Universidad Científica del Perú - UCP

Registrado en el Asiento Nº A00010 de la Partida Nº 11000318, Personas Jurídicas de Iquitos, Superintendencia de los Registros Públicos - SUNARP

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

PROGRAMA ACADÉMICO DE ECOLOGÍA

TESIS

"PREVALENCIA DE MALARIA EN LA AVIFAUNA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN CONCESIÓN DE CONSERVACIÓN CUENCA ALTA RÍO ITAYA – CCCARI"

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN ECOLOGÍA

AUTOR: Bach. TINO ANDRES VELA TRIGOSO

ASESORES: DRA. MARIANELA COBOS RUIZ

DR. DYLAN MADDOX

Región Loreto, Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

Con Resolución Decanal N° 541-2020-UCP-FCEI del 02 de diciembre del 2020, la FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP designa como Jurado Evaluador de la sustentación de tesis a los señores:

- Ing. Carmen Patricia Cerdeña del Águila, Dra. — Presidente
- Blgo. Alvaro Benjamin Tresierra Ayala, Dr. — Miembro
- Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores, Mgr. — Miembro

Como Asesora: a la **Blga. Marianela Cobos Ruiz, Dra.**, y al Co asesor **Blgo. Joseph Dylan Maddox, Dr.**

En la ciudad de Iquitos, siendo las 10:00 horas del día 13 de abril del 2022, a través de la plataforma ZOOM supervisado en línea por el secretario Académico del programa Académico de Ecología de la Facultad de Ciencias e Ingeniería de la Universidad Científica del Perú., se constituyó el Jurado para escuchar la sustentación y defensa de la Tesis: **"PREVALENCIA DE MALARIA EN LA AVIFAUNA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN CONCESIÓN DE CONSERVACIÓN CUENCA ALTA RÍO ITAYA - CCCARI"**

Presentado por el sustentante: **TINO ANDRES VELA TRIGOSO**

Como requisito para optar el título profesional de: **LICENCIADO EN ECOLOGÍA**

Luego de escuchar la sustentación y formuladas las preguntas las que fueron: **ABSUELTAS**
El Jurado después de la deliberación en privado llegó a la siguiente conclusión:

La sustentación es: **APROBADO POR UNANIMIDAD**

En fe de lo cual los miembros del Jurado firman el acta.

Presidente

Miembro

Miembro

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

DE LA UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL PERÚ - UCP

El presidente del Comité de Ética de la Universidad Científica del Perú - UCP

Hace constar que:

La Tesis titulada:

"PREVALENCIA DE MALARIA EN LA AVIFAUNA DEL CENTRO DE INVESTIGACIÓN CONCESIÓN DE CONSERVACIÓN CUENCA ALTA RÍO ITAYA – CCCARI"

De los alumnos: **TINO ANDRES VELA TRIGOSO,** de la Facultad de Ciencias e Ingeniería, pasó satisfactoriamente la revisión por el Software Antiplagio, con un porcentaje de **0% de plagio**.

Se expide la presente, a solicitud de la parte interesada para los fines que estime conveniente.

San Juan, 10 de Abril del 2022.

Dr. César J. Ramal Asayag
Presidente del Comité de Ética – UCP

CJRA/ri-a
163-2022

Curiginal

Document Information

Analyzed document	UCP_Ecologia_2022_Tesis_TinoVela_V1.pdf (D133118207)
Submitted	2022-04-08T18:23:00.0000000
Submitted by	Comisión Antiplagio
Submitter email	revision.antiplagio@ucp.edu.pe
Similarity	0%
Analysis address	revision.antiplagio.ucp@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA tesis 2015 (21).pdf
Document tesis 2015 (21).pdf (D13442315)

HOJA DE APROBACIÓN

Tesis sustentada en acto público el día 13 de abril a las 10:00 horas del 2022



Ing. Carmen P. Cerdeña del Águila Dra.
PRESIDENTA DEL JURADO



Blgo. Álvaro Benjamín Tresierra Ayala Dr.
MIEMBRO DEL JURADO



Blgo. Carlos Roberto Dávila Flores M.Sc.
MIEMBRO DEL JURADO

ASESORES (a)



Blga. Marianela Cobos Ruíz Dra.



Blgo. Joseph Dylan Maddox, Dr.

DEDICATORIA

La presente tesis de investigación la dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerza para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados.

A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años.

A todas las personas que han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Tino Andrés Vela Trigoso

AGRADECIMIENTO

Al proyecto: “Desarrollo de un Biosensor portátil y versátil basado en el Sistema CRISPR/Cas para la detección rápida, sensible, específica y de bajo costo de múltiples patógenos que causan la malaria en aves en la Amazonía Peruana”. Universidad Científica del Perú (UCP). FONDECYT/BM (Convenio 044-2019-FONDECYT/BM-INC-INV). por subvencionar la presente tesis.

A mis asesores; Marianela Cobos y Dylan Maddox por el apoyo y guía incondicional en el transcurso del desarrollo de la tesis.

Al Dr. Juan Carlos Castro Gómez por su sabiduría y consejos durante el desarrollo de la investigación.

A mis compañeros de Laboratorio; Hicler Rodríguez, Segundo Levi Estela, Joe Petterman y Paula Gálvez por compartirme sus conocimientos y enseñarme las destrezas para poder desarrollarme con éxito en este campo profesional.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Caratula

Acta de sustentación ii

Constancia de originalidad iii

Hoja de aprobación iv

Dedicatoria v

Agradecimiento vi

Resumen xi

Abstract xii

Capítulo I. Marco teórico 1

1.1. Antecedentes del estudio 1

1.2. Bases teóricas 9

1.3. Definición de términos básicos 16

Capítulo II. Planteamiento del problema 17

2.1. Descripción del problema 17

2.2. Formulación del problema 19

2.2.1. Problema general 18

2.2.2. Problemas específicos 18

2.3. Objetivos 18

2.3.1. Objetivo general 18

2.3.2. Objetivos específicos 18

2.4. Hipótesis 20

2.5. Variables 20

2.5.1. Identificación de las variables 20

2.5.1.1. Variable Dependiente 20

2.5.1.2. Variable Independiente 20

2.5.2. Definición conceptual y operacional de las variables 20
2.5.3. Operacionalización de las variables 20
Capítulo III. Metodología 22
3.1. Tipo y diseño de investigación 20
3.2. Población y muestra 20
3.2.1. Población 20
3.2.2. Muestra 20
3.3. Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos 20
3.3.1. Técnica de recolección de datos 20
3.3.2. Instrumento de recolección de datos 20
3.3.3. Procedimiento de recolección de datos 23
3.4. Procesamiento y análisis de datos 25

Capítulo IV. Resultados 26
4.1. Especies de aves encontradas en el CCCARI 26
4.2. Diversidad y riqueza específica de la avifauna del CCARI 29
4.3. Prevalencia de malaria en la avifauna del CCARI 33

Capítulo V. Discusión, Conclusiones y Recomendaciones 36
5.1. Discusión 36
5.2. conclusiones 38
5.3. Recomendaciones 39
Referencias bibliográficas 40
Anexos 44
Anexo 01. Mapa de ubicación de estudio 44
Anexo 02. Matriz de consistencia 45

Anexo 03. Galería de fotos 46

ÍNDICE DE TABLAS

N°	TITULO	Pág.
01.	Familia, especies y números de individuos registrados en el CCARI	24
02.	Número de individuos capturados en las 4 redes colocadas en el CCCARI	24
03.	Prevalencia de malaria en la avifauna del CCARI	25
04.	Prevalencia de malaria por familia de aves	25

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	TITULO	Pág.
01.	Ciclo de vida de Hemoparásitos aviares	10
02.	Número de individuos capturados en 4 redes colocadas en el CCARI	30
03.	Número de especies de aves capturadas en el CCARI	31
04.	Índice de diversidad de Alfa de Simpson	32
05.	Dominancia	32
06.	Índice de riqueza específica de Margalef	33

RESUMEN

Las investigaciones que se realizan sobre malaria en aves son de suma importancia, porque nos proporcionan información valiosa sobre los niveles de salud en los ecosistemas del planeta. La región amazónica de nuestro país se caracteriza por albergar una gran cantidad de especies de aves, sin embargo, también presenta la más alta tasa de deforestación, lo cual se conoce que contribuye a la aparición y aceleramiento de contagio de enfermedades en la avifauna. Por tal motivo la presente investigación tuvo como objetivo; Determinar la prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI. Se utilizó redes de neblina para capturar las aves, mediante punción braquial se extrajo muestras de sangre los cuales fueron transportados al Laboratorio de Biotecnología y Bioenergética – UCP y mediante técnicas de extracción se obtuvo el ADN, los cuales fueron sometidos a pruebas de PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa). Por diferentes tiempos de amplificación y la utilización de cebadores se determinó la presencia o ausencia del parasito de la malaria en las aves. Se logró capturar 281 individuos de aves, pertenecientes a 66 especies y 18 familias, de los cuales el 60,2 %, de un total de 99,4 % de las familias de aves registradas, dieron resultados positivos para malaria. Se concluye que se logró identificar la mayor cantidad de la diversidad de especies que habitan los bosques de la cuenca media alta del río Itaya. Así mismo la especie que predomina estos bosques es *Lepidothrix coronata* y *Glyphorynchus spirurus*, el cual está asociado principalmente al tipo bosques que existe en la zona.

Palabras claves: Avifauna, prevalencia, riqueza específica, malaria, ADN,

ABSTRACT

Research on malaria in birds is of the utmost importance, because it provides us with valuable information on health levels in the ecosystems of the planet. The Amazon region of our country is characterized by a large number of bird species; however, it also has the highest rate of deforestation, which is known to contribute to the emergence and acceleration of disease transmission in poultry. For this reason, the present research had as objective; To determine the prevalence of malaria in the avifauna of the Research Center Conservation Concession Upper Itaya River Basin - CCCARI. Fog nets were used to capture birds, blood samples were extracted by brachial puncture and transported to the Laboratory of Biotechnology and Bioenergetics - UCP and by extraction techniques the DNA was obtained, which were tested for PCR (Polymerase Chain Reaction). For different amplification times and the use of primers, the presence or absence of malaria parasite in birds was determined. It was possible to capture 281 birds belonging to 66 species and 18 families, of which 60.2% out of a total of 99.4% of the registered bird families tested positive for malaria. It is concluded that the greatest amount of the diversity of species that inhabit the forests of the upper middle basin of the Itaya River was identified. Likewise, the species that predominates these forests is Lepidothrix coronata and Glyphorynchus spirurus, which is mainly associated with the type forests that exist in the area.

Keywords: Avifauna, prevalence, specific richness, malaria, DNA,

Capítulo I: Marco teórico

1.1 Antecedentes del estudio.

En una investigación realizada en las cuencas del Napo y Curaray, con la finalidad de conocer la diversidad de aves y determinar el estado de conservación de los bosques, utilizando redes de neblina y censos por transectos, se logró atrapar un total de 204 especies de aves, distribuidas en 18 órdenes y 41 familias, categorizados en buen estado de conservación donde el 50% de las especies encontradas son altamente sensibles a hábitats degradados, el 34.3 % poseen una sensibilidad media y el 15,2 % tienen sensibilidad baja (1). Así mismo, por casi 30 días de evaluación, en la cuenca alta del río Putumayo, utilizando transectos lineales en los bosques inundables y bosques de tierra firme, investigadores del "Proyecto Especial de Desarrollo Integral de la Cuenca del Putumayo", lograron registrar 320 especies de aves pertenecientes a 53 familias y las más abundantes fueron *Orthopsittaca manilatus*, *Pionites melanocephalus* y *Ara ararauna*. Las especies *O. manilatus*, *P. melanocephalus*, *A. ararauna* y *Heterocercus aurantiivertex* fueron las más abundantes en el bosque inundable mientras que *Lipaugus vociferans* y *Herpsilochmus dugandi* fueron del bosque de tierra firme (2) .

