



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Identificación de coccidias intestinales en canarios (*Serinus canaria*) en cautiverio

**ARTÍCULO ESPECIALIZADO PARA
PUBLICAR EN REVISTA INDIZADA**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

PRESENTA

EMVZ Linda Patricia Luna Castrejón

ASESORES

Dr. Edgardo Soriano Vargas
Dra. en C. Celene Salgado Miranda

Toluca, Estado de México, marzo de 2018.



Índice

	Página
Introducción	1
Revisión de la literatura	2
El canario (<i>Serinus canaria</i>)	2
Coccidias de las aves	4
Coccidias de los passeriformes	5
Coccidias de aves de la familia Fringillidae	7
Justificación	8
Hipótesis	9
Objetivos	10
Material y método	11
Límite de espacio	12
Límite de tiempo	13
Resultados	27
Discusión	28
Conclusión	29
Literatura citada	34

Introducción

México es uno de los principales países donde el uso de fauna silvestre, particularmente las aves, son una actividad cultural y de subsistencia económica importantes (Vásquez-Dávila *et al.*, 2014; Roldán-Clarà *et al.*, 2017). Las coccidias son parásitos del filo Apicomplexa, intracelulares obligados con capacidad de reproducirse en diferentes tipos celulares, importantes en salud pública y veterinaria (Francia y Striepen, 2014). Las coccidias de las aves comprenden principalmente los géneros *Eimeria* e *Isospora*, y se sabe mucho de éstos en las aves domésticas (McDougald, 2013). En general, las aves del orden Passeriformes se infectan con especies de *Isospora* (Berto *et al.*, 2011). De manera particular, los canarios (*Serinus canaria*) son aves paseriformes de la familia Fringillidae originarios de Islas Canarias (IUCN, 2017). Al menos 10 especies de *Isospora* infectan diversas aves de la familia Fringillidae, incluidos los canarios. En el presente estudio, se identificarán las especies del género *Isospora* que infectan a los canarios en una tienda de aves del municipio de Toluca, Estado de México.

Revisión de literatura

El canario (*Serinus canaria*)

Los canarios son aves del orden Passeriformes de la familia Fringillidae que se caracterizan por su canto y sus bellos colores, y son originarios de Islas Canarias (IUCN, 2017). Gracias a los avances genéticos se han creado canarios con plumajes de diversos colores; estos colores dependen mucho del tipo de alimentación que se les suministre, ellos deben consumir carotenoides amarillos que a través de procesos bioquímicos de su organismo los convierten en cetocarotenoides rojos dando origen al plumaje rojo (Lopes *et al.*, 2016). Se creó que sus antepasados provenían de la región Paleártica (probablemente de un lugar alrededor de la unión de Europa/Asia) (citado por Arnaiz-Villena *et al.*, 1999). Hoy en día se han introducido nuevas especies de passeriformes a lugares nuevos, en donde las personas los capturan para ser vendidos en tiendas de mascotas (Roldán-Clarà *et al.*, 2017). Inclusive, existen organizaciones como la FOB (*Federação Ornitológica do Brasil*) que se encargan de la venta de aves passeriformes (canarios), organizan exposiciones, reuniones, sugerencias de manejo, cuidado y alimentación de estas aves (De Freitas *et al.*, 2003). Por otra parte, organizaciones no gubernamentales prohíben y están en contra de la captura de aves silvestres. Sin embargo, esto no es posible ya que por mucho tiempo las personas conservan culturas donde nos explican la forma en que el humano ve a la naturaleza en base a sus conocimientos y creencias por medio de un análisis etnoecológico, esto explica que las aves tienen un efecto positivo para aliviar el estrés (Roldán-Clarà *et al.*, 2017). De manera particular en Brasil, la crianza en cautiverio del canario ha sido exitosa. Sin embargo, De Freitas *et al.* (2003) mencionan que otros factores deben ser considerados, tales como: manipulación de las aves, higiene de las instalaciones, control de insectos y roedores y, control de enfermedades infectocontagiosas. En cautiverio, es necesario considerar el espacio para su desarrollo y reproducción, además de una buena alimentación basada en vegetales, granos y frutas (Lima *et al.*, 2017).

Coccidias de las aves

Las coccidias son parásitos intracelulares del filo Apicomplexa que infectan a humanos y animales (Blake *et al.*, 2015). Las coccidias que se han encontrado en las aves son del género *Eimeria* e *Isospora* (Berto *et al.*, 2011). Durante mucho tiempo se utilizó el género *Eimeria* para estudiar los ciclos biológicos, estos parásitos tienen ciclos monoxenos lo que quiere decir que las etapas sexuales y asexuales tienen lugar en un solo hospedero, a diferencia de los parásitos heteroxenos como el *Toxoplasma gondii* que se reproduce asexualmente utilizando hospederos intermediarios (Belli *et al.*, 2006). La transmisión de esta enfermedad es por vía oro-fecal al ingerir oocistos del parásito, los cuales se excretan en las heces y se liberan las formas infectantes (esporozoítos) (Belli *et al.*, 2006). Las aves de corral, diariamente están expuestas a diversas especies de *Eimeria* altamente virulentas tales como: *E. tenella*, *E. maxima* y *E. acervulina*, que invaden las células intestinales para llevar a cabo su reproducción y, localizarse en células epiteliales del intestino para iniciar el ciclo (Liu *et al.*, 2016); esto es a través de la contaminación ambiental y el confinamiento excesivo que las hace aún más susceptibles (Cha *et al.*, 2017). Los daños que causan las coccidias son alteraciones en el proceso digestivo, daños al epitelio, mucosa intestinal, pérdida de sangre, disminución en la absorción de nutrientes, deshidratación, pérdida de peso y despigmentación de la piel (De Freitas *et al.*, 2003). Sin embargo, no necesariamente un ave que está infectada con coccidias tiende a desarrollar una enfermedad grave, debido a que la ingestión de oocistos es muy baja, a diferencia de una ingestión masiva de oocistos (McDougald, 2013).

Las características morfológicas de las coccidias son muy importantes para el diagnóstico de las diferentes especies (Berto *et al.*, 2011). Para esto se necesita realizar técnicas de laboratorio básicas para ubicar características biológicas tales como: la etapa endógena del parásito, localización intestinal y las lesiones (McDougald, 2013). Una vez identificadas podemos diferenciar sus estructuras que las conforman, por ejemplo: el oocisto, esporocisto, esporozoíto, micrópilo, la tapa del micrópilo, cuerpo de stieda y cuerpo de substieda, residuo de oocisto, residuo de esporocistos, capas y paredes del oocisto (McDougald, 2013). La parte más importante de un oocisto es la pared ya que esta protege toda estructura interna, permitiendo la supervivencia del parásito por mucho tiempo (Belli *et al.*, 2006). Además, está compuesta por dos capas distintas, rodeadas por

una membrana externa las cuales pueden ser de diferentes colores, amarilla, marron, parduzca y que nos permitirán diferenciar entre especies, en algunos casos el color no siempre será clave porque existen algunos factores como el tiempo, conservadores (dicromato de potasio), que puede alterar el color de la pared. El micrópilo y la tapa del micrópilo, es común encontrarlo en las *Eimeria* proporcionando una protección en aquellos espacios que se encuentran entre las capas (Berto *et al.*, 2014). El residuo de oocistos y esporocistos son una estructura adicional compacta, el granulo polar es más pequeño que el residuo de oocistos y puede o no estar presente en algunas coccidias del género *Isospora* tal es el caso de la *Isospora cardellinae* de la reinita roja (*Cardellina rubra*) (Salgado-Miranda *et al.*, 2016). Las variaciones de cuerpo stieda y substieda son muy importantes para la diferenciación de especies del género *Isospora* (Berto *et al.*, 2014).

