em 4,6% das amostras na mesma espécie em pesquisa de bactérias entéricas em aves selvagens realizada na Califórnia, USA (Rogers 2006). Esse organismo também esteve entre os agentes bacterianos isolados em amostras de swabs cloacais de espécies de cracídeos cativos, onde apresentou alta susceptibilidade a todos os antimicrobianos testados (Santos et al. 2010). É encontrada em diferentes habitats, a nível ambiental: solo, água e alimentos. Faz parte da microbiota normal de diversas espécies animais, incluindo as aves (Janda & Abbott 2006). Apresenta baixa patogenicidade (Gerlach 1994) e comporta-se como patógeno oportunista pouco comum, podendo causar infecção em indivíduos com baixa imunidade (Mukherjee & Mishra 2008). Como observado no presente estudo, cracídeos e passeriformes podem desenvolver interações, o que permite a transmissão de bactérias deste gênero entre as espécies envolvidas.

Pantoea agglomerans também já foi isolada em cracídeos (Santos et al. 2010), psitacídeos (Lopes 2011) e passeriformes, onde apresentou alto índice de resistência antimicrobiana (Horn et al. 2015). As aves podem ser expostas a *P. agglomerans* através do contato direto com as folhas de plantas através da água, grãos, sementes e insetos que consomem ou em campos onde forrageiam (Gibbs et al 2007). Embora *P. agglomerans* possa causar infecção em indivíduos debilitados, as bactérias pertencentes a este gênero estão mais associadas ao solo e afecções de plantas (Asis & Adachi 2003; Manulis & Barash 2003; Walterson & Stavrinides 2015).

Apesar de nenhum indivíduo de *Columba livia* ter sido capturado e amostrado para análises microbiológicas, a espécie representou grande parte das interações observadas. Considerando-se que *E. coli* é frequentemente identificada em pombos-domésticos (*C. livia*) de vida livre (Harlin & Wade 2009), vale a pena ressaltar que tal espécie esteve presente em grande parte dos recintos amostrados no estudo e, portanto, também pode apresentar risco de transmissão de enterobactérias às aves cativas. Tendo em vista que a família Enterobacteriaceae está entre as principais causas de enterite e septicemia em aves silvestres (Hoefler 1997), os resultados reforçam que a interação entre aves silvestres de vida e de cativeiro pode favorecer a colonização da microbiota das aves por patógenos.

Estudo envolvendo agentes bacterianos presentes em ovos não eclodidos e ninhegos de aves domésticas inviáveis registrou a presença de *Escherichia coli* (16,09%), *Enterobacter cloacae* (27,58%) e *Acinetobacter* spp. (9,19%) em ovos inférteis e a prevalência de 11,54% de *E. cloacae* e 3,85% de *Acinetobacter* spp. em filhotes inviáveis. Estes dados sugerem que a contaminação do ambiente, ou mesmo da própria ave em postura, pode comprometer o desenvolvimento embrionário pela penetração dos agentes infecciosos através da casca, ocasionando a morte do embrião e/ou a doença na ave jovem (Lima et al. 2000). O potencial risco de transmissão destes agentes patogênicos entre aves de vida livre e aves do plantel é uma forte ameaça à reprodução e conservação das espécies cativas.

