



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**Identificación de las especies de aves silvestres costeras portadoras de Virus
Influenza Aviar**

María Antonieta González Soto

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva
Animal

Fondecyt Iniciación 11190755

PROFESOR GUÍA: PEDRO JIMENEZ BLUHM
SANTIAGO, CHILE
AÑO 2021



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**Identificación de las especies de aves silvestres costeras portadoras de Virus
Influenza Aviar**

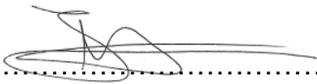
María Antonieta Gonzalez Soto

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva
Animal

Fondecyt Iniciación 11190755

Nota final:

Firma:

Profesor Guía:	Pedro Jimenez Bluhm	
Profesor Corrector:	Christopher Hamilton-West
Profesor Corrector:	Cristóbal Briceño Urzúa

AGRADECIMIENTOS

Comienzo por agradecer a todos quienes hicieron posible el realizar esta memoria de Título, en primer lugar, a mi profesor guía Pedro Jimenez, un maestro quien tuvo la paciencia de enseñarme todo lo que aprendí en este proceso y me dio la oportunidad de participar dentro de sus estudios, estaré eternamente agradecida.

También agradezco a todo el Equipo de Epidemiología EPIFAVET por todo el tiempo compartido y las experiencias vividas, destaco entre ellos a Pablo Galdames, mi amigo pajarero quien fue el que me integró dentro del equipo.

A mis amigas por acompañarme y apoyarme: Nicolle, Macarena, Rossana y Verónica.

Agradezco a mi familia por el apoyo brindado durante toda la carrera, en especial a mi Madre por estar siempre presente, por su amor incondicional, todos mis logros son tus logros.

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT.....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
HIPÓTESIS.....	14
OBJETIVOS GENERALES.....	14
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	
• Sitios de Muestreo.....	15
• Toma de Muestras.....	16
• Procesamiento de Muestras.....	17
• Amplificación Gen COI.....	18
• Búsqueda hospederos Virus Influenza Aviar.....	20
RESULTADOS	
• Resultados Objetivo N° 1.....	21
• Resultados Objetivo N° 2.....	23
• Resultados Objetivo N° 3.....	24
DISCUSIÓN.....	25
CONCLUSIONES.....	30
BIBLIOGRAFÍA.....	32
ANEXOS 1	
• Tabla 1: Especies de Aves Charadriiformes encontradas en Bases de Datos y Bibliografía positivas a VIA.....	38
• Tabla 2: Muestras positivas a Virus Influenza Aviar e Identificación de especies según Códigos de Barra.....	55
ANEXOS 2	
• Descripción Chorlo Semipalmado.....	55
• Descripción Gaviota Dominicana.....	57
• Descripción Gaviota Cáhuil.....	59
PLANIFICACIÓN.....	61

RESUMEN

Los reservorios naturales del virus influenza aviar (VIA) son las aves acuáticas, principalmente aquellas pertenecientes al orden Charadriiformes y Anseriformes. A pesar de recibir una gran cantidad de aves migratorias durante primavera-verano, pocas especies Charadriiformes (11) son reconocidas como reservorios del VIA en Chile. El objetivo de este estudio es describir nuevos hospederos del VIA del orden Charadriiformes en Chile y describir aquellas especies de aves costeras hospederas del VIA que se encuentran en literatura y bases de datos en Chile y Sudamérica.

Desde enero 2020 a diciembre 2021, heces frescas de aves silvestres fueron colectadas desde diferentes humedales de Chile, todos los sitios son reconocidos como áreas importantes de congregación de aves en Chile. Para la identificación de los hospederos, las muestras positivas a VIA fueron analizadas por códigos de barra mediante secuenciación del gen mitocondrial citocromo C oxidasa I (COI). Las especies fueron asignadas mediante BLAST y BOLD.

A través de este proyecto de investigación fue posible identificar una nueva especie hospedera del VIA para Chile y Sudamérica *Charadrius semipalmatus*, especie migratoria interhemisférica que visita nuestro país en primavera-verano. Este estudio sugiere que la especie más prevalente identificada como hospedera del VIA es *Larus dominicanus*, una especie que está cercanamente relacionada a las actividades humanas por lo que representa un potencial factor de riesgo de zoonosis y para diseminar el virus a otros animales.

Estos resultados resaltan la importancia de continuar con vigilancia activa y la identificación de nuevas especies hospederas para estar atentos a posibles pandemias y para entender más la ecología del VIA en la región.

Palabras clave: Influenza, VIA, aves costeras, Charadriiformes, códigos de barra, Chile.

ABSTRACT

The natural reservoir of avian influenza viruses (AIV) are wild aquatic birds, mainly those belonging to the order Charadriiformes and Anseriformes. Despite of receiving a plethora of migratory birds during the southern spring migration, only a few species Charadriiformes (11) are recognized as reservoirs of IAV in Chile. The aim of this study is to describe new host AIV species of the order Charadriiformes in Chile and described so far in the literature and in databases the species of shorebirds that are host of the AIV in Chile and South America.

From January 2020 to December 2021, fresh feces of wild birds were collected from different wetlands across Chile. All sampled sites are recognized as important areas of wild bird concentration in Chile. For the identification of host species, AIV positive samples were analyzed by genetic barcoding by sequencing the mitochondrial cytochrome C oxidase I gene (COI). Host species were assigned by BLAST and BOLD.

Through this research project it has been possible to identify a new AIV host species for Chile and South America, *Charadrius semipalmatus*, an interhemispheric migratory species that visit our country in spring-summer. This study suggests that the most prevalent species identified as the host of AIV is *Larus dominicanus* a species which is closely related to human activities which is why it represents a potential risk factor for zoonoses and for the spread of the virus to other groups of animals.

These results highlight the importance of continuing active surveillance and the identification of new host species to be alert to potential outbreaks and to understand the ecology of AIV in the South American region.

Keywords: Influenza, AIV, shorebirds, Charadriiformes, barcoding, Chile.

INTRODUCCIÓN

La Influenza Aviar (VIA) es una patología de gran importancia debido a su impacto en la industria avícola, aves silvestres y la salud pública, ya que pueden producirse transmisiones entre aves o desde mamíferos domésticos a seres humanos (Webster *et al.*,1992; Morens *et al.*, 2013).

Muchas especies son susceptibles al virus influenza, incluyendo aves de corral y aves silvestres. Las aves acuáticas son los reservorios naturales de los virus de la Influenza A y son las responsables de su evolución y diseminación, a través de sus movimientos de migración entre continentes y sus concentraciones de alta densidad en sus sitios de descanso (Olsen *et al.*,2006). Las aves del orden Anseriformes (patos y gansos) y Charadriiformes (aves costeras, gaviotas, gaviotines) son las principales portadoras del virus en aves silvestres. En los primeros, se ha demostrado que son fundamentales para el mantenimiento a largo plazo de VIA, mientras que las aves costeras se consideran importante por su diseminación a través de largas distancias, pero en una escala de tiempo más corta (Bahl *et al.*, 2013).

Chile, debido a su geografía y amplia costa, ofrece sitio de invernada para muchas aves playeras las cuales llegan motivadas por la alimentación y las condiciones climáticas adversas (Boyle, 2006; Tala G., 2006), por lo que es de importancia la vigilancia epidemiológica y la ampliación del conocimiento sobre aquellas especies que podrían ser capaces de producir algún brote de VIA y la emergencia de nuevas variantes. Algunas de las especies de aves costeras ya identificadas como portadoras de virus influenza aviar en Chile son, *Numenius phaeopus*, *Haematopus palliatus*, *Haematopus ater*, *Himantopus mexicanus*, *Larus dominicanus*, *Leucophaeus pipixcan* y *Pluvialis squatarola* (Jiménez-Bluhm *et al.*, 2018; Mathieu *et al.*,2015).

La identificación molecular de dichas especies portadoras del virus se realiza mediante la técnica de amplificación de Citocromo C Oxidasa I (COI), una vez que se determine que son positivas a VIA mediante PCR. Esta técnica se basa en el uso de una región estandarizada de ADN la cual consta de 648 pares de bases del gen mitocondrial COI, la cual es una forma de identificación de especies la cual está comprobado su éxito en aves (Hebert *et al.*,2003; Hebert *et al.*, 2004; Ratnasingham y Hebert, 2007). Para identificar las especies se toma como referencia bases de datos, una de ellas corresponde a BLAST, la cual es una herramienta que permite comparar secuencias de nucleótidos o proteínas con bases de datos de secuencias para así identificar especies (Alstchul *et al.*,1990).

Esta memoria de título pretende aumentar los conocimientos sobre las especies de aves costeras positivas al Virus Influenza Aviar en humedales costeros del norte, centro y sur de nuestro país, por lo que se podrá apreciar si varían geográficamente en cuanto a la abundancia y diversidad, conocer si corresponde a especies migratorias o residentes y otras características que ayudarán a comprender mejor la epidemiología del virus, la cual podría diferir con estudios realizados en países vecinos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La influenza aviar (VIA) es una enfermedad de las aves causada por la infección del virus Influenza, perteneciente a la familia *Orthomyxoviridae*, género *Alfainfluenzavirus*, correspondiente a virus RNA (-) de hebra simple y de rápida mutación. Existen 4 tipos de virus influenza A, B C y D, siendo el tipo A el que incluye a VIA. (Webster *et al.*,1992 citado por Jiménez-Bluhm, P. *et al.*,2018).

El virus de Influenza Aviar (VIA) es un patógeno cosmopolita el cual genera una enfermedad de gran importancia económica, además de tener el potencial de amenazar tanto la vida silvestre, agricultura y la salud humana, debido a las interacciones cercanas que se generan entre las partes lo que puede llevar a eventos zoonóticos y pandémicos (Morens *et al.*, 2013 citado por Jiménez-Bluhm, P. *et al.*,2018).

Muchas especies de aves son susceptibles al VIA, incluyendo las aves de corral y aves silvestres, las aves acuáticas especialmente del orden Anseriformes (patos, gansos y cisnes) y Charadriiformes (gaviotas, gaviotines y chorlos), que se consideran los reservorios naturales de VIA (Olsen *et al.*,2006; Webster *et al.*, 1992).

La principal vía de transmisión entre las aves corresponde a la vía fecal-oral, con el contacto directo entre aves infectadas y susceptibles y el consumo de agua contaminada con heces con VIA (Swayne y Suarez, 2000 citado por Jiménez-Bluhm, P. *et al.*,2019).

La enfermedad en las aves tiene dos formas basadas en su virulencia y presentación clínica: Alta Patogenicidad (IAAP) y Baja Patogenicidad (IABP), en estos últimos por lo general la enfermedad tiene presentación subclínica, mientras que IAAP se presenta como enfermedad sistémica altamente contagiosa con una alta morbilidad y mortalidad que puede alcanzar el 100% en aves de corral (Swayne y Suarez, 2000 citado por Jiménez-Bluhm, P. *et al.*,2019). Se describe que las cepas de IABP pueden mutar a una cepa de IAAP (Capua y Alexander, 2009).

Los virus de la Influenza A se dividen en subtipos de acuerdo con dos proteínas de la superficie del virus: la hemaglutinina (HA) y la neuraminidasa (NA). Antes de 2011 se describían 16 HA antigénicamente diferentes (H1-H16) y 9 NA, todos encontrándose en aves acuáticas como reservorios. Luego se identificaron 2 nuevos subtipos en murciélagos frugívoros H17N10 y H18N11 (Kuchipudi y Nissly, 2018). Existen 144 combinaciones diferentes posibles de las proteínas HA y NA (CDC, 2017), sin embargo, actualmente solo

se ha asociado a los subtipos H5 y H7 a cuadros de alta patogenicidad (Swayne y Suarez, 2000 citado por Jiménez-Bluhm, P. *et al.*, 2019).

Chile cuenta con más de 4.000 km lineales de costa, por lo mismo es un sitio predilecto por miles de aves playeras las cuales migran desde el hemisferio norte, motivadas por una menor disponibilidad de alimento en su lugar de origen y además evitar condiciones climáticas extremas (Boyle, 2006; Tala, 2006), trayendo con ellas un potencial para la aparición de nuevas cepas de influenza debido a sus aglomeraciones en sus sitios de invernada (Bravo-Vásquez *et al.*, 2016). Estudios previos realizados por el grupo de investigación de la Unidad de Epidemiología de Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile han obtenido resultados donde se destaca el riesgo de propagación de VIA desde las aves silvestres a los animales domésticos mantenidos en sistemas de traspatio en nuestro país, haciendo hincapié que aquellos que están cercanos a humedales tienen mayor riesgo que en aquellos que están más alejados debido a la abundancia de las aves acuáticas (Bravo-Vásquez *et al.*, 2016; Bravo-Vásquez *et al.*, 2020; Jimenez-Bluhm *et al.*, 2018).

La Convención sobre los Humedales de Importancia Internacional, conocida como la Convención de RAMSAR, corresponde al principal instrumento de cooperación internacional para la protección y uso racional de humedales en la cual Chile es miembro desde 1981, define a las aves acuáticas como a aquellas especies que dependen ecológicamente de los humedales (Secretaría de la Convención de Ramsar, 2006). Las aves silvestres acuáticas como se nombró anteriormente tienen un papel clave en la ecología del VIA, ya que se reconocen como reservorios naturales de la mayoría de los subtipos descritos en la forma de IABP teniendo el potencial de diseminarlo cuando estas migran dentro y entre el continente (Olsen, *et al.*, 2006).

Por lo tanto, podemos preguntarnos ¿Cuáles son las especies acuáticas hospederas del virus en el país? Considerando que en el territorio se tienen al menos 72 especies migratorias de diferentes órdenes (Tala, 2006), además de las especies residentes costeras, es muy importante ampliar el conocimiento sobre cuáles son aquellas especies que potencialmente podrían ser partícipe de un brote de VIA, ya que si bien se tienen algunas identificadas (Jimenez-Bluhm *et al.*, 2018; Jimenez-Bluhm *et al.*, 2019) son un pequeño porcentaje en cuanto al total de especies presentes. Además, se podrá comparar con los resultados de otros países sudamericanos.

Según Jimenez-Bluhm et al., 2018 Chile pareciera ser el punto de confluencia donde las distintas cepas de VIA de Norte América y Sudamérica se entremezclan, mientras que en estudios realizados en Argentina de acuerdo con los análisis filogenéticos de una vigilancia activa durante 2006-2007 sugiere que al menos 1 de los VIA pudo haber evolucionado de forma independiente, mientras que otros estarían relacionados con los aislados tanto en Chile como en Bolivia (Pereda et al.,2008).

Por este motivo, es que se estima necesario aumentar el conocimiento sobre cuáles son las especies de aves costeras hospederas del virus, ya que son escasos los estudios que existen actualmente en el país y en Latinoamérica, además que dichas especies podrían estar asociadas a un potencial brote y la emergencia de nuevas variantes de VIA. Existen varios órdenes taxonómicos que se pueden asociar como aves acuáticas, dentro de ellas podemos agrupar a las aves marinas y las aves playeras, pero con el fin de esta memoria de título se considerarán a las aves costeras como objeto de estudio, poniendo énfasis en los Charadriiformes (gaviotas, gaviotines, chorlos, zarapitos) siendo algunas migratorias y otras residentes (Figura 1).

