



**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA
INDOAMÉRICA**

DIRECCIÓN DE POSGRADOS

MAESTRÍA EN BIODIVERSIDAD Y CAMBIO CLIMÁTICO.

TEMA:

**PREVALENCIA DE LA MALARIA AVIAR A LO LARGO DE LA COSTA
ECUATORIANA PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA HUMEDAD
Y LA PRECIPITACIÓN SOBRE LA INCIDENCIA DE ESTOS PARÁSITOS**

**Trabajo de investigación previo a la obtención del título de
Magíster en Biodiversidad y Cambio Climático.**

Autora: Edith Margelina Montalvo Espinoza
Tutor: PhD. Elisa Angélica Bonaccorso Sánchez

QUITO – ECUADOR

2021

Índice de contenido

AUTORIZACIÓN POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	iv
APROBACION DEL TUTOR.....	v
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	vi
APROBACIÓN TRIBUNAL	vii
DEDICATORIA	viii
AGRADECIMIENTO.....	ix
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	12
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	14
Factores biogeográficos, climáticos y cambio global.....	15
Malaria aviar en Ecuador.....	16
CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS	18
Área de estudio	18
Población y muestra	21
Muestreo de campo.....	21
Análisis de laboratorio.....	22
Definición de variables.....	23
Análisis de datos	24
CAPITULO III: RESULTADOS	26
Riqueza de especies, prevalencia e intensidad de malaria aviar.....	26
Relación entre precipitación y humedad.....	31
Análisis de componentes principales.....	32
Estatus de infección.....	33
Intensidad de infección.....	34

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN	37
Prevalencia de malaria aviar en la Costa ecuatoriana.....	37
Variables relacionadas al estatus e intensidad de infección.....	39
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	41

Tablas

Tabla 1. Localidades de estudio a lo largo de un gradiente de precipitación y humedad en la Costa ecuatoriana.....	19
Tabla 2. Valores de prevalencia por estación climática y localidades.....	26
Tabla 3. Lista de especies registradas en el presente este estudio, con datos de prevalencia y media de células infectadas (intensidad).	27
Tabla 4. Contribuciones de las variables para los componentes uno y dos, resultantes del PCA de las variables de precipitación de WorldClim.....	32
Tabla 5. Contribuciones de las variables para los componentes uno y dos, resultantes del PCA de las variables de temperatura de WorldClim.....	33
Tabla 6. Resultados del modelo GLMM para el estatus de infección.....	33
Tabla 7. Resultados del GLMM para intensidad de infección.....	36

Figuras

Figura 1. Ubicación de las localidades de estudio, y la variación precipitación y temperatura en la región Costa.....	18
Figura 2. Exploración de variables relacionadas a la intensidad de infección.....	35

AUTORIZACIÓN POR PARTE DEL AUTOR PARA LA CONSULTA, REPRODUCCIÓN PARCIAL O TOTAL, Y PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Edith Margelina Montalvo Espinoza declaro ser autora del Trabajo de Investigación con el nombre “PREVALENCIA DE LA MALARIA AVIAR A LO LARGO DE LA COSTA ECUATORIANA PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y LA PRECIPITACIÓN SOBRE LA INCIDENCIA DE ESTOS PARÁSITOS”, como requisito para optar al grado de Magíster en Biodiversidad y Cambio Climático y autorizo al Sistema de Bibliotecas de la Universidad Tecnológica Indoamérica para que con fines netamente académicos divulgue esta obra a través del Repositorio Digital Institucional (RDI-UTI).

Los usuarios del RDI-UTI podrán consultar el contenido de este trabajo en las redes de información del país y del exterior, con las cuales la Universidad Tecnológica Indoamérica (UTI) tenga convenios. La UTI no se hace responsable por el plagio o copia del contenido parcial o total de este trabajo.

Del mismo modo, acepto que los Derechos de Autor, Morales y Patrimoniales, sobre esta obra, serán comprometidos entre mi persona y la Universidad Tecnológica Indoamérica, y que no tramitaré la publicación de esta obra en ningún otro medio, sin autorización expresa de la misma. En caso de que exista el potencial de generación de beneficios económicos o patentes, producto de este trabajo, acepto que se deberán firmar convenios específicos adicionales, donde se acuerden los términos de adjudicación de dichos beneficios.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Quito, a los 06 días del mes de mayo, firmo conforme:

Autor: Edith Margelina Montalvo Espinoza

Firma: .....

Número de Cédula: 0703830794

Dirección: Santa Barbara Alta

Correo edith-montalvoe@hotmail.com

Teléfono: 0997299150

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación “PREVALENCIA DE LA MALARIA AVIAR A LO LARGO DE LA COSTA ECUATORIANA PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y LA PRECIPITACIÓN SOBRE LA INCIDENCIA DE ESTOS PARÁSITOS” presentado por Edith Margelina Montalvo Espinoza para optar por el Título de Magíster en Biodiversidad y Cambio Climático.

CERTIFICO

Que dicho trabajo de investigación ha sido revisado en todas sus partes y considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Tribunal Examinador que se designe.

Quito, 6 de mayo de 2021



.....

PhD. Elisa Angélica Bonaccorso Sánchez

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Quien suscribe, declara que los contenidos y los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación, como requerimiento previo para la obtención del Título de Magíster en Biodiversidad y Cambio Climático, son absolutamente originales, auténticos y personales y de exclusiva responsabilidad legal y académica del autor.

Quito, 06 de mayo de 2021



.....
Edith Margelina Montalvo Espinoza
C.I.: 0703830794

APROBACIÓN TRIBUNAL

El trabajo de Titulación, ha sido revisado, aprobado y autorizada su impresión y empastado, sobre el Tema: “PREVALENCIA DE LA MALARIA AVIAR A LO LARGO DE LA COSTA ECUATORIANA PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y LA PRECIPITACIÓN SOBRE LA INCIDENCIA DE ESTOS PARÁSITOS”, previo a la obtención del Título Magíster en Gestión Biodiversidad y Cambio Climático, reúne los requisitos de fondo y forma para que el estudiante pueda presentarse a la sustentación del trabajo de titulación.

Quito, 17 de mayo de 2021



Firmado electrónicamente por:
**DAVID ANDRES
DONOSO VARGAS**

.....
PhD. David Andrés Donoso Vargas
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....
PhD. Cristian Javier Melo Gonzalez
EXAMINADOR

.....
EXAMINADOR/DIRECTOR DE TRABAJO
PhD. Elisa Angélica Bonaccorso Sánchez

DEDICATORIA

A mi madre por su apoyo incondicional

AGRADECIMIENTO

Agradezco a la Escuela Politécnica Nacional, a la Universidad de Florida por su apoyo, especialmente a Rebecca Kimball por facilitar su laboratorio y el entrenamiento necesario en PCRs y Scott Robinson por financiar y asesorar el trabajo de campo y laboratorio, a todos los colaboradores de campo especialmente a Nathaly Uvillus que nos acompañó a varias localidades, a Monica Arellano y Vladimir Cravajal por los comentarios y sugerencias, a mi tutora Elisa Bonaccorso por su apoyo y paciencia, finalmente agradezco el apoyo de mi familia especialmente a mi hermano Daniel por todo el apoyo y guía durante el desarrollo de esta investigación.

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA INDOMÉRICA
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN BIODIVERSIDAD Y CAMBIO CLIMÁTICO

TEMA: PREVALENCIA DE LA MALARIA AVIAR A LO LARGO DE LA COSTA ECUATORIANA PARA DETERMINAR EL EFECTO DE LA HUMEDAD Y LA PRECIPITACIÓN SOBRE LA INCIDENCIA DE ESTOS PARÁSITOS.

AUTOR: Edith Margelina Montalvo Espinoza

TUTOR: Elisa Angélica Bonaccorso Sánchez

RESUMEN EJECUTIVO

Las aves son organismos que pueden ser afectados por enfermedades parasitarias. Estos parásitos pueden ser unicelulares y pluricelulares; además, pueden contaminar células sanguíneas. Dentro de los parásitos sanguíneos se incluyen el grupo de los hemosporidios, en este grupo se encuentran los protozoarios de los géneros *Plasmodium*, *Haemoproteus*, y *Leucocytozoon* que producen malaria aviar. Las relaciones entre las condiciones del clima y las enfermedades epidémicas es bien conocida, de tal manera que incidencia de malaria aviar se ve afectada por las variables ambientales, principalmente por su relación con el desarrollo de las poblaciones de los vectores. En ese contexto, el presente estudio se propone determinar si las variables de precipitación y humedad, afectan la prevalencia de malaria aviar, a lo largo de un gradiente precipitación y humedad en el occidente del Ecuador. Para ello, se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) determinar la prevalencia de malaria aviar en 13 localidades con remanentes de bosque de la Costa ecuatoriana, y 2) establecer si existe una relación entre el estatus de infección y la intensidad de malaria aviar, y los gradientes de precipitación y humedad a lo largo de esa región. Como hipótesis del trabajo se proponen que la precipitación y la humedad están positivamente relacionadas

con el estatus y la intensidad de infección por parásitos de malaria aviar, debido a la importancia de estas variables en el desarrollo de los vectores. En general, se encontró una prevalencia relativamente alta, en comparación a la encontrada en otras localidades de Ecuador. El estatus de infección no estuvo relacionado con ninguna de las variables estudiadas. En contraste, la intensidad de infección fue mayor en los hábitats de bosque húmedo y menor durante la estación seca. La intensidad de infección estuvo negativamente correlacionada con la precipitación y la temperatura. Se comparan los resultados de prevalencia con estudios anteriores y se discuten posibles razones para explicar las asociaciones de la intensidad de infección con las variables ambientales.

Palabras claves: Prevalencia, Malaria aviar, Ecuador, Humedad, Precipitación

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA INDOMÉRICA
DIRECCIÓN DE POSGRADO
MAESTRÍA EN BIODIVERSIDAD Y CAMBIO CLIMÁTICO

TOPIC: PREVALENCE OF AVIAN MALARIA ALONG THE ECUADORIAN COAST TO DETERMINE THE EFFECT OF HUMIDITY AND PRECIPITATION ON THE INCIDENCE OF THESE PARASITES.

AUTHOR: Edith Margelina Montalvo Espinoza

TUTOR: Elisa Angélica Bonaccorso Sánchez

ABSTRACT

Birds are organisms that can be affected by parasitic diseases. These parasites can be unicellular and multicellular; in addition, they can contaminate blood cells. Blood parasites include the group of haemosporidian. This group is the protozoa of the genera Plasmodium, Haemoproteus, and Leucocytozoon that produce avian malaria. The relationship between climatic conditions and epidemic diseases is well known so that the incidence of avian malaria is affected by environmental variables, mainly because of their relationship with the development of vector populations. In this context, the present study aimed to determine whether precipitation and humidity variables affect the prevalence of avian malaria along a precipitation and humidity gradient in western Ecuador. For this purpose, the following specific objectives were proposed: 1) to determine the prevalence of avian malaria in 13 localities with forest remnants on the Ecuadorian coast, and 2) to establish if there is a relationship between the infection status and the intensity of avian malaria and the precipitation and humidity gradients along this region. The work hypothesizes that precipitation and humidity are positively related to the infection status and intensity of avian malaria parasites due to the

importance of these variables in developing the vectors. In general, a relatively high prevalence was found, compared to that found in other localities in Ecuador. Infection status was not related to any of the variables studied. In contrast, the intensity of infection was higher in humid forest habitats and lowered during the dry season. Infection intensity was negatively correlated with precipitation and temperature. Prevalence results are compared with previous studies, and possible reasons to explain the associations of infection intensity with environmental variables are discussed.