De igual forma, en una investigación realizada sobre prevalencia y diversidad de hemoparásitos en aves de la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, se analizó un total 240 muestras sanguíneas pertenecientes a 22 familias y 64 especies de aves, donde se obtuvo 39 (16,25%) muestras sanguíneas positivas y 201 (83,75%) negativas. Solo 17 (26,6%) especies de aves estuvieron infectadas con hemoparásitos. Se determinó la prevalencia de los siguientes géneros de hemoparásitos: *Plasmodium* (10%), *Haemoproteus* (2,9%) y *Microfilarias* (2,5%). La prevalencia varió según especies de aves: *Cacicus cela* (familia Icteridae) con 6,67% y *Lepidothrix coronata* (familia Pipridae) con 2,5% fueron las más infectadas, mientras que el resto de las especies presentó prevalencias menores al 2%. La prevalencia en aves residentes fue de 16,25%, no se encontró

infección en aves migratorias. Las aves del bosque secundario presentaron una prevalencia de infección superior (11,25%) que las aves que habitaban en el bosque primario (5%), siendo significativo p< 0,001 al análisis estadístico. Se determinaron también 15 linajes de haemosporidios diferentes (10 Plasmodium, 5 Haemoproteus). De estos 15 linajes, 9 fueron nuevos hallazgos registrados en este estudio (3).

Asimismo, Blanco en 2016 (4), evaluó la prevalencia de los principales hemoparásitos que afectan a las aves rapaces en el triángulo Minas Gerais en Brasil. Analizó 55 aves de los órdenes accipitriformes (n = 12), falconiformes (n = 11), strigiformes (n = 21) y cathartiformes (n = 11). Recogió muestras de sangre (0,5 mL) mediante venopunción de la vena braquial para realizar frotis de sangre e investigaciones parasitológicas en 200 campos microscópicos, con un aumento de 100X. Observó parasitismo en el 78,18% (43/55) de las aves evaluadas. Descubrió que entre accipitriformes, el parasitismo fue estadísticamente menor (33,3% - 4/12) a falconiformes (90,9% - 10/11), strigiformes (85,71% - 18/21) y cathartiformes (100% - 11/11). Al mismo tiempo observó que 43 aves (78,18%) fueron infectadas con *plasmodium spp*., pero con baja parasitemia y uno (2,32%) presentó infección mixta por *babesia spp*. y *plasmodium spp*. entre los órdenes accipitriformes analizados, fue el de menor parasitemia, este fue el primer registro de *babesia spp*. infectando *caracara plancus*. No se observó hemoparásitos solo en dos especies *Elanus leucurus* y *Falco peregrinus*. Así, concluyó que las aves de los órdenes estudiados tuvieron un índice alto del parasitismo por *plasmodium spp*. y que *caracara plancus* es susceptible a la infección por *babesia spp*.

De igual manera en 2017 se analizó el efecto de variables intrínsecas y extrínsecas de una población del gorrión de collar rufo, *Zonotrichia capensis*, sobre la prevalencia de parásitos del género *Plasmodium* y *Haemoproteus* en Lomas de Lachay. Se evaluó la presencia de hemoparásitos mediante microscopía y detección por PCR. Se estudió su asociación con el sexo, la temporada, la presencia de ectoparásitos y la masa corporal. También, se encontró un efecto significativo de la estación

y la interacción entre la estación y la presencia de ectoparásitos indicando una posible relación entre la emergencia de vectores, y los efectos de distintos estresores sobre la prevalencia de hemosporidios. Se concluyó que el estrés generado por condiciones ambientales debe tener un papel importante en la dinámica hospedero-parásito de aves y hemoparásitos. Otras variables intrínsecas como tamaño corporal o sexo no tuvieron ningún papel sobre la prevalencia indicando que podría ser dependiente de variables externas a los gorriones (5).

También en el mismo año se determinó la presencia de hemoparásitos en poblaciones ferales de la paloma de castilla, *Columba livia*, en el departamento de Lima, Perú. Trabajaron en el centro poblado Pampas San Alejo, ciudad y provincia de Barranca (zona rural) y en un Zoológico del distrito de San Juan de Miraflores, ciudad y provincia de Lima. Capturaron 52 aves adultas utilizando redes de neblina: 28 y 24 aves en la zona rural y urbana, respectivamente. Obtuvieron una muestra sanguínea de la vena braquial y se realizaron frotices sanguíneos, que fueron fijados con metanol y teñidos con Giemsa. El 94,2% (49/52) de las aves fueron positivas a la presencia de hemoparásitos: *Haemoproteus sp* (94,2%; 47/52), *Plasmodium sp* (13,5%; 7/52) y *Leucocytozoon sp* (1,9%; 1/52). La intensidad de infección para *Haemoproteus sp* fue muy baja (24,5%), baja (59,2%) y media (16,3%). Todas las aves de la zona rural fueron positivas (n=28), mientras que solo el 87,5% (21/24) de las aves de la zona urbana presentaron hemoparásitos, pero sin diferencia significativa entre lugares de procedencia de las aves (6).

De igual modo, se evaluó la prevalencia, parasitemia, estrés crónico y condición corporal en tres familias de aves que habitan un sitio natural en una matriz agrícola, y la relación de estas variables con las concentraciones de compuestos organoclorados en plumas de las aves. Los resultados obtenidos fueron que la prevalencia varió entre 7,4% y 33,3% entre familias y se asoció a diferencias extrínsecas que parecen afectar de diferente manera a diferentes especies. Por otro lado, la parasitemia fluctuó entre 13 y 53,13 parásitos por cada 10,000 eritrocitos y parecía estar relacionada

con factores intrínsecos a las especies o etapas de infección. También concluyeron que la condición corporal disminuyó en todos los casos con el incremento en las concentraciones de los compuestos organoclorados. El estrés fue en algunos casos elevados y en otro bajo, y su relación con las concentraciones de compuestos organoclorados no fue muy evidente. Finalizaron concluyendo que se necesitan más estudios para comprender los mecanismos que influyen las relaciones entre prevalencia y parasitemia por parásitos haemosporidos, estrés crónico y condición corporal de las aves con la contaminación química agrícola (7).

Además, se estudió la prevalencia y estacionalidad de haemosporidios en aves de la estación ecológica - Seridó, ubicado en el interior de Rio Grande do Norte, Brasil. Las recolecciones se llevaron a cabo en dos estaciones climáticas, seca y lluviosa durante los años 2013 y 2014, utilizaron redes de neblina para la captura de aves y recolección de sangre, posteriormente técnicas de laboratorio para extracción de ADN y amplificación y diagnóstico de la presencia de hemoparásitos. Muestrearon 779 aves, que comprendieron 9 familias y 20 especies. La prevalencia total obtenida en los dos años de muestreo fue del 54%, sin diferencia entre la época seca y lluviosa. Las condiciones ambientales del área de estudio en los años de recolección fueron favorables para el desarrollo de algunos de los vectores de la hemosporidiosis. Concluyendo que el hábitat de las aves influye mucho en su historia de vida. Por este motivo, tanto el gremio trófico como el ambiente que frecuentan las aves se relacionaron con la infección hemospórida (8).

De igual manera se identificaron los ectoparásitos y hemoparásitos en palomas, *Columba livia*, que habitan en parques de la ciudad de Huánuco; procedieron a capturar 150 palomas de cuatro parques de la ciudad de Huánuco desde agosto 2016 a marzo del 2017. Encontrándose una prevalencia (P) de 94,7% de infestación por ectoparásitos en las palomas, siendo *Columbicola columbae* (P= 90%) el de mayor prevalencia seguido *Goniodes gigas* (P= 48,7%), *Pseudolynchia canariensis* (P= 25,3%), *Menacanthus stramineus* (P= 1,3%), *Ornithonysus sp*. (P= 1,3%) y

Menopon gallinae (P= 0,7%). Se encontró una prevalencia de 96,7% para *Haemoproteus* sp. No se encontró relación entre las palomas infestadas con *Pseudolynchia canariensis* y *Haemoproteus sp*. Se concluyó que las palomas que habitan los parques de la ciudad de Huánuco, tenían una alta prevalencia de ectoparásitos con mayor prevalencia de piojos *Mallophaga* y alta prevalencia de *Haemoproteus* sp. Asimismo, se identificó un ácaro *Ornithonysus* sp. Con potencial zoonótico (9).

También se determinó la presencia y prevalencia de hemoparásitos en aves residentes y migratorias en Punta Santa Bárbara, Parque Nacional Darién, colectaron 271 muestras de sangre extraídas de 126 individuos de aves de 43 especies. Con un total de 24 frotis o 19,05% de las muestras positivas para algún tipo de hemoparásito, se determinó que el más común de estos parásitos encontrados era el *Haemoproteus sp*. (11,90%), *Plasmodium sp.* (5,56%), seguido de *Leucocytozoon sp*. (4,76%) y Microfilarias pertenecientes a los helmintos con (0,79%) de prevalencia. Mediante el índice de Shannon-Wiener se determinó que la diversidad de parásitos en época lluviosa es similar a la registrada en la época seca. Mediante una prueba de Ji cuadrado, se determinó que *Haemoproteus sp*., era el parásito con mayor frecuencia en las muestras positivas, mientras que las microfilarias se registran con menor frecuencia. Se evaluó la frecuencia de aves parasitadas y no parasitadas de acuerdo a la masa del individuo mediante una prueba Ji cuadrado, encontrando para este estudio una diferencia significativa en el número de aves parasitadas de acuerdo a la masa del individuo, aves con parásitos presentan mayor peso (10)

De igual manera se determinó la presencia de hemoparásitos en aves silvestres, en dos sitios de la Amazonía Ecuatoriana ubicados en Pastaza y Zamora Chinchipe. El estudio se realizó en el periodo de Abril–agosto 2017. Se capturaron 226 individuos de 20 familias usando redes de neblina. Por cada ave se realizaron dos frotis sanguíneos los cuales se fijaron con metanol y se tiñeron con Giemsa. La identificación en el laboratorio se hizo a través de microscopía óptica. Se determinaron 12 individuos positivos pertenecientes a 6 familias. De las muestras positivas el 10,8% fueron

positivas a *Haemoproteus sp.*, (1%) a *Leucocytozoon sp*. y una presentó infección mixta con *Leucocytozoon sp*. (1%) y *Trypanosoma sp*. (1%). La densidad parasitaria fue baja para la mayoría de los casos positivos; media para una especie y alta para Picoplano Oliváceo (*Rhynchocyclus olivaceos*). También determinaron relación estadística significativa entre la presencia de *Haemoproteus sp*., con el hábito alimenticio (11).

Así mismo en una investigación, se evaluó la variación estacional de los hemoparásitos de las aves de la Reserva Nacional de Lachay (RNL). Para ello, primero se evaluó la estacionalidad de parámetros ambientales, luego se describió someramente la biodiversidad de aves de dos hábitats en las épocas seca y húmeda y se evaluó la posible estacionalidad de la prevalencia y la intensidad de hemoparásitos de la comunidad de aves. Se predijo que la probabilidad de parasitismo y la intensidad hemoparasitaria serían significativamente diferentes entre estaciones. La metodología consistió en utilizar información climática recogida por la estación meteorológica de la reserva y en colocar redes de neblina en dos hábitats de la RNL para la captura de aves. Luego se les extrajo sangre en capilares y se realizaron frotis que se tiñeron con colorante Giemsa. Los frotis se observaron en un microscopio para el conteo de células sanguíneas, registrando las parasitadas. Los resultados demostraron diferencias estacionales significativas en la intensidad de hemoparásitos de la comunidad, mas no concluyentes para la probabilidad de parasitismo. Así mismo, la prevalencia de infecciones por Haemosporida fue mayor en época seca. Factores como densidad poblacional, estrategia social y gremio según estrato arbóreo de las especies de la comunidad también fueron importantes en determinar la probabilidad de hemoparasitismo. En el caso de los modelos de intensidad hemoparasitaria, la estrategia social y gremio según estrato arbóreo fueron significativos, mas no la densidad poblacional (12).

También en una investigación titulada: Malaria aviar baja persistente en una especie tropical a pesar de la alta prevalencia comunitaria, está reveló una prevalencia consistentemente muy baja durante 13 años (~5%) a pesar de

que las infecciones persisten y la prevalencia aumenta con la edad. En contraste, tres especies claves dentro de esta comunidad tropical estaban altamente infectadas (prevalencia de ~20-75%) y estas diferencias se mantuvieron estables. Este estudio encontró que la susceptibilidad del parásito de la malaria está determinada por factores del huésped y que las especies pueden mantener niveles bajos a pesar de la alta prevalencia comunitaria (13).