Embora as aves do presente estudo tenham apresentado bom estado clínico geral, as análises realizadas obtiveram alto isolamento de enterobactérias. A presença de bactérias patogênicas na microbiota normal dos indivíduos estudados pode, ou não, estar diretamente relacionada a quadros infecciosos, o que dificulta a compreensão dos riscos para a saúde das espécies envolvidas. Estudos laboratoriais mais aprofundados são necessários para avaliar o potencial patogênico destas bactérias e os riscos às aves mantidas em cativeiro, destacando-se o alto índice de interações observadas entre as áreas coabitadas pelas espécies de vida livre e de cativeiro. Estudos de longa duração, que considerem a coleta e análise de material biológico de indivíduos do plantel, podem confirmar a transmissão dos agentes patogênicos aqui relatados. Mesmo com essa limitação, nosso estudo revela um risco latente de transmissão de patógenos entre aves de vida livre e as dos recintos de jardins zoológicos, e medidas preventivas podem ser adotadas para diminuir esse risco.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Evidenciado o risco latente de transmissão de patógenos de espécies de vida livre para animais cativos, deve-se considerar a importância da redução do contato de aves de vida livre e aves do plantel. Barreiras físicas podem controlar a entrada das aves nos recintos, seja pela diminuição do diâmetro das grades ou pela inserção de novas telas de proteção. Métodos educativos também podem apresentar resultados satisfatórios, através de ações de educação ambiental direcionadas ao público visitante sobre a questão de não alimentar as aves de vida livre encontradas nas dependências do parque zoológico. A mudança no manejo alimentar das aves cativas também pode reduzir a presença da avifauna livre. Entretanto, as necessidades individuais das espécies devem ser respeitadas, assim como a viabilidade e custo das implantações.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Parque Zoológico Quinzinho de Barros pela parceria, e a seus funcionários pela colaboração e receptividade; ao Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e Genoma Diagnóstico Veterinário pela coparticipação com a pesquisa; à Fundação S.O.S. Mata Atlântica pelo fornecimento de materiais de campo (redes de neblina); ao ICMBio, Secretaria Municipal de Meio Ambiente de Sorocaba e ao Comitê de Ética da UFSCar pelas permissões concedidas. Somos gratos, também, à Profa. Dra. Terezinha Knöbl e ao Marcos Paulo Vieira Cunha pela contribuição com análises laboratoriais.

REFERÊNCIAS

- Aguirre-Macedo, ML & CR Kennedy (1999) Diversity of metazoan parasites of introduced oyster species *Crassostrea gigas* in the Exe Estuary *Journal of the Marine Biological* 79: 57-63.
- Almeida-Neto M, P Guimarães, PR Guimarães Júnior, P & W Ulrich (2008) A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement *Oikos* 117:1227–1239.
- Asis, CA & K Adachi (2003) Isolation of endophytic diazotroph *Pantoea agglomerans* and nondiazotroph *Enterobacter asburiae* from sweet potato stem in Japan *Lett Appl Microbiol.* 38: 19-23.
- Ballantyne, R, J Packer, K Hughes & L Dierking (2007) Conservation learning in wildlife tourism settings: lessons from research in zoos and aquariums, *Environmental Education Research* 13: 367-383.
- Bascompte, J, P Jordano, JM OLESEN (2006) Asymmetric Coevolutionary Networks Facilitate Biodiversity Maintenance *Science* 312: 431-433.
- Benítez-López, A, R Alkemade, AM Schipper, DJ Ingram, PA Verweij, JAJ Eikelboom & MAJ Huijbregts (2017) The impact of hunting on tropical mammal and bird populations *Science* 356: 180–183.
- Blanco, JM, DE Wildt, U Höfle, W Voelker, AM Donoghue (2009) Implementing artificial insemination as an effective tool for ex situ conservation of endangered avian species *Theriogenology* 71: 200–213.
- Braconaro, P, ABS Saldenber, NR Benites, E Zuniga, AMJ Da Silva, TC Sanches, T Zwarg, PE Brandão & PA Melville (2015) Detection of bacteria and fungi and assessment of the molecular aspects and resistance of *Escherichia coli* isolated from confiscated passerines intended for reintroduction programs *Microbial Pathogenesis* 88: 65-72.
- Carlo, TA & S Yang (2011) Network models of frugivory and seed dispersal: Challenges and opportunities *Acta Oecologica* 37: 619-624.
- Carlton, JT (1996) Pattern, process, and prediction in marine invasion ecology *Biological Conservation* 78: 97-106.
- Carr, N & S Cohen (2015) The Public Face of Zoos: Images of Entertainment, Education and Conservation *Anthropozoös* 24: 175-189.
- Chen TL, LK Siu, YT Lee, CP Chen, LY Huang, RC Wu, WL Cho & CP Fung (2008) *Acinetobacter baylyi* as a pathogen for opportunistic infection *J Clin Microbiol.* 46: 2938-2944.
- Davies, YM, MP Guimarães, L Milanelo, MGX Oliveira, VTM Gomes, NP Azevedo, MPV Cunha, LZ Moreno, DC Romero, APG Christ, MI Sato, AM Moreno, AJP Ferreira, LRMS Sá & T Knobl (2016) A survey on Gram-negative bacteria in saffron finches (*Sicalis flaveola*) from illegal wildlife trade in Brazil *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci* 53: 286-294.
- Diamond, JM, NP Ashmole & PE Purves (1989) The present, past and future of human-caused extinctions *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 325: 469–477.
- Dirzo, R, HS Young, M Galetti, G Ceballos, NJB Isaac & B Collen (2014) Defaunation in the Anthropocene *Science* 345: 401–406.
- Dolejska, M, D Senk, A Cizek, J Rybarikova, J Sychra & I Literak (2008) Antimicrobial resistant *Escherichia coli* isolates in cattle and house sparrows on two Czech dairy farms *Research in Veterinary Science* 85: 491–494.
- Dormann, CF, Gruber, B & Fründ, J (2008) Introducing the bipartite package: analysing ecological networks *R News* 8: 8-11.
- Dorrestein, GM, MN Buitelaar, MH Van Der Hag & P Zwart (1985) Evaluation of a Bacteriological and Mycological Examination of Psittacine Birds *Avian Diseases* 29: 951-962.
- Doughari, HJ, PA Ndakidemi, IS Human & S Benade, S (2011) The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. *Microbes Environ.* 26: 101-112.