KEYWORDS: avian malaria, Ecuador, humidity, precipitation, prevalence

Translated by:



Firmado electrónicamente por:

**LUCILA
ESTEFANIA
QUEZADA
TOBAR**

ELF TEACHER
Wednesday, May 19th 2021

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Las aves son afectadas por diferentes enfermedades parasitarias. Los parásitos causantes de estas enfermedades pueden ser unicelulares o pluricelulares, y pueden contaminar células sanguíneas. Dentro de los parásitos sanguíneos se incluyen los protozoarios Haemosporida en los géneros *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* que causan la malaria aviar (Valkiūnas, 2005; Pérez-Tris et al., 2005). *Plasmodium* es un parásito transmitido exclusivamente por mosquitos y *Leucocytozoon* se transmite por las moscas negras de la familia Simuliidae (Lotta et al., 2016), mientras que *Haemoproteus* se trasfiere por la picadura de mosquitos, moscas y piojos (Ferreira Junior et al., 2017). Esta característica multivectorial, contribuye a que *Haemoproteus* sea el género de malaria más registrado en aves silvestres (Atkinson, 1991).

Se cree que la virulencia de la malaria aviar varía de acuerdo con la especie y linaje del parásito, además del origen evolutivo del vector, del hospedero y del parásito (Beadell et al., 2006; Waldenström et al., 2002). Tal como ocurre con otros parásitos haemosporidios, aun no se conoce suficiente sobre la patogenicidad de los parásitos de la malaria aviar (Beadell et al., 2006; Waldenström et al., 2002). Sin embargo, se sabe que las infecciones ocasionadas por hemoparásitos pueden cambiar la fisiología y comportamiento de las aves, alterando las cadenas y organización trófica de las poblaciones (Saggese, 2007). Las infecciones severas pueden causar disminuciones graves en el éxito reproductivo y hasta la muerte, provocando declinaciones poblacionales y extinciones (Saggese, 2007), e interviniendo en la regulación de las poblaciones (Barlow, 1996). Algunos de los efectos en la fisiología de las aves durante la fase inicial aguda de la infección por malaria son anemia, letargo y pérdida del apetito (Vogel, 2015).

La malaria aviar es un excelente modelo para explorar la ecología y evolución de las relaciones entre parásito y huésped (Pérez-Tris et al., 2005; Bensch et al., 2009).

Además, en ecosistemas donde no es nativa, tiene el potencial de ejercer una fuerte presión selectiva sobre las aves, ya que con frecuencia es virulenta (Rivero y Gandon, 2018). Por ejemplo, la introducción en Hawai de *Plasmodium relictum* y de la viruela aviar *Avipoxvirus*, a través de mosquitos de género *Culex*, ocasionó una severa declinación e incluso extinción de numerosas aves endémicas (Jarvi, 2002).

Factores biogeográficos, climáticos y cambio global

La relación entre las condiciones del clima y las enfermedades epidémicas es bien conocida, incluso mucho antes de que los agentes infecciosos fueran descubiertos. Particularmente, se conoce que la malaria aviar tiene niveles altos de transmisión en tierras bajas, intermitentes a elevaciones medias y bajos o inexistentes en elevaciones altas (Atkinson y Samuel 2010; LaPointe et al., 2012). También se sabe que la tasa de transmisión se incrementa en zonas con altas temperaturas (Zamora-Vilchis et al., 2012; Atkinson et al., 2014). De igual manera, altas precipitaciones se han relacionado con una prevalencia alta de malaria aviar (Jones et al., 2013; Rojo et al., 2013), principalmente por el hecho de que las precipitaciones favorecen el desarrollo de las poblaciones de los vectores (Benavides-Melo, 2015).

En ciertas condiciones, los parásitos de la malaria también pueden completar la fase esporogónica de manera acelerada en vectores vulnerables a temperaturas medias a bajas (Ferreira Junior et al., 2017). De esta manera la distribución global de la enfermedad también se ve influenciada por otros factores como la estacionalidad, las características ecogeográficas, la elevación y también la presencia de cuerpos de agua requeridos por el vector (Durrant et al., 2006; Ferreira Junior et al., 2017; Okanga et al., 2013; Robinet y Roques, 2010).

Bajo los criterios expuestos, Rossi et al (2005), prevé una reorganización generalizada de comunidades de parásitos bajo escenarios de cambio climático. El fenómeno del Niño, por ejemplo, es responsable del calentamiento del agua en el Océano Pacífico ecuatorial, alterando la humedad y temperatura del aire, y

consecuentemente el ciclo de vida de los vectores de enfermedades infecciosas como malaria. Algunos estudios han mostrado que el incremento de la precipitación y temperatura bajo escenarios de cambio climático, puede incrementar las tasas de transmisión de la malaria aviar y causar severas declinaciones de poblaciones de aves (Liao et al., 2015).

A escala local, el cambio climático también puede provocar disminución de la prevalencia y riqueza de *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* (Pérez-Rodríguez et al., 2014). Este fenómeno se contrapone a lo estimado para *Plasmodium*, el cual se puede ver favorecido por el calentamiento global, ampliando su área de distribución y con una mayor probabilidad de aumentar su diversidad (Pérez-Rodríguez et al., 2014). En consecuencia, *Plasmodium*, al ser el género más virulento, podría generar efectos importantes en las poblaciones de hospederos (Pérez-Rodríguez et al., 2014).

Malaria aviar en Ecuador

A pesar de la importancia que reviste el entendimiento de las enfermedades zoonóticas para la conservación de las aves, son pocos los estudios en América Latina que abordan a la malaria aviar. En Ecuador, estos estudios son aún más escasos, esporádicos y localmente restringidos. De los estudios realizados en Ecuador se destacan reportes en las Islas Galápagos (e.g., Asigau y Parker, 2018; Palmer et al., 2013; Wikelski et al., 2004; Miller et al., 2001; Levin et al., 2013) y el en continente, en diferentes ecosistemas (Harrigan et al., 2014; Moens et al., 2016; Rivero et al., 2018; Cadena et al., 2018).

En ese contexto, el presente estudio se propone determinar si la precipitación y la humedad afectan la prevalencia de malaria en aves a lo largo de un gradiente de humedad en el occidente del Ecuador. Para ello se han planteado los siguientes objetivos específicos: 1) determinar la prevalencia de malaria aviar en 13 localidades con remanentes de bosque de la Costa ecuatoriana, y 2) establecer si existe una relación entre la prevalencia de malaria aviar y los gradientes de precipitación y humedad. Como hipótesis del trabajo se proponen que la precipitación y la humedad están

positivamente relacionadas con el estatus y la intensidad de infección por parásitos de malaria aviar (García del Río et al., 2020), debido a la importancia que el mantenimiento de los cuerpos de agua tiene en la reproducción de los vectores (Isaksson et al., 2013; Pigeault et al., 2015).

Esta investigación aporta con nuevos datos al conocimiento sobre las infecciones de malaria aviar en los remanentes de bosques de la región Costa del Ecuador. Además, generará un marco de información actualizada que contribuirá a entender el fenómeno, y en futuro ayudará a proponer medidas de manejo y preservación de las especies ante posibles eventos pandémicos motivados por cambio climático.

CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El muestreo de campo contempló una franja a lo largo de la Costa ecuatoriana, que atraviesa seis provincias y 13 reservas, entre públicas y privadas (Tabla 1). Esta distribución de sitios cubre un gradiente de precipitación y humedad, que se distribuye desde la frontera con Colombia (Región húmeda del Chocó), al norte, hasta la frontera con Perú (Región Seca Tumbesina), al sur (Figura 1).

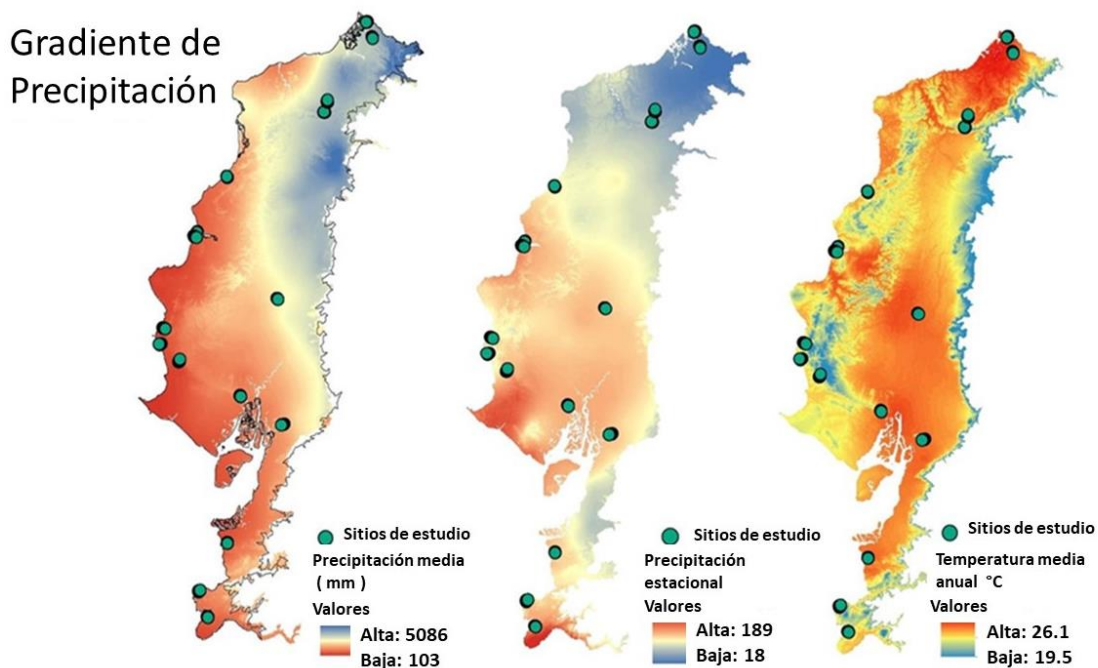


Figura 1. Ubicación de las localidades de estudio, y la variación precipitación y temperatura en la región Costa.

Tabla 1. Localidades de estudio a lo largo de un gradiente de precipitación y humedad en la Costa ecuatoriana

No.	Provincia	Área Protegida	Alt (m)	Coordenadas		Extensión del área protegida	Descripción
				X	Y		
1	Esmeraldas	Reserva Ecológica Cayapas Mataje	55	-80,737,542	-1,537,773	51.300 Ha	Borde del bosque. Bosque siempre verde de tierras bajas.
2	Esmeraldas	Refugio de Vida Silvestre El Pambilar	30	-8,014,320	-356,194	3.123 Ha	Interior del bosque. Bosque siempre verde de tierras bajas.
3	Esmeraldas	Reserva Río Canandé	16	-8,079,474	-167,834	5.600 Ha	Bosque en regeneración. Frente a instalaciones del <i>lodge</i> , junto al nuevo sendero. Bosque siempre verde de tierras bajas.
4	Manabí	Parque Nacional Machalilla (comunidad Agua Blanca)	80	-7,921,416	0,524287	75.060 Ha	Área semiabierta y cultivos (banano), cerca del área arqueológica cerrada, baja densidad de árboles viejos, alto tráfico de animales.
5	Manabí	Reserva Bosque Seco Lalo Loor	25	-78,801,862	137,488	250 Ha	Bosque semideciduo de tierras bajas. Interior de la reserva cerca del <i>lodge</i> , área de cultivos, bosque secundario, y bosque primario. Bosque

							semideciduo de tierras bajas, bosque siempre verde estacional.
6	Manabí	Reserva Natural Punta Gorda	10	-8,042,667	-401,709	310 Ha	Bosque en regeneración (30 años y sin pastoreo). Bosque semideciduo de tierras bajas
7	Manabí	Reserva Río Ayampe	53	-8,001,656	-217,663	2.000 Ha	Bosque secundario a 500 m de la carretera. Bosque siempreverde estacional. Interior del bosque de garua, en el sendero de la cabaña. Bosque tropical semideciduo. Sendero cercano a la laguna el Cancón, con pastoreo moderado. Bosque semideciduo.
8	Santa Elena	Bosque Protector Loma Alta y Ampliación	182	-79,179,155	0,619621	1.858 Ha	Bosque regenerado hace 20 años. Bosque seco tropical. En el sendero, sotobosque denso, baja densidad de árboles grandes. Bosque seco tropical.
9	Guayas	Reserva Ecológica Manglares Churute	44	-80,329,402	-4,271,299	49.984 Ha	
10	Guayas	Bosque Protector Cerro Blanco	54	-80,152,227	-0,079798	6078 Ha	
11	El Oro	Reserva Ecológica Arenillas	25	-8,061,341	-1,833,668	17.080 Ha	

12	Loja	Reserva Natural Cazaderos	12	-7,960,274	-244,128	7.700 Ha	Interior de bosque, presencia de ganado vacuno. Bosque seco tropical.
13	Loja	Reserva Natural La Ceiba	23	-8,047,150	-0,65093	10.200 Ha	Interior de bosque, presencia de ganado caprino. Bosque Seco tropical.

