

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ciencias de la Vida

Estandarización de protocolos para el monitoreo del estado de salud de
aves como reservorios de hemoparásitos en el Bosque Protector La
Prosperina

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

Biólogas

Presentado por:

Rebeca Rivas Calle

Josselyne Skarlet Sánchez Cevallos

GUAYAQUIL - ECUADOR

Año: 2022

DEDICATORIA

A mis padres, a mi hermano y a mis amigos por su apoyo, por el empuje y la paciencia.

Rebeca Rivas Calle

A mis padres, hermanos y a Rony por su apoyo incondicional que me permitió crecer a nivel personal y profesional.

Josselyne Skarlet Sánchez Cevallos

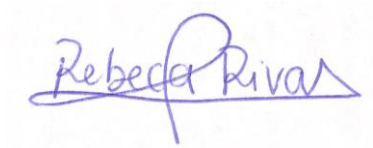
AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestros profesores que fueron nuestra guía a lo largo de nuestra formación académica.

A Peter, Eileen y Agustín por su apoyo en las salidas de campo.

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponde conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; Rebeca Rivas Calle y Josselyne Skarlet Sánchez Cevallos damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Rebeca Rivas Calle



Josselyne Skarlet
Sánchez Cevallos

EVALUADORES

Diego Arturo Gallardo Polit

PROFESOR DE LA MATERIA

Efrén German Santos Ordoñez

PROFESOR TUTOR

RESUMEN

Los hemoparásitos son microorganismos que comprenden protozoarios y helmintos; infectan la sangre de animales como las aves, provocando afectaciones como por ejemplo anemia, mortalidad y disminución del éxito reproductivo. En el Ecuador existe poca información sobre hemoparásitos en aves, principalmente en zonas altamente amenazadas y deterioradas como son los bosques secos caducifolios. Por lo cual, el presente proyecto tiene como finalidad la estandarización de protocolos para el monitoreo del estado de salud de aves por medio del análisis de muestras de sangre en el Bosque Protector La Prosperina. Se empleó redes de neblina para la captura de aves que permitió la toma de datos morfométricos y la obtención de sangre para la realización de frotis sanguíneos. Posteriormente, en el laboratorio se procedió con la tinción de las muestras con colorante GIEMSA. Por medio del microscopio y aumento 100 X se observó los hemoparásitos: *Haemoproteus* sp, *Trypanosoma* sp y microfilaria en las especies *Arremon abeillei* y *Rhodospingus cruentus*. Los resultados afirman la presencia de hemoparásitos en bosques secos del Ecuador y a pesar de que los parásitos detectados no generan afectaciones graves en las aves, es necesario seguir realizando muestreos y complementar con análisis moleculares para la detección de nuevas especies.

Palabras Clave: *hemoparásitos, aves, bosques secos caducifolios, Haemoproteus, Trypanosoma, Microfilaria, frotis sanguíneos.*

ABSTRACT

Hemoparasites are microorganisms that include protozoa and helminths; They infect the blood of animals such as birds, causing effects like anemia, mortality and decreased reproductive success. In Ecuador there is little information about hemoparasites in birds, mainly in highly threatened and deteriorated areas such as dry deciduous forests. Therefore, this project aims to standardize protocols for monitoring the health status of birds through the analysis of blood samples in the Bosque Protector La Prosperina. Mist nets were used to capture birds that allowed morphometric data to be collected and blood to be obtained for blood smears. Subsequently, in the laboratory, the samples were stained with GIEMSA dye. By means of the microscope and 100 X magnification, the hemoparasites were observed: Haemoproteus sp, Trypanosoma sp and microfilaria in the Arremon abeillei and Rhodospingus cruentus species. The results confirm the presence of hemoparasites in dry forests of Ecuador and even though the detected parasites do not seriously affect birds, it is necessary to continue sampling and complement them with molecular analyzes for the detection of new species.

Keywords: hemoparasites, birds, dry deciduous forests, Haemoproteus, Trypanosoma, Microfilaria, blood smears.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
<i>ABSTRACT</i>	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS.....	V
SIMBOLOGÍA.....	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Descripción del problema	2
1.2 Justificación del problema	3
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo General	4
1.3.2 Objetivos Específicos.....	4
1.4 Marco teórico.....	4
1.4.1 Características hematológicas de las aves.....	4
1.4.2 Hemoparásitos aviares	6
1.4.3 Bosques secos tropicales	9
CAPÍTULO 2.....	10
2. METODOLOGÍA.....	10
2.1 Área de estudio	10
2.1.1 Bosque Protector La Prosperina	10
2.2 Fase en Campo	10
2.2.1 Redes de Neblina	10
2.2.2 Toma de datos morfométricos	11
2.2.3 Toma de muestra de sangre	12

2.2.4	Frotis sanguíneo	13
2.2.5	Almacenamiento y etiquetado.....	14
2.3	Fase en Laboratorio	15
2.3.1	Tinción Giemsa.....	15
2.3.2	Microscopía.....	16
CAPÍTULO 3.....		17
3.	RESULTADOS Y ANÁLISIS.....	17
3.1	Fase de campo.....	17
3.2	Fase de laboratorio.....	20
CAPÍTULO 4.....		23
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	23
4.1	Conclusiones.....	23
4.2	Recomendaciones.....	23
BIBLIOGRAFÍA.....		25
APÉNDICES.....		28

ABREVIATURAS

ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral
BPP	Bosque Protector La Prosperina
FCV	Facultad de Ciencias de la Vida
ODS	Objetivos de Desarrollo Sostenible
EDTA	Ácido etilendiaminotetraacético
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa

SIMBOLOGÍA

ha	hectáreas
mm	milímetros
cm	centímetros
m	metros
μl	microlitros
μm	micrómetros
°C	grado Celsius
msnm	metros sobre el nivel del mar
g	gramos
G	Gauge
X	aumento x veces
ADN	ácido desoxirribunucleico

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Eritrocitos y granulocito de aves.....	5
Figura 1.2 Leucocitos mononucleares y trombocitos en aves.	5
Figura 1.3 Hemoparásitos hemosporidios.	7
Figura 1.4 Otros tipos de hemoparásitos en aves.	8
Figura 2.1 Mapa de las zonas de estudio en el Bosque Protector La Prosperina.	10
Figura 2.2 Medición de la longitud del pico.....	12
Figura 2.3 Agarre del anillador o Bander's grip.	13
Figura 2.4 Punción en vena braquial en <i>Myiothlypis fraseri</i>	13
Figura 2.5 Ventilador portátil.....	14
Figura 2.6 A) Colorante Giemsa y caja Coplin. B) Frotis sanguíneos teñidos con Giemsa.	16
Figura 3.1 <i>Arremon abeillei</i> . Saltón Gorrinegro	18
Figura 3.2 <i>Vireo olivaceus</i> . Vireo Ojirrojo	18
Figura 3.3 <i>Myiothlypis fraseri</i> . Reinita grisidorada	19
Figura 3.4 <i>Spinus siemiradzkii</i> . Jilguero azafranado	19
Figura 3.5 Gametocitos de <i>Haemoproteus</i> sp. infectando eritrocito en <i>Arremon abeillei</i>	20
Figura 3.6 Microfilaria entre células sanguíneas de <i>Rhodospingus cruentus</i>	21
Figura 3.7 <i>Trypanosoma</i> spp en <i>Rhodospingus cruentus</i>	21

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2.1 Tipo de datos morfológicos tomados en las aves	11
Tabla 3.1 Aves muestreadas en el Bosque Protector La Prosperina	17

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

El parasitismo se considera una asociación entre dos organismos denominados parásito y huésped, en la que el parásito consigue beneficios tales como la obtención de alimento, medio de reproducción y crecimiento que perjudica al hospedador al provocarle afectaciones en su organismo, comportamiento, incluso la muerte (Atkinson et al., 2009). Este tipo de relación es muy común en la naturaleza y continuamente la fauna silvestre se encuentra expuesta a todo tipo de patógenos como los hemoparásitos que constituyen grupos de protozoarios y helmintos que se alojan en la sangre del huésped (Carmen Silva et al., 2016) y son transmitidos por vectores artrópodos como pulgas, garrapatas, mosquitos y moscas hematófagas (Díaz et al., 2021). En el caso de las aves se han realizado varios estudios de identificación de hemoparásitos en los cuales se reporta nematodos microfilarias (Sehgal, 2015), protistas del género *Trypanosoma* y esporozoarios pertenecientes al Orden Haemosporida siendo los géneros más representativos y estudiados: *Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon* (Carmen Silva et al., 2016).