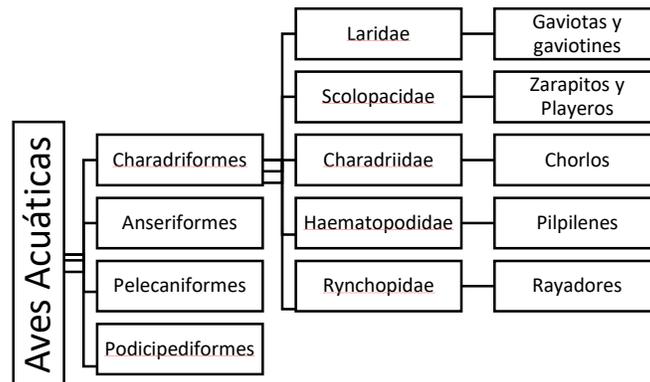


Figura 1. Clasificación de aves acuáticas. Algunos órdenes de aves que se consideran aves acuáticas, destacando el orden de los Charadriiformes, grupo objetivo de este estudio, indicando algunas de las familias y especies que se considerarán como Aves Costeras. Elaboración propia.

Por lo tanto, se realizará esta memoria con el fin de desarrollar mayor conocimiento sobre cuáles son las especies acuáticas costeras hospederas del VIA en humedales costeros de Chile, a través de la recolección de muestras ambientales de heces analizadas mediante PCR para determinar si son positivas a Influenza, posterior a esto, mediante la técnica de ampliación de Citocromo C Oxidasa I se determinarán las especies que dieron positivo a VIA.

El desarrollo de esta técnica conocida como el Código de Barras de ADN, se basa en el uso de una región del ADN estandarizada, de 648 pares de bases del gen mitocondrial Citocromo C Oxidasa I (COI) la cual sirve para la identificación rápida de especies ya que permite distinguir entre variación interespecífica (entre especies relacionadas) y variación intraespecífica (dentro de la misma especie). La región COI presenta una alta tasa de sustitución, lo que se manifiesta en alta variación de la secuencia entre especies del mismo género. Esta región se obtiene fácilmente y las secuencias tienen un alto nivel de diversidad que permite la asignación confiable de organismos a las categorías taxonómicas, la cual en varios estudios se ha demostrado su éxito en la identificación de aves (Hebert *et al.*, 2003; Hebert *et al.*, 2004) (Figura 2).

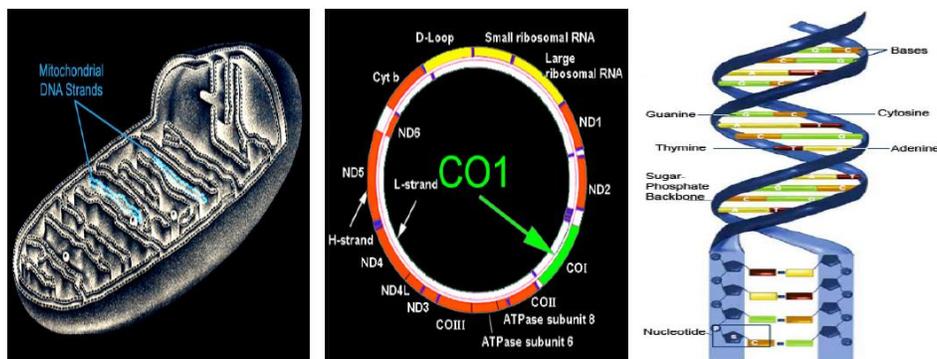


Figura 2. Ubicación de COI en célula. A) Mitocondria; B) Localización de la subunidad Citocromo C Oxidasa I (COI) en una hebra de ADN mitocondrial; C) Bases de nucleótidos en una cadena de ADN mitocondrial. Imágenes proporcionadas por el Laboratorio Hebert y el Instituto Nacional de Ciencias Médicas (Anderson, 2009).

Este método se está utilizando desde hace algunos años para conocer el estado de conservación de poblaciones especies, diferenciar especies crípticas o reconocer nuevas especies. (Hebert *et al.*, 2003), como también realizar estudios en genética de poblaciones, estudio de comunidades, manejo de plagas, control de tráfico ilegal de especies, ecología y otros (Paz *et al.*, 2011).

La identificación de especies a partir de códigos de barras requiere de una gran base de datos de referencia, la que permita asignar las secuencias de procedencia desconocida a secuencias de organismos previamente descritos con una alta probabilidad de aciertos. Una de ellas corresponde a la base de datos de Barcode of Life Data Systems o BoLD, la cual es una base de datos pública que recopila el nombre de la especie, datos del Voucher (número de catálogo e institución), información de la colecta con sus datos geográficos, secuencia de COI de mínimo 500 pb, los partidores utilizados en la Reacción en Cadena

de la Polimerasa (PCR) y los cromatogramas, además de fotografías de los especímenes (Ratnasingham y Hebert, 2007).

Para realizar la identificación de especies a través de este método se toma como referencia una base de datos y se define previamente la metodología que se utilizará. Los métodos más utilizados son: a) a través de divergencia genética, la cual está determinada por el porcentaje de sitios nucleotídicos que varían entre la secuencia desconocida y la base de datos, corregida por el modelo de sustitución nucleotídica Kimura 2 (Paz *et al* 2011). Una divergencia entre secuencias de COI mayor a 2% indica una posible presencia de especies distintas (Hebert *et al.*, 2003; Hebert *et al.*, 2004); b) otra forma de realizar la identificación es a través de árboles filogenéticos y su cercanía evolutiva con otras secuencias de ese grupo monofilético; c) a través de sinapomorfía (carácter nuevo compartido por 2 o más individuos) permitiendo un diagnóstico de especies por estados derivados de nucleótidos; d) otro método corresponde a identificar grupos o clusters de códigos de barras de ADN por medio de análisis coalescentes, para detectar cambios significativos en las tasas de coalescencia a través de una genealogía de códigos de barras (Paz *et al.*,2011). Finalmente, un método muy usado es la identificación del material genético a través de la base de datos GenBank con la aplicación en línea BLAST para identificar las secuencias similares (Altschul *et al.*, 1990). Entre las ventajas de esta técnica destacan el menor costo en comparación con marcadores nucleares, la existencia de partidores universales para el uso de código de barras del ADN, el esfuerzo de muestreo es menor en comparación con otras técnicas y por último que la información genética es obtenida a partir de un pequeño fragmento del organismo (Petit-Marty *et al.*, 2021). El uso de códigos de barra de ADN a través del uso de una secuencia COI es un sistema de identificación de especies la cual ha sido probada con anterioridad en aves, la creciente evidencia de su efectividad respalda su uso de manera internacional con impactos en diferentes áreas, en este caso aportará en la epidemiología y vigilancia del virus influenza aviar en Chile.

HIPOTESIS

En Chile hay una mayor diversidad de especies de aves costeras del orden Charadriiformes que son hospederas del virus influenza A, a la que se ha descrito en estudios realizados en Sudamérica hasta el año 2021 inclusive.

OBJETIVOS GENERALES

Identificar las especies de aves costeras del orden Charadriiformes hospederas del Virus Influenza Aviar en ocho humedales costeros de Chile entre 2020-2021 y determinar aquellas que no han sido descritas anteriormente en estudios en el continente sudamericano.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar las especies de aves costeras del orden Charadriiformes hospederas del virus influenza A en Chile descritas hasta el momento en la literatura y en bases de datos.
- Determinar diferencias entre la variedad de especies costeras hospederas del virus influenza A descritas previamente en Chile con las halladas en ocho humedales costeros de Chile entre 2020 y 2021.
- Comparar resultados con otros países de Sudamérica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de Muestreo

Los sitios se seleccionarán en base a la biodiversidad de aves presente en cada lugar, según abundancia y riqueza tanto de aves residentes como migratorias de las cuales se reconoce que podrían ser potenciales reservorios de VIA.

Se preestablecieron 8 puntos de muestreo en nuestro país, como se indica en la figura N°3, fundamentalmente en desembocaduras de ríos, en la zona norte la desembocadura del Río Lluta, zona central con dos puntos la desembocadura del Río Aconcagua y Maipo y por último en la zona austral 4 puntos distintos al sur de la ciudad de Punta Arenas: Leñadura, Río Blanco, Tres Brazos e Isla Magdalena.



Figura 3: Lugares de muestreo. Mapa obtenido desde Google Maps.

- Desembocadura Río Lluta (Región: Arica y Parinacota; Provincia: Arica; Comuna: Arica. Coordenadas: Latitud -18.414333° , Longitud -70.324193°)

Santuario de la Naturaleza, hábitat fundamental para la concentración y diversidad de avifauna local como migratorias. Se han registrado 126 especies de aves, distribuidas en 14 órdenes de las cuales 81 son acuáticas (MMA, 2012). Considerado Reserva Natural Municipal, reconocido como Sitio Ramsar y sitio de importancia regional por la RHRAP (García-Walther *et al.*, 2017).

- Desembocadura Río Maipo (Región: Valparaíso; Provincia: San Antonio; Comuna: Santo Domingo. Coordenadas: Latitud -33.619793° , Longitud -71.628365°)

Considerado como Área importante para la Conservación de las Aves por BirdLife, Sitio de Importancia Regional de la Red Hemisférica de Reservas para Aves Playeras y sitio de importancia para la Estrategia de Conservación de las Aves Playeras de la Ruta del Pacífico de las Américas. Se han registrado 180 especies de aves (MMA, 2020). Conformado por una serie de lagunas estacionales, bancos de arena, vegas, pajonales, pantanos, playas y dunas. (García-Walther *et al.*, 2017).

- Desembocadura Río Aconcagua (Región: Valparaíso; Provincia: Valparaíso; Comuna: Concón. Coordenadas: Latitud -32.917778°, Longitud -71.508889°)

Reserva Natural Municipal, el humedal alberga más de 70 especies de aves migratorias y residentes (Municipalidad de Concón, 2018)

- Punta Arenas (Región: Magallanes; Provincia: Punta Arenas, Comuna: Punta Arenas. 4 sitios de muestreo, Tres Brazos Coordenadas: Latitud -53,272661°, Longitud -70,938926 Leñadura Coordenadas: Latitud -53,232144°, Longitud -70,938926°, Río Blanco Coordenadas: Latitud: -53,12102, Longitud: -70,56092, Isla Magdalena Coordenadas: Longitud -52,9192734, Longitud: -70,5771782°).

Corresponden a en su mayoría desembocaduras de río las cuales son sitios importantes de concentración de aves costeras.

Por otro lado, se realizó muestreo también dentro del La Isla Magdalena dentro del Monumento Natural Los Pingüinos específicamente en la Isla Magdalena. Esta unidad destaca por la protección de flora y fauna como gaviotas dominicanas, albatros de ceja negra, pingüinos entre otros (CONAF, s/f).

Toma de Muestras

En primera instancia al llegar al sitio de muestreo se realizó un censo para identificar a las especies que potencialmente estarán dentro de las muestras. La lista fue subida a la plataforma eBird como respaldo.

Las muestras son ambientales, lo cual quiere decir que fueron obtenidas a través de heces frescas detectadas de manera visual, donde previamente se encontraban aves ya sea descansando o alimentándose en el borde costero. Para la obtención de las muestras se utilizaron hisopados FloqSwabs (COPAN, Italia) frotando y rotando este sobre la superficie de las heces y luego se introdujo al crioval (UTM Transport Medium for Viruses, COPAN, Italia) que contiene un medio de transporte, luego fueron almacenados a 4°C hasta su análisis. Se colectaron al menos 186 muestras por sitio, según la fórmula 1. Asumiendo que en cada sitio se obtuvieron al menos 1000 muestras de heces frescas, para obtener al menos una muestra positiva asumiendo una prevalencia del 1,3% y con un nivel de confianza de 95% (Jiménez-Bluhm *et al.*, 2018).

Fórmula 1:

$n = (1 - (\alpha)^{1/D}) * (N - (D-1) / 2)$ (Dohoo *et al.*, 2009 citado por Jiménez-Bluhm *et al.* P. 2018).

Donde:

n = tamaño de muestra necesario

N = tamaño población

D = número mínimo estimado de aves enfermas en el grupo

α = 1- nivel de confianza

Tabla 1. Lugar y Fecha de los muestreos incluidos en esta tesis con total de muestras y Prevalencia de Virus Influenza Aviar. Elaboración propia.

Lugar toma de muestras	Fecha	Estación	Total de muestras	Positivos a VIA	Prevalencia VIA
Concón	22-01-2020	VERANO	762	19	2,49
Leñadura	10-03-2020	VERANO	256	13	5,07
Tres Brazos	11-03-2020	VERANO	192	3	1,56
Isla Magdalena	12-03-2020	VERANO	192	5	2,60
Arica	1-10-2020	PRIMAVERA	384	15	3,90
Arica	2-10-2020	PRIMAVERA	384	1	0,26
Maipo	28-01-2021	VERANO	186	8	4,30
Maipo	2-02-2021	VERANO	133	3	2,2
Leñadura	7-03-2021	VERANO	256	45	17,5
Tres Brazos	8-03-2021	VERANO	256	12	4,68
Río Blanco	8-03-2021	VERANO	128	11	8,59
Río Blanco	11-03-2021	VERANO	124	6	4,83
Maipo	31-08-2021	INVIERNO	186	8	4,30
Arica	12-10-2021	PRIMAVERA	384	8	2,08
Maipo	25-10-2021	PRIMAVERA	186	1	0,53
Maipo	29-12-2021	VERANO	186	4	2,1

Procesamiento Muestras

Se extrajo el ARN viral de las muestras, se procesó y analizó por la técnica de la Polimerasa en Cadena con Transcripción Reversa a Tiempo Real (RT-qPCR) en búsqueda de presencia de virus Influenza A por parte del grupo de investigación de epidemiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Chile (EPIFAVET). Dicho material genético quedó almacenado para otros estudios a -80°C, el que en este caso se utilizó para el desarrollo de esta memoria de título. Desde la base de datos EPIFAVET se seleccionaron

aquellos con un valor de Ct <34. Se escogió este valor ya que es el límite para lograr secuenciar el virus.

Amplificación del gen COI

Se utilizó el kit de síntesis de ADNc Invitrogen™ SuperScript™ VILO™ para generar ADNc a partir de ARN de las muestras positivas a Influenza. Este kit contiene una mezcla de enzimas 10X SuperScript™ incluye SuperScript™ III RT, un inhibidor de ribonucleasa recombinante RNaseOUT™ y una proteína auxiliar patentada. La mezcla de reacción 5X VILO™ incluye cebadores aleatorios, MgCl₂ y dNTP en una formulación de tampón que se ha optimizado para qRT-PCR.

Se utilizó 4 µl de 5X VILO™, 2 µl de enzimas 10X SuperScript™, 9 µl de agua y 5 µl de ARN para un total de 20 µl. Se centrifugó por algunos segundos para mezclar los competentes y posteriormente se incubaron en un termociclador Gene Explorer de Bioer Technology™ a 25°C x10 minutos, luego a 42°C por 120 minutos para finalizar a 85° por 5 minutos.

Para amplificar el ADNc se utilizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) anidado, lo que implica dos rondas de amplificación con 40 ciclos cada una y con dos pares de partidores distintos en cada ciclo.

Se agregaron en un tubo para PCR todos los componentes para una reacción total de 25 µl: 0,5 µl Forward Primer (1F), 0,5 µl Reverse Primer 0,5 µl (2R), One *Taq* 2x Master Mix con Buffer estándar 12,5 µl, agua libre de nucleasa 7,5 µl y 4 µl de ADNc producto de la reacción con VILO (Tabla. 1)

Una vez colectados los volúmenes se mezclaron y se colocaron en centrífuga por unos minutos para ser llevados al Termociclador Gene Explorer de Bioer Technology™ el cual debe estar precalentado a 94° C. El primer paso es la desnaturalización inicial la cual es a una temperatura de 94°C durante 2 minutos, luego siguen 40 ciclos de 94°C por 30 segundos, 50°C por 40 segundos, 68°C por 40 segundos y finalmente 10°C en espera a la nueva reacción de PCR con distintos partidores. Para la segunda ronda también con un total de 25 µl, se utilizó la misma cantidad total de 0,5 µl para cada partidador 10 µl Forward Primer (3F) y 0,5 µl de 10 µM Reverse Primer (4R), One *Taq* 2X Master Mix con Buffer Estándar 12,5 µl, 10,5 µl de agua libre de nucleasa y 1 µl de ADN. Se centrifugó y se llevó al termociclador para repetir los ciclos realizados anteriormente. Una vez finalizado se mantuvieron refrigerados los productos PCR.