Población y Muestra

La población está conformada por toda la comunidad de aves que habita en las 13 localidades estudiadas. La muestra la constituyen, en primera instancia, todos los individuos capturados, para los cuales se obtuvieron muestras sanguíneas. Una segunda muestra, más reducida, estuvo constituida por aquellas especies con 10 individuos y más, pues es este es tamaño de muestra recomendado para la estimación estadística de la prevalencia y el estatus de infección (Jovani y Tella 2006).

Muestreo de campo

En cada sitio de estudio se realizaron capturas de aves con 10 redes de neblina (12 m de largo × 3 m de alto), las cuales se mantuvieron abiertas de las 6:00 a las 18:00 horas durante 2 días en cada localidad. Las capturas en los 13 sitios se ejecutaron entre los meses de junio, julio y agosto de 2017, que corresponden a la estación seca, y en febrero, marzo, y abril de 2018, que corresponden a la estación húmeda, dando como resultado un esfuerzo de captura total de 6240 horas/red.

Los individuos capturados fueron pesados con una balanza digital (AWS) de 1 kilo de capacidad y una graduación de 0.1 g. Las medidas morfométricas se tomaron con un calibrador analógico con reloj serie 3202 marca Starrett con precisión de 0.05, y reglas con tope de 15 cm y 50 cm. Se evaluó la presencia de posibles lesiones de viruela aviar y ácaros en plumas y cuerpo, se estimó la edad (adulto o inmaduro) y se

determinó el sexo por plumaje, la grasa corporal (0 = abdomen sin grasa; 1 = trazas de grasa en el abdomen; 2 = grasa bien marca entre los intestinos; 3 = la grasa forma una placa fina, hígado y parte de los intestinos todavía visibles; 4 = placa gruesa que cubre todo o buena parte del abdomen, el hígado aún puede ser visible; 5 = Placa muy gruesa y prominente que cubre todo el abdomen, cubre el margen inferior de los músculos) (ICO S/A); la presencia de parche de incubación y muda en las plumas. Estos datos se tomaron de acuerdo a Ralph et al. (1996).

En cada uno de los sitios de estudio, se tomaron muestras del tejido sanguíneo de las aves capturadas en las redes de neblina. Las muestras sanguíneas fueron extraídas con una jeringa de insulina marca Vanjerin de 1 ml/cc 31G × 8 mm, realizando una punción en la vena ulnar del ala izquierda. Se extrajeron entre 10 a 20 µl de sangre de cada individuo, que se depositaron en dos criotubos que contenían *buffer* de lisis (Tris HCl, pH = 8.0 = 0.1M; NaCl = 0.01M; EDTA = 0.1M; SDS = 3%), y se almacenaron en criocajas. Con una tercera muestra de sangre, se realizó un frotis sanguíneo de barrido sobre una lámina porta objetos, la cual se dejó secar al ambiente para luego ser fijada en etanol al 96% por 10 min. Posteriormente las muestras obtenidas fueron teñidas con solución de Giemsa por 60 min y transportadas en cajas porta placas debidamente etiquetadas. Finalmente, las aves fueron marcadas con anillos metálicos codificados y se liberaron en el lugar de captura. Los anillos impidieron que se duplicaran las muestras, además ayudaron a monitorizar las recapturas. La captura y extracción de tejido se realizó con criterios éticos y de respeto a los organismos, y se amparó en la Autorización de Investigación No. 011-17 IC-FAU-DNB/NA y el Contrato Marco de Acceso a Recursos Genéticos No. MAE-DNB-CM-2017-0068 otorgado por el MAAE a la Escuela Politécnica Nacional.

Análisis de laboratorio

La obtención de ADN y PCR se realizaron en el laboratorio de biología molecular de Rebecca Kimball del Departamento de Biología de la Universidad de Florida. El ADN se obtuvo con un kit purificador de ADN (Qiagen Inc.), siguiendo un protocolo

de lisis con proteinasa K, de acuerdo a las instrucciones del kit. Para la detección molecular de la infección, se realizó el protocolo de PCR anidado desarrollado por Waldenström et al. (2004), para amplificar un fragmento de 478 pb del gen de citocromo b (cytb) mitocondrial. Para ello se emplearon los cebadores HaemF (5'-ATGGTGCTTTTCGATATATGCATG-3') y HaemR2 (5'-GCATTATCTGGATGTGATAATGGT-3') (Waldenström et al. (2004). Las reacciones de PCR se prepararon en volúmenes totales de 25 µl (2 µl de ADN) genómico, 15.75 µl ddH₂O; 2.5µl dNTP's; 2.5 µl 10× Buffer; 1.25 µl primers 1; 1.25 µl primers 2; 0.25 µl TAQ. Las condiciones del ciclo de amplificación fueron las siguientes: 95°C/5 min; 35 ciclos de 96°C/30 s, 55°C/50 s, 75°C/60 s; 72°C/5 min. Los productos se sometieron a electroforesis y tinción (bromuro de etidio) de gel de agarosa al 1%. Todas las muestras fueron sometidas a un nuevo análisis para confirmación de las mismas.

El diagnóstico citológico de hemoparásitos se realizó en el área de Ornitología del Departamento de Biología de la Escuela Politécnica Nacional. Para la detección y registro de células infectadas se utilizó un microscopio Olympus trinocular, con lente de inmersión 100× y una cámara Infinity, conectada al ordenador. La placa de la muestra sanguínea fue revisada realizando un recorrido de forma de zigzag en toda la extensión del frotis. Cuando se detectaban células infectadas, se registraba en una matriz de datos y se tomaba una fotografía. El proceso requirió del conteo de 10.000 células por placa para ajustarse a los protocolos establecidos (Merino et al 1997; Waldenströmet et al., 2004).

Definición de las variables

Las variables independientes que se seleccionaron para el presente estudio fueron variables ambientales que resumen datos de humedad, precipitación y temperatura, y que fueron obtenidos de las plataformas WorldClim (Harris et al., 2014; <https://www.worldclim.org/data/monthlywth.html>) y MerraClim (Rienecker et al., 2011; <https://gmao.gsfc.nasa.gov/reanalysis/MERRA/>). Ambos sets de variables,

WorldClim y MerraClim, están basados en datos de temperaturas medias mensuales, que se combinan con precipitaciones medias mensuales (WorldClim) o humedad media específica (MerraClim). Cada plataforma provee un total de 19 variables predictoras (para una explicación detallada de cada variable, ver Anexo 1).

Las variables dependientes, que resumen la incidencia de malaria aviar, fueron el estatus y la intensidad de infección. El estatus de infección está dado por el diagnóstico positivo (1) o negativo (0) para infección por malaria aviar por cada individuo. La intensidad es el número de células infectadas por cada 10,000 células contadas en un individuo. Adicionalmente, se calculó la prevalencia de infección para cada especie, como el porcentaje de individuos infectados o $(\text{individuos infectados}/\text{individuos totales}) \times 100$.

Análisis de datos

Para todas las especies se compiló el número de individuos infectados/número de individuos muestreados. Además, para las especies con más de 10 individuos capturados, se calculó la prevalencia y la media de la intensidad de infección.

Para determinar si existe una correlación entre las variables de humedad (MerraClim) y precipitación (WorldClim), utilizamos una correlación de Pearson. En este análisis preliminar se determinó que estas variables están altamente correlacionadas (ver Resultados), por lo que se decidió utilizar únicamente las variables de precipitación de WorldClim para los siguientes análisis. De igual modo, antes de realizar los análisis que incluían precipitación (en mm) y temperatura (en °C), se escalaron los valores de estas variables. Luego, para resumir la estructura de los datos y evitar la multicolinealidad de las variables, utilizamos un análisis de componentes principales (PCA). Así se pudieron determinar las variables ambientales que aportan mayor variación y reducir el número de variables que podrían incidir sobre el estatus y la intensidad de infección.

Para analizar el efecto de diferentes variables sobre el estatus y la intensidad de infección, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM, por sus siglas en inglés). Para estudiar la intensidad se usó el paquete para R `glmmTMB` (Magnusson et al., 2020) aplicando un modelo cero-inflado Poisson. Para estudiar el estatus de infección, se usó el paquete `lme4` de R (Bates et al., 2020) aplicando un modelo binomial. Estos paquetes se utilizaron la plataforma R versión 4.0.3 (2020-10-10) (R Core Team 2020).

CAPITULO III: RESULTADOS

Riqueza de especies, prevalencia e intensidad de malaria aviar

En este estudio se registraron 131 especies de 30 familias, con un total de 572 individuos para todas las especies. El valor de riqueza más alta se registró en El Pambilar (36 spp.) y el más bajo en Cazaderos (10 spp.); el promedio de captura fue de 23 individuos por localidad. La mayor prevalencia de malaria aviar se encontró en La Ceiba durante el 2017 (n = 6, 57%) y la menor prevalencia se dio en Loma Alta durante la estación húmeda (n = 30, 3.44%); únicamente en Cayapas Mataje no se reportaron individuos con infección (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de prevalencia por estación climática y localidades

Localidades	Prevalencia	
	Seca 2017	Húmeda 2018
La Ceiba	57	38
Cazaderos	0,00	53,84
Arenillas	27,00	44,44
Manglares Chururte	15,70	40,00
Cerro Blanco	25,00	48,00
Agua Blanca	22,22	38,00
Ayampe	8,00	10,00
Loma Alta	14,20	3,44
Punta Gorda	16,66	52
Lalo Loor	16,00	7,00
Cayapas Mataje	0,00	-
El Pambilar	12,24	25,00
Canandé	29,16	15,09
Total	243.18	374.81

Para el cálculo de prevalencia e intensidad por especie, se retuvieron 20 especies de las cuales se obtuvieron 10 o más registros, para un total de 290 individuos de todas las especies (Tabla 3). Tomando en cuenta todas las localidades estudiadas *Vireo olivaceus*, fue la especie con mayor número de individuos infectados por malaria

aviar con una prevalencia de 97%, mientras que la de menor valor fue *Sporophila corvina* (n = 13, 8%) (Tabla 3). Además, en 83 especies no se registraron infecciones (Tabla 3). La prevalencia a nivel de familias fue mayor en Vireonidae (n = 34, 97%) con *Vireo olivaceus* como único representante. Le siguen las familias Emberizidae (n = 29, 48.27%); Turdidae (n = 18, 38.88%); Thraupidae (n = 53, 37.7%); Pipridae (n = 40, 25%); Icteridae (n = 6, 33.33%); Parulidae (n = 29, 34.48%); Furnariidae (n = 72, 15.27%); Thamnophilidae (n = 50, 14%); y Tyrannidae (n = 86, 11.62%). El resto de familias presentaron menos de 10% de prevalencia, a excepción de las familias Cuculidae, Falconidae, Momotidae, Strigidae, Tinamidae que no registraron infecciones.