Entre los efectos de estos endoparásitos en aves se ha evidenciado la disminución en la actividad reproductiva como cambios de coloración y estado de plumaje, anemia, dilatación de bazo (Macías, 2020), deformación de hepatocitos y eritrocitos, inflamación de venas y arterias (Carmen Silva et al., 2016), menor condición corporal e hipertrofia de órganos (Carbó-Ramírez et al., 2017). Lo que conlleva a la reducción del tamaño de la población y a su vez pérdida de biodiversidad, tal es el caso de los parásitos del género *Haemoproteus* que causaron mortalidad en varias especies de loros en Alemania. Además, de la extinción de especies nativas como ocurrió con algunos pájaros mieleros en el archipiélago de Hawái a causa de la introducción del parásito *Plasmodium relictum* y su principal vector el mosquito *Culex quinquefasciatus* (Moens & Pérez-Tris, 2016).

No todos los casos de infección por hemoparásitos presentan signos clínicos en los animales, pero podrían ser importantes reservorios de parásitos que ocasionan enfermedades, incluso de importancia para la salud pública (Hidalgo, 2018). Además, por diferentes factores como el cambio climático, deforestación,

urbanización, introducción de especies invasoras, entre otros ha favorecido la reproducción de vectores, cambios en la transmisión de los patógenos y posible surgimiento de nuevas enfermedades (Sehgal, 2015). A pesar de que es conocido que la altitud afecta la prevalencia de patógenos (Sehgal, 2015), las investigaciones sobre hemoparásitos en aves se han enfocado en zonas templadas y en países neotropicales como Ecuador la información es escasa, principalmente en la región Costa (Macías, 2020).

Ante lo expuesto anteriormente y siendo Ecuador uno de los países con mayor diversidad de aves con un total de 1699 especies (Bioweb, 2021; Moens & Pérez-Tris, 2016), además de la falta de información sobre hemoparásitos aviares en la costa ecuatoriana y de estudios relacionados sobre el posible rol de las aves como reservorios de hemoparásitos de importancia para la salud pública (Díaz et al., 2021). El presente estudio tiene como objetivo la estandarización de protocolos para la identificación de hemoparásitos en aves silvestres por medio de frotis sanguíneos y microscopía en el Bosque Protector La Prosperina.

1.1 Descripción del problema

La infección por hemoparásitos se encuentra catalogada como una de las causas de pérdida de biodiversidad, incluso de endemismo (Praderes, 2016). Por lo cual, a nivel mundial ha surgido el interés y preocupación de realizar investigaciones de esta índole en la fauna silvestre. Sin embargo, en el caso de las aves los estudios en zonas neotropicales son escasos. (Moens & Pérez-Tris, 2016). Tal es el caso de Ecuador que presenta poca información sobre hemoparásitos aviares y los estudios reportados se han realizado principalmente en la Amazonía y zonas de la Sierra. Por el contrario, en la región Costa y especialmente en zonas altamente deterioradas como son los bosques secos, los estudios son limitados. Como resultado las aves silvestres podrían ser posibles reservorios de enfermedades emergentes y con interés para la salud pública, tal es el caso de la Leishmaniasis (Dávalo Matheus et al., 2021).

La leishmaniasis ha sido catalogada como un gran problema de salud pública a nivel mundial (Dávalo Matheus et al., 2021) Y en Ecuador se ha reportado la transmisión en zonas rurales, principalmente en la costa, además presenta casos en 22 de las 24 provincias, con excepción de las Galápagos y Carchi (Toalombo & Coque, 2021).

Con respecto a la infección por *Leishmania* spp., en la fauna silvestre se ha detectado prevalencia en mamíferos con un total de más de 60 especies (Roque & Jansen, 2014). Para el caso de las aves, se ha reportado a las especies *Anser anser* (Ganso común) y *Phasianus colchicus* (Faisán común) como posibles reservorios de *Leishmania* spp. Además, recientemente en la investigación de (Dávalo Matheus et al., 2021) se reportó el primer caso de infección por *Leishmania* sp. en el loro cara amarilla *Alipiopsitta xanthops* sin presentar signos clínicos de infección. Aun así, falta muchos estudios para conocer el posible rol de las aves como reservorios de estos patógenos.

1.2 Justificación del problema

La importancia del estudio de hemoparásitos en aves silvestres radica en la información que proporciona acerca del estado de los ecosistemas, dinámica de poblaciones de los huéspedes y vectores, enfermedades emergentes, desarrollo de planes de manejo y conservación de la ornitofauna (Macías, 2020). Además, como menciona (Martínez, 2018) ha permitido analizar el mecanismo de transmisión de enfermedades de importancia médica como la malaria en humanos, a través de la evaluación del parásito *Plasmodium relictum* que ocasiona la malaria aviar.

Por otro lado, es relevante realizar estudios en zonas tropicales para la prevención de brotes de enfermedades y la determinación de puntos críticos, incluso para la detección de posibles reservorios de enfermedades, dado que las condiciones ambientales en estas áreas favorecen la transmisión de enfermedades (Dávalo Matheus et al., 2021). Por tal motivo este estudio está enfocado en el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) número 3 relacionado a “Salud y Bienestar” (United Nations, 2016).

Además, cabe recalcar la importancia del estudio en Bosques secos, debido a que estos ecosistemas poseen altos niveles de endemismo, ofrecen varios servicios ecosistémicos como recursos maderables y no maderables, agua, nutrientes, microorganismos benéficos, entre otros. Sin embargo, han sido altamente deteriorados por actividades antropogénicas tales como la agricultura y ganadería por el desconocimiento de la funcionalidad y composición de estos ecosistemas (Aguirre Padilla et al., 2018; Aguirre et al., 2006; Ministry of Agriculture of Ecuador,

2012). Con lo cual también el presente estudio se encuentra alineado con el ODS número 15 referente a “Vida de Ecosistemas Terrestres” (United Nations, 2016).

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Establecer protocolos para el monitoreo del estado de salud de aves silvestres por medio del análisis de muestras de sangre en el Bosque Protector La Prosperina.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar la obtención de sangre de aves silvestres mediante la validación de metodologías de campo para la preservación de muestras biológicas.
- Identificar la presencia o ausencia de hemoparásitos en aves silvestres por medio de frotis sanguíneos para el aporte de información en bosques secos caducifolios.

1.4 Marco teórico

1.4.1 Características hematológicas de las aves

Las células sanguíneas que presentan todas las aves en su sangre comprenden los eritrocitos, leucocitos y trombocitos, siendo los últimos equivalentes funcionales a las llamadas plaquetas en mamíferos (Clavera, 2005; Macías, 2020).

Los eritrocitos en aves de forma general son ovoides, pero existen especies que presentan una forma redondeada o más alargada y estrecha; el núcleo ovoide se posiciona en el centro y al ser teñida con Giemsa se puede observar al microscopio una coloración azul-violeta oscuro por tener propiedades basófilas, en cambio el citoplasma eosinófilo que presenta hemoglobina se tiñe de un tono rosa al asociarse con la eosina [Figura 1.1, A]. Estas células pueden sufrir alteraciones en su forma o desplazamiento del núcleo por la infección de parásitos como *Plasmodium* spp y *Haemoproteus* spp (Phillip et al., 2009)

Por otro lado, los leucocitos presentes en aves son de 5 tipos: heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos. A excepción de linfocitos y monocitos, los demás leucocitos son denominados granulocitos. Los granulocitos más comunes de observar al realizar un frotis de sangre periférico son los heterófilos, estos poseen una

forma redonda irregular con núcleo lobulado basófilo y sus gránulos con propiedad acidófila [Figura 1.1, B]. Los linfocitos y monocitos son mononucleares, siendo los linfocitos los más comunes de encontrar con una forma variable y núcleo redondo, además de presentar escaso citoplasma basófilo [Figura 1.2, A]. En cuanto a los monocitos estos son pleomórficos con un núcleo de forma irregular con cromatina fina y citoplasma no tan abundante [Figura 1.2, B]. En adición, los hemoparásitos del género *Leucocytozoon* spp pueden distorsionar la forma de células, típicamente a los leucocitos mononucleares (Macías, 2020; Phillip et al., 2009).