Fecchio *et al*, (14), mencionaron que los parásitos hemosporidianos de los géneros *Plasmodium*, *Leucocytozoon* y *Haemoproteus* son uno de los grupos de parásitos más prevalentes y ampliamente estudiados que infectan a las aves. Las últimas dos décadas han visto un aumento dramático en la investigación sobre parásitos hemosporidianos aviares como un sistema modelo para comprender las relaciones evolutivas y ecológicas entre parásitos y hospedadores. A pesar de que los hemosporidios son uno de los grupos de parásitos aviares mejor estudiados, su especialización entre los huéspedes aviares y la variación en la prevalencia entre las regiones y los taxones de huéspedes no se comprenden completamente.

Investigaciones en prevalencia y diversidad genética de parásitos hemosporidianos aviares en especies de aves silvestres del orden Columbiformes, determinaron que las enfermedades pueden influir en el declive de las especies. Examinaron la prevalencia y diversidad de parásitos hemosporidianos *Plasmodium*, *Leucocytozoon* y subgéneros *Haemoproteus* y *Parahaemoproteus* en seis especies del orden Columbiformes durante la temporada de reproducción y migración mediante la aplicación de PCR anidada, ensayo de PCR multiplex de un solo paso y microscopía. Detectando infecciones en 109 de los 259 individuos examinados (42%), incluidos 15 linajes distintos del citocromo b mitocondrial de *hemosporidios*, que representan cinco H. (*Haemoproteus*), dos H. (*Parahaemoproteus*), cinco linajes *Leucocytozoon* y tres *Plasmodium* (15).

La diversidad de los hemoparásitos *Plasmodium* y *Haemoproteus* en algunas especies de aves de los Andes colombianos, utilizando en conjunto la determinación morfológica de las especies y la identificación de linajes de citocromo b. En total se determinaron 14 morfoespecies de las cuales seis son nuevas para el mundo y se da la descripción de una de ella: *Plasmodium* (Novyella) *unalis* sp. nov. También se da la redescripción de Plasmodium (Haemamoeba) *lutzi* un parásito que solo había sido reportado en tierras bajas. Las especies Plasmodium (N.) *unalis* y P. (H.) *lutzi* resultaron genéticamente relacionados con Plasmodium (N.) *vaughani* y P. (H.) *relictum* respectivamente, parásitos de amplia distribución geográfica y de hospederos. Se reportan también 25 linajes de citocromo b de los cuales 18 no han sido reportados previamente. En cuanto a la concordancia entre identificación morfológica y molecular, el marcador citocromo b mostró ser útil para la determinación de especies, a pesar de su baja resolución filogenética. El género *Plasmodium* presentó diferencias en las especies entre tierras altas (este estudio) y las reportadas previamente en tierras bajas neotropicales. Finalmente consideraron las diferencias entre los parásitos que infectan aves residentes y migratorias, encontrándose que existen linajes restringidos a residentes y otros a migratorias boreales; solo un linaje fue compartido entre estos tipos de aves, sin embargo este parásito no fue encontrado en aves boreales no-migratorias; indicando que el linaje compartido no cuenta con un ciclo de transmisión establecido en la región boreal (16).

Finalmente, en el sudeste asiático se encontró que los géneros que causan mayores infecciones en las aves son *Haemoproteus*, *Plasmodium* y *Leucocytozoon*. Además, está investigación demuestra que existe una diversidad inexplorada de estos parásitos (27% de linajes de hemosporidianos recién descubiertos y 64% de nuevos registros de ensamblajes de hospedador-parás). También la prevalencia y diversidad de hemosporidios es ligeramente superior en las aves que viven en los arrozales que, en individuos de las áreas urbanas y colinas, lo que implica

que la alteración humana de los entornos naturales puede afectar la dinámica de las enfermedades transmitidas por vectores (17).

1.2 Bases teóricas.

1.2.1 Plasmodium

Las infecciones causadas por las especies de Plasmodium en aves se conocen como Malaria aviar, la cual es una enfermedad de las aves que es transmitida por mosquitos, tiene un amplio rango de hospederos y una gran distribución geográfica. Las especies de *Plasmodium* que afectan a las aves comparten características morfológicas y de desarrollo que están relacionadas estrechamente con los parásitos hemosporidios del género *Haemoproteus* y *Leucocytozoon*, sin embargo, se distinguen de estos por la presencia de la fase de reproducción asexual en los eritrocitos circulantes (11).

1.2.2 Distribución

Las especies de *Plasmodium* que infectan a las aves tienen una distribución cosmopolita, se encuentran en la mayoría de las zonas zoo geográficas del planeta con excepción de la Antártica, donde los vectores responsables de la transmisión no se encuentran. Los reportes de *Plasmodium* de la región australiana son mucho menores que en otras zonas del planeta (11). Se tiene reporte de siete especies de *Plasmodium*, las cuales tienen un amplio rango de hospederos, con reportes de por lo menos 67 especies de aves hospederas (12).

1.2.3 Ciclo de vida

El ciclo de vida de los hemoparásitos involucra un hospedero invertebrado (vector) y las aves como hospederos vertebrados. La patología varía según la especie de parásito y del hospedero. Después de que el vector se alimenta de un ave infectada, los parásitos escapan de los eritrocitos aviares al intestino del díptero. La gametogénesis y reproducción sexual tienen lugar allí, seguidos por la reproducción

asexual (esporogonia) que se origina en las etapas de extensión llamados esporozoitos. Los esporozoitos desarrollados, infecciosos para las aves, se mueven a través del hemocele del vector a sus glándulas salivales. La transmisión para el hospedero aviar se produce mientras que el insecto se alimenta de la sangre de un ave apropiada. En el interior del cuerpo del ave, los esporozoitos se mueven dentro de las células de los tejidos fijados y sufren una división asexual, produciendo merontes o esquizontes unos días después de la fecha de la infección. Con varias rondas de división múltiple (esquizogonia o merogonia), merontes originan merozoitos, que son las etapas asexuales de distribución dentro del organismo del hospedero (el número de rondas de merogonia y los órganos en los que se produce dependerá del parásito en cuestión). Los merozoitos salen de los tejidos fijados, distribuidas en el torrente sanguíneo e invaden los eritrocitos. Allí, pueden seguir merogonia/esquizogonia (*Plasmodium*) o pueden desarrollar directamente en gametocitos de ambos géneros (*Haemoproteus* y *Leucocytozoon*). Estos gametocitos son infecciosos a los vectores (18).

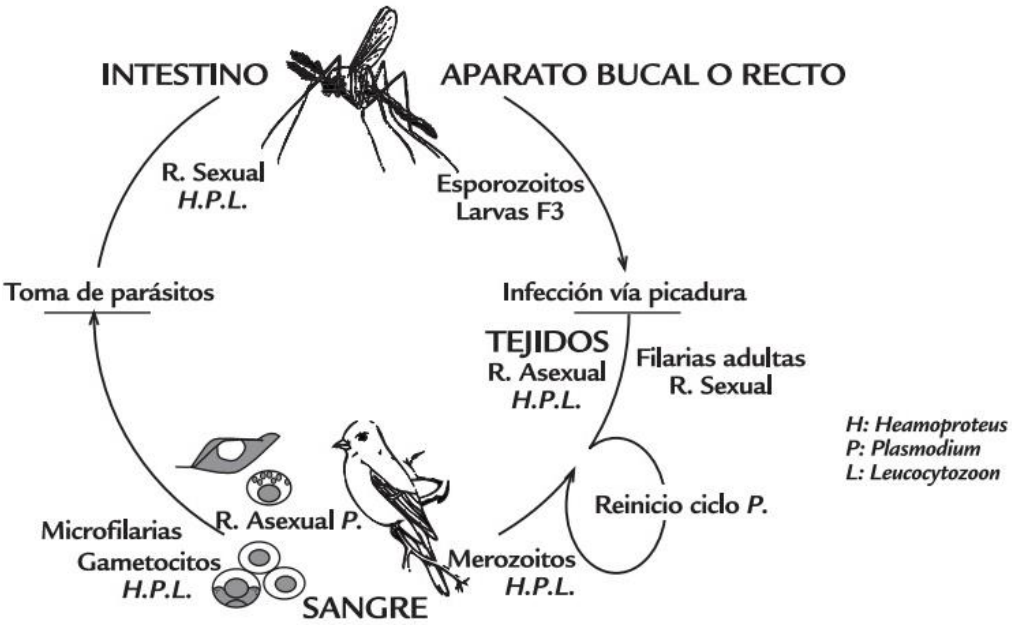


Figura 1. Ciclo de vida de Hemoparásitos aviares, Tomada de Matta & Rodriguez (19).

1.2.4 Prevalencia de parásitos causantes de malaria en aves

La prevalencia es la frecuencia de una entidad en un momento dado y se expresa en tasa o porcentaje (15) por tanto es el número de individuos infectados por especie (16). Estadísticamente se expresa por medio de la letra “P”.

1.2.5 Métodos de Extracción de Ácidos Nucleicos

Para extraer los ácidos nucleicos del material biológico es preciso provocar una lisis celular, inactivar las nucleasas celulares y separar los ácidos nucleicos de los restos de células. El procedimiento de lisis idóneo suele consistir en un equilibrio de técnicas y ha de ser suficientemente fuerte para romper el material inicial complejo (un tejido, por ejemplo), pero suficientemente suave para preservar el ácido nucleicodiana (20). Entre los procedimientos usuales de lisis figuran los siguientes:

- Rotura mecánica (trituración, lisis hipotónica, etc.);
- Tratamiento químico (detergentes, agentes caotrópicos, reducción con tioles, etc.);
- Digestión enzimática (Proteinasa K, etc.).

Es posible romper la membrana celular e inactivar las nucleasas intracelulares al mismo tiempo. Por ejemplo, una misma solución puede contener detergentes que solubilicen las membranas celulares y sales caotrópicas fuertes que inactiven las enzimas intracelulares. Tras la lisis celular y la inactivación de las nucleasas, los restos de células se eliminan fácilmente por filtración o precipitación.

1.2.6 Métodos de purificación

Los métodos empleados para purificar los ácidos nucleicos de extractos celulares suelen ser combinaciones de dos o más técnicas de las siguientes:

- Extracción/precipitación;

- Cromatografía;
- Centrifugación;
- Separación por afinidad.

1.2.7 Extracción/precipitación

A menudo se efectúa una extracción con disolventes para eliminar los contaminantes de los ácidos nucleicos. Por ejemplo, suele emplearse una combinación de fenol y cloroformo con objeto de eliminar las proteínas. Para concentrar los ácidos nucleicos suele realizarse una precipitación con isopropanol o etanol. Si la cantidad de ácido nucleico diana es escasa, puede añadirse a la mezcla un portador inerte (como el glucógeno) para favorecer la precipitación. También puede realizarse una precipitación selectiva con concentraciones salinas elevadas (precipitación salina) o una precipitación de las proteínas mediante cambios del pH (18).

1.2.8 Centrifugación

La centrifugación selectiva constituye un método de purificación eficaz. Así, por ejemplo, la ultracentrifugación en gradientes autogenerados de CsCl con fuerzas *g* elevadas se lleva empleando mucho tiempo para purificar plásmidos. La centrifugación suele asociarse a otros métodos, como la cromatografía de columna centrifugada, en cuyo caso se combina la premiación sobre gel y la centrifugación para separar el ADN o ARN de contaminantes más pequeños (sales, nucleótidos, etc.), intercambiar tampones o seleccionar según el tamaño (21)

1.2.9 Importancia de las técnicas de extracción

En todos los organismos, la célula es la unidad de origen estructural y funcional básica, todos poseen esencialmente la misma maquinaria bioquímica y tienen, en común el mismo código genético. Toda la información genética de un organismo vivo se encuentra acumulada en

la secuencia lineal de los cuatro nucleótidos que conforman la molécula de ADN (8).