Posterior a los PCR se realizó electroforesis en gel de agarosa, lo cual permitió separar moléculas cargadas en función de su tamaño, en este caso de un peso molecular conocido. Se preparó el gel de agarosa con solución buffer al 1x en agua destilada, agregando agarosa 1,5 gramos para una preparación de 150 ml. Luego se añadió Gel Red dejando enfriar en el molde que fue sumergido en una solución tampón en la Cámara de Electroforesis. En el gel ya enfriado se añadieron 5 μ l de escalera molecular de manera de indicar el tamaño molecular deseado. Se intercalaron con el material genético en cantidad de 25 μ l mezclado con 4 μ l de loading previamente en un papel de parafina antes de colocarlos en el gel. Luego se configuró la máquina de electroforesis a 120V por 30 minutos aproximadamente a que el ADN migre por el gel.

Una vez transcurrido el tiempo, se visualizó con una lámpara UV, para luego cortar cada fragmento y proceder a la purificación, para ello utilizaremos el kit Zymoclean^{MR} Gel DNA Recovery. Cada fragmento fue cortado con bisturí individualmente y luego fue traspasado a un tubo de 1.5 ml y se añadirá 3 volúmenes (3x300 μ l) por cada volumen del fragmento de gel de agarosa. Luego fue incubado en una Digital Block Heater previamente precalentado a 48°C hasta que el fragmento de gel fue disuelto totalmente. Luego, la solución derretida fue transferida al tubo de colección dentro de una columna de Zymo-Spin^{MR}, se llevó por 30 segundos a una centrifuga de eppendorf a 12000 g, descartando el líquido que queda en la columna. Se realizó el lavado con 200 μ l de DNA Wash Buffer añadido a la columna, centrifugado por 30 segundos, descartando el líquido repitiendo este paso nuevamente. Finalmente se añadió 6 μ l de DNA Elution Buffer directamente a la columna, colocando un tubo de 1,5 ml centrifugando por última vez durante 30 segundos obteniendo el producto final. Aquellas muestras que al momento de realizar la electroforesis no mostraban bandas o en aquellos casos que las bandas no correspondían al peso molecular buscado, se decidió el repetir los pasos de PCR anteriormente descritos.

Finalmente, se midió su concentración en un espectrofotómetro de cuantificación de ADN y ARN MaestroGen, midiendo una cantidad de 2 μ l de muestra de ácido nucleico bicatenario. También se estimó la pureza de la muestra a través de la medición de la proporción entre la absorbancia a 260nm y 280nm, lo que debería arrojar un valor esperado de aproximadamente 1.8, indicando que la muestra no está contaminada ni con proteínas ni con ARN. Una vez que fueron determinadas las concentraciones de material genético de cada muestra, estas fueron enviadas a secuenciar a la empresa MacroGen por secuenciación tipo SANGER. Una vez obtenidas las secuencias, estas fueron analizadas

con el software BioEdit versión 7.2.5. Las secuencias fueron almacenadas en formato FASTA e identificadas a través de la página web BLAST (Alschul *et al.*,1990), identificándose de esta manera la especie a la que pertenece el segmento genético.

Búsqueda de hospederos de VIA

Para completar la búsqueda de hospederos aviares de VIA a nivel nacional y regional, se realizó una búsqueda en literatura y bases de datos de todas las especies descritas en Chile y Sudamérica hospederas del Virus Influenza A. Las bases de datos que se utilizaron para este propósito fueron:

- a) NCBI (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- b) FLUDB (<https://www.fludb.org/>)
- c) GISAID (<https://www.gisaid.org/>)

Para su búsqueda se definieron los siguientes filtros de palabras claves: Tipo: A, Hospedero: Aves, País/Región: Sudamérica, Proteína: cualquiera, Subtipo H/N: Cualquiera.

RESULTADOS

Objetivo N°1 Identificar las especies de aves costeras del orden Charadriiformes hospederas del virus influenza A en Chile descritas hasta el momento en la literatura y en bases de datos.

Del total de especies dentro del Orden Charadriiformes, las cuales corresponden a la definición de aves costeras que son hospederas del virus influenza A en Sudamérica, existe representación de 5 familias en la búsqueda e identificación a través de bibliografía y bases de datos (NCBI, FLUDB, GISAID), siendo nombradas a continuación de manera creciente según número de especies por familia: Recurvirostridae (1), Charadriidae (1), Haematopodidae (2), Scolopacidae (7) y Laridae (7). (Figura 4).

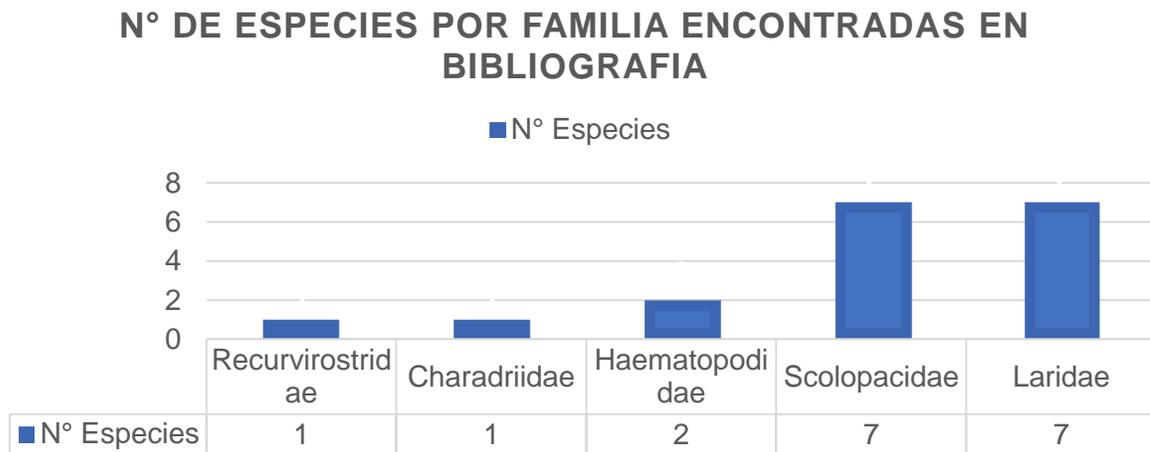


Figura 4: N° de especies de aves Charadriiformes encontradas por familia en Sudamérica según bibliografía y Bases de Datos (FLUDB, GISAID, NCBI). Elaboración propia.

Los países de los cuales se obtuvieron los datos corresponden a Chile 65% (81/124), Perú 19% (24/124), Brasil 15% (18/124) y Argentina 1% (1/124). (Figura 5).

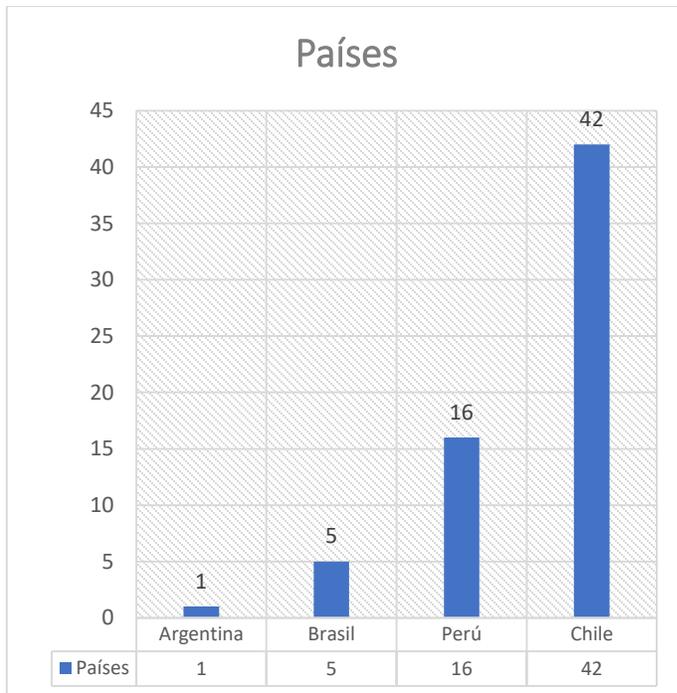


Figura 5: Países de obtención de datos. Encontrados mediante bases de datos y bibliografía de especies de aves costeras del orden Charadriiformes hospederas del virus influenza aviar. Gráfico de elaboración propia y Mapa obtenido desde Google Maps.

Se encontraron 124 datos de diferentes especies de aves costeras Charadriiformes en la revisión de las bases de datos y bibliografía, el detalle de las especies que se han encontrado positivas a virus influenza A en Sudamérica se pueden ver en la **Tabla 1** junto a detalles como la Cepa, Fecha, Año y referencia desde donde se obtuvo.

Son 18 especies Charadriiformes portadoras del virus influenza A encontradas en la bibliografía para Sudamérica. La especie que cuenta con más reportes como hospedera del VIA corresponde a *Larus dominicanus* con 23% (29), continúan de manera decreciente *Leucophaeus pipixcan* 14% (17), *Numenius phaeopus* 10% (12), *Arenaria interpres* 9% (11), *Rynchops niger* 8% (10), *Haematopus palliatus* 8% (6), *Calidris fuscicollis* 6% (8), *Chroicocephalus maculipennis* 4% (5), *Himantopus mexicanus* 3% (4), *Haematopus ater* 2% (2), *Calidris canutus* 2% (2), *Thalasseus scoresbii* 2% (2), *Pluvialis squatarola* 1% (1), *Calidris pusilla* 1% (1), *Actitis macularia* 1% (1), *Tringa semipalmata* 1% (1), *Leucophaeus scoresbii* 1% (1), *Sterna hirundo* 1% (1), además se encontró un 6% (8) que correspondía a Gaviotas sin identificar.

Objetivo N° 2 Determinar diferencias entre la variedad de especies costeras hospederas del virus influenza A descritas previamente en Chile con las halladas en ocho humedales costeros de Chile entre 2020 y 2021.

A partir de 104 muestras analizadas por secuenciación (Tabla 2), en 94 de ellas se logró asignar correctamente la especie a la cual correspondía la muestra. Se logró identificar 10 especies de aves agrupadas en 3 órdenes, Charadriiformes (5), Anseriformes (4) y Phoenicopteriformes.(1) Las especies fueron las siguientes para el orden Charadriiformes: Gaviota Dominicana, *Larus dominicanus* 64% (58), Gaviota cáhuil, *Chroicocephalus maculipennis* 10% (10), Perrito, *Himantopus mexicanus* 2% (2), Pilpilén, *Haematopus palliatus* 1% (1), Chorlo semipalmado, *Charadrius semipalmatus* 1% (1), para el orden Anseriformes: Pato jergón chico, *Anas flavirostris* 12% (12), Pato colorado, *Spatula cyanoptera* 4% (4), Pato jergón grande, *Anas georgica* 3% (3), Pato juarjual, *Lophonetta specularoides* 1% (1) y por último para el orden Phoenicopteriformes: Flamenco chileno, *Phoenicopus chilensis* 1% (1). (Figura 6)

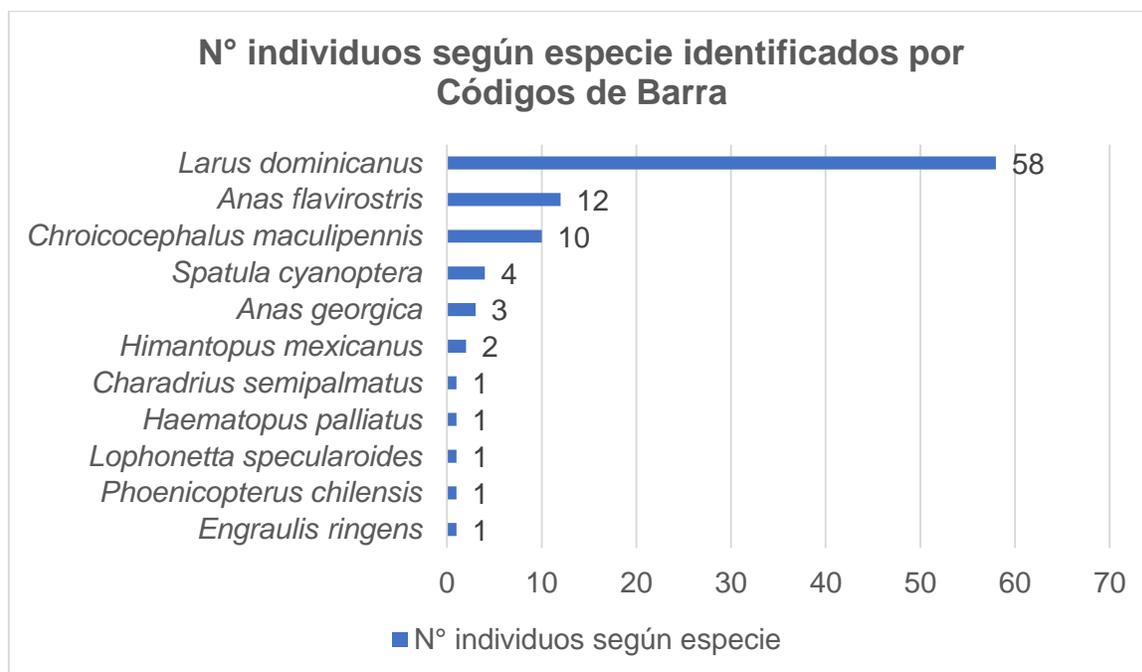


Figura 6. Número de individuos identificados por Códigos de Barra según especies portadoras del virus influenza A. Elaboración propia.

Objetivo N° 3 Comparar resultados con otros países de Sudamérica.

Al comparar los resultados obtenidos mediante Códigos de Barra (CB) y los obtenidos en la revisión de bibliografía y especies depositadas en bases de datos (RB) se encontraron el siguiente número de especies por familia: Laridae 2 (CB), 7 (RB), Scolopacidae 7 (RB), Haematopodidae 1 (CB), 2 (RB), Charadriidae 1 (CB), 1 (RB) y Recurvirostridae 1 (CB) y 1 (RB). (Figura 7)



Figura 7. Comparación de resultados según Códigos de Barra y Publicaciones o Bases de datos, n° de especies según familias de aves Charadriiformes portadoras del virus influenza A. Elaboración propia.

Las especies que se encuentran en ambos objetivos corresponden a *Larus dominicanus*, *Chroicocephalus maculipennis*, *Himantopus mexicanus*, *Haematopus palliatus*, además la especie predominante corresponde a *Larus dominicanus* en ambos objetivos.

A las 18 especies ya identificadas para Sudamérica como portadoras del virus influenza aviar se suma una especie de la familia Charadriidae no registrada antes a nivel continental, corresponde a un ave migratoria la cual reside en su época reproductiva en Norteamérica, esta es *Charadrius semipalmatus* (Chorlo semipalmado), por lo que ésta tesis no solo aporta una especie nueva para Chile sino también a nivel Global, teniendo entonces 12 especies para Chile, 19 para Sudamérica y 70 especies totales del Orden Charadriiformes para el mundo portadoras del virus influenza aviar.