Finalmente, los trombocitos son células nucleadas de menor tamaño que las células antes mencionadas, aparecen en los frotis sanguíneos con un núcleo redondo y cromátida muy compactada y densa, además de tener una moderada cantidad de citoplasma con presencia de vacuolas y vesículas [Figura 1.2, C]. Al igual que las plaquetas en mamíferos, se encargan de adherirse y agregarse en la zona del daño vascular que forma un tapón hemostático (Clavera, 2005)

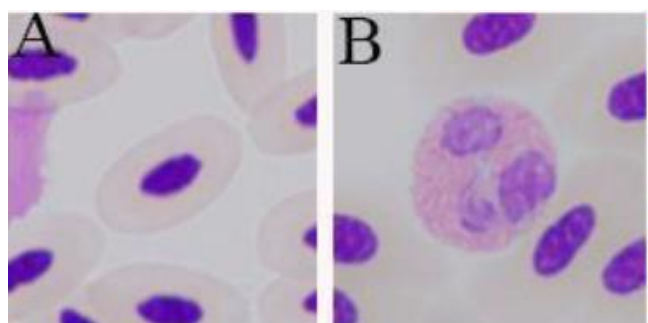


Figura 1.1 Eritrocitos y granulocito de aves.

(A) Eritrocito de *Cinclus leucocephalus*, **(B)** Heterófilo de *Anas andium*. Fuente: (Macías, 2020)

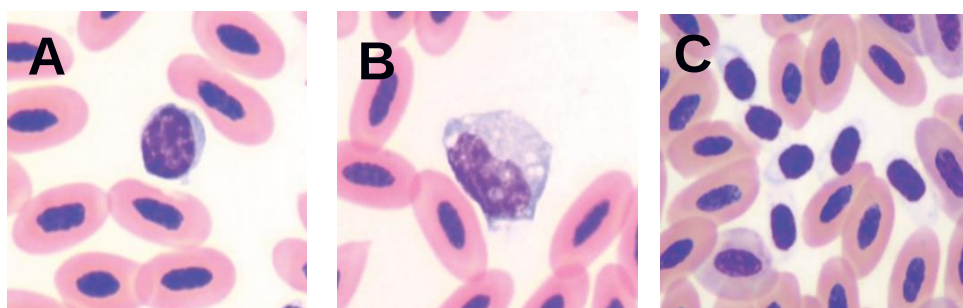


Figura 1.2 Leucocitos mononucleares y trombocitos en aves.

(A) Linfocito **(B)** Monocito **(C)** Trombocitos de *Platalea regia*. Fuente: (Phillip et al., 2009)

1.4.2 Hemoparásitos aviares

Los parásitos que viven dentro de la sangre de su hospedero se denominan hemoparásitos, estos comprenden protistas, bacterias y filarias. Además, la infección al hospedero ocurre usualmente por picaduras de vectores como pulgas, garrapatas, mosquitos, moscas hematófagas y ácaros (Hidalgo, 2018).

En aves los hemoparásitos más comunes de encontrar son los protozoarios del phylum Apicomplexa de los géneros *Haemoproteus*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon* que invaden los eritrocitos, también se ha reportado nemátodos microfilarias encontrados entre células sanguíneas (Campbell, 2015).

Los parásitos protozoarios antes mencionados pertenecen al orden Haemosporida, habitan en reptiles, anfibios, aves y mamíferos, adicionalmente utilizan a los insectos dípteros como vectores. Han sido un grupo muy estudiado debido a que incluyen especies de importancia médica como *Plasmodium* sp que causa malaria en los humanos (Valkiūnas, 2005).

1.4.2.1 *Haemoproteus* spp

Se han detectado en más de 100 especies de aves las cuales incluyen los órdenes: Passeriformes, Galliformes, Coraciiformes y Piciformes (Macías, 2020). Los vectores corresponden a mosquitos del género *Culicoides* y moscas hematófagas de la familia Hippoboscidae. Dentro del ciclo de transmisión los gametocitos del parásito se desarrollan en eritrocitos maduros y son ingeridos por los vectores para continuar con la etapa sexual; la etapa de merogonia o asexual ocurre en células endoteliales de varios tejidos del hospedero vertebrado (Campbell, 2015; Valkiūnas, 2005).

Los gametocitos que se pueden observar al microscopio dentro de las células sanguíneas [Figura 1.3, A] presentan una coloración azul para los macrogametocitos (♀) o rosa para los microgametocitos (♂) y el citoplasma contiene pigmentos granulares de color amarillo, negro o marrón. Además de otros gránulos, pero con coloración púrpura (Martínez, 2018).

1.4.2.2 *Plasmodium* spp

Parásitos causantes de malaria, infectan eritrocitos y células epiteliales de aves, reptiles, anfibios y mamíferos. En aves se han encontrado principalmente en los órdenes

Passeriformes, Columbiformes y Galliformes (Macías, 2020), sus vectores son dípteros de la familia Culicidae, géneros *Culex*, *Aedes* y *Culiseta* (Valkiūnas, 2005).

El género *Plasmodium* comparte características morfológicas y de desarrollo con los parásitos *Haemoproteus* spp. La diferencia de *Plasmodium* con demás haemosporidios es la presencia de merogonía o reproducción asexual dentro de los eritrocitos (Atkinson et al., 2009). Los gametocitos de este género pueden ser alargados, redondos o en forma de U; presentan un núcleo redondo y citoplasma basófilo con gránulos de coloración marrón-negro [Figura 1.3, B] (Phillip et al., 2009), además provocan un desplazamiento del núcleo de los glóbulos rojos. Con respecto a la merogonía, los merozoitos ingresan a los eritrocitos, leucocitos y trombocitos para convertirse en trofozoítos con forma de anillo que posteriormente maduran a esquizontes capaces de romper y matar a las células sanguíneas para la liberación de merozoitos que nuevamente infectaran a las células (Campbell, 2015).

1.4.2.3 *Leucocytozoon* spp

Hemoparásitos que han sido reportados en aves acuáticas, rapaces, domésticas y palomas. Se transmiten por la picadura de moscas hembra hematófagas de la familia Simuliidae y Ceratopogonidae (Macías, 2020). En las células sanguíneas se desarrollan sólo los gametocitos, estos provocan hipertrofia que deforma las células sanguíneas a una forma larga y delgada [Figura 1.3, C] (Martínez, 2018).

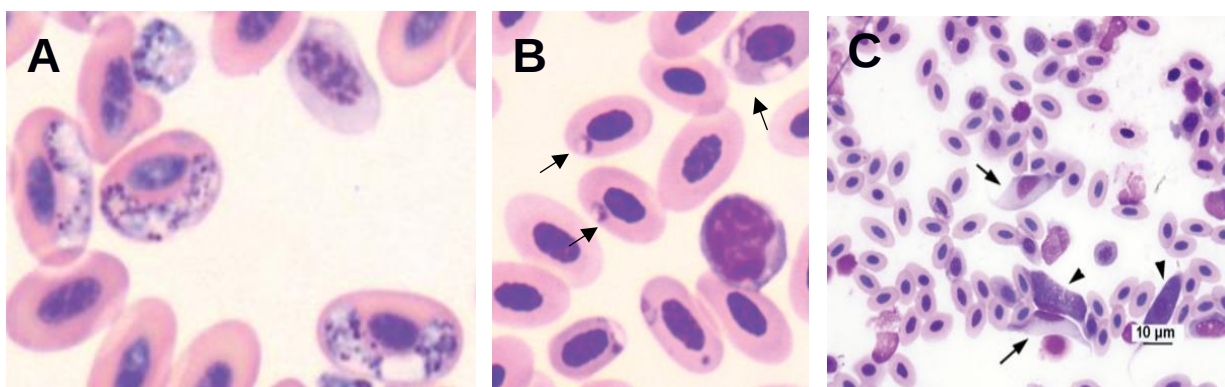


Figura 1.3 Hemoparásitos hemosporidios.