Coccidias de los paseriformes

Existe una gran diversidad de paseriformes en todo el mundo, aproximadamente se han encontrado 5,000 especies distribuidas en diferentes países como: Brasil, Italia, Estados Unidos de América (Hawái) y Europa; Algunas son endémicas como las de Sudamérica, lo cual nos permite identificar la distribución de coccidias en las aves paseriformes (Berto y Lopes, 2013). Las aves paseriformes migran muchos kilómetros de distancia para buscar lugares seguros donde se puedan reproducir con éxito, estos sitios deben estar rodeados de una gran diversidad de flora y fauna para obtener el alimento necesario y la energía (Buler *et al.*, 2017). En la actualidad hay unas 23 familias de aves paseriformes en las que se han identificado coccidias en su mayoría del género *Isospora* aproximadamente 86 especies de *Isospora*, distribuidas en las diferentes familias (Berto *et al.*, 2013). Recientemente se ha identificado especies nuevas en las diferentes familias de aves paseriformes, algunas de ellas convirtiéndose en hospederos nuevos de especies de *Isospora* que ya existen en otras aves paseriformes (Soriano-Vargas *et al.*, 2015). En investigaciones recientes se ha encontrado oocistos no esporulados en muestras de heces fecales de distintas aves paseriformes (*Atlapetes pileatus*, *Cardellina rubra*, *Mniotilta varia*, *Oreothlypis celata* y *Regulus caléndula*) de México (Medina *et al.*, 2015). Estas aves se infectan con *Isospora* que invaden los intestinos y otros órganos, llevando a cabo el ciclo de reproducción en los enterocitos del intestino delgado principalmente en el duodeno (Sánchez *et al.*, 2007).

Coccidias de aves de la familia Fringillidae

Las coccidias y en especial el género *Isoospora* es la más común que ha encontrado en las aves passeriformes (Ball *et al.*, 2012). La diversa gama de información que existe hoy en día, gracias a la realización de diferentes estudios de campo, técnicas parasitológicas y técnicas moleculares, ha permitido saber que han surgido nuevas especies del género *Isoospora* en la familia Fringillidae (Yang *et al.*, 2015) (Cuadro 1)

Cuadro 1. Especies del género *Isozona* identificadas en aves de la familia Fringillidae.

<i>Isozona</i>	<i>I. atrata</i>	<i>I. bioccai</i>	<i>I. canaria</i>	<i>I. daszaki</i>	<i>I. gryphoni</i>	<i>I. lacazei</i>	<i>I. loxops</i>	<i>I. mcquistoni</i>	<i>I. serini</i>	<i>I. serinuse</i>
Hospedero	<i>Carduelis atrata.</i>	<i>Carduelis sinica</i>	<i>Serinus canaria</i>	<i>Carduelis chloris</i>	<i>Carduelis tristis</i>	<i>Carduelis carduelis</i> <i>Carduelis chloris</i> <i>Fringilla coelebs.</i>	<i>Loxops virens</i>	<i>Carduelis sinica</i>	<i>Serinus canaria</i>	<i>Serinus canaria</i>
Lugar de origen	Italia (importada de Perú, Bolivia, y Argentina)	Italia	EUA, Brasil	Inglaterra	Canada	Inglaterra españa	Hawaii	Italia	EUA	Australia
Referencia	Rossi <i>et al.</i> (1996)	Cringoli y Quesada (1991)	Box, 1975; Berto <i>et al.</i> (2013)	Ball <i>et al.</i> , 2012	Olson <i>et al.</i> (1998)	Anwar (1966)	Levine <i>et al.</i> (1980)	Cringoli y Quesada (1991)	Box, 1975	Yang <i>et al.</i> (2015)
Forma del oocisto	Esférico a subsférico	Esférico a subsférico	Subesférico a elipsoidal	Esférico a subsférico	Esférico a subsférico	Subesférico	Subesférico	Ovoidal	Subesférico	Esférico o subsférico
Pared	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Doble capa	Una capa	Doble capa
Longitud	19.4-23.5 (21.0)	22.0-26.0 (24.0)	21.0-27.0 (24.4)	16.8-25.2 (20.3)	28.0-34.0 (30.7)	20.0-34.0 (26.8)	25.0-26.0 (26.0)	24.0-28.5 (26.0)	13.0-23.0 (20.1)	24.4-27.0 (25.5)
Ancho	18.5-22.0 (20.3)	21.0-25.8 (23.6)	19.0-25.0 (22.2)	16.8-22.4 (18.8)	25.0-33.0 (29.2)	18.0-30.0 (24.5)	22.0-25.0 (23.0)	20.0-23.6 (22.6)	13.0-23.0 (19.2)	22.0-24.8 (23.5)
Relación longitud/ancho	1.0-1.06 (1.03)	1.02	1.0-1.2 (1.1)	1.07-1.1 (1.08)	1.05	1.0-1.5 (1.1)				1.09
Gránulo polar	Es oval y esta presente, raramente hay 2.	Están presentes de 4-10 y son alargados	Esta presente	Ausente	2-4 en forma de arroz	Presente	Ausente	Presente 1, raramente 2 ó 3	Presente	Presente
Residuo de oocisto	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Forma de esporocistos	Elíptico	Elipsoidal	Forma de limón	Forma de limón	Ovoide	Piriforme	Ovoide	Oval	Elipsoidal	Forma de limón
Longitud	17.5-18.94 (18.8)	18.6-20.0 (19.5)	16.0-20.0 (17.6)	12.6-18.2 (14.8)	15.0-25.0 (22.2)	15.0-19.0	16.0-17.0 (16.0)	16.0-19.8 (18.1)	13.0-16.0 (15.2)	17.8-20.2 (18.9)
Ancho	9.5-11.0 (10.3)	10.0-12.4 (11.6)	10.0-12.0 (10.6)	8.4-11.2 (9.4)	12.0-14.5 (13.4)	9.0-12.0	12.0-13.0 (13.0)	11.0-12.0 (11.4)	8.0-11.0 (9.4)	10.6-13.0 (11.8)
Relación, largo y ancho	1.76-1.88 (1.82)	1.68	1.6	1.6	1.7			1.59		1.6
Cuerpo de stieda	Aplanado	Chupón	Chupón	Opaco	Pequeño	Presente	Petilla	En forma de tapa de Botella	Prominente	En forma de media luna
Cuerpo de substieda	Redondeado	Trapezoidal	Prominente	Opaco	Indistinto	Presente	No	Base ligeramente convexa	Apenas discernible	Indistinto
Residuo	Compacto y difuso	Difuso	Grupo de gránulos dispersos.	Difuso	Compacto	Difuso compacto	Difuso	Compacto	Difuso o compacto	Difuso o compacto

Justificación

Al menos 10 especies de *Isospora* infectan aves de la familia Fringillidae, de las cuales tres (*Isospora serinus*, *Isospora serinuse* e *Isospora canaria*), infectan a los canarios. Los reportes de estas especies han sido en Italia, Brasil, Estados Unidos de América (Hawái) y Australia. Con base en lo anterior, es necesario conocer las especies del género *Isospora* que infectan canarios (*Serinus canaria*) en México.