- Drancourt, M, C Bollet, A Carta & P Rousselier (2001) Phylogenetic analyses of *Klebsiella* species delineate *Klebsiella* and *Raoultella* gen. nov., with description of *Raoultella ornithinolytica* comb. nov., *Raoultella terrigena* comb. nov. and *Raoultella planticola* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51: 925-932.
- El Fertas-Aissani, R, Y Messai, S Alouache & R Bakour (2012) Virulence profiles and antibiotic susceptibility patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from different clinical specimens *Pathologie Biologie* 61: 209-216.
- Filho LPCM 2011 Identificação de parasitas intestinais em aves mantidas em zoológicos e em criadouro Dissertação de mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.
- Fornazari F, CR Teixeira, RC Silva, M Leiva, SC Almeida & H Langoni (2011) Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* among Brazilian white-eared opossums (*Didelphis albiventris*) *Vet Parasitol.* 179:238-241.
- Francisco, MR & LF Silveira. 2013. Conservação animal *ex situ*. In: Piratelli, AJ & MR Francisco (ed) Conservação da biodiversidade: dos conceitos às ações, 272p. Technical Books, Rio de Janeiro, Brasil.
- Frankham, R (2005) Stress and adaptation in conservation genetics *Journal of Evolutionary Biology* 18: 750-755.
- Garcia, SC, RN Lopez, R Morales, MA Olivera, MA Marquez, R Merino, PJ Miller & CL Afonso (2013) Molecular epidemiology of Newcastle disease in Mexico and the potential spillover of viruses from Poultry into wild bird species *Applied and Environmental Microbiology* 79: 4985–4992.
- Gerlach, H. 1994. Bacteria. In: Ritchie, BW, GJ Harrison & LB Harrison Avian medicine: principles and application, 949-983. Wingers Publishing Inc., Florida, USA.
- Giacopello, C, M Foti, A Mascetti, F Grosso, D Ricciardi, V Fisichella & F Lo Piccolo (2016) Antimicrobial resistance patterns of Enterobacteriaceae in European wild bird species admitted in a wildlife rescue centre *Veterinaria Italiana* 52: 139-144.
- Gibbs, PS, R Kasa, JL Newbrey, SR Petermann, RE Wooley, HM Winson & W Reed (2007) Identification, antimicrobial resistance profiles, and virulence of members from the family Enterobacteriaceae from the feces of yellow-headed blackbirds (*Xanthocephalus xanthocephalus*) in North Dakota *Avian Dis.* 51: 649-655.
- Godoy, SN 2001 Patologia comparada de psitacídeos mantidos em cativeiro no Estado de São Paulo Dissertação de mestrado, Univ. de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Gonzalez-Lama, Z & PA Lupiola Gomez (2007) Enterobacterias en hígado de *Psittacus erithacus* *Revista Canaria de las Ciencias Veterinarias* 5: 11-13.
- Gopee NV, AA Adesiyun & K Caesar (2000) Retrospective and longitudinal study of salmonellosis in captive wildlife in Trinidad *J. Wild. Dis.* 36:284-293.
- Gordon, DM & A Cowling (2003) The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects *Microbiology* 149: 3575–3586.
- Hacker, J, LG Blum-oehler, I Muhldorfer & H Tschape (1997) Pathogenicity island of virulent bacteria: structure, function and impact on microbial evolution *Molecular Microbiology* 23: 1089-1097.
- Harlin, R & L Wade (2009) Bacterial and parasitic diseases of Columbiformes. *Vet. Clin. N. Am. Exotic Anim. Pract.* 12: 453-473.
- Hernandez-Divers SM, P Villegas, F Prieto, JC Unda, N Stedman, B Ritchie, R Carroll R & SJ Hernandez-Divers (2006) A survey of selected avian pathogens of backyard poultry in Northwestern Ecuador *J. Avian Med. Surg.* 20:147-158.
- Hidasi, HW, J Hidasi-José, DM Moraes, GF Linhares, VdeS Jaime, MA Andrade (2013) Enterobacterial detection and *Escherichia coli* antimicrobial resistance in parrots seized from the illegal wildlife trade *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 44: 1-7.
- Hoefler, H.L. 1997. Diseases of the gastrointestinal tract. In: Altman, R (ed) Avian Medicine and Surgery, 419-453. Saunders, Philadelphia, USA.
- Hoffman, WA, JA Pons & JL Janer (1934) Sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni, 283-298. *J. Publ. Health & Trop. Med.*, Puerto Rico.
- Horn, RV, WM Cardoso, ES Lopes, RSC Teixeira, AH Albuquerque, RC Rocha e Silva, DN Machado, WGA Bezerra (2015) Identification and antimicrobial resistance of members