(A) Gametocitos de *Haemoproteus* sp en *Ninox boobook*. **(B)** Gametocitos de *Plasmodium* sp en *Strepera graculina*. **(C)** Gametocitos de *Leucocytozoon* sp en *Buteo jamaicensis*.

(B) Fuente: (Campbell, 2015; Phillip et al., 2009)

1.4.2.4 Microfilarias

Otro tipo de hemoparásito que infecta a las aves son los gusanos redondos o nemátodos en su estado larval denominados microfilarias. Estos se presentan de forma extracelular y son mucho más grandes que las células sanguíneas; son basófilas y al teñirlas adquieren coloración azul-violeta oscuro [Figura 1.4, A] (Phillip et al., 2009). La infección por microfilarias puede causar inflamación de venas y arterias (C. Silva et al., 2015). Son transmitidos por la picadura de insectos dípteros de la familia Ceratopogonidae, Simuliidae y Culicidae (Macías, 2020).

1.4.2.5 Trypanosoma spp

Hemoparásitos reportados en aves silvestres de los órdenes Passeriformes y Galliformes, además de algunas especies de palomas y aves acuáticas. Se transmiten por medio de vectores artrópodos como mosquitos, moscas hipobóscidas o ácaros (Campbell, 2015). Poseen una membrana ondulada, forma alargada y delgada con presencia de flagelo [Figura 1.4, B]. No suelen presentar patogenicidad en las aves (Praderes, 2016).

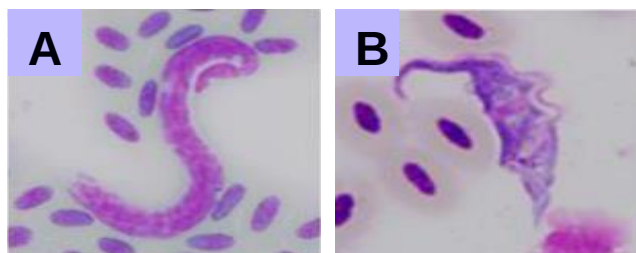


Figura 1.4 Otros tipos de hemoparásitos en aves.

(A) Microfilaria en *Vanellus chilensis* **(B)** *Trypanosoma* sp en *Coccyzus americanus*.

Fuente: (Macías, 2020)

1.4.2.6 Leishmania spp

Parásito protozooario intracelular que provoca la enfermedad Leishmaniasis. Se transmite por medio de la picadura de moscas de arena de la subfamilia Phlebotominae, géneros *Lutzomyia* y *Phlebotomus*. Se han detectado varios hospederos principalmente mamíferos como marsupiales, roedores, incluso el ser humano. Además, se ha reportado que las aves podrían ser reservorios de *Leishmania* spp, pero la información disponible es limitada (Morales et al., 2019). *Leishmania* en su ciclo biológico presenta dos estadios llamados promastigote (forma flagelar) y amastigote (forma redondeada, sin flagelo). El vector infecta la sangre del hospedero con el parásito en su forma promastigote y los

macrófagos lo fagocitan, resultando en la transformación del promastigote a amastigote dentro del macrófago o células dendríticas (González et al., 2017).

1.4.3 Bosques secos tropicales

En el Ecuador, se encuentran continuos en la costa formando parte de la región tumbesina, esta región posee un alto nivel de endemismo tanto de flora como de fauna, en cuanto a aves presenta 39 especies endémicas. Los bosques secos presentan una precipitación anual de 400 a 600 mm durante un periodo de 3 a 4 meses comprendidos entre febrero, marzo y abril, además de una temperatura promedio anual de 24.9 °C. Debido a las condiciones climáticas los árboles pierden sus hojas en la época seca y dependiendo de la cantidad de especies se denominan deciduos si por lo menos el 75% pierde las hojas con una duración de la época seca de 6 a 8 meses y los llamados semideciduos si hay una pérdida foliar por el 25 al 75% de las especies con un periodo de sequía entre 1 a 6 meses por haber mayor humedad dada las zonas de colinas (Aguirre et al., 2006; Rivas, 2022).

1.4.3.1 Diversidad de aves en bosques secos de la costa

Los bosques secos como se mencionó anteriormente se encuentran en la zona Tumbesina que está conformada por el suroeste de Ecuador hasta el noroeste de Perú, es considerada una de las cinco regiones con mayor riqueza de aves endémicas a nivel mundial. Además, cabe recalcar la importancia de las aves en estos ecosistemas debido a que existen especies polinizadoras tal es el caso de los colibrís y mieleros. También, se encuentran especies dispersoras de semillas como el orden Passeriformes debido a la dieta frugívora o granívora, incluso el forrajeo puede contribuir a la dispersión de las semillas. Adicionalmente, forman parte de la cadena trófica sea como depredadores o presas (Félix, 2014; Luzuriaga, 2014)

En cuanto a la diversidad de aves, las familias predominantes en áreas boscosas son Tyrannidae, Troglodytidae y Trochillidae, por el contrario, en zonas menos boscosas o intervenidas por el ser humano, predominan las familias Icteridae y Furnariidae. Además, las especies altamente amenazadas en los bosques secos comprenden psitácidos, tinamués, pájaros carpinteros y aves rapaces debido a la cacería, tráfico ilegal, pérdida del hábitat, entre otras causas (Luzuriaga, 2014).

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de estudio

El presente estudio comprende tres zonas de muestreo ubicadas en el Bosque Protector La Prosperina. En el gráfico siguiente [Figura 2.1] se muestra la ubicación de dichas zonas.



Figura 2.1 Mapa de las zonas de estudio en el Bosque Protector La Prosperina.

Pin azul: Poliducto. Pin verde: Sendero Mirador. Pin Rosa: Detrás de instalaciones de la Facultad de Ciencias de la Vida FCV. Fuente: autoría propia.

2.1.1 Bosque Protector La Prosperina

Forma parte de la Escuela Superior Politécnica del Litoral ESPOL ubicada en la ciudad de Guayaquil, provincia del Guayas en Ecuador. De las 711 ha, 560 han sido destinadas como bosque protector. El clima está influenciado por la cordillera Chongón-Colonche; la época lluviosa ocurre entre los meses de enero y abril con una precipitación al año de 1.135 mm y 26. 2 °C correspondiente a la temperatura promedio anual. Además, pertenece a un bosque seco deciduo o también denominado caducifolio, con un rango altitudinal de 0 a 1000 msnm (Krauth & Salazar, 2019).

2.2 Fase en Campo

2.2.1 Redes de Neblina

Las redes de neblina son una técnica comúnmente utilizada para capturar aves con fines de monitoreo como parámetros demográficos y estado de salud (Spotswood et al., 2012). La captura permite determinar la edad, el sexo y el marcado de las aves para la

identificación individual en encuentros futuros. Además, se pueden recopilar datos adicionales que contribuyen a los estudios de población, como el estado de reproducción y la identificación de subespecies. Inclusive se puede emplear para otros fines de investigación como por ejemplo, estado fisiológico, muda, cargas de parásitos, muestreo de ADN, etc. (Dunn & Ralph, 2002).

Para este estudio se usaron 2 redes de neblina de 9 y 6 metros de largo y como soporte se emplearon extensores de aluminio. Las redes están fabricadas de un material fino que no es perceptible a simple vista y para un mayor éxito de captura, estas fueron colocadas en secciones de bosque a manera de cruce donde se evidencie mayor actividad de las aves.

Las redes se revisan en un promedio de 10 a 20 minutos para evitar que las aves pasen mucho tiempo enredadas y puedan sufrir daños. Una vez que las aves se sacan de las redes, estas se guardan en una funda de tela para posteriormente ser manipuladas para la toma de medidas morfológicas.

2.2.2 Toma de datos morfométricos

El uso de datos morfológicos se realiza para obtener información sobre la biología de los organismos a diferentes escalas espaciotemporales. Con este fin, la información sobre la condición corporal de los individuos monitoreados puede proporcionar una perspectiva detallada sobre la forma en que las aves se enfrentan a las condiciones ambientales cambiantes (Tellería et al., 2013). Los datos morfométricos tomados en este estudio se detallan en la [Tabla 2.1]:

Tabla 2.1 Tipo de datos morfológicos tomados en las aves

Datos	Unidad de medición	Instrumento de medición
Peso	g	Balanza
Ancho, largo y profundidad del pico	cm	Calibrador Vernier digital
Longitud del tarso		Regla
Longitud del ala		

Las medidas tomadas con el calibrador Vernier como por ejemplo la longitud del pico [Figura 2.2], se realizaron tres veces para luego obtener un promedio y bajar el nivel de error. Adicionalmente, estos datos fueron medidos por una sola persona dado que esto disminuye la subjetividad del observador en las medidas.

