

**Diversidad de *Plasmodium* (Haemosporida)
en aves silvestres residentes y migratorias en
los valles interandinos de los ríos Cauca y
Magdalena**

María Camila Hernández Ospina

Universidad de Caldas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento Biología
Manizales, Colombia
2023

**Diversidad de *Plasmodium*
(Haemosporida) en aves silvestres
residentes y migratorias en los valles
interandinos de los ríos Cauca y
Magdalena**

María Camila Hernández Ospina

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Bióloga

Director

Gabriel Jaime Castaño Villa *Ph.D*

Codirectores

Fredy Arvey Rivera Páez *Ph.D*

Johnathan Alvarez Londoño *M.Sc. (c)*

Mauricio Bohada Murillo *M.Sc. (c)*

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Genética, Biodiversidad y Manejo de Ecosistemas (GEBIOME)

Universidad de Caldas

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento Biología

Manizales, Colombia

2023

*«Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a mis tutores por su
paciencia, dedicación y compromiso en este proceso.»*

*Dedico este trabajo a mis padres, quienes han sido mi motivación. Gracias
por creer en mí y por brindarme un apoyo incondicional.*

*A mis amigos, quienes han estado a mi lado en cada paso de esta travesía
académica, por compartir experiencias inolvidables y conocimientos, les
dedico este trabajo con todo mi cariño.»*

Agradecimientos

Agradezco a la Vicerrectoría de Investigaciones y Posgrados de la Universidad de Caldas que financió el proyecto "Hemoparásitos asociados a aves silvestres residentes y migratorias en los valles de los ríos Magdalena y Cauca (departamento de Caldas)" (código: 0311221) y en cuyo marco se desarrolló mi trabajo de grado. Agradezco a los integrantes del grupo de investigación GEBIOME y Ecosistemas Tropicales de la Universidad de Caldas, por su apoyo y colaboración en diversas fases de mi proyecto de investigación. Expreso también mi agradecimiento a los propietarios y administradores de las empresas que permitieron realizar muestreos en sus predios, entre ellos Jorge Luis Tobar (Granja Montelindo - Universidad de Caldas), Mauricio Salazar Velásquez (Granja Luker - Casa Luker), Darío Gómez Londoño (Finca Alcaparroza), Vicente (Finca El Edén), y a Jesús Armando Aguirre (corregimiento Berlín).

Resumen

Los hemosporidios del género *Plasmodium* son parásitos transmitidos por mosquitos de la familia Culicidae e infectan una amplia variedad de hospederos vertebrados, incluyendo aves. La malaria aviar causada por *Plasmodium* tiene efectos negativos en tejidos y órganos, además de alterar el ciclo de vida de las aves. En Colombia, se han registrado aves migratorias y residentes infectadas por *Plasmodium*, pero el conocimiento sobre estas asociaciones es limitado y fragmentado. En el departamento de Caldas, una región con alta diversidad de aves, se desconoce la diversidad de *Plasmodium* en aves silvestres. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar la diversidad y prevalencia de *Plasmodium* en aves migratorias neotropicales y residentes en los valles interandinos de los ríos Cauca y Magdalena. Se capturaron aves silvestres en seis localidades y se tomaron muestras de sangre. Se identificaron parásitos del género *Plasmodium* mediante análisis morfológicos y moleculares del gen mitocondrial citocromo *b* y se calculó la prevalencia de *Plasmodium* en las aves examinadas. Se examinaron 257 aves (108 especies), con una prevalencia de *Plasmodium* de 6,61% ($n = 17$). Resultaron positivas para *Plasmodium* 14 especies de aves silvestres residentes ($n = 10$) y migratorias neotropicales ($n = 7$; *Vireo olivaceus*, *Catharus minimus*, *Catharus ustulatus*, *Parkesia noveboracensis*, *Piranga rubra* y *Piranga olivacea*). Se encontraron 11 linajes de *Plasmodium*, incluyendo tres linajes nuevos. Este es el primer estudio de presencia de parásitos del género *Plasmodium* en aves silvestres residentes y migratorias en los valles interandinos del departamento de Caldas, Colombia.

Palabras clave: Aves migratorias, infección abortiva, linajes, malaria aviar y *Plasmodium*.

Abstract

Avian hemosporidia of the genus *Plasmodium* are parasites transmitted by mosquitoes of the family Culicidae and infect a wide variety of vertebrate hosts, including birds. Avian malaria caused by *Plasmodium* has negative effects on tissues and organs, in addition to altering the life cycle of birds. In Colombia, migratory and resident birds infected by *Plasmodium* have been recorded, but knowledge about these associations is limited and fragmented. In the department of Caldas, a region with high bird diversity, the diversity of *Plasmodium* in wild birds is unknown. Therefore, the objective of this study was to determine the diversity and prevalence of *Plasmodium* in neotropical migratory and resident birds in the inter-Andean valleys of the Cauca and Magdalena rivers. Wild birds were captured in six localities and blood samples were taken. Parasites of the genus *Plasmodium* were identified by morphological and molecular analysis of the mitochondrial cytochrome b gene and the prevalence of *Plasmodium* in the birds examined was calculated. A total of 257 birds (108 species) were examined, with a *Plasmodium* prevalence of 6.61% (n = 17). Fourteen species of wild resident (n = 10) and neotropical migratory (n = 7; *Vireo olivaceus*, *Catharus minimus*, *Catharus ustulatus*, *Parkesia noveboracensis*, *Piranga rubra* and *Piranga olivacea*) birds tested positive for *Plasmodium*. Eleven *Plasmodium* lineages were found, including three new lineages. This is the first study of the presence of parasites of the genus *Plasmodium* in wild resident and migratory birds in the inter-Andean valleys of the department of Caldas, Colombia.

Keywords: Migratory birds, abortive infection, lineages, avian malaria, and *Plasmodium*.

Tabla de contenido

1. Introducción	8
2. Materiales Y Métodos.....	9
2.1. Área De Estudio.....	9
2.2. Toma Y Procesamiento De Muestras	11
2.3. Análisis Morfológico	12
2.4. Análisis Moleculares.....	12
3. Resultados	13
4. Discusión.....	18
5. Conclusiones	21
6. Anexos	21
7. Referencias Bibliográficas	24

Lista de figuras

Tabla 1.	11
Tabla 2.	14

Lista de figuras

Figura 1.	10
Figura 2.	15
Figura 3.	17

1. Introducción

Los hemosporidios del género *Plasmodium* son un grupo de parásitos sanguíneos que infectan una amplia variedad de hospederos vertebrados como reptiles, anfibios, mamíferos y aves en todo el mundo (Lourenço-de-Oliveira y Deane, 1995; Ricklefs y Fallon, 2002; Valkiūnas, 2005; Lian et al., 2009; Lacorte et al., 2013; Ellis et al., 2020). Estos parásitos tienen ciclos de vida complejos con etapas de reproducción sexual en mosquitos hematófagos (Culicidae) y asexuales en sus hospederos vertebrados (Santiago-Alarcon et al., 2012). En las aves, la malaria aviar causada por *Plasmodium* puede presentar una alta patogenicidad, con efectos negativos en diferentes tejidos y órganos como bazo, hígado y cerebro (Atkinson y van Riper, 1991; Palinauskas et al., 2008; Palinauskas et al., 2015; Ilgūnas et al., 2016). Además, la malaria aviar puede alterar el éxito reproductivo, la supervivencia, la estructura de las comunidades de aves e incluso causar la muerte (Van Riper et al., 1986; Atkinson et al., 2000; Howe et al., 2011; Ilgūnas et al., 2016; Risely et al., 2018; Ellis et al., 2020). Sin embargo, el ciclo de desarrollo de *Plasmodium* puede verse interrumpido dentro de un hospedero aviar no competente, es decir no se generan las formas maduras del parásito (gametocitos) que son infecciosas para el vector (Valkiūnas y Lezhova, 2017). Este fenómeno se conoce como “infección abortiva” (Valkiūnas y Lezhova, 2017). No obstante, el parásito en un hospedero aviar no competente puede tener efectos negativos e incluso ser letal (Cannell et al., 2013; Valkiūnas y Lezhova, 2017).