Hipótesis

Canarios comerciales disponibles en una tienda de aves en Toluca, Estado de México, están infectados con alguna de las 10 especies de *Isospora* identificadas en las aves de la familia Fringillidae.

Objetivos

1. Identificar por medio de estudios coproparasitoscópicos y morfométricos la especie del género *Isopora* que infecta a los canarios de una tienda de aves en el municipio de Toluca, Estado de México.
2. Identificar el sitio de infección intestinal mediante estudios histológicos.

Material y método

Aves. El total de canarios disponibles (16 canarios) en una tienda de aves localizada en San Felipe Tlalmimilolpan, Toluca, Estado de México. Con un clima templado, estación seca y húmeda, temperatura media anual de 11.3°C (COESPO, 2010). Las aves que se identificaron como positivas a coccidias, fueron transportadas en jaulas individuales al Centro de Investigación de Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA).

Estudio parasitológico. Las muestras fueron recolectadas diariamente por la mañana y tarde, y se colocaron en un vial de plástico (tubos eppendorf) con 2.5% de solución de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$) 1:6 (v/v) (Yang *et al.*, 2015). Esta solución, es adecuada para evitar la proliferación bacteriana además de la conservación de los oocistos coccidianos esporulados, con fines taxonómicos a largo plazo (Williams *et al.*, 2010). Las muestras se observaron en un microscopio óptico con micropipeta para obtener aproximadamente 20 μ l de la muestra y se colocaron en un portaobjetos con cubreobjetos.

Identificación de especies del género *Isospora*. Las muestras de heces fecales con oocistos no esporulados se colocaron en una caja de Petri con aproximadamente 5 ml de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$), se incubaron entre 23 a 28 °C y diariamente se observaron, hasta que el 70% de los oocistos esporularon, los oocistos fueron recuperados por técnica parasitológica de flotación usando solución de azúcar Sheater's (Berto *et al.*, 2013). Se observó y registró la morfología de los oocistos y se midió un total de n=30 (Duszynski y Wilber, 1997). Esto se realizó con un microscopio Nikon Eclipse 80i acoplado a una cámara digital Nikon DS-Fi2.

Estudio histopatológico. Con fines de investigación del sitio de infección en los canarios infectados, se realizó la eutanasia de acuerdo con la NOM-033-SAG/ZOO-2014, y en apego a normas internacionales (AVMA, 2013). Se hizo estudio histopatológico y se localizó específicamente donde se reprodujeron las coccidias del género *Isospora*. Los siguientes órganos y tejidos fueron colectados: esófago, buche, proventrículo, ventrículo, intestino delgado e intestino grueso. Las vísceras, se colocaron en formalina neutra al 10% y se procesaron usando las técnicas de histopatología, con las tinciones de hematoxilina y eosina para el estudio histológico.

Límite de espacio

Esta investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigación de Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA). Ubicado en Carretera Toluca-Atlacomulco km 12, Toluca 50200, México. Teléfono:+ 52 (722) 2965555. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México.

Límite de tiempo

Esta investigación se realizó en el periodo de agosto a noviembre, 2017.

Resultados

Systematic Parasitology

The canary *Serinus canaria* Linnaeus, 1758 (Passeriformes: Fringillidae) as a new host for *Isospora bioccai* Cringoli & Quesada, 1991 in Mexico --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	SYPA-D-18-00010	
Full Title:	The canary <i>Serinus canaria</i> Linnaeus, 1758 (Passeriformes: Fringillidae) as a new host for <i>Isospora bioccai</i> Cringoli & Quesada, 1991 in Mexico	
Article Type:	Brief Report	
Keywords:	Isospora bioccai; coccidia; Passeriformes; Fringillidae; <i>Serinus canaria</i>	
Funding Information:	Universidad Autónoma del Estado de México (4328/2017/CI)	Dr. Edgardo Soriano-Vargas
Abstract:	<p><i>Isospora bioccai</i> Cringoli & Quesada, 1991 (Protozoa, Apicomplexa, Eimeriidae) is reported and described from captive canaries <i>Serinus canaria</i> forma domestica (Linnaeus) in Mexico. The oocysts are subspherical, 25.5 × 23.5 μm, with smooth, bilayered wall, ~1.3 μm thick. Micropyle absent, oocyst residuum absent, and polar granule present, 2-3 rice-grain-shaped. Sporocysts are ovoidal, 16.7 × 10.5 μm. Stieda body knob-like and substieda body trapezoidal of irregular base. Sporocyst residuum is composed of granules of different sizes. Sporozoites are vermiform with one refractile body and a nucleus. Gamogony was seen in the duodenum. In addition to new locality, this is the first description of <i>I. bioccai</i> from <i>S. canaria</i>.</p>	
Corresponding Author:	Edgardo Soriano-Vargas, D.Sc. Universidad Autonoma del Estado de Mexico MEXICO	
Corresponding Author Secondary Information:		
Corresponding Author's Institution:	Universidad Autonoma del Estado de Mexico	
Corresponding Author's Secondary Institution:		
First Author:	Linda Patricia Luna-Castrejón	
First Author Secondary Information:		
Order of Authors:	Linda Patricia Luna-Castrejón	
	Lorena Ravines-Carrasco, MVZ	
	Celene Salgado-Miranda, Dr.	
	Edgardo Soriano-Vargas, D.Sc.	
Order of Authors Secondary Information:		
Suggested Reviewers:	<p>Bruno P. Berto, Dr. Researcher, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro bertobp@ufrj.br Worldwide expert on taxonomy of passerine coccidia.</p> <p>Donald W. Duszynski, Dr. Professor Emeritus of Biology, University of New Mexico eimeria@unm.edu Worldwide expert on taxonomy of coccidia.</p>	

1 **The canary *Serinus canaria* Linnaeus, 1758 (Passeriformes: Fringillidae) as a**
2 **new host for *Isospora bioccai* Cringoli & Quesada, 1991 in Mexico**

3
4 **Linda Patricia Luna-Castrejón • Lorena Ravines-Carrasco • Celene Salgado-Miranda •**
5 **Edgardo Soriano-Vargas**

6
7
8
9
10
11 L. P. Luna-Castrejón • C. Salgado-Miranda • E. Soriano-Vargas (✉)
12 Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y
13 Zootecnia, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México, México. Carretera
14 Toluca-Atlacomulco km 12, Toluca 50200, México, México.
15 Phone/Fax: + 52 (722) 2965555.
16 E-mail: soriano@uaemex.mx
17
18 L. Ravines-Carrasco
19 Píscu, Medicina Especializada en Aves. Toluca 50000, México, México.
20

1 **Abstract**

2

3 *Isospora bioccai* Cringoli & Quesada, 1991 (Protozoa, Apicomplexa, Eimeriidae) is
4 reported and described from captive canaries *Serinus canaria* forma *domestica* (Linnaeus)
5 in Mexico. The oöcysts are subspherical, $25.5 \times 23.5 \mu\text{m}$, with smooth, bilayered wall, ~ 1.3
6 μm thick. Micropyle absent, oöcyst residuum absent, and polar granule present, 2-3 rice-
7 grain-shaped. Sporocysts are ovoidal, $16.7 \times 10.5 \mu\text{m}$. Stieda body knob-like and substieda
8 body trapezoidal of irregular base. Sporocyst residuum is composed of granules of different
9 sizes. Sporozoites are vermiform with one refractile body and a nucleus. Gamogony was
10 seen in the duodenum. In addition to new locality, this is the first description of *I. bioccai*
11 from *S. canaria*.