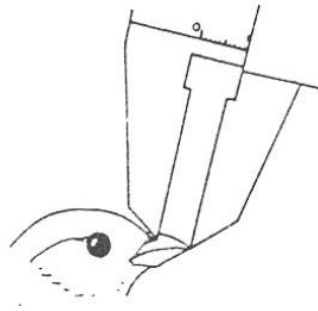


Figura 2.2 Medición de la longitud del pico.

Fuente: (NABC, 2001)

2.2.3 Toma de muestra de sangre

La vena del ala braquial (o vena cubital cutánea) es el sitio más común para la recolección de sangre. Se puede acceder a esta vena en la parte inferior del ala del ave, cerca del codo y al mover las plumas de esta área se logra una mejor visualización. La vena del ala corre entre los músculos bíceps y tríceps y se bifurca justo proximal al codo. La sangre debe recogerse en la bifurcación (Kelly & Alworth, 2013).

Antes de la extracción de sangre se debe tener preparado una aguja desechable estéril de 32G por cada ave, alcohol para desinfectar el área de punción, algodón, tubo capilar sin heparina, portaobjetos y un recipiente con metanol al 100% para la fijación de frotis sanguíneos. Además, contar con tubos Eppendorf de 1.5 ml con 0.5 ml de EDTA para análisis moleculares.

El ave se retira de la bolsa de tela y es sujeta entre los dedos índice y anular la zona de la nuca; este procedimiento es llamado Agarre de anillador [Figura 2.3] Para la extracción de sangre se toma el ala y se extiende para mostrar el codo y buscar la vena braquial. Una vez encontrada, se procede a hacer una punción con una aguja de calibre 32G a 30 grados de inclinación aproximadamente [Figura 2.4]. La punción debe de ser rápida y precisa. Una vez que la sangre comienza a salir, esta se recolecta en un capilar

hasta que la sangre haya subido aproximadamente $\frac{3}{4}$ de la capacidad del tubo. Luego, colocar un poco de algodón humedecido con alcohol sobre la punción, cerrar el ala y liberar al ave. Mientras tanto, otra persona se encarga de la utilización de la muestra de sangre como la realización de frotis sanguíneos y el almacenamiento en tubos Eppendorf.

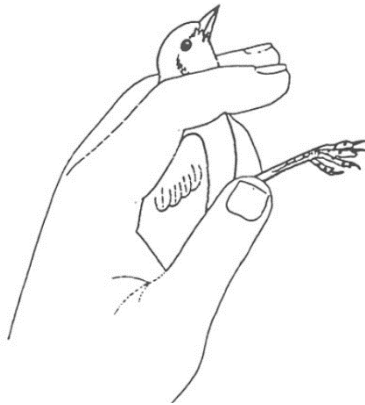


Figura 2.3 Agarre del anillador o Bander's grip.

Fuente: (NABC, 2001)



Figura 2.4 Punción en vena braquial en *Myiothlypis fraseri*.

Fuente: Autoría Propia

2.2.4 Frotis sanguíneo

Primero se colocó una gotita de sangre (5-10 μ l) sobre un portaobjetos y con la ayuda de un portaobjetos limpio se posiciona su orilla acercándose a la gota, manteniendo un ángulo de 45° (Pibaque & Piedrahita, 2022). Se espera un momento para que el

portaobjeto absorba por capilaridad para posteriormente desplazar la sangre en dirección contraria.

Cuando el ambiente es seco o poco húmedo los portaobjetos con la muestra de sangre se pueden dejar secar solas, pero si el ambiente es húmedo, es necesario el secado rápido por medio de ventiladores portátiles [Figura 2.5]. Dado que la humedad daña los frotis sanguíneos (Santiago Alarcon & Carbó Ramirez, 2015).



Figura 2.5 Ventilador portátil.

Fuente: (mercadolibre.com, 2022)

Una vez que los frotis sanguíneos estén secos, se colocan en un recipiente con tapa que contiene metanol al 100% para fijar la muestra durante 3 a 4 minutos. Luego se retiran cuidadosamente y se dejan secar a temperatura ambiente cuando el clima es seco o poco húmedo, sino se emplea los ventiladores portátiles.

2.2.5 Almacenamiento y etiquetado

Cuando están completamente secos los frotis sanguíneos se procede con el almacenamiento en cajas especiales para guardar portaobjetos o en paquetes hechos de papel y guardadas en bolsas con sello hermético. En cuanto a las muestras de sangre en tubos Eppendorf se colocaron en un recipiente cerrado que no permita el paso de luz y al llegar al laboratorio fueron colocadas en el refrigerador.

Es importante no olvidar el etiquetado de las muestras indicando código, fecha y lugar. Para el código, previamente fue identificada la especie de ave sea por medio de guías o conocimientos previos. Por lo cual, se utilizó las 3 primeras letras del género y las 3 del

epíteto específico del nombre científico. Por ejemplo para la especie *Arremon abeillei* el código asignado fue: ARRABE.

2.3 Fase en Laboratorio

2.3.1 Tinción Giemsa

Para la realización de la tinción de los frotis sanguíneos primero se preparó un buffer considerando que en 1000 ml de agua destilada (dH_2O) se emplea 1.0 g de fosfato de sodio dibásico (Na_2HPO_4) y 0.7 g de fosfato de potasio monobásico (KH_2PO_4) (Santiago Alarcon & Carbó Ramirez, 2015, p.67). Como la capacidad de la caja Coplin empleada era de 60 ml se realizó los cálculos respectivos. Por lo cual se empleó en esta investigación 0.06 g de fosfato de sodio dibásico y 0.042 g de fosfato de potasio monobásico en 60 ml de agua destilada. Adicionalmente, se debe procurar que se disuelva completamente los componentes y asegurase que el pH se encuentre entre 7.0 y 7.2 (Santiago Alarcon & Carbó Ramirez, 2015).

En un recipiente limpio se colocó el buffer salino con el colorante. El colorante utilizado fue Giemsa dado que es más estable que otros colorantes; fue obtenido del Laboratorio CEVALLOS en Guayaquil. Además, se tiene que considerar que para muestras de aves la proporción recomendada como indica (Santiago Alarcon & Carbó Ramirez, 2015) es de “1 parte de colorante Giemsa por cada 10 del buffer” (p.67). Luego, la mezcla se vierte en cajas Coplin que poseen compartimientos donde se colocan los portaobjetos que contienen el frotis para su tinción [Figura 2.6, A].

El tiempo de tinción puede variar dependiendo de la temperatura ambiente; en condiciones con temperaturas mayores de 25°C como las de este estudio, se recomienda 50 - 60 min (Santiago Alarcon & Carbó Ramirez, 2015). El buffer salino y el colorante siempre deben prepararse el día en el que se vaya a teñir y únicamente se utiliza una vez. Si sobra buffer este debe desecharse. Transcurrida la hora, se desecha el colorante y se enjuagan las preparaciones con agua corriente, esto es para quitar el exceso de colorante. Finalmente, las muestras se dejan secar a temperatura ambiente en el laboratorio [Figura 2.6, B].

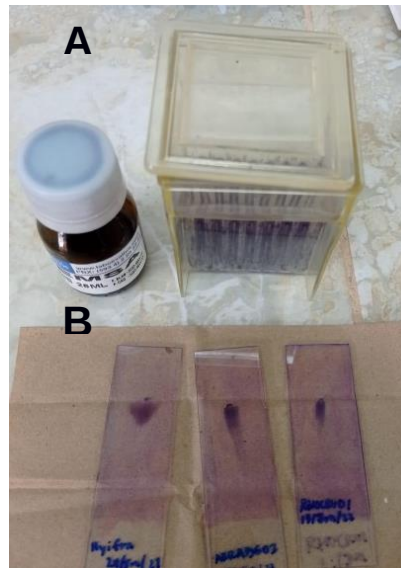


Figura 2.6 A) Colorante Giemsa y caja Coplin. B) Frotis sanguíneos teñidos con Giemsa.