Tabla 3. Lista de especies registradas en el presente este estudio, con datos de prevalencia y media de células infectadas (intensidad) para las especies con más de 10 individuos (en gris).

	Familias / Especie	Individuos	Positivo por PCR	Prevalencia	Intensidad media
	Bucconidae				
1	<i>Malacoptila panamensis</i>	10	0	0.0	0.0
	Cardinalidae				
2	<i>Cyanoloxia cyanooides</i>	1	0	-	-
3	<i>Pheucticus chrysogaster</i>	3	0	-	-
	Columbidae				
4	<i>Columbina cruziana</i>	3	2	-	-
5	<i>Leptotila ochraceiventris</i>	1	0	-	-
6	<i>Leptotila pallida</i>	1	0	-	-
7	<i>Leptotila verreauxi</i>	2	2	-	-
	Cuculidae				
8	<i>Coccyzus lansbergi</i>	2	0	-	-
9	<i>Crotophaga sulcirostris</i>	3	0	-	-
	Emberizidae				
10	<i>Arremon abeillei</i>	20	12	60.0	70.6
11	<i>Arremon aurantiirostris</i>	6	2	-	-
12	<i>Rhodospingus cruentus</i>	2	0	-	-
13	<i>Saltator striatipectus</i>	1	0	-	-
	Falconidae				

	Familias / Especie	Individuos	Positivo por PCR	Prevalencia	Intensidad media
14	<i>Micrastur ruficollis</i>	1	0	-	-
	Fringillid				
15	<i>Euphonia laniirostris</i>	7	1	-	-
16	<i>Euphonia xanthogaster</i>	4	0	-	-
	Furnariidae				
17	<i>Automolus ochrolaemus</i>	6	0	-	-
18	<i>Campylorhamphus trochilirostris</i>	3	0	-	-
19	<i>Dendrocincla fuliginosa</i>	6	2	-	-
20	<i>Furnarius leucopus</i>	10	5	50.0	3.6
21	<i>Glyphorhynchus spirurus</i>	10	0	0.0	0.0
22	<i>Lepidocolaptes souleyetii</i>	18	2	11.1	2.3
23	<i>Sclerurus guatemalensis</i>	1	0	-	-
24	<i>Sittasomus griseicapillus</i>	11	1	9.1	0.5
25	<i>Synallaxis brachyura</i>	1	0	-	-
26	<i>Synallaxis stictothorax</i>	3	1	-	-
27	<i>Xenops minutus</i>	1	0	-	-
	<i>Xiphocolaptes</i>				
28	<i>promeropirhynchus</i>	1	0	-	-
29	<i>Xiphorhynchus erythropygius</i>	1	0	-	-
	Hirundinidae				
30	<i>Atticora tibialis</i>	1	0	-	-
	Icteridae				
31	<i>Cacicus cela</i>	5	2	-	-
32	<i>Dives warczewiczi</i>	1	0	-	-
	Melanopareiidae				
33	<i>Melanopareia elegans</i>	5	0	-	-
	Mimidae				
34	<i>Mimus longicaudatus</i>	1	1	-	-
	Momotidae				
35	<i>Momotus momota</i>	3	0	-	-
	Parulidae				
36	<i>Geothlypis aequinoctialis</i>	6	2	-	-
37	<i>Myiothlypis fraseri</i>	21	8	38.1	29.6
38	<i>Myiothlypis fulvicauda</i>	1	0	-	-
39	<i>Ramphocaenus melanurus</i>	1	0	-	-
	Picidae				
40	<i>Dryobates callonotus</i>	1	0	-	-
41	<i>Dryobates kirkii</i>	1	1	-	-

	Familias / Especie	Individuos	Positivo por PCR	Prevalencia	Intensidad media
42	<i>Melanerpes pucherani</i>	1		-	-
43	<i>Picumnus olivaceus</i>	2		-	-
	Pipridae				
44	<i>Automolus ochrolaemus</i>	2		-	-
45	<i>Ceratopipra mentalis</i>	12	1	8.3	7.4
46	<i>Cryptopipo holochlora</i>	2	1	-	-
47	<i>Lepidothrix coronata</i>	14	5	35.7	41.4
48	<i>Manacus manacus</i>	10	3	30.0	31.9
	Poliopitidae				
49	<i>Microbates cinereiventris</i>	5	0	-	-
50	<i>Poliopitila plumbea</i>	10	0	0.0	0.0
	Psittacidae				
51	<i>Forpus coelestis</i>	2	1	-	-
	Rallidae				
52	<i>Laterallus albigularis</i>	4	0	-	-
	Strigidae				
53	<i>Glaucidium peruanum</i>	1	0	-	-
	Thamnophilidae				
54	<i>Dysithamnus mentalis</i>	3	0	-	-
55	<i>Dysithamnus puncticeps</i>	2	0	-	-
56	<i>Epinecrophylla fulviventris</i>	4	0	-	-
57	<i>Gymnopithys leucaspis</i>	9	0	-	-
58	<i>Hylophylax naevioides</i>	2	0	-	-
59	<i>Myrmotherula axillaris</i>	3	1	-	-
60	<i>Myrmotherula pacifica</i>	3	0	-	-
61	<i>Myrmotherula schisticolor</i>	3	1	-	-
62	<i>Phaenostictus mcleannani</i>	1	0	-	-
63	<i>Poliocrania exsul</i>	3	0	-	-
64	<i>Pyriglena leuconota</i>	2	1	-	-
65	<i>Taraba major</i>	2	0	-	-
66	<i>Thamnophilus atrinucha</i>	3	0	-	-
67	<i>Thamnophilus bernardi</i>	10	4	40.0	9.8
	Thraupidae				
68	<i>Coereba flaveola</i>	1	0	-	-
69	<i>Ramphocelus flammigerus</i>	5	0	-	-
70	<i>Rhodospingus cruentus</i>	18	11	61.1	37.7
71	<i>Saltator striatipectus</i>	5	1	-	-
72	<i>Sicalis flaveola</i>	1	0	-	-

	Familias / Especie	Individuos	Positivo por PCR	Prevalencia	Intensidad media
73	<i>Sporophila angolensis</i>	1	0	-	-
74	<i>Sporophila corvina</i>	13	1	7.7	2.7
75	<i>Tachyphonus delatrii</i>	6	5	-	-
76	<i>Thraupis episcopus</i>	2	2	-	-
77	<i>Thraupis palmarum</i>	1	0	-	-
	Tinamidae				
78	<i>Crypturellus transfasciatus</i>	1	0	-	-
	Tityridae				
79	<i>Laniocera rufescens</i>	1	0	-	-
80	<i>Pachyramphus albogriseus</i>	1	0	-	-
81	<i>Schiffornis turdina</i>	10	1	10.0	0.4
	Trochilidae				
82	<i>Amazilia amazilia</i>	4	0	-	-
83	<i>Amazilia rosenbergi</i>	1	0	-	-
84	<i>Androdon aequatorialis</i>	3	0	-	-
85	<i>Eutoxeres Aquila</i>	2	0	-	-
86	<i>Florisuga mellivora</i>	1	0	-	-
87	<i>Glaucis aeneus</i>	1	0	-	-
88	<i>Heliodoxa jacula</i>	1	0	-	-
89	<i>Juliomyia julie</i>	1	0	-	-
90	<i>Phaethornis longirostris</i>	11	0	0.0	0.0
91	<i>Phaethornis yaruqui</i>	4	0	-	-
92	<i>Threnetes ruckeri</i>	3	0	-	-
	Troglodytidae				
93	<i>Campylorhynchus fasciatus</i>	1	0	-	-
94	<i>Campylorhynchus zonatus</i>	2	0	-	-
95	<i>Cantorchilus nigricapillus</i>	3	0	-	-
96	<i>Cyphorhinus phaeocephalus</i>	5	1	-	-
97	<i>Henicorhina leucophrys</i>	4	0	-	-
98	<i>Henicorhina leucosticta</i>	1	0	-	-
99	<i>Microcerculus marginatus</i>	3	0	-	-
100	<i>Pheugopedius sclateri</i>	1	0	-	-
101	<i>Saltator striatipectus</i>	1	0	-	-
102	<i>Troglodytes aedon</i>	13	2	15.4	2.1
	Trogonidae				
103	<i>Trogon mesurus</i>	1	1	-	-
	Turdidae				
104	<i>Catharus dryas</i>	3	0	-	-

Familias / Especie	Individuos	Positivo por PCR	Prevalencia	Intensidad media
105 <i>Turdus assimilis</i>	6	2	-	-
106 <i>Turdus maculirostris</i>	3	2	-	-
107 <i>Turdus reevei</i>	6	3	-	-
Tyrannidae				
108 <i>Camptostoma obsoletum</i>	6	1	-	-
109 <i>Contopus cinereus</i>	1	0	-	-
110 <i>Euscarthmus meloryphus</i>	2	0	-	-
111 <i>Lathrotriccus griseipectus</i>	1	0	-	-
112 <i>Leptopogon superciliaris</i>	2	0	-	-
113 <i>Lophotriccus pileatus</i>	1	0	-	-
114 <i>Megarynchus pitangua</i>	1	0	-	-
115 <i>Mionectes oleagineus</i>	21	0	0.0	0.0
116 <i>Mionectes olivaceus</i>	12	1	8.3	0.7
117 <i>Myiarchus phaeocephalus</i>	3	2	-	-
118 <i>Myiobius atricaudus</i>	3	0	-	-
119 <i>Myiobius villosus</i>	1	0	-	-
120 <i>Myiodynastes maculatus</i>	1	1	-	-
121 <i>Myiopagis viridicata</i>	3	1	-	-
122 <i>Myiophobus fasciatus</i>	7	2	-	-
123 <i>Myiozetetes cayanensis</i>	1	0	-	-
124 <i>Myiozetetes similis</i>	1	0	-	-
125 <i>Onychorhynchus coronatus</i>	3	0	-	-
126 <i>Phaeomyias murina</i>	1	0	-	-
127 <i>Platyrinchus mystaceus</i>	6	0	-	-
128 <i>Rhynchocyclus pacificus</i>	1	0	-	-
129 <i>Terenotriccus erythrurus</i>	2	0	-	-
130 <i>Tolmomyias sulphurescens</i>	6	2	-	-
Vireonidae				
131 <i>Vireo olivaceus</i>	34	33	97.1	94.0
Total, general	572	137		

Relación entre precipitación y humedad

La correlación de Pearson realizada entre las variables de precipitación (WorldClim) y humedad (MerraClim) indicó que, a excepción de la precipitación promedio anual, todas las variables están altamente correlacionadas ($r > 0.7$; Anexo 2).

Por esta razón, los análisis subsiguientes se realizaron utilizando solo las variables de WorldClim, basadas en precipitación y temperatura.

Análisis de componentes principales

Para las variables de precipitación de WorldClim, el componente uno resumió el 92% de la variación, mientras que el segundo componente solo aportó con el 6% de la variación. Por esta razón, se utilizó únicamente el componente uno (PC1) en análisis subsiguientes. Las variables que contribuyen al componente uno y sus pesos se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Contribuciones de las variables para los componentes uno y dos, resultantes del PCA de las variables de precipitación de WorldClim.

Variables	Componente 1	Componente 2
Precipitación anual (AMP)	0.367	
Precipitación del mes más húmedo (PWetM)	0.347	0.442
Precipitación del mes más seco (PDM)	0.359	-0.272
Estacionalidad de las precipitaciones (PS)	-0.331	0.522
Precipitación del cuatrimestre más húmedo (PWetQ)	0.353	0.385
Precipitación del cuatrimestre más seco (PDQ)	0.359	-0.273
Precipitación del cuatrimestre más cálido (PWarQ)	0.350	0.409
Precipitación del cuatrimestre más frío (PCQ)	0.360	-0.251

Para las variables de temperatura de WorldClim, los dos primeros componentes aportan con el 86% de variación, por lo cual utilizamos los dos primeros componentes del PCA (PC1 y PC2) en análisis subsiguientes. Los pesos de cada una de las variables en ambos componentes, se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Contribuciones de las variables para los componentes uno y dos, resultantes del PCA de las variables de temperatura de WorldClim.