- from the Enterobacteriaceae family isolated from canaries (*Serinus canaria*) *Pesquisa Veterinária Brasileira* 35: 552-556.
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. (2010).
- Janda, J.M & S.L Abbott. 2006. The Enterobacteria. ASM Press, Washington, USA.
- Johnson, N, K Miller & M Miranda (2017) Bioregional approaches to conservation: local strategies to deal with uncertainty.:*In: Handmer, (ed) Ecology, Uncertainty and Policy Managing Ecosystems for Sustainability*, 23. Routledge, Londres, Inglaterra. plant-animal interactions *Ecology Letters* 6: 69-81.
- Jordano, P, J Bascompte & JM Olesen (2003) Invariant properties in coevolutionary networks of plant-animal interactions *Ecology Letters* 6: 69-81.
- Kariyawasam S, TJ Johnson & LK Nolan (2006) The *pap* operon of avian Pathogenic *Escherichia coli* strain O1:K1 is located on a novel pathogenicity island *Infect. Immun.* 74: 744-749.
- Kaya, S, G Bayramoglu, M Sönmez & I Köksal (2015) *Raoultella ornithinolytica* causing fatal sepsis *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 19: 230-231.
- Knobl, P (2017) Identificação de *Klebsiella* spp. nas fezes de psitacídeos cativos *Atas de Saúde Ambiental* 5: 189-193.
- Koneman, EW. 2001. Diagnóstico Microbiológico: texto e atlas colorido, 1465p. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Kozłowski, S, E Malyszko, J Pinowski & A Kruszewicz (1991) The influence of pathogenic fungi on the mortality of sparrow (*Passer* spp.) eggs and nestling *Preliminary report*, 167-169.
- Lima, JSJr, R Scramm & M Meireles (2012) Incidência de bactérias na produção de pintos de corte de um dia de idade *Revista Brasileira de Agrociência* 6: 77-79.
- Long, PL & JG Rowell (1958) Counting oocysts of chicken coccidia. *Laboratory Practice* 7: 515-519.
- Lopes, ES 2011 Investigação de *Salmonella* sp. em psitacídeos mantidos em criatórios comerciais e conservacionistas da região metropolitana de Fortaleza-Ceará Dissertação de mestrado, Univ. Estadual do Ceará, Fortaleza, Brasil.
- Machado, FME, HE Coelho, RS Rezende (2010) Plano de ação para o controle da leptospirose no Zoológico Municipal de Uberaba-MG *Biosci. J.* 26: 981-989.
- Manulis-Sasson, S & I Barash (2003) *Pantoea agglomerans* pvs. gypsophilae and betae, recently evolved pathogens? *Molecular plant pathology* 4: 307-314.
- Medina-Vogel, G (2010) Ecología de enfermedades infecciosas emergentes y conservación de especies silvestres *Arch Med Vet.* 42: 11-24.
- Mello, M, R Muylaert & Pinheiro, R. B. P. & Moreira Félix, G. 2016. Guia para análise de redes ecológicas. 10.13140/RG.2.2.27886.41280.
- Meyerson, LA & HA Mooney (2007) Invasive alien species in an era of globalization *Frontiers in Ecology and the Environment* 5: 199–208.
- Monteiro, RS 2015 Isolamento de microssatélites e análise genética de ararinha-azul (*Cyanopsitta spixii*, Aves, Psitacídeos) Dissertação de mestrado, Univ. de São Paulo, São Paulo, Brasil.
- Monteiro-Filho, LPC 2011 Identificação de parasitos intestinais em aves mantidas em zoológicos e em criadouro Dissertação de mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.
- Moraes, AP & VP Almeida (2010) Levantamento Florístico de uma Trilha em um Fragmento Florestal Urbano do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba (SP) *Revista Eletrônica de Biologia* 2: 51-65.
- Mukherjee, K & RK Mishra (2008) Stock market integration and volatility spillover: India and its major Asian counterparts *Elsevier* 24: 235-251.
- Muylaert, RL, RD Stevens, MC Ribeiro (2016) Threshold effect of habitat loss on bat richness in cerrado forest landscapes *Ecological Applications* 26: 1854–1867.
- Orsini H & EF Bondan (2006) Fisiopatologia do estresse em animais selvagens em cativeiro e suas implicações no comportamento e bem-estar animal – revisão da literatura *Ver. Inst. Ciênc. Saúde* 24:7-13.
- Özvatan, T, H Akalin, M Sinirtas, G Ocakog, E Yilmaz, Y Heper, N Kelebek, R Işçimen & F Kahveci (2016) Nosocomial *Acinetobacter pneumoniae*: Treatment and prognostic factors in 356 cases *Respirology* 21: 363-369.
- Peres, MB, UE Vercillo & BFS Dias (2011) Avaliação do Estado de Conservação da Fauna