DISCUSIÓN

Del total de muestras analizadas por código de barra existieron algunas limitaciones en el uso de esta metodología, existiendo muestras de las cuales no se pudo asignar a especie de la cual provenía la muestra. Alguna de las posibles causas puede deberse a:

- a) errores en la secuencia
- b) contaminación de la muestra
- c) baja cantidad de material genético a secuenciar
- d) material genético degradado debido al transporte o almacenamiento
- e) mutaciones de los partidores

En algunos casos se logró re-secuenciar las muestras al menos una vez, resultando secuencias con las bases nucleotídicas correctamente designadas con lo que se pudo obtener la especie, sin embargo, hubo 10 secuencias de las cuales no se logró obtener la especie.

Al realizar la identificación de especies una de las muestras correspondió a Anchoveta (*Engraulis ringens*) la cual probablemente fue consumido por alguna ave. Otra particularidad encontrada es que en la muestra (PJ 3717) se obtuvieron 2 especies distintas, correspondiendo a *Charadrius semipalmatus* y *Anas flavirostris*, lo cual se explica a que seguramente durante la toma de muestra existían ambas heces en el lugar las cuales fueron colectadas en la misma muestra y ambos materiales genéticos pudieron ser amplificados.

Una limitación en cuanto al muestreo de la población de estudio la cual estaba enfocada en identificar especies hospederas del virus influenza aviar en aves costeras del orden Charadriiformes, de igual manera se lograron identificar especies del orden Anseriformes y Phoenicopteriformes, esto se debe posiblemente a:

- 1) falta de entrenamiento por parte del equipo de muestreo quienes no pudieron diferenciar heces de especies Charadriiformes a las de otras órdenes
- 2) especies cohabitan en la misma área, pueden haber estado junto a las especies objetivo especies en el mismo lugar del muestreo horas antes dejando sus heces en el lugar siendo tomadas por el equipo.

Al comparar la metodología utilizada en éste proyecto con otro tipo de vigilancias realizadas en otros países latinoamericanos como en Perú, con vigilancia epidemiológica a patos centinelas como un método de vigilancia dirigida, ésta requiere un aporte económico mayor,

además de un equipo de trabajo experimentado en actividades de captura, toma de muestras sanguíneas, personal que esté diariamente registrando el comportamiento e interacción de las aves en cuestión junto a las residentes, se requiere mayor logística, mayor esfuerzo de muestreo, vigilancia de las aves centinelas y que éstas no abandonen el área de estudio (Rondón *et al.*,2013).

Por otro lado, en Argentina se han realizado estudios donde se ha realizado vigilancia activa mediante captura de especies potenciales hospedadoras del VIA como *Larus dominicanus*, *Chroicocephalus maculipennis* y *Larus atlanticus* donde se obtuvieron muestras para serología mediante punción vena del ala, metatarso, yugular o directamente del corazón en caso de individuos muertos donde se realizó pruebas de Inmunodifusión en agar gel o agar gel precipitación (Buscaglia *et al.*,2008). Además, se ha realizado vigilancia de aves silvestres a cargo del INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria) donde Pereda *et al*, 2008 obtuvieron muestras cloacales, lo cual implica captura de las aves, por lo que se ha requerido biólogos y veterinarios entrenados en actividades de captura de las aves y toma de muestras. De las 2895 muestras cloacales, con muestreo de 56 especies diferentes de 10 órdenes diferentes, lograron detectar la presencia de 12 muestras positivas a VIA, siendo una de aislada de un *Larus dominicanus*.

Es por esto que este tipo de muestreos en base de captura de aves versus muestreos ambientales tienen las siguientes desventajas:

- A) Requiere mayor logística
- B) Mayor cantidad de personal de terreno capacitado para dichas actividades
- C) Muestreos sesgados y enfocados en las especies de aves las cuales pueden ser capturadas y que efectivamente logran ser capturadas
- D) Limitación en cuanto a las aves que se pueden muestrear
- E) Mayor esfuerzo de muestreo
- F) Mayor costo económico

De esta manera en base a las desventajas que poseen otras técnicas de obtención de muestras para la identificación de hospederos de Virus Influenza la técnica de códigos de barra actualmente es la de elección.

Con respecto a las especies hospedadoras del virus influenza aviar encontradas en éste estudio 3 especies no habían sido identificadas con anterioridad, una de ellos corresponde a una especie costera migratoria del orden Charadriiformes que no había sido identificada previamente como portadora del virus tanto a nivel nacional como dentro del continente,

esta es *Charadrius semipalmatus* (Chorlo Semipalmado), para una muestra en el Humedal rio Lluta con fecha 12 de octubre 2021, la otra especie es *Lophonetta specularoides* (Pato juarjua) y *Phoenicopterus chilensis* (Flamenco chileno), siendo este último una muestra positiva tomada en el Humedal Rio Lluta en un muestreo el 1 de octubre 2020, mientras que el primero una muestra tomada en Desembocadura Rio Leñadura e de 7 marzo 2021. Este estudio indicó que la especie más prevalente como hospedera del virus influenza A es también una especie que mantiene la distribución más amplia y con mayor abundancia tanto en Chile como en Sudamérica, correspondiendo a *Larus dominicanus*. Considerando los datos aportados por la plataforma eBird junto con lo de censos realizados en los muestreos por el equipo EPIFAVET, no es gran sorpresa que sea el ave mayormente identificada mediante códigos de barra, ya que *Larus dominicanus* corresponde en su mayoría en la especie más abundante tanto para la zona austral, centro y norte del país, teniendo una frecuencia promedio anual de un 30,2% (datos eBird), el cual representa el porcentaje de listados completos que incluye a esta especie en el rango de fechas entre 1900-2022 para Chile, además teniendo una distribución que abarca todos los puntos de muestreo.

En los censos realizados, el máximo de individuos de gaviota dominicana se encontró en Humedal Tres Brazos con fecha 11 de marzo 2020 con 600 ejemplares, y un mínimo de 54 para el censo de 22 de enero 2020 en Humedal de Concón, ambos censos arrojaron muestras positivas de la especie durante ese muestreo. Al comparar los resultados encontrados mediante bibliografía o bases de datos con los hallados mediante Códigos de Barra en ambos la especie más prevalente nuevamente corresponde a *Larus dominicanus*, lo cual se puede explicar debido a como fue mencionado anteriormente, la abundancia de esta especie para nuestro país y su distribución, la presencia de esta ave en la mayoría de los sitios de muestreos y su amplia distribución en Sudamérica. Ésta ave además se caracteriza por congregarse en grandes números no tan solo en su época reproductiva la cual suele ser en colonias, también en período de reposo donde se puede ver en grandes bandadas, probablemente el contacto de aves portadoras del virus influenza aviar a aves con un sistema inmune no totalmente desarrollado como individuos juveniles e inmaduras haga que el virus se mantenga el virus dentro de éstas grandes congregaciones de Gaviotas Dominicanas, sin embargo para verificar ésta afirmación sería necesario realizar captura de los ejemplares para tener los individuos caracterizados por edad y realizar toma de muestras cloacales y/o traqueales y serológicas para luego comprobar si efectivamente el virus es más prevalente en dichos rangos etarios mediante la misma técnica que se realizó con las muestras ambientales PCR en tiempo real. No obstante, dicho estudio requiere

mayor esfuerzo de muestreo, mayor capacitación del personal de terreno y de implementos necesarios para la captura, permisos para la captura de fauna silvestre con fines científicos, además el número de muestras podría llegar a ser menor, dependiendo de la manera en que se realice la captura, por lo mismo, podría no ser tan representativo de todos modos dependiendo del número muestral logrado.

La segunda especie más abundante en los resultados de códigos de barra corresponde a la gaviota cáhuil, la cual tiene una frecuencia promedio anual para Chile de un 12,19% (datos eBird), ésta especie según su distribución es posible encontrarla en todos los sitios muestreados y se registró en prácticamente en casi todos los censos durante las tomas de muestras. Los individuos de *Chroicocephalus maculipennis* identificados mediante códigos de barra se lograron de 4 muestreos diferentes, 1 ejemplar en la desembocadura del Río Leñadura el 10 de marzo 2020 donde las 2 especies más abundantes según el censo fueron *Larus dominicanus* y *Chroicocephalus maculipennis*, 1 ejemplar en la desembocadura del Río Tres Brazos el 11 de marzo 2020 dentro de las 2 especies más abundantes no se encuentra la Gaviota Cáhuil, si *Larus dominicanus* y *Sterna hirundinacea*, 4 individuos más fueron identificados en el mismo lugar pero con fecha 8 de marzo 2021, donde en este caso *Chroicocephalus maculipennis* fue la única especie en el lugar, los últimos 4 ejemplares fueron identificados en la desembocadura del Río Maipo con fecha 31 de agosto de 2021 donde la especie no fue la de mayor abundancia, estando presente en mayor cantidad *Numenius phaeopus*, *Himantopus mexicanus* y *Haematopus palliatus*.

El Chorlo semipalmado por su parte tiene una frecuencia promedio anual para Chile de un 0,576% (datos eBird), considerando que el área de distribución de la especie limita en el área fronteriza entre Perú y Chile los ejemplares suelen ser bastante escasos en sitios fuera de la región de Arica y Parinacota (García-Walther *et al.*,2017). El censo realizado el día 12 octubre 2021 en la zona donde se muestreo correspondiendo al espejo de agua del humedal del Río Lluta arrojó un total de 862 individuos con 37 especies observadas, siendo de ellas 17 especies Charadriiformes, registrando 3 ejemplares de *Charadrius semipalmatus*, apareciendo una muestra positiva en el lugar y comprobando su identidad mediante códigos de barra

Los ejemplares de *Himantopus mexicanus*, fueron identificados 2 en dos ocasiones una de ellas en muestras provenientes del día de muestreo 29 de diciembre 2021, donde de un total de 1879 individuos, con 20 especies observadas, 80 de ellos fueron censados como Perritos (*Himantopus mexicanus*). Las especies más abundantes en dicha ocasión fueron

Playeros blancos (*Calidris alba*) 900 ejemplares, 500 Rayadores (*Rynchops niger*), 200 Gaviotas garumas (*Leucophaeus modestus*), 80 Gaviotas dominicanas (*Larus dominicanus*) y 80 perritos (*Himantopus mexicanus*). El otro ejemplar positivo fue identificado el 12 de octubre 2021, mismo censo donde se identificó también al *Charadrius semipalmatus*, sin embargo, en el censo no fueron contabilizados *Himantopus mexicanus* ya que, en el momento del censo, el cual se hace previo a la toma de muestras, dichos ejemplares no se encontraban en el lugar, ni tampoco durante el muestreo.

Por otro lado, la muestra positiva de *Haematopus palliatus*, el 31 de agosto 2021 en el Humedal del Río Maipo, de un total de 666 individuos, la especie identificada se encontraba entre las 3 más abundantes en la zona de donde se obtuvo dicha muestra, siendo de manera decreciente *Numenius phaeopus*, *Himantopus mexicanus* y finalmente *Haematopus palliatus*.

Con estos datos es posible validar la metodología empleada en este trabajo, tanto en la obtención de las muestras ambientales como la utilizada para identificar las especies de dichas muestras mediante códigos de barra.

Las especies de mayor relevancia encontradas en este estudio: *Charadrius semipalmatus*, *Larus dominicanus*, *Chroicocephalus maculipennis* serán descritas en el Anexo 2.

CONCLUSIONES

Gracias al trabajo de investigación realizado en esta tesis se logró identificar como nueva especie portadora de VIA del orden Charadriiformes tanto para Chile como para Sudamérica durante el período de 2020-2021 a *Charadrius semipalmatus* (Chorlo semipalmado), una especie migratoria que visita nuestro país en época estival, la cual fue identificada mediante la utilización de códigos de barra. Por lo tanto, en Chile ahora existen 12 especies de aves Charadriiformes portadoras del virus influenza, 19 especies a nivel Sudamericano y 70 a nivel global, además se debe mencionar 2 especies de otros órdenes que también fueron identificadas mediante este trabajo *Lophonetta specularoides* y *Phoenicopterus chilensis*, del orden Anseriformes y Phoenicopteriformes respectivamente.

Además, se sugiere que la especie de ave costera del Orden Charadriiformes hospedera del VIA más prevalente tanto mediante códigos de barra como los encontrados con reportes en bibliografías y bases de datos en Chile corresponde a *Larus dominicanus*, especie que coincide ser una de las aves costeras más abundantes en toda Sudamérica incluyendo a Chile.

Actualmente en Europa se recomiendan los muestreos ambientales en búsqueda del virus influenza aviar considerando los patrones migratorios de aves silvestres ya que así se realiza una medición menos sesgada de la vigilancia de virus influenza aviar (Verhagen *et al.*, 2021) tal como se hizo en esta tesis, también se hace hincapié en la importancia de identificar los hospederos de virus influenza aviar ya conocidos y desconocidos a través de éstos muestreos, a través de la metodología de códigos de barra, validándola como técnica para la vigilancia pasiva y activa.

Por otro lado, con el advenimiento potencial de virus de alta patogenicidad H5Nx en el país tras miles de casos de aves infectadas, enfermas y muertas en el hemisferio norte (al menos 224 casos en Norteamérica hasta la fecha según el sitio EMPRES/FAO) se hace imperativo y esencial el sumar esfuerzos para detectar la introducción virus influenza aviar de alta patogenicidad H5 de forma temprana. Se debe implementar vigilancia pasiva de las aves de corral y aves silvestres, además vigilancia activa a las aves silvestres con el objetivo de detectar el virus en aquellas especies migratorias interhemisféricas. Se debe primar la identificación de especies hospederas del virus para así identificar de mejor manera la ecología del virus al conocer los patrones de aquellas aves y así poder mejorar la detección temprana y el monitoreo del virus, todas estas acciones se pueden realizar mediante la

implementación de las metodologías aplicadas en esta tesis, lo que ayudará en comprender la ecología y evolución de la influenza aviar en las aves silvestres.

Con los datos aportados mediante esta tesis y el reconocimiento de las especies positivas al virus se puede complementar con otros estudios para conocer los subtipos de virus influenza están presentes en dichas especies para si determinar si existe algún tipo de riesgo tanto para la avifauna, aves de corral o las personas debido al riesgo de zoonosis que conlleva el Virus Influenza A y para ver si es necesario tomar algún tipo de medida si fuese el caso.

BIBLIOGRAFÍA

ALTSCHUL, S.; GISH, W.; MILLER, W.; MYERS, E.; LIPMAN, D. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *Journal of Molecular Biology*. 215 (3): 403-410

ANDERSON, M. 2009. Bayesian Classification of DNA Barcodes. (Abstract) An abstract of a dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree Doctor of Philosophy. Department of Statistics College of Arts and Sciences. Kansas State University. Manhattan, Kansas.

AUDUBON SOCIETY. s/f. Chorlo semipalmado. Guía de Aves de América del Norte. <<https://www.audubon.org/es/guia-de-aves/ave/chorlo-semipalmeado>> [Consulta: 21-06-2022]

BAHL, J.; KRAUSS, S.; KUHNERT, D.; FOURMENT, M.; RAVEN, G.; PRYOR, P.; NILES, L.; DANNER, A.; WALKER, D.; MENDENHALL, I.; SU, I.; DUGAN, V., HALPIN, R.; STOCKWELL, T.; WEBBY, R.; WENTWORTH, D.; DRUMMOND, A.; SMITH, G.; WEBSTER, R. 2013. Influenza A Virus Migration and Persistence in North American Wild Birds. *PLoS Pathog.* Raul Andino, University of California San Francisco, United States of America. 9 (8) 1-13.

BOYLE, A. 2006. Why do birds migrate? The role of food, habitat, predation and competition. A dissertation submitted to the Faculty of the Department of Ecology and Evolutionary Biology. In partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. University of Arizona. 1-275.