Fuente: Autoría propia.

2.3.2 Microscopía

Una vez teñidas las muestras de sangre se procede con el procesamiento. En esta etapa será posible observar de mejor manera las células sanguíneas y si fue realizado correctamente la tinción, posibles hemoparásitos. Para ello se empleó un microscopio óptico y en cada portaobjetos se colocó un cubreobjetos para evitar dañar el frotis. Adicionalmente, el cubreobjetos fue sellado en las placas con un poco de barniz de uñas.

Para la observación al microscopio primero se empleó bajos aumentos: 10 X, 40 X y 60 X para la visualización de parásitos grandes como microfilarias. Luego, se observó con un objetivo 100 X utilizando aceite de inmersión para visualizar la morfología de parásitos y percibir mejor los parásitos más pequeños como por ejemplo *Plasmodium* spp. Para no repetir zonas de observación se realiza movimientos en zig-zag desde un extremo.

Para determinar los tipos de parásitos se empleó tratados taxonómicos especializados, así como las publicaciones donde se describen los parásitos identificados recientemente en aves. Estas incluyen por ejemplo a las publicaciones: “Exotic Animal Hematology and Cytology” (Campbell, 2015) y “Atlas of Clinical Avian Hematology” (Phillip et al., 2009).

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

3.1 Fase de campo

Al realizar el muestreo con las redes de neblina se capturó 19 aves de las cuales se identificó 9 especies correspondientes a los órdenes Passeriformes y Columbiformes. A continuación se detalla la clasificación taxonómica de las aves [Tabla 3.1].

Tabla 3.1 Aves muestreadas en el Bosque Protector La Prosperina

Código	Orden	Familia	Especie	Nombre Común
ARRABE	Passeriformes	Emberizidae	<i>Arremon abeillei</i> [Figura 3.1]	Saltón Gorrinegro
RHOCRU		Thraupidae	<i>Rhodospingus</i> <i>cruentus</i>	Pinzón pechicarmesí
SPOCOR			<i>Sporophila corvina</i>	Semillero variable
VIROLI		Vireonidae	<i>Vireo olivaceus</i> [Figura 3.2]	Vireo Ojirrojo
MYIFRA		Parulidae	<i>Myiothlypis fraseri</i> [Figura 3.3]	Reinita grisidorada
CAMOBS		Tyrannidae	<i>Camptostoma</i> <i>obsoletum</i>	Mosquerito silbador
SPISIE		Fringillidae	<i>Spinus</i> <i>siemiradzkii</i> [Figura 3.4]	Jilguero azafranado
LEPVER	Columbiformes	Columbidae	<i>Leptotila verreauxi</i>	Paloma apical
COLCRU			<i>Columbina</i> <i>cruziana</i>	Tortolita croante



Figura 3.1 *Arremon abeillei*. Saltón Gorrinegro

Fuente: Autoría Propia



Figura 3.2 *Vireo olivaceus*. Vireo Ojirrojo

Fuente: Autoría Propia



Figura 3.3 *Myiothlypis fraseri*. Reinita grisidorada
Fuente: Autoría Propia



Figura 3.4 *Spinus siemiradzkii*. Jilguero azafranado
Fuente: Autoría Propia

3.2 Fase de laboratorio

Se detectó la presencia del hemoparásito *Haemoproteus* sp en la sangre de la especie *Arremon abeillei* [Figura 3.5]. La muestra corresponde al código ARRABE obtenida el 10 de junio del 2022 en el sitio de muestreo: Poliducto.

Este resultado concuerda con un estudio realizado de igual forma en el Bosque Protector La Prosperina en el 2022 en la que se reportó la presencia de *Haemoproteus* sp en *Arremon abeillei* (Pibaque & Piedrahita, 2022). El género *Haemoproteus* tiene una distribución cosmopolita y se ha detectado en una gran variedad de especies (Phillip et al., 2009). Se considera que en condiciones normales este no representa patogenicidad, a menos que la parasitemia sea intensa y provoque problemas de salud cuando las aves están estresadas o inmunosuprimidas (Carlos Erazo et al, 2017).

En cuanto a la presencia de este tipo de hemoparásito en las aves; el factor principal es la presencia y abundancia del vector dentro del hábitat, el cual va a influir directamente en la relación huésped-parásito. Por esto, las características y los recursos que estén presentes en el medio influyen directamente en la cantidad y la intensidad de la infección parasitaria. (Herrera, 2018)

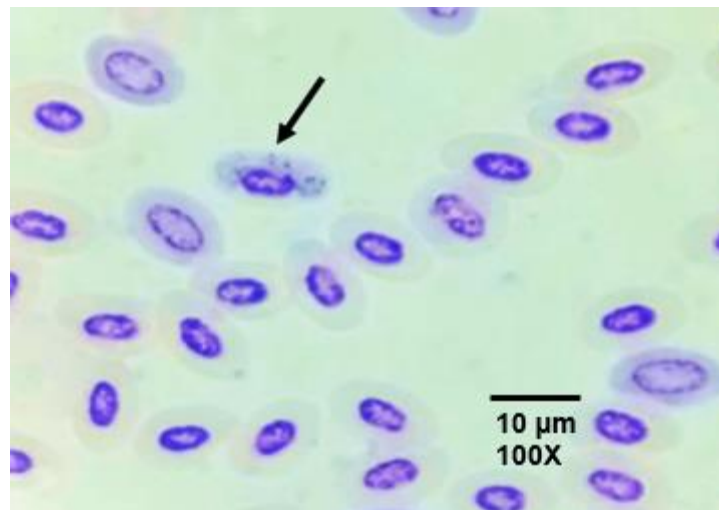


Figura 3.5 Gametocitos de *Haemoproteus* sp. infectando eritrocito en *Arremon abeillei*.

Fuente: Autoría Propia.

También se evidenció múltiple infección por los parásitos *Microfilaria* [Figura 3.6] y *Trypanosoma* spp [Figura 3.7] en la sangre de la especie *Rhodospingus cruentus*. La muestra fue recolectada el 10 de junio del 2022 en la zona Poliducto con codificación: RHOCRU 2.

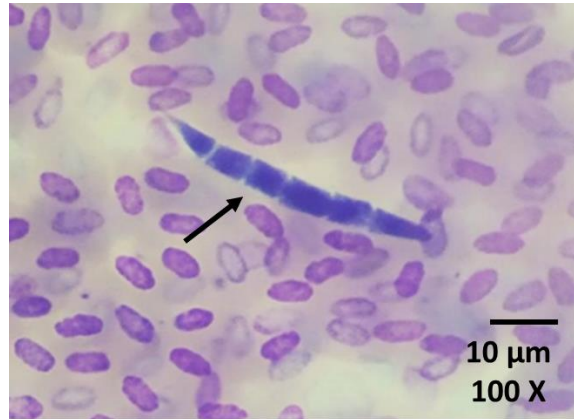


Figura 3.6 *Microfilaria* entre células sanguíneas de *Rhodospingus cruentus*.

Fuente: Autoría Propia

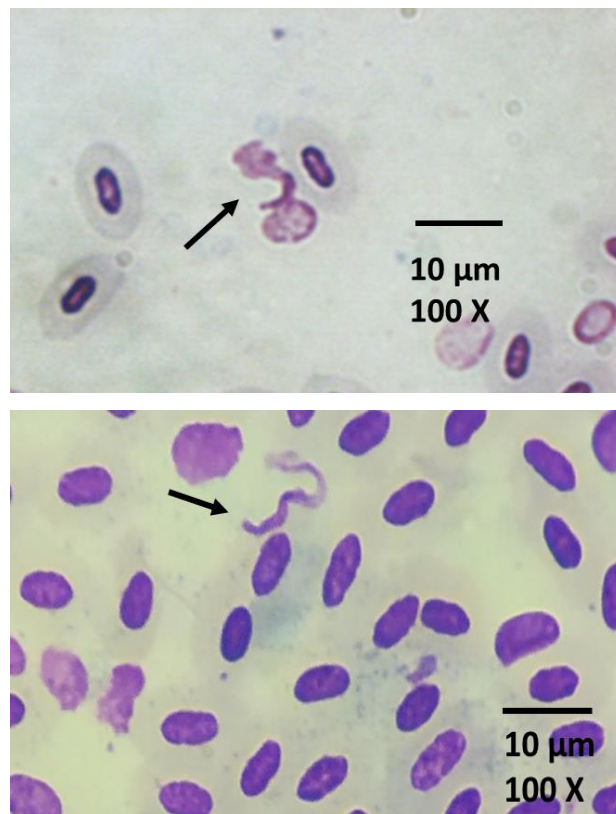


Figura 3.7 *Trypanosoma* spp en *Rhodospingus cruentus*.