12

13 **Key words:** *Isospora bioccai*; coccidia; Passeriformes; Fringillidae; *Serinus canaria*.

14

15

1 **Introduction**

2

3 *Serinus* (canaries) is a genus of finches belonging to the Fringillidae family of birds, mostly
4 confined to Africa and the Mediterranean Basin (Arnaiz-Villena et al., 1999). Particularly,
5 *S. canaria* is native from the Canary Island and now is widely kept in captivity in most
6 areas of the world (IUCN, 2017). In Mexico, canaries *S. canaria* are available at pet shops
7 and through bird traders, called *pajareros*, which is a local name given to the trade (derived
8 from *pájaro*, the Spanish word for bird) (Roldán-Clarà et al., 2017). The aim of this study
9 was the description of *I. bioccai* from *S. canaria* in Mexico.

10

11 **Materials and methods**

12

13 Eight captive canary *Serinus canaria* were investigated as part of a routine parasitology
14 study in a pet shop at Toluca Valley, Mexico. Fecal samples were placed in a plastic vial
15 containing 2.5% potassium dichromate solution ($K_2Cr_2O_7$) 1:6 (v/v) and observed in a light
16 microscope. To investigate the site of infection, one canary was euthanized (AVMA, 2013),
17 and the following organs and tissues were collected from the bird: trachea, lungs, liver,
18 stomach and intestines. These viscera samples were placed in 10% neutral buffered
19 formalin and processed, sectioned, and stained with hematoxylin and eosin for routine
20 histologic examination. The fecal samples with unsporulated oocysts were placed in a thin
21 layer (5 ml) of $K_2Cr_2O_7$ in Petri dishes, incubated at 23-28 °C and monitored daily, until

1 70% of oocysts were sporulated. Oocysts were recovered by flotation in Sheather's sugar
2 solution (S.G. 1.20). Morphological observations, photomicrographs and measurements
3 (n=30), according Duszynski and Wilber (1997) and Berto et al. (2014), were made using a
4 Nikon Eclipse 80i microscope coupled to a digital camera Nikon DS-Fi2.

5

6 **Results**

7

8 Four canaries shed oöcysts in the faeces. Initially, the oöcysts were non-sporulated, but
9 approximately 70% of the oöcysts were sporulated at day two (under the conditions used in
10 this study).

11

12 ***Isospora bioccai* Cringoli & Quesada, 1991**

13

14 *Host: Serinus canaria* (Linnaeus) (Aves: Passeriformes: Fringillidae).

15 *Material:* Phototypes and line drawings of sporulated oöcysts are deposited and available in
16 the Parasitology and Bacteriology Collection of the Laboratory of Avian Microbiology,
17 Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal. Photographs of the type-
18 host specimens (symbiotypes) are deposited in the same collection. The repository number
19 is ESV-23/2017.

20 *Type locality:* 19°17'32"N; 99°39'14"W, Toluca City, State of Mexico, Mexico.

21 *Prevalence:* 4/8 birds infected (50%).

1 *Sporulation time*: Two days.

2 *Site*: Duodenum (Fig 2).

3

4 Description (Fig. 1A & 1B)

5

6 *Sporulated oöcyst*

7 Oöcyst (n = 35) subspherical, 24.1–27.2 × 22.0–25.1 (25.5 × 23.5); length/width (L/W)

8 ratio 1.0–1.1 (1.1). Wall bi-layered, 1.0–1.1 (1.1) thick, outer layer smooth, *c.* 1/3 of total

9 thickness. Micropyle absent, oöcyst residuum absent and polar granule present, 2-4 rice-

10 grain-shaped.

11

12 *Sporocyst and sporozoites*

13 Sporocysts (n = 35) 2, ellipsoidal, 9.2–11.2 × 15.6–17.4 (10.5 × 16.7); L/W ratio 1.6–1.8

14 (1.7). Stieda body present, nipple-like, 1.1 high × 2.4 wide; sub-Stieda present, trapezoidal,

15 irregular base, 1.8 high × 4.5 wide; para-Stieda body absent; sporocyst residuum present,

16 consisting of scattered spherules of different sizes. Sporozoites 4, vermiform, with single

17 posterior refractile body and centrally located nucleus.

18

19 **Discussion**

20

1 Up to now, the concept of intra-familial specificity of *Isospora* spp. of passerine birds has
2 been maintained (Berto et al., 2011). The sporulated oocysts obtained in this study were
3 compared in detail with coccidian parasites from other birds that belong to the same host
4 family (Duszynski & Wilber 1997). The morphology and morphometry of the *I. bioccai*
5 oocysts allow differentiating it from other *Isospora* species passerines from the same
6 family.

7 *Isospora bioccai* was first described from *Carduelis sinica* in Italy (Cringoli &
8 Quesada, 1991). In the canary *S. canaria* have identified following *Isospora* species: *I.*
9 *canaria* in USA and Brazil (Box, 1975; Berto et al., 2013), *I. serini* in USA (Box, 1975,
10 1977), and *I. serinuse* in Australia (Yang et al., 2015). In Brazil, unidentified species of
11 coccidia have been reported in captive canary *S. canaria* (de Freitas et al., 2003; Lima et
12 al., 2017). In addition to new locality, this is the first description of *I. bioccai* from *S.*
13 *canaria*.

14

15 **Acknowledgements**

16

17 We gratefully acknowledge the critical reading of this manuscript by Dr. Giuseppe
18 Cringoli, Department of Veterinary Medicine and Animal Production, University of Naples
19 Federico II, Italy. This study was supported by Universidad Autónoma del Estado de
20 México, project UAEM 4328/2017/CI.

21

22 **References**

1
2 Anwar, M. (1966). *Isospora lacazei* (Labbe, 1893) and *I. chloridis* sp. n. (Protozoa:
3 Eimeriidae) from the English sparrow (*Passer domesticus*), greenfinch (*Chloris*
4 *chloris*) and chaffinch (*Fringilla coelebs*). *Journal of Protozoology*, 13, 84–90.

5 Arnaiz-Villena, A., Álvarez-Tejado, M., Ruíz-del-Valle V., Garca-de-la-Torre C., Varela
6 P., Recio, M.J., Ferre, S., & Martinez-Laso, J. (1999). Rapid radiation of canaries
7 (genus *Serinus*). *Molecular Biology and Evolution*, 16, 2–11.

8 AVMA (American Veterinary Medical Association). (2013). AVMA guidelines for the
9 euthanasia of animals.
10 <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>. Cited 04 October,
11 2017.