BRAVO-VASQUEZ, N.; BAUMBERGER, C.; JIMENEZ-BLUHM, P.; DI PILLO, F.; LAZO, A.; SANHUEZA, J.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2020. Risk factors and spatial relative risk assessment for influenza a virus in poultry and swine in backyard production systems of central Chile. *Veterinary Medicine and Science*. 00;1-9.

BRAVO-VASQUEZ, N.; DI PILLO, F.; LAZO, A.; JIMÉNEZ-BLUHM, P.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2016. Presence of influenza viruses in backyard poultry and swine in El Yali wetland, Chile. *Preventive Veterinary Medicine* 134, 211-215

BRAVO-VASQUEZ, N.; YAO, J.; JIMÉNEZ-BLUHM, P.; MELIPOULOS, V.; FREIDEN, P.; SHARP, B.; ESTRADA, L.; DAVIS, A.; CHERRY, S.; LIVINGSTON, B.; DANNER, A.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2020. Equine-Like H3 Avian Influenza Viruses in Wild Birds, Chile. *Emerging Infectious Diseases*, CDC. Vol, 26. No.12. 2887-2898

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; GARCIA, J. 2020. Brown-hooded gull (*Chroicocephalus maculipennis*). Version 1.0. Birds of the World. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New York, United States of America. [en línea] <<https://doi.org/10.2173/bow.kelgul.01>> [Consulta: 12-05-2022]

BURGER, J.; GOCHFELD, M.; GARCIA, E.; KIRWAN, G. 2020. Kelp Gull (*Larus dominicanus*) Version 1.0. Birds of the World. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New York, United States of America. [en línea] <<https://doi.org/10.2173/bow.kelgul.01>> [Consulta: 12-05-2022]

BUSCAGLIA, C.; LORENTE, R.; AICARDI, L.; BALLESTEROS, A. Influenza Aviar. Anticuerpos en gaviotas cangrejeras de la provincia de Buenos Aires. Epidemiología y Salud Pública. Facultad de Ciencias Veterinarias.

CAPUA, I.; ALEXANDER, D. 2009. Avian influenza infection in birds: A challenge and opportunity for the poultry veterinarian. Poultry Science 88: 842-846.

CHU, D.; LEUNG, C.; GILBERT, M.; JOYNER, P.; NG, E.; TSE, T.; GUAN, Y.; PEIRIS, J.; POON, LEO. 2011. Avian Coronavirus in Wild Aquatic Birds. Journal of Virology. Vol. 85, No 23. P12815-12820.

CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL. s/f. Monumento Natural Los Pingüinos. [en línea] <<https://www.conaf.cl/parques/monumento-natural-los-pinguinos/>> [consulta:28-04-21]

CORNELL LAB. 2019. Semipalmated plover. All about birds. https://www.allaboutbirds.org/guide/Semipalmated_Plover/id

DOHOO, I.; MARTIN, W.; STRYHN, H. 2009. Veterinary Epidemiologic Research. 2nd Ed. VER Inc. Prince Eduard Island, Canadá. 706. (citado por Jiménez-Bluhm, P., *et al.*, 2018. Circulation of influenza in backyard productive systems in central Chile and evidence of spillover from wild birds. *In*: Preventive Veterinary Medicine 153. 1-6.

GARCÍA-WALTHER, J.; SENNER, N.; NORAMBUENA, H.; SCHMITT, F. 2017. Atlas de las aves playeras de Chile: Sitios importantes para su conservación. Universidad Santo Tomás. Santiago, Chile. 58-59.

GARRIDO, M. 2018. Gaviota Dominicana, *Larus dominicanus*. *In*: Medrano, F.; Barros, R.; Norambuena, H.; Matus, R.; Schmitt, F. Atlas de las aves Nidificantes de Chile. Red de observadores de Aves y Vida Silvestre de Chile. Santiago, Chile. 238-239.

GOODALL, J.; JOHNSON, A.; PHILIPPI, R. 1946. Las aves de Chile su conocimiento y sus costumbres. Tomo Primero. Platt Establecimientos Gráficos S.A. Buenos Aires, Argentina. 445 pp. (citado por Garrido, M. 2018 Gaviota Dominicana *Larus dominicanus*. **In:** Atlas de las aves Nidificantes de Chile. Red de observadores de Aves y Vida Silvestre de Chile. Santiago, Chile. 238-239.)

GOODALL, J.; JOHNSON, A.; PHILIPPI, R. 1951. Las aves de Chile su conocimiento y sus costumbres. Tomo segundo. Platt Establecimientos Gráficos S.A. Buenos Aires, Argentina. 358 pp. (citado por Garrido, M. 2018 Gaviota Cáhuil, *Chroicocephalus maculipennis*. **In:** Atlas de las aves Nidificantes de Chile. Red de observadores de Aves y Vida Silvestre de Chile. Santiago, Chile. 238-239.)

HEBERT, P.; CYWINSKA, A.; BALL, S.; DEWAARD, J. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B: Biological Science. 270(1512): 313-321.

HEBERT, P.; STOECKLE, M.; ZEMLAK, T.; FRANCIS, C. 2004. Identification of Birds through DNA Barcodes. PLoS Biology, Volumen 2 (10).1657-1663.

HOUSE, R. 1945. Las aves de Chile en su clasificación moderna su vida y costumbres. Ediciones de la Universidad de Chile, Santiago, Chile. 390 pp. (citado por Garrido, M. 2018 Gaviota Dominicana *Larus dominicanus*. **In:** Atlas de las aves Nidificantes de Chile. Red de observadores de Aves y Vida Silvestre de Chile. Santiago, Chile. 238-239.)

ILUSTRE MUNICIPALIDAD DE CONCON. 2018. Humedal de Concón es declarado reserva natural municipal y será protegido en forma especial <<https://www.concon.cl/concon-al-dia/3714-humedal-de-concon-es-declarado-reserva-natural-municipal-y-sera-protegido-en-forma-especial.html>> [consulta: 28-04-21]

JIMENEZ-BLUHM, P.; DI PILLO, F.; BAHL, J.; OSORIO, J.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2018. Circulation of influenza in backyard productive systems in central Chile and evidence of spillover from wild birds. Preventive Veterinary Medicine 153. 1-6.

JIMENEZ-BLUHM, P.; BRAVO-VASQUEZ, N.; TORCHETTI, M.; KILLIAN, M.; LIVINGSTON, B.; HERRERA, J.; FUENTES, M.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2019. Low pathogenic avian influenza (H7N6) virus causing an outbreak in commercial Turkey farms in Chile. Emerging Microbes & Infections, 8:1. 479-485.

JIMENEZ-BLUHM, P.; KARLSSON, E.; FREIDEN, P.; SHARP, B.; DI PILLO, F.; OSORIO, J.; HAMILTON-WEST, C.; SCHULTZ-CHERRY, S. 2018. Wild birds Chile Harbor diverse avian influenza A viruses. *Emerging Microbes & Infections*. 7:44.1-4.

KUCHIPUDI, S.; NISSLY, R. 2018. Novel flu viruses in bats and cattle: "Pushing the envelope" of influenza infection. *Veterinary Sciences* 5 (3): 1-10.

LÓPEZ-MARTÍN, J.; JUNOD, T.; RIQUELME, F.; CONTRERAS, C.; GONZÁLEZ-ACUÑA. 2011. Detección de especies de *Salmonella* y *Mycobacterium* en gaviotas dominicanas (*Larus dominicanus*) y gaviotas de Franklin (*Leucophaeus pipixcan*) en la ciudad de Talcahuano, Chile. *Revista Médica de Chile*. 139. 1496-1502.

MARTINEZ, D.; GONZALEZ, GONZALO. 2015. Aves de Chile Guía de Campo y Breve historia natural. Ediciones del Naturista. 108-109

MATHIEU, C.; MORENO, V.; PEDERSEN, J.; JERIA, J.; AGREDO, M.; GUTIERREZ, C.; GARCÍA, A.; VÁSQUEZ, M.; AVALOS, P.; RETAMAL, P. 2015. Avian Influenza in Wild Birds from Chile 2007-2008. *Virus Research*, Vol. 199. 42-45.

MEDRANO, F. 2018. Gaviota Cáhuil, *Chroicocephalus maculipennis*. **In:** Medrano, F.; Barros, R.; Norambuena, H.; Matus, R.; Schmitt, F. Atlas de las aves Nidificantes de Chile. Red de observadores de Aves y Vida Silvestre de Chile. Santiago, Chile. 232-233.

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE (MMA). 2012. Registro Nacional de Áreas Protegidas. Ficha avanzada Desembocadura del Río Lluta. [en línea] <<http://bdrnap.mma.gob.cl/buscador-rnap/#/ficha?ficha=SP1-053>> [consulta: 28-04-21]

MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE (MMA). 2020. Santuario de la Naturaleza Humedal Rio Maipo se oficializa con publicación en el diario oficial. [en línea] <<https://mma.gob.cl/santuario-de-la-naturaleza-humedal-rio-maipo-se-oficializa-con-publicacion-en-el-diario-oficial/>> [consulta: 28-04-21]

MORENS, D.; TAUBENBERGER, J.; FAUCI, A. 2013. Pandemic Influenza Viruses-Hoping for the Road Not Taken. *The New England Journal of Medicine*. 368, 25. 2345-2348. (Citado por Jiménez-Bluhm, P., *et al.*, 2018. Circulation of influenza in backyard productive systems in central Chile and evidence of spillover from wild birds. **In:** *Preventive Veterinary Medicine* 153. 1-6.)

MUÑOZ, J.; BECKER, P. 1999. The Kelp Gull as bioindicator of environmental chemicals in the Magellan region. A comparison with other coastal sites in Chile. *Scientia Marina*. N° 63. V 1. 495-502

NOL, E.; BLANKEN, M. 2020. Semipalmated Plover (*Charadrius semipalmatus*), version 1.0. In *Birds of the World*. Editor A. Poole. The Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, New York, United States of America. [en línea] <<https://doi.org/10.2173/bow.semplo.01>> [Consulta: 20-06-2022]

OLSEN, B.; MUNSTER, V.; WALLENSTEN, A.; WALDENSTROM, J.; OSTERHAUS, A.; FOUCHIER, R. 2006. Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. Vol 312. 384-388.

PAZ, A.; GONZALEZ, M.; CRAWFORD, A. 2011. Códigos de Barras de la Vida: Introducción de Perspectiva. *Acta Biológica Colombiana*. Vol. 16 (3). 161-175.

PEREDA, A., UHART, M.; PEREZ, A.; ZACCAGNINI, M.; LA SALA, L.; DECARRE, J.; GOIJMAN, A.; SOLARI, L.; SUAREZ, R.; CRAIG, M.; VAGNOZZI, A.; RIMONDI, A.; KONING, G.; TERRERA, M.; KALOGLIAN, A.; SONG, H.; SORREL, E.; PEREZ, D. 2008. Avian influenza virus isolated in wild waterfowl in Argentina: Evidence of a potentially unique phylogenetic lineage in South America. *Virology* 378 (2) 363-370

PEREDO MANRIQUEZ, RONNY. 2011. Aves de la desembocadura del Rio Lluta, Santuario de la Naturaleza, Guía de Campo. Amigos de la desembocadura del Rio Lluta. Andes Impresiones. Chile. 83-84.

PETIT-MARTY, N.; VAZQUEZ-LUIS, M.; HENDRIKS, I. 2020. Use of the nucleotide diversity in COI mitochondrial gene as an early diagnostic of conservation status of animal species. *Conservation Letters*. E12756. 1-7

RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. 2007. Barcoding BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*. Vol. 7(3) 355-364.

RONDÓN, J.; ICOCHEA, E.; GONZÁLEZ, A.; GONZÁLEZ, R. 2014. Vigilancia dirigida de influenza aviar en aves silvestres usando patos domésticos (*Cairina moschata*) como centinelas. *Revista Investigación Veterinaria*. Perú 24. (3) 324-336

ROSSO, P.; ÁLVAREZ, J. 2018. Guía de campo. Aves de las costas y mares de Chile. 5ta edición. Ediciones Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 206 pp.

SECRETARÍA DE LA CONVENCION DE RAMSAR. 2016. Manual de la Convención Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971). 4ª edición. Gland (Suiza) 1-124.

SWAYNE, D.; SUAREZ, D. 2000. Highly pathogenic avian influenza. Rev. Sci. Tech. 19 (2), 463-482. (Citado por JIMENEZ-BLUHM, P.; BRAVO-VASQUEZ, N.; TORCHETTI, M.; KILLIAN, M.; LIVINGSTON, B.; HERRERA, J.; FUENTES, M.; SCHULTZ-CHERRY, S.; HAMILTON-WEST, C. 2019. Low pathogenic avian influenza (H7N6) virus causing an outbreak in commercial Turkey farms in Chile. Emerging Microbes & Infections, 8:1. 479-485).

TALA, C. 2006. Que Hacen Aquí esas gaviotas...que hacen aquí, tan lejos de su lugar natal. Boletín Veterinario Oficial, Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. Vol. 5. 1-24.

VERHAGEN, J.; FOUCHIER, R.; LEWIS, N. 2021 Highly pathogenic avian influenza viruses at the wild-domestic bird interface in Europe: future directions for research and surveillance. Viruses. 13. 212. 1-34 pp.

WEBSTER, R.; BEAN, W.; GORMAN, O.; CHAMBERS, T.; KAWAOKA, Y. 1992. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. Microbiological Reviews. Vol 56, No. 1. 152-179. (Citado por Jiménez-Bluhm, P., *et al.*, 2018. Circulation of influenza in backyard productive systems in central Chile and evidence of spillover from wild birds. In: Preventive Veterinary Medicine 153. 1-6).

ANEXOS 1.

Tabla 2. Especies de aves Charadriiformes encontradas en bases de datos y bibliografía positivas a VIA. Con datos de origen, fecha y código de acceso en base de datos FLUDB/NCBI/GISAID o datos de autores. Elaboración propia.

