

## Descripción morfométrica de *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* en *Tyrannus melancholicus* de Venezuela

### *Morphometric description of Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni in Tyrannus melancholicus from Venezuela*

Karen R. Valera<sup>1\*</sup>, Carmen J. Silva-Sánchez<sup>1</sup>, Kleyder Agelvis<sup>2</sup>, Hillary Campos<sup>2</sup>, Arichuna Fajardo<sup>2</sup> & José Romero-Palmera<sup>1,2</sup>

#### RESUMEN

El hemoparásito aviar *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* (Bennett, Caines & Whiteway, 1986) es específico en aves Passeriformes incluida la familia Tyrannidae, estos haemosporidios utilizan insectos dípteros para su etapa de reproducción sexual y la esporogonia. El objetivo del trabajo es la descripción de *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* en *Tyrannus melancholicus* de Venezuela mediante análisis morfológicos y morfométricos convencionales con el uso del programa ImageJ. La muestra estuvo conformada por 40 fotomicrografías de eritrocitos parasitados con *Haemoproteus*, realizadas a extendidos de sangre periférica de un *Tyrannus melancholicus* de la Colección de Parásitos Maláricos y Otros Haemosporidios en Aves de Venezuela "Dr. Arnoldo Gabaldon". Con un micrómetro de escala de 0 a 10  $\mu\text{m}$  se calibró el programa ImageJ para posterior análisis de las fotomicrografías, se tomaron medidas de largo y ancho del eritrocito parasitado, el parásito y eritrocitos no parasitados para hacer comparaciones. Como resultado los macrogametocitos tenían medidas  $\bar{x}$  de 14,0 x 2,3  $\mu\text{m}$ , núcleo compacto de 3,1  $\mu\text{m}$  x 1,8  $\mu\text{m}$ , NDR= 0,7 y el número de pigmentos 14, los microgametocitos 10,9 x 2,1, núcleo difuso de 3,3 x 4,1  $\mu\text{m}$ , NDR= 0,8 con 13 pigmentos aproximadamente, la diferencia entre los eritrocitos no parasitados y parasitados era de 0,8  $\mu\text{m}$  de largo, todas las características métricas y morfológicas coincidieron con la especie *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* en *Tyrannus melancholicus* de Venezuela.

**Palabras claves:** Fotomicrografías, *Haemoproteus*, hemoparásito, morfometría, passeriformes.

#### INTRODUCCIÓN

Los parásitos de la familia Haemoproteidae son un grupo de protistas heteroxénos que requieren

#### SUMMARY

The avian hemoparasite *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* (Bennett, Caines & Whiteway, 1986) is specific in Passeriform birds including the family Tyrannidae, these haemosporidia affected diptera insects for their stage of sexual reproduction and sporogonia. The objective of the work is the description of *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* in *Tyrannus melancholicus* of Venezuela by means of specific morphological and morphometric analyzes with the use of the ImageJ program. The sample consisted of 40 photomicrographs of erythrocytes parasitized with *Haemoproteus*, performed on extended peripheral blood of a *Tyrannus melancholicus* from the Collection of Malic Parasites and Other Haemosporidia in Birds of Venezuela "Dr. Arnoldo Gabaldon". With a micrometer of scale from 0 to 10  $\mu\text{m}$ , the ImageJ program is calibrated for subsequent analysis of photomicrographs, length and width measurements of the parasitized erythrocyte, parasite and non-parasitized erythrocytes are taken to make comparisons. As a result Measured macrogametocytes measures 14,0 of 14,0 x 2,3  $\mu\text{m}$ , compact core of 3,1  $\mu\text{m}$  x 1,8  $\mu\text{m}$ , NDR = 0,7 and the number of pigments 14, microgametocytes 10,9 x 2,1, diffuse nucleus of 3,3 x 4,1  $\mu\text{m}$ , NDR = 0,8 with approximately 13 pigments, the difference between non parasitized and parasitized erythrocytes was 0,8  $\mu\text{m}$  long, all metric and morphological characteristics coincided with the *Haemoproteus (Parahaemoproteus) tyranni* species in *Tyrannus melancholicus* from Venezuela.

**Key words:** Photomicrographs, *Haemoproteus*, hemoparasite, morphometry, passerines.

de la intervención de insectos dípteros hematófagos como vectores para su etapa de reproducción sexual y la esporogonia (Adams, Slice & Rohlf, 2004). Dentro de esta familia se encuentra el género

<sup>1</sup> Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios (LBVR) - Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y de Salud Ambiental (CEEESA) - Servicio Autónomo Instituto de Altos Estudios "Dr. Arnoldo Gabaldon" (IAE/MPPS). Maracay, Aragua - Venezuela.