Fuente: Autoría Propia

La mayoría de las infecciones por microfilarias en aves son consideradas no patógenas, pero estas pueden causar inflamación en venas y arterias. Esto puede impactar de manera negativa en los hábitos del hospedador, y con esto afectar la diversidad biológica de las especies de vida silvestre. (Silva et al, 2015)

A pesar de que las filarias han sido reportadas en aves, se sabe muy poco con respecto a su biología y existe poca información sobre el impacto en las poblaciones de aves silvestres. (Herrera et al, 2018)

Con respecto al género *Trypanosoma* en aves, generalmente la parasitemia es baja (Phillip et al., 2009) y no suelen ser patógenos (Campbell, 2015).

Finalmente, estudios previos en otras partes del Ecuador demuestran que la fragmentación del hábitat puede producir un cambio en la relación de transmisión del hemoparásito y esto facilitaría el riesgo de infección. (Chávez & Torres, 2019) La fragmentación del hábitat es una de las mayores amenazas que enfrenta el bosque seco como ecosistema. Además, por estar influenciado por la cantidad de precipitación durante el año, esta podría ser una variable que favorezca la prevalencia de hemoparásitos debido a la mayor abundancia y actividad de los mosquitos, principales vectores.

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se logró establecer un protocolo mediante la validación de metodologías para el monitoreo del estado de salud de aves silvestres por medio de muestras de sangre, además del aporte de información de hemoparásitos presentes en aves de bosques secos caducifolios en el Ecuador.
- Se evidenció en total la presencia de tres tipos de hemoparásitos: *Haemoproteus* sp, *Trypanosoma* spp y *Microfilaria* en dos muestras de sangre pertenecientes a dos especies endémicas tumbesinas: *Arremon abeillei* y *Rhodospingus cruentus* de un total de 19 frotis sanguíneos.
- Los hemoparásitos detectados no generan afectaciones graves en las aves.
- La infección por *Haemoproteus* sp es común en aves del orden Passeriformes.
- Es importante el estudio de hemoparásitos para la conservación de las aves de nuestro bosque dado que pueden generar afectaciones como la disminución del éxito reproductivo por el cambio del estado del plumaje o menor condición corporal, lo que le dificulta al macho poder conseguir una pareja para reproducirse.

4.2 Recomendaciones

- Generalmente, los hemoparásitos descritos hasta ahora no generan patogenicidad en las aves. Sin embargo, a causa de actividades antropogénicas como la deforestación y cambio climático; han cambiado y favorecido el ciclo de vida de vectores y por medio de migraciones de las aves pueden transportar nuevos parásitos. Incluso, perjudiciales para el ser humano. Por lo cual, se debe seguir realizando muestreos para la determinación de puntos críticos y poder desarrollar planes de control o de prevención zoonótica.
- Las guías disponibles actualmente para la identificación de hemoparásitos están diseñadas para la identificación a nivel de género. Por lo cual, se

recomienda complementar la detección e identificar nuevas especies mediante análisis moleculares para ello se debe establecer un protocolo para la extracción de ADN de las muestras de sangre almacenadas en tubos con EDTA para posteriormente realizar la técnica PCR.

- Procurar emplear una pequeña gota de sangre para realizar el frotis sanguíneo, dado que abundante sangre no permite observar adecuadamente a las células. Se las observa amontonadas y el citoplasma no es visible para identificar parásitos pequeños.
- Se debe evitar que el polvo y la humedad dañen los frotis sanguíneos. Para ello, se podría emplear un techo tipo tienda de campaña y almacenar correctamente las muestras.
- Cuando se realicen los frotis utilizar una superficie plana para el correcto deslizamiento del portaobjetos.
- En las salidas de campo llevar preparado todo lo necesario, ropa cómoda, repelente de mosquitos, machetes, gorra, agua, guía para la identificación de las aves, libreta de apuntes, etc.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre Padilla, N., Alvarado Espejo, J., & Granda Pardo, J. (2018). Bienes y servicios ecosistémicos de los bosques secos de la provincia de Loja. *Bosques Latitud Cero*, 8(2), 118–130.
- Aguirre, Z., Lars, P., & Sánchez, O. (2006). Bosques secos en Ecuador y su diversidad. *Botánica Económica de Los Andes Centrales*, 162–187.
- Atkinson, C. T., Thomas, N. J., & Hunter, D. B. (2009). Parasitic Diseases of Wild Birds. In *Parasitic Diseases of Wild Birds*. <https://doi.org/10.1002/9780813804620>
- Bioweb. (2021). *Diversidad y biogeografía Aves*. <https://bioweb.bio/faunaweb/avesweb/DiversidadBiogeografia/>
- Campbell, T. W. (2015). *Hematology and Cytology*.
- Carbó-Ramírez, P., Zuria, I., Schaefer, H. M., & Santiago-Alarcon, D. (2017). Avian haemosporidians at three environmentally contrasting urban greenspaces. *Journal of Urban Ecology*, 3(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/jue/juw011>
- Clavera, J. (2005). El trombocito aviar. *InVet*, 7(1), 139–146.
- Dávalo Matheus, L. M., Ferreira, E. de C., & Duarte, P. O. (2021). First detection of Leishmania of the subgenus viannia in Alipiopsitta xanthops, endemic bird of South America. *Bioscience Journal*, 37, e37014. <https://doi.org/10.14393/bj-v37n0a2021-48024>
- Díaz, E., Hidalgo, A., Villamarín, C., Donoso, G., Barragán, V., & Barragán, V. A. (2021). Vector-borne zoonotic blood parasites in wildlife from Ecuador: A report and systematic review. *Veterinary World*. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2021.1935-1945>
- Dunn, E., & Ralph, C. (2002). Use of mist nets as a tool for bird population monitoring. *Studies in Avian Biology*, 29, 1–6.
- Félix, F. (2014). *Aves del Bosque Protector Cerro el Paraíso*.
- González, A., Osorio, C., & Talamás, P. (2017). Leishmaniosis. *Ciencia*, 68, 38–41.
- Hidalgo, A. (2018). Blood parasite presence in wildlife from Ecuador: first reports and systematic review. In *Universidad San Francisco de Quito USFQ*.
- Kelly, L. M., & Alworth, L. C. (2013). Techniques for collecting blood from the domestic chicken. *Lab Animal*, 42. <https://www.nature.com/articles/lab.394.pdf>

- Krauth, K., & Salazar, J. (2019). *Distribución de la avifauna en ESPOL mediante EER y la creación de mapas para impulsar el avistamiento de aves como una actividad recreativa dentro del campus*. January.
- Luzuriaga, V. (2014). *Diversidad de aves en el bosque protector Puyango, Ecuador*. 78.
- Macías, J. J. (2020). Caracterización de parásitos sanguíneos en aves asociadas a cuerpos de agua y su prevalencia en 12 departamentos de Colombia. *Univesidad Colegio Mayor de Cundinamarca*.
- Martínez, K. E. M. (2018). Determinación de Hemoparásitos en aves silvestres de las familias Trochilidae, Tyrannidae, Furnariidae, Columbidae, en las provincias de Zamora Chinchipe y Pastaza. *Universidad Central Del Ecuador*, 66. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/25038/1/UCE-FMVZ-SUB-MORENO JONATHAN.pdf>
- Ministry of Agriculture of Ecuador. (2012). Especies forestales Bosques Secos Ecuador. *Bosques Secos En Ecuador y Su Diversidad*, 162–187. <http://www.ambiente.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2012/10/Bosques-Secos4.pdf>
- Moens, M. A. J., & 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), 41–49. <https://doi.org/10.1016/J.IJPARA.2015.08.001>
- Morales, D. V., Paredes, M., Morales-Butler, E. J., Cruz-Aponte, M., Arriola, L., Cevallos, V., Ponce, P., & Mubayi, A. (2019). Data scarcity and ecological complexity: The cutaneous leishmaniasis dynamics in Ecuador. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(157). <https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0141>
- NABC. (2001). *The North American Banders' study guide*. <http://www.osti.gov/scitech/biblio/6228974>
- Phillip, C., Wayne, B., & Shane, R. (2009). *Atlas of clinical avian hematology*.
- Pibaque, P., & Piedrahita, P. (2022). First Report of Blood Parasites in Black-capped Sparrow Arremon abeillei from Neotropical Dry Deciduous Forest. *Journal of Wildlife Diseases*. <https://doi.org/0.7589/JWD-D-21-00200>
- Praderes, G. (2016). Prevalencia de parásitos malaricos y otros haemosporidios en aves en la estación del planetario Simón Bolívar Maracaibo Estado Zulia. *Universidad Central de Venezuela*.
- Rivas, C. (2022). *Teledetección y sistemas de información geográficos aplicados al*