Familia	Nombre común/ inglés	Nombre científico	País	Cepa	Año/Mes	Referencia	Código acceso GenBank
Recurvirostridae	Perrito/ Black necked stilt	<i>Himantopus mexicanus</i>	CHILE	H11N9	2013/10	Das et al., 2016	KX101129
Recurvirostridae	Perrito/ Black necked stilt	<i>Himantopus mexicanus</i>	CHILE	H11N9	2013/10	Das et al., 2016	KX101174
Recurvirostridae	Perrito/ Black necked stilt	<i>Himantopus mexicanus</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH498671
Recurvirostridae	Perrito/ Black necked stilt	<i>Himantopus mexicanus</i>	CHILE	H5N9	2017/05	Bravo-Vásquez et al., 2018b	MK16735
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	PERÚ	H10N9	2006/11	Nelson et al., 2015	KR824551
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	PERÚ	H10N7	2008/11	Nelson et al., 2015	KR824626
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H11N9	2013/10	Osario et al., 2016	
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H9N2	2015/09	Hamilton-West et al., 2016	KX185901
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H3N8	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH498968
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499091
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H5N9	2017/04	Bravo-Vásquez et al., 2018b	

	American oystercatcher						
Haematopodidae	Pilpilén/ American oystercatcher	<i>Haematopus palliatus</i>	CHILE	H3N8	2016/10		MH499035
Haematopodidae	Pilpilén negro/ Blackish oystercatcher	<i>Haematopus ater</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH498730
Haematopodidae	Pilpilén negro/ Blackish oystercatcher	<i>Haematopus ater</i>	CHILE	H2N2	2016/01	Hamilton-West et al., 2017	KY644183
Charadriidae	Chorlo ártico/ Gray plover	<i>Pluvialis squatarola</i>	CHILE	H9N7	2015/09	Hamilton-West et al., 2016	KX185918
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERÚ	H10N9	2006/10	Gherzi et al., 2009	AKM14237
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERÚ	H10N9	2006/10	Gherzi et al., 2009	AKM14246
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERÚ	H12N5	2008/04	Nelson et al., 2015	AKM14191
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERÚ	H12N5	2008/04	Nelson et al., 2015	AKM14203
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERU	H10N7	2008/11	Nelson et al., 2015	AKM14051
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERU	H3N1	2009/11	Nelson et al., 2015	AKM14150
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	PERU	H3N1	2009/11	Nelson et al., 2015	AKM14162
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	BRASIL	H11N9	2008/11	Araujo et al., 2014	AHA98414

Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	BRASIL	H11N9	2008/11	Araujo et al., 2014	AHA98415
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	BRASIL	H11N9	2008/11	Araujo et al., 2014	AHA98416
Scolopacidae	Playero vuelve piedras/ Ruddy turnstone	<i>Arenaria interpres</i>	BRASIL	H11N9	2008/11	Araujo et al., 2014	AHA98416
Scolopacidae	Playero semipalmado/ Semipalmated sandpiper	<i>Calidris pusilla</i>	BRASIL	H2N1	1990/04	Webby et al., 2002	CY005413
Scolopacidae	Playero ártico/ Red knot	<i>Calidris canutus</i>	BRASIL	H12N5	2010/03	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero ártico/ Red knot	<i>Calidris canutus</i>	BRASIL	H9N2	2011/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H6N1	2012/04	Araujo et al., 2014	

Scolopacidae	Playero lomo blanco / White-rumped sandpiper	<i>Calidris fuscicollis</i>	BRASIL	H2N2	2012/04	Araujo et al., 2014	
Scolopacidae	Playero manchado / Spotted sandpiper	<i>Actitis macularia</i>	BRASIL	H3Nx	2009	Pessamilo et al., 2009 citado por Pérez et al., 2011	
Scolopacidae	Playero grande / Willet	<i>Tringa semipalmata</i>	PERÚ	H6N8	2010	Nelson et al., 2015	KR824588
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N2	2016/04	Gherzi et al., 2009	
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499009
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499218
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498668
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499072
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H1N1	2016/03	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499074
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N2	2016/04	Jimenez-Bluhm et al., 2018	MH134739
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H13N2	2016/05		MH134676
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	CHILE	H1N1	2016/03	Bravo-Vásquez et al., 2018	
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	PERÚ	H1N1	2009/11	Nelson et al., 2015	
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	PERÚ	H3N1	2009/11	Nelson et al., 2015	AKM14139
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	PERÚ	H13N2	2007/11		KR824663
Scolopacidae	Zarapito/ Whimbrel	<i>Numenius phaeopus</i>	PERÚ	H6N8	2019/05		OL366799
Laridae	Gaviota dominicana/ Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	PERÚ	H13N2	2007	Nelson et al., 2015	
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	PERÚ	H13N6	2019/10		OL355043

Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H5N9	2009	Moreno et al., 2013	
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13NX	2014/04	Osario et al., 2016	ANH21930
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H16N3	2016/04	Jimenez-Bluhm et al., 2018	MH134615
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H16N3	2016/04		MH134913
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H16N3	2016/04		MH134637
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H16N3	2016/04		MH134728
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H16N3	2016/04		MH134596
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H6N2	2016/05		MH134729
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H6N3	2016/05		MH134908
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03	Jimenez-Bluhm et al., 2018	MH498698
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH498862
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH499186
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH498919
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH498888
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH499244
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/05		MH134650
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N2	2016/05	Bravo-Vásquez et al., 2018a	
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H11N1	2016/08	Pereda et al., 2008	

Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018	MH498851
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H6N8	2017/06	Bravo-Vásquez et al., 2018	MH498818
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H13N8	2017/06	Bravo-Vásquez et al., 2018	MH499142
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H3N8	2017/12	Bravo-Vásquez et al., 2018	
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H5N3	2017/12	Osario et al., 2016	
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H5N3	2017/01		MK164009
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	CHILE	H5N9	2008/01		KF772948
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	ARG.	H13N9	2006	Pereda et al., 2008	ACD40325
Laridae	Gaviota dominicana / Kelp gull	<i>Larus dominicanus</i>	BRASIL	H3NX	2009	Araujo et al., 2014	
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N2	2007-2009	Jeria, 2009 citado por Pérez. et al., 2011	
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H6N2	2016/03	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499098
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H16N3	2016/04	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH134685
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2009/11		KF772956
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499078
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498647
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499155
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499107

Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498793
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/10		MH498978
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499160
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/10		MH499057
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498930
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	CHILE	H16N3	2016/04		MH134702
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	PERÚ	H6N2	2019/12		OL367081
Laridae	Gaviota de Franklin / Franklin's gull	<i>Leucophaeus pipixcan</i>	PERÚ	H6N2	2019/12		OL355035
Laridae	Gaviota Austral / Dolphin gull	<i>Leucophaeus scoresbii</i>	CHILE	H16N3	2016/04	Jimenez-Bluhm et al., 2018	MH158642
Laridae	Gaviota Cáhuil / Brown-headed gull	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	CHILE	H13N2	2016/03	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499037
Laridae	Gaviota Cáhuil / Brown-headed gull	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	CHILE	H9N7	2016/08	Jimenez-Bluhm et al., 2018	MH134689
Laridae	Gaviota Cáhuil / Brown-headed gull	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	CHILE	H16N3	2016/03	Bravo-Vásquez et al., 2018a	
Laridae	Gaviota Cáhuil / Brown-headed gull	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	CHILE	H13N2	2016/03		MH134649
Laridae	Gaviota Cáhuil / Brown-headed gull	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	CHILE	H13N2	2016/04		MH134823
Laridae	Gaviotín Elegante / Elegant tern	<i>Thalasseus elegans</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499177
Laridae	Gaviotín Elegante / Elegant tern	<i>Thalasseus elegans</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499011
Laridae	Gaviotín Boreal / Common tern	<i>Sterna hirundo</i>	BRASIL	H6NX	2010/03	Araujo et al., 2014	
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	PERÚ	H13N2	2010/04	Nelson et al., 2015	KR824604

Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N8	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH498778
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12	Bravo-Vásquez et al., 2018a	MH499144
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499241
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499127
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498752
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499225
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH498871
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499019
Laridae	Rayador /Black Skimmer	<i>Rynchops niger</i>	CHILE	H13N9	2016/12		MH499102
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	PERÚ	H13N2	2010/12	Nelson et al., 2015	KR824566
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	PERÚ	H1N1	2009/11	Nelson et al., 2015	KR824757
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	PERÚ	H13NX	2010/11	Nelson et al., 2015	KR824612
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	PERÚ	H13N2	2009/09	Nelson et al., 2015	KR824558
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	PERÚ	H13N2	2007/11	Nelson et al., 2015	KR824671
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	CHILE	H13N2	2007/12	Mathieu et al., 2016	
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	CHILE	H13N2	2016/01	Hamilton-West et al., 2017	MF099262
Laridae	GAVIOTAS SIN IDENTIFICAR	<i>no aplica</i>	CHILE	H13N9	2009/11	Bravo-Vásquez et al., 2018a	AHA57190

Tabla 2. Muestras positivas a VIA e Identificación de especies según Código de Barras. Con datos de fecha de muestreo, valor CT del test de influenza realizado por el equipo de EPIFAVET, valores de concentración y pureza cuantificados en espectrofotómetro previos a envió a secuenciar y la especie a la cual corresponde la muestra según dos bases de datos BLAST y BOLD. Elaboración propia.

IDENTIFICACIÓN				TEST DE INFLUENZA	□ MM	PUREZA	ESPECIE IDENTIFICADA	
NIH	Nombre	Lugar Muestra	Fecha Muestreo	CT	[ng]/uL	A280/260	BLAST	BOLD
C49377	PJ 108	Concón	22-ene-20	27,67	10,39	1,98	<i>Engraulis ringens</i>	
C49377	PJ 108	Concón	22-ene-20	27,67	10,39	1,98	<i>Engraulis ringens</i>	<i>Engraulis ringens</i>
C50350	PJ 849	Leñadura	10-mar-20	30,78	50,09	1,802	Birdstrike	
C50350	PJ 849	Leñadura	10-mar-20	30,78	50,09	1,802	<i>Larus dominicanus</i>	-
C50362	PJ 861	Leñadura	10-mar-20	31,04	37,96	1,806		
C50362	PJ 861	Leñadura	10-mar-20	31,04	37,96	1,806	<i>Larus dominicanus</i>	-
C50399	PJ 898	Leñadura	10-mar-20	26,88	33,72	1,98	<i>Larus dominicanus</i>	
C50399	PJ 898	Leñadura	10-mar-20	26,88	33,72	1,98		-
C50435	PJ 934	Leñadura	10-mar-20	26,68	13,23	1,831	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50435	PJ 934	Leñadura	10-mar-20	26,68	13,23	1,831	<i>Larus dominicanus</i>	-
C50589	PJ 1088	Tres brazos	11-mar-20	22,9	42,86	1,978	-	
C50589	PJ 1088	Tres brazos	11-mar-20	22,9	27,45	1,983	-	-
C50589	PJ 1088	Tres brazos	11-mar-20	17,39	42,86	1,978	-	
C50589	PJ 1088	Tres brazos	11-mar-20	17,39	27,45	1,983	-	-
C50618	PJ 1117	Tres brazos	11-mar-20	17,39	43,3	1,927	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50618	PJ 1117	Tres brazos	11-mar-20	17,39	43,3	1,927	-	-

C50753	PJ 1252	Isla magdalena	12-mar-20	31,52	34,39	1,942	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50753	PJ 1252	Isla magdalena	12-mar-20	31,52	34,39	1,942	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50778	PJ 1277	Isla magdalena	12-mar-20	23,47	42,35	1,83	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50778	PJ 1277	Isla magdalena	12-mar-20	23,47	42,35	1,83	-	-
C52796	PJ 1621	Lluta	01-oct-20	30,95	26	1,847	<i>Phoenicopterus chilensis</i>	<i>Phoenicopterus chilensis</i>
C52796	PJ 1621	Lluta	01-oct-20	30,95	17,72	1,956	<i>Phoenicopterus chilensis</i>	<i>Phoenicopterus chilensis</i>
C52796	PJ 1621	Lluta	01-oct-20	30,95	26	1,847	<i>Phoenicopterus chilensis</i>	<i>Phoenicopterus chilensis</i>
C52796	PJ 1621	Lluta	01-oct-20	30,95	17,72	1,956	<i>Phoenicopterus chilensis</i>	<i>Phoenicopterus chilensis</i>
C54297	PJ 2750	Leñadura	07-mar-21	31,14	22,58	1,899	<i>Anas georgica</i>	
C54297	PJ 2750	Leñadura	07-mar-21	31,14	22,58	1,899	-	-
C54314	PJ 2767	Leñadura	07-mar-21	24,28	35,18	1,803	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54314	PJ 2767	Leñadura	07-mar-21	24,28	35,18	1,803	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54316	PJ 2769	Leñadura	07-mar-21	24,28	25,93	1,857	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54316	PJ 2769	Leñadura	07-mar-21	24,28	25,93	1,857	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54324	PJ 2777	Leñadura	07-mar-21	24,54	21,09	1,881	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54324	PJ 2777	Leñadura	07-mar-21	24,54	21,09	1,881	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54329	PJ 2782	Leñadura	07-mar-21	22,91	23,62	1,953	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54329	PJ 2782	Leñadura	07-mar-21	22,91	23,62	1,953	-	-
C54352	PJ 2805	Leñadura	07-mar-21	16,43	14,48	1,85	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54352	PJ 2805	Leñadura	07-mar-21	16,43	14,48	1,85	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54358	PJ 2811	Leñadura	07-mar-21	32,56	79,04	1,817	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>

C54358	PJ 2811	Leñadura	07-mar-21	32,56	79,04	1,817	-	-
C54369	PJ 2822	Leñadura	07-mar-21	29,88	23,35	1,913	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54369	PJ 2822	Leñadura	07-mar-21	29,88	23,35	1,913	-	-
C54437	PJ 2890	Leñadura	07-mar-21	22,55	14,71	1,846	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54437	PJ 2890	Leñadura	07-mar-21	22,55	14,71	1,846	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54445	PJ 2898	Leñadura	07-mar-21	32,23	11,53	1,825	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54445	PJ 2898	Leñadura	07-mar-21	32,23	11,53	1,825	-	-
C54525	PJ 2978	Leñadura	07-mar-21	14,93	12,83	1,912	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54525	PJ 2978	Leñadura	07-mar-21	14,93	12,83	1,912	-	-
C54551	PJ 3004	Tres brazos	08-mar-21	25,18	20,32	1,994	-	-
C54551	PJ 3004	Tres brazos	08-mar-21	25,18	20,32	1,994	-	-
C54552	PJ 3005	Tres brazos	08-mar-21	27,53	11,33	1,944	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54552	PJ 3005	Tres brazos	08-mar-21	27,53	11,33	1,944	-	-
C54560	PJ 3013	Tres brazos	08-mar-21	27,54	21,73	1,982	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54560	PJ 3013	Tres brazos	08-mar-21	27,54	21,73	1,982	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54561	PJ 3014	Tres Brazos	08-mar-21	31,38	13,85	1,86	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54561	PJ 3014	Tres brazos	08-mar-21	31,38	13,85	1,86	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54667	PJ 3120	Tres brazos	08-mar-21	28,45	31,77	1,897	-	-
C54667	PJ 3120	Tres brazos	08-mar-21	28,45	31,77	1,897	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54671	PJ 3124	Tres Brazos	08-mar-21	22,78	25,78	1,96	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54671	PJ 3124	Tres brazos	08-mar-21	22,78	25,78	1,96	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54684	PJ 3137	Tres brazos	08-mar-21	28,49	36,12	1,816	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54684	PJ 3137	Tres brazos	08-mar-21	28,49	36,12	1,816	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>

C54702	PJ 3155	Tres brazos	08-mar-21	28,42	34,12	1,836	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54702	PJ 3155	Tres brazos	08-mar-21	28,42	34,12	1,836	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54703	PJ 3156	Tres brazos	08-mar-21	29,65	21,57	1,849	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54703	PJ 3156	Tres brazos	08-mar-21	29,65	21,57	1,849	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54809	PJ 3262	Rio Blanco	08-mar-21	25,23	18,23	1,826	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54809	PJ 3262	Rio Blanco	08-mar-21	25,23	18,23	1,826	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54820	PJ 3273	Rio Blanco	08-mar-21	25,54	14,46	1,993	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54820	PJ 3273	Rio Blanco	08-mar-21	25,54	14,46	1,993	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54821	PJ 3274	Rio Blanco	08-mar-21	23,89	16,4	1,968	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54821	PJ 3274	Rio Blanco	08-mar-21	23,89	16,4	1,968	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54825	PJ 3278	Rio Blanco	08-mar-21	24,8	15,18	1,89	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54825	PJ 3278	Rio Blanco	08-mar-21	24,8	15,18	1,89	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54887	PJ 3340	Rio Blanco	08-mar	20,71	21	1,922	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54887	PJ 3340	Rio Blanco	08-mar-21	20,71	21	1,922	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54904	PJ 3357	Rio Blanco	08-mar-21	28,8	21,15	1,948	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54904	PJ 3357	Rio Blanco	08-mar-21	28,8	21,15	1,948	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54977	PJ 3430	Rio Blanco	11-mar-21	31,38	14,92	1,909	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54977	PJ 3430	Rio Blanco	11-mar-21	31,38	14,92	1,909	-	-
C55006	PJ 3459	Rio Blanco	11-mar-21	31,93	16,56	1,846	-	-
C55006	PJ 3459	Rio Blanco	11-mar-21	31,93	16,56	1,846	-	-
C55016	PJ 3469	Rio Blanco	11-mar-21	22,85	17,1	1,832	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C55016	PJ 3469	Rio Blanco	11-mar-21	22,85	17,1	1,832	-	-
C55049	PJ 3502	Rio Blanco	11-mar-21	25,6	17,86	1,97	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>