Variables	Componente 1	Componente 2
Temperatura media anual (AM)	0.435	
Rango diario medio (MDR)		-0.392
Isotermalidad (ISO)	0.147	0.201
Estacionalidad de la temperatura (TS)		-0.44
Temperatura máxima del mes más cálido (MTWM)	0.343	-0.289
Temperatura mínima del mes más frío (MTCM)	0.235	0.388
Rango anual de temperatura (TAR)		-0.463
Temperatura media del trimestre más húmedo (MTWetQ)	0.362	-0.228
Temperatura media del trimestre más húmedo (MTDQ)	0.398	0.198
Temperatura media del trimestre más cálido (MTWarQ)	0.391	-0.173
Temperatura media del cuarto más frío (MTCQ)	0.394	0.207

Estatus de infección

El modelo GLMM no encontró una relación significativa entre ninguna de las variables y el estatus de infección. Este resultado se obtuvo comparando varios modelos que analizaron como predictores las variables de precipitación (PC1), temperatura (PC1 y 2), la estación en que se realizó el muestreo (estación seca o húmeda) y el hábitat (seco, húmedo y de transición). El modelo más sencillo (AIC de 269.2) incluyó las variables indicadas en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultados del modelo GLMM para el estatus de infección.

Efectos fijos	Estimación			
	Std.	Error Z	Valor Pr	(z)
Intercepción	-1.32826	1.58472	-0.838	0.4019
Precipitación (PC1)	0.06373	0.66271	0.096	0.9234
Temperatura (PC1)	0.06172	0.10787	0.572	0.5672
Estación seca	-0.64114	0.37531	-1.708	0.0876
Hábitat de Transición	-0.66511	0.98576	-0.675	0.4999
Hábitat Húmedo	0.32229	4.42434	0.073	0.9419

Intensidad de infección

En la Figura 2A se observa que en la estación húmeda el error estándar es alto, mientras que en la seca el error es cercano a cero. Es decir, existe una variación mayor en los datos de la época húmeda respecto a la intensidad de infección; además, la mayor parte de las muestras tienen cero células infectadas (Figura 2A). Los hábitats secos tienen mayor dispersión de datos, con mayor límite superior del intervalo de confianza (95%) (Figura 2B). *Arremon abelei* y *Vireo olivaceus* se presentan como especies sin dispersión de datos, con un límite superior de intervalo de confianza alto (Figura 2C). Finalmente, Punta Gorda y Manglares Churute presentan un mayor número de células infectadas, con alto intervalo de confianza y con una dispersión de datos menor al resto de localidades (Figura 2D).

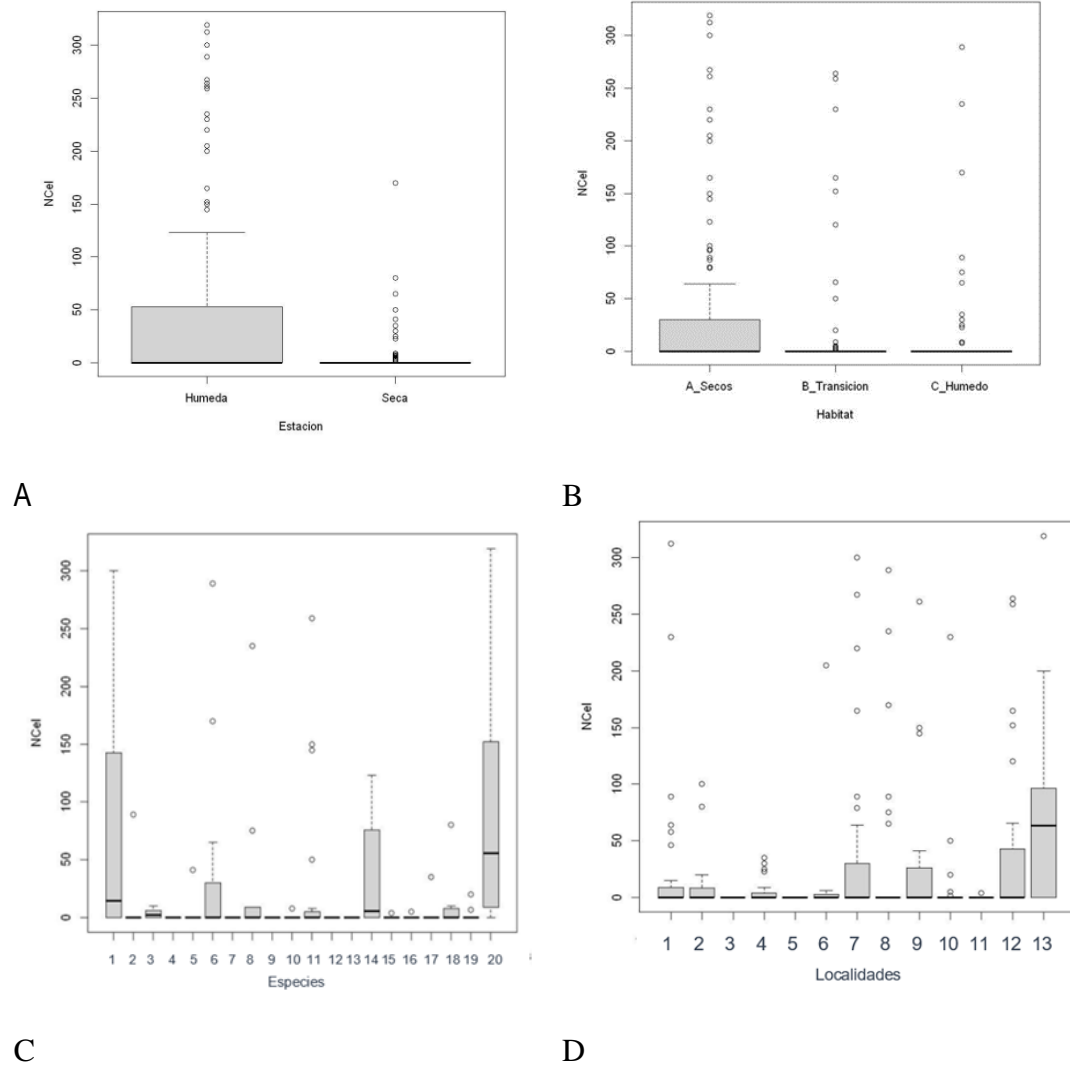


Figura 2. Exploración de variables relacionadas a la intensidad de infección. En todos los casos, en el eje Y están el número de células infectadas por cada 10,000 células contadas (intensidad de infección). A, intensidad en función de la estación; B, intensidad en función del hábitat; C, intensidad en función de las especies. (1 *Arremon abeillei*, 2 *Ceratopipra mentalis*, 3 *Furnarius leucopus*, 4 *Glyphorynchus spirurus*, 5 *Lepidocolaptes souleyetii*, 6 *Lepidothrix coronata*, 7 *Malacoptila panamensis*, 8 *Manacus manacus*, 9 *Mionectes oleaginous*, 10 *Mionectes olivaceus*, 11 *Myiothlypis fraseri*, 12 *Phaethornis longirostris*, 13 *Polioptila plumbea*, 14 *Rhodospingus cruentus*, 15 *Schiffornis turdina*, 16 *Sittasomus griseicapillus*, 17 *Sporophila corvina*, 18 *Thamnophilus bernardi*, 19 *Troglodytes aedon*, 20 *Vireo olivaceus*). D, intensidad en función de la localidad . (1 Agua Blanca, 2 Arenillas, 3 Ayampe, 4 Canande, 5 Cayapas Mataje, 6 Cazaderos, 7 Cerro Blanco, 8 El Pambilar, 9 La Ceiba. 10 Lalo Loor, 11 Loma alta, 12 Manglares churute 13 Punta Gorda).

Según el GLMM los resultados de intensidad de infección son significativos para todas las variables. La estación seca presenta una menor intensidad de infección que la estación húmeda. En el hábitat húmedo, la intensidad es mayor que en los hábitats de transición y seco, mientras que en el hábitat de transición la intensidad es mayor que en el hábitat seco. Las variables de humedad y temperatura también son significativas, pero de manera negativa: a mayor temperatura y precipitación, la intensidad disminuye. El modelo elegido fue el más sencillo (AIC de 4827.8) y las variables con sus resultados se encuentran indicadas en la Tabla 7.

Tabla 7. Resultados del GLMM para intensidad de infección.

Efectos fijos	Estimación			
	Std.	Error Z	Valor Pr	(> z)
Intercepción	1.010366	0.868823	1.16	0.245
Precipitación (PC1)	-0.67056	0.076338	-8.78	<2.00E-16 ***
Temperatura (PC2)	-0.057926	0.008426	-6.87	<6.22E-12 ***
Estación seca	-1.983208	0.049499	-40.07	<2.00E-16 ***
Hábitat de Transición	1.3426	0.120808	11.11	<2.00E-16 ***
Hábitat Húmedo	4.472043	0.517093	8.65	<2.00E-16 ***

*** $p < 0.0001$

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

Las infecciones por hemoparásitos causan enfermedades en las aves (Jarvi et al 2002; De Groot y Sillett, y Holmes, 2002) y en ocasiones llegan a ser letales (Atkinson et al., 2010; Freed y Cann, 2013; Asghar et al., 2015). Durante la última década, el cambio climático global provocó cambios profundos y complejos en la prevalencia o gravedad de enfermedades infecciosas (Altizer et al 2013; Garrett et al 2013), y es muy importante determinar los factores que contribuyen a la prevalencia de enfermedades (Padilla et al 2017). Esto último es importante en los paisajes con variedad de hábitats, condiciones climáticas y otras condiciones ambientales (Illera et al. 2017). Sin embargo, esta aproximación es compleja porque al estudiar los efectos de las variables ambientales en la prevalencia y la intensidad, a veces se requieren grandes tamaños muestrales, (e.g. Beaglehole 1994; Otzen y Manterola 2017; Campos 2019; De La Torre y Campião 2021). Además, las comparaciones entre diferentes lugares se complican por la temporalidad de las investigaciones y los factores biogeográficos que influyen sobre las poblaciones (Mostacedo y Fredericksen 2000). Aun así, ciertos patrones son evidentes en este estudio pionero en el análisis de malaria aviar en la Costa ecuatoriana, como se discute a continuación.

Prevalencia de malaria aviar en la Costa ecuatoriana

En este estudio, se registraron 572 individuos en 131 especies, de las cuales 44 (34%) resultaron positivas para malaria aviar, mientras que la prevalencia por localidad varió entre 4% y 57%. Estos valores son bajos en relación a lo reportado por De La Torre y Campião (2021), logrado capturar información de 28,896 individuos en 408 especies de las cuales 329 (81%) resultaron positivas. Sin embargo, este estudio fue realizado con una gran recopilación de datos en línea que corresponden a un mosaico de hábitats de aves neotropicales de distintas regiones.

No obstante, en general, los porcentajes de prevalencia total encontrada en este estudio (50.09 %) y las prevalencias por localidad fueron mayores a las reportadas por

Moens y Pérez-Tris (2016), en los bosques montanos de Loja (16%), y a las reportadas por Rivero de Aguilar (2018) en los bosques húmedos de Esmeraldas, en la Reserva Ecológica Mache Chindul (5%).