12 Ball, S.J., Brown, M.A., & Snow, K.R. (2012). A new species of *Isospora* (Apicomplexa:
13 Eimeriidae) from the greenfinch *Carduelis chloris* (Passeriformes: Fringillidae).
14 *Parasitology Research*, 111, 1463–1466.

15 Berto, B.P., Ferreira, I., Flausino, W., Teixeira-Filho, W.L., & Lopes, C.W.G. (2013).
16 *Isospora canaria* Box, 1975 (Apicomplexa: Eimeriidae) from canaries *Serinus*
17 *canaria* Linnaeus (Passeriformes: Fringillidae) in Brazil. *Systematic Parasitology*,
18 85, 49–53.

19 Berto, B.P., Flausino, W., McIntosh, D., & Lopes, C.W.G. (2011). Coccidia of New World
20 passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and

- 1 *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, 80,
2 159–204.
- 3 Berto, B.P., & Lopes, C.W.G. (2013). Distribution and Dispersion of Coccidia in Wild
4 Passerines of the Americas. In: Ruiz, L. & Iglesias, L. *Birds: Evolution and*
5 *behaviour, breeding strategies, migration and spread of disease*. New York: Nova
6 Science Publishers, pp. 47–66.
- 7 Berto, B. P., McIntosh, D., & Lopes, C.W.G. (2014). Studies on coccidian oocysts
8 (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*,
9 23, 1–15.
- 10 Box, E.D. (1975). Exogenous stages of *Isospora serini* (Aragão) and *Isospora canaria* sp.
11 n. in the canary (*Serinus canarius* Linnaeus). *Journal of Protozoology*, 22, 165–169.
- 12 Box, E.D. (1977). Life cycles of two *Isospora* species in the canary *Serinus canarius*
13 Linnaeus. *Journal of Protozoology*, 24, 57–67.
- 14 Cringoli, G., & Quesada, A. (1991). *Isospora mcquistioni* and *Isospora bioccai*
15 (Apicomplexa, Eimeriidae): two new coccidian parasites from *Carduelis sinica*
16 (Passeriformes, Fringillidae). *Journal of Protozoology*, 38, 377–380.
- 17 de Freitas, M.F.L., de Oliveira, J.B., de Brito Cavalcanti, M., & de Freitas, D.A. (2003).
18 Occurrence of coccidiosis in canaries (*Serinus canarius*) being kept in private
19 captivity in the state of Pernambuco, Brazil. *Parasitologia Latinoamericana*, 58,
20 86–88.

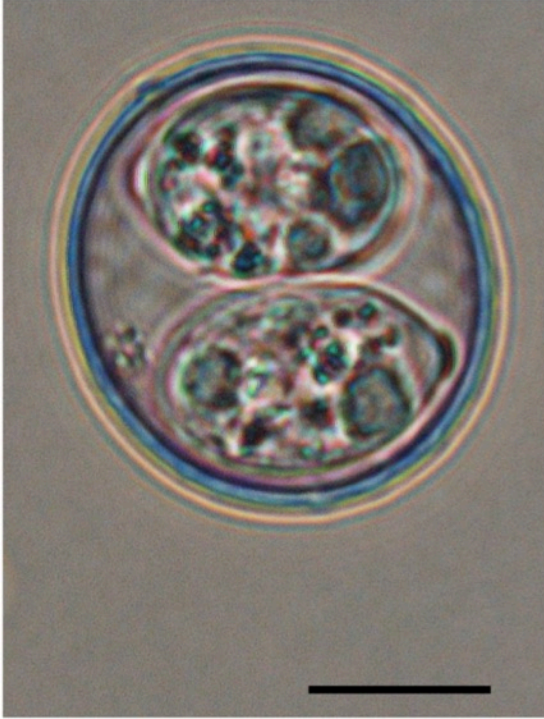
- 1 Duszynski, D.W., & Wilber, P. (1997). A guideline for the preparation of species
2 descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology*, 83, 333–336.
- 3 IUCN (International Union for Conservation of Nature). (2016). International Union for
4 Conservation of Nature and Natural Resources. <http://www.iucnredlist.org>.
5 Accessed 04 October 2017.
- 6 Levine, N.D., van Riper, S., & van Riper, III, C. (1980). Five new species of *Isospora* from
7 Hawaiian birds. *Journal of Protozoology*, 27, 258–259.
- 8 Lima, V.F.S., Bezerra, T.L., de Andrade, A.F., Ramos, R.A.N., Faustino, M.A.G., Alves,
9 L.C., & Meira-Santos, P.O. (2017). Gastrointestinal parasites of exotic birds living
10 in captivity in the state of Sergipe, Northeastern Brazil. *Brazilian Journal of*
11 *Veterinary Parasitology*, 26, 96–99.
- 12 Olson, V.A., Gissing, G.J., Barta, J.R., & Middleton, A.L.A. (1998). A new *Isospora* sp.
13 from *Carduelis tristis* (Aves: Fringillidae) from Ontario, Canada. *Journal of*
14 *Parasitology*, 84, 153–156.
- 15 Roldán-Clarà, B., Toledo, V.M., & Espejel, I. (2017). The use of birds as pets in Mexico.
16 *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13, 35.
- 17 Rossi, G., Perrucci, S., & Macchioni, G. (1996). *Isospora atrata* n. sp. (Apicomplexa,
18 Eimeriidae): a new coccidium from *Carduelis atrata* (Passeriformes, Fringillidae).
19 *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 43, 489–491.
- 20 Yang, R., Brice, B., Elliot, A., & Ryan, U. *Isospora serinuse* n. sp. (Apicomplexa:
21 Eimeriidae) from a domestic canary (*Serinus canaria forma domestica*)

- 1 (Passeriformes: Fringillidae) in Western Australia. *Experimental Parasitology*, 159,
- 2 59–66.
- 3