- Brasileira e a Lista de Espécies Ameaçadas: o que significa, qual sua importância, como fazer? *Biodiversidade Brasileira*, 1: 45-48.
- Pessutti, C, L Longon & RHF Teixeira. 2014. Relações entre o Parque Zoológico Municipal “Quinzinho de Barros” e a Biodiversidade Faunística de Sorocaba. *In*: Smith, WS, VD Mota Junior & JL Carvalho Biodiversidade do município de Sorocaba, 221-225. SP: Prefeitura Municipal de Sorocaba, Secretaria do Meio Ambiente, Sorocaba, Brasil.
- Piñeiro, CJS, E Bert, R Raineri & B Petrini (2012) Infección sinusal por *klebsiella pneumoniae* relacionada con atresia cohanal en papagayo *Revista electrónica de Veterinaria* 3: 13.
- Pimm, SL, GJ Russel, JL Gittleman & TM Brooks (1995) The Future of Biodiversity *Science* 269: 347-350.
- Primack, R.B & E. Rodrigues. 2001. *Biologia da Conservação*. Ed. Rodrigues, Rio de Janeiro, Brasil.
- Primack, RB. 2010. *Essentials of Conservation Biology* (5 ed.), 601p. British Film Institute, Londres, Inglaterra.
- R Development Core Team. R A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2014. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>. Acesso em: 12 set. 2017.
- Rogers, KH 2006 Prevalence of pathogenic enteric bacteria in wild birds associated with agriculture *In* Humboldt County, California Tese de mestrado, Univ. Humboldt de Berlim, Berlim, Alemanha.
- Ross, A (2012) A biodiversidade e a extinção das espécies *Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental* 7: 1494-1499.
- Santos, HF, ML Flôres, VM Lara, MF Sá, L Battisti & LT Lovato (2010) Cloacal microbiota identification and evaluation of the antimicrobial resistance in captive cracids from Rio Grande do Sul, Brazil *Pesquisa Veterinária Brasileira* 30: 1077-1082.
- Serafini, PP, R Meurer, SM Biesdorf & EAB Sipinski (2015) O uso da microbiologia como ferramenta para a conservação de aves ameaçadas: dados preliminares para o papagaio-de-cara-roxa, *Amazona brasiliensis* (Aves: Psittacidae) no Paraná *Arq. Ciênc. Vet. Zool.* 18: 65-69.
- Sick, H. 2001. *Ornitologia brasileira*. Ed. Nova Fronteira, Rio de Janeiro, Brasil.
- Silva, CS 2008 Levantamento sorológico para leptospirose nos animais pertencentes ao Bosque Zoológico Municipal “Dr. Fábio de Sá Barreto” de Ribeirão Preto, estado de São Paulo Dissertação de mestrado, Univ. Estadual Paulista, Jaboticabal, Brasil.
- Silva MA, M Marvulo, FV Mota, A Rinaldo & JCR Silva (2010) A importância da ordem Ciconiiformes na cadeia epidemiológica de *Salmonella* spp. para a saúde pública e a diversidade biológica *Pesq. Vet. Bras* 30:573-580.
- Skibins, JC, E Dunstan & K Pahlow (2017) Exploring the Influence of Charismatic characteristics on Flagship Outcomes in Zoo Visitors *Human Dimensions of Wildlife* 1: 15.
- Smith, W.S, V.D Da Mota Junior & J.L Carvalho. 2014. Biodiversidade do Município de Sorocaba. Prefeitura Municipal de Sorocaba Secretaria do Meio Ambiente. Sorocaba, Brasil.
- Snak, A, PF Lenzi, KM Agostini, LE Delgado, CR Montanucci & MV Zabott (2014) Análises coproparasitológicas de aves silvestres cativas *Ciência Animal* 15: 502-507.
- Vaz, CSL, D Voss-Rech, VS de Avila, A Coldebella, VS Silva (2017) Interventions to reduce the bacterial load in recycled broiler litter *Poultry Science* 96: 2587-2594.
- Vilela, SMO, JW Pinheiro Junior, JSA Silva, F Pace, WD Silveira, TN Saukas, EMF Reis & RA Mota (2012) Research of *Salmonella* spp. and evaluation of pathogenicity, cytotoxicity of *Escherichia coli* isolates proceeding from sparrows (*Passer domesticus*) *Pesquisa Veterinária Brasileira* 32: 931-935.
- Vitaliano SN, DAO Silva, TWP Mineo, RA Ferreira, E Bevilacqua & JR Mineo (2004) Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in captive maned wolves (*Chrysocyon brachyurus*) from southeastern and midwestern regions of Brazil *Vet Parasitol.* 122:253-260.
- Walterson, AM & J Stavrínides (2015) *Pantoea*: insights into a highly versatile and diverse genus within the Enterobacteriaceae. *FEMS Microbiol Rev.* 39: 968-984.
- Yorio P & M Giaccardi (2002) Urban and fishery waste tips as food sources for birds in northern coastal Patagonia, Argentina *Ornitol. Neotrop.* 13:283-292.
- Young, RJ. 2003. *Environmental enrichment for captive animals*, 228p. B. P.Oxford, Inglaterra.