Existe una relación positiva entre la prevalencia y la intensidad de malaria, es decir a mayor prevalencia de malaria en una población, mayor intensidad de infección en sus individuos (Moens y Pérez-Tris, 2016). En este estudio, el 10% de individuos que en la que se registró una prevalencia alta, presento también una alta intensidad. Una relación positiva entre la prevalencia y la intensidad de infección sugiere que las especies más fuertemente infectadas pueden ser los reservorios más importantes de los parásitos de malaria (Moens y Pérez-Tris, 2016). Bajo esta premisa, es altamente probable que *Vireo olivaceus* (la especie con mayor prevalencia e intensidad), sea un reservorio importante de parásitos de malaria en los bosques de la Costa. En esta especie, se han reportado al menos 30 linajes diferentes entre *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocitozoon* (MalAvi; Bensch et al. 2009). Esta especie, al igual que otros Vireonidae, posee una plasticidad que le ayuda a adaptarse a una gran variedad de hábitats y se presenta en alta abundancia (Reddy y Cracraft, 2007), lo que la podría hacer más susceptible al contagio. Esta situación es muy similar a la de *Zonotrichia capensis* en el bosque seco de Guayllabamba, donde su alta abundancia relativa ha sido relacionada con su alta prevalencia e intensidad de malaria (Cadena et al., 2019).

Especies en otras familias como Thraupidae, Pipridae, Furnariidae, Tyrannidae y Thamnophilidae ya han sido reportadas con anterioridad para infección por malaria aviar en Panamá y Colombia (Varela y Ayala, 2018). Además de las familias antes nombradas, para Brasil se han reportado Vireonidae, Parulidae, Emberizidae y Trochilidae como familias con alta prevalencia de malaria aviar (Fecchio et al., 2011; Anjos et al., 2021; Chagas et al., 2011; Lacorte et al., 2013). Para las especies *Arremon abellei* y *Rhodospingus cruentus*, en las que encontramos también alta prevalencia, no se ha reportado ningún linaje de malaria hasta el momento (MalAvi; Bensch et al. 2009), por lo que este trabajo está reportando el primer caso de estas especies infectadas

con malaria aviar. En los casos de *Furnarius leucopus* y *Thamnophilus bernardi*, otras especies con alta prevalencia, se han reportado varios linajes de parásitos de malaria (MalAvi; Bensch et al. 2009). La secuenciación de los productos de PCR obtenidos en este trabajo permitirá conocer la identidad de los linajes que infectan a estas especies en la Costa ecuatoriana.

Se presume que los parásitos de la malaria aviar ejercen efectos negativos sobre la aptitud del huésped al afectar su metabolismo, que disminuyen su supervivencia y tienen consecuencias en el rendimiento reproductivo (Marzal et al., 2008). Sin embargo, no se conoce si existen ciertas condiciones físicas que hagan a las aves más vulnerables a la infección (Marzal et al., 2008). Por esta razón, habría que profundizar en comprender cuales son los factores que hacen que *Arremon abeillei*, *Pyriglena leuconota*, *Tachyphonus delatrii*, *Thraupis episcopus* y, por supuesto, *Vireo olivaceus* posean una alta intensidad de infección. En cualquier caso, no se puede descartar que este patrón sea producto de infecciones por linajes poco virulentos, sin mayores efectos sobre la fisiología de las aves (Cheng, 1997; Marzal, 2008; Saggese, 2007). La determinación de linajes moleculares a través de la secuenciación de los productos de PCR obtenidos, también permitirá explorar estas relaciones.

Variables relacionadas al estatus e intensidad de infección

Las localidades con mayor número de individuos infectados correspondieron a aquellas del centro y sur del país (Arenillas, La Ceiba, Agua Blanca, y Punta Gorda), las cuales comparten el clima seco, con vegetación de bosque seco tropical. Un resultado similar fue obtenido en Madagascar, donde se analizaron muestras de 11 localidades ubicadas alrededor de la isla, donde al igual se reportaron más individuos infectados en localidades con ambientes secos (Savage et al., 2009). Sin embargo, en el análisis de GLMM, el estatus de infección no se relacionó con la precipitación, ni ninguna de las otras variables estudiadas. En la región Costa, en la Reserva Ecológica Mache Chindul, si bien no se registró una relación entre el estatus de infección y las

características del hábitat, sí se registró una mayor infección en la estación húmeda (Rivero de Aguilar et al., 2018).

La falta de relación entre el estatus de infección y las variables ambientales estudiadas podría deberse a que es necesario un mayor tamaño de muestra para encontrar relaciones entre el estatus de infección y las variables ambientales. Sin embargo, generalmente sucede que con datos de presencia ausencia no se registran diferencias significativas (Savage, 2007). Además, existen factores genéticos y fisiológicos que en algunas ocasiones están relacionados significativamente a la intensidad de infección, pero no al estatus (Westerdahl et al., 2013).

En el caso de la intensidad de infección, todas las variables ambientales tuvieron un efecto significativo. La intensidad de infección es mayor a medida que el hábitat es más húmedo y es menor durante la época seca, dos resultados esperados de acuerdo a las hipótesis planteadas en este trabajo y los resultados de estudios anteriores (Atkinson y Samuel, 2010; La Pointe et al., 2012; Zamora-Vilchis et al., 2012; Jones et al., 2013; Rojo et al., 2013; Atkinson et al., 2014; Liao et al., 2015)

Por otro lado, se encontró que, a mayor precipitación y mayor temperatura, los individuos presentan menores intensidades de infección. Este resultado aparentemente contradictorio, puede estar fuertemente ligado al ciclo de los vectores. Es posible que por sobre cierto volumen de precipitación, especialmente por la forma violenta en que se dan las precipitaciones en la región Costa, las condiciones no sean adecuadas para formación de pequeños cuerpos de agua que favorecen la reproducción de los vectores (Afrane et al., 2008; Paaijmans et al., 2009; Chaves y Koenraadt, 2010; LaPointe et al., 2009). De igual modo, las temperaturas extremadamente altas, podrían afectar la reproducción de los vectores (Koenraadt et al., 2006; Minakawa et al., 2006; Atoyán et al., 2018). Es decir, aunque en general el bosque húmedo se relacione con una alta intensidad y la época seca se relacione con una baja intensidad, meses con valores extremos de precipitación (en la época húmeda) y de temperatura, podrían causar una menor intensidad de infección.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En este estudio se encontró que las infecciones por malaria aviar son relativamente frecuentes en las localidades de la Costa ecuatoriana. En esta región, las variables precipitación y humedad se encuentran altamente correlacionadas. De este modo, puede utilizarse únicamente la precipitación para estudiar las correlaciones climáticas en esta región. Además, el análisis de los modelos lineales generalizados mixtos muestran que la precipitación, la temperatura, la estacionalidad y el tipo de hábitat tienen un efecto sobre la intensidad de infección, más no sobre el estatus de infección.

El mayor valor de prevalencia de malaria aviar se encontró en La Ceiba ($n = 6$, 57%) y el menor se dio en Loma Alta ($n = 30$, 3.44%); únicamente Cayapas Mataje no se encontraron individuos con infección. La precipitación y humedad están relacionadas a la prevalencia, durante la estación seca la suma de las prevalencias por localidad fue menor ($n = 281$, 243.18%) a la registrada durante la estación húmeda ($n = 292$, 374.81%). La intensidad de infección es mayor a medida que el hábitat es más húmedo y es menor durante la época seca, dos resultados esperados de acuerdo a las hipótesis planteadas en este trabajo y los resultados de estudios anteriores. Sin embargo, un resultado no esperado fue el registrar que la intensidad de infección disminuye cuando los volúmenes de precipitación aumentan (probablemente en valores extremos). Este resultado parece estar fuertemente relacionado al hábitat y ciclo de vida de los vectores.

Se recomienda que, para futuros estudios, se determine el linaje de los parásitos hemosporidios, se aumente el esfuerzo de muestreo por localidad, y se muestree la diversidad y abundancia de vectores. Es posible que con estas modificaciones puedan observarse relaciones de las variables ambientales con la prevalencia de infección y se puedan comprender mejor las fluctuaciones temporales en la intensidad de infecciones por malaria aviar.

Literatura Citada

- Anjos, C.C., Chagas, C.R.F., Fecchio, A., Schunck, f., Costa-Nascimento, M.J., Monteiro. E.F., Mathias. B.S., Bell, J.A., Guimarães, L.O., Comiche, K.J.M., Valkiūnas, G., y Kirchgatter, K. (2021). Avian malaria and related parasites from resident and migratory birds in the Brazilian Atlantic Forest, with description of a new *Haemoproteus* species. *Pathogens*, 10(2):103 <https://doi.org/10.3390/pathogens10020103>.
- Afrane, Y.A., Little T., Lawson B.W., Githeko, A.K., y Yan, G. (2008). Deforestation increases the vectorial capacity of *Anopheles gambiae* to transmit malaria in the western Kenya highlands. *Emergent Infectious Diseases*, 14 (10), 1533–1538.
- Altizer, S., Ostfeld, R.S., Johnson, P.J., Kutz, S., y Harvell, C.D. (2013). Climate change and infectious diseases: from evidence to a predictive frame-work. *Science*, 341(6145), 514–519. <https://doi.org/10.1126./science.1239401>
- Asigau, S. y Parker, P. G. (2018). The influence of ecological factors on mosquito abundance and occurrence in Galápagos. *Journal of Vector Ecology*, 43 (1), 125–137. <https://doi.org/10.1111/jvec.12292>
- Asghar, M., Hasselquist, D., Hansson, B., Zehindjiev, P., Westerdahl, H., y Bensch, S. (2015). Hidden costs of infection: chronic malaria accelerates telomere degradation and senescence in wild birds. *Science*, (347) 436–438. <https://doi.org/10.1126/science.12611>
- Atoyan, H. A., Sargsyan, M., Gevorgyan, H., Raković, M., Fadeev, I., Muradyan, V., Daryani, A., Sharif, M., y Aghayan, S. (2018). Determinants of avian malaria prevalence in mountainous Transcaucasia. *Biologia*, (73) 1123–1130 doi:10.2478/s11756-018-0128-0
- Atkinson, C.T. (1991). Vectors, epizootiology, and pathogenicity of avian species of *Haemoproteus* (Haemosporina: Haemoproteidae). *Bulletin of the Society of Vector Ecologists*, (16) 109–26.