Plasmodium presenta una gran diversidad a escala global y algunas de sus especies utilizan como hospedero a especies de aves de los órdenes Galliformes, Columbiformes y Passeriformes, entre otros (Valkiūnas, 2005). Particularmente, en Colombia se han registrados aves migratorias neotropicales y residentes infectadas por diferentes especies y linajes de *Plasmodium* (Mantilla et al., 2013; Alvarez-Londoño et al., 2022). Además, se ha sugerido que las aves migratorias pueden jugar un papel importante en la dispersión de estos parásitos a lo largo de sus rutas migratorias (Hellgren et al., 2007; DeBrock et al., 2021). No obstante, el conocimiento de las asociaciones entre parásitos del género *Plasmodium* y aves

silvestres residentes y migratorias en Colombia es escaso y fragmentado, con estudios desarrollados en algunas localidades del Caribe, Orinoquía y en regiones Alto Andinas (González et al., 2015; Gonzalez-Quevedo et al., 2016; Alvarez-Londoño et al., 2022). Lo anterior limita la comprensión del rol de las aves en la epidemiología de *Plasmodium* y de sus posibles efectos en las poblaciones de las aves silvestres.

En Colombia se han registrado 1966 especies de aves de las cuales 7,12% son migratorias neotropicales (Echeverry-Galvis et al., 2022). Al respecto, no menos de 85 especies migratorias neotropicales recorren los valles interandinos de los ríos Cauca y Magdalena del departamento de Caldas durante su migración de otoño y primavera (Corpocaldas y Asociación Calidris, 2010; Naranjo et al., 2012; Echeverry-Galvis et al., 2022). En este contexto, el departamento de Caldas es una región altamente diversa en aves, de la que se desconoce la diversidad de *Plasmodium* que infectan a las aves silvestres. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue determinar la diversidad y prevalencia de *Plasmodium* en aves silvestres residentes y migratorias en los valles interandinos de los ríos Cauca y Magdalena. Con el ánimo de ampliar el conocimiento del rol de aves silvestres en la dispersión de parásitos del género *Plasmodium*.

2. Materiales y Métodos

2.1. Área de Estudio

Las muestras de sangre de aves silvestres fueron colectadas en seis localidades del departamento de Caldas, Colombia. Las localidades están ubicadas sobre los valles interandinos del río Cauca (Municipio de Palestina) y Magdalena (Municipio de La Dorada, Samaná y Victoria) (Figura 1). Las seis localidades se encuentran en un rango de elevación de 126 y 1050 m.s.n.m. En el departamento de Caldas se presentan dos periodos lluviosos (marzo - junio y septiembre - diciembre) y dos periodos menos lluviosos (enero - febrero y julio - agosto) (Jaramillo, 2006). En particular, en las seis localidades de estudio las

precipitaciones anuales promedio se encuentran entre 2000 y 4000 mm, con temperaturas que oscilan entre 20 y 27°C (Martínez-Sánchez et al., 2018). Los muestreos realizados en las cuatro localidades del valle interandino del río Magdalena corresponden a dos localidades que están destinadas a usos agrícolas, incluyendo ganadería y cultivos, mientras que las otras dos son bosques secundarios. Por otro lado, las dos localidades muestreadas en el valle interandino del río Cauca son fincas dedicadas a la producción agrícola de cítricos y cacao (Tabla 1).

Figura 1. Área de estudio. (A) Departamento de Caldas, Colombia. Localidades muestreadas en los municipios de Palestina, Samaná, Victoria y La Dorada. (1) Granja Luker, (2) Granja Montelindo, (3) Berlín, (4) Finca El Edén, (5) Finca Alcaparroza, (6) Charca de Guarinocito. (B) Colombia.

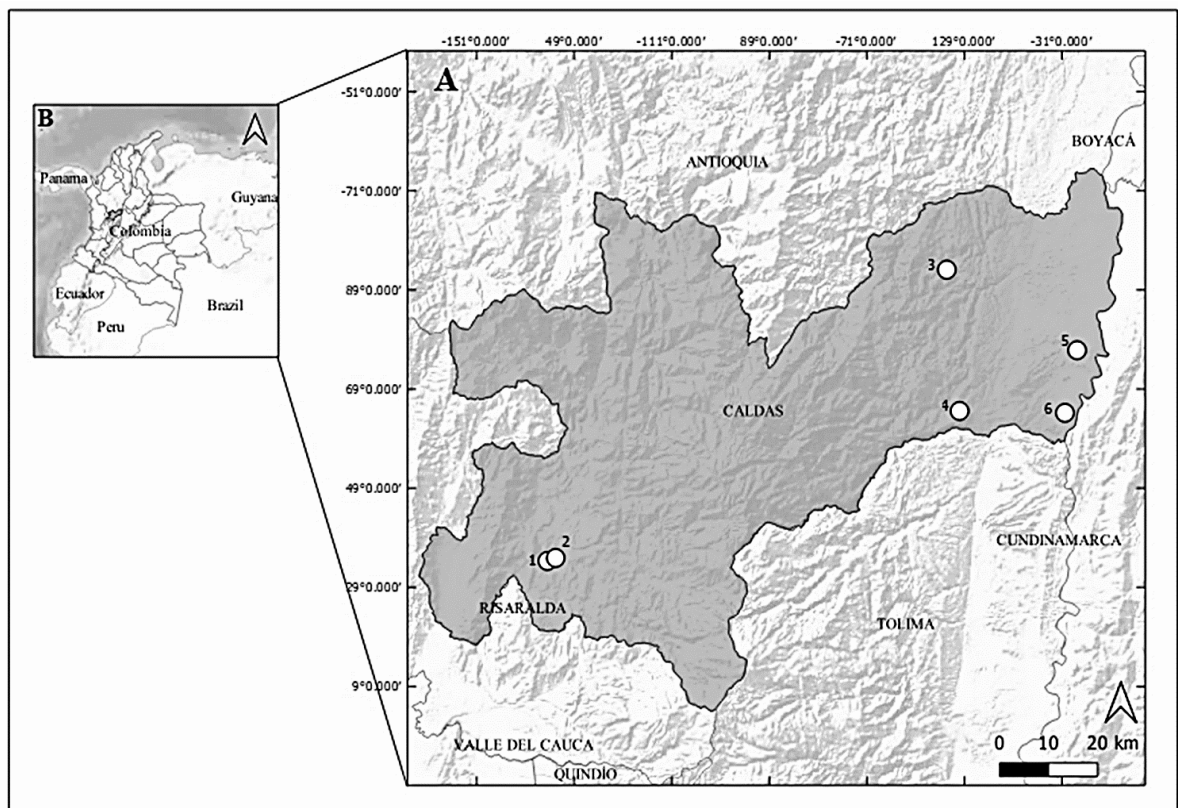


Tabla 1. Descripción de las localidades muestreadas en el departamento de Caldas. Ubicaciones geográficas, datos climáticos relevantes y descripciones de los hábitats predominantes.

Localidad/Municipio	Localización geográfica (Latitud/Longitud/Altitud)	Precipitación (mm)/ Temperatura (°C)	Descripción del Hábitat
L1: Granja Luker/Palestina	5.0735/-75.682/1050	2000/20	Agrícola (cultivo de cacao)
L2: Granja Montelindo/Palestina	5.0753/-75.6730/1010	2000/20	Agrícola (cítricos)
L3: Berlín/Samaná	5.6005/-74.9473/791	4000/25	Natural (Bosque secundario)
L4: Finca El Edén/Victoria	5.3348/-74.9137/1000	3000/26	Agrícola (cultivo de cacao y aguacate)
L5: Finca Alcaparroza/La Dorada	5.5756/-74.6683/126	1433/27	Agrícola (ganadería)
L6: Charca de Guarinocito/La Dorada	5.3353/-74.7232/208	1433/27	Natural (Bosque secundario)

2.2. Toma y procesamiento de muestras

Para la captura de aves silvestres se extendieron seis redes de niebla (12 x 2.5 m x 36 mm) en cada localidad durante cinco días consecutivos, con una intensidad de muestreo total de 1980 horas/red. Las redes fueron operadas entre las 06:00 y las 17:00 horas. Las aves capturadas fueron marcadas con un pequeño corte en la primera rectriz para evitar recuentos (Martínez-Sánchez et al., 2018). Para identificar las aves capturadas se utilizaron las guías de campo de Hilty y Brown (1986) y Ayerbe-Quiñones (2018). La taxonomía de las aves siguió la nomenclatura de Remsen et al. (2023). A cada individuo capturado se le colectó una muestra de sangre (aproximadamente 20 a 50 μ l) por punción de la vena braquial utilizando agujas de calibre 25G y 27G (Busi et al., 2020). Para obtener la muestra de sangre de colibríes se realizó un pequeño corte de la uña del dedo tres (Fair et al., 2010). Con las muestras de sangre se realizaron extendidos sanguíneos (al menos dos por individuo) que fueron fijados en metanol absoluto por cinco minutos y teñidos con solución GIEMSA al 4%, pH 7,2 durante 45 min (Alvarez-Londoño et al., 2022). Adicionalmente, la sangre restante se depositó en tarjetas FTA (*Flinders Technology Associates*) para posteriores análisis moleculares.

