



Universidad de Concepción  
Dirección de Postgrado  
Facultad de Ciencias Veterinarias-Programa de Doctorado en Ciencias Veterinarias

**Distribución, prevalencia y filogeografía de *Haemoproteus* y *Plasmodium* en aves del orden Passeriformes en el cono sur de Sudamérica**



Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Veterinarias

**DANIELA IVONNE DOUSSANG ORTIZ**  
**CHILLÁN – CHILE**  
**2019**

Profesor Guía: Daniel Alfonso González Acuña  
Dpto. de Ciencia Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad de Concepción

## RESUMEN

Los hemosporidios aviáres son protozoos de distribución mundial, transmitidos por vectores (dípteros). *Plasmodium* y *Haemoproteus* son los más comunes en aves y son causantes de malaria y pseudomalaria respectivamente. Su distribución, prevalencia y diversidad pueden estar influenciadas por factores bióticos y abióticos, tales como; altitud, latitud, relación parásito-hospedador y barreras biogeográficas como la Cordillera de los Andes. Este estudio tiene como objetivos (1) determinar distribución, prevalencia y diversidad de *Plasmodium* y *Haemoproteus* en aves silvestres del orden Passeriformes principalmente de Chile y Argentina, y compararlos con los ya descritos en Sudamérica; (2) Analizar factores bióticos y abióticos que puedan estar influenciando la prevalencia, distribución y diversidad de los haplotipos de *Plasmodium* y *Haemoproteus*; (3) evaluar el efecto del aislamiento producido por la cordillera de los Andes en la distribución y diversidad de los haplotipos de hemoparásitos de aves; (4) y asignar las especies morfológicas analizadas con sus haplotipos. Para desarrollar estos objetivos, se extrajo sangre de aves desde distintas localidades de Chile, para la detección de *Haemoproteus* y *Plasmodium* a través de técnicas de diagnóstico tradicionales (microscopía óptica) y PCR utilizando el gen de citocromo b mitocondrial. Además fueron adicionadas al análisis muestras obtenidas de tejidos (sangre, músculo, hígado o corazón) de chincol (*Zonotrichia capensis*) provenientes de “Museo de Luisiana”, Estados Unidos y otras muestras de colección de tejidos (sangre y músculo) de Passeriformes de “Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia”, Buenos Aires, Argentina.

Se determinó prevalencia e intervalos de confianza de los haplotipos identificados por cada localidad, ecorregión y bioma. Para determinar la relación entre la prevalencia y los factores ecológicos se realizaron modelos lineales generalizados (MLGs). Para estimar la influencia de la diversidad de las especies hospedadoras en la prevalencia de los hemoparásitos se calculó el índice de Shannon-Weaver por ecorregiones de Chile y se realizó una correlación entre la prevalencia e índice de diversidad de Shannon-Weaver para cada género de hemoparásito por separado. Se determinaron las relaciones filogenéticas de los haplotipos encontrados y se comprobó si las poblaciones de haplotipos de hemoparásitos son dependientes y restringidas a cierto rango de distribución. También, a través de la determinación del índice de especificidad (STD\*) se

clasificó entre haplotipos especialistas y generalistas. Además para determinar la estructura genética poblacional se realizó AMOVA (Análisis de varianza molecular) y BAPS (Análisis Bayesiano de estructura poblacional) y para inferir sobre los niveles o patrones de flujo génico entre las poblaciones de hemoparásitos, se calculó índices de estructura  $F_{st}$  y  $\Phi_{st}$ .

En aves Passeriformes determinamos una prevalencia de 23,2% para ambos géneros, con mayor prevalencia, diversidad y especificidad (STD\*) para *Haemoproteus*. Se encontró una correlación positiva entre la diversidad de aves (índice de Shannon) y la prevalencia de *Plasmodium* ("efecto de amplificación") y se detectó (MLGs) una influencia significativa de la riqueza de aves en la prevalencia de ambos géneros parasitarios, y un efecto de la variable localidad para *Haemoproteus* y de las variables localidad y bioma para *Plasmodium*. La filogenia mostró que *Haemoproteus* podría estar influenciado principalmente por su hospedador aviar y la Cordillera de los Andes, mientras que *Plasmodium* podría estar influenciado por otros factores biogeográficos (altitud, temperatura). En chincoles se detectó prevalencias similares, *Haemoproteus* (22%) y *Plasmodium* (3%), y diversidad genética mayor para *Plasmodium* que *Haemoproteus* y se encontró una relación directa de prevalencia de ambos géneros con altitud y latitud.