La importancia del proceso de obtención y purificación del material genético es recobrar el producto máximo de ADN de alto peso molecular libre de proteínas, fenol e inhibidores de las enzimas de restricción y de la Taq polimerasa. El ADN de alta calidad es un prerrequisito para su uso en técnicas de biología molecular como Impresiones Digitales de ADN o Fingerprinting (utilizando secuencias altamente repetitivas denominadas minisatelites que permite la identificación genética de las personas) y PCR (para la identificación de las secuencias específicas de ADN mediante el uso de cebadores), no así el ADN degradado que no sustenta la integridad de los fragmentos de restricción para producir bandas definidas, ni los sitios blanco para los cebadores. Consecuentemente, los métodos apropiados de conservación de muestras en el campo son de extrema importancia, y pueden afectar grandemente la calidad del ADN extraído. Es de gran importancia la obtención de ácido desoxirribonucleico (ADN) humano de alta pureza a partir de glóbulos blancos, para su aplicación en estudios de Genética Molecular utilizando técnicas de hibridación y amplificación por reacción en cadena polimerasa (PCR).

Asimismo, existen diferentes procedimientos para purificar el ADN genómico de las plantas, pero las etapas son similares. El primer paso consta en añadir nitrógeno líquido en un mortero que contiene el tejido vegetal y se rompe la pared celular mediante trituración. En esta primera etapa, también se añade gradualmente el tampón de extracción, que contiene una mezcla de varios compuestos químicos que cumplen funciones importantes. Entre estos, el tris que actúa como tampón para estabilizar el pH de la solución; los detergentes comúnmente empleados son el bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB) (9, 10) y el dodecil sulfato de sodio (SDS) (11), que destruyen las membranas celulares (plasmática, nuclear y de organelos

membranosos citoplasmáticos) para liberar el ADN. El ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), un agente quelante, que al atrapar los iones metálicos (Mg2+, Mn2+, etc), deja desprovistas de sus cofactores a las ADNasas, previniendo así, la hidrólisis del ADN por estas enzimas. El NaCl en altas concentraciones (>1M) junto con el CTAB permiten remover los polisacáridos contaminantes (12, 13). Los polisacáridos pueden inhibir la actividad de ciertas enzimas que modifican el ADN y también pueden interferir en la cuantificación de los ácidos nucléicos por espectrofotometría (14). El polivinilpirrolidona (PVP) forma complejos con los polifenoles, permitiendo su remoción (15). En el segundo paso, se incuba el homogenizado de 60 a 75°C, para desnaturalizar proteínas e inactivar las enzimas que pueden degradar al ADN. La tercera etapa, consiste en extraer varios de los contaminantes (proteínas, lípidos, pigmentos, etc), homogenizando el extracto con solventes orgánicos, como el fenol y el cloroformo: alcohol isoamílico (24:1) por separado o mezclados (fenol: cloroformo: alcohol isoamílico 25:24:1). Esta etapa se puede repetir 2 a 3 veces, hasta obtener un sobrenadante limpio después de la centrifugación. El ADN presente en el sobrenadante se precipita con etanol absoluto o isopropanol y se lava con etanol al 70%. Como el ADN co-precipita con el ARN, este contaminante se elimina por hidrólisis con la enzima ARNasa A (16, 17).

El nitrógeno líquido es comúnmente empleado en el aislamiento de ácidos nucléicos de tejidos vegetales, porque facilita la destrucción de la pared celular y es considerado importante para garantizar una alta calidad y cantidad suficiente de estas macromoléculas después de su purificación (16, 18).

1.2.10 Diversidad alfa

Es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea (19).

1.2.11 Riqueza específica

Es la forma más sencilla de medir la biodiversidad, ya que se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de las mismas. La forma ideal de medir la riqueza específica es contar con un inventario completo que nos permita conocer el número total de especies (S) obtenido por un censo de la comunidad. Esto es posible únicamente para ciertos taxa bien conocidos y de manera puntual en tiempo y en espacio (19).

1.3 Definición de términos básicos.

ADN: Almacena y transmite la información genética. Dirige el proceso de síntesis de proteínas. Constituye el material genético y forma los genes, que son las unidades funcionales de los cromosomas.

Amazonía: Es una vasta región de la parte horizontal y septentrional de América del Sur que comprende la selva tropical de la cuenca del río Amazonas. Las adyacentes regiones de las Guayanas y el Gran Chaco también poseen selvas tropicales, por lo que muchas veces se las considera parte de la Amazonía.

Especie: unidad básica de clasificación biológica. Una especie es un conjunto de organismos o poblaciones naturales capaces de entrecruzarse y producir descendencia fértil.

Hemoparásito: Parasito que vive en la sangre del huésped.

Hospedero: Aquel organismo que alberga a otro en su interior o lo porta sobre si permitiendo su subsistencia, este puede ser de dos tipos, definitivo cuando alberga la forma adulta, o la etapa de reproducción sexual del parasito o intermediaria cuando alberga la forma larvaria o la etapa asexual del parasito.

Malaria: Paludismo. Enfermedad producida que es causado por un parásito denominado *Plasmodium* que se transmite a través de la picadura de mosquitos infectados.

Malaria aviar: Enfermedad causada por un parasito protozoo que se transmite por la picadura de un mosquito infectado a un ave.

Prevalencia: En epidemiología, se denomina prevalencia a la proporción de individuos de un grupo o una población que presentan una característica o evento determinado. Por lo general, se expresa como una fracción, un porcentaje o un número de casos por cada 10,000 o 100,000 individuos.

Parásito: Ser que vive y se alimenta a expensas de otro mayor, llamado huésped, durante toda o parte de su vida.

Capítulo II. Planteamiento del problema.

2.1 Descripción del problema.

El estudio científico de la malaria aviar nos proporciona una información muy valiosa sobre la salud de nuestro mundo. Porque es uno de los principales indicadores de calidad ambiental en una región. La región Loreto, es una de las más biodiversas del país, sin embargo, presenta las más altas tasas de deforestación, contribuyendo a que la infección por malaria en aves sea tres veces mayor que en áreas de bosque conservadas. Asimismo, la malaria aviar puede afectar negativamente la aptitud física de las aves, ya que la reducción experimental de parasitemia a través de antibiótico ha demostrado que aumenta la masa corporal y condiciona la capacidad de criar descendencia e incluso la supervivencia de los adultos. Dado que el cambio climático está alterando las distribuciones y la prevalencia de vectores en todo el mundo, es probable que colecciones enteras de aves estén expuestos a la nueva malaria aviar en un futuro cercano. Esto puede ser especialmente importante en los Andes tropicales del Perú, donde el endemismo aviar es alto y los linajes de malaria son diferentes de las tierras bajas. La malaria aviar es causada por un protozoario de diversas especies de los géneros *Plasmodium, Haemoproteus y Leucocytozoon* (2). En la actualidad la investigación de parásitos sanguíneos versus hospedero aviar, canaliza sus esfuerzos al análisis de la ecología comportamental y evolutiva; efecto de estos parásitos sobre el hospedero y su aplicación a la conservación de especies en vida silvestre (3)

Los parásitos Haemosporidios se encuentran distribuidos por todos los continentes a excepción de la Antártida (4); no obstante, su diversidad, esta ha sido estudiada de manera inconstante en distintas partes del planeta. Sudamérica y en especial la Amazonía Peruana es la región con mayor diversidad de aves del planeta, pero ha habido pocos estudios sobre la malaria aviar específicamente basados en prevalencia y diversidad de hemoparásitos (5), así como en prevalencia y análisis filogenético de hemoparásitos en colonias de *Cacicus cela* (6).

Más aún los estudios en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI, los estudios existentes están limitados a la determinación de diversidad de la avifauna. De esta manera se observa que no se han usado herramientas moleculares para profundizar estudios de prevalencia para detectar malaria en aves, sus efectos en sus poblaciones y como esto podría afectar a los ecosistemas.

2.2 Formulación del problema.

2.2.1 Problema general.

¿Cuál es la prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI?

2.2.2 Problemas específicos.

¿Qué especies de aves se encuentran en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI?

¿Cuál es la riqueza especifica de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI?

¿Cuál es la prevalencia de malaria en cada una de las familias taxonómicas de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI?

2.3 Objetivos.

2.3.1 Objetivo general.

Determinar la prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

2.3.2 Objetivos específicos.

Identificar las especies de aves que se encuentran en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

Determinar la diversidad y la riqueza especifica de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

Conocer la prevalencia de malaria en cada una de las familias taxonómicas de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

2.4 Hipótesis.

Existe una alta prevalencia de malaria aviar en las especies de aves colectadas en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

2.5 Variables

2.5.1 Identificación de las variables.

2.5.1.1. Variable Dependiente

Prevalencia de parásitos causantes de malaria aviar

2.5.1.2. Variable Independiente

Especies de aves del el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya

2.5.2 Definición conceptual y operacional de las variables.

- **Variable Dependiente**

Prevalencia de malaria aviar

La prevalencia de una enfermedad en una población determinada influye en la eficacia real de una prueba para diagnosticar dicha enfermedad en esa población concreta. Se trata de un parámetro que, junto con los valores de sensibilidad y especificidad intrínsecos a esa prueba, permite obtener valores predictivos positivo y negativo, que son probabilidades de que la enfermedad esté realmente presente o no si el resultado de la prueba es positivo o negativo, respectivamente.

- **Variable Independiente**

Especies de aves del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya.

Son todas las aves que se capturaron durante la investigación en el área de estudio. Estas aves capturadas fueron identificadas y de cada una de ellas se procedió a colectar una muestra de sangre.

2.5.3 Operacionalización de las variables.

Variables	Indicadores	Índices	Instrumento
Independiente (X)			
Especies de aves del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya.	Especies de aves capturadas	Riqueza especifica Índice de Margalef Índice de Simpson	Base de datos de aves capturadas colocadas en la hoja de cálculos en Excel y Past 4.04
Dependiente (Y)			
Prevalencia de parásitos causantes de malaria aviar	Parásitos causantes de malaria aviar	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) positivo	Ficha de control de amplificación de ADN de parasito.

Capítulo III. Metodología.

3.1 Tipo y diseño de investigación.

La presente investigación fue no experimental con un diseño descriptivo – transversal.

- No experimental: Porque no consideró el efecto producido por la acción o manipulación de una o más variables independientes sobre una o varias dependientes.
- Descriptivo: Porque tuvo por finalidad describir los resultados de acuerdo a los objetivos.
- Transversal: Porque la investigación se desarrolló durante un determinado periodo de tiempo.

3.2 Población y muestra

3.2.1. Población:

Estuvo conformada por el total de aves capturadas en el área de estudio.

3.2.2. Muestra:

Estuvo constituida por las muestras sanguíneas extraídas a las aves capturadas en el área de estudio.

3.3 Técnicas, instrumentos y procedimientos de recolección de datos

3.3.1. Técnica de recolección de datos

Para la recolección de datos se empleó la observación directa y captura de aves usando redes de neblina. Además, se registraron las medidas morfológicas básicas y la masa corporal.

3.3.2. Instrumentos de recolección de datos

Los instrumentos para la recolección de datos que se utilizaron fueron los siguientes:

a) Fichas o guías de observación. Se utilizaron para registrar la información obtenida de la cantidad de aves capturadas, parásitos identificados, entre otros.
b) Redes de neblina para la captura de las aves.
c) Los equipos que se utilizarán para obtener directamente el registro de datos fueron microcentrífuga universal refrigerada, espectrofotómetro y sistema de electroforesis.