<sup>2</sup> Cátedras de Proyecto y Trabajo de Investigación Escuela de Bioanálisis Omaira Figueroa - Facultad de Ciencias de la Salud (FCS) Universidad de Carabobo (UC). Valencia, Carabobo -Venezuela.

\*Autor de correspondencia: karenvalera00@gmail.com

*Haemoproteus* descrito por Kruse en el año 1890, representado por dos subgéneros que parasitan las aves *Parahaemoproteus* y *Haemoproteus* (Valkiūnas, 2005).

Los parásitos del género *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) son transmitidos por varias especies de chaquistes o jejenes (Diptera: Ceratopogonidae) (Bennett & cols., 1965), el ciclo de vida comienza cuando el insecto vector, ingiere sangre que contiene macro y microgametocitos, los cuales en el tracto digestivo, inicia una serie compleja de eventos, donde los gametos se producen, ocurre la fertilización y se originan los esporozoítos, los cuales migran y se acumulan en las glándulas salivares del vector que infecta al ave en la siguiente picadura (Bennett & Pierce, 1988). Una vez que los esporozoítos han penetrado, dirige a las células endoteliales, donde ocurre el proceso de merogonia, liberando nuevos merozoítos; estos infectan las células de bazo y en algunos casos músculo esquelético, en estos tejidos se producen nuevos merozoítos que van a infectar los eritrocitos, donde se diferencian en gametocitos (Adams, Slice & Rohlf, 2004). Los esquizontes de *Haemoproteus* invaden células no circulantes en sangre en el hospedador (Perkins & Schall, 2002; Pérez-Tris & cols., 2005; Martinsen & cols., 2008).

Por tanto, microscópicamente, únicamente se observan en sangre periférica los gametocitos de *Haemoproteus*, con diferentes características, algunos crecen alrededor del núcleo del eritrocito infectado, pero sin rodearlo completamente y otros lo rodean por completo (Valkiūnas, 2005).

Algunos *Haemoproteus* son específicos de hospedadores como aves Passeriformes, incluida la familia *Tyrannidae* (Valkiūnas, 2005), la cual engloba alrededor de 377 especies de aves confinadas en las región neotropical (Bennett, Caines & Whiteway., 1986). Existen tres especies involucradas en el parasitismo de estas aves, *Haemoproteus circumnuclearis*, *H. souzalopesi* y *H. tyranni* (Bennett, Caines & Whiteway, 1986).

*Haemoproteus circumnuclearis* descrito en el hospedador *Mionectes olivaceus* en Río Verde, Valle, Colombia, caracterizándose por ser el único *Haemoproteus* en rodear completamente el núcleo de la célula parasitada causando hipertrofia (Bennett, Caines & Whiteway., 1986; Valkiūnas, 2005). Por otra

parte, *H. souzalopesi* de ha descrito en la localidad Guaratuba en Sao Paulo, Brasil, en el ave hospedador *Cnemotriccus fuscatus*, este hemoparásito es el segundo dentro de los *Haemoproteus* en presentar forma discoide, ya que el primero es *H. ortalidum* que infecta a la familia *Cracidae*, pero son claramente separables ya que *H. ortalidum* es aproximadamente 50% más grande y presenta una etapa inmadura alargada en forma de salchicha, característica ausente en *H. souzalopesi* (Bennett, Caines & Whiteway., 1986; Valkiūnas, 2005).

*Haemoproteus tyranni* descrita en *Tyrannus tyrannus* de la localidad Missaquash Marsh, New Brunswick, Canadá (Bennett, Caines & Whiteway., 1986; Valkiūnas, 2005). Los macrogametocitos de *H. (P) tyranni* (Bennett, Caines & Whiteway, 1986) tienen un tamaño medio de 12,4 µm de largo y 6,6 µm de ancho, se diferencian por crecer alrededor del núcleo del eritrocito infectado, desplazándolo lateralmente pero sin rodearlo en su totalidad, su citoplasma es granular y frecuentemente con pequeñas vacuolas. El núcleo del parásito es compacto de forma variable y se ubica en posición subterminal. Los pigmentos granulares son redondos u ovales, algunas veces en forma de barra, con medidas entre 0,5-1,0 µm distribuidos aleatoriamente por todo el citoplasma (Valkiūnas, 2005).