Esta investigación se desarrolló bajo el permiso macro de la Universidad de Caldas otorgado por la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales de Colombia (ANLA) según la resolución N° 00519 del 03 de marzo de 2022 y aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la Universidad de Caldas en Julio 28 de 2021.

2.3. Análisis morfológico

Para identificar morfológicamente las especies de *Plasmodium*, se analizaron extendidos de sangre por medio de microscopía de luz en el microscopio óptico Olympus BX43 bajo los objetivos de 40x y 100x, entre 100 a 150 campos fueron visualizados por cada objetivo (Valkiūnas, 2005). Los parásitos encontrados se identificaron utilizando guías taxonómicas especializadas (Valkiūnas, 2005; Valkiūnas y Lezhova, 2018). Las imágenes de los parásitos fueron tomadas con una cámara digital Olympus DP28 y editadas con el software Olympus CellSens Standard v3.22.11.

2.4. Análisis moleculares

La extracción de ADN de las muestras de sangre almacenadas en tarjetas de FTA se realizó con el *kit Wizard Genomic DNA Purification* (Promega Corporation, Madison, USA) de acuerdo a las instrucciones sugeridas por el fabricante. Para detectar el ADN de *Plasmodium* se realizaron pruebas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) anidada de un fragmento del gen citocromo *b* (*cyt b*). En la PCR inicial se usaron los primers AE064/AE066 que amplifican un fragmento de 1109 pb, para los tres géneros de hemosporidios (*Plasmodium*, *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*) (Pacheco et al., 2018). Para la segunda PCR se usó un microlitro de la PCR inicial, utilizando los primers HaemF/HaemR2 que amplifican un fragmento del 525 pb para *Plasmodium* y *Haemoproteus* (Hellgren et al., 2004). Para determinar únicamente el ADN de *Plasmodium* se realizó una PCR anidada utilizando el amplicón de la PCR inicial y los primers AE983/AE985 que amplifican un fragmento de 580 pb. Todas las PCR fueron acompañadas de controles negativos (H₂O) y positivos. Para visualizar los productos de PCR se realizó electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1% con tampón TBE 1X, coloreados con SYBR SAFE (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) y visualizados en fotodocumentador UV. Las muestras positivas se enviaron a Macrogen (Seoul, South Korea) para su purificación y secuenciación Sanger. Las secuencias

obtenidas fueron editadas en el programa Geneious Prime (2023.0.4. <https://www.geneious.com/>) y alineadas en el software MEGA11 (Tamura et al., 2021). Para la identificación de linajes genéticos de *Plasmodium* nuestras secuencias fueron comparadas con secuencias depositadas en las bases de datos públicas MalAvi (Bensch et al., 2009) y GenBank. Las secuencias que no coincidieron 100% con las secuencias de MalAvi se consideraron nuevos linajes y se nombraron bajo la nomenclatura recomendada en esta base de datos (Bensch et al., 2009). Todas las secuencias obtenidas fueron depositadas en MalAvi y GenBank.

Se realizó la reconstrucción filogenética de *Plasmodium* por el método de máxima verosimilitud en el software MEGA11 (Tamura et al., 2021). Se seleccionó el modelo *General Time Reversible* (GTR+G) de acuerdo al criterio de información de Akaike corregido sugerido por MEGA11 (Tamura et al., 2021). Los alineamientos incluyeron nuestras secuencias y secuencias tomadas de la base de datos MalAvi que estuvieran asociadas a una morfoespecie y se utilizó una secuencia de *Leucocytozoon buteonis* como grupo externo. Para la construcción del árbol consenso se emplearon 500 árboles y se visualizó en el software MEGA11. (Tamura et al., 2021). Finalmente, para establecer el porcentaje de prevalencia por *Plasmodium* en aves se realizó la siguiente ecuación [(número de individuos infectados/número de individuos examinados) * 100] (Bush et al., 1997).

3. Resultados

Se examinaron un total de 257 aves (27 familias y 108 especies) de las cuales 204 eran residentes, 52 migratorias neotropicales y una especie introducida (*Lonchura malacca*) (Anexo 1). Las familias con mayor número de individuos examinados fueron Thraupidae ($n = 59$), seguida por Tyrannidae ($n = 39$). El 68,5% de las aves examinadas fueron capturadas en áreas agrícolas, mientras que el 31,5% fueron capturadas en bosques secundarios. Las familias con mayor número de especies examinadas fueron Tyrannidae ($S = 23$) y Thraupidae

($S = 19$). Se examinaron 13 especies de aves migratorias neotropicales de las familias Tyrannidae (*Empidonax virescens* y *Empidonax traillii*), Vireonidae (*Vireo olivaceus*), Turdidae (*Catharus minimus* y *Catharus ustulatus*), Parulidae (*Parkesia noveboracensis*, *Leiothlypis peregrina*, *Geothlypis philadelphia*, *Setophaga castanea*, *Setophaga ruticilla* y *Setophaga petechia*) y Cardinalidae (*Piranga rubra* y *Piranga olivacea*).

Se identificaron parásitos del género *Plasmodium* en 14 especies del orden Passeriformes, pertenecientes a las familias Thamnophilidae, Formicariidae, Troglodytidae, Turdidae, Tyrannidae, Parulidae, Cardinalidae y Thraupidae (Tabla 2). El 58,8% de las especies parasitadas fueron residentes y el 41.2% restante eran migratorias neotropicales (i.e., *V. olivaceus*, *C. minimus*, *C. ustulatus*, *P. noveboracensis*, *P. rubra* y *P. olivacea*). El 71% de las aves migratorias neotropicales infectadas por *Plasmodium* fueron capturadas durante la migración otoño, es decir, entre octubre y noviembre de 2021. Se identificó morfológicamente la infección de *Plasmodium unalis* en *Turdus leucomelas* en el Valle del Magdalena (Figura 2). Así mismo, se registró la infección de *Plasmodium matutinum* en *C. minimus*, y de *Plasmodium* spp. en *Epinecrophylla fulviventris*, *Formicarius analis*, *V. olivaceus*, *Troglodytes aedon*, *C. ustulatus*, *P. rubra*, *Habia gutturalis*, *Coereba flaveola* y *Thraupis episcopus*. Sin embargo, en cinco aves (29%) pertenecientes a cuatro especies (*C. ustulatus*, *P. noveboracensis*, *H. gutturalis* y *Eucometis penicillata*) no se encontraron formas parasitarias en los extendidos sanguíneos siendo consideradas infecciones abortivas.

Tabla 2. Hospederos aviares positivos para *Plasmodium* spp. en los valles interandinos de los ríos Cauca y Magdalena del departamento de Caldas por diagnóstico de PCR. En negrilla los linajes obtenidos en el estudio. Las localidades corresponden a los números presentados en la Figura 1. y Tabla 1.