3.3.3. Procedimiento de recolección de datos

a) Captura de aves

Las aves fueron capturadas en el Área de concesión de la UCP, cuenca Alta Río Itaya, utilizando sistemas de redes de neblina en 4 ubicaciones distintas que recibieron los nombres de Red 01, Red 02, Red 03 y Red 04 respectivamente, cada sistema estuvo compuesto por 10 redes de neblina instalados consecutivamente. Las aves capturadas fueron identificadas morfológicamente según Schulenberg *et al.,* (22) y clasificadas por género y especie según Plenge (23), usando claves taxonómicas, así mismo se registraron las medidas morfológicas básicas y la masa corporal de cada individuo.

b) Colecta de muestras sanguíneas

Mediante el uso de una aguja estéril se procedió a hacer una punción en la vena braquial ubicada en el ala del individuo (24), a continuación se tomó una pequeña muestra de sangre (<75 µL) con la ayuda de tubos capilares heparinisados, se almacenó en tarjetas Whatman FTA (GE Heathcare, EE. UU.) para después ser depositados en gel de sílice en un recipiente plástico cerrado hasta llevar a cabo las pruebas moleculares.

c) Detección e identificación de parásitos sanguíneos

Se desarrolló en distintos pasos:

- Para la extracción del ADN de las tarjetas Whatman FTA se utilizó el protocolo de precipitación por sales (Salting-out) modificado (25), para ellos se extrajo una pequeña parte de sangre impregnada en las tarjetas Whatman FTA recortando pequeños cuadrados con un bisturí estéril cuidadosamente, luego se procedió a depositar los pequeños recortes en microtubos para adicionar 200 µL de TNES a pH 8 y 5 µL de proteinasa K 10 mg/µL, dejando en incubación a 56°C por un lapso de tiempo de 5 horas, pasado este tiempo se agregó 85 µL de Cloruro de sodio (NaCl) 5 M y se homogenizo por vortex (ISOLAB, modelo MX-S) a máxima revolución durante 15 segundos. Se utilizó una centrifuga Thermo Scientific, modelo MicroCL21R a 21 000xg por 7 minutos, se hizo una decantación del sobrenadante en un nuevo microtubo de 1,5 mL, al mismo se procedió a agregar 500 µL de isopropanol al 95%, para luego volver a centrifugar por espacio de 15 min; con la ayuda de una micropipeta, se descartó el isopropanol, agregando 500 µL de Etanol frio al 70%, volviendo a centrifugar por 10 minutos, finalmente se descartó el sobrenadante para luego secarlo a 55°C de 10-15 min. en un termobloc (USA SCIENTIFIC, INC, modelo P.O. Box 3565). finalmente se agregó 100 µL de buffer IDTE.
- En la realización de pruebas PCR en tiempo real a las muestras se siguió el siguiente procedimiento, de acuerdo a Bell et al. (26) empleando los cebadores R330F (5´-CGTTCTTAACCCAGCTCACG-3´) y R480RL (5´-GCCTGGAGGTWAYGTCC-3´), fueron amplificados en las siguientes condiciones en un termociclador: 95° C para 30 s, seguido de 35 ciclos de 95° C durante 30 s y 53°C durante 35 s (con una lectura de placa) seguido de una curva de fusión final, utilizando la configuración predeterminada del instrumento. Cada pocillo incluyo controles negativos.

d) Determinación de la Prevalencia

Se calculó en base a la siguiente fórmula citada por Bell (27)

Donde;

Prevalencia es: $P = \frac{Nro.Aves\ infectadas}{Nro.Total\ de\ aves\ capturadas}$

e) Determinación de la riqueza especifica

Fue determinada mediante la utilización de conteo de número de especies de avifauna encontradas durante el estudio y también mediante el índice de Margalef y su fórmula citado por Moreno (28):

$$D = \frac{S - 1}{\ln N}$$

Donde S= número de especies; N= número total de individuos

3.4 Procesamiento y análisis de datos.

Los datos recolectados fueron ordenados en el programa Excel 2016 y analizados mediante el software Past4 4.0.

Capítulo IV. Resultados

4.1. Especies de aves encontradas en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca alta Rio Itaya – CCCARI

En el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca alta Rio Itaya – CCCARI, durante 203 horas de muestreo se registraron un total de 281 individuos de aves, que correspondieron a 66 especies pertenecientes a 18 familias. Las 3 especies más abundantes estuvieron representadas por *Lepidothrix coronata* (32 individuos) significando el 11,4% de las capturas, seguido de *Glyphorynchus spirurus* (28 individuos) significando el 10% de las capturas y por *Mionectes oleagineus* (21 individuos) significando el 7,5% del total de individuos capturados, estas especies representan el 28,9% del total de individuos capturados en los 4 sistemas de redes de neblina desplegados. Las 63 especies restantes en su conjunto suman 200 individuos llegando a representar el 71,1% de individuos registrados, entre ellas tenemos *Nonnula brunnea, Automolus infuscatus, Pseudopipra pipra, Myrmoborus myotherinus, Willisornis poecilinotus* por nombrar algunos. (Ver tabla 01) para información detallada.

Tabla 01. Familias, especies y número de individuos registrados en el CCCARI

FAMILIA	ESPECIE	Nº IND	%
ALCEDINIDAE	*Chloroceryle aenea*	1	0,4
ALCEDINIDAE	*Chloroceryle inda*	1	0,4
BUCCONIDAE	*Nonnula brunnea*	3	1,1
CARDINALIDAE	*Cyanocompsa cyanoides*	2	0,7
CARDINALIDAE	*Habia rubica*	1	0,4
CAPITONIDAE	*Capito auratus*	1	0,4
COLUMBIDAE	*Geotrygon montana*	4	1,4
FURNARIIDAE	*Automolus subulatus*	4	1,4
FURNARIIDAE	*Automolus infuscatus*	9	3,2

FURNARIIDAE	*Glyphorynchus spirurus*	28	10,0
FURNARIIDAE	Philydor pyrrhodus	2	0,7
FURNARIIDAE	*Xenops minutus*	4	1,4
FURNARIIDAE	*Xiphorhynchus elegans*	1	0,4
FURNARIIDAE	*Xiphorhynchus guttatus*	1	0,4
FURNARIIDAE	*Dendrocincla fuliginosa*	3	1,1
FURNARIIDAE	*Certhiasomus stictolaemus*	1	0,4
FURNARIIDAE	*Dendrocincla merula*	4	1,4
FORMICARIIDAE	*Formicarius colma*	5	1,8
GALBULIDAE	*Galbula albirostris*	2	0,7
GRALLARIIDAE	*Myrmothera campanisona*	1	0,4
ONYCHORHYNCHIDAE	*Onychorhynchus coronatus*	2	0,7
ONYCHORHYNCHIDAE	*Terenotriccus erythrurus*	3	1,1
PASSERELLIDAE	*Ammodramus aurifrons*	1	0,4
PASSERELLIDAE	*Arremon sp.*	1	0,4
PIPRIDAE	*Pseudopipra pipra*	5	1,8
PIPRIDAE	*Machaeropterus striolatus*	4	1,4
PIPRIDAE	*Lepidothrix coronata*	32	11,4
PIPRIDAE	*Ceratopipra erythrocephala*	3	1,1
PIPRIDAE	*Cyanoloxia rothschildii*	3	1,1
RAMPHASTIDAE	*Pteroglossus azara*	6	2,1
RAMPHASTIDAE	*Selenidera reinwardtii*	4	1,4

RAMPHASTIDAE	*Pteroglossus pluricinctus*	4	1,4
THAMNOPHILIDAE	*Myrmoborus myotherinus*	10	3,6
THAMNOPHILIDAE	*Phlegopsis erythroptera*	3	1,1
THAMNOPHILIDAE	*Pithys albifrons*	9	3,2
THAMNOPHILIDAE	*Willisornis poecilinotus*	9	3,2
THAMNOPHILIDAE	*Hafferia fortis*	6	2,1
THAMNOPHILIDAE	*Gynnopithys leucaspis*	3	1,1
THAMNOPHILIDAE	*Hypocnemis peruviana*	3	1,1
THAMNOPHILIDAE	*Myrmelastes leucostigma*	6	2,1
THAMNOPHILIDAE	*Isleria hauxwelli*	4	1,4
THAMNOPHILIDAE	*Thamnonanes ardesiacus*	2	0,7
THAMNOPHILIDAE	*Hylophylax naevius*	1	0,4
THAMNOPHILIDAE	*Thamnophilus schistaceus*	2	0,7
THAMNOPHILIDAE	*Mynotherula axillaris*	4	1,4
THAMNOPHILIDAE	*Thamnonanes caesius*	7	2,5
THAMNOPHILIDAE	*Epinecrophylla erythrura*	2	0,7
THAMNOPHILIDAE	*Epinecrophylla haematonata*	1	0,4
THAMNOPHILIDAE	*Megastictus margaritatus*	3	1,1
THAMNOPHILIDAE	*Rhegmatorhina melanostica*	1	0,4
THAMNOPHILIDAE	*Myrmotherula menetriesii*	1	0,4
THRAUPIDAE	*Ramphocelus carbo*	4	1,4
THRAUPIDAE	*Tangara schrankii*	1	0,4

THRAUPIDAE		*Tachyphonus curinamus*	2	0,7
THRAUPIDAE		*Sporophila bouvronides*	2	0,7
THRAUPIDAE		*Sporophilan sp.*	4	1,4
THRAUPIDAE		*Oryzoborus angolensis*	1	0,4
TROGLODYTIDAE		*Microcerculus marginatus*	11	3,9
TROGLODYTIDAE		*Pheugopedius coraya*	4	1,4
TURDIDAE		*Catharus ustulatus*	1	0,4
TURDIDAE		*Catharus minimus*	1	0,4
TYRANNIDAE		*Mionectes oleagineus*	21	7,5
TYRANNIDAE		*Platyrinchus saturatus*	1	0,4
TYRANNIDAE		*Myiarchus tuberculifer*	2	0,7
TYRANNIDAE		*Zimmerius gracilipes*	1	0,4
TYRANNIDAE		*Cnipodectes subbrunneus*	2	0,7
TOTAL	18	66	281	100,0

Fuente: Elaboración propia

4.2. Diversidad y riqueza específica de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

4.2.1. Diversidad alfa

En los 4 sistemas de redes desplegados, la mayor cantidad de individuos capturados (109) se registró en la red 02 y la menor cantidad de individuos (27) en la red 04; así también el mayor número de especies (38) se registró en la red 03 y el menor número

(16) en la red 04; de la misma manera el mayor número de familias (15) se registró en la red 03 y el menor número (9) en la red 04.

Tabla 02. Números de individuos capturados en las 4 redes colocadas en el CCCARI

RED	Nº INDIVIDUOS	Nº ESPECIES	Nº FAMILIAS
RED 01	68	29	11
RED 02	109	36	10
RED 03	77	38	15
RED 04	27	16	09
TOTAL	**281**	**66**	**18**

Fuente: Elaboración propia

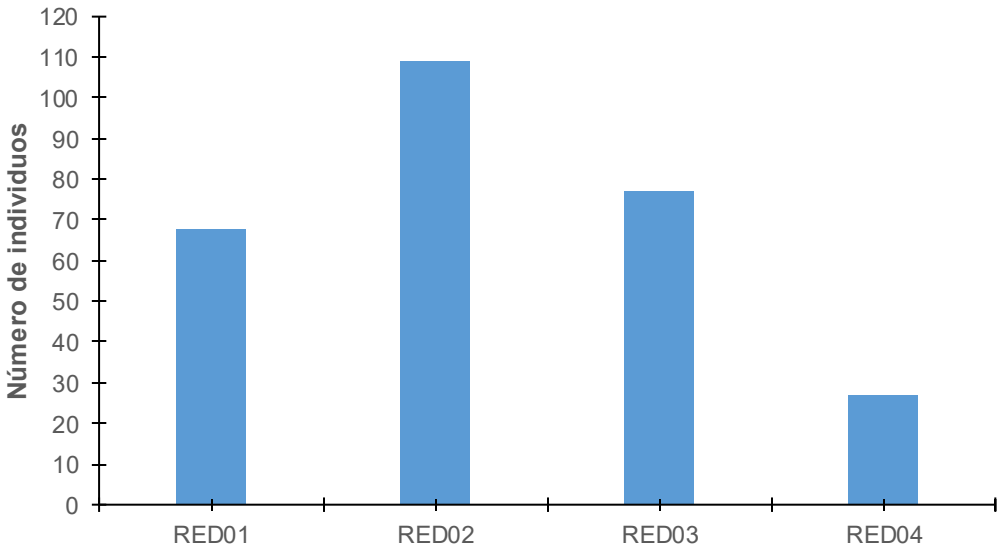


Figura 2: Número de individuos capturados en las 4 redes colocadas en el CCARI

En el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI se encontró 66 especies de aves; del cual la cantidad de especies por sistema de redes variaron de la siguiente manera: red 01 (29 especies), red 02 (36 especies), red 03 (38 especies), red 04 (16 especies); en el cual se puede notar que la red 03 fue la más diversa, la cantidad de especies por sistema de redes

varía entre un rango de 16 a 38 especies, con una media de 29,75 y una desviación estándar de 9,95.