Los microgametocitos se parecen en su configuración a los macrogametocitos con las usuales características de su dimorfismo sexual, es decir, el núcleo se encuentra de manera difusa, el parásito tiene un tamaño medio de 12,5 µm de largo y 6,8 µm de ancho (Valkiūnas, 2005).

Los eritrocitos en las aves son células planas, elípticas, con un núcleo de igual forma. El citoplasma, debido a la hemoglobina se tiñe gris-rosado con el colorante de Giemsa. El núcleo, se colorea de morado intensamente y, revela una cromatina agrupada en grumos más o menos distribuidos uniformemente, los cuales tienden a unirse a medida que la célula envejece (Gabaldon, 1998). Morfológicamente, presenta un eje mayor representado por el área que se extiende de polo a polo denominado eje polar, mientras en la mitad, perpendicular a esté, se encuentra el eje ecuatorial (Gabaldon, 1998).

Ahora bien, los eritrocitos en las infecciones por *Haemoproteus*, puede presentar cambios

morfológicos como: a) modificaciones del tamaño, por lo general sobre su eje mayor, pues este puede alargarse (hipertrofia) o acortarse; b) desplazamiento nuclear; c) bordes nucleares irregulares; y por último d) ruptura celular (Valkiūnas, 2005).

Es importante destacar, que las medidas morfométricas del parásito, sus características y posición y modificaciones en la morfología del eritrocito, especialmente en el desplazamiento del núcleo, tiene significación desde el punto de vista taxonómico, ya que este efecto puede orientar a la clasificación a la que pertenece (Valkiūnas, 2005). En concordancia, con lo antes expuesto, se propone la aplicación de la morfometría convencional para la descripción de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *tyranni* en *Tyrannus melancholicus* de Venezuela.

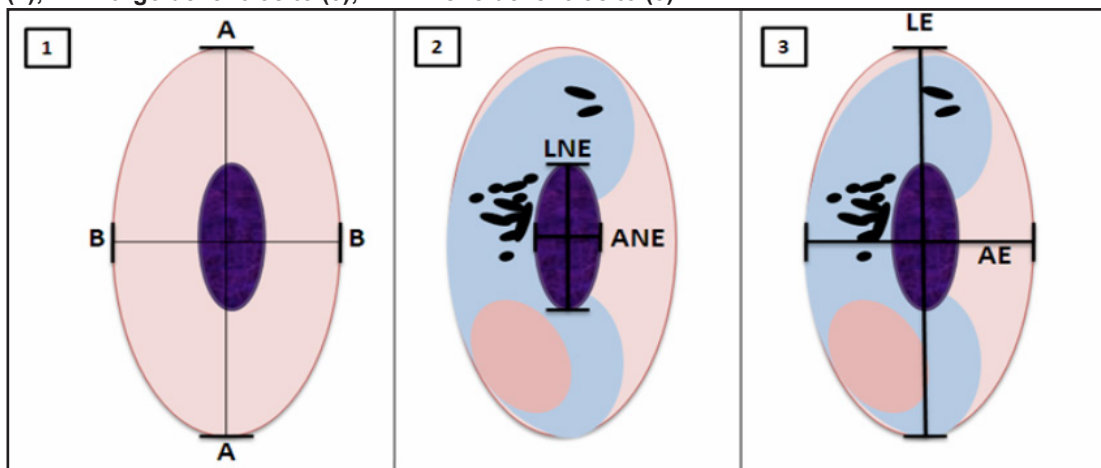
## MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar el estudio se seleccionaron 40 fotomicrografías de eritrocitos parasitados con *Haemoproteus* sp., realizadas a extendidos de sangre periférica de un ave *Tyrannus melancholicus* cuyo material de encuentra depositado en la Colección de Parásitos Maláricos y Otros Haemosporidios en Aves de Venezuela “Dr. Arnoldo Gabaldon”, con número de Registro N° 0289, proveniente Sector Puerta Negra, Lago de Valencia, estado Aragua, año 2013, ubicada en el Laboratorio de Biología de Vectores y Reservorios (LBVR) del Centro de Estudios de Enfermedades Endémicas y de Salud ambiental (CEEESA) del Servicio Autónomo Instituto de Altos

Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldon” (IAE); situado en la ciudad de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Los frotis sanguíneos fueron examinados, con el cuidado que requiere, por ser parte de un patrimonio parasitológico para ello se emplearon los estándares de la normativa de seguridad del LBVR, se describe la sistemática de estudio:

- I. Microscopía óptica: Se observaron los 3 extendidos, en un microscopio óptico binocular marca Optima con objetivo de 1000X y aceite de inmersión, recorriendo el campo en forma de zigzag hasta agotar todo el extendido.
- II. Fotomicrografía: Utilizándose como herramienta una cámara digital (Marca Sony modelo DSC-W570) colocada sobre un trípode y enfocada sobre las preparaciones a través de un microscopio óptico (Marca Optima) con un ocular micrométrico incorporado y siendo estas observadas bajo objetivo de inmersión, se digitalizaron 40 fotomicrografías de eritrocitos parasitados comparados con 40 fotomicrografías de eritrocitos no parasitados.
- III. Medidas Morfométricas Convencional: Con el micrómetro de escala de 0 a 10  $\mu\text{m}$ ; se tomaron las siguientes mediciones:
  - a) En los eritrocitos no parasitados se fotografiaron y se tomaron medidas del largo o eje polar (AA) y el ancho o eje ecuatorial (BB) (Fig. 1).
- IV. Programa ImageJ: Con las fotomicrografías y las medidas convencionales se procedió a calibrar el programa morfométrico ImageJ que mide en megapíxeles, el cual indicó que 10  $\mu\text{m}$  equivalen a una distancia en píxeles de 598.193.

**Fig. 1. Parámetros morfométricos. Largo del eritrocito desde los polos AA, ancho del eritrocito desde los polos BB (1) LNE: Largo del núcleo del eritrocito (2); ANE: Ancho del núcleo del eritrocito (2); LE: Largo del eritrocito (3); AE: Ancho del eritrocito (3).**



Todos los eritrocitos infectados con gametocitos de *Haemoproteus* sp. fueron analizadas con el Programa ImageJ ya calibrado (Fig. 2), se tomaron medidas del parásito de largo, ancho, número de pigmentos y medidas del núcleo compacto en los macrogametocitos y el núcleo difuso de los microgametocitos. Se realizaron mediciones entre la membrana celular y la nuclear, señalado como eje (X) y la distancia entre la periferia del núcleo y de la célula en el lugar abarcado por el parásito señalado como eje (Y), estas mediciones se usaron para calcular el grado de desplazamiento lateral del núcleo (NDR, pos sus siglas en inglés) mediante la fórmula  $NDR = 2X / X+Y$ , en base a esto se estableció si hubo o no desplazamiento del núcleo del eritrocito infectado, en donde los eritrocitos no infectados poseen un NDR de 1, el grado de desplazamiento lateral del núcleo por el parásito se muestra mediante la aproximación del NDR a cero (Bennett & Campbell, 1972).

#### Análisis estadísticos

Se empleó el programa Microsoft® Excel® para construir la base de datos y el programa de paquete Estadístico Epidat 3.0 para el cálculo de la  $\bar{X}$  y desviación estándar DS, por otra se usó Microsoft®

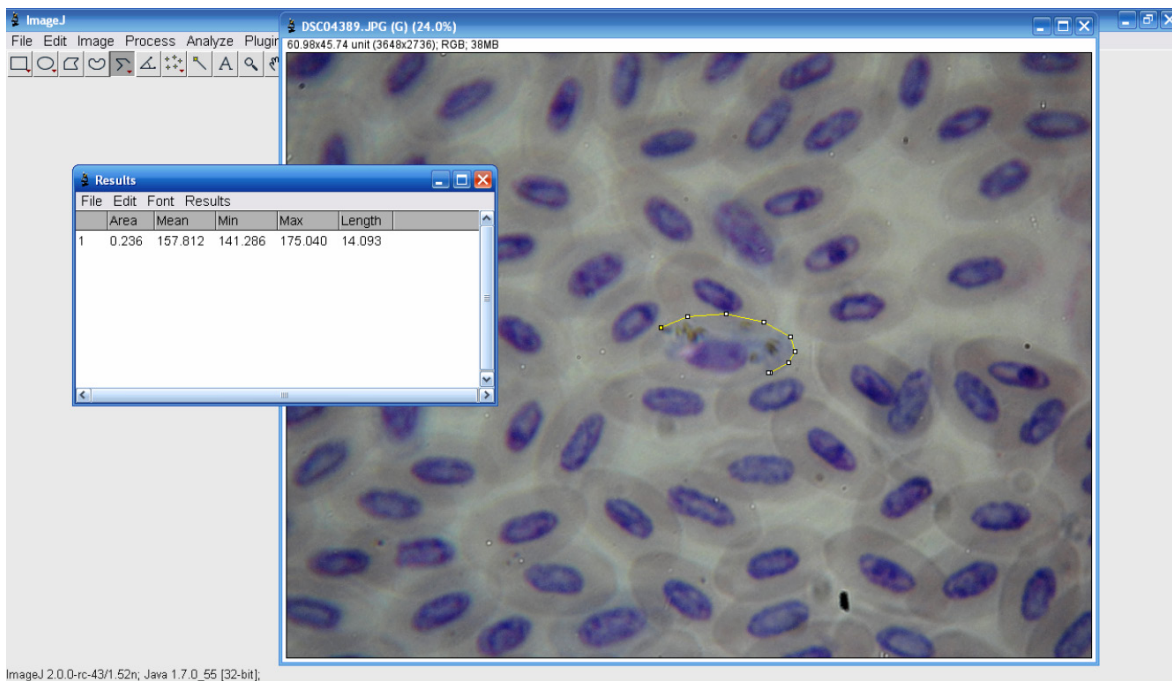
Power Point® para construir las planchas fotográficas de los parásitos.