- Atkinson, C. T. y Samuel, M.D. (2010). Avian malaria *Plasmodium relictum* in native Hawaiian forest birds: epizootiology and demographic impacts on 'apapane *Himatione sanguinea*. *Journal of Avian Biology*, 41 (4) 357–366.
- Atkinson, C. T., Uzzurum, R. B., Lapointe, D. A., Camp, R. J., Crampton, L. H., Foster, J. T. y Giambelluca, T. W. (2014). Changing climate and the altitudinal range of avian malaria in the Hawaiian Islands - an ongoing conservation crisis on the island of Kaua'i. *Global Change Biology*, 20 (8) 2426–36.
- Bates D., Maechler M., Bolker B., Walker S., Christensen R.H.B., Singmann H., Dai B., Scheipl F., Grothendieck G., Green P., Fox J., Bauer A., y Krivitsky P.N. (2020). paquete lme4 de R. <https://github.com/lme4/lme4/>
- Barlow, N.D. (1996). The ecology of wildlife disease control: simple models revisited. *Journal of Applied Ecology*, 2 (33) 303–314.
- Beadell, J.S., Ishtiaq F., Covas, R., Melo, M., Warren, B.H., Atkinson., Bensch S., Graves, G.R., Jhala, Y.V., Peirce, M.A., Rahmani, A.R., Fonseca, D.M., y Fleischer, R.C. (2006). Global phylogeographic limits of Hawaii's avian malaria. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 273(1604), 2935–44.
- Beaglehole, R., Bonita, R. y Kjellström, T. (1994). Epidemiología básica / Robert Beaglehole, Ruth Bonita, Tord Kjellström. - Washington, D.C.: OPS, © 1994 (Publicación Científica; 551)
- Benavides-Melo, J.A. (2015). El cambio climático como determinante de la distribución de la malaria. *Curare*, 2(2), 33 –45. doi: 10.16925/cu.v2i2.1185
- Bensch, S., Hellgren, O. y Pérez-Tris, J. (2009). MalAvi: a public database of malaria parasites and related haemosporidians in avian hosts based on mitochondrial cytochrome b lineages. *Molecular Ecology Resources*, 9(5):1353–8
- Cadena-Ortiz, H., Mantilla, J., De Aguilar, J., Flores, D., Bahamonde, D., Matta, N. y Bonaccorso, E. (2019). Avian haemosporidian infections in rufous-collared sparrows in an Andean dry forest: Diversity and factors related to prevalence and parasitaemia. *Parasitology*, 146(6), 765–773. doi:10.1017/S0031182018002081

- Chagas, C. R. F., Valkiūnas, G., Valkiūnas, G., de Oliveira Guimarães, L., Monteiro, E. F., Guida, F. J. V., Simões, R. F., Rodrigues, P.T., Luna, E.J., Kirchgatter, K. (2017). Diversity and distribution of avian malaria and related haemosporidian parasites in captive birds from a Brazilian megalopolis. *Malaria Journal*, 16(83). doi:10.1186/s12936-017-1729-8
- Chaves, L. y Koenraadt, S. (2010). Climate Change and Highland Malaria: Fresh Air for a Hot Debate. *Quarterly Review of Biology*, 85(), 27–55. 10.1086/650284.R
- Core Team (2020).
- R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Campos, A.Y., Norte, A.C., Ramos, J.A., Moreira, P.A. y Braga, M.E. (2019). Patterns of avian malaria in tropical and temperate environments: testing the "The enemy release hypothesis". *Biota Neotropica*, 19(4), e20180716. Epub September 09, 2019. <https://doi.org/10.1590/1676-0611-bn-2018-0716>.
- Koenraadt, C.J, Tuiten, W., Sithiprasasna, R., Kijchalao, U., Jones, J.W. y Scott, T.W. (2006). Dengue knowledge and practices and their impact on *Aedes aegypti* populations in Kamphaeng Phet, Thailand. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 74(4), 692 –700.
- DeGroot, L. W. y Rodewald, P. G. (2008). An improved method for quantifying Hematozoa by digital microscopy. *Journal of Wildlife Diseases*, 44 (2): 446–450.
- De La Torre, G. M. y Campiã K. M. (2021). Bird habitat preferences drive hemoparasite infection in the Neotropical region. *Integrative Zoology*, DOI: [10.1111/1749-4877.12515](https://doi.org/10.1111/1749-4877.12515)
- Durrant, K. L., Beadell, J. S., Ishtiaq, F., Graves, G. R., Olson, S. L., Gering, E., Peirce M. A., Milensky, C.M., Schmidt, B.K., Gebhard, C., y Fleischer, R.C. (2006). Avian *Hematozoa* in South America: A comparison of temperate and tropical zones. *Ornithological Monographs*, 60, 98–111.
- Ferreira Junior, F. C., Rodrigues, R. A., Ellis, V. A., Leite, L. O., Borges, M. A. Z. y Braga, É.M. (2017). Habitat modification and seasonality influence avian

- haemosporidian parasite distributions in southeastern Brazil. *PLoS ONE*, 12(6), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178791>.
- Garrett, K.A., Dobson, A.D.M., Kroschel, J., Natarajan, B., Orlandini, S., Tonnang, H.E.Z. y Valdivia, C. (2013). The effects of climate variability and the color of weather time series on agricultural diseases and pests, and on decisions for their management. *Agricultural and Forest Meteorology*, 170, 216–227. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.04.01>.
- Fecchio, A., Lima, M. R., Silveira, P., Braga, É. M. y Marini, M. Â. (2011). High prevalence of blood parasites in social birds from a Neotropical savanna in Brazil. *Emu*, 111(2), 132–138. doi:10.1071/mu10063.
- Freed, L. y Cann, R. (2013). Vector movement underlies avian malaria at upper elevation in Hawaii: implications for transmission of human malaria. *Parasitology Research*, 112 3887–3895 <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3578-x>.
- García del Río, M., Castaño-Vázquez, F. y Merino, S. (2020). Efectos del cambio climático sobre las interacciones ave-parásito. *Ecosistemas*, 29 (2), 1981. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1981>.
- Harrigan, R.J., Sedano, R., Chasar, A.C., Chaves, J.A., Nguyen, J.T., Whitaker, A. y Smith, T.B. (2014). New host and lineage diversity of avian haemosporidia in the northern Andes. *Evolutionary Applications*, 7(7): 799–811.
- Harris, I., Jones, R.D., Osborn, T.J., y Lister, D.H. (2014). Cuadrículas de alta resolución actualizadas de observaciones climáticas mensuales: el conjunto de datos CRU TS3.10. *Revista Internacional de Climatología* 34, 623–642. doi: 10.1002 / joc.3711.
- ICO (S/A). Hoja de códigos estándar de anillamiento. Institut Catalàd’Ornitologia. <http://www.ornitologia.org/ca/quefem/anellament/estandards.html>
- Illera, J.C., López, G., García-Padilla, L. y Moreno, Á., (2017). Factors governing the prevalence and richness of avian haemosporidian communities within and between temperate mountains. *PLoS One*, 12: e0184587. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184587>

- Isaksson, C., Sepil, I., Baramidze, V. y Sheldon, B.V. (2013). Explaining variance of avian malaria infection in the wild: the importance of host density, habitat, individual life-history and oxidative stress. *BMC ecology*, 13, 15. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-13-15>.
- Jarvi, S.I., Schultz, J.J. y Atkinson, C.T. (2002). PCR diagnostics underestimate the prevalence of avian malaria (*Plasmodium relictum*) in experimentally-infected passerines. *Journal of Parasitology*, 88(1), 153–158. [https://doi.org/10.1645/0022-3395\(2002\)088\[0153:PDUTPO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[0153:PDUTPO]2.0.CO;2)
- Jones, M., Cheviron, Z. y Carling, M. (2013). Spatial patterns of avian malaria prevalence in *Zonotrichia capensis* on the western slope of the Peruvian Andes. *Journal of Parasitology*, 99(5):903-5.
- Jovani, R. y Tella, J.L. (2006). Parasite prevalence and sample size: misconceptions and solutions. *TRENDS in Parasitology*, 22(5):214-8.
- Lapointe, D., Goff, M., y Atkinson, C., (2009). Thermal constraints to the sporogonic development and altitudinal distribution of avian malaria *Plasmodium relictum* in Hawai'i. *The Journal of parasitology*, 96(2):318-24. 10.1645/GE-2290.1.
- LaPointe, D. A., Atkinson, C. T. y Samuel, M.D. (2012). Ecology and conservation biology of avian malaria. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1249(1):211-26.
- Levin, I.I., Zwiars, P., Deem, S.L., Geest, E.A., Higashiguchi, J.M., Iezhova, T.A., Jiménez-Uzcátegui, G., Kim, D.H., Morton, J.P., Perlut, N.G., Renfrew, R.B., Sari, E.H.R., Valkiunas, G. y Parker, P.G. (2013). Multiple lineages of avian malaria parasites (*Plasmodium*) in the Galapagos islands and evidence for arrival via migratory birds. *Conservation Biology*, 27, 1366–1377. <https://doi.org/10.1111/cobi.12127>
- Lacorte, G.A., Félix, G.M.F., Pinheiro, R.R.B., Chaves AV, Almeida-Neto G, Neves, F.S., Leite, L.O., Santos, F.R., y Braga, E.M. (2013). Exploring the diversity and distribution of Neotropical avian malaria parasites—A molecular survey from Southeast Brazil. *PLoS ONE*, 8(3), e57770. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0057770>

- Liao, W., Timm, O. E., Zhang, C., Atkinson, C. T., LaPointe, D. A. y Samuel, M. D., (2015). Will a warmer and wetter future cause extinction of native Hawaiian forest birds? *Global Change Biology*, 21, 4342–4352.
- Lotta, I.A., Pacheco, M., Escalante, A.A., González A.D., Mantilla J.S., Moncada L.I., Adler P.H. y Matta, N.E. (2016). *Leucocytozoon* diversity and possible vectors in the Neotropical highlands of Colombia. *Protist*, 167(2), 185–204 <https://doi.org/10.1016/j.protis.2016.02.002>.
- Lyles, A.M. y Dobson, A.P. (1993). Infectious disease and intensive management: population dynamics, threatened hosts, and their parasites. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* 24(3), 315–326.
- Magnusson, A., Skaug, H., Nielsen, A., Berg, C., Kristensen, K., Maechler, M., Van Benthem, K., Bolker, B., Sadat, N., Lüdecke, D., Lenth, R., O'Brien, J. y Brooks, M. (2020). glmmTMB: Generalized Linear Mixed Models using Template Model Builder. <https://github.com/glmmTMB/glmmTMB>.
- Marzal A., Bensch, A., Reviriego M., Balbontin J. y De Lope, F. (2008). Effects of malaria double infection in birds: one plus one is not two. *Journal of Evolutionary Biology*, 21(4), 979–987 <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2008.01545.x>.
- Merino, S., Potti, J. y Fargallo, J.A. (1997). Blood parasites of passerine birds from central Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 33(3), 638–641.
- Miller, G.D., Hofkin, B.V., Snell, H., Hahn, A. y Miller, R.D. (2001). Avian malaria and Marek's Disease: Potential threats to Galapagos Penguins *Spheniscus mendiculus*. *Marine Ornithology*, 29: 43–46.
- Minakawa, N., Omukunda, E., Zhou, G., Githeko, A. y Yan, G. (2006). Malaria vector productivity in relation to the highland environment in Kenya. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 75(3), 448–53. [10.4269/ajtmh.2006.75.448](https://doi.org/10.4269/ajtmh.2006.75.448).
- Moens, M.A.J. (2016). Diversidad y especificidad de simbioses en aves neotropicales. Tesis doctoral. Departamento de Zoología y Antropología Física. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Ciencias Biológicas.