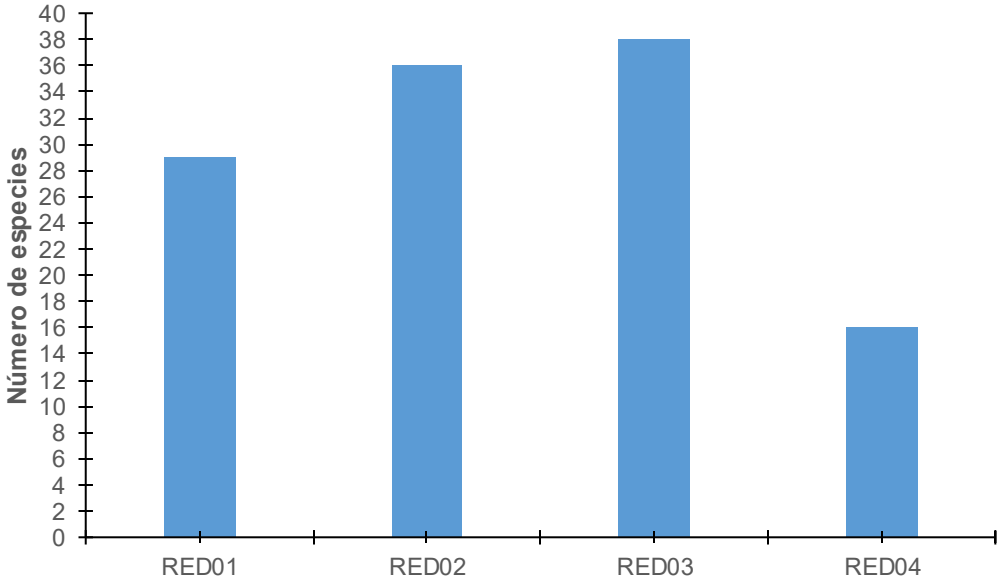


Figura 3: Número de especies de aves capturadas en el CCARI

4.2.2. Índice de diversidad Alfa de Simpson.

Mientras que para el área general del CCCARI el índice de Simpson arrojo una diversidad de 0,96; individualmente para los 4 sistemas de redes este índice varió de 0,9053 (red 04) a 0,9567 (red 03) con una media de 0,93 y una desviación estándar de 0,0228.

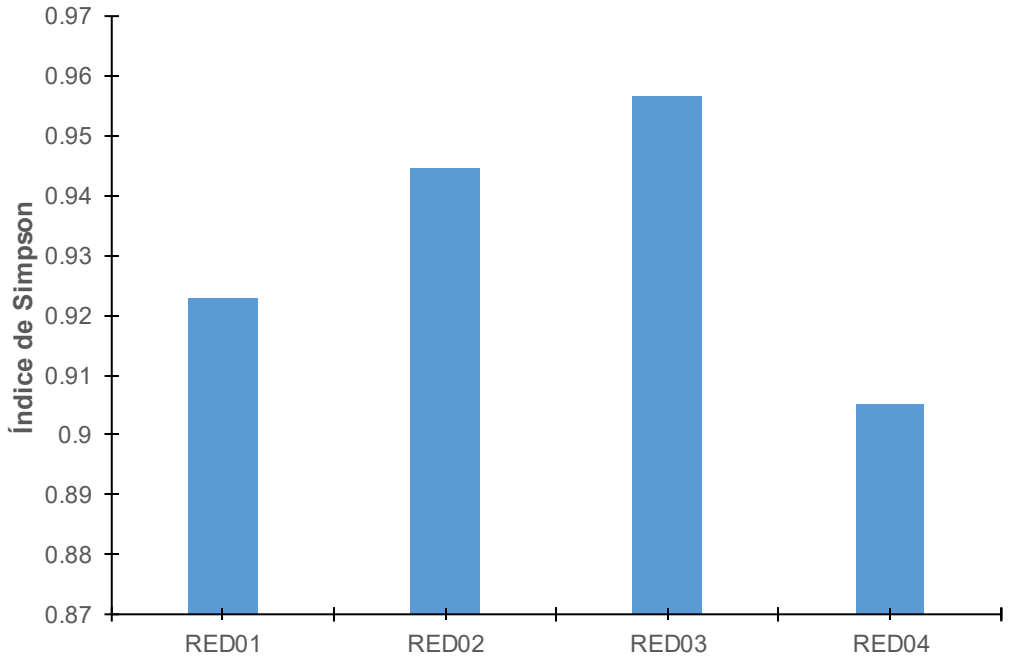


Figura 4: Índice de diversidad Alfa de Simpson

4.2.3. Dominancia. Mientras que la dominancia para el área general del CCCARI fue de 0,037; individualmente las redes indicaron dominancias de menor a mayor de la siguiente manera red 03 (0,043), red 02 (0,055), red 01 (0,077) y red 04 (0,095) con la mayor dominancia de ellas.

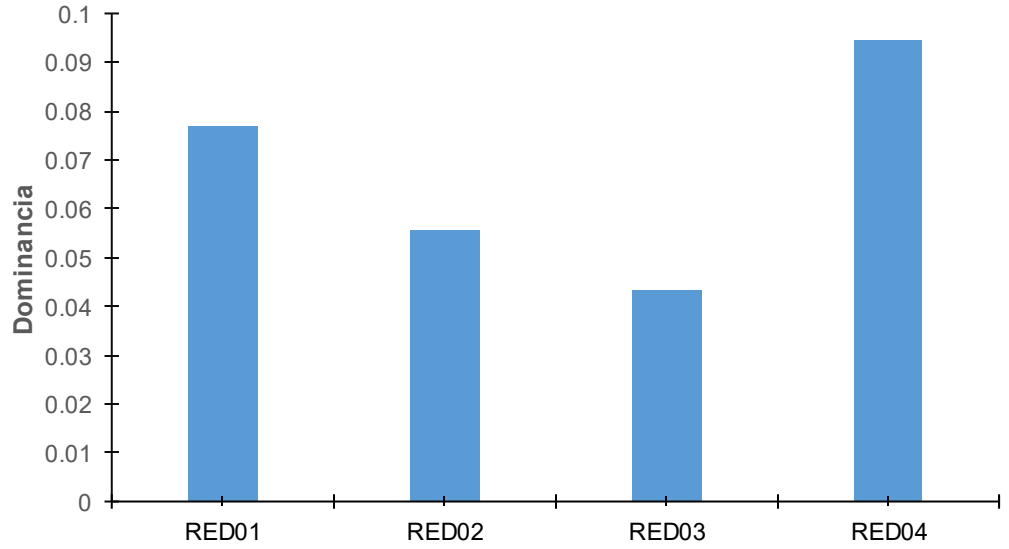


Figura 5: Dominancia de aves del CCARI

4.2.4. Riqueza de la avifauna del CCCARI

La riqueza especifica determinada para el área general del CCCARI fue de 11,52; mientras que cada uno de las redes tuvieron valores que van de menos a más de la siguiente manera: red 04 (4,6), red 01 (6,6), red 02 (7,5) y como la red más diversa red 03 con (8,5).

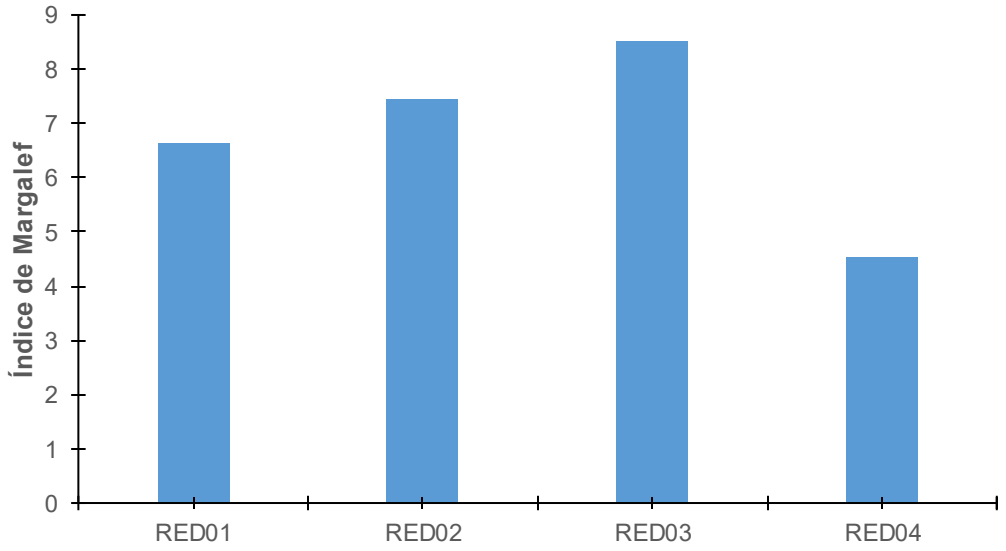


Figura 6: Índice de riqueza específica de Margalef de aves

4.3. Prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.

Para determinar la Prevalencia de malaria en la avifauna del CCCARI, se registraron un total de 281 individuos divididos en 66 especies pertenecientes a 18 familias, de la misma manera un número de muestras de sangre (279) fueron colectadas de estos individuos y fueron analizadas mediante técnicas moleculares (PCR), logrando detectar 168 aves infectadas con malaria lo cual determina un 60,2% para la avifauna en general del CCCARI.

Tabla 3. Prevalencia de malaria en la avifauna del CCCARI

Malaria	Nº de aves muestreadas	Prevalencia %	Familias de aves	Prevalencia %
Positivos	168	60,2	17	99,4
Negativos	111	39,8	1	5,6
Total	**279**	**100**	**18**	**100**

En la tabla 2 se observa que la prevalencia de malaria en la avifauna del CCCARI fue de 60,2% en el 99,4% de familias de aves registradas durante el estudio.

4.3.1. Determinación de prevalencia de malaria aviar por familia de ave.

Las muestras analizadas fueron agrupadas en 18 familias, de las cuales solo una de ellas no presento resultado positivo para malaria aviar, esta familia fue Grallaridae (0%) con dos individuos analizados.

Las familias que presentaron prevalencia de malaria aviar fueron Bucconidae (3 individuos), Capitonidae (1 individuo), Passerellidae (2 individuos) con una prevalencia absoluta de 100%, a continuación la familia Ramphastidae (11 individuos infectados de 14) 78,6%, seguido de las familias Cardinalidae (2 individuos infectados de 3), Thraupidae (8 individuos infectados de 12) y Troglodytidae (10 individuos infectados de 15) cada uno de ellos con una prevalencia de 66,7%; seguido de la familia Thamnophilidae (50 individuos infectados de 77) 64,9%; la familia Pripidae (29 individuos infectados de 47) 61,7%; la familia Formiicaridae (3 individuos infectados de 5) 60%; la familia Tyrannidae (15 individuos infectados de 27) 55,6%; a continuación las familias Alcedinidae (1 individuo infectado de 2), Columbidae (2 individuos infectados de 4), Galbulidae (1 individuo

infectado de 2) y Turdidae (1 individuo infectado de 2) cada una de ellas con 50% de prevalencia; la familia Furnariidae (28 individuos infectados de 57) 49,1% y finalmente la familia Onychorhynchidae (1 individuo infectado de 5) con 20% de prevalencia.

Tabla 4. Prevalencia de malaria aviar por familia de ave.

FAMILIA	POSITIVOS	NEGATIVOS	Prevalencia por familia	%
ALCEDINIDAE	1	1	50,0%	0,36
BUCCONIDAE	3	0	100,0%	1,08
CAPITONIDAE	1	0	100,0%	0,36
CARDINALIDAE	2	1	66,7%	0,72
COLUMBIDAE	2	2	50,0%	0,72
FORMICARIIDAE	3	2	60,0%	1,08
FURNARIIDAE	28	29	49,1%	10,04
GALBULIDAE	1	1	50,0%	0,36
GRALLARIIDAE	0	1	0,0%	0,00
ONYCHORHYNCHIDAE	1	4	20,0%	0,36
PASSERELLIDAE	2	0	100,0%	0,72
PIPRIDAE	29	18	61,7%	10,39
RAMPHASTIDAE	11	3	78,6%	3,94
THAMNOPHILIDAE	50	27	64,9%	17,92
THRAUPIDAE	8	4	66,7%	2,87
TROGLODYTIDAE	10	5	66,7%	3,58
TURDIDAE	1	1	50,0%	0,36
TYRANNIDAE	15	12	55,6%	5,38
TOTAL	168	111		60,22

Fuente: Elaboración propia

Capítulo V. Discusión, conclusiones y recomendaciones

5.1. Discusión

Las aves son importantes indicadores de la salud de los ecosistemas, además son organismos claves en el estudio de enfermedades emergentes y reemergentes, debido al lugar que ocupan en la cadena trófica. Estos organismos pueden ser portadores y transmisores de una gran cantidad de enfermedades, entre ellos la malaria aviar (29).