## RESULTADOS

De las 40 microfotografías de eritrocitos parasitados con *Haemoproteus* sp. de *Tyrannus melancholicus* de la Colección de Parásitos Maláricos y Otros Haemosporidios en Aves de Venezuela “Dr. Arnoldo Gabaldon”, con número de Registro 0289, proveniente Sector Puerta Negra, Lago de Valencia, estado Aragua, año 2013, en base a las características morfológicas del parásito el 70% (28/40) resultaron microgametocitos y el 30% (12/40) como macrogametocitos.

Se precisó que en los macrogametocitos, presentaban una  $\bar{X}$  de  $14,0 \mu\text{m} \pm 0,6$  de largo y  $2,3 \mu\text{m} \pm 0,4$  de ancho, con posición alrededor del núcleo del eritrocito infectado, desplazándolo lateralmente, evidenciado en el cálculo del  $NDR < 1$  (0,7). La hipertrofia, se hizo evidente en 91,6% (11/12) de los eritrocitos infectados ya que la diferencia entre el largo entre los eritrocitos parasitados por macrogametocitos y los no parasitados era de  $0,7 \mu\text{m}$ . Asimismo, se observó que la forma parasitaria

**Fig. 2. Análisis de *Haemoproteus* sp. analizados Programa ImageJ.**



presentaba un citoplasma granular contentivo de pequeñas vacuolas, además presentaban pigmentos granulares ovalados y algunas veces en forma de barra, distribuidos aleatoriamente por todo el citoplasma, en promedio de  $13,9 \pm 2,5$  mientras que su núcleo se visualizó compacto, variable en la forma, y en posición subterminal, con  $3,1 \pm 0,7 \mu\text{m}$  de largo por  $1,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$  de ancho y  $1,8 \mu\text{m}$  de ancho (Tabla I) (Fig. 3).

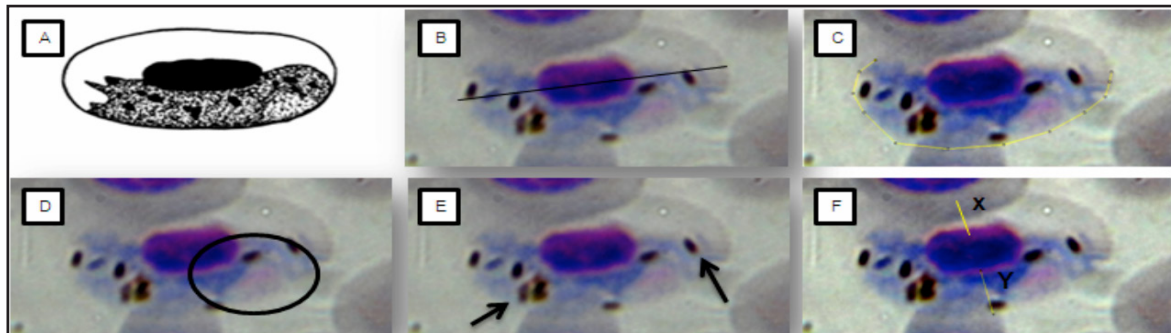
Por otra parte, la evaluación de los 28 microgametocitos, mostró un tamaño promedio de  $13,4 \pm 1,0 \mu\text{m}$  de largo y  $2,1 \pm 0,4 \mu\text{m}$  de ancho. El citoplasma se precisó granular, observándose pigmentos maláricos  $13,2 \pm 1,4$  ubicados de manera polar. El núcleo, del parásito, se encontraba de manera difusa en su citoplasma con un tamaño de  $3,3 \pm 0,3 \mu\text{m}$  de largo y  $4,1 \pm 0,2 \mu\text{m}$  de ancho, mientras el NDR fue de  $0,8 \pm 0,2$ , se observó hipertrofia en 46,4% (13/28) de los eritrocitos