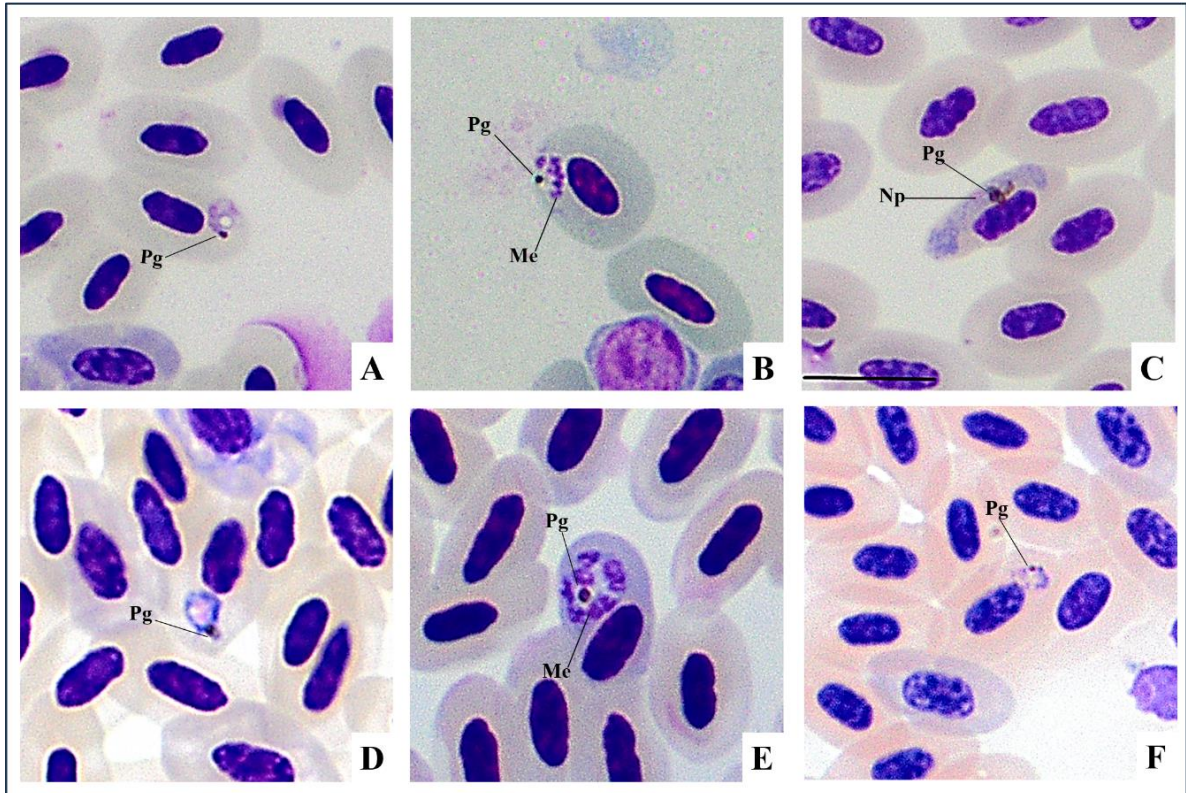
Localidad	Familia	Host species	No. infected birds/No. examined birds (% prevalence)	Parasite species and lineages from MalAvi (% similarity)	[[GenBank Accession] % similarity
L3	Thamnophilidae	<i>Epinecrophylla fulviventris</i>	1/4 (25)	<i>Plasmodium</i> sp. THASCH02 (100%)	[KC680702.1] 99.6%
L3	Formicariidae	<i>Formicarius analis</i>	1/1 (100)		[MN459094.1] 98.6%

L1	Vireonidae	<i>Vireo olivaceus</i> [^]	1/1 (100)	<i>Plasmodium</i> sp. VIOLI03 (100%)	[KY653769.1] 100%
L1	Troglodytidae	<i>Troglodytes aedon</i>	1/3 (33.3)	<i>Plasmodium</i> sp. SETAUD23 (100%)	[JX855282.1] 100%
L5	Turdidae	<i>Catharus minimus</i> [^]	1/4 (25)	<i>Plasmodium</i> <i>matutinum</i> LINNI (100%)	[MK652234.1] 99.5%
L5		<i>Catharus ustulatus</i> [^]	2/22 (9.09)	<i>Plasmodium</i> sp. BT7 (100%)	[MN114076.1] 100%
L1				IA	
L5		<i>Turdus leucomelas</i>	1/1 (100)	<i>Plasmodium unalis</i> TULEU09 *	
L1	Parulidae	<i>Parkesia noveboracensis</i> [^]	1/4 (25)	<i>Plasmodium</i> sp. PARNOV03 *	
L4	Cardinalidae	<i>Piranga rubra</i> [^]	1/1 (100)	<i>Plasmodium</i> sp. ZOCAP10 (100%)	[KJ910309.1] 98.4%
L4		<i>Piranga olivacea</i> [^]	1/1 (100)	<i>Plasmodium</i> sp. PIOLI05 *	
L3		<i>Habia gutturalis</i>	3/5 (60)	<i>Plasmodium</i> sp. EMBHER01 (100%)	[DQ659550.1] 100%
				<i>Plasmodium</i> sp. EMBHER01 (100%)	[DQ659550.1] 100%
				IA	
				<i>Plasmodium</i> sp. EMBHER01 (100%)	[DQ659550.1] 100%
				IA	
L3	Thraupidae	<i>Eucometis penicillata</i>	1/3 (33.3)	IA	
L1		<i>Coereba flaveola</i>	1/3 (33.3)	<i>Plasmodium</i> sp. PADOM09 (100%)	[MF953287.1] 100%
L2		<i>Thraupis episcopus</i>	1/4 (25)	<i>Plasmodium</i> sp. PADOM09 (100%)	[JN819349.1] 100%

* Linajes nuevos de *Plasmodium* reportados en este estudio. ^ Aves migratorias neotropicales.

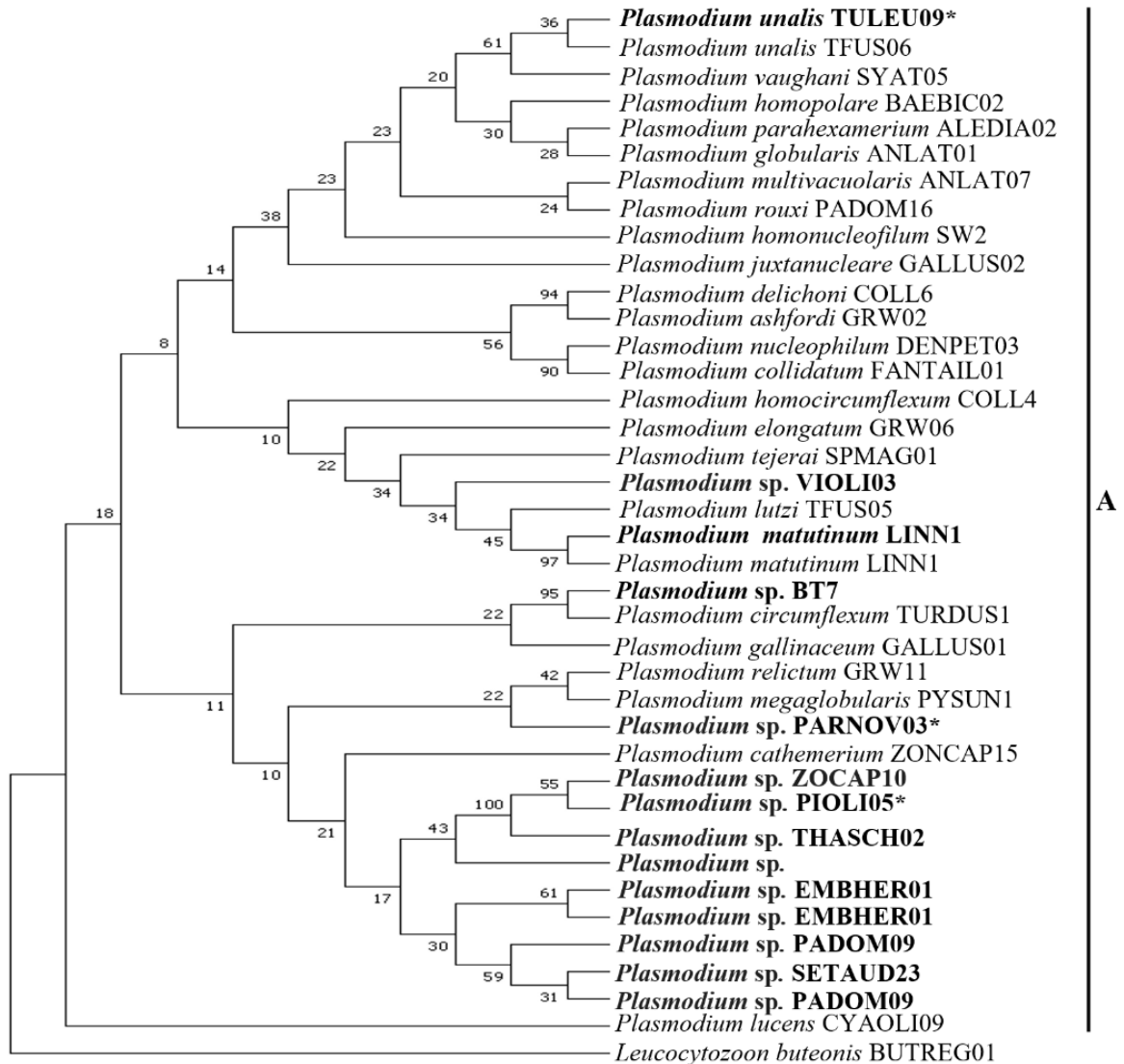
IA: muestras positivas con infección abortiva.