En este estudio se evidenció que, utilizando 4 redes de neblina, en aproximadamente 203 horas de muestreo, se logró capturar 281 individuos, pertenecientes a 18 familias y 66 especies, tres especies fueron las más abundantes, representadas por 32 individuos de *Lepidothrix coronata* y 28 de *Glyphorynchus spirurus.* Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Pérez *et al.,* en el 2019 (1), quien en una investigación sobre abundancia de especies, realizada en los ríos Napo y Curaray, obtuvieron 204 especies de aves, pertenecientes a 18 órdenes y 41 familias. El número de redes que utilizaron fueron 15 y las horas de colecta fueron 309. Las familias con mayor número de especies fueron *Thamnophilidae*, *Tyrannidae* y *Furnariidae*, con 34, 19 y 18 especies, respectivamente. Un número mayor de individuos, obtuvieron investigadores en la cuenca alta del río Putumayo, donde lograron identificar 3791 individuos de 320 especies, 53 familias y 22 órdenes, siendo las familias con mayor cantidad de especies; *Orthopsittaca manilatus, Pionites melanocephalus* y *Ara ararauna.* Las especies *O. manilatus, P. melanocephalus, A. ararauna y Heterocercus aurantiivertex* fueron las más abundantes en el bosque inundable mientras que *Lipaugus vociferans* y *Herpsilochmus dugandi* fueron del bosque de tierra firme (2).

Los resultados obtenidos respecto a la prevalencia de malaria aviar, difiere por lo obtenido por Ricopa en el 2016, en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana, el cual a partir de 240 muestras sanguíneas analizadas, obtuvo solamente un 16,25 % de muestras positivas, siendo *Cacicus cela* (familia Icteridae) con 6,67% *y Lepidothrix coronata* (familia Pipridae) con 2,5% las

especies más infectadas (3), varía según especie de ave; *Cacicus cela,* con un 6,67% y *Lepidothrix coronata* fueron las más infectadas. Así mismo Blanco et al en el 2016 al evaluar 55 aves rapaces en Minas Gerais en Brasil, encontró que 43 estaban infectadas con *Plasmodium,* representando el 78,18 %, (4). De igual forma cuando se evaluó la prevalencia de *Plasmodium* y *Haemoproteus* en gorriones de collar rufo *Zonotrichia capensis,* se encontró que el estrés generado por las condiciones ambientales puede influir en la dinámica hospedero-parásito de aves (5). Así mismo el estudio de la presencia de hemoparásitos en poblaciones de palomas de castilla *Columba livia,* determinó que el 94,2% de aves colectadas fueron positivas a *Haemoproteus sp* y 13, 5% a *Plasmodium sp* (6).

También, Resultados de un 54% de prevalencia se encontraron en el interior de río grande del norte de Brasil, en 779 aves muestreadas, la prevalencia obtenida fue de un 54%, llegando a la conclusión de que el ambiente que los rodea está directamente relacionado con la infección de parásitos de malaria (8). De igual forma los análisis realizados en dos sitios de la Amazonía Ecuatoriana con un total de 226 individuos de 20 familias de aves, se determinó que solamente el 10,8 % de las muestras fueron positivas (11). Así mismo la evaluación realizada a 126 individuos aves migratorias en un parque nacional de Panamá, dieron como resultados 19,05 % de las muestras como positivas (10). Los resultados de nuestra investigación nos muestran que, de un total de 281 individuos en 66 especies, solamente el 60,2 % de las familias de aves, estuvieron infectadas. Además cuando se evaluó cuáles eran los grupos parasitarios con mayor presencia en aves, se determinó que fueron del género *Plasmodium*, *Leucocytozoon* y *Haemoproteus* (14).

5.2. Conclusiones

Se logró identificar la mayor diversidad de especies que viven en los bosques de la cuenca media alta del río Itaya.

La especie que predomina estos bosques es *Lepidothrix coronata,* asociados principalmente al tipo bosques que existe en la zona.

La prevalencia de malaria aviar es bastante alta, siendo los resultados positivos superior al 50 % respecto del número de especies colectadas.

5.3. Recomendaciones

Se recomienda realizar colectas durante diferentes periodos de tiempo, el cual ayudaría a obtener resultados con mayor soporte de información.

Utilizar diferentes técnicas de muestreo, también sería de gran importancia ya que algunas especies presentes en el área, tienen diferente comportamiento de movilidad.

Realizar monitoreo continuo de aves en estas zonas de la Amazonía, ayudaría a conocer las posibles enfermedades que sufren la avifauna de esta zona.

Referencias bibliográficas.

1. Peña PEP, Rodríguez MCR, Alván JD, Gómez RZ, Carhuanca KM. BIODIVERSIDAD EN LAS CUENCAS DEL NAPO Y CURARAY, PERÚ. :205.

2. Ortiz Sánchez A. Biodiversidad en la cuenca alta del Putumayo, Perú. Primera edición. Iquitos, Perú: Proyecto Especial de Dearrollo Integral de la Cuenca del Putumayo; 2019. 155 p.

3. Ricopa García L, Villa Galarce ZH. Prevalencia y diversidad de hemoparásitos en aves capturadas en la Reserva Nacional Allpahuayo Mishana (RNAM), Iquitos-Perú, 2013. Univ Nac Amazon Peru [Internet]. 2016 [citado 27 de octubre de 2021]; Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/3291

4. Blanco LFV de O. Hemoparasitos em aves de rapina da mesorregiao do triangulo mineiro Urebaba, MG 2016 [Internet] [Tesis]. [Urebaba, Minas Gerais]: Universidade de Urebaba; 2016. Disponible en: http://dspace.uniube.br:8080/jspui/handle/123456789/621

5. Chang van Oordt DA. Factores que afectan la prevalencia de parásitos hemosporidios en una población silvestre del gorrión de collar rufo, Zonotrichia capensis. [Internet] [Tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12866/7013

6. Carlos Erazo N, Arellano Lima F, Puray Chavez N, Barraza Hernández A, Alcázar García P. Hemoparásitos Presentes en Poblaciones Ferales de la Paloma de Castilla (Columba livia) en el Departamento de Lima, Perú. Rev Investig Vet Perú. 11 de octubre de 2017;28(3):650.

7. Ruiz García GR. Prevalencia y parasitemia por parásitos haemosporidios (Apicomplexa) en aves en una zona con presencia de actividad agrícola [Internet] [Tesis Maestria]. [San Luis de Potosí, Mexico]: INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.; 2017. Disponible en: http://hdl.handle.net/11627/3144

8. Araujo PSA de. Prevalência e sazonalidade de hemosporídeos em aves na Estação Ecológica do Seridó. 2017. 33f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2017. [Internet]

[Tesis]. [Natal, RN]: Universidad Federal do Rio Grande do Norte; 2017. Disponible en: https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/24748

9. Moreno Cabrera CL. Identificación de hemoparásitos y ectoparásitos en palomas (columba livia) que habitan en parques de la ciudad de Huánuco - 2016 [Internet] [Tesis]. [Huanuco, Perú]: Universidad Nacional Hermilio Valdizán; 2017. Disponible en: http://repositorio.unheval.edu.pe/handle/UNHEVAL/1368

10. Herrera J, Pérez J, Fuentes Y, Gantes C. Endoparasitos en aves residentes y migratorias de Punta Santa Bárbara, Parque nacional Darien, Panamá.pdf. En: Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios. p. 19.

11. Mena Martínez KEM. Determinación de Hemoparásitos en aves silvestres de las familias Trochilidae, Tyrannidae, Furnariidae, Columbidae, en las provincias de Zamora Chinchipe y Pastaza [Internet] [Tesis]. [Quito, Ecuador]: Universidad Central del Ecuador; 2018. Disponible en: http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16383

12. Najarro Flores RA. Evaluación estacional de hemoparasitismo en las aves de la Reserva Nacional de Lachay [Internet] [Tesis]. [Lima, Perú]: Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020. Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12866/8467

13. Eastwood JR, Peacock L, Hall ML, Roast M, Murphy SA, Gonçalves da Silva A, et al. Persistent low avian malaria in a tropical species despite high community prevalence. Int J Parasitol Parasites Wildl. 1 de abril de 2019;8:88-93.

14. Fecchio A, Chagas CRF, Bell JA, Kirchgatter K. Evolutionary ecology, taxonomy, and systematics of avian malaria and related parasites. Acta Trop. 1 de abril de 2020;204:105364.

15. Schumm YR, Bakaloudis D, Barboutis C, Cecere JG, Eraud C, Fischer D, et al. Prevalence and genetic diversity of avian haemosporidian parasites in wild bird species of the order Columbiformes. Parasitol Res. abril de 2021;120(4):1405-20.

16. Diversidad de los hemoparásitos Plasmodium y Haemoproteus en algunas especies de aves de los Andes colombianos [Internet]. [citado

23 de octubre de 2021]. Disponible en: https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/75019

17. Muriel J, Marzal A, Magallanes S, García-Longoria L, Suarez-Rubio M, Bates PJJ, et al. Prevalence and Diversity of Avian Haemosporidians May Vary with Anthropogenic Disturbance in Tropical Habitats in Myanmar. Diversity. 5 de marzo de 2021;13(3):111.

18. Pearson GL. Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. J Wildl Dis. enero de 2001;37(1):208-11.

19. Matta NE, Rodríguez ÓA. HEMOPARÁSITOS AVIARES. Acta Biol Colomb. 2001;6(1):8.

20. Somma M. Extracción y Purificación de ADN. Eur Com. 2007;Analisis de la presencia de organismos geneticamente modificados en muestras de alimentos:18.

21. Zimmermann A, Lüthy J, Pauli U. Quantitative and qualitative evaluation of nine different extraction methods for nucleic acids on soya bean food samples. Z F�r Leb -Forsch A. 4 de agosto de 1998;207(2):81-90.

22. Schulenberg TS, editor. Birds of Peru. Princeton: Princeton University Press; 2007. 656 p. (Princeton field guides).

23. Plenge MA. List of the Birds of Peru. :42.

24. Rose K, Newman S, Uhart M, Lubroth J. Vigilancia de la influenza aviar altamente patógena en las aves silvestres. :58.

25. Sunnucks P, Hales DF. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus Sitobion (Hemiptera: Aphididae). Mol Biol Evol. 1 de marzo de 1996;13(3):510-24.

26. Bell JA, Weckstein JD, Fecchio A, Tkach VV. A new real-time PCR protocol for detection of avian haemosporidians. Parasit Vectors. diciembre de 2015;8(1):383.