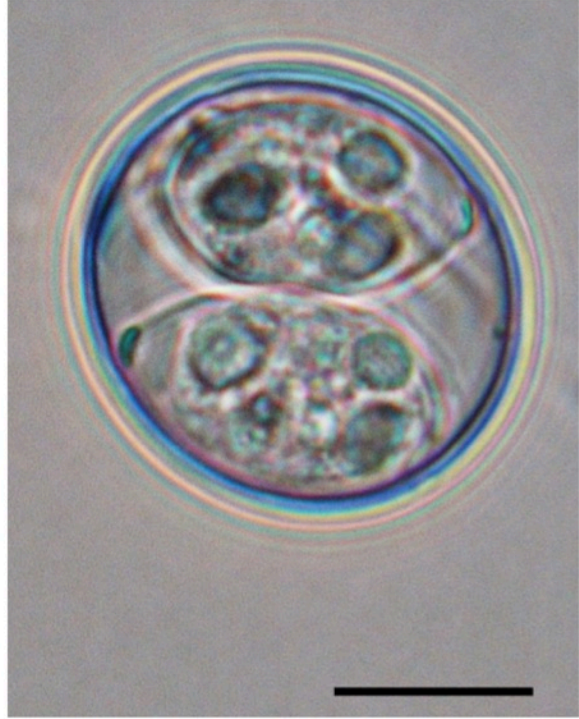
1 **Figure legend**

2

A



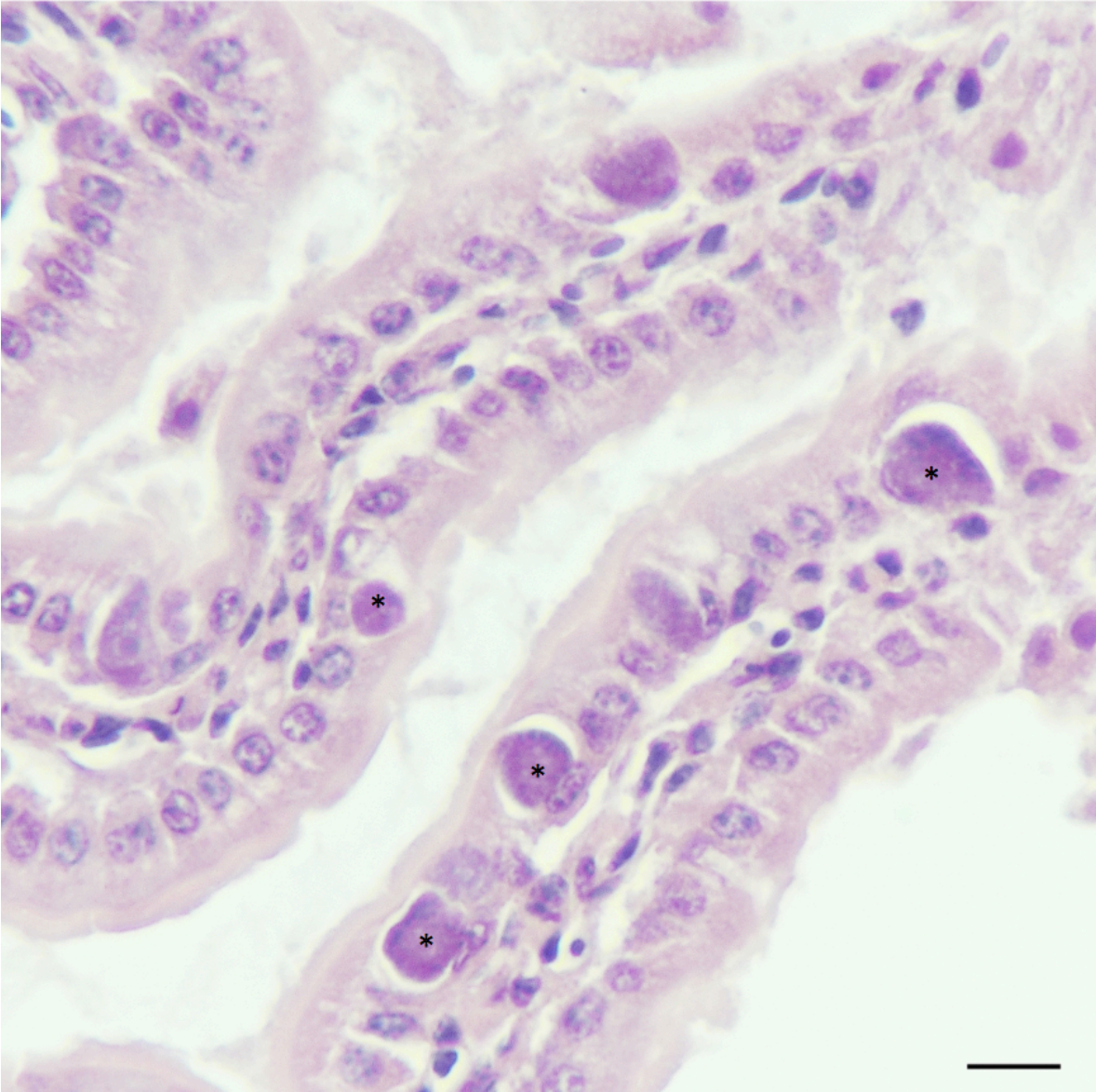
B



3

4 **Fig. 1** Oöcyst of *Isospora bioccai*. A & B. Photomicrographs. *Scale-bar*: 10 μ m.

5



1

2 **Fig. 2** *Isospora bioccai* from the duodenum of a canary *Serinus canaria*. Meronts (*)
3 surrounded by its parasitophorous vacuole. *Scale-bar*: 10 μ m.

4

5

Table 1 Comparative morphology of *Isoospora* spp. recorded from Fringillidae

1

Table 1. Comparative morphology of *Isoospora* spp. recorded from Fringillidae

Species	<i>I. bioccai</i> Cringoli & Quesada, 1991	<i>I. atrata</i> Rossi, Perruchi & Macchioni, 1996	<i>I. bioccai</i> Cringoli & Quesada, 1991	<i>I. canaria</i> Box, 1975	<i>I. daszaki</i> Ball, Brown & Snow, 2012	<i>I. gryphoni</i> Olson, Gissing, Baria & Middleton, 1998	<i>I. lacazei</i> Labbe, 1893	<i>I. loxopis</i> Levine, van Riper, & van Riper, 1980	<i>I. mcquistioni</i> Cringoli & Quesada, 1991	<i>I. serini</i> Arago, 1933	<i>I. serinuse</i> Yang, Brice, Elliot & Ryan, 2015
Host	<i>Serinus canaria</i> (Linnaeus)	<i>Carduelis atrata</i> (La Fresnaye & D'Orbigny)	<i>Carduelis sinica</i>	<i>Serinus canaria</i> (Linnaeus)	<i>Carduelis chloris</i> (Linnaeus)	<i>Carduelis tristis</i> (Linnaeus)	<i>Carduelis carduelis</i> (Linnaeus), <i>Carduelis chloris</i> (Linnaeus), <i>Fringilla coelebs</i> (Linnaeus)	<i>Loxops virens</i> (Gmelin)	<i>Carduelis sinica</i>	<i>Serinus canaria</i> (Linnaeus)	<i>Serinus canaria</i> (Linnaeus)
Locality	Mexico	Italy (imported from Peru, Bolivia, and Argentina)	Italy	USA, Brazil	England	Canada	England, Spain	Hawaii	Italy	USA	Australia
Reference	Present study	Rossi et al. (1996)	Cringoli & Quesada (1991)	Box, 1975; Berto et al. (2013)	Ball et al., 2012	Olson et al. (1998)	Anwar (1966)	Levine et al. (1980)	Cringoli & Quesada (1991)	Box, 1975	Yang et al. (2015)
<i>Oöcyst</i>											
Shape	subspherical	spherical or subspherical	spherical to subspherical	sub-spheroidal to ellipsoidal	spherical to subspherical	spherical to subspherical	subspherical	subspherical	ovoid	subspherical	spherical or subspherical
Wall	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	bi-layered	one-layered	bi-layered
Length	24.0–27.0 (25.5)	19.4–23.5 (21.0)	22.0–26.0 (24.0)	21.0–27.0 (24.4)	16.8–25.2 (20.3)	28.0–34.0 (30.7)	20.0–34.0 (26.8)	25.0–26.0 (26.0)	24.0–28.5 (26.0)	13.0–23.0 (20.1)	24.4–27.0 (25.5)
Width	22.0–25.0 (23.5)	18.5–22.0 (20.3)	21.0–25.8 (23.6)	19.0–25.0 (22.2)	16.8–22.4 (18.8)	25.0–33.0 (29.2)	18.0–30.0 (24.5)	22.0–25.0 (23.0)	20.0–23.6 (22.6)	13.0–23.0 (19.2)	22.0–24.8 (23.5)
Length/Width ratio	1.0–1.1 (1.1)	1.0–1.06 (1.03)	1.02	1.0–1.2 (1.1)	1.07–1.1 (1.08)	1.05	1.0–1.5 (1.1)				1.09
Polar granule	present, 2–4 rice-grain-shaped	present, (rarely 2), oval	present, 4 to 10 elongated	present, broadly bar shaped	absent	2–4 rice-grain-shaped	present	absent	present, 1 (rarely 2 or 3)	present	present
<i>Oöcyst</i> residuum	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent	absent
<i>Sporocyst</i>											
Shape	ellipsoidal	elliptical	ellipsoidal	lemons-shaped	ovoid	ovoid	pyriform	ovoid	oval	ellipsoidal	lemon-shaped
Length	15.6–17.4 (16.7)	17.5–18.94 (18.8)	18.6–20.0 (19.5)	16.0–20.0 (17.6)	12.6–18.2 (14.8)	15.0–25.0 (22.2)	15.0–19.0 (16.0)	16.0–17.0 (16.0)	16.0–19.8 (18.1)	13.0–16.0 (15.2)	17.8–20.2 (18.9)
Width	9.2–11.2 (10.5)	9.5–11.0 (10.3)	10.0–12.4 (11.6)	10.0–12.0 (10.6)	8.4–11.2 (9.4)	12.0–14.5 (13.4)	9.0–12.0 (11.4)	12.0–13.0 (13.0)	11.0–12.0 (11.4)	8.0–11.0 (9.4)	10.6–13.0 (11.8)
Length/Width ratio	1.6–1.8 (1.7)	1.76–1.88 (1.82)	1.68		1.6	1.7			1.59		1.6
Stieda body	nipple-like	flattened	nipple-like	nipple-like	opaque	small	present	knob-like	bottlecap-shaped	prominent	crested-shaped
Sub-Stieda body	trapezoidal, irregular base	rounded	trapezoidal	prominent	opaque	indistinct	present	no	slightly convex base	barely discernible	indistinct
Residuum	diffuse	compact/diffus ^e	diffuse	cluster of scattered granules	diffuse	compact	diffuse or compact	diffuse	compact	compact	compact