Figura 2. Parásitos del género *Plasmodium* encontrados en el estudio. (A-C) trofozoíto, meronte y macrogametocito de *P. unalis* en *T. leucomelas* (D) trofozoíto de *Plasmodium* sp. en *V. olivaceus*. (E) meronte de *Plasmodium* sp. en *P. rubra*. (F) trofozoíto de *P. matutinum* en *C. minimus*. Me: Merozoito Pg: Gránulo de pigmento. Np: Núcleo del parásito. Barra de escala = 25 µm.



Se identificaron un total de 11 linajes de *Plasmodium*. Solo uno de los linajes (LINN1) se estableció a nivel de especie por similitud de identidad con los linajes de MalAvi. Se determinaron ocho linajes de los que hay reporte previo en la base de datos de MalAvi (Tabla 2). No obstante, tres linajes se reportan como nuevos. Uno de los linajes nuevos (TULEU09) se encontró en un ave residente (*T. leucomelas*), y los otros dos linajes (PARNOV03 y PIOLI05) en aves migratorias neotropicales (*P. noveboracensis*, *P. olivacea*) (Tabla 2). Adicionalmente, la reconstrucción filogenética reveló un alto grado de parentesco entre el linaje LINN1 y el linaje asociado a la morfoespecie *P. matutinum*, respaldado por un valor de bootstrap del 97%. Este valor de bootstrap indica una alta confianza estadística en la agrupación de estos linajes en un clado único (Figura 3). Para finalizar, la prevalencia general *Plasmodium* fue de 6,61% (17/257), mientras que la prevalencia para los Valles del Magdalena y el Cauca fueron del 4,28% (11/257) y 2,33% (6/257) respectivamente.

Figura 3. Análisis de Máxima Verosimilitud de las secuencias parciales del gen citocromo *b* para los linajes de *Plasmodium* spp. En negrilla, las secuencias obtenidas en el estudio. (A) indica el clado del género *Plasmodium*. Los valores de bootstrap se muestran en las ramas y representan el soporte del nodo interno, indicando la robustez de la agrupación. *Leucocytozoon buteonis* BUTREG01 fue usado como grupo externo.



4. Discusión

Este es el primer estudio de presencia de parásitos del género *Plasmodium* en el departamento de Caldas, Colombia. Se describe la presencia de *Plasmodium* en aves silvestres residentes y migratorias neotropicales en el departamento. En esta investigación se identificaron dos especies y once linajes de *Plasmodium* asociados a aves residentes y migratorias neotropicales en los valles interandinos del departamento de Caldas. La prevalencia general de *Plasmodium* en aves silvestres registrada en este estudio se asemeja a la prevalencia de *Plasmodium* reportada (4,29%) en un estudio realizado en tierras bajas tropicales en el departamento de Arauca, Colombia (Alvarez-Londoño et al., 2022). Nuestros resultados son consistentes con la hipótesis planteada por Clark et al. (2014), indicando que en Sudamérica existe una mayor diversidad de linajes de *Plasmodium*. Lo anterior puede ser atribuido a las características intrínsecas del parásito y de la variedad de hospedadores y hábitats en la región (Lacorte et al., 2013; Fecchio et al., 2017).

Se registro por primera vez *P. unalis* en *T. leucomelas* en Colombia (Valle del Magdalena, 126 m.s.n.m.), este parásito ha sido previamente registrado infectando aves de la familia Turdidae (*Turdus fuscater*) en Colombia (a 2560 m.s.n.m.) y a otras cuatro especies del género *Turdus* en el bosque Atlántico de Brasil (*Turdus rufiventris*, *T. leucomelas*, *Turdus albicollis* y *Turdus flavipes*) (Mantilla et al., 2013; Tostes et al., 2018). Adicionalmente, *P. unalis* fue registrado en pingüinos (*Spheniscus magellanicus*) en un centro de rehabilitación de fauna silvestre en Brasil (Vanstreels et al., 2015). Al respecto, se ha sugerido que dentro de esta especie de parásito se presenta un alto grado de polimorfismo intraespecífico y una amplia diversidad de especies hospederas (Mantilla et al., 2013; Vanstreels et al., 2015; Tostes et al., 2018). El registro de *P. unalis* en el valle del río Magdalena permite ampliar el rango de distribución de este parásito en Sudamérica, que previamente estaba reportado en los Andes Orientales de Colombia y en el Bosque Atlántico y costas de Brasil (Mantilla et al., 2013; Vanstreels et al., 2015; Tostes et al., 2018).

Por otra parte, se realizó el primer registro de *P. matutinum* LINN1 en un ave migratoria neotropical (*C. minimus*) en Sudamérica. Esta morfoespecie de *Plasmodium* ha sido previamente registrada en diversas especies de los órdenes Gruiformes, Charadriiformes Strigiformes, Passeriformes, entre otros, en Norteamérica, Europa, Asia y Australia (Bensch et al., 2009). En particular *P. matutinum* ha sido registrado en aves en los estados de Michigan y New York (costa Este de Estados Unidos) (Bensch et al., 2009). Estas localidades hacen parte de las rutas de migración de *C. minimus* desde sus cuarteles de cría localizados en Asia (Noreste de Siberia) y en Norteamérica (desde Alaska hasta la costa Este) (Udvardy y Farrand, 1994). Por lo tanto, *C. minimus* podría actuar como un dispersor de *P. matutinum* desde Eurasia y Norteamérica hasta Sudamérica. Así mismo, se registró el linaje de *Plasmodium* sp. BT7 en *C. ustulatus* (Turdidae), una especie de ave migratoria neotropical. Este linaje tiene reportes en los órdenes Charadriiformes, Falconiformes, Passeriformes, entre otros en América, Europa y Asia (Bensch et al., 2009). Sin embargo, este linaje en Colombia únicamente se ha registrado en *C. minimus* (ave migratoria neotropical) (Pulgarín-R. et al., 2019). En particular, el linaje BT7 ha sido reportado en *C. ustulatus* en su área de reproducción en Alaska (Loiseau et al., 2012a; Galen et al., 2018; Udvardy y Farrand, 1994). Lo anterior, sugiere que las aves migratorias neotropicales pueden jugar un rol clave en la dispersión de parásitos del género *Plasmodium* entre regiones templadas y tropicales de América (Hellgren et al., 2007; Fecchio et al., 2017). Adicionalmente, se registró por primera vez en Sudamérica el linaje de *Plasmodium* sp. SETAUD23 en *T. aedon* (Troglodytidae). Este linaje había sido previamente registrado en Norteamérica (Nuevo México) en *Setophaga coronata* (ave migratoria neotropical que tiene por cuarteles de invierno la costa Caribe de Colombia) (Ayerbe-Quiñones, 2022). Por lo tanto, se presenta una ampliación en el rango de distribución de este linaje a través de la región Neotropical.