C55049	PJ 3502	Rio Blanco	11-mar-21	25,6	17,86	1,97	-	-
C50410	PJ 909	Leñadura	10-mar-20	32,77	12,48	1,817	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50410	PJ 909	Leñadura	10-mar-20	32,77	12,48	1,817	-	-
C50435	PJ 934	Leñadura	10-mar	26.68	13,23	1,831	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C50435	PJ 934	Leñadura	10-mar-20	26.68	13,23	1,831	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C50446	PJ 945	Leñadura	10-mar-20	32,87	14,69	1,992	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50446	PJ 945	Leñadura	10-mar-20	32,87	14,69	1,992	-	-
C50791	PJ 1290	Isla magdalena	12-mar-20	34,86	33,783	1,88	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus occidentalis</i>
C50791	PJ 1290	Isla magdalena	12-mar-20	34,86	33,783	1,88	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C52717	PJ 1542	Lluta	01-oct-20	35,49	40,313	1,85	-	-
C52717	PJ 1542	Lluta	01-oct-20	35,49	40,313	1,85	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C52738	PJ 1563	Lluta	01-oct-20	35,32	35,739	1,862	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C52738	PJ 1563	Lluta	01-oct-20	35,32	35,739	1,862	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C52747	PJ 1572	Lluta	01-oct-20	34,95	48,53	1,932	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C52747	PJ 1572	Lluta	01-oct-20	34,95	49,53	1,932	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C52774	PJ 1599	Lluta	01-oct-20	35,29	42,388	1,852	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C52774	PJ 1599	Lluta	01-oct-20	35,29	42,388	1,854	-	-
C52910	PJ 1735	Lluta	02-oct-20	35,25	45,377	1,886	-	-
C52910	PJ 1735	Lluta	02-oct-20	25,25	45,377	1,886	-	-
C54298	PJ 2751	Leñadura	07-mar-21	34,76	24,593	1,875	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54298	PJ 2751	Leñadura	07-mar-21	35,76	24,593	1,875	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54301	PJ 2754	Leñadura	07-mar-21	34,88	19,869	1,955	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54301	PJ 2754	Leñadura	07-mar-21	34,88	19,869	1,955	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54307	PJ 2760	Leñadura	07-mar-21	34,23	38,981	1,915	-	-

C54307	PJ 2760	Leñadura	07-mar-21	34,23	39,981	1,915	-	-
C54313	PJ 2766	Leñadura	07-mar-21	34,77	44,951	1,923	-	-
C54313	PJ 2766	Leñadura	07-mar-21	34,77	44,951	1,923	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54354	PJ 2807	Leñadura	07-mar-21	34,57	37,903	1,841	<i>Lophonetta specularoides</i>	<i>Lophonetta specularoides</i>
C54354	PJ 2807	Leñadura	07-mar-21	34,57	37,903	1,841	<i>Lophonetta specularoides</i>	<i>Lophonetta specularoides</i>
C54383	PJ 2836	Leñadura	07-mar-21	34,29	10,148	1,842	-	-
C54383	PJ 2836	Leñadura	07-mar-21	34,29	10,148	1,842	-	-
C54433	PJ 2886	Leñadura	07-mar-21	35,48	20,249	1,902	<i>Birdstrike/ Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54433	PJ 2886	Leñadura	07-mar-21	35,48	20,249	1,902	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54442	PJ 2895	Leñadura	07-mar-21	35,77	17,47	1,868	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54442	PJ 2895	Leñadura	07-mar-21	35,77	17,47	1,868	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54449	PJ 2902	Leñadura	07-mar-21	34,28	11,789	1,801	<i>Birdstrike/ Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54449	PJ 2902	Leñadura	07-mar-21	34,28	11,789	1,801	<i>Birdstrike/Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54488	PJ 2941	Leñadura	07-mar-21	35,79	19,704	1,819	-	-
C54488	PJ 2941	Leñadura	07-mar-21	35,79	19,704	1,819	-	-
C54503	PJ 2956	Leñadura	07-mar-21	35,9	14,978	1,85	-	-
C54503	PJ 2956	Leñadura	07-mar-21	35,9	14,978	1,85	-	-
C54520	PJ 2973	Leñadura	07-mar-21	35,38	18,759	1,865	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54520	PJ 2973	Leñadura	07-mar-21	35,39	18,759	1,865	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54544	PJ 2997	Leñadura	07-mar-21	33,75	10,303	1,87	<i>Birdstrike / Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54544	PJ 2997	Leñadura	07-mar-21	33,75	10,303	1,87	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54564	PJ 3017	Tres brazos	08-mar-21	35,26	24,802	1,942	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>

C54564	PJ 3017	Tres brazos	08-mar-21	35,26	24,802	1,942	<i>Larus dominicanus</i>	-
C54657	PJ 3110	Tres brazos	08-mar-21	34,4	22,331	1,816	<i>Birdstrike / Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54657	PJ 3110	Tres brazos	08-mar-21	34,4	22,331	1,816	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54694	PJ 3147	Tres brazos	08-mar-21	34,89	14,544	1,87	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54694	PJ 3147	Tres brazos	08-mar-21	34,89	14,544	1,87	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C54809	PJ 3258	Rio Blanco	08-mar-21	35,19	20,128	1,977	-	-
C54809	PJ 3258	Rio Blanco	08-mar-21	35,19	20,128	1,977	-	-
C54812	PJ 3265	Rio Blanco	08-mar-21	34,42	11,072	1,858	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54812	PJ 3265	Rio Blanco	08-mar-21	34,42	11,072	1,858	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54834	PJ 3287	Rio Blanco	08-mar-21	35,57	6,466	1,9	<i>Birdstrike/ Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54834	PJ 3287	Rio Blanco	08-mar-21	35,57	6,466	1,9	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i> -
C54938	PJ 3391	Rio Blanco	11-mar-21	34,17	39,689	1,827	-	-
C54938	PJ 3391	Rio Blanco	11-mar-21	34,17	39,689	1,827	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50298	PJ 797	Leñadura	10-mar-20	35,86	35,756	1,937	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50298	PJ 797	Leñadura	10-mar-20	35,86	35,756	1,937	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C50589	PJ 1088	Rio Blanco	11-mar-20	22,9	88,83	1,94	<i>Chroicocephalus</i>	<i>Chroicocephalus</i>
C50589	PJ 1088	Rio Blanco	11-mar-20	22,9	88,83	1,94	-	-
C54297	PJ 2750	Leñadura	07-mar-21	31,14	5,095	1,902	<i>Anas georgica</i>	<i>Anas georgica</i>
C54297	PJ 2750	Leñadura	07-mar-21	31,14	5,095	1,902	-	-
C54551	PJ 3004	Rio Blanco	08-mar-21	25,18	13,598	1,856	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus occidentalis</i>
C54551	PJ 3004	Rio Blanco	08-mar-21	25,18	13,598	1,856	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54552	PJ 3005	Rio Blanco	08-mar-21	27,53	19,876	1,849	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus occidentalis</i>
C54552	PJ 3005	Rio Blanco	08-mar-21	27,53	19,876	1,849	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>

C54904	PJ 3357	Rio Blanco	08-mar-21	28,8	6,751	1,967	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus occidentalis</i>
C54904	PJ 3357	Rio Blanco	08-mar-21	28,8	6,751	1,967	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54977	PJ 3430	Rio Blanco	11-mar-21	31,38	28,423	1,807	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C54977	PJ 3430	Rio Blanco	11-mar-21	31,38	28,423	1,807	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C55006	PJ 3459	Rio Blanco	11-mar-21	31,93	15,007	1,858	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus californicus</i>
C55006	PJ 3459	Rio Blanco	11-mar-21	31,93	15,007	1,858	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C56139	PJ 3662	Arica	12-oct-21	36,11	28,681	1,996	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C56139	PJ 3662	Arica	12-oct-21	36,11	28,681	1,996	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C55825	IDEM	Maipo	25-oct-21	33,12	2,085	0,028	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C55825	IDEM	Maipo	25-oct-21	33,12	2,085	0,028	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53741	PJ 2194	Maipo	28-01-2021	21,71	38,862	1,848	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53741	PJ 2194	Maipo	28-01-2021	21,71	38,862	1,848	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53744	PJ 2197	Maipo	28-01-2021	32,39	13,975	1,944	<i>Anas georgica</i>	<i>Anas georgica</i>
C53744	PJ 2197	Maipo	28-01-2021	32,39	13,975	1,944	<i>Anas georgica</i>	<i>Anas georgica</i>
C53799	PJ 2252	Maipo	28-01-2021	34,22	29,436	1,909	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53799	PJ 2252	Maipo	28-01-2021	34,22	29,436	1,909	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53800	PJ 2253	Maipo	28-01-2021	31,69	32,468	1,965	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53800	PJ 2253	Maipo	28-01-2021	31,69	32,468	1,965	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53808	PJ 2261	Maipo	28-01-2021	31,15	11,664	1,805	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53808	PJ 2261	Maipo	28-01-2021	31,15	11,664	1,805	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53813	PJ 2266	Maipo	28-01-2021	30,72	23,335	1,975	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53813	PJ 2266	Maipo	28-01-2021	30,72	23,335	1,975	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53815	PJ 2268	Maipo	28-01-2021	25,31	35,878	1,961	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53815	PJ 2268	Maipo	28-01-2021	25,31	35,878	1,961	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53816	PJ 2269	Maipo	28-01-2021	27,12	23,976	1,867	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53816	PJ 2269	Maipo	28-01-2021	27,12	23,976	1,867	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>

C53961	PJ 2414	Maipo	01-02-2021	25,54	26,503	1,98	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53961	PJ 2414	Maipo	01-02-2021	25,54	26,503	1,98	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53971	PJ 2424	Maipo	01-02-2021	21,62	1,843	1,9	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C53971	PJ 2424	Maipo	01-02-2021	21,62	1,843	1,9	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
	PJ 3766	Lluta	12-10-2021	34,86	1,221	1,8	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
	PJ 3766	Lluta	12-10-2021	34,86	1,221	1,8	-	-
	PJ 3794	Lluta	12-10-2021	30,34	1,202	1,85	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
	PJ 3794	Lluta	12-10-2021	30,34	1,202	1,85	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C56724		Maipo	29-12-2021	28,1	5,53	1,85	<i>Himantopus mexicanus</i>	<i>Himantopus mexicanus</i>
C56724		Maipo	29-12-2021	28,1	5,53	1,85	<i>Himantopus mexicanus</i>	<i>Himantopus mexicanus</i>
	PJ 3717	Lluta	12-10-2021	36,78	11,251	1,88	<i>Charadrius semipalmatus</i>	<i>Charadrius semipalmatus</i>
	PJ 3717	Lluta	12-10-2021	36,78	11,251	1,88	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C 56034	PJ3557	Lluta	12-10-2021	35,78	18,069	1,96	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C 56034	PJ3557	Lluta	12-10-2021	35,78	18,069	1,96	<i>Anas flavirostris</i>	<i>Anas flavirostris</i>
C 56048	PJ3571	Lluta	12-10-2021	35,75	7,44	1,88	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C 56048	PJ3571	Lluta	12-10-2021	35,75	7,44	1,88	<i>Spatula cyanoptera</i>	<i>Spatula cyanoptera</i>
C 56000	PJ3523	Lluta	12-10-2021	35,84	19,973	1,89	<i>Himantopus mexicanus</i>	<i>Himantopus mexicanus</i>
C 56000	PJ3523	Lluta	12-10-2021	35,84	19,973	1,89	<i>Himantopus mexicanus</i>	<i>Himantopus mexicanus</i>
C 55554		Maipo	31-08-2021	36,24	5,33	1,85	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55554		Maipo	31-08-2021	36,24	5,33	1,85	-	-
C 55572		Maipo	31-08-2021	36,25	14,264	1,87	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55572		Maipo	31-08-2021	26,25	14,264	1,87	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55581		Maipo	31-08-2021	36,28	1,236	1,93	-	-

C 55581		Maipo	31-08-2021	36,28	1,236	1,93	-	-
C 55445		Maipo	31-08-2021	36,61	18,366	1,89	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus californicus</i>
C 55445		Maipo	31-08-2021	36,61	18,366	1,89	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus californicus</i>
C 55457		Maipo	31-08-2021	36,93	5,33	1,904	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55457		Maipo	31-08-2021	36,93	5,33	1,904	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55452		Maipo	31-08-2021	30,79	1,82	1,99	<i>Haematopus palliatus</i>	<i>Haematopus palliatus</i>
C 55452		Maipo	31-08-2021	30,79	1,82	1,99	<i>Haematopus palliatus</i>	<i>Haematopus palliatus</i>
C 55465		Maipo	31-08-2021	36,39	22	0,5	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus dominicanus</i>
C 55465		Maipo	31-08-2021	36,39	22	0,5	<i>Larus dominicanus</i>	<i>Larus californicus</i>
C 55493		Maipo	31-08-2021	35,41	1,236	1,95	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>
C 55493		Maipo	31-08-2021	35,41	1,236	1,95	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>	<i>Chroicocephalus maculipennis</i>

ANEXOS 2. Especies de Interés

DESCRIPCIÓN DE CHORLO SEMIPALMADO *Charadrius semipalmatus*

Pequeña y compacta ave costera, de cabeza redonda, ojos grandes, cuello corto, piernas tamaño medio y cuerpo compacto (Cornell Lab, 2019). Sus patas son anaranjadas, su pico anaranjado en la base y negro en la punta presenta un collar negro en todas las temporadas. Cabeza y dorso color café terroso, garganta, abdomen y frente blanco (García-Walther *et al.*, 2017). (Figura 8).



Figura 8. *Charadrius semipalmatus* en Desembocadura Rio Maipo.

Semejante a otros chorlos, por lo cual a veces se puede confundir con otras especies, está es el Chorlo de collar (*Charadrius collaris*) y el Chorlo nevado (*Charadrius nivosus*) (Martínez, *et al.*, 2015) (García-Walther *et al.*, 2017), ambos presentes en Chile, el primero distribuyéndose desde Atacama a Los Lagos, mientras que el segundo se encuentra siempre asociado a la costa desde Arica a Chiloé, por otro lado el Chorlo semipalmado también se asemeja al Chorlitejo grande (*Charadrius hiaticula*) presente en Europa, Asia y Groenlandia, Chorlo chiflador (*Charadrius melodus*) cuya distribución es Norteamérica hasta México durante el invierno, Chorlo pico grueso (*Charadrius wilsonia*) presente en Norteamérica por las costas del atlántico sur y golfo (Audubon, s/f).

Su distribución en reproducción abarca el Ártico, subártico del Norte de Alaska, tundra tanto en Canadá como en Estados Unidos (Martínez *et al.*, 2015). Durante la época no reproductiva pasa inviernos en pequeños números en los estados de Vancouver, Columbia Británica, Oregón, Washington y California por el lado Oeste, mientras que por el este raramente en Nueva York, Massachusetts, siendo más común en Texas, Florida. Tanto en América Central como en México se distribuye por ambas costas Pacífico y Atlántico (Nol *et al.*, 2020). En Sudamérica, por la costa del Atlántico se puede encontrar desde Colombia, Venezuela, Guyana, Surinam, Guayana Francesa, Brasil, Uruguay, Argentina siendo accidental en Tierra del Fuego, mientras que por el lado Pacífico se distribuye desde Colombia, Ecuador, Islas Galápagos, Perú y hasta el centro de Chile (Nol *et al.*, 2020).