APÊNDICES

Apêndice 1. Tipos de comportamentos observados e número de observações de aves de vida livre nos recintos de aves do plantel do Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba, estado de São Paulo, Brasil.

Visitante	Visitado	Tipo de interação	Número de observações
<i>Butorides striata</i>	<i>Caracara plancus</i>	forrageio chão	1
		forrageio comedouro	1
	<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	1
<i>Caracara plancus</i>	<i>Caracara plancus</i>	forrageio chão	2
		forrageio comedouro	3
		pousado grade recinto	2
<i>Columba livia</i>	<i>Ara ararauna</i>	forrageio comedouro	2
	<i>Ara macao</i>	forrageio comedouro	1
		pousado árvore recinto	2
	<i>Balearica pavonina</i>	forrageio chão	7
		pousado árvore recinto	2
		forrageio comedouro	8
	<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	6
		pousado árvore recinto	3
		utilizou água do recinto	4
<i>Columbina talpacoti</i>	<i>A. hyacinthinus</i>	forrageio chão	3
	<i>Ara ararauna</i>	forrageio chão	3
		forrageio chão e comedouro	1
		pousado árvore recinto	6
		forrageio comedouro	6
	<i>Ara chloropterus</i>	forrageio chão	1
		pousado árvore recinto	3
	<i>Ara macao</i>	pousado árvore recinto	1
		forrageio chão	3
		forrageio comedouro	2
		pousado árvore recinto	1
		pousado árvore recinto	2
		utilizou água do recinto	1
	<i>Aviário</i>	forrageio chão e comedouro	1
		pousado grade recinto	1
<i>Caracara plancus</i>	pousado grade recinto	1	
<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	2	
<i>Coragyps atratus</i>	<i>Caracara plancus</i>	forrageio chão	1
<i>Guira guira</i>	<i>Ara ararauna</i>	em cima do recinto	1