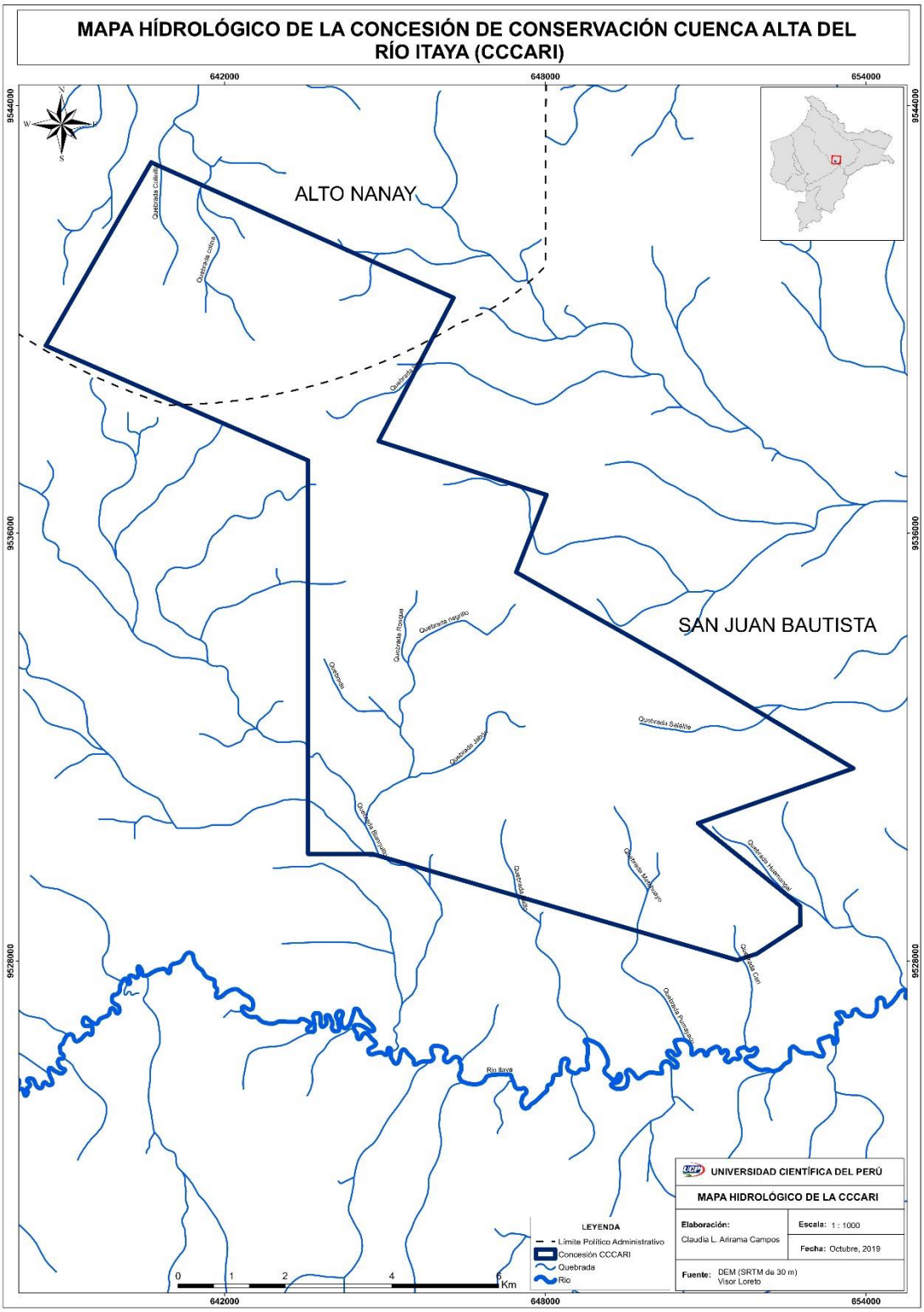
27. Bell J. A Simple Way to Treat PCR Products Prior to Sequencing Using ExoSAP-IT. 6. 2008;44:1.

28. Moreno CE. Métodos para medir la biodiversidad. Vol. I. Zaragoza: CYTED.Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo: Sociedad entomológica aragonesa; 2001. 84 p.

29. Emerging Bacterial Zoonoses in Migratory Birds | IntechOpen [Internet]. [citado 26 de octubre de 2021]. Disponible en: https://www.intechopen.com/chapters/57911

ANEXOS.

Anexo 01. Mapa de ubicación de estudio



FUENTE: Universidad Científica del Perú

Anexo 02. Matriz de consistencia

Formulación del Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables	Indicadores	Índices	Instrumentos
¿Cuál es la prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI?	**Objetivo General:** Determinar la prevalencia de malaria en la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI. **Objetivos Específicos:** - Identificar las especies de aves que se encuentran en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI. - Determinar la diversidad y la riqueza especifica de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI. - Conocer la prevalencia de malaria en cada una de las familias taxonómicas de la avifauna del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.	. **Hipótesis** Existe una alta prevalencia de malaria aviar en las especies de aves colectadas en el Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya – CCCARI.	**Independiente.** Especies de aves del Centro de Investigación Concesión de Conservación Cuenca Alta Rio Itaya **Dependiente.** Prevalencia de parásitos causantes de malaria aviar	Especies de aves capturadas Parásitos causantes de malaria aviar	Riqueza especifica Índice de Margalef Índice de Simpson	a) Fichas o guías de observación. b) Redes de neblina para la captura de las aves. c) micro centrifuga universal refrigerada, espectrofotómetro y sistema de electroforesis.

Anexo 3. Galería fotos



Figura 3.1. Colocación de Redes de neblina



Figura 3.2. Captura de aves



Figura 3.3. Colecta de muestras de sangre de aves

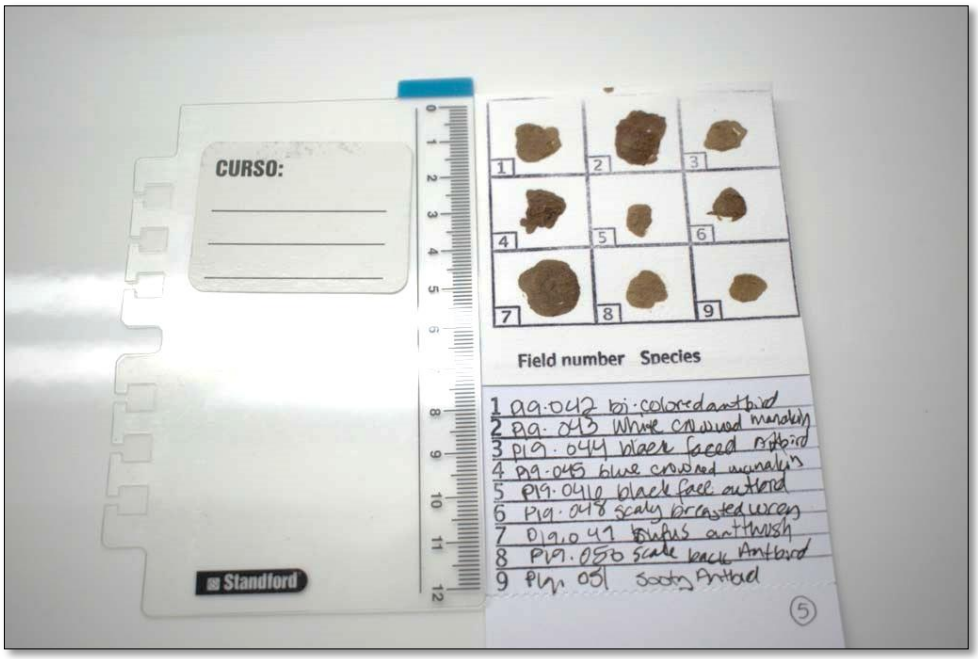


Figura 3.4. Muestra de sangre de aves colectadas en papel Whatman



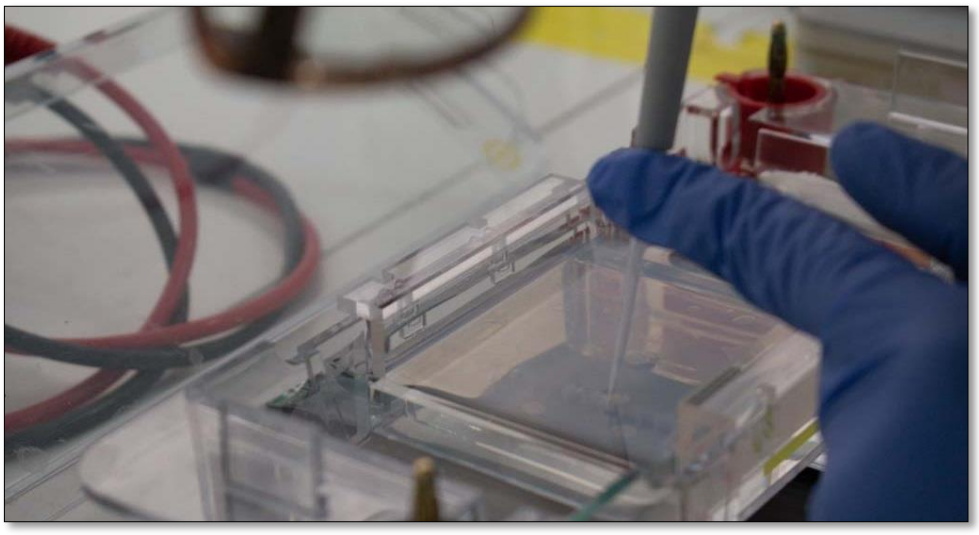
Figura 3.5. Procesamiento de las muestras de sangre de aves



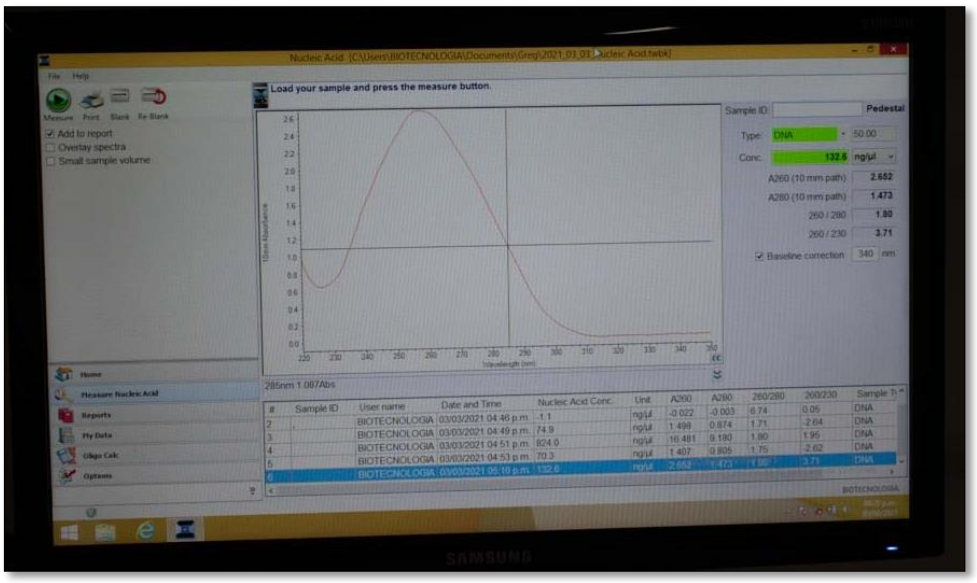
3.6. Preparación de las muestras para la extracción de ADN



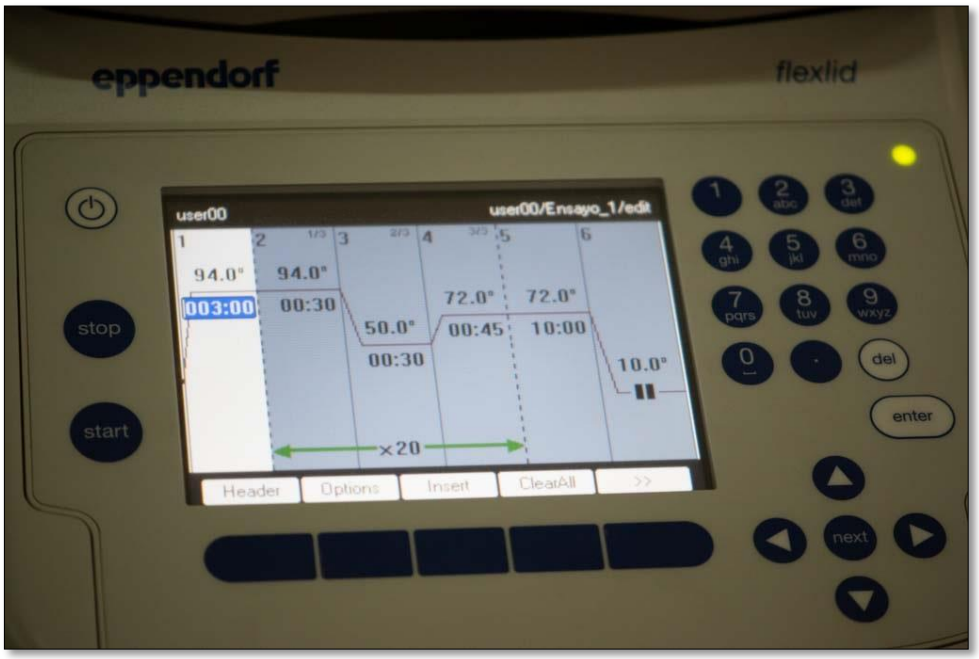
3.7. Extracción de ADN de muestras de sangres de aves



3.8. Corrida electroforética de las muestras de sangres de aves



3.9. Análisis espectrofotométricos de los resultados



3.10. Corrida de las muestras en el Termociclador (qPCR)