Su comportamiento migratorio se destaca por la tendencia a utilizar la misma ruta migratoria por años consecutivos, con alta fidelidad en sus sitios de parada. Los adultos viajan entre 2-4 semanas antes que los juveniles. Existe poca agresión hacia otras especies por lo que comparte los sitios con otras especies. Se registran asociaciones con Playeros blancos

(*Calidris alba*), Chorlo ártico (*Pluvialis squatarola*) con quienes comparte hábitat, aunque usualmente la migración la realiza con una bandada de una sola especie (Nol *et al.*, 2020). También se ha visto asociado a Chorlos chilenos (*Charadrius modestus*) en el humedal desembocadura Rio Maipo (Registros propios).

Según Peredo, R. 2011, para la desembocadura del Rio Lluta este visitante estival se presenta tanto en solitario como en pequeños grupos o parejas, los cuales pueden encontrarse tanto en los arenales, orillas de la laguna, rio o borde costero. Existen registros fuera de la temporada primavera-verano de manera accidental. Por otro lado, otros sitios de importancia en Chile para el Chorlo semipalmado según el Atlas de las Aves Playeras de Chile son el Rio Elqui, Pichilemu y El Yali (García-Walther *et al.*, 2017).

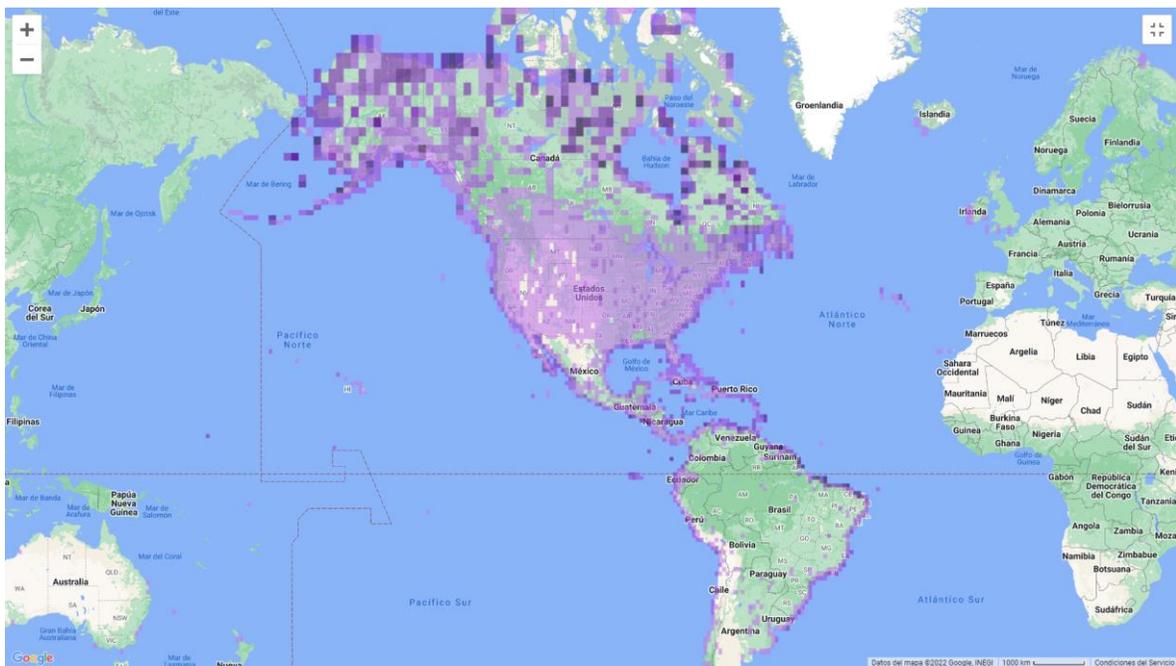


Figura 9. Distribución de *Charadrius semipalmatus* (Chorlo semipalmado). Mapa obtenido desde plataforma eBird.

DESCRIPCIÓN DE GAVIOTA DOMINICANA *Larus dominicanus*

La Gaviota Dominicana resultó ser la especie que predominó en la identificación a través de Códigos de barra. De un total de 124 muestras, 58 correspondieron a *Larus dominicanus*. Esto se puede explicar debido a la gran abundancia de la especie en los lugares de muestreos, encontrándose en presente en todos los lugares de muestreo.



Figura 10. *Larus dominicanus* en Desembocadura Rio Maipo.

Larus dominicanus es la especie de gaviota más común y de mayor tamaño en América del Sur (Burger *et al.*, 2020), siendo en Chile la más frecuente de observar en las costas (Rosso *et al.*, 2018). (Figura 10)

Su distribución en el hemisferio sur incluye por el oeste la costa de Ecuador y Brasil por el este, islas Malvinas y Georgias del Sur más la Antártica, el cono sur de África con registros hasta Portugal, Madagascar, islas subantárticas del océano Indico y Australia y Nueva Zelanda. Existen registros en América del Norte llegando incluso hasta Canadá (Garrido, 2018). En Chile su distribución abarca desde la frontera con Perú hasta el Cabo de Hornos (Goodall *et al.*, 1946 citado por Garrido, M. 2018).

En cuanto a su hábitat esta gaviota es principalmente costera, pero también hace ingreso hacia el interior por ríos, asentándose tanto en lagos, suelos agrícolas, praderas y ciudades. (House, R. 1945, citado por Garrido, M. 2018), esto es importante ya que da pie para que en dichas zonas de congregación tenga contacto con otras especies de aves. Se describe que su distribución altitudinal abarca desde la costa hasta los 2.200 msnm en la laguna del Maule, donde también se ha logrado detectar su reproducción como también en otras zonas interiores de Aysén y Magallanes (Garrido, 2018).

Se Chile se considera que *Larus dominicanus* y sus subespecies son residentes, con algunas poblaciones en expansión debido a su relación con las actividades humanas de las cuales esta gaviota se ve beneficiada (Garrido, 2018). Mientras que para el resto de su distribución se consideran algunas poblaciones como residentes, otras migratorias durante el invierno o con dispersión, destacando su tendencia a aumentar hacia el hemisferio norte, donde ya se ha documentado la reproducción de la especie en islas frente a la costa de Luisiana en Estados Unidos, incluso con parejas híbridas con *Larus smithsonianus*. Un dato documentado con la raza de *Larus dominicanus* presente en Nueva Zelanda describe que

la dispersión es realizada por individuos juveniles más que los adultos y esto sería posterior a la época de reproducción (Burger *et al.*, 2020).

House, R.; 1945 describe que aquellos ejemplares que ingresan al continente (en Chile) regresan a sus dormideros cercanos al mar, sin embargo, actualmente también hay registros de la situación inversa, con flujos de movimientos desde la costa hacia el este durante el atardecer y vuelos desde sectores urbanos por la mañana hacia la costa (Garrido, M. 2018) lo que tal vez pueda indicar posibles asentamientos en el interior de dichas ciudades, para lo cual se deben realizar más estudios.

La gaviota dominicana se beneficia de la actividad humana, en lo que respecta a su alimentación ya que encuentra como fuente a diversos elementos antropogénicos como los descartes de pesca, desechos de basureros, aguas residuales, mataderos y pescadería, por lo tanto, se considera debido a esto como una especie oportunista, además, es cleptoparásita, tomando huevos y polluelos de otras aves marinas, robando las presas a éstas o a sus pares. Consumen también mamíferos recién nacidos o enfermos, peces, moluscos entre otros (Burger *et al.*, 2020).

Es por esto que, *Larus dominicanus* se denomina una especie de interés debido a su adaptabilidad con los ambientes antrópicos, pudiendo desarrollarse sin dificultad, incluso aumentado su población al verse favorecido por la relación con el ser humano. Algunos autores han catalogado a *Larus dominicanus* como un vector de patógenos zoonóticos y plásticos en ambientes naturales (López-Martín *et al.*, 2011), además de considerarse un centinela y bioindicador de la contaminación producida por el ser humano, ya que al estar presente en prácticamente en todo el territorio es una especie la cual se le puede realizar seguimiento geográfico y tienen características que hacen que sea fácilmente muestreable (abundancia, nidos, etc.) (Muñoz *et al.* 1999). Por lo mismo se destaca el interés que atrae la especie debido a la estrecha relación que mantiene con los humanos, otras aves o mamíferos lo que podría favorecer la transmisión de agentes zoonóticos.

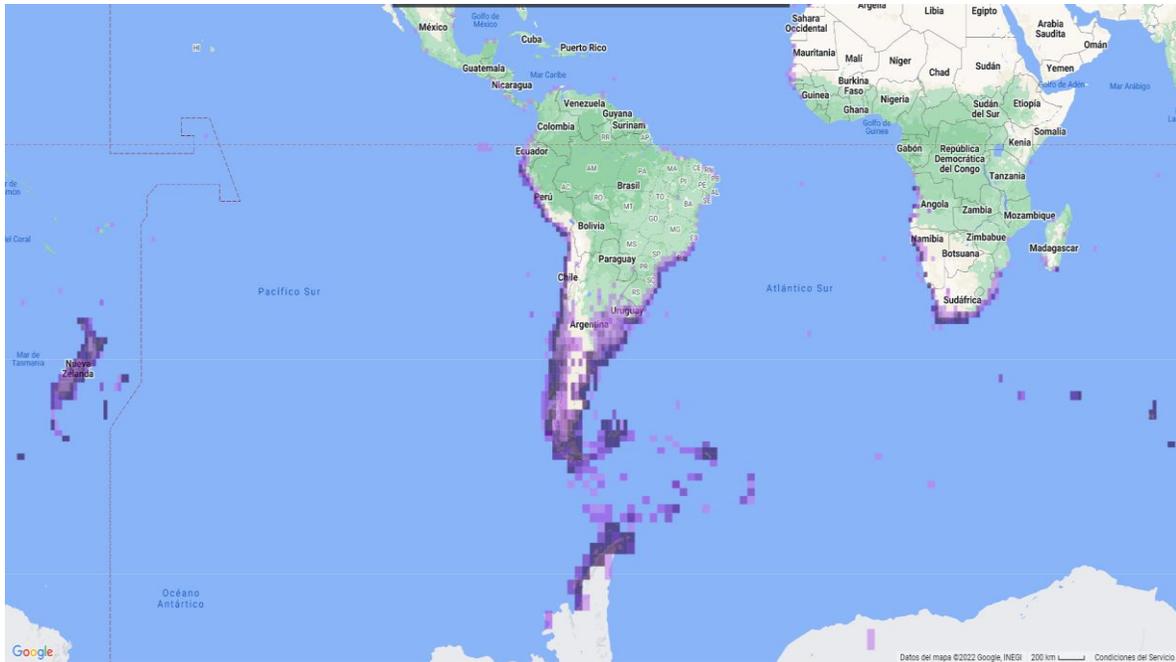


Figura 11. Distribución de *Larus dominicanus* (Gaviota dominicana). Mapa obtenido desde plataforma eBird.

DESCRIPCIÓN DE GAVIOTA CÁHUIL *Chroicocephalus maculipennis*

Chroicocephalus maculipennis o Gaviota Cáhuil, se distribuye desde Arica a Tierra del Fuego, llegando a la zona norte durante el invierno solo algunos individuos aislados (Rosso *et al.*, 2018). Sin embargo, su mayor abundancia se concentra en la zona centro-sur donde se reproduce, en la zona de Coquimbo se considera una especie estrictamente costera, cambiando esto desde Valparaíso al sur donde también ingresa hacia el interior del continente incluso llegando al piedemonte andino (Medrano, F. 2018). Se encuentra también en Argentina, Paraguay, Uruguay y Brasil (Burger, J. 2020).



Figura 12: *Chroicocephalus maculipennis* en Concón

Se describe esta especie como una que utiliza tanto las costas marinas como humedales interiores y sitios arados donde forrajea (Goodall *et al.*, citado por Medrano, F. 2018), durante invierno frecuenta desagües, mataderos, puertos y campos, se considera mayoritariamente sedentaria, realizando dispersiones a grandes ríos y áreas costeras posterior a la época reproductiva (Burger, J. 2020).

Mantiene interacciones con otras especies como Pilpilén común (*Haematopus palliatus*), Tagua común (*Fulica armillata*) a las cuales roba su alimento, también se describe interacción con Pato Rinconero (*Heteronetta atricapilla*) quien parasita huevos en sus nidos (Medrano, F. 2018) y se ha descrito fuera de Chile que puede compartir zonas de reproducción con Cuervos de pantano (*Plegadis chihi*) (Burger, J. 2020).

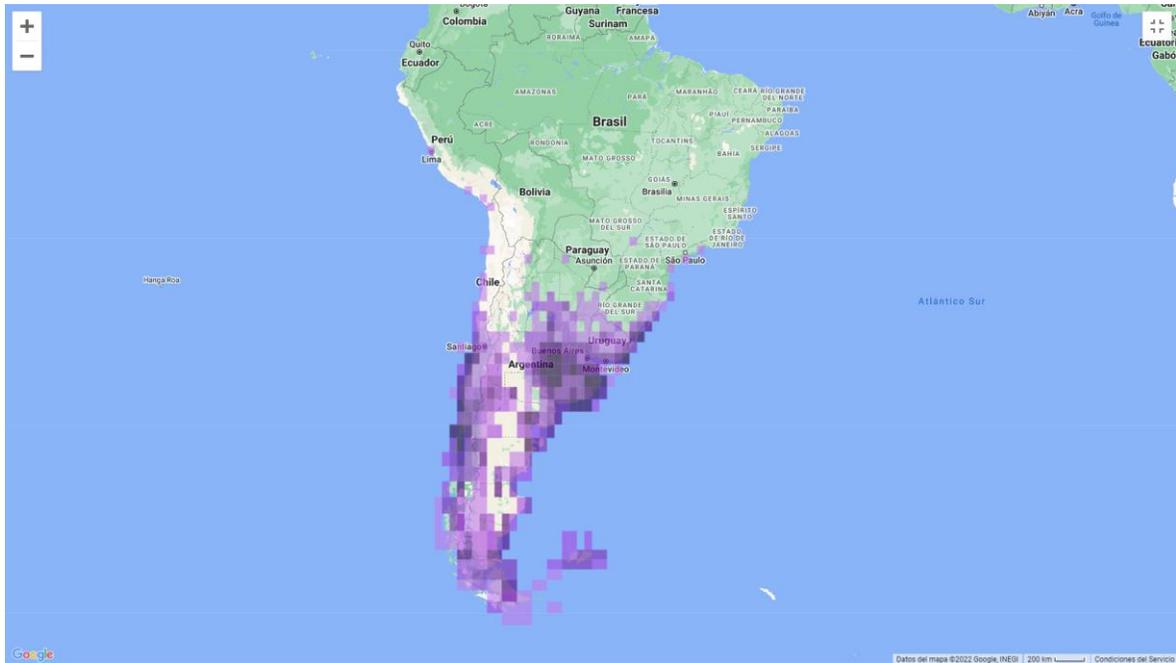


Figura 13. Distribución de *Chroicocephalus maculipennis* (Gaviota Cáhuil). Mapa obtenido desde plataforma eBird.

PLANIFICACIÓN

Actividad	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6
Toma de muestras	X					
PCR de muestras	X					
Enviar a Secuenciar		X				
Análisis de datos			X	X	X	
Presentación anteproyecto	X					
Redacción tesis	X	X	X	X	X	
Presentación Avance				X		
Presentación final						X