**Tabla I. Parámetros morfométricos de eritrocitos no infectados, infectados por macrogametocitos y microgametocitos.**

Indicador	<i>H. tyranni</i>		
	n	$\bar{X}$	DS
<b>Eritrocitos no infectados</b>	<b>40</b>		
Largo		10,1	0,6
Ancho		5,9	0,3
Largo del núcleo		5,1	0,5
Ancho del núcleo		2,1	0,1
<b>Eritrocitos infectados con macrogametocitos</b>	<b>12</b>		
Largo		10,8	0,5
Ancho		5,9	0,8
Largo del núcleo		5,1	0,4
Ancho del núcleo		2,0	0,2
<b>Macrogametocitos</b>	<b>12</b>		
Largo		14,0	1,9
Ancho		2,3	0,4
Largo del núcleo		3,1	0,7
Ancho del núcleo		1,8	0,2
NDR		0,7	0,2
Nº de pigmentos		14	2,5
<b>Eritrocitos infectados con microgametocitos</b>	<b>28</b>		
Largo		10,9	0,5
Ancho		5,7	0,5
Largo del núcleo		5,2	0,2
Ancho del núcleo		1,9	0,1
<b>Microgametocitos</b>	<b>28</b>		
Largo		13,4	1,0
Ancho		2,1	0,4
Largo del núcleo		3,3	0,3
Ancho del núcleo		4,1	0,2
NDR		0,8	0,2
Nº de pigmentos		13	1,4

Nota: Todas las medidas son en micrómetros, excepto el número de pigmentos y el NDR.  
 $\bar{X}$ : Media, DS: Desviación Estándar, NDR: Radio de Desplazamiento del Núcleo.

**Fig. 3.** (A) Macrogametocito de *Haemoproteus (P) Tyranni* descrito por Valkiūnas, (2005). (B) Macrogametocito con medidas de micrómetro convencional 10,0  $\mu\text{m}$ , (C) Medidas con programa ImageJ 14,1  $\mu\text{m}$ , (D) Núcleo compacto, (E) Pigmentos ovalados en forma de barra distribuidos en todo el citoplasma, (F) Eje X y Eje Y. Registro N° 0289, Sector Puerta Negra, Lago de Valencia, estado Aragua 2013 de la Colección de Parásitos Malárico y otros Haemosporidios "Dr. Arnoldo Gabaldon". Frotis sanguíneo teñido Giemsa modificado (Silva y cols., 2015) 1000X.



parasitados por microgametocitos con una diferencia de 0,8  $\mu\text{m}$  de largo a los eritrocitos no parasitados (13/28) de los eritrocitos parasitados (Tabla I) (Fig. 4).

Los eritrocitos no parasitados (ENP) mostraron un tamaño promedio de 10,1 $\pm$ 0,6  $\mu\text{m}$  de largo y 5,9 $\pm$ 0,3 $\mu\text{m}$  de ancho. El núcleo tuvo un tamaño promedio de 5,1 $\pm$ 0,5  $\mu\text{m}$  y 2,1 $\pm$ 0,1 $\mu\text{m}$  de ancho (Tabla I).