Nuevos linajes de *Plasmodium* se reportan en aves silvestres migratorias neotropicales y residentes. El linaje TULEU09 registrado en *T. leucomelas* (residente) parece estar estrechamente relacionado con el linaje TFUS06 (Figura 3) que ha sido previamente registrado en *T. fuscater* en Colombia (Mantilla et al., 2013). Así mismo, el Linaje PARNOV03 presente en *P. noveboracensis* (migratoria neotropical), parece estar asociado con otros linajes de *Plasmodium* sp. (GRW11 y PYSUN1) previamente registrados en no

menos de 30 especies de Passeriformes en Europa, Asia o África (Bensch et al., 2009). Por otra parte, el linaje de *Plasmodium* sp. (PIOLI05) registrado en *P. olivacea* (migratoria neotropical) parece estar asociado al linaje de *Plasmodium* sp. ZOCAP10 (Figura 3). Este último linaje, fue registrado previamente en *Zonotrichia capensis* en Perú (Jones et al., 2013).

Otros linajes de *Plasmodium* sp. encontrados en aves residentes y migratorias han sido previamente reportados en Sudamérica, pero es la primera vez que se evidencian en Colombia. El linaje THASCH02 en *E. fulviventris* fue reportado en un ave residente (*Thamnophilus schistaceus*) en Perú (Fecchio et al., 2017), sugiriendo una ampliación en el rango de distribución para este linaje. Así mismo, el linaje de EMBHER01 encontrado en tres aves de la especie *H. gutturalis* (Cardinalidae) únicamente tenía registros en Guyana en dos especies de Passeriformes (*Leistes militaris* y *Emberizoides herbicola*) (Beadell et al., 2006; Durrant et al., 2006). Además, el linaje PADOM09 fue registrado por primera vez en la familia Thraupidae (*C. flaveola* y *T. episcopus*), este linaje ha sido registrado en varios ordenes de aves en América, con una amplia variedad de especies hospederas (Bensch et al., 2009). Adicionalmente, en *V. olivaceus* (migratoria neotropical) se halló el linaje VIOLI03, este linaje tiene registros en esta especie de ave y otras especies de la familia Vireonidae, además de otras familias como Trochilidae (Bensch et al., 2009). Así mismo, el linaje ZOCAP10 fue registrado por primera vez en Colombia en un ave migratoria neotropical de la familia Cardinalidae (*P. rubra*). Este linaje había sido previamente registrado en Perú (Jones et al., 2013). Por otra parte, las infecciones abortivas encontradas en cinco aves de las especies *P. noveboracensis*, *H. gutturalis*, *C. ustulatus* y *E. penicillata*, podría significar que se trata de hospederos no competentes, al no encontrarse formas infectivas “gametocitos” en los extendidos sanguíneos (Valkiūnas y Lezhova, 2017). Este resultado deja en evidencia la presencia de infecciones abortivas en aves silvestres residentes y migratorias neotropicales.

5. Conclusiones

Este estudio contribuye al conocimiento de linajes y especies de *Plasmodium* presentes en aves que habitan los valles interandinos de las cuencas de los ríos Cauca y Magdalena en el departamento de Caldas, Colombia. La presencia en el área de estudio de linajes de *Plasmodium* sp. reportados previamente en Norteamérica en aves migratorias neotropicales o de linajes únicamente registrados en Sudamérica y ahora presentes en aves migratorias neotropicales, sugiere el rol de estas aves en la circulación de estos linajes a través de todo el continente americano. Esto nos permitió establecer la posible ampliación de la distribución de varios linajes de *Plasmodium* en América. No obstante, es necesario continuar investigando en especies residentes la infección por linajes que circulan en aves migratorias. Finalmente, la amplia variedad de hemoparásitos del género *Plasmodium* que infestan aves silvestres podrían llegar a tener efectos negativos en sus poblaciones en Colombia. Por lo tanto, para la conservación de las aves es necesario continuar desarrollando investigaciones que permitan establecer de manera pronta los posibles efectos de la malaria aviar en las poblaciones de aves.

6. Anexos

Tabla suplementaria 1. Especies de aves examinadas en las seis localidades del departamento de Caldas. Las localidades corresponden a la Figura 1. y Tabla 1.

Order	Family	Bird species	Locality					
			1	2	3	4	5	6
Columbiformes	Columbidae	<i>Leptotila verreauxi</i>					x	x
		<i>Columbina passerina</i>				x		
		<i>Columbina talpacoti</i>		x				
Apodiformes	Trochilidae	<i>Glaucis hirsutus</i>					x	
		<i>Threnetes ruckeri</i>					x	

		<i>Phaethornis striigularis</i>				X		
		<i>Phaethornis anthophilus</i>				X		
		<i>Phaethornis guy</i>				X		
		<i>Chlorostilbon gibsoni</i>						X
		<i>Chalybura buffonii</i>				X	X	
		<i>Amazilia tzacatl</i>					X	
		<i>Polyerata amabilis</i>					X	
Charadriiformes	Charadriidae	<i>Vanellus chilensis</i>		X				
Coraciformes	Momotidae	<i>Hylomanes momotula</i>				X		
		<i>Momotus subrufescens</i>						X
	Alcedinidae	<i>Chloroceryle aenea</i>					X	X
Galbuliformes	Bucconidae	<i>Notharchus tectus</i>					X	
		<i>Hypnelus ruficollis</i>						X
Piciformes	Ramphastidae	<i>Pteroglossus torquatus</i>					X	
	Picidae	<i>Melanerpes rubricapillus</i>					X	
		<i>Colaptes punctigula</i>		X				
Psittaciformes	Psittacidae	<i>Forpus conspicillatus</i>		X			X	
Passeriformes	Thamnophilidae	<i>Epinecrophylia fulviventris</i>				X		
		<i>Cercomacra nigricans</i>		X				
		<i>Sipia palliata</i>				X		
		<i>Hafferia immaculata</i>				X		
		<i>Gymnopathys bicolor</i>				X		
	Formicariidae	<i>Formicarius analis</i>				X		
	Furnariidae	<i>Dendrocincla fuliginosa</i>		X		X		X
		<i>Glyphorhynchus spirurus</i>				X		
		<i>Xiphorhynchus triangularis</i>						X
		<i>Lepidocolaptes souleyetii</i>		X				
		<i>Furnarius leucopus</i>					X	X
		<i>Certhiaxis cinnamomeus</i>						X
		<i>Synallaxis albescens</i>					X	
	Pipridae	<i>Lepidothrix coronata</i>				X		
		<i>Manacus manacus</i>				X		X
		<i>Machaeropterus striolatus</i>				X		
		<i>Ceratopipra erythrocephala</i>					X	
	Tityridae	<i>Pachyramphus cinnamomeus</i>				X		
	Tyrannidae	<i>Mionectes oleagineus</i>		X	X	X		X
		<i>Leptopogon amaurocephalus</i>				X		
		<i>Tolmomyias sulphurescens</i>		X				
		<i>Oncostoma olivaceum</i>				X		
		<i>Poecilotriccus sylvia</i>		X				
		<i>Todirostrum cinereum</i>		X			X	
		<i>Zimmerius chrysops</i>			X			
		<i>Camptostoma obsoletum</i>					X	
		<i>Elaenia flavogaster</i>					X	
		<i>Elaenia chiriquensis</i>					X	
		<i>Tyrannulus elatus</i>					X	
		<i>Phyllomyias griseiceps</i>					X	
		<i>Legatus leucophaeus</i>					X	
		<i>Pitangus sulphuratus</i>		X				