seguimiento de procesos de deforestación en bosques secos de Ecuador.
<https://helvia.uco.es/handle/10396/22340%0Ahttps://helvia.uco.es/bitstream/handle/10396/22340/2022000002374.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Roque, A. L. R., & Jansen, A. M. (2014). Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 3(3), 251–262. <https://doi.org/10.1016/J.IJPPAW.2014.08.004>
- Santiago Alarcon, D., & Carbó Ramirez, P. (2015). Parásitos sanguíneos de malaria y géneros relacionados (Orden: Haemosporida) en aves de México: recomendaciones metodológicas para campo y laboratorio. *Ornitología Neotropical*, 26, 59–77.
- Sehgal, R. N. M. (2015). Manifold habitat effects on the prevalence and diversity of avian blood parasites. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(3), 421–430. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.09.001>
- Silva, C., Medina, D., Viloria, N., Praderes, G., Arevalo, C., Amaya, W., González, J., & Romero, J. (2015). Prevalencia de *Microfilaria* en aves silvestres de Venezuela. *Revista de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, 56(2), 87–95.
- Silva, Carmen, Arévalo, C., Viloria, N., & Romero, J. (2016). *Prevalencia de hemoparásitos en aves silvestres, en zona oriental del estado Falcón, Venezuela 2013-2015.* Boletín de Malariología y Salud Ambiental. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-46482016000200007#:~:text=La prevalencia global de hemoparásitos,por tanto las diferencias interespecíficas
- Spotswood, E. N., Goodman, K. R., Carlisle, J., Cormier, R. L., Humple, D. L., Rousseau, J., Guers, S. L., & Barton, G. G. (2012). How safe is mist netting? Evaluating the risk of injury and mortality to birds. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(1), 29–38. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00123.x>
- Tellería, J. L., De La Hera, I., & Perez-Tris, J. (2013). Morphological variation as a tool for monitoring bird populations: a review. *Ardeola*, 60, 191–224.
- Toalombo, C., & Coque, M. (2021). Leishmaniasis en el Ecuador: revisión bibliográfica. *Mediciencias UTA*, 5(3), 12. <https://doi.org/10.31243/mdc.uta.v5i3.1190.2021>
- United Nations. (2016). *2030 Agenda for sustainable development.* 12–14. <https://doi.org/10.1201/b20466-7>
- Valkiūnas, G. (2005). *Avian malaria parasites and other haemosporidia* (Vol. 59). Institute of Ecology.

APÉNDICES

Apéndice A. Tabla con datos morfométricos de aves muestreadas en el Bosque Protector La Prosperina

N	Fecha	Sitio	Código	Peso [g]	Longitud tarso [cm]	Promedio	Longitud pico [cm]	Promedio	Profundidad pico [cm]	Promedio	Ancho pico [cm]	Promedio	Longitud ala [cm]
1	10/6/2022	POLIDUCTO	SPOCOR	10	1,2	1,33	0,3	0,36	0,4	0,4	0,1	0,13	5,2
					1,4		0,4		0,4		0,1		
					1,4		0,4		0,4		0,2		
2			ARRABE	20	1,8	1,9	1	0,93	0,4	0,43	0,2	0,26	7,2
					2,1		0,9		0,5		0,3		
					1,8		0,9		0,4		0,3		
3			RHOCRU	25	1,5	1,43	0,6	0,6	0,2	0,2	0,1	0,13	5,3
					1,4		0,6		0,2		0,1		
					1,4		0,6		0,2		0,2		
4			CAMOBS	20	1,1	1,06	0,3	0,3	0,05	0,056	0,08	0,8	5
					1		0,3		0,05		0,08		
					1,1		0,3		0,07		0,08		
5			SPISIE	12	0,9	0,96	0,4	0,46	0,3	0,33	0,2	0,16	5,8
					1		0,5		0,3		0,2		
					1		0,5		0,4		0,1		
6			RHOCRU 2	25	1	1,1	0,6	0,63	0,2	0,2	0,2	0,16	5,3
					1,2		0,6		0,2		0,1		
					1,1		0,7		0,2		0,2		
7			SPOCOR 2	25	1	1,03	0,6	0,56	0,5	0,46	0,3	0,3	4,9
					1		0,6		0,5		0,3		
					1,1		0,5		0,4		0,3		
8			SPOCOR 3	23	1,2	1,13	0,5	0,46	0,4	0,36	0,2	0,2	5,3
					1		0,5		0,4		0,2		

N	Fecha	Sitio	Código	Peso [g]	Longitud tarso [cm]	Promedio	Longitud pico [cm]	Promedio	Profundidad pico [cm]	Promedio	Ancho pico [cm]	Promedio	Longitud ala [cm]
	9		SPOCOR 4	25	1,2	1,16	0,4	0,43	0,3	0,43	0,2	0,23	5,1
					1,2		0,4		0,5		0,2		
					1,1		0,5		0,4		0,3		
					1,2		0,4		0,4		0,2		
10	17/6/2022	FCV	ARRABE 01	26	2,225	2,254	1,385	1,384	0,748	0,745	0,673	0,642	6,5
					2,233		1,332		0,726		0,628		
					2,304		1,437		0,762		0,626		
11			ARRABE 02	37	2,252	2,287	1,247	1,294	0,686	0,688	0,571	0,569	6,6
					2,331		1,346		0,682		0,563		
					2,279		1,289		0,698		0,575		
12			RHOCRU 01	12	1,838	1,778	1,167	1,166	0,54	0,522	0,435	0,434	5,5
					1,72		1,168		0,521		0,42		
					1,777		1,163		0,505		0,449		
13			SPOCOR 01	11	1,446	1,465	0,893	0,886	0,798	0,801	0,52	0,528	5,01
					1,499		0,857		0,807		0,561		
					1,451		0,91		0,797		0,505		
14			ARRABE 03	30	2,425	2,446	1,498	1,476	0,843	0,856	0,578	0,575	7
					2,477		1,473		0,86		0,572		
					2,437		1,459		0,865		0,577		
15			SPOCOR 02	10	1,656	1,640	0,949	0,928	0,725	0,748	0,546	0,533	5
					1,614		0,915		0,758		0,54		
					1,651		0,922		0,762		0,514		
16			VIROLI	14	1,81	1,822	1,287	1,257	0,426	0,437	0,452	0,451	6,3
					1,811		1,262		0,444		0,458		
					1,845		1,222		0,441		0,444		
17	24/6/2022	MIRADOR	LEPVER	138	3,29	3,276	1,65	1,654	0,52	0,499	0,475	0,443	-
					3,257		1,671		0,517		0,44		
					3,281		1,643		0,46		0,414		

N	Fecha	Sitio	Código	Peso [g]	Longitud tarso [cm]	Promedio	Longitud pico [cm]	Promedio	Profundidad pico [cm]	Promedio	Ancho pico [cm]	Promedio	Longitud ala [cm]
18			MYFRA	13	27,94	27,55	1,134	1,144	0,378	0,377	5,21	0,522	13,5
					27,12		1,146		0,38		5,06		
					27,6		1,153		0,375		5,39		
19			COLCRU	39	18,47	18,6	1,403	1,419	0,478	0,470	4,45	0,437	-
					18,79		1,44		0,454		4,27		
					18,54		1,414		0,479		4,39		