## DISCUSIÓN

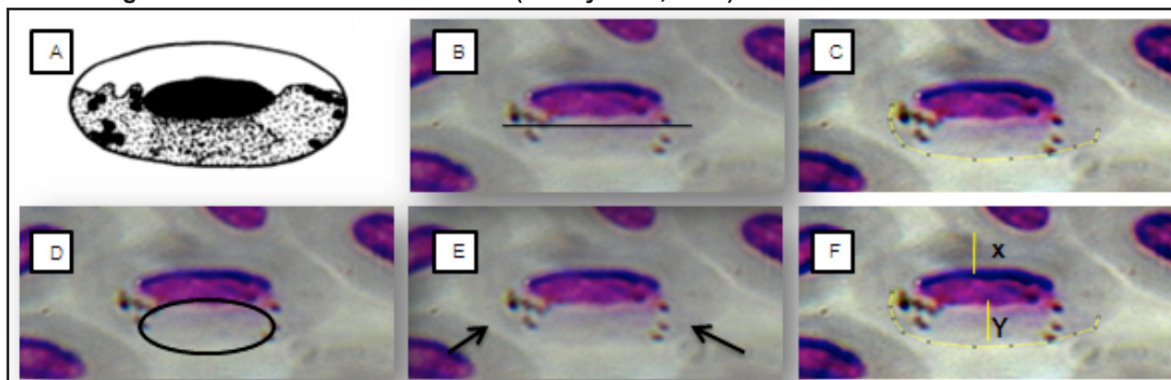
El ave *Tyrannus melancholicus* se encuentra dentro de la lista de los hospedadores vertebrados de *Haemoproteus (P) tyranni* reportado por Valkiūnas,

(2005) y dentro de la familia *Tyrannidae* descrita por Bennett, Caines & Whiteway (1986).

El tamaño de los eritrocitos en *Tyrannus melancholicus* venezolana fue de 10,1 $\pm$ 0,6  $\mu\text{m}$  de largo y 5,9 $\pm$ 0,3  $\mu\text{m}$  de ancho, mientras que los eritrocitos de *Tyrannus tyrannus* de Canadá tiene tamaño de 11,0-11,8  $\mu\text{m}$  (Bennett, Caines & Whiteway, 1986; Valkiūnas, 2005), esta diferencia de tamaño en los eritrocitos podría deberse a la especie del ave.

Los macrogametocitos y microgametocitos coincidieron con la descripción morfológica y las medidas morfométricas de la investigación de Bennett, Caines & Whiteway (1986) y Valkiūnas (2005).

**Fig. 4.** (A) Microgametocito de *Haemoproteus (P) Tyranni* descrito por Valkiūnas, (2005). (B) Macrogametocito con medidas de micrómetro convencional 8,0  $\mu\text{m}$  y citoplasma claro. (C) Medidas con programa ImageJ 12,9  $\mu\text{m}$ , (D) Núcleo difuso, (E) Pigmentos redondos y algunos ovalados ubicados en las regiones polares, (F) Eje X y Eje Y. Registro N° 0289, Sector Puerta Negra, Lago de Valencia, estado Aragua 2013 de la Colección de Parásitos Malárico y otros Haemosporidios "Dr. Arnoldo Gabaldon". Frotis sanguíneo teñido Giemsa modificado (Silva y cols., 2015) 1000X.



Se observó una diferencia en el número de pigmentos presentes en los macrogametocitos con diferencia de 14 Vs 17 y microgametocitos 13 Vs 16 respecto a los estudiados por Bennett, Caines & Whiteway (1986) y Valkiūnas (2005), esto podría deberse a la adaptación del parásito en el ave *Tyrannus melancholicus* de Venezuela, a una coevolución de la interacción parásito-hospedero, tal y como lo define Thomson, (1994): «cambios recíprocos en especies interactuantes», pudiéndose aplicar la teoría de coevolución en mosaico geográfico, donde el resultado de las interacciones varía entre poblaciones, con posibilidad de coevolución local, ya que todas las características métricas y morfológicas coinciden con la especie *Haemoproteus* (*P*) *tyrannis*.

Por otra parte el núcleo de los macrogametocitos se encontraba compacto en posición subterminal, cindiendo con lo descrito por Valkiūnas, en el 2005 para la especie *Haemoproteus* (*P*) *tyranni*, en *Tyranni melancholicus* como hospedador, quien describe a los macrogametocitos con un tamaño medio de 12,4 µm de largo y 6,6 µm de ancho, se diferencian por crecer alrededor del núcleo del eritrocito infectado, desplazándolo lateralmente pero sin rodearlo en su totalidad, su citoplasma es granular y frecuentemente con pequeñas vacuolas. El núcleo del parásito es compacto de forma variable y se ubica en posición subterminal (Valkiūnas, 2005).

El radio de desplazamiento del núcleo (NDR) del eritrocito parasitado tanto por macrogametocito como por microgametocito fue evidente en el resultado del NDR condiendo con Bennett & Campbell, 1972 quienes explican que la hipertrofia de la célula infectada se genera por el radio de desplazamiento del núcleo con la aproximación a cero, una célula no parasitada posee un NDR igual a 1. Además se observó la hipertrofia en el aumento de tamaño del largo los eritrocitos, característico de la presencia del parásito de la especie *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *tyranni*.