	<i>Phaeomyias murina</i>	X					
	<i>Myiodynastes maculatus</i>		X				
	<i>Myiozetetes cayanensis</i>				X	X	X
	<i>Myiozetetes similis</i>					X	
	<i>Tyrannus melancholicus</i>		X				
	<i>Myiarchus panamensis</i>				X		
	<i>Empidonax virescens*</i>				X		
	<i>Empidonax traillii*</i>	X					
	<i>Contopus cinereus</i>		X				
Vireonidae	<i>Vireo leucophrys</i>	X					
	<i>Vireo olivaceus*</i>	X					
Hirundinidae	<i>Stelgidopteryx ruficollis</i>	X	X				
Troglodytidae	<i>Microcerculus marginatus</i>				X		
	<i>Troglodytes aedon</i>		X		X		
Turdidae	<i>Catharus minimus*</i>				X		X X
	<i>Catharus ustulatus*</i>	X			X	X	X X
	<i>Turdus leucomelas</i>						X
	<i>Turdus grayi</i>		X				
	<i>Turdus ignobilis</i>				X		
Estrildidae	<i>Lonchura malacca</i>		X				
Fringillidae	<i>Euphonia laniirostris</i>	X					
Passerellidae	<i>Arremon aurantirostris</i>				X		
Icteridae	<i>Icterus nigrogularis</i>		X				
Parulidae	<i>Parkesia noveboracensis*</i>	X					X X
	<i>Leiothlypis peregrina*</i>					X	
	<i>Geothlypis philadelphia*</i>	X					
	<i>Setophaga castanea*</i>					X	X
	<i>Setophaga ruticilla*</i>	X					
	<i>Setophaga petechia*</i>	X	X				
	<i>Basileuterus rufifrons</i>					X	
Mitrospingidae	<i>Mitrospingus cassinii</i>				X		
Cardinalidae	<i>Piranga rubra*</i>					X	
	<i>Piranga olivacea*</i>					X	
	<i>Habia gutturalis</i>				X		
	<i>Cyanoloxia brissonii</i>	X					
Thraupidae	<i>Sicalis flaveola</i>		X			X	
	<i>Volatinia jacarina</i>	X	X			X	
	<i>Eucometis penicillata</i>				X		X
	<i>Ramphocelus dimidiatus</i>						
	<i>Dacnis lineata</i>					X	
	<i>Dacnis cayana</i>					X	
	<i>Sporophila minuta</i>					X	
	<i>Sporophila crassirostris</i>	X					
	<i>Sporophila intermedia</i>	X				X	
	<i>Sporophila nigricollis</i>	X	X			X	
	<i>Sporophila schistacea</i>				X	X	
	<i>Saltator maximus</i>				X		
	<i>Saltator striatipectus</i>	X					
	<i>Coereba flaveola</i>	X			X	X	

<i>Stilpnia vitriolina</i>		x
<i>Stilpnia cyanicollis</i>		x
<i>Tangara inornata</i>		x
<i>Thraupis episcopus</i>	x	
<i>Thraupis palmarum</i>		x

^Aves migratorias neotropicales.

7. Referencias bibliográficas

Alvarez-Londoño, J., Cardona-Romero, M., Martínez-Sánchez, E. T., Ossa-López, P. A., Pérez-Cárdenas, J. E., Gonzalez, A. D., ... & Castaño-Villa, G. J. (2022). Avian haemosporidian (Haemosporida: *Plasmodium* and *Haemoproteus*) in the department of Arauca, Colombian Orinoquia region. *Parasitology Research*, 121(6), 1775-1787.

Atkinson, C.T., Van Riper, C.I. (1991). Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. In: Loye J.E, Zuk M. (Eds.), Bird–parasite interactions. Ecology, evolution and behavior. Oxford University Press, New York, pp. 19- 48.

Atkinson, C. T., Dusek, R. J., Woods, K. L., & Iko, W. M. (2000). Pathogenicity of avian malaria in experimentally-infected Hawaii Amakihi. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(2), 197–201. doi:10.7589/0090-3558-36.2.197

Ayerbe-Quiñonez, F. (2018). Guía ilustrada de la Avifauna colombiana. Wildlife Conservation Society – Colombia, Bogotá, Colombia. 212 pp.

Ayerbe-Quiñones, F. (2022). Guía Ilustrada de la Avifauna Colombiana. Tercera Edición. Wildlife Conservation Society – Colombia. Editorial PuntoAparte, Bogotá, D. C., Colombia. 472 pp.

Beadell, J. S., Ishtiaq, F., Covas, R., Melo, M., Warren, B. H., Atkinson, C. T., ... Fleischer, R. C. (2006). Global phylogeographic limits of Hawaii’s avian malaria. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1604), 2935–2944. doi:10.1098/rspb.2006.3671

Bensch, S., Hellgren, O., & 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), 1353-1358.

Bush, A. O., Lafferty, K. D., Lotz, J. M., & Shostak, A. W. (1997). Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis et al. Revisited. *The Journal of Parasitology*, 83(4), 575. doi:10.2307/3284227

Busi, A., Cardona-Salazar, L. J., Ossa-Lopez, P. A., Paez-Rivera, F. A., Vasquez, R. A., & Castaño-Villa, G. J. (2020). Morphological differences in a population of Rufous-collared Sparrow (*Zonotrichia capensis*, Statius Müller, 1776) (Passerine, Emberizidae) at different elevations in the Tropical Andes. *Biota Neotropical*

Cannell, B.L., Krasnec, K.V., Campbell, K., Jones, H.I., Miller, R.D., Stephens, N. (2013). The pathology and pathogenicity of a novel *Haemoproteus* spp. infection in wild Little Penguins (*Eudyptula minor*). *Vet. Parasitol.* 197, 74-84. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.04.025>.

Clark, N. J., Clegg, S. M., & Lima, M. R. (2014). A review of global diversity in avian haemosporidians (*Plasmodium* and *Haemoproteus*: Haemosporida): new insights from molecular data. *International Journal for Parasitology*, 44(5), 329–338. doi:10.1016/j.ijpara.2014.01.004

Corpocaldas & Asociación Calidris (2010). Estado de conocimiento de las aves en el departamento de Caldas: prioridades de conservación y vacíos de información. Corporación Autónoma de Caldas, Manizales.

DeBrock, S., Cohen, E., Balasubramanian, S., Marra, P. P., & Hamer, S. A. (2021). Characterization of the *Plasmodium* and *Haemoproteus* parasite community in temperate-tropical birds during spring migration. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 15, 12–21. doi:10.1016/j.ijppaw.2021.03.013

Durrant, K. L., Beadell, J. S., Ishtiaq, F., Graves, G. R., Olson, S. L., Gering, E., ... Fleischer, R. C. (2006). Avian Hematozoa in South America: A Comparison of Temperate and Tropical Zones. *Ornithological Monographs*, (60), 98–111. doi:10.2307/40166831

Echeverry-Galvis, M. Ángela, Acevedo-Charry, O., Avendaño, J. E., Gómez, C., Stiles, F. G., Estela, F. A., & Cuervo, A. M. (2022). Lista oficial de las aves de Colombia 2022: Adiciones, cambios taxonómicos y actualizaciones de estado. *Ornitología Colombiana*, (22), 25–51. <https://doi.org/10.59517/oc.e548>

Ellis, V. A., Fecchio, A., & Ricklefs, R. E. (2020). Haemosporidian parasites of Neotropical birds: Causes and consequences of infection. *The Auk*. doi:10.1093/auk/ukaa055

Fair, J., Paul, E., & Jones, J., Eds. (2010). *Guidelines to the Use of Wild Birds in Research*. Washington DC: Ornithological Council.

Fecchio, A., Pinheiro, R., Felix, G., Faria, I. P., Pinho, J. B., Lacorte, G. A., ... Weckstein, J. D. (2017). Host community similarity and geography shape the diversity and distribution of haemosporidian parasites in Amazonian birds. *Ecography*, 41(3), 505–515. doi:10.1111/ecog.03058

Galen, S. C., Nunes, R., Sweet, P. R., & Perkins, S. L. (2018). Integrating coalescent species delimitation with analysis of host specificity reveals extensive cryptic diversity despite minimal mitochondrial divergence in the malaria parasite genus *Leucocytozoon*. *BMC Evolutionary Biology*, 18(1). doi:10.1186/s12862-018-1242-x

González, A. D., Lotta, I. A., García, L. F., Moncada, L. I., & Matta, N. E. (2015). Avian haemosporidians from Neotropical highlands: Evidence from morphological and molecular data. *Parasitology International*, 64(4), 48–59. doi:10.1016/j.parint.2015.01.007

Gonzalez-Quevedo, C., Pabón, A., & Rivera-Gutierrez, H. F. (2016). Prevalence of haemosporidians in a Neotropical endemic bird area. *Avian Conservation and Ecology*, 11(1). doi:10.5751/ace-00834-110107

Hellgren, O., Waldenström, J., & Bensch, S. (2004). A new PCR assay for simultaneous studies of *Leucocytozoon*, *Plasmodium*, and *Haemoproteus* from avian blood. *Journal of Parasitology*, 90(4), 797–802. doi:10.1645/ge-184r1

Hellgren, O., Waldenström, J., Pérez-Tris, J., Szöll, E., Si, Ö., Hasselquist, D., ... & Bensch, S. (2007). Detecting shifts of transmission areas in avian blood parasites—a phylogenetic approach. *Molecular Ecology*, 16(6), 1281-1290.