Discusión

Hasta ahora, el género *Isospora* sigue siendo el más común en aves passeriformes (Berto *et al.*, 2011). En el canario (*S. canaria*) se han identificado las siguientes especies de *Isospora*: *I. canaria* en EE. UU. Y Brasil (Box, 1975; Berto *et al.*, 2013), *I. serini* en EE. UU. (Box, 1975, 1977) e *I. serinuse* en Australia (Yang *et al.*, 2015). En Brasil, se han observado oocistos no esporulados de coccidias sin la identificación de la especie a la que pertenecen, las cuales se reportaron en canarios cautivos (de Freitas *et al.*, 2003; Lima *et al.*, 2017). Los oocistos esporulados obtenidos en este estudio se compararon en detalle con parásitos coccidianos de otras aves que pertenecen a la misma familia Fringillidae (Duszynski y Wilber 1997). La morfología y morfometría de los oocistos de *I. bioccai* permiten diferenciarla de otras especies de *Isospora* de la misma familia. *Isospora bioccai* se describió por primera vez a partir de *Carduelis sinica* en Italia (Cringoli y Quesada, 1991). Además de la nueva localización, este es el primer reporte de *I. bioccai* en los canarios (*S. canaria*) en México.

Sin embargo, existen estudios sobre parásitos coccidianos que, de acuerdo con el ciclo biológico, habían sido clasificados como géneros distintos debido a la fase que presentaban en el hospedero, *Isospora* (fase intestinal) y *Atoxoplasma* (fase extraintestinal), (Box, 1970; Levine; 1982; Quiroga *et al.*, 2000). Otros estudios realizados en cuba (Soto Piñeiro, 2009), revelan lesiones histopatológicas encontradas en canarios cautivos provocadas por *Atoxoplasma*, en el cual no se muestran evidencias claras de este nuevo género empleado para referirse a la fase extraintestinal provocada por el parásito. Gracias a técnicas moleculares realizadas se demostró que *Isospora* es el nombre válido más antiguo y debe usarse en lugar de *Atoxoplasma* (Barta JR *et al.*, 2005; Schrenzel *et al.*, 2005). En general, los géneros *Eimeria* e *Isospora* se desarrollan intestinalmente y en tejidos

como: Hígado, conductos biliares, Bazo, Pulmón, riñón y útero (Berto *et al.*, 2014).

Conclusión

Se determinó en base a estudios morfométricos y fenotípicos, las características de los oocistos esporulados encontrados en el canario (*S. canaria*), los cuales pertenecen a *I. bioccai* ya descrita en el *Carduelis sinica*. Por lo tanto, esta es la nueva localización de *I. bioccai* en el canario (*S. canaria*) en México.

Literatura citada

- Anwar M. (1966): *Isospora lacazei* (Labbe,1893) and *I. chloridis* sp. n. (Protozoa: Eimeriidae) from the English sparrow (*Passer domesticus*), greenfinch (*Chloris chloris*) and chaffinch (*Fringilla coelebs*). J Protozool, 13(1):84-90.
- Arnaiz-Villena A, Álvarez-Tejado M, Ruíz-del-Valle V, García-de-la-Torre C, Varela P, Recio MJ, Ferre S, Martínez-Laso J. (1999): Rapid Radiation of Canaries (*Genus Serinus*). Mol. Biol. Evol, 16(1):2–11.
- AVMA. (2013): (American Veterinary Medical Association). Guidelines for the euthanasia of animals. <https://www.avma.org/KB/Policies/Documents/euthanasia.pdf>. (Consultado 04 octubre, 2017).
- Ball SJ, Brown MA, Snow KR. (2012): A new species of *Isospora* (Apicomplexa: Eimeriidae) from the greenfinch *Carduelis chloris* (Passeriformes: Fringillidae). Parasitol Res, 111(4):1463–1466.
- Belli SI, Smith NC, Ferguson DJ. (2006): The coccidian oocysts: a tough nut to crack! Trends Parasitol, 22(9):416-423.
- Berto BP, Ferreira I, Flausino W, Teixeira-Filho WL, Lopes CW. (2013): *Isospora canaria* Box, 1975 (Apicomplexa: Eimeriidae) from canaries *Serinus canaria* Linnaeus (Paseriformes: Fringillidae) in Brazil. Syst Parasitol, 85(1):49-53.
- Berto BP, Flausino W, McIntosh D, Teixeira-Filho WL, Lopes CW. (2011): Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria Schneider*, 1875 and *Isospora Schneider*, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). Sys Parasitol, 80(3):159-204.