En Venezuela existen reportes en Falcón en once especies de aves de la familia *Tyrannidae*, con *Haemoproteus* sp. en *Myiozetetes similis*, para *Tyrannus melancholicus* solo se ha reportado hemoparásitos del género *Plasmodium* con una prevalencia de 60% (Silva y cols., 2016).

## CONCLUSIÓN

Finalmente con todo el estudio, búsqueda bibliográfica, descripción y medidas realizadas a través del programa ImageJ se reporta en Venezuela la especie de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *tyranni* en *Tyrannus melancholicus* del estado Aragua, Venezuela.

## Conflicto de Intereses

Los autores declaramos que no existe conflicto de intereses en la realización de este trabajo y los resultados presentados.

## AGRADECIMIENTO

Primeramente a Dios y al Servicio autónomo Instituto de Altos Estudios “Dr. Arnoldo Gabaldón” (IAE), por el apoyo financiero y técnico en la realización del proyecto de investigación titulado: “Descripción morfométrica de *Haemoproteus* (*Parahaemoproteus*) *tyranni* en *Tyrannus melancholicus* de Venezuela”.

## REFERENCIAS

- Adams D. C., Slice D. F. & Rohlf F. J. (2004). Geometric Morphometrics: Ten Years of Progress Following the ‘Revolution’. *Ital. J. Zool.* **71**: 5-16.
- Atkinson C. T. & Van Riper III C. (1991). Pathogenicity and epizootiology of avian haematozoa: *Plasmodium*, *Leucocytozoon* and *Haemoproteus*. En: *Bird-parasite interactions: ecology, evolution and behavior*. Eds. Loye J. E, & Zuk M. Oxford: Oxford University Press.
- Bennett G. F, Garnham P. C. C & Fallis A. M. (1965). On the status of the genus *Leucocytozoon* Ziemann, 1898 and *Haemoproteus* Kruse, 1890 (Haemosporidiida: Leucocytozoidae and Haemoproteidae). *Can. J. Zool.* **43**: 927-932.
- Bennett G. F. & Campbell A. G. (1972). Avian Haemoproteidae I. Description of *Haemoproteus fallisia* n. sp. and a review of the haemoproteids of the family Turdidae. *Can. J. Zool.* **50**: 1269-1275.
- Bennett G. F., Caines J. R. & Whiteway M. A. (1986) Avian Haemoproteidae. 22. The haemoproteids

- of the New World flycatchers, the *Tyrannidae*. *Ibidem*, **64**: 774–777.
- Bennett G. F. & Pierce M. A. (1988). Morphological form in the avian Haemoproteidae and an annotated checklist of the genus *Haemoproteus* Kruse, 1890. *Journal of Natural History*. **22**: 1683-1696.
- Garnham P. C. C. (1966). *Malaria parasites and other Haemosporidia*. Oxford: Blackwell Scientific Publications.
- Forrester D. J. & Spalding M. G. (2003). *Parasites and diseases of wild birds in Florida*. Gainesville: University Press of Florida.
- Martinsen E. S., Perkins S. L. & Schall J. J. (2008). A three-genome phylogeny of malaria parasites (*Plasmodium* and closely related genera): evolution of life-history traits and host switches. *Mol. Phylogenet Evol.* **47**: 261-273.
- Péres-Tris J., Hasselquist D., Hellgren O., Krizanauskiene A., Waldenstrom J & Bensch, S. (2005). What are malaria parasites?. *Trends in Parasitology*. **21**: 209-211.
- Perkins S. L. & Schall J. J. (2002). A molecular phylogeny of malarial parasites recovered from cytochrome b gene sequences. *J. Parasitol.* **88 (5)**: 972-978.
- Santiago-Alarcon D., Palinauskas V. & Schaefer H. M. (2012). Diptera vectors of avian haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biol. Rev.* **87**: 928-964.
- Silva-Sánchez C. J., Arévalo C., Vilorio N. & Romero Palmera J. (2016). Prevalencia de hemoparásitos en aves silvestres, en zona oriental del estado Falcón, Venezuela 2013-2015. *Bol. Mal. Salud Amb.* **56(2)**: 172-184.
- Thompson J. N. (1994). *The coevolutionary process*. 2a edición. Ed. University of Chicago Press. Chicago, USA.

Recibido el 01/07/2019  
Aceptado el 28/11/2019