- Moens, M. y Pérez-Tris, J. (2016). Discovering potential sources of emerging pathogens: South America is a reservoir of generalist avian blood parasites. *International Journal for Parasitology*, 46 (1) 41–4946. [10.1016/j.ijpara.2015.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2015.08.001).
- Mostacedo, B. y Fredericksen, T., (2000). Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal. Santa Cruz, Bolivia.
- Okanga, S., Cumming, G.S. y Hockey, P.A.R. (2013). Avian malaria prevalence and mosquito abundance in the Western Cape, South Africa. *Malaria Journal*, 12(370), 1–14.
- Padilla, D.P., Illera, J.C., Gonzalez-Quevedo. C., Villalba. M. y Richardson. D.S. (2017). Factors affecting the distribution of haemosporidian parasites within an oceanic island. *International Journal of Parasitology*, 47(4), 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2016.11.008>
- Paaijmans, K. P., Read, A.F. y Thomas, M.B. (2009). Understanding the link between malaria risk and climate. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (33) 13844-13849 www.pnas.org/cgi.do.10.1073.pnas.0903423106
- Palmer, J. L., McCutchan, T. F., Vargas, F. H., Deem, S. L., Cruz, M., Hartman, D. A. y Parker, P. G. (2013). Seroprevalence of malarial antibodies in Galapagos Penguins (*Spheniscus mendiculus*). *Journal of Parasitology*, 99(5), 770–776. <https://doi.org/10.1645/12-57.1>
- Pérez-Rodríguez, A., Hera, I., Fernández-González, S. y Pérez-Tris., J. (2014). Global warming will reshuffle the areas of high prevalence and richness of three genera of avian blood parasites. *Global Change Biology*, 20(8):2406–16.
- Pérez-Tris, J. y Bensch, S. (2005). Dispersal increases local transmission of avian malarial parasites. *Ecology Letters*, 8(8), 838–845.
- Pigeault, R., Vézilier, J., Cornet, S., Zélé, F., Nicot, A., Perret, P., Gandon, S. y Rivero, A. (2015). Avian malaria: a new lease of life for an old experimental model to study the evolutionary ecology of *Plasmodium*. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 370(1675), 20140300. <https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0300>

- Quiagen Inc. (2019). QIAquick® Spin Handbook. Germantown. EE. UU.
- Ralph, C.J., Geupel, G. R., Pyle, P., Martin, T.E., De Sante, D.F. y Milá, B. (1996). Manual de métodos de campo para el monitoreo de aves terrestres. Gen. Tech. Rep. PSW-GTR- 159. Albany,CA: Pacific Southwest Research Station, Forest Service, U.S. Department of Agriculture, 46 p.
- Rienecker, M.M., Suarez, M.J., Gelaro, R., Todling, R., Bacmeister, J., Liu, E., Bosilovich, M.G., Schubert, S.D., Takacs, L., Kim, G.K., Bloom, S., Chen, J., Collins, D., Conaty, A., Da Silva, A., Gu, W., Joiner, J., Koster, R.D., Lucchesi, R., Molod, A., Owens, T., Pawson, S., Pegion, P., Redder, C.R., Reichle, R., Robertson, F. R., Ruddick, A.G., Sienkiewicz, M., y Woollen, J. (2011). MERRA: NASA's modern-Era retrospective analysis for research and applications. *Journal of Climate*, 24(14), 3624–3648, doi:10.1175/JCLI-D-11-00015.1.
- Rivero, A. y Gandon, S. (2018). Evolutionary ecology of avian malaria: Past to present. *Trends in Parasitology*, 34(8), 712–726. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.06.002>.
- Rivero de Aguilar, J., Castillo, F., Moreno, A., Peñafiel, N., Browne, L., Walter, S, T., Karubian, J., y Bonaccorso, E. (2018). Patterns of avian haemosporidian infections vary with time, but not habitat, in a fragmented Neotropical landscape. *PLoS ONE*, 13(10): e0206493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206493>
- Reddy, S. y Cracraft, J. (2007). Old World Shrike-babblers (*Pteruthius*) belong with New World vireos (*Vireonidae*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(3):1352–7.
- Robinet, C., y Roques, A. (2010). Direct impacts of recent climate warming on insect populations. *Integrative Zoology*, 5(2), 132–142. <https://doi.org/10.1111/j.1749-4877.2010.00196.x>
- Rojo, M.Á., Campos, F., Hernández, M.Á., Días, S., Santos, E., Santamaría, T. y Corrales, L. (2013). Prevalence of haematozoan parasites in the White-throated Dipper *Cinclus cinclus* in southern Europe. *Bird Study*, 60(2):247–256.

- Rossi, E., Leyva, F. y Llanos-Cuentas, A. (2005). Influence of climatic factors on infectious diseases, Huarcaya Castilla. *Revista Médica Herediana*, 15(4), 218–224.
- Saggese, D. (2007). Medicina de la conservación, enfermedades y aves rapaces. *Hornero*, 22(2), 117–130.
- Savage, A.F., Robert V., Goodman, S.M., Raharimanga, V., Raherilalao, M.J., Andrianarimisa, A., Arie, F. y Greiner, E.C. (2009). Blood parasites in birds from Madagascar. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(4), 907–920.
- Sillett, T. S. y Holmes, R. T. (2002). Variation in survivorship of a migratory songbird throughout its annual cycle. *Journal of Animal Ecology*, 71(2), 296–338
- Valkiūnas, G. (2005). Avian Malaria Parasites and Other Haemosporida. CRC Press, Boca Raton.
- Valkiunas G., Iezhova, T.A., Evans, E., Carlson, J.S., Martínez -Gómez, J.E., Ravinder N.M. y Sehgal. (2013) Two New Haemoproteus Species (Haemosporida: Haemoproteidae) from Columbiform Birds. *Journal of Parasitology*, 99(3) 513–21.
- Varela, C. H. y Ayala, S. (2018). Malaria en aves silvestres, con un hallazgo en un ave migratoria. *Actualidades Biológicas*, 3(10), 7881.
- Vogel, G. (2015). Malaria may accelerate age in birds. *Science*, 347(6220), 362.
- Waldenström, J., Bensch, S., Kiboi, S., Hasselquist, D. y Ottosson, U. (2002). Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Molecular Ecology*, 11(8), 1545–54.
- Waldenström, J., Bensch, S., Hasselquist D. y Ostman, O. (2004). A new nested polymerase chain reaction method very efficient in detecting Plasmodium and Haemoproteus infections from avian blood. *Journal of Parasitology*, 90(1):191–4.
- Wikelski, M., Foulfopoulos, J., Vargas, H. y Snell, H. (2004). Galápagos birds and diseases: Invasive pathogens as threats for island species. *Ecology and Society*, 9(1), 5. [online] URL: <http://www.ecologyandsociety.org/vol9/iss1/art5>

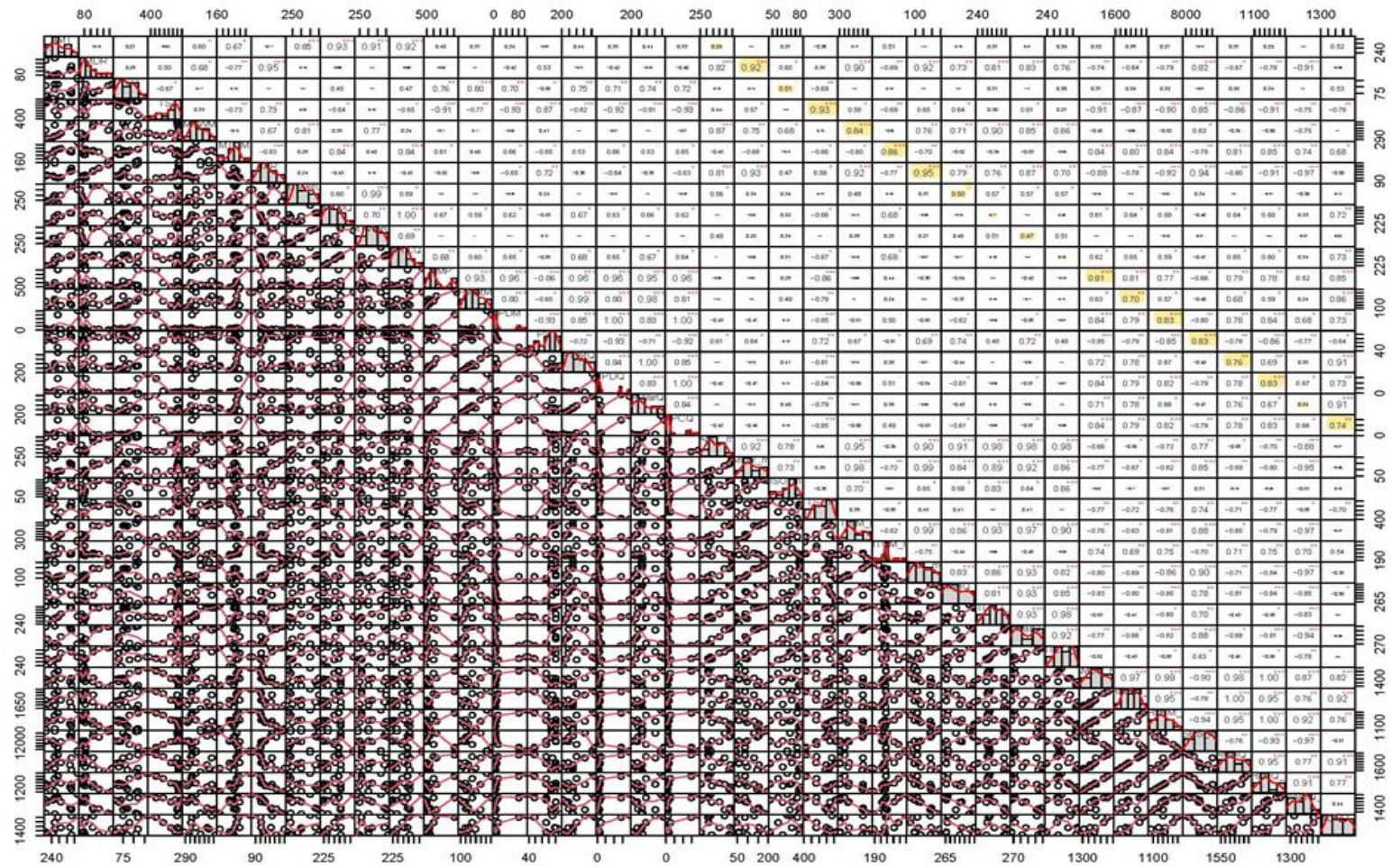
Zamora-Vilchis, I., Williams, S.E., y Johnson, C.N. (2012). Environmental temperature affects prevalence of blood parasites of birds on an elevation gradient: implications for disease in a warming climate. *PLoS ONE*, 7(6), e39208. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039208>.

ANEXOS

Anexo 1. Lista de variables ambientales analizadas en este estudio.

No	Nombre de la variable	Abreviación
Variables WorldClim		
1	Temperatura media anual	(AMT)
2	Rango diurno medio (media mensual (temperatura máxima - temperatura mínima))	(MDR)
3	Isotermalidad (BIO2 / BIO7) (× 100)	(ISO)
4	Estacionalidad de la temperatura (desviación estándar × 100)	(TS)
5	Temperatura máxima del mes más cálido	(MTWM)
6	Temperatura mínima del mes más frío	(MTCM)
7	Rango anual de temperatura (BIO5-BIO6)	(TAR)
8	Temperatura media del trimestre más húmedo	(MTWetQ)
9	Temperatura media del cuarto más seco	(MTDQ)
10	temperatura media del trimestre más cálido	(MTWarQ)
11	Temperatura media del cuarto más frío	(MTCQ)
12	Precipitación anual	(AMP)
13	Estacionalidad de las precipitaciones	(PS)
14	Precipitación del mes más húmedo	(PWetM)
15	Precipitación del mes más seco	(PDM)
16	Precipitación del cuatrimestre más húmedo	(PWetQ)
17	Precipitación del cuatrimestre más seco	(PDQ)
18	Precipitación del cuatrimestre más cálido	(PWarQ)
19	Precipitación del cuatrimestre más frío	(PCQ)
Variables MerraClim		
22	Humedad anual	BIO12
23	humedad del mes más húmedo	BIO13
24	Humedad del mes más seco	BIO14
25	Estacionalidad de la humedad (coeficiente de variación)	BIO15
26	Cuatrimestre más húmedo	BIO16
27	Cuatrimestre más seco	BIO16
28	Humedad del trimestre más cálido	BIO18
29	Humedad el cuatrimestre más frio	BIO19

Anexo 2. Cuadro de correlaciones entre las variables de WorldClim y MerraClim.



Anexo 3. Obtención de datos durante el trabajo de campo. Izquierda: toma de datos en la localidad Loma Alta. Derecha: colocando redes de neblina en Cerro Blanco.



Anexo 4. Trabajo de laboratorio. Foto superior: identificación por microscopía de malaria aviar para un *Manacus manacus* en El Pambilar. Foto inferior: Gel de agarosa al 1%, fotografiado en cámara de electroforesis. Muestras analizadas desde la 2144 hasta 2032, las muestras positivas fueron (5 = código1762; 7 = 1905; 11 = 1961; 12 = 1607; 16 = 2008; 18 = 2015; 21 = 2026).