- Berto BP, Lopes CWG. (2013): Distribution and Dispersion of Coccidia in Wild Passerines of the Americas. In: Evolution and Behavior, Breeding strategies, Migration and Spread of Disease. Ruiz L, Iglesias F, editors. 2 ed. Editado por Ruiz L, Iglesias F., 48-65, Nova Science Publishers, Inc.
- Berto BP, McIntosh D, Lopes CW. (2014): Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). Braz. J. Vet. Parasitol, 23(1):1-15.
- Blake DP, Clark EL, Macdonald SE, Thenmozhi V, Kundu K, Garg R, Jatau ID, Ayoade S, Kawahara F, Moftah A, Reid AJ, Adebambo AO, Zapata RA, Srinivasa Rao ASR, Thangaraj K, Banerjee PS, Dhinakar-Raj G, Raman M, Tomley FM. (2015): Population, genetic, and antigenic diversity of the apicomplexan *Eimeria tenella* and their relevance to vaccine development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Proc Natl Acad Sci USA, 112(38):5343-5350.
- Box ED. (1975): Exogenous stages of *Isospora serini* (Aragão) and *Isospora canaria* sp. n. in the canary (*Serinus canarius* Linnaeus). J Protozool, 22(2):165–169.
- Box ED. (1977): Life cycles of two *Isospora* species in the canary *Serinus canarius* Linnaeus. J Protozool, 24(1):57–67.
- Buler JJ, Lyon RJ, Smolinsky JA, Zenzal TJ, Moore FR. (2017): Body mass and wing shape explain variability in broad-scale bird species distributions of migratory passerines along an ecological barrier during stopover. Oecologia, 17:1-8.
- Cha JO, Zhao J, Yang MS, Kim WI, Cho HS, Lim CW, Kim B. (2017): Oocyst shedding of three eimeria species in chickens and shedding pattern variation depending on the storage period of eimeria tenella oocysts. J Parasitol, 10:16-132
- COESPO. (2010): Consejo Estatal de Población.
file:///C:/Documents%20and%20Settings/Ciesa1/Mis%20documentos/Downl

- oads/Diagn%C3%B3stico%20Sociodemogr%C3%A1fico%20del%20Mpio%20de%20Toluca-COESPO.pdf. (Consultado 14 noviembre, 2017).
- Cringoli G, Quesada A. (1991): *Isospora mcquistioni* and *Isospora bioccai* (Apicomplexa, Eimeriidae): two new coccidian parasites from *Carduelis sinica* (Passeriformes, Fringillidae). J Protozool, 38(6):377–380.
- De Freitas MFL, De Oliveras JB, Calvalcanti MDB, De Freitas DA. (2003): Occurrence of coccidiosis in canaries (*Serinus canarius*) being kept in private captivity in the state of Pernambuco, Brazil. Parasitol Latinoam, 58(1):86-88.
- Duszynski DW, Wilber PA. (1997): A guideline for the preparation of species descriptions in the eimeriidae. J Parasitol, 83(2):333–336.
- Francia ME, Striepen B. (2014): Cell division in apicomplexan parasites. Nat Rev Microbiol, 12(2):125-136.
- Frolich S, Wallach M. (2015): F-actin distribution and function during sexual development in *Eimeria maxima*. Parasitology, 14(7):855-864.
- IUCN (International Union for Conservation of Nature and Natural Resources). (2017). <http://www.iucnredlist.org>. (Consultado 04 octubre, 2017).
- Levine ND, Van Riper S, Van Riper C. (1980): Five new species of *Isospora* from Hawaiian birds. J Protozool, 27(3):258–259.
- Lima VFS, Bezerra TL, Andrade AF, Ramos RA, Faustino MA, Alves LC, Meira-Santos PO. (2017): Gastrointestinal parasites of exotic birds living in captivity in the state of Sergipe, Northeastern Brazil. Rev Bras Parasitol Vet, 26(1):96-99.
- Liu LL, Chen ZG, Mi RS, Zhang KY, Liu YC, Jiang W, Fei CZ, Xue FQ, Li T. (2016): Effect of Acetamizuril on enolase in second-generation merozoites of *Eimeria tenella*. Vet Parasitol, 215:88-91.

- Lopes RJ, Johnson JD, Toomey MB, Ferreira MS, Araujo PM, Melo-Ferreira J, Andersson L, Hill GE, Corbo JC, Carneiro M. (2016): Genetic basis for red coloration in birds. *Curr Biol*, 26(11):1427-1434.
- McDougald LR. (2013): Protozoal infections. In: *Diseases of Poultry*, 13th ed. Swayne DE, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Suarez DL, Nair V, editors. Iowa: Blackwell-Wiley, 1147.
- Medina JP, Salgado-Miranda C, García-Conejo M, Galindo-Sanchez KP, Mejía-García CJ, Janczur MK, Lopes CWG, Berto BP, Soriano-Vargas E. (2015): Coccidia in passerines from the Nevado de Toluca National Park, Mexico. *Acta Parasitol*, 60(1):173-174.
- NOM-033-SAG/ZOO-2014: Métodos para dar muerte a los animales domésticos y silvestres. D.O.F. Miércoles 26 de Agosto de 2015.
- Olson VA, Gissing GJ, Barta JR, Middleton ALA. (1998): A new *Isospora* sp. from *Carduelis tristis* (Aves: Fringillidae) from Ontario, Canada. *J Parasitol*, 84(1):153–156.
- Roldán-Clarà B, Toledo VM, Espejel I. (2017): The use of birds as pets in Mexico. *J Ethnobiol Ethnomed*, 13(1):1-18.
- Rossi G, Perrucci S, Macchioni G. (1996): *Isospora atrata* n. sp. (Apicomplexa, Eimeriidae): a new coccidium from *Carduelis atrata* (Passeriformes, Fringillidae). *J Eucaryot Microbiol*, 43(6):489-491.
- Salgado-Miranda C, Medina JP, Zepeda-Velázquez AP, García-Conejo M, Galindo-Sánchez KP, Janczur MK, Soriano-Vargas E. (2016): *Isospora cardellinae* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the red warbler *Cardellina rubra* (Swainson (Passeriformes: Parulidae) in Mexico. *Syst Parasitol*, 93(8):825-830.
- Sánchez-Cordón PJ, Gómez-Villamandos JC, Gutiérrez J, Sierra MA, Pedrera M, Bautista MJ. (2007): *Atoxoplasma* spp. infection in captive Canaries (*Serinus canaria*). *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med*, 54(1):23-26.

- Soriano-Vargas E, Medina JP, Salgado-Miranda C, Garcia-Conejo M, Galindo-Sanchez KP, Janczur MK, Berto BP, Lopes CWG. (2015): *Eimeria pileata* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the rufous-capped brush finch *Atlapetes pileatus* Wagler (Passeriformes: Emberizidae) in Mexico. Syst Parasitol, 92(3):261-265.
- Vázquez-Dávila MA, Camacho-Escobar MA, López-Luis D, Vázquez-Cruz R, Jiménez-Díaz JE. (2014): Aprovechamiento tradicional y cría en cautiverio de chachalacas, pava y faisán (Cracidae) en el sur de México. AICA, 4:311-312.
- Williams RB, Thebo P, Marshall RN, Marshall JA. (2010): Coccidian oocysts as type-specimens: long-term storage in aqueous potassium dichromate solution preserves DNA. Syst Parasitol, 76(1):69-76.
- Yang R, Brice B, Elliot A, Ryan U. (2015): *Isospora serinuse* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from a domestic canary (*Serinus canaria* forma domestica) (Passeriformes: Fringillidae) in Western Australia. Exp Parasitol., 159:59-66.