Hilty, S. L., & Brown, W. L. (1986). *A guide to the birds of Colombia*. Princeton University Press.

Howe, L., Castro, I. C., Schoener, E. R., Hunter, S., Barraclough, R. K., & Alley, M. R. (2011). Malaria parasites (*Plasmodium* spp.) infecting introduced, native and endemic New Zealand birds. *Parasitology Research*, 110(2), 913–923. doi:10.1007/s00436-011-2577-z

Ilgūnas, M., Bukauskaitė, D., Palinauskas, V., Iezhova, T. A., Dinhopl, N., Nedorost, N., ... Valkiūnas, G. (2016). Mortality and pathology in birds due to *Plasmodium* (Giovannolaia) *homocircumflexum* infection, with emphasis on the exoerythrocytic development of avian malaria parasites. *Malaria Journal*, 15(1). doi:10.1186/s12936-016-1310-x

Jaramillo, R. A. (2006). Evapotranspiración de referencia en la Región Andina de Colombia. *Cenicafe* 57, 288–298.

Jones, M. R., Cheviron, Z. A., & Carling, M. D. (2013). Spatial Patterns of Avian Malaria Prevalence in *Zonotrichia capensis* on the Western Slope of the Peruvian Andes. *Journal of Parasitology*, 99(5), 903–905. doi:10.1645/12-147.1

Lacorte, G. A., Félix, G. M. F., Pinheiro, R. R. B., Chaves, A. V., Almeida-Neto, G., Neves, F. S., ... Braga, É. M. (2013). Exploring the Diversity and Distribution of Neotropical Avian Malaria Parasites – A Molecular Survey from Southeast Brazil. *PLoS ONE*, 8(3), e57770. doi:10.1371/journal.pone.0057770

Lian, L. Y., Al-Helal, M., Roslaini, A. M., Fisher, N., Bray, P. G., Ward, S. A., & Biagini, G. A. (2009). Glycerol: an unexpected major metabolite of energy metabolism by the human malaria parasite. *Malaria Journal*, 8(1), 1-4.

Loiseau, C., Harrigan, R. J., Cornel, A. J., Guers, S. L., Dodge, M., Marzec, T., ... Sehgal, R. N. M. (2012). First Evidence and Predictions of *Plasmodium* Transmission in Alaskan Bird Populations. PLoS ONE, 7(9), e44729. doi:10.1371/journal.pone.0044729

Lourenço-de-Oliveira, R., & Deane, L. M. (1995). Simian malaria at two sites in the Brazilian Amazon: I-The infection rates of *Plasmodium brasilianum* in non-human primates. Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 90(3), 331–339. doi:10.1590/s0074-02761995000300004

Mantilla, J.S., González, A.D., Valkiūnas, G., Moncada, L.I., Matta, N.E. (2013). Description and molecular characterization of *Plasmodium* (Novyella) *unalis* sp. nov. from the Great Thrush (*Turdus fuscater*) in highland of Colombia. Parasitol. Res. 112, 4193-4204. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3611-0>.

Martínez-Sánchez, E. T., Cardona Romero, M., Rivera Páez, F. A., Pérez Cárdenas, J. E., & Castaño-Villa, G. J. (2018). Contribution of agroecosystems to the conservation of bird diversity in the department of Caldas. Revista Facultad Nacional de Agronomía, 71(2), 8445–8457. doi:10.15446/rfna.v71n2.66113

Naranjo, L. G., Amaya, J. D., Eusse-González, D., & Cifuentes-Sarmiento, Y. (2012). Guía de las Especies Migratorias de la Biodiversidad en Colombia.

Pacheco, M. A., Cepeda, A. S., Bernotienė, R., Lotta, I. A., Matta, N. E., Valkiūnas, G., & Escalante, A. A. (2018). Primers targeting mitochondrial genes of avian haemosporidians: PCR detection and differential DNA amplification of parasites belonging to different genera. International Journal for Parasitology, 48(8), 657–670. doi:10.1016/j.ijpara.2018.02.003

Palinauskas, V., Valkiūnas, G., Bolshakov, C. V., & Bensch, S. (2008). *Plasmodium relictum* (lineage P-SGS1): effects on experimentally infected passerine birds. Experimental parasitology, 120(4), 372-380.

Palinauskas, V., Žiegytė, R., Ilgūnas, M., Iezhova, T. A., Bernotienė, R., Bolshakov, C., & Valkiūnas, G. (2015). Description of the first cryptic avian malaria parasite, *Plasmodium homocircumflexum* n. sp., with experimental data on its virulence and

development in avian hosts and mosquitoes. *International Journal for Parasitology*, 45(1), 51–62. doi:10.1016/j.ijpara.2014.08.012

Pulgarín-R, P. C., Gómez, C., Bayly, N. J., Bensch, S., FitzGerald, A. M., Starkloff, N., ... Cadena, C. D. (2018). Migratory birds as vehicles for parasite dispersal? Infection by avian haemosporidians over the year and throughout the range of a long-distance migrant. *Journal of Biogeography*. doi:10.1111/jbi.13453

[dataset] Remsen, J. V., Jr., J. I. Areta, E. Bonaccorso, S. Claramunt, G. Del-Rio, A. Jaramillo, D. F. Lane, M. B. Robbins, F. G. Stiles, and K. J. Zimmer. 2023. A classification of the bird species of South America. http://www.museum.lsu.edu/~Remsen/SACC_aseline.htm (19 Abr. 2023)

Ricklefs, R. E., & Fallon, S. M. (2002). Diversification and host switching in avian malaria parasites. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1494), 885–892. doi:10.1098/rspb.2001.1940

Risely, A., Klaassen, M., & Hoye, B. J. (2017). Migratory animals feel the cost of getting sick: A meta-analysis across species. *Journal of Animal Ecology*, 87(1), 301–314. doi:10.1111/1365-2656.12766

Santiago-Alarcon, D., Palinauskas, V., & Schaefer, H. M. (2012). Diptera vectors of avian Haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biological Reviews*, 87(4), 928–964. doi:10.1111/j.1469-185x.2012.00234.x

Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 38(7), 3022–3027. doi:10.1093/molbev/msab120

Tostes, R., Dias, R. J. P., de Oliveira, L., Senra, M. V. X., Massard, C. L., & D'Agosto, M. (2018). Molecular and Morphological Characterization of a Brazilian Lineage of *Plasmodium* (Novyella) *Unalis* in *Turdus* Spp. (Passeriformes) of the Atlantic Forest, with Remarks on New Hosts and High Genetic Variation. *Journal of Parasitology*, 104(1), 70–78. doi:10.1645/16-189

Udvardy, M. D., & Farrand, J. (1994). National Audubon Society Field Guide to North American Birds: Western Region. Knopf, 1994.

Valkiūnas, G. (2005). Avian malaria parasites and other haemosporidia. CRC Press, Boca Raton, London, New York and Washington, DC

Valkiūnas, G., Iezhova, T.A. (2017). Exo-erythrocytic development of avian malaria and related haemosporidian parasites. *Malar. J.* 16, 101. <https://doi.org/10.1186/s12936-017-1746-7>.

Valkiūnas, G., & Iezhova, T. A. (2018). Keys to the avian malaria parasites. *Malaria Journal*, 17(1). doi:10.1186/s12936-018-2359-5

Van Riper, C., van Riper, S. G., Goff, M. L., & Laird, M. (1986). The Epizootiology and Ecological Significance of Malaria in Hawaiian Land Birds. *Ecological Monographs*, 56(4), 327–344. doi:10.2307/1942550

Vanstreels, R., da Silva-Filho, R., Kolesnikovas, C., Bhering, R., Ruoppolo, V., Epiphonio, S., ... Catão-Dias, J. (2015). Epidemiology and pathology of avian malaria in penguins undergoing rehabilitation in Brazil. *Veterinary Research*, 46(1), 30. doi:10.1186/s13567-015-0160-9