En total se determinaron 71 haplotipos (46 de *Haemoproteus* y 25 de *Plasmodium*) y un número menor de morfoespecies de *Haemoproteus* (4) y *Plasmodium* (7). Las morfoespecies de *Haemoproteus* se presentaron principalmente dentro de un clado, mientras que el género *Plasmodium* formó grupos monofiléticos según especie (subclados) y según subgénero (clados). Se determinaron similares prevalencias totales a través de PCR y microscopía óptica, reconociendo una mayor sensibilidad en la detección de hemosporidios a través de PCR y una mayor sensibilidad de la microscopía para la detección de infecciones mixtas, por lo que incentivamos la utilización de ambos métodos complementariamente. Los hemoparásitos pueden afectar la dinámica temporal y espacial de la población hospedadora, alterar la estructura comunitaria y el estatus social individual de las aves silvestres. Determinar la influencia de los factores temporales, bióticos y abióticos y las especies morfológicas pueden ayudarnos a dilucidar con mayor claridad el desarrollo de las infecciones parasitarias en las aves.

**Palabras claves:** *Haemoproteus*, *Plasmodium*, malaria aviar.

## ABSTRACT

Avian hemosporidia are protozoa of world distribution, transmitted by vectors (dipterans). *Plasmodium* and *Haemoproteus* are the most common in birds and are the cause of malaria and pseudomalaria respectively. Its distribution, prevalence and diversity may be influenced by biotic and abiotic factors, such as; altitude, latitude, parasite-host relationship and biogeographic barriers such as the Andes Mountains. This study aims to (1) determine distribution, prevalence and diversity of *Plasmodium* and *Haemoproteus* in wild birds of the order Passeriformes mainly from Chile and Argentina, and compare them with those already described in South America; (2) Analyze biotic and abiotic factors that may be influencing the prevalence, distribution and diversity of the *Plasmodium* and *Haemoproteus* lineages; (3) evaluate the effect of the isolation produced by the Andes mountain range on the distribution and diversity of the hemoparasite lineages of birds; (4) and assign the morphological species analyzed with their lineages. To develop these objectives, blood was drawn from birds from different locations in Chile, for the detection of *Haemoproteus* and *Plasmodium* through traditional diagnostic techniques (optical microscopy) and PCR using the mitochondrial cytochrome b gene. In addition, samples obtained from tissues (blood, muscle, liver or heart) of Rufous collared-sparrow (*Zonotrichia capensis*) from “Louisiana Museum”, United States and other tissue collection samples (blood and muscle) from Passeriformes, were also added to the analysis samples of “Museo de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia”, Buenos Aires, Argentina.

Prevalence and confidence intervals of the lineages identified by each locality, ecoregion and biome were determined. To determine the relationship between prevalence and ecological factors, generalized linear models (GLMs) were made. To estimate the influence of the diversity of the host species on the prevalence of hemoparasites, the Shannon-Weaver index was calculated by ecoregions of Chile and a correlation was made between the prevalence and diversity index of Shannon-Weaver for each genus of hemoparasite separately. The phylogenetic relationships of the lineages found were determined and it was checked if the populations of hemoparasite lineages are dependent and restricted to a certain range of distribution. Also, through the determination of the specificity index (STD\*), it was classified among specialist and generalist lineages. In

addition, to determine the population genetic structure, AMOVA (Molecular Variance Analysis) and BAPS (Bayesian Population Structure Analysis) were performed and to infer the levels or patterns of gene flow between hemoparasite populations,  $F_{st}$  and  $\Phi_{st}$  structure indices were calculated.

In Passeriform birds we determine a prevalence of 23.2% for both genera, with greater prevalence, diversity and specificity (STD \*) for *Haemoproteus*. A positive correlation was found between the diversity of birds (Shannon index) and the prevalence of *Plasmodium* ("amplification effect") and a significant influence of bird wealth on the prevalence of both parasitic genera was detected (GLMs), and an effect of the locality variable for *Haemoproteus* and the locality and biome variables for *Plasmodium*. The phylogeny showed that *Haemoproteus* could be influenced mainly by its avian host and the Andes Mountains, while *Plasmodium* could be influenced by other biogeographic factors (altitude, temperature). Similar prevalence rates were detected in chincoles, *Haemoproteus* (22%) and *Plasmodium* (3%), and greater genetic diversity for *Plasmodium* than *Haemoproteus* and a direct relationship of prevalence of both genders with altitude and latitude was found.

In total, 71 lineages (46 *Haemoproteus* and 25 *Plasmodium*) and a smaller number of *Haemoproteus* (4) and *Plasmodium* (7) morphospecies were determined. *Haemoproteus* morphospecies appeared mainly within a clade, while the genus *Plasmodium* formed monophyletic groups according to species (subclades) and subgenus (clades). Similar total prevalences were determined through PCR and optical microscopy, recognizing a greater sensitivity in the detection of hemosporidia through PCR and a greater sensitivity of microscopy for the detection of mixed infections, so we encourage the use of both methods in addition.

Hemoparasites can affect the temporal and spatial dynamics of the host population, alter the community structure and individual social status of wild birds. Determining the influence of temporal, biotic and abiotic factors and morphological species can help us elucidate more clearly the development of parasitic infections in birds.

**Keywords:** *Haemoproteus*, *Plasmodium*, avian malaria.