	<i>Caracara plancus</i>	forrageio chão	2
<i>Nycticorax nycticorax</i>	<i>Casuarinus casuarinus</i>	pousado árvore recinto	1
<i>Passer domesticus</i>	<i>A. hyacinthinus</i>	forrageio chão	22
		forrageio chão e comedouro	3
		forrageio comedouro	19
		pousado árvore recinto	2
		pousado grade recinto	1
		retirou alimento do recinto e levou para fora	1
		utilizou água do recinto	6
	<i>Ara chloropterus</i>	forrageio chão	4
		forrageio comedouro	7
		pousado árvore recinto	1
		pousado grade recinto	1
		utilizou água do recinto	3
	<i>Ara macao</i>	forrageio chão	7
		forrageio comedouro	9
		pousado árvore recinto	2
		pousado árvore recinto	2
		retirou alimento do recinto e levou para fora	1
		utilizou água do recinto	3
	<i>Ardea alba</i>	forrageio chão e comedouro	1
		forrageio chão	1
	<i>Balearica pavonina</i>	forrageio chão	1
		pousado grade recinto	1
	<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	4
		utilizou água do recinto	1
<i>Crax fasciolata</i>	forrageio chão	7	
	forrageio comedouro	2	
	pousado árvore recinto	2	
	pousado grade recinto	3	
<i>Pitangus sulphuratus</i>	<i>Ara araranna</i>	forrageio chão	1
	<i>Ara chloropterus</i>	pousado árvore recinto	2
	<i>Ara macao</i>	forrageio chão	1
<i>Pygochelidon cyanoleuca</i>	<i>Ara araranna</i>	forrageio chão	1
<i>Pyrrhura frontalis</i>	<i>Ara araranna</i>	em cima do recinto	1
		forrageio chão	1
<i>Tangara sayaca</i>	<i>Ara macao</i>	pousado grade recinto	1
	<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	1
<i>Tigrisoma lineatum</i>	<i>Aves pantaneiras</i>	forrageio chão	1
	<i>Caracara plancus</i>	forrageio chão	1
	<i>Casuarinus casuarinus</i>	forrageio chão	1

<i>Turdus albicollis</i>	<i>Ara ararauna</i>	forrageio chão	1
<i>Turdus rufiventris</i>	<i>Ara ararauna</i>	forrageio chão	1

Apêndice 2 – Matriz quantitativa de interações entre as espécies de aves de vida livre e aves cativas do Parque Zoológico Municipal Quinzinho de Barros, Sorocaba-SP.

Recintos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total
<i>Anodorhynchus byacinthinus</i>	81	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	84
<i>Ara chloropterus</i>	57	8	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	67
<i>Ara ararauna</i>	50	26	2	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	84
<i>Ara macao</i>	60	20	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	4	86
<i>Casuaris casuaris</i>	13	2	0	0	0	0	0	1	1	0	3	1	0	23	44
<i>Crax fasciolata</i>	32	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32
<i>Balearica pavonina</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	31	36
<i>Caracara plancus</i>	0	2	0	14	0	0	26	0	2	0	1	0	0	0	45
Aviário	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Aves pantaneiras	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	6
Total	298	64	2	20	1	4	26	1	3	1	5	2	1	59	487

1 - *Passer domesticus*, 2 - *Columbina talpacoti*, 3 - *Pyrrhura frontalis*, 4 - *Guira guira*, 5 - *Turdus albicollis*, 6 - *Pitangus sulphuratus*, 7 - *Coragyps atratus*, 8 - *Nycticorax nycticorax*, 9 - *Butorides striata*, 10 - *Pygochelidon cyanoleuca*, 11 - *Tigrisoma lineatum*, 12 - *Tangara sayaca*, 13 - *Turdus rufiventris*, 14 - *